

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 960**

51 Int. Cl.:

C07G 99/00 (2009.01)

C07F 15/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2008 E 08709331 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2125847**

54 Título: **Materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando, sus usos y procesos para su preparación**

30 Prioridad:

06.02.2007 GB 0702270
06.02.2007 US 888386 P

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

07.09.2015

73 Titular/es:

MEDICAL RESEARCH COUNCIL (100.0%)
2nd Floor, David Phillips Building, Polaris House,
North Star Avenue
Swindon, SN2 1FL, GB

72 Inventor/es:

POWELL, JONATHAN JOSEPH;
BRUGGRABER, SYLVAINÉ FRANÇOISE ALINE;
FARIA, NUNO JORGE RODRIGUES y
PEREIRA, DORA ISABEL AMARAL

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 544 960 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

Materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando, sus usos y procesos para su preparación

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere un materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando y sus usos, en particular para aplicaciones nutricionales, médicas, cosméticas o biológicamente relacionadas como por ejemplo para el tratamiento de una deficiencia relacionada con un componente del material o para la eliminación de una sustancia endógena capaz de unirse al material. La presente invención también se refiere a procesos para preparar los materiales y optimizar sus propiedades fisicoquímicas y sus usos médicos.

Antecedentes de la invención

15 La deficiencia de hierro es la deficiencia de micronutrientes más común en el mundo en la actualidad, que afecta a más de 4000 millones de personas en todo el mundo. Se estima que 2000 millones de personas - aproximadamente un 30 % de la población mundial - son anémicos (OMS, <http://www.who.int/nut/ida.htm>, entrada el 20 de diciembre de 2005). La deficiencia de hierro no es un problema limitado exclusivamente al mundo en desarrollo. Las encuestas epidemiológicas realizadas en países europeos muestran que la deficiencia de hierro afecta a un 10-30 % de las mujeres que menstrúan y de un 1,5 % a un 14 % con anemia por deficiencia de hierro (IDA) (Herzberg *et al.*, 2001; Goddard *et al.*, 2005). La anemia ferropénica puede dar como resultado una disminución del rendimiento intelectual, una disminución de la capacidad física, alteraciones en la regulación de la temperatura, alteraciones en el desarrollo de la gestación, y funciones inmunológicas y metabólicas comprometidas, todas las cuales influyen en la calidad de vida y la economía de la salud (Edgerton *et al.*, 1979; Herzberg *et al.*, 2001; Scholz *et al.*, 1997). La primera línea de tratamiento convencional para la IDA leve simple es, habitualmente, el suplemento con sulfato ferroso por vía oral.

Las deficiencias de hierro más complejas o graves se pueden tratar con hierro o transfusiones de sangre por vía intravenosa, pero la gestión posterior es con preparaciones de hierro por vía oral. A pesar del uso generalizado de preparaciones de hierro por vía oral, su eficacia es pobre. Esto se debe a: (i) características de absorción variables y (ii) efectos secundarios que dan como resultado un mal cumplimiento. Algunas estrategias para la prevención de la deficiencia de hierro incluyen el uso de alimentos reforzados con hierro. Los agentes de fortalecimiento usados incluyen normalmente sulfato ferroso, cloruro férrico, EDTA sódico y férrico y pirofosfatos férricos. Sin embargo, a pesar de las estrategias de fortalecimiento, la deficiencia de hierro sigue siendo un problema global común y, por lo tanto, se necesitan suplementos baratos y eficaces.

35 El documento de patente WO 2005/000210 describe la síntesis de complejos sacáridos de alto peso molecular formados cuando se agregan hidróxidos de hierro recién preparados posteriormente con moléculas de azúcar para formar complejos secundarios. Estos complejos son reconocidos porque aglomeran mezclas.

40 El documento de patente WO 03/031635 se refiere a un método enzimático para preparar gluconato cálcico en el que los cristales tienen una pureza elevada y una solubilidad elevada.

45 El documento de patente US 2005/0209322 describe un proceso para preparar complejos de gluconato férrico y sódico para la administración i.v. de hierro que requiere la etapa inicial de preparar hidróxido férrico con una etapa posterior de reacción con el ligando, gluconato sódico. El documento de patente US 2005/0209187 se refiere a un proceso similar para la preparación de complejos sacarosa y hierro en lugar de complejos de gluconato de hierro.

50 El documento de patente GB 1600449 describe el uso de ligandos orgánicos para revestir la superficie de partículas de cristallitos de oxo-hidróxidos metálicos, principalmente para aumentar su solubilidad en disolventes de hidrocarburo en el campo de la catálisis.

55 El documento de patente US 2003/0049284 describe un método para aumentar la solubilidad de sales de ácidos alfa hidroxi carboxílicos, por reacción con un alfa aminoácido, de modo que el material tendría una mejora de las propiedades de suplemento nutricional.

La patente de Estados Unidos N° 3.679.377 se refiere a la provisión de una fuente de hierro agrónomicamente eficaz en una solución de nutrientes vegetal como un anión complejo soluble de sulfato férrico-hidroxilo. Los materiales producidos son complejos convencionales de ligando-ión metálico.

60 El documento de patente DE 20 2005 014332 U1 desvela nanopulvos orgánicos de metal para uso en ingeniería de materiales tal como la formación de compuestos poliméricos a través de nebulización por inyección por revestimiento de los nanopulvos en o sobre un material existente.

65 Jugdaohsingh *et al.* (2004) describen un ensayo de precipitación crítica que usa una reacción en fase de solución en la que, a pH perineutro, los ácidos orgánicos compiten con la formación de los puentes de oxo entre los átomos de aluminio en el proceso de polimerización, limitando el crecimiento y disminuyendo la ramificación de las especies de

polihidroxi aluminio (Jugdaohsingh *et al.* (2004); Powell *et al.* (2004)). El ensayo se puede usar porque la eficacia del ligando en la interrupción de este proceso se relaciona con su afinidad hacia el aluminio. En este trabajo también se indicó que durante el crecimiento en fase de solución de especies de polihidroxi aluminio, el 'ligando de competición' se llega a incorporar dentro del polímero.

5

Sumario de la Invención

En términos generales, la presente invención se refiere a procesos para preparar materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando y para optimizar sus propiedades fisicoquímicas. Las composiciones comprenden generalmente materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando representados con la fórmula $(M_xL_y(OH)_n)$, en la que M representa uno o más iones metálicos, L representa uno o más ligandos y OH representa grupos oxo o hidroxilo, y se pueden usar en aplicaciones nutricionales, médicas, cosméticas u otras aplicaciones biológicamente relevantes. Estas incluyen la administración de los materiales *per se*, o el uso de los materiales para la administración de un componente del material, tal como el ión metálico, como un suplemento o agente de fortalecimiento o aditivo alimentario, o el uso del material para eliminar o inhibir un componente y mejorar cualquier efecto indeseable que pueda provocar.

10

15

Los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando que se desvelan en el presente documento constituyen nuevas formas de materia que no se han descrito anteriormente en la técnica para tales usos y que se pueden definir, entre otros, con referencia a parámetros estructurales, espectroscópicos o de composición (es decir usando las firmas analíticas de los materiales) o mediante los procesos a través de los que se han obtenido los materiales. Por lo tanto, aunque en el campo de la química inorgánica se conocen muy bien polvos de oxo-hidróxidos metálicos, en la presente invención se modifican con ligandos biológicamente compatibles (es decir distintos de los grupos oxo o hidroxilo) para alterar sus propiedades físicas y/o químicas para producir nuevos materiales y para su uso en nuevas aplicaciones. Como parte de los procesos únicos usados para optimizar y producir los materiales, se puede remarcar que (i) los materiales se recubren en forma de un sólido después de precipitación desde la solución (por ejemplo, solución acuosa) y (ii) que la incorporación de ligando en la fase sólida de poli oxo-hidroxi y un metálico se realiza, para al menos uno de los ligandos implicados, a través de enlace formal, identificable.

20

25

30

Por lo tanto, a modo de ejemplo, la presente invención difiere del ensayo de precipitación crítica que se desvela en Jugdaohsingh *et al.* (2004) porque ese ensayo se realizó en solución y el material precipitado no se aisló posteriormente ni se usó adicionalmente. Por el contrario, en la presente invención, la formación de los polímeros continúa hasta el momento de la precipitación y son los materiales sólidos los que a continuación se caracterizan y se usan en diversas aplicaciones. Además, los presentes inventores han encontrado que los materiales en fase sólida secos presentan propias fisicoquímicas que depende sensiblemente de las condiciones de solución exactas usadas en la producción del material, por ejemplo la elección del ligando o ligandos y su concentración frente a la del ión metálico. Estos materiales no son, como se podría esperar, simplemente óxidos/hidróxidos metálicos con grados de cristalización sutilmente diferentes, y por lo tanto propiedades del material sutilmente diferentes, pero en su lugar el ligando o ligandos se incorporan dentro de la matriz del precipitado de poli oxo-hidroxi ión metálico a través de la sustitución de grupos oxo o hidroxilo. Esto generalmente no es estequiométrico pero, sin embargo, se produce a través de formación de enlace formal, y conduce a alteraciones nuevas y distintas en las propiedades químicas, de cristalinidad y materiales del sólido. Por lo tanto, las composiciones producidas de acuerdo con la presente invención son entidades químicamente nuevas y no son simplemente los resultados de la alteración del grado de cristalinidad de los óxidos/hidróxidos metálicos. De forma sorprendente, las condiciones de precipitación no predicen fácilmente las propiedades del sólido, tales como las condiciones de su redisolución y, por ejemplo, usando este sistema, es perfectamente posible precipitar un material a pH 7 que también se puede volver a adecuar completamente a pH 7 usando solamente un volumen de solución ligeramente superior o haciendo un cambio sutil en la química de la solución. Sin embargo, con las condiciones de reacción exactamente iguales, se forma un material con propiedades altamente reproducibles. Por lo tanto, la idea que subyace en la presente invención es que este proceso se puede usar para producir sólidos M:L:OH con características fisicoquímicas modificadas de forma precisa para múltiples aplicaciones biológicas tales como en medicina, nutrición o cosmética, en las que se requieren características específicas del material. Este enfoque no se ha desvelado anteriormente sorprendente que tales cambios sutiles en el proceso de precipitación permitan cambios adecuados en la fase sólida que se pueden usar para producir tales características o propiedades fisicoquímicas modificadas de forma precisa (por ejemplo, disolución).

35

40

45

50

55

Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un proceso para producir un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxilo (OH), en el que:

60

M representa uno o más iones metálicos seleccionados entre Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} y Zr^{2+} ,

65

L representa uno o más ligandos que comprenden un ligando seleccionado entre un ácido carboxílico, maltol, etil maltol, vainillina, bicarbonato, sulfato, fosfato, silicato, borato, molibdato, seleniato, triptófano, glutamina, prolina, valina, histidina, folato, ascorbato, piridoxina, niacina, adipato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, benzoato y propionato, y

en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxilo y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxilo metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxilo por los ligandos es básicamente aleatoria;

en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando total tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles,

proceso que comprende:

- (a) mezclar los iones metálicos M y los ligandos L a un primer pH(A) en el que los componentes son solubles;
- (b) cambiar el pH(A) a un segundo pH(B) para hacer que se forme un precipitado sólido del material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando; y
- (c) separar, y opcionalmente secar, el material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando producido en la etapa (b).

A modo de ejemplo, los materiales producidos con los procesos de la presente invención se pueden usar en aplicaciones nutricionales, médicas, cosméticas u otras aplicaciones biológicamente relevantes. Un ejemplo preferente de tal aplicaciones el uso del material para administrar el material, o una parte del mismo, tal como un ión metálico o un ligando, a un sujeto, por ejemplo para corregir una deficiencia en el componente o de modo que el componente proporcione un efecto beneficioso al sujeto. Un ejemplo alternativo es el uso de un material para unir o secuestrar un componente que puede estar presente en el sistema en el que se introduce el material, para eliminar o inhibir de este modo ese componente y mejorar cualquier efecto indeseable que éste pueda causar. A la vista de esto, el proceso para comprender la etapa adicional de formular el material sólido de poli oxo-hidroxilo-ión metálico modificado con ligando en una composición para su administración a un sujeto.

En cualquier aspecto de la presente invención, los procesos que se desvelan en el presente documento se pueden usar para modificar por ingeniería u optimizar las propiedades fisicoquímicas del material, por ejemplo para controlar el perfil de disolución o el perfil de adsorción, o una propiedad del material similar, y es una ventaja considerable de los procesos que se describen en el presente documento que son altamente susceptibles a tales estudios de optimización.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un proceso para producir un material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando y para optimizar una propiedad fisicoquímica deseada del material para adaptarlo para una aplicación nutricional, médica, cosmética o aplicación biológicamente relacionada, en el que el material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxilo (OH), en el que

M representa uno o más iones metálicos seleccionados entre Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} and Zr^{2+} ,

L representa uno o más ligandos que comprenden un ligando seleccionado entre un ácido carboxílico, maltol, etil maltol, vainillina, bicarbonato, sulfato, fosfato, silicato, borato, molibdato, seleniato, triptófano, glutamina, prolina, valina, histidina, folato, ascorbato, piridoxina, niacina, adipato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, benzoato y propionato, y

en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos L están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxilo y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxilo metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxilo por los ligandos es básicamente aleatoria;

en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando total tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles,

proceso que comprende:

- (a) mezclar el ión o los iones metálicos M y el ligando o los ligandos L en un medio de reacción a un primer pH(A) en el que los componentes son solubles;
- (b) cambiar el pH(A) a un segundo pH(B) para hacer que se forme un precipitado sólido del material de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando;
- (c) separar, y opcionalmente secar, el material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando producido en la etapa (b).
- (d) someter a ensayo la característica o características fisicoquímicas deseadas del material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando precipitado; y
- (e) repetir las etapas (a) a (d) cuando sea necesario variando uno o más de:

- (i) la identidad o concentración del ión o iones metálicos (M) y/o el ligando o ligandos (L) proporcionados en la etapa (a); y/o
- (ii) la proporción de ión o iones metálicos (M) a ligando o ligandos (L) proporcionados en (a); y/o
- (iii) pH(A); y/o
- (iv) pH(B); y/o
- (v) la tasa de cambio de pH(A) a pH(B); y/o
- (vi) la presencia o concentración de un tampón;

para producir de este modo un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que tiene la propiedad fisicoquímica deseada.

A continuación se proporcionan algunos ejemplos de iones metálicos y ligandos posibles. En algunas realizaciones, los materiales de la presente invención pueden usar más de una especie de ión metálico o ligando, por ejemplo dos, tres, cuatro o cinco especies diferentes de ión metálico o ligando. Además, en algunas realizaciones, el ligando o ligandos L también pueden tener una cierta capacidad de taponamiento como se describe con más detalle a continuación.

Como parte del proceso para optimizar una propiedad fisicoquímica deseada del material para mantener su aplicación, debe ser deseable variar las condiciones de reacción físicas o químicas usadas en el proceso para preparar el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando, por ejemplo la temperatura de la reacción, el contenido y la fuerza iónicas de la solución, capacidad de taponamiento de la solución (por ejemplo, usando un tampón tal como MOPS al igual que en los ejemplos), o las condiciones y aparatos usados para mezclar los reactivos, para determinar si y cómo afecta esto a una o más propiedades del material.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un proceso para preparar materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando para su administración a un sujeto, proceso que comprende haber optimizado un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando de acuerdo con el proceso como se desvela en el presente documento, la etapa adicional de preparación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en volumen y/o formulándolo en una composición.

En una realización, los procesos de la presente invención se han usado a modo de ejemplo para optimizar y producir composiciones de hierro férrico, por ejemplo para su uso como suplementos de hierro, agentes de fortalecimiento o agentes terapéuticos. Como se usa generalmente en la técnica, los suplementos son composiciones nutricionales que los sujetos ingieren para corregir, prevenir o garantizar una deficiencia de un mineral u otro componente dietético. Un agente de fortalecimiento es similar en cierto modo a un suplemento pero se aplica generalmente a composiciones que se añaden de forma rutinaria a productos alimenticios para aumentar su valor nutricional, por ejemplo la adición de yoduro a sal de mesa, vitaminas del grupo B a cereales de desayuno o hierro en productos de cereal. Además, las composiciones se pueden usar de forma terapéutica, normalmente en el contexto de prevención o tratamiento de una patología o afección causada por la deficiencia de un mineral otro componente dietético. En el caso del hierro, las composiciones de hierro férrico que se desvelan en el presente documento se pueden usar como suplementos, agentes de fortalecimiento o como composiciones terapéuticas, por ejemplo en el tratamiento de deficiencia de hierro en mujeres embarazadas o premenopáusicas, cáncer o enfermedad inflamatoria. Por lo general, tales agentes terapéuticos se administran por vía oral o por vía intravenosa.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición de hierro férrico para uso en terapia que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxilo (OH), en el que M representa uno o más iones metálicos que comprenden iones Fe^{3+} , L representa uno o más ligandos y en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos L están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxilo y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxi metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxilo por los ligandos es básicamente aleatoria, en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles.

Generalmente un suplemento de hierro dietético útil necesita compartir algunas características de las sales ferrosas sencillas, en particular un coste relativamente pequeño y que se pueden absorber de forma razonablemente bien, pero al mismo tiempo, son menos activas de forma redox y por lo tanto conducen a una baja incidencia de efectos secundarios. Algunas sales férricas no presentan esta desventaja ya que ya están oxidadas, y por lo tanto son menos propensas a una actividad redox porque el inicio de la reducción del riesgo en el lumen gastrointestinal es menos favorable que el inicio de la oxidación del hierro. Además, la reducción controlada en la mucosa del hierro férrico, a través de la proteína mucosal DcytB, puede proporcionar una etapa limitante de la tasa para la entrada del hierro en la circulación, que reduciría la producción de hierro no unido a transferrina en circulación (NTBI). El NTBI puede conducir al año oxida activo en la circulación, endotelio y los órganos más vasculares. Sin embargo, las sales férricas sencillas no son suplementos eficaces debido a que su rápida disolución en el estómago va seguida de polimerización oxo-hidroxi dependiente de la concentración en el intestino delgado que inhibe su

absorción. Por lo tanto, aunque se ha intentado usar sales de hierro férrico, por lo general cloruro férrico, como agentes de fortalecimiento en ciertos alimentos, éstas se absorben de forma escasa a las dosis de suplemento o terapéuticas debido a una administración incontrolada de iones férricos en el intestino delgado a dosis de bolo. La quelación del hierro férrico, por ejemplo con maltol, de ayudar a superar esta cuestión de solubilidad escasa en el intestino a la dosis en bolo, pero no se ha demostrado que sea comercialmente viable debido a los costos de producción (documento de patente WO 03/097627). Además existen preocupaciones sobre la seguridad de agentes quelantes tales como maltol. Las composiciones que se desvelan en el presente documento se modifican con ingeniería para superar tales problemas de absorción, seguridad, efectos secundarios y costes de producción. Por lo tanto, estos materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando se pueden modificar para que tengan distintos perfiles de disolución en el entorno del estómago en comparación con los del entorno del intestino delgado. De este modo, la rápida disolución en el estómago que a continuación conduce a la administración de bolo indeseable de hierro en el intestino delgado, cómo se produce para sales ferrosas y férricas simples, se puede evitar en el diseño de estos materiales. Tanto el pH de la solución como la tasa de disolución se pueden modificar por ingeniería para que se ajusten a los requisitos. De forma potencial, estos materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando en fase sólida se pueden modificar para 'percibir' requisitos de hierro. La absorción de desde el lumen del intestino y en la circulación se produce en individuos que necesitan hierro. En los que no necesitan hierro, normalmente habrá una absorción escasa o ninguna y en el lumen permanecerá más hierro. La disolución o la desagregación de estos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligandos fase sólida se podría 'ajustar' de modo que se disuelvan o desaparecen de forma eficaz en un entorno que es bajo en hierro acuoso, pero de forma ineficaz en un entorno que tiene hierro acuoso en cantidad elevada. De nuevo esto ayudaría a reducir los efectos secundarios sin comprometer la absorción en los individuos que necesitan hierro. Tantos si estos materiales se diseñan para su disolución o desagregación en condiciones gastrointestinales depende del modo óptimo de absorción de hierro en el intestino ya que tanto el hierro soluble como una cantidad muy pequeña de partículas de hierro acuosas se podrían absorber pero, de cualquier modo, los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando se podrían diseñar de este modo.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones para uso en terapia que comprenden un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando como se describe en el presente documento. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de una composición que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando como se describe en el presente documento para la preparación de un medicamento para administración terapéutica del ión metálico a un sujeto o para uso en la eliminación o inhibición terapéutica de una sustancia endógena presente en un sujeto que es capaz de unirse al material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando como se describe en el presente documento para uso en terapia para administración del ión metálico al sujeto o para uso en la eliminación o inhibición terapéutica de una sustancia endógena presente en un sujeto que es capaz de unirse al material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando.

Algunos ejemplos de los usos de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando que se desvelan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, usos tales como: suplementos y agentes de fortalecimiento minerales dietéticos; suplementos minerales terapéuticos (por ejemplo, tal como se administran mediante vías i.v. y oral); fármacos, nutrientes o vehículos/cocomplejos cosméticos; agentes de unión a fosfato; otras aplicaciones de unión o secuestro; aditivos alimentarios; antitranspirantes; agentes para la protección solar; adyuvantes de vacuna; agentes inmunomoduladores; aplicaciones cosméticas directas que incluyen agentes exfoliantes; rellenos/cementos para hueso y dientes; materiales para implante que incluyen braquiterapia, y agentes para formación de imágenes y contraste.

A continuación se describirán realizaciones de la presente invención a modo de ejemplo y no delimitación con referencia a las figuras y ejemplos adjuntos.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Ejemplos de los efectos de ligandos débiles (succinato, cuadrado cerrado), intermedios (malato, círculo abierto) y fuertes (maltol, triángulo cerrado) en la formación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando (A) y la desagregación de los materiales sólidos húmedos en tampones a pH 6 (barras de color negro) y pH 4 (barras de color gris) (B), usando el método que se describe en "ensayo de identificación sistemática". Las proporciones indicadas son proporciones de M:L que se seleccionaron para la formación de los materiales. La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 2: Efecto de diferentes ligandos en la evolución de la precipitación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando con pH creciente como se describe en el protocolo de valoración: sin ligando (círculo abierto), ácido tartárico (cuadrado cerrado) y ácido málico (triángulo cerrado). Todos se prepararon en MOPS 50 mM y NaCl al 0,9 % en p/v. La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 3: Ejemplo del efecto de la variación del pH de la solución final durante la preparación de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando en la desagregación de estos materiales húmedos a diferentes pH en los tampones indicados. Los materiales, en particular FeOHM-1:2-MOPS50, se prepararon siguiendo el protocolo de preparación que se describe en Métodos con NaCl al 0,9 % en p/v y pH final 6 (barras de color gris), pH 7 (barras con rayas) o pH 8 (barras de color negro). El porcentaje de precipitación obtenido fue de un 10 %, un 30 % y un 48 % respectivamente. La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 4: Ejemplo de cómo la presencia de un electrolito en la preparación de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando puede influir en la desagregación del material a cuatro pH diferentes en los tampones indicados. Los materiales se prepararon siguiendo el protocolo de preparación que se describe en Métodos y secando en horno. Los materiales, en particular FeOHT-4:1-MOPS50, se prepararon a un pH de la solución final de 6,5 y se formaron en ausencia de electrolito (barras de color gris, n = 2) o en presencia de NaCl al 0,9 % en p/v (barras con rayas, n = 1); el porcentaje de precipitación obtenido fue de un 97 % y un 98 % respectivamente (A). El material, en particular FeOHT-2:1-Niacina50, se preparó a un pH de la solución final de 3,2 en ausencia de electrolito (barras de color gris, n = 2) o en presencia de KCl al 0,9 % en p/v (barras de color negro, n = 2); el porcentaje de precipitación obtenido fue de un 88 % y un 91 % respectivamente (B). La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 5: Ejemplo de cómo el secado de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando puede influir en su desagregación a cuatro pH diferentes en los tampones indicados. Los materiales, en particular FeOHT-4:1-MOPS50, se prepararon siguiendo el protocolo de preparación que se describe en el método con un pH de la solución final de 6,5 en ausencia de electrolito. El porcentaje de precipitación obtenido era de un 97 %. La fase sólida se dividió en tres alícuotas y se secaron en el horno (barras de color gris, n = 2), o se liofilizaron (barras de color negro, n = 2) o se usaron húmedas (barras con rayas, n = 2). Nota: algunas barras de error son demasiado pequeñas para su visualización. Los datos que se muestran en las barras de color gris se han mostrado anteriormente en la Figura 4A. La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 6: Ejemplo del efecto de "ligando B" en la evolución de la precipitación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando con pH creciente en presencia (i) o ausencia (ii) de "ligando A", en particular ácido tartárico, a una proporción de M:LA de 4:1. El "ligando B" era cualquiera de ácido adípico 50 mM (cuadrados) o MOPS 50 mM (triángulos). Todas las valoraciones se realizaron siguiendo el protocolo que se describe en los métodos y en ausencia de electrolito. La concentración de hierro en la solución inicial (antes de la precipitación) era 27 mM.

Figura 7: Ejemplo del efecto del ligando B en la desagregación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando secados al horno cuatro tampones diferentes. Los materiales de poli oxo-hidroxi ión férrico modificados con tartrato a una proporción M:LA de 4:1, con tartrato siendo el ligando A (LA), se prepararon en presencia de diferentes ligandos B que eran MOPS 50 mM (barras de color gris, n = 2), ácido benzoico 20 mM (barras de color negro, n = 3) o niacina 50 mM (barras con rayas, n = 3) siguiendo el protocolo de preparación que se describe en Métodos en ausencia de electrolito. El porcentaje de precipitación obtenido era de un 97 %, un 94 % y un 100 % respectivamente. Nota: algunas barras de error son demasiado pequeñas para su visualización. Los datos indicados en las barras de color gris se han mostrado anteriormente en las Figuras 4A y 5.

Figura 8. Microanálisis de rayos X por dispersión de energía (EDX) de un material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando (FeOHT-3:1-Ad20) que muestra que la composición del material es predominantemente Fe y O con incorporación de C más a ediciones muy pequeñas de Na y Cl del electrolito usado (la señal de Cu se debe a la rejilla del soporte).

Figura 9. Espectros de infrarrojos habituales de oxo-hidróxido férrico sólido en (A), el oxo-hidróxido férrico modificado con tartrato en (B) (es decir, el material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando; FeOHT-4:1) y ácido tartárico en (C). La banda que corresponde al estiramiento del C=O del ácido tartárico (1712 cm^{-1} en el espectro C) se reemplaza por dos bandas (1356 y 1615 cm^{-1} en el espectro B) que muestra la presencia de enlace entre el grupo carboxilato del ácido tartárico y el hierro en el material de FeOHT-4:1. Obsérvese también la presencia de una banda ancha de aproximadamente 3350 cm^{-1} debida al estiramiento del -OH en los espectros A y B.

Figura 10. Porcentaje de desagregación (sin ultrafiltración, A) y disolución (con ultrafiltración, B) de hierro después del paso simulado a través del estómago durante el tiempo indicado. La técnica anterior se muestra con símbolos cerrados, en particular oxo-hidróxido férrico (cuadrados cerrados), Maltofer (círculos cerrados), sulfato ferroso (triángulos cerrados). Los materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando se muestran con símbolos abiertos, en particular FeOHT-3:1-Ad20 (diamantes abiertos) y que FeOHM-4:1-Bic25 (triángulos abiertos). Las barras de error representan STDEV (obsérvese que ciertas barras de rosa demasiado pequeñas para que sean visibles).

Figura 11. Imágenes de alta resolución de microscopía electrónica de transmisión de barrido con detector anular de campo oscuro gran angular corregidas con aberración (super-STEM) que muestran que las regiones cristalinas, organizadas se pueden discernir menos frecuentemente en materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando (por ejemplo, FeOH-TRP15 (B) y especialmente en FeOHT-2:1-TRP15 (C)) que en el oxo-hidróxido de hierro férrico de tamaño similar sin modificar (A).

Figura 12. Patrón de fracción de rayos X de Maltofer (A) y el material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando FeOHT-3:1-Ad20 (B) que muestra una clara presencia de estructura cristalina de oxo-hidróxido de hierro en Maltofer y una clara carencia de estructura cristalina detectable en FeOHT-3:1-Ad20, aparte del electrolito coprecipitado, cloruro sódico. Las líneas de referencia para el óxido de hierro y el cloruro sódico se muestran a continuación debajo de cada gráfico con fines de claridad.

Figura 13: Ejemplos del aumento de hierro en suero (A) y porcentaje de absorción de hierro (B) en voluntarios humanos después de la ingesta de sulfato ferroso, oxo-hidróxido férrico o diferentes materiales sólidos de poli oxo-hidroxi férrico modificados con ligando. A: sulfato ferroso (triángulo abierto, n = 30); FeOHT-3:1-Ad20 (símbolo +, n = 4); FeOHT-2:1-TRP15 (símbolo -, n = 4); FeOHAdipato100 (símbolo x, n = 2); FeOHHistidina100 (cuadrado cerrado, n = 2); FeOHM-4:1-Bic25 (cuadrado abierto, n = 3); FeOHGlucónico20 (triángulo cerrado, n = 3); FeOHT-2:1-Niacina50 (círculo abierto, n = 3); FeOH (círculo cerrado, n = 2). B: porcentaje de absorción de hierro (calculado como la incorporación de glóbulos rojos de ^{58}Fe dividido entre 0,80) a partir de oxo-hidróxido férrico o los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi férrico modificados con llegando (barras de color negro) en comparación con la absorción de hierro estimada a partir de sulfato ferroso para el mismo grupo de participantes en el estudio (barras abiertas). Las barras de error representan la ETM. El número de cada emparejamiento varía de 2 a 4, excepto para el sulfato ferroso en el grupo de FeOHHistidina100 que era de 1.

Figura 14: Desagregación de hierro durante el paso simulado a través del estómago y del duodeno de (A) compuestos de la técnica anterior: pirofosfato férrico (Diamante cerrado), cloruro férrico (Cuadrado cerrado), tri-maltol férrico (Triángulo cerrado), bisglicinato ferroso (Cuadrado abierto); y (B) una selección de compuestos sometidos a ensayo en nuestro estudio *in vivo* en la Figura 13: sulfato ferroso (Cuadrado abierto), FeOHT-3:1-Ad20 (Diamante abierto) y FeOHM-4:1-Bic25 (Círculo cerrado). Para detalles del protocolo véase el Ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro* en los Métodos.

Figura 15: Ejemplos del efecto de diferentes ligandos, a diferentes proporciones de M:L, en el porcentaje de desagregación de hierro (A) y en el porcentaje de disolución de hierro (B) de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando, después de 30 minutos de incubación al pH gástrico de 1,2 (barras de color negro, n = 3) o 60 minutos de incubación al pH intestinal de 7,0 (barras abiertas, n = 3); las barras de error representan las desviaciones estándar.

Figura 16: Evolución de la formación de los materiales de poli oxo-hidroxi férrico modificados con ligando, en particular FeOHT-2:1-Ad20, con pH creciente, como se describe en el protocolo de valoración en Métodos, y se expresa como el porcentaje de hierro total en la solución de partida. El porcentaje de hierro en el material agregado se muestra con los triángulos cerrados mientras que el porcentaje de hierro en las partículas de materiales tanto agregados como acuosos se muestra con el cuadrado cerrado. Nota: el hierro restante (es decir, hierro que no está en la forma de partícula agregada o acuosa) está en la fase soluble.

Figura 17: Ejemplo del efecto del ligando, proporción de M:L, y pH de la solución final de la formación en la desagregación de los materiales poli oxo-hidroxi ser ricos modificados con tartrato a través del ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro* modificado que se describe en los métodos. Las barras representan la distribución del tamaño de partícula de los materiales desagregados como un porcentaje del hierro total en la fase sólida. Los intervalos de tamaño determinados fueron < 5 nm (sección con rayas), 5-20 nm (sección de color gris), 20-300 nm (sección de color negro), y 1-10 μm (sección de color blanco).

Descripción detallada

El Ión Metálico (M)

Los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando se pueden representar con la fórmula $(\text{M}_x\text{L}_y(\text{OH})_n)$, en la que M representa uno o más iones metálicos. Normalmente, el ión metálico estará originalmente presente en forma de una sal que, en la preparación de los materiales, se puede disolver y a continuación inducir para formar cocomplejos de poli oxo-hidroxi con ligando (L) algunos de los cuales están integrados en la fase sólida a través de enlace M-L formal, es decir no todo ligando (L) está simplemente atrapado o adsorbido en el volumen del material. El enlace del ión metálico en los materiales se puede determinar usando técnicas fisicoanalíticas tales como espectroscopía con infrarrojos en la que los espectros tendrán picos característicos de los enlaces entre el ión metálico y el ligando (L), así como picos característicos de otros enlaces presentes en el material tales como M-O, O-H y enlaces en las especies ligando (L). Los iones metálicos preferentes (M) son biológicamente compatibles en las condiciones para las que se buscan los materiales y se pueden hacer precipitar fácilmente a partir de solución acuosa mediante la formación de oxo-hidróxidos. Algunos ejemplos de iones metálicos incluyen iones de hierro,

calcio, magnesio, cinc, cobre, manganeso, cromo y aluminio. Un ión metálico particularmente preferente es el hierro férrico (Fe^{3+}).

5 A modo de referencia para las composiciones de hierro férrico que se desvelan en el presente documento, la presencia de formación de enlaces formales es un aspecto que distingue principalmente los materiales de otros productos tales como complejo de "polimaltosa hierro" (Maltofer) en el que la partícula cristalina de oxo-hidróxido de hierro está rodeada por una cubierta de azúcar formada a partir de maltosa y por lo tanto sencillamente una mezcla de oxo-hidróxido de hierro y azúcar en el nivel nano (Heinrich (1975); Geisser y Müller (1987); Nielsen *et al.* (1994); Patente de Estados Unidos N° 3.076.798); documento de patente US20060205691). Además, los materiales de la
10 presente invención son especies de poli oxo-hidroxi metálicos modificados mediante la incorporación no estequiométrica de ligando y por lo tanto no se deberían confundir con los numerosos complejos de metal-ligando que están bien informados en la técnica (por ejemplo, véase el documento de patente WO 03/092674, documento de patente WO 06/037449). Aunque por lo general son solubles, tales complejos se pueden precipitar a partir de solución en el punto de sobresaturación, por ejemplo trimaltol férrico, Harvey *et al.* (1998), documento de patente WO 03/097627; citrato férrico, documento de patente WO 04/074444 y tartrato férrico, Bobtelsky y Jordan (1947) y,
15 en ocasiones, puede implicar incluso la unión estequiométrica de grupos hidroxilo (por ejemplo, hidróxido férrico sacárido, Patente de Estados Unidos N° 3.821.192). Por supuesto, el uso de grupos hidroxilo para equilibrar la carga y la geometría de los complejos de metal-ligando está bien informado en la técnica (por ejemplo, hidroxil-malato de hierro, documento de patente WO 04/050031) y sin relacionar con los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando informados en el presente documento.

20 Sin modificación, las partículas primarias de los materiales tienen núcleos de óxido metálico y superficies de hidróxido metálico y dentro de diferentes disciplinas se pueden denominar óxidos metálicos o hidróxidos metálicos. El uso del término 'oxo-hidroxi' u 'oxo-hidróxido' pretende reconocer estos hechos sin referencia alguna a las proporciones de grupos oxo o hidroxilo. Por lo tanto, se podría usar del mismo modo el término hidroxilo-óxido. Como se ha descrito anteriormente, los materiales de la presente invención están alterados en el nivel de la partícula primaria del oxo-hidróxido metálico con al menos algunos de los ligandos L que se están introduciendo en la estructura de la partícula primaria, es decir, que conduce al dopaje o contaminación de la partícula primaria con el ligando L. Esto se puede poner en contraste con la formación de nano-mezclas de oxo-hidróxidos metálicos y una molécula orgánica,
25 tales como complejos sacáridos de hierro, en los que la estructura de las partículas primarias no se altera de este modo.

30 Las partículas primarias de los materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando que se describen en el presente documento se producen mediante un proceso denominado precipitación. El uso del término precipitación se refiere a menudo la formación de agregados de materiales que se separan de la solución mediante sedimentación o centrifugación. Aquí, el término "precipitación" pretende describir la formación de todo material en fase sólida, incluyendo agregados como se ha descrito anteriormente y materiales sólidos que no se agregan pero que permanecen como restos no solubles en suspensión, tanto si se presentan o no como partículas, coloidales o sub-coloidales (nanopartículas). Estos últimos materiales sólidos también se pueden denominar partículas de sólido acuosas.
35

40 En la presente invención, se puede hacer referencia a los oxo-hidróxidos metálicos modificados que tienen estructuras poliméricas que generalmente se forman por encima del pH crítico de precipitación. Como se usa en el presente documento, esto no se debería tomar como indicativo de las estructuras de los materiales son poliméricas en el sentido estricto de que tienen una unidad de monómero de repetición regular porque, como ya se ha indicado, la incorporación del ligando, excepto por coincidencia, no es estequiométrica. La especie de ligandos se introduce en la estructura en fase sólida por sustitución de los grupos oxo o hidroxilo lo que conduce a un cambio en el orden en la fase sólida. En algunos casos, por ejemplo la producción de los materiales de hierro férrico que se usan a modo de ejemplo en el presente documento, la especie ligando L se puede introducir en la estructura en fase sólida mediante la sustitución de grupos oxo o hidroxilo por moléculas ligando de una forma tal que se disminuye el orden global en el material en fase sólida. Aunque esto todavía produce materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando que en su forma general tienen una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles, los materiales tienen una naturaleza más amorfa en comparación, por ejemplo, con la estructura del oxo-hidroxilo metálico correspondiente. La presencia de una estructura más desordenada o amorfa la puede determinar fácilmente la persona experta usando técnicas bien conocidas en la técnica. Una técnica a modo de ejemplo es la difracción por rayos X (XRD) que producirá un patrón decir que un rayos X para los materiales de hierro férrico que se usan a modo de ejemplo en el presente documento que tienen picos escasamente identificables para L o MO/MOH, dependiendo la XRD de una colocación regular de los átomos para difractar los rayos X y producir un patrón. Como alternativa o adicionalmente, una disminución de la cristalinidad de la estructura del material se puede determinar mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución. La microscopía electrónica de transmisión de alta resolución permite que se pueda evaluar de forma visual el patrón cristalino del material. Puede indicar el tamaño de partícula y la estructura primarios (tal como espaciado d) y puede proporcionar alguna información sobre la distribución entre el material amorfo y cristalino. Usando esta técnica, es evidente que la química esa descrita anteriormente aumenta la fase amorfa de nuestros materiales descritos en comparación con los materiales correspondientes sin el ligando incorporado. Es especialmente evidente cuando se usa microscopía electrónica de transmisión de barrido corregido con aberración con detector anular de campo oscuro gran angular debido al
45
50
55
60
65

contraste elevado conseguido a la vez que se mantiene la resolución lo que permite que de este modo se visualice la superficie así como el volumen de las partículas primarias del material.

5 La propiedad o características fisicoquímica reproducible de los materiales de la presente invención dependerá de ratificación para la que se destina el material. Algunos ejemplos de las propiedades que se pueden modular de forma útil usando la presente invención incluyen: disolución (tasa, dependencia del pH y dependencia del pM), desagregación, características de adsorción y absorción, reactividad-inercia, punto de fusión, temperatura resistencia, tamaño de partícula, magnetismo, propiedades eléctricas, densidad, propiedades de absorción/reflexión de la luz, dureza-blandura, propiedades de color y encapsulación. Algunos ejemplos de propiedades que son particularmente relevantes para el campo de los suplementos, agentes de fortalecimiento y agentes terapéuticos minerales son propiedades fisicoquímicas seleccionadas entre uno o más de un perfil de disolución, un perfil de adsorción o una proporción elemental reproducible. En este contexto, una propiedad característica se puede reproducir si los experimentos por replicado se pueden reproducir dentro de una desviación estándar preferentemente de $\pm 10\%$, y más preferentemente de $\pm 5\%$, e incluso más preferentemente dentro de un límite de $\pm 2\%$.

10 El perfil de disolución de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando se puede representar mediante diferentes etapas del proceso, en particular desagregación y disolución. El término disolución se usa para describir el paso de una sustancia desde una fase sólida a una fase soluble. De forma más específica, la desagregación pretende describir el paso de los materiales desde una fase agregada sólida hasta una fase acuosa que es la suma de la fase soluble y de la fase de partícula acuosa (es decir, fases de solución más suspensión). Por lo tanto, el término disolución por oposición a desagregación representa de forma más específica el paso desde cualquier fase sólida (agregada o acuosa) a la fase soluble.

20 Algunos ejemplos específicos preferentes de los iones metálicos (M) incluyen, pero no se limitan a, metales de los Grupos 2, 3 y 5 de la tabla periódica, los metales de transición, metales pesados y lantánidos. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a: Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} , Zr^{2+} . Además, muchos de estos cationes metálicos toman diferentes estados de oxidación de modo que también se observará que estos ejemplos no se limitan a los estados de oxidación que se muestran. En muchos casos, los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando comprende una sola especie de ión metálico, por ejemplo Fe^{3+} .

El Ligando (L)

35 En las especies de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligandos en fase sólida representadas con la fórmula $(\text{M}_x\text{L}_y(\text{OH})_n)$, L representa uno o más ligandos o aniones, tal como inicialmente en su forma protonada o forma de metal alcalino, que se puede incorporar en el material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en fase sólida. Por lo general, esto se realiza para ayudar en la modificación de una propiedad fisicoquímica del material sólido, por ejemplo en comparación con una especie de ión metálico poli oxo-hidroxilado en la que el ligando o ligandos están ausentes. En algunas realizaciones de la presente invención, el ligando o ligandos L también pueden tener una cierta capacidad de tamponamiento. Algunos ejemplos de ligandos que se pueden usar en la presente invención incluyen, pero en modo alguno se limitan a: ácidos carboxílicos tales como ácido adípico, ácido glutárico, ácido tartárico, ácido málico, ácido succínico, ácido aspártico, ácido pimélico, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido láctico o ácido benzoico; aditivos alimentarios tales como maltol, etil maltol o vainillina; 'aniones clásicos' con propiedades de ligando tales como bicarbonato, sulfato y fosfato; ligandos minerales tales como silicato, borato, molibdato y seleniato; aminoácidos tales como triptófano, glutamina, prolina, valina, o histidina; y ligandos basados en nutrientes tales como folato, ascorbato, piridoxina o niacina. Por lo general, en la técnica se puede reconocer bien que los ligandos tienen una afinidad elevada hacia un cierto ión metálico en solución o que tienen solamente baja afinidad o no se reconocen por lo general como un ligando para un ión metálico dado en absoluto. Sin embargo, los inventores han encontrado que en los materiales de poli oxo-hidroxi ión metálico, los ligandos pueden desempeñar un papel a pesar de su evidente falta de actividad en solución. Por lo general, se usan dos ligandos de diferentes afinidades para el ión metálico en la producción de estos materiales aunque uno, dos, tres, cuatro gomas ligandos pueden ser útiles en ciertas aplicaciones.

55 Para muchas aplicaciones, es necesario que los ligandos sean biológicamente compatibles en las condiciones usadas y generalmente que tengan uno o más átomos con un par de electrones libres en el punto de reacción. Los ligandos incluyen aniones, ligandos débiles ligandos fuertes. Los ligandos pueden tener una cierta capacidad de tamponamiento intrínseca durante la reacción. Sin desear quedar ligados por una explicación en particular, los inventores creen que los ligandos tienen dos modos de interacción: (a) sustitución de grupos hidroxilo y, por lo tanto, incorporación con un carácter ampliamente covalente dentro del material y (b) adsorción no específica (formación de par iónico). Estos dos modos se relacionan probablemente con diferentes afinidades de metal-ligando (es decir ligandos fuertes para el anterior y ligandos/aniones débiles para el último). Existe una cierta evidencia en el trabajo actual de los inventores distintos tipos de ligandos son si enérgicos en las características de modulación de la solución de los materiales y, quizá, por lo tanto, en la determinación de otras características del material. En este caso, se usan dos tipos de ligandos y se puede demostrar que al menos uno (tipo (a)) presenta enlace metálico dentro del material. La eficacia del ligando, probablemente en especial para ligandos de tipo (b), se puede ver

influida por otros componentes del sistema, en particular electrolitos.

La proporción de ión o iones metálicos del ligando o ligandos (L) también es un parámetro del material de poli oxo-hidroxi hierro metálico modificado colindando en fase sólida que se puede variar de acuerdo con los métodos que se desvelan en el presente documento para variar las propiedades de los materiales. Generalmente, las proporciones útiles de M:L estarán entre 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 y 1:1 y 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 o 1:10.

Grupos hidroxilo y oxo

La presente invención puede usar cualquier modo para formar iones hidróxido a concentraciones que se pueden proporcionar para grupos de superficie hidroxilo y unión por puente de oxo en la formación de estos materiales de poli oxo-hidroxi. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, soluciones alcalinas tales como hidróxido sódico, hidróxido potásico y bicarbonato sódico, que se añadirían para aumentar [OH] en una mezcla de ML, o soluciones ácidas tales como ácidos minerales o ácidos orgánicos, que se añadirían para disminuir [OH] en una mezcla de ML.

Condiciones usadas en el proceso

Las condiciones exactas de mezcla y precipitación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando variará dependiendo de las características deseables del material sólido. Algunas variables habituales son:

(1) pH de partida (es decir el pH en el que se mezclan M y L). Siempre se trata de un pH diferente al del comienzo de la polimerización de oxo-hidroxi. Preferentemente, es un pH más ácido, más preferentemente por debajo de un pH de 2.

(2) El pH en el que comienza la polimerización de oxo-hidroxi. Siempre se trata de un pH diferente al pH de partida. Preferentemente, es un pH menos ácido y lo más preferentemente es un pH superior a 2.

(3) pH final. Este siempre provocará la precipitación y puede provocar la aglomeración del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando y preferentemente será un pH superior al pH en el que comienza la polimerización de oxo-hidroxi. La persona experta observará que cuando existe una diferencia de pH entre el comienzo de la polimerización de oxo-hidroxi y el valor del pH final, la adición de M, L, OH⁻, H⁺, excipientes u otras sustancias adicionales se puede realizar antes de conseguir el valor del pH final.

(4) Tasa de cambio de pH desde el comienzo de la polimerización de oxo-hidroxi hasta la finalización de la reacción. Esto se producirá dentro de un periodo de 24 horas, preferentemente dentro de un periodo de una hora hizo más preferentemente dentro de 20 minutos.

Concentraciones de M y L. Aunque la concentración de OH se establece con el pH durante la polimerización de oxo-hidroxi, las concentraciones de M total y L total en el sistema se fijarán con las cantidades de partida en la mezcla de ML y el volumen de solución final. Por lo general, esto superará 10⁻⁶ molar tanto para M como para L y más preferentemente superará 10⁻³ molar. Las concentraciones de M y L son independientes y se eligen para una o más características deseadas del material final y especialmente de modo que la concentración de M no sea demasiado elevada de modo que la tasa de polimerización de oxo-hidroxi se produce demasiado rápidamente y evita la incorporación de L. De forma análoga, la concentración de L Notes será demasiado elevada para evitar la polimerización del oxo-hidroxi metal. Por ejemplo, los materiales de poli oxo-hidroxi modificados con ligando en los que M es hierro férrico se producen preferentemente con concentraciones de hierro de la solución inicial inferiores a 300 mM y lo más preferentemente inferiores a 200 mM, proporcionando intervalos de concentraciones de hierro férrico entre 1 mM y 300 mM, más preferentemente entre 20 mM y 200 mM, y lo más preferentemente de aproximadamente 40 mM.

(5) Fase de solución. La solución preferente para este trabajo es acuosa y lo más preferentemente es agua.

(6) Tampón. La solución puede tener un tampón añadido para ayudar a estabilizar el intervalo de pH de la polimerización oxo-hidroxi. Los tampones pueden ser inorgánicos u orgánicos, y en algunas realizaciones no estarán implicados en la formación de enlaces formales con el ión o iones metálicos M del material en fase sólida. Como alternativa, uno o más de los ligandos L implicados en la formación de enlaces formales con el ión o iones metálicos M del material en fase sólida pueden tener una cierta capacidad de tamponamiento que además es favorable para conseguir la composición deseada del material final. Las concentraciones del tampón son inferiores a 500 mM, preferentemente inferiores a 200 mM y lo más preferentemente inferiores a 100 mM.

(7) Temperatura. La temperatura preferente es superior 0 e inferior a 100 °C, por lo general entre temperatura ambiente (20-30 °C) y 100 °C, lo más habitualmente a temperatura ambiente.

(8) Fuerza iónica. En el procedimiento se pueden usar electrolitos tales como, pero no se limitan a, cloruro potásico y cloruro sódico. Por lo tanto, la fuerza iónica de la solución puede variar de la que solamente se deriva de los componentes y condiciones que se han expuesto en (1)-(8) mencionados anteriormente o a partir de la adición adicional de electrolito que puede ser hasta un 10 % (p/v), preferentemente hasta un 2 %, y lo más preferentemente < 1 %.

(9) Alcance de la mezcla de los componentes. Este apartado se refiere principalmente al grado de agitación y preferentemente se consigue la agitación de modo que las soluciones de partida (es decir M, L y tampón) se mezclan rápidamente y se mantienen homogéneas durante todo el procedimiento.

Para los expertos en la materia será evidente que aunque todas las variables mencionadas anteriormente pueden controlar la naturaleza fisicoquímica del precipitado, variables adicionales tales como el sistema de recogida y/o

excipientes usados para la recuperación del precipitado, que pueden implicarla inhibición significativa de aglomeración, su secado y su molienda pueden influir posteriormente en las propiedades del material. Sin embargo, estas son variables generales para cualquier sistema tal como para extracción de sólido a partir de una fase de solución. Después de la separación del material precipitado, éste se quede secar opcionalmente antes del uso de la formulación adicional. Sin embargo, el producto seco puede retener una cierta cantidad de agua y puede estar en forma de un material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en fase sólida hidratado. Para los expertos en la materia será evidente que en cualquiera de las etapas que se describen en el presente documento para la recuperación de la fase sólida, se pueden añadir excipientes que se mezclan con el material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando pero no modifican la partícula primaria y se usan desde el punto de vista de la optimización de la formulación para la función pretendida del material. Algunos ejemplos de estos podrían ser, pero no se limitan a, glucolípidos, fosfolípidos (por ejemplo, fosfatidil colina), azúcares y polisacáridos, halcones de azúcar (por ejemplo, glicerol), polímeros (por ejemplo, polietilenglicol (PEG)) y ácido taurocólico.

Formulaciones y Usos

Los materiales en fase sólida de la presente invención se pueden formular para uso en una gama de aplicaciones biológicamente relevantes, que incluyen la formulación para uso como composiciones farmacéuticas, nutricionales, cosméticas o de higiene personal. Las composiciones de la presente invención pueden comprender, además de uno o más de los materiales en fase sólida de la invención, un excipiente, vehículo, tampón, estabilizante u otros materiales farmacéuticamente aceptables en conocidos por los expertos en la materia. tales materiales no deberían ser tóxicos y no deberían interferir con la eficacia de los materiales en fase sólida para la aplicación en cuestión.

La naturaleza precisa del vehículo u otro componente puede estar relacionada con el modo o vía de administración de la composición. Estas composiciones en administrar mediante una serie de vías de administración que incluyen, pero no se limitan a: administración gastrointestinal, que incluye por vía oral y por recto; administración parenteral, que incluye inyección; administración dérmica que incluye parches, cremas, etc; administración mucosal, que incluye nasal, inhalación y a través de supositorios vaginales; o mediante implante en sitios específicos, incluyendo prótesis que se pueden usar para este fin o principalmente para otro fin pero que tienen este beneficio.

Las composiciones farmacéuticas para administración oral se pueden presentar en una forma de comprimido, cápsula, polvo, gel o líquida. Un comprimido puede incluir un vehículo sólido tal como gelatina o una adyuvante. Las cápsulas pueden tener propiedades especializadas tales como un revestimiento entérico. Las composiciones farmacéuticas líquidas incluyen generalmente un vehículo líquido tal como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. También se puede incluir solución salina fisiológica, dextrosa u otra solución de sacárido o glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Cuando es necesario mantener el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en una forma sólida, por ejemplo para controlar la administración de un componente del material, puede ser necesario seleccionar componentes de la formulación en consecuencia, por ejemplo cuando se prepara una formulación líquida del material.

Para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o inyección en el sitio en el que se tiene problema, el principio activo estará en forma de una solución o suspensión acuosa parenteralmente aceptable que está libre de pirógenos y tiene un pH, isotonicidad y estabilidad adecuados. Las personas con experiencia relevante en la materia son bien capaces de preparar soluciones adecuadas usando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como Inyección de Cloruro Sódico, Inyección de Ringer, Inyección de Ringer Lactada. Si fuera necesario, también se pueden incluir conservantes, estabilizantes, tampones, antioxidantes y/o otros aditivos.

Los materiales y las composiciones usados de acuerdo con la presente invención que se van a administrar a un individuo se administran preferentemente en una "cantidad profilácticamente eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" (según pueda ser el caso, aunque la profilaxis se puede considerar terapia), siendo esto suficiente para mostrar beneficio en el individuo (por ejemplo, biodisponibilidad). La cantidad real administrada, y la tasa y transcurso de tiempo de la administración, dependerán de la naturaleza y gravedad de lo que se está tratando. La prescripción del tratamiento, por ejemplo decisiones sobre la dosificación, etc, está dentro de la responsabilidad de los profesionales generales otros doctores en medicina, y por lo general tiene en cuenta el trastorno a tratar, la afección del paciente individual, el sitio de administración, el método de administración y otros factores conocidos por los expertos. Algunos ejemplos de las técnicas y protocolos que se han mencionado anteriormente se pueden encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª Edición, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins. Una composición se puede administrar sola o en combinación con otros tratamientos, de forma simultánea o secuencial, dependiendo de la afección a tratar.

Algunos ejemplos de los usos de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando que se desvelan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, usos como: suplementos y agentes de fortalecimiento minerales dietéticos; suplementos minerales terapéuticos (por ejemplo, que se administran por las vías i.v. y oral); fármacos, nutrientes o vehículos/cocomplejos cosméticos; agentes de unión a fosfato; otras aplicaciones de unión o secuestro; aditivos alimentarios; antitranspirantes; agentes para la protección solar; adyuvantes de vacuna; agentes inmunomoduladores; aplicaciones cosméticas directas que incluyen agentes exfoliantes; rellenos/cementos para hueso y dientes; materiales para implante que incluyen braquiterapia, y agentes

para formación de imágenes y contraste.

Los materiales de poli oxo-hidroxiilo modificados con ligando se pueden usar como suplementos para beneficio nutricional o médico. En este área, existen tres ejemplos principales:

(i) Suplementos terapéuticos (con receta), que se administran generalmente por las vías oral o i.v. para el tratamiento de indicaciones que incluyen anemia por deficiencia de hierro, deficiencia de hierro y anemia de enfermedad crónica. La administración terapéutica de materiales de la presente invención puede ser en conjunto con otras terapias y especialmente con el uso simultáneo de eritropoyetina.

(ii) Nutricionales (suplementos autoprescritos/adquiridos) que son normalmente para administración oral.

(iii) Agentes de fortalecimiento. Estos pueden ser formas tradicionales – en términos de su adición al alimento antes de su adquisición - o formas de agentes de fortalecimiento más recientes tales como 'Sustancias para espolvorear' que se añaden (como sal o pimienta) al alimento en el momento de la ingestión.

En todos los formatos, pero lo más especialmente para agentes de fortalecimiento, la formulación posterior, tal como adición de un revestimiento protector (por ejemplo, lípido), puede ser necesaria para hacer que el material sea compatible con su uso pretendido. Además, cualquiera de estas formas de suplementos se pueden coformular, por incorporación dentro del material a través del uso del material o materiales coformulados como ligando o ligandos o a través de atrapamiento/encapsulación de dichos materiales, o simplemente a través de la coadministración de dichos materiales.

Como se describe en el presente documento, una solicitud en particular de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando de la presente invención es para el tratamiento de deficiencias de minerales, por ejemplo deficiencia de hierro. En una aplicación alternativa, los materiales se pueden usar para unirse o secuestrar un componente presente en un individuo. A modo de ejemplo, las composiciones de hierro férrico que se desvelan en el presente documento se pueden usar para administrar hierro a un individuo para uso en la profilaxis o tratamiento de deficiencia de hierro o anemia por deficiencia de hierro de la peseta de sospechar, o diagnosticar a través de técnicas de química hematológicas y clínicas convencionales. La deficiencia de hierro en la anemia por deficiencia de hierro se puede producir en aislamiento, por ejemplo debido a una nutrición inadecuada o debido a pérdidas de hierro excesivas, o se pueden asociar con tensiones tales como el embarazo o la lactancia, o se pueden asociar con enfermedades tales como trastornos inflamatorios, cánceres e insuficiencia renal. Además, existe la evidencia de que la eritropoyesis reducida asociada con anemia de enfermedades crónicas se puede mejorar o corregir mediante la administración eficaz de hierro sistémico y la coadministración de hierro con eritropoyetina y sus análogos pueden ser especialmente eficaces para superar la actividad eritropoyética reducida. Por lo tanto, a modo de ejemplo adicional, las composiciones de hierro férrico que se desvelan en el presente documento se pueden usar para administrar hierro a un individuo para uso en el tratamiento de la actividad eritropoyética subóptima tal como en anemia de enfermedades crónicas. La anemia de enfermedades crónicas se puede asociar con afecciones tales como insuficiencia renal, cáncer y trastornos inflamatorios. Como se ha indicado anteriormente, la deficiencia de hierro también se puede producir normalmente en estos trastornos por lo que se deduce que un tratamiento a través de suplementos de hierro puede tratar solamente la deficiencia de hierro y/o anemia de enfermedades crónicas. Los expertos en la materia reconocerán que los ejemplos mencionados anteriormente de los usos médicos de suplementos de hierro no son limitantes en modo alguno.

Descripción Experimental

Introducción

Los materiales basados en minerales inorgánicos tienen amplias aplicaciones biológicas que incluyen: suplementos dietéticos, agentes de unión a fosfato, antiácidos, adyuvantes inmunes (alumbre) y antitranspirantes (alumbre). A menudo éstos se coformulan de un modo tal que las propiedades fisicoquímicas del mineral, tales como tasas de disolución y/o desagregación, se alteran modestamente en un intento para aumentar su eficacia. Sin embargo, los inventores han descubierto un procedimiento través del cual la estructura real, al nivel de la partícula primaria (la unidad primaria dentro de la estructura de la red cristalina), se puede modificar dentro de minerales de óxido/hidróxido. Esta formación de nanoestructuras puede conducir a cambios profundos en las características del mineral y se puede mejorar para proporcionar minerales con características fisicoquímicas especificadas específicamente. Además, la metodología es barata y se puede aplicar a gran escala si fuera necesario. Todos los agentes de modificación son ligandos de calidad alimentaria, biológicamente compatibles que permiten la introducción rápida de nuevos materiales sujetos humanos. Un ejemplo de estos materiales es la producción de una nueva clase de suplementos de hierro que pueden tener aplicaciones terapéuticas por vía parenteral y oral, así como papeles extendidos como agentes de fortalecimiento y suplementos dietéticos.

Con suplementos, los inventores creen que una propiedad deseable es que la tasa de absorción de nutrientes se imita a la observada para el mismo nutriente cuando se ingiere en un alimento. Por ejemplo, con hierro, la tasa de absorción de hierro en la dieta se puede controlar a través de la tasa de disolución del hierro. En los siguientes

ejemplos, los inventores han producido una serie de diferentes materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando usando el proceso de la presente invención, con el objetivo de identificar composiciones que liberan hierro de una forma controlada. El objetivo es que la tasa de disolución permita que el hierro férrico se ha donado por la reductasa mucosal (DcytB) de una manera que se evite el aumento de hierro en el lumen o absorción de bolo en la circulación – ninguno de los cuales son deseables. Por lo tanto, las composiciones de hierro férrico de la presente invención deberían presentar efectos secundarios gastrointestinales menores ya que no experimentarían ciclados redox superficial en el intestino. Además, existe alcance para diseñar las composiciones a que se disuelvan de forma diferencial al pH gástrico frente al pH intestinal. También existe la posibilidad de adaptar las composiciones para que se disuelvan a diferentes tasas dependiendo de la concentración de hierro en la solución local (por ejemplo, el lumen del intestino), tal como las composiciones pueden 'percibir' requisitos de hierro del entorno y por lo tanto requisitos de hierro del individuo. El hierro luminal sin absorber, restante no estaría disponible en gran medida para la reactividad redox indeseable dentro del lumen y pasaría de forma inocua en las heces.

Nomenclatura de los materiales

A lo largo de los ejemplos, se adoptó la nomenclatura $\text{FeOHL}_A\text{-i:j-L}_B\text{k}$ para describir la preparación de materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando; en la que L_A se refiere al ligando con mayor afinidad en solución y L_B aliviando con menor afinidad en solución hacia el hierro. La proporción i:j se refiere a la proporción molar entre el hierro (Fe) y el ligando A (L_A) y k se refiere a la concentración (mM) de ligando B (L_B) en solución antes de la precipitación de materiales de poli oxo-hidroxi férrico modificados con ligando. Cuando solamente estaba presente un ligando más débil (ligando B) la nomenclatura usada fue $\text{FeOH L}_B\text{k}$. Por ejemplo, el material definido como FeOHT-3:1-Ad20 se preparó usando una proporción molar de tres Fe a un tartrato y una concentración de adipato de 20 mM. La concentración de hierro en solución era 40 mM a menos que se indique de otro modo en las leyendas de la figura.

Materiales

Todos los productos químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich, Dorset, UK, a menos que se indique de otro modo. Todo el material de laboratorio era de polipropileno. Los materiales usados en la preparación de los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando para el estudio *in vivo* se prepararon con productos químicos de calidad alimentaria o productos químicos de calidad farmacéutica también de Sigma-Aldrich, con la excepción del hierro elemental ^{58}Fe usado en la preparación del cloruro férrico ^{58}Fe que se adquirió en Chemgas, Boulogne, Francia.

Métodos

Identificación sistemática

Una serie de ligandos dietéticos se sometió a ensayo en un ensayo de identificación sistemática para sus efectos en la formación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi ión metálico modificados con ligando. En resumen, en un tubo de centrífuga, un volumen fijo de solución de reserva de hierro férrico (FeCl_3 400 mM con MOPS 50 mM, pH 1,4) se mezcló con volúmenes variables de una solución de reserva de ligando (400 mM con la excepción del maltol que era 200 mM, más MOPS a 50 mM y NaCl al 0,9 %) para obtener la proporción deseada de metal: ligando. A continuación, los volúmenes se ajustaron del mismo modo hasta igualdad con una solución de MOPS 50 mM y NaCl al 0,9 %. Todas las soluciones obtenidas en esta etapa eran totalmente solubles a $\text{pH} < 2,0$. Se tomó una pequeña alícuota para confirmar la concentración de partida de hierro y a continuación el pH se elevó hasta $\sim 6,5$ mediante la adición gota a gota de NaOH concentrado para evitar cambios de volumen elevados. Después de centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos, se tomó una alícuota de sobrenadante para analizar el hierro restante en solución. El sobrenadante restante se descartó y a continuación se añadió un volumen fijo de solución tampón a pH 6 (MOPS 10 mM) o pH 4 (ácido acético 10 mM) al sólido húmedo de cada tubo y se incubó durante una noche a temperatura ambiente. Los tubos se centrifugaron a continuación (2500 rpm durante 10 minutos) y se tomó una alícuota de sobrenadante para determinar el hierro que estaba desagregado. La concentración de hierro en cada alícuota se midió mediante análisis de ICPOES.

Experimentos de valoración

Una solución de reserva concentrada ácida de hierro (como cloruro férrico) se añadió a una solución que contiene cualquiera del ligando A, ligando B o tanto ligando A como B a concentraciones apropiadas para obtener las proporciones de M:L deseadas. En algunos casos también se añadió un 0,9 % en p/v de electrolito (por ejemplo NaCl o KCl). La solución se mezcló cuidadosamente y se recogió una alícuota para análisis de la concentración del "hierro de partida". El pH de la solución siempre era $< 2,0$ y el hierro estaba totalmente solubilizado. A continuación, el pH se elevó lentamente mediante la adición gota a gota de una solución concentrada de NaOH con agitación constante hasta que la mezcla alcanzó un pH básico (generalmente $> 8,0$). A diferentes puntos durante la valoración, se recogió una alícuota homogénea (1 ml) de la mezcla y se transfirió a un tubo Eppendorf. Cualquier agregado formado se separó de la solución por centrifugación (10 minutos a 13000 rpm). La concentración de hierro en el sobrenadante se evaluó por ICPOES. En algunos casos, el sobrenadante se analizó para la presencia de partícula

de hierro acuoso y se midió la distribución por tamaño (véase a continuación). Cuando la partícula de hierro acuosa estaba presente, el sobrenadante se ultrafiltró (membrana Vivaspin de polietersulfona de punto de corte de peso molecular de 3.000 Da, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Goettingen, Alemania) y la concentración de hierro en el filtrado, es decir "hierro soluble", se analizó por ICPOES.

5

Preparación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando

Los materiales se prepararon siguiendo un protocolo similar al del experimento de valoración que se ha descrito anteriormente. En resumen. Una solución de reserva concentrada ácida de hierro se añadió a una solución que contiene cualquiera del ligando A, ligando B o tanto el ligando A como B. En algunos casos también se añadió un 0,9 % en p/v de electrolito. El "pH de partida" de la solución siempre era < 2,0, y el hierro estaba totalmente solubilizado. A continuación, el pH se elevó lentamente mediante la adición gota a gota de una solución concentrada de NaOH con agitación constante hasta que se alcanzó el pH final deseado.

10

15

Cuando el material sólido se preparó como un sedimento, toda la mezcla se transfirió a continuación a un tubo de centrífuga y se centrifugó a 4500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se descartó y la fase sólida agregada se recogió en una placa de Petri. Cuando fue necesario, el sólido se secó a continuación en un horno a 45 °C durante un mínimo de 8 horas. Como alternativa, la mezcla (precipitado y sobrenadante) se liofilizó a -20 °C y 0,04 kPa.

20

25

Cuando el material sólido se prepara como partículas de material acuoso, la mezcla total se liofilizó como se ha mencionado anteriormente, o se concentró por ultrafiltración (Vivaspin de polietersulfona de punto de corte de peso molecular de 3.000 Da, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Goettingen, Alemania) y a continuación se secó al aire en un horno a 45 °C durante un periodo mínimo de 8 horas. En algunos casos la mezcla se dializó (membrana Spectra/pro 7 de celulosa regenerada de 1.000 Da, Cole-Parmer, Londres, UK) en agua para retirar el exceso de hierro, ligandos y electrolitos antes de experimentar uno de los procesos de secado que se han descrito anteriormente.

30

Cuando se usa bicarbonato como ligando B, se usó una variación de este protocolo para evitar la liberación de CO₂ de la transformación de bicarbonato a pH ácido. La solución de partida que contiene el ligando A (cuando se pueda aplicar) y bicarbonato se preparó a pH 8,5. El volumen apropiado de solución de reserva concentrada ácida de hierro se añadió a continuación gota a gota junto con gránulos de NaOH (añadidos progresivamente a la mezcla según sea necesario) para mantener siempre un pH >7,5. El pH final de la preparación era 8,5.

35

Ensayo de desagregación

Se añadieron cantidades conocidas de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando en tubos (aproximadamente 3 mg de hierro por tubo). A continuación, se añadieron 3 ml de tampón (véase a continuación) y los tubos se agitaron vigorosamente y se incubaron a temperatura ambiente durante una noche. Después de centrifugación a 4500 rpm durante 15 minutos para separar la fase sólida agregada de la fase acuosa, se recogió una alícuota de sobrenadante para medir la concentración de hierro desagregado. El sobrenadante restante se descartó. La masa del material restante (es decir, el sedimento húmedo) se registró. Se añadió HNO₃ concentrado a este sedimento y se registró la nueva masa. Los tubos se dejaron a temperatura ambiente hasta que todo el sedimento se disolvió y se recogió una alícuota para análisis de ICPOES para determinar la concentración de hierro en el sedimento húmedo.

45

Los tampones eran cualquiera de MOPS 50 mM con NaCl al 0,9 % a pH 7,0; ácido maleico 50 mM con NaCl al 0,9 % a pH 5,8-6,0 y 1,8-2,2; acetato sódico 50 mM/ácido acético glacial 50 mM con NaCl al 0,9 % a pH 4,0-4,5.

50

Ensayo de digestión gastrointestinal in vitro

Una cantidad de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando o materiales de hierro de control, en particular sulfato ferroso, cloruro férrico, u oxo-hidróxido férrico sin modificar, equivalente a 60 mg de hierro elemental, se añadió a una solución gástrica (estómago) sintética (50 ml de 2 g/l de NaCl, HCl 0,15 M y 0,3 mg/ml de pepsina porcina) y se incubó a 37 °C durante 30 minutos con agitación radial. A continuación, se añadieron 5 ml de la mezcla gástrica resultante a 30 ml de solución duodenal sintética (que contiene 10 g/l de pancreatina y 2 g/l de NaCl en tampón de bicarbonato 50 mM a pH 9,5). El volumen final era 35 ml y el pH final era 7,0. La mezcla se incubó a 37 °C durante 60 min con agitación radial. Se recogieron alícuotas homogéneas (1 ml) a diferentes puntos temporales durante el proceso y se centrifugó a 13.000 rpm durante 10 minutos para separar las fases agregada y acuosa. El sobrenadante se analizó para el contenido de hierro por ICPOES. Al final del experimento, la solución restante se centrifugó a 4.500 rpm durante 15 min y el sobrenadante se analizó para contenido de Fe por ICPOES. La masa del material restante (es decir, el sedimento húmedo) se registró. Se añadió HNO₃ concentrado a este sedimento húmedo y la nueva masa se registró. Los tubos dejaron a temperatura ambiente hasta que todo el sedimento se disolvió y se recogió una alícuota para análisis de ICPOES para determinar la cantidad de hierro que no se desagregaba / disolvía. La cantidad de partida de hierro se calculó a partir de hierro en el sedimento aumentó más de hierro en el sobrenadante.

65

Para diferenciar entre hierro soluble y partículas de hierro acuoso en el sobrenadante, en cada punto temporal, esta fracción también se ultrafiltró (membrana Vivaspin de polietersulfona de punto de corte de peso molecular de 3.000 Da, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Goettingen, Alemania) y de nuevo se analizó por ICPOES.

- 5 La digestión gastrointestinal de preparaciones comerciales de hierro también se sometió a ensayo con este ensayo usando la dosis de hierro total recomendada por los fabricantes: 14 mg de pirofosfato férrico (Lipofer, Boots); 20 mg de bisglicinato ferroso (Gentle iron, Solgar); 80 mg de complejo de hidróxido férrico y polimaltosa (Maltofer, Ferrum Hausmann); 30 mg de tri-maltol férrico (Trimaltol, Iron Unlimited).

10 *Ensayo de digestión gastrointestinal in vitro modificado*

El tamaño de partícula de los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando en condiciones gástricas e intestinales simuladas se determinó usando un "ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro*" en el que no había proteína en solución. La ausencia de proteínas era necesaria para medir el tamaño de partícula ya que éstas interfieren con la medida pero el procedimiento era idéntico de otro modo al "ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro*" con alícuotas adicionales que se recogen a diversos puntos temporales para la determinación del tamaño de partícula.

20 *Análisis de Espectroscopía de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICPOES)*

Los contenidos de hierro de soluciones o sólidos (incluyendo sólidos húmedos) se midieron usando un JY2000-2 para ICPOES (Horiba Jobin Yvon Ltd., Stanmore, U.K.) a la longitud de onda especificada para el hierro de 259,940 nm. Las soluciones se diluyeron en ácido nítrico al 5 % antes del análisis mientras que los sólidos se digirieron con HNO₃ concentrado. El porcentaje de hierro en solución o fase sólida se determinó mediante la diferencia entre el contenido de hierro de partida y cualquiera del hierro en la fase soluble por el hierro en la fase sólida dependiendo del ensayo.

Determinación del tamaño de partícula

30 La distribución del tamaño de partículas de tamaño micrométrico se determinó usando un Mastersizer 2000 con una unidad de dispersión Hydro- μ P (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) y las partículas de tamaño nanométrico se determinaron con un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK). Las medidas del Mastersizer no necesitaron tratamiento previo de la muestra mientras que fue necesaria centrifugación para retirar partículas grandes antes de las medidas con Zetasizer.

35

Análisis estructural

Microscopía de Transmisión Electrónica y Análisis de rayos X de Energía Dispersiva (EDX)

40 Las muestras de polvo se analizaron dispersando primero el polvo en metanol y a continuación moldeando gota a gota en películas de soporte de TEM de carbón holey (perforadas) convencionales. Los comprimidos comerciales se analizaron del mismo modo pero primero se trituraron para liberar el polvo. El análisis se realizó en el Instituto para Investigación de Materiales, Universidad de Leeds, UK.

45 *Microscopía Electrónica de Transmisión de Barrido*

Las muestras de polvo se analizaron dispersando primero el polvo en metanol y a continuación moldeando gota a gota en películas de soporte de TEM de carbón holey (perforadas) convencionales. Los comprimidos comerciales se analizaron del mismo modo pero primero se trituraron para liberar el polvo. El análisis se realizó mediante microscopía electrónica de transmisión de barrido corregida con aberración (Daresbury; superSTEM).

50

Análisis de Infrarrojos (IR)

Los espectros de IR se recogieron usando un accesorio ATR de diamante DurasampIR con un espectrómetro Nicolet Avatar 360 con un intervalo de longitudes de onda de 4000-650 cm⁻¹ y resolución de 4 cm⁻¹. El análisis se realizó en ITS Testing Services (UK) Ltd, Sunbury on Thames, UK.

55

Análisis de Difracción de Rayos X

60 Las muestras se analizaron como polvos secos. Los comprimidos comerciales se trituraron para liberar el polvo. El análisis de un análisis de difracción de rayos X en la Universidad de Cambridge usando un X'Pert PW3020 de Philips (theta/2theta, 2 motores) con tiempo de barrido de hasta 14 horas y 5-70° 2theta en CuK α .

Estudio de absorción *in vivo**Sujetos*

5 Se reclutaron mujeres jóvenes sanas (18-45 años de edad) con anemia por deficiencia de hierro leve (definida como hemoglobina entre 10-11,9 g/dl más cualquiera de ferritina en suero inferior a 20 µg/l o saturación de transferrina inferior a un 10 %); o clara deficiencia de hierro (definida como ferritina en suero inferior a 12 µg/l) para formar parte en el estudio. Los criterios de exclusión eran embarazo o lactancia y enfermedad celiaca conocida, anemia moderada/grave (niveles de hemoglobina < 10 g/dl), enfermedad cardiovascular, enfermedad respiratoria crónica, enfermedad hepática crónica, enfermedad renal, infección crónica, o inflamación crónica. Otros criterios de exclusión fueron: cirugía en los últimos tres meses, diagnóstico de cáncer en los últimos diez años, historia conocida de hemocromatosis hereditaria o hemoglobinopatías, medicación actual que pudiera alterar el metabolismo del hierro, donación de sangre/pérdida severa de sangre recientes (en los últimos 3 meses). Se pidió a los sujetos que consumían vitaminas y suplementos minerales habitualmente que dejaran en los suplementos 2 semanas antes que la identificación sistemática para el estudio. Se obtuvo consentimiento informado por escrito de todos los sujetos. El protocolo de estudio se aprobó en el Suffolk Local Research Ethics Committee.

Diseño del estudio

20 El tratamiento experimental era cualquiera de una dosis de material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con ligando marcado con ⁵⁸Fe (60 mg de hierro total) o sulfato ferroso (65 mg de hierro total). El sulfato ferroso se usa como una dosis de referencia para controlar a los individuos que tiene peor capacidad de absorción (definidos como los que no tienen área bajo la curva (AUC) neta significativa para hierro en plasma después de ingesta de sulfato ferroso). Se usó un diseño de estudio cruzado con cada voluntario que actuaba como su propio control.

25 La absorción de Fe se basaba en la incorporación de eritrocitos de la marca del isótopo estable de ⁵⁸Fe 14 días después de la ingesta de los compuestos de ensayo de hierro marcados. Los compuestos de ensayo y el compuesto de referencia (sulfato ferroso) se tomaron (con o sin desayuno), en condiciones estrictamente estandarizadas y supervisión cercana, después de un periodo de ayunas de una noche con intervalo de 14 días. No se permitió la ingesta de alimento o fluidos (excepto agua) durante 4 h después de la ingesta del compuesto de hierro.

30 Se tomaron diez muestras de sangre (12 ml) durante cada una de las 2 visitas para determinar la absorción de Fe en los siguientes intervalos de tiempo: antes de la ingesta y 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 minutos después de la ingesta del compuesto de hierro. Una muestra de sangre adicional se tomó en la medida inicial (antes de la ingesta) para confirmar el estado de hierro (recuento de sangre total, ferritina, receptor soluble de transferrina, saturación de transferrina) y para determinar la incorporación de ⁵⁸Fe en eritrocitos.

35 La concentración de hierro en suero total se analizó con un procedimiento de química clínica convencional basándose en el método de Smith *et al.*, usando el cromóforo Ferene[®].

40 La incorporación de RBC de ⁵⁸Fe se determinó usando DRC más un Espectrómetro de Masas Acoplado Inductivamente Elan (Perkin Elmer Sciex, Beaconsfield, UK). El sistema de introducción de muestras consistía en un nebulizador con ranura en forma de V, una cámara de pulverización de doble paso, una antorcha de cuarzo desmontable, y un inyector de cuarzo (diámetro interno de 2 mm). Para todos los análisis se usaron muestreados con punta de platino y conos de separación (Perkin Elmer Sciex, Beaconsfield, UK). Se recogieron muestras de sangre completa de la medida inicial de los participantes en el estudio inmediatamente antes de la administración de un suplemento de Fe oral de 60 mg marcado con 2 mg de ⁵⁸Fe, y una segunda muestra de sangre se recogió 14 días después de la administración. La sangre completa se diluyó 100 veces con una solución acuosa que contenía Triton X-100 al 0,5 %, butan-1-ol al 1 %, amoniaco al 0,5 %, y ácido nítrico al 0,007 %. Las condiciones de instrumentos de mejoraron para sensibilidad óptima de la señal (a través de la medida de isótopos de ²⁴Mg, ¹¹⁵In y ²³⁸U), formación mínima de óxido (a través de la medida de los isótopos de ¹⁴⁰Ce y ¹⁵⁵Gd para permitir el control del grado de formación de CeO a m/z = 155) y formación iónica mínima con carga doble (a través de la medida de las señales del isótopo de ¹³⁸Ba y ⁶⁹Ga para permitir el control del grado de formación de ¹³⁸Ba²⁺ a m/z = 69). A continuación se realizó un ajuste adicional para reducir el margen de error de la masa entre ⁵⁸Fe y ⁵⁷Fe (aproximadamente un 5 %). Los voltajes del detector se redujeron de los valores habituales de -2400 V y 1550 V a -1725 V y 1050 V para etapas análogas y de pulso, respectivamente.

Preparación de solución de cloruro férrico marcado con ⁵⁸Fe

60 Una solución de cloruro férrico marcado con ⁵⁸Fe se preparó disolviendo 100 mg de hierro elemental enriquecido con ⁵⁸Fe (Chemgas, Boulogne, Francia) en 4 ml de HCl al 37 % en un matraz de vidrio con forma de pera unido a un condensador y se calentó a 48 °C en un baño de agua. La temperatura se elevó gradualmente en el tiempo para mantener la ebullición de la solución a medida que la concentración de cloro disminuía. Cuando el polvo de hierro elemental se disolvió, se añadieron 0,5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % para oxidar el hierro ferroso a hierro férrico. A continuación, el matraz se selló, una vez que la reacción de oxidación terminó, es decir, una vez que se detuvo la formación de burbujas de O₂. La concentración de hierro en la solución final se determinó mediante

ICPOES y el ensayo de Ferrozina se usó para confirmar la ausencia de hierro ferroso.

Preparación del material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con ligando marcado con ^{58}Fe

5 Los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando elegidos enriquecidos con ^{58}Fe se prepararon siguiendo el protocolo que se ha descrito anteriormente (véase *Preparación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando*) usando una solución de reserva de cloruro férrico que contenía ^{58}Fe al 3,5 % en p/p (2 mg de ^{58}Fe por 60 mg de hierro total en el material sólido ingerido) a partir de la solución de cloruro férrico marcada con ^{58}Fe que se han realizado anteriormente.

10

Resultados y análisis

Efecto del Ligando A

15 Una serie de ligandos, en particular maltol, ácido succínico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido glucónico, ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y glutamina, se estudiaron por su efecto en la precipitación de poli oxo-hidróxido férrico de la solución.

20 Inicialmente, todos los ligandos se sometieron a ensayo usando el ensayo de identificación sistemática que se ha descrito anteriormente en proporciones de 1:1 a 1:5 y se clasificaron en tres grupos. El primer grupo, "ligandos fuertes", eran ligandos que se había encontrado que inhibían la formación de un 80 % del material sólido a una proporción de 1:1 e incluían ácido glucónico, ácido cítrico y maltol. El segundo grupo, "ligandos débiles", eran ligandos que se había encontrado que tenían poco efecto en la cantidad del material sólido formado (< 10 % en todas las proporciones sometidas a ensayo) e incluían ácido aspártico, ácido succínico, ácido láctico, ácido glutámico e histidina. El tercer grupo, "ligandos intermedios", eran ligandos que se había encontrado que tenían una influencia, entre ligandos fuertes y débiles, en la cantidad de material sólido formado a, al menos, una de las proporciones sometidas a ensayo e incluían ácido málico, ácido tartárico y glutamina.

30 En un segundo caso, seis ligandos de los tres grupos que se han descrito anteriormente se volvieron a identificar sistemáticamente por sus efectos tanto en la formación de la precipitación de poli oxo-hidroxilo férrico a proporciones de M:L variables, como la disolución de los materiales sólidos formados en tampones a pH 6 y pH 4 (véase el ensayo de identificación sistemática mencionado anteriormente). Como se esperaba, los ligandos presentaban efectos variables en el porcentaje de poli oxo-hidroxi hierro que precipitaba dependiendo (a) del grupo al que pertenece el ligando y (b) la proporción de M:L. Además, los materiales sólidos formados, presentaban propiedades de rehidratación variables que no se podían predecir a partir de los comportamientos de precipitación. Algunos ejemplos de los resultados que usan un ligando de afinidad fuerte, en particular maltol, a un ligando de afinidad débil, en particular succinato, y un ligando de afinidad intermedia, en particular malato, se muestran en las Figuras 1A y B. La redisolución depende claramente del ligando y su proporción hacia el hierro que se puede esperar. Lo que no se espera es que el ligando fuerte, maltol, no estimularía ninguna redisolución del hierro a pH 6,0 a pesar del hecho de que se pueden formar complejos solubles de hierro-maltol (para al menos una proporción de hierro) a este pH. Además, el ligando intermedio, malato, emitió una solución de hierro mayor a partir de la fase sólida a pH 6,0 que el ligando fuerte maltol – incluso cuando se las relaciones emparejaban (comparar 1:1). Algunos ejemplos de resultados adicionales con otros ligandos o proporciones se muestran en la Tabla 1.

45 *Tabla 1: El efecto de ligandos individuales en la precipitación de poli oxo-hidroxi hierro y la redisolución de ese hierro.*

Ligando	Proporción de M:L	% de Fe precipitado a		
		pH 6,5	pH 6	pH 4
Ácido succínico	1:1	100	00	0
Ácido L-láctico	1:1	65	00	0
Maltol	3:1	55	0	13
Ácido tartárico	5:1	85	36	100
Ácido cítrico	5:1	42	0	0

50 Dos ligandos, en particular malato y tartrato, que presentaban la mayoría de los efectos en el ensayo de identificación sistemática, se eligieron para estudio con mayor detalle. El perfil de redisolución se estudió usando un ensayo más definido en cuatro tampones diferentes (véase el Ensayo de Desagregación en Métodos). Los tampones contenían electrolito al 0,9 % en p/v de modo que los resultados obtenidos reflejarían el comportamiento del material en un entorno biológico de resistencia iónica. Además, los entornos de pH se eligieron para reflejar diferentes partes del tracto gastrointestinal desde el gástrico (pH 1,8) al intestinal (pH 7,0). En primer lugar, los resultados mostrados en la Tabla 2 confirmaban que los dos ligandos influían no solamente en la precipitación, sino también en el perfil de desagregación dependiendo de la proporción usada en la preparación de los materiales de poli oxo-hidroxilo férrico

55

como se observa en el ensayo de identificación sistemática mencionado anteriormente. Generalmente, el aumento de la proporción del ligando disminuía la formación del material sólido de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con ligando y aumentaba el perfil de desagregación. Sin embargo, el alcance del efecto observado con un ligando no reflejaba el alcance del efecto observado con otro ligando como se ilustra aquí con malato y tartrato. Los resultados observados eran reproducibles como se indican en la Tabla 2 con malato a una proporción de M:L de 1:2.

Tabla 2: Efecto de las proporciones de malato y tartrato en el porcentaje de hierro precipitado como materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando y la desagregación de los materiales.

Ligando	Proporción de M:L	% de Fe precipitado	% de Fe desagregado a			
			7,0	5,8	4,1	1,8
Ácido málico ^a	2:1	59	6	7	19	14
	1:1	45	12	20	55	15
	1:2 (n = 4)	27 ± 10	6 ± 4	49 ± 5	63 ± 5	18 ± 4
Ácido tartárico ^b	4:1	99	13	61	99	22
	3:1	91	71	100	100	28
	2:1	43	100	100	100	14

Se prepararon materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando a pH 6,5 en MOPS 50 mM y NaCl al 0,9 %. Las concentraciones de hierro de partida eran 26,7 mM. Las etapas de precipitación se realizaron en tubos individuales (a) de acuerdo con el procedimiento de preparación que se describe en Ensayo de Identificación Sistemática, o como un lote (b) de acuerdo con la preparación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando (véase métodos). La desagregación de todos los materiales se realizó de acuerdo con el método que se establece en el ensayo de Desagregación (véase métodos).

En segundo lugar, el efecto del ligando en la tasa de formación de los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando se estudió usando el protocolo de valoración que se describe en la sección de métodos. La Figura 2 muestra la tasa de formación del material sólido con aumento de pH. Se encontró que la adición de malato retrasaba la formación del material sólido en comparación con la ausencia de ligando. Se debe esperar este escenario cuando un ligando compite con la polimerización de la entidad de poli oxo-hidroxi hierro férrico que da como resultado la formación del material sólido. Sin embargo, de forma inesperada, se encontró que el tartrato tenía un efecto de estimulación en la formación del material sólido a pH menor. Esto no se correlaciona con el escenario de competición que se ha descrito anteriormente. En este caso, parece que el ligando, tartrato, aumenta la precipitación. Otra observación fue que el tartrato, a pH básico (> 7,5), estimulaba la desagregación de este material. De hecho, la Figura 16 muestra un perfil habitual de la formación de dos fases sólidas, en particular poli oxo-hidróxido férrico modificado con tartrato agregado y acuoso con aumento de los pH después del protocolo de valoración que se describe en Métodos. Estos resultados también se observaron con otros ligandos A y ligandos B (los resultados no se muestran).

El perfil de desagregación del material sólido de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con ligando formado a diferentes pH se mostró que variaba como se ilustra en la Figura 3 para el malato. A medida que el pH de la preparación del material aumenta, el perfil de desagregación disminuye. Esto está de acuerdo con un aumento de la polimerización y la formación de puentes de oxo con aumento de pH, lo que limita probablemente el efecto de modificación del ligando en el material.

La presencia de electrolito al 0,9 % en p/v, como cloruro sódico (NaCl) o cloruro potásico (KCl), en la preparación de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando también se estudió. La Figura 4A muestra que la presencia de NaCl al 0,9 % no influye en el perfil de desagregación del material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con tartrato a una proporción de M:L de 4:1 en comparación con el mismo material preparado sin NaCl. De forma análoga, la Figura 4B muestra que la presencia de KCl al 0,9 % cambiaba el perfil de desagregación del material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con tartrato a una proporción de M:L de 2:1 (solución que contiene niacina 50 mM).

Por último, el efecto del secado de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando se estudió con respecto a la desagregación. El secado del material por lo general conduce a una modesta reducción en su desagregación como se hace a modo de ejemplo con el material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con tartrato alguna proporción de M:L de 4:1 que se ilustra en la Figura 5. Se observaron pequeñas diferencias, incoherentes entre los métodos de secado al horno y de liofilización (Figura 5).

Efecto del ligando B

5 Casi todos los estudios que se han descrito anteriormente se realizaron con materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando producidos en tampón MOPS. A menudo se usa MOPS en estudios de formación de especies metálicas debido a su interacción muy débil con la mayoría de los iones metálicos y por lo tanto raramente interfiere en la formación de complejos metálicos. Sin embargo, MOPS tiene un pKa de 7,2 y por lo tanto tiene una capacidad de tamponamiento aproximadamente a pH neutro. Por lo tanto, aunque MOPS no tendría interacción directamente con el hierro o evitaría la formación del material sólido, éste puede influir indirectamente en la formación del sólido controlando la tasa de cambio en el pH ambiental. Además, el tampón usado en la preparación de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando debería ser segura para el consumo humano ya que MOPS no lo es. Por lo tanto, para estudiar la influencia del tampón, o el ligando B, en las propiedades de formación y redisolución de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando, los inventores seleccionaron una serie de compuestos con capacidad de tamponamiento a intervalos de pH variables; en particular, adipato, bicarbonato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, vainillina, triptófano, benzoato, propionato, borato, niacina y clorhidrato de piridoxina. La Figura 6 ilustra el efecto del cambio de MOPS por adipato en la tasa de formación del material sólido de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con tartrato a una proporción de M:L de 4:1 (Figura 6(i)), así como su efecto en el material sólido de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado de otro modo (Figura 6(ii)). En ambos casos, el adipato presentaba un efecto de simulación en la tasa de formación del material sólido.

20 Siguiendo estas observaciones, los perfiles de formación y desagregación de los materiales sólidos de oxo-hidroxi hierro férrico modificados con tartrato se estudiaron usando proporciones variables de M:L. El adipato reducía la capacidad de desagregación de los materiales formados (Tabla 3) en comparación con MOPS (Tabla 2), excepto al pH gástrico (pH 1,8) que presentaba una capacidad de desagregación menor con ambos tampones. Por el contrario, en el caso de materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con malato, el bicarbonato tenía una influencia negativa en el porcentaje de precipitación y la capacidad de desagregación del material (Tablas 2 y 3). Estos efectos se desprenden de las concentraciones menores de adipato pero no de bicarbonato (Tabla 3, los datos se muestran en negrita).

30 La influencia del ligando B en el perfil de desagregación del material sólido de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con tartrato se ilustra adicionalmente en la Figura 7 con niacina y benzoato.

Tabla 3

Material	proporción de M:L	% de Fe precipitado	% de Fe desagregado a pH		
			7,0	4,1	1,8
FeOHT-Ad50	2:1	41	43	76	17
	3:1	78	13	42	14
	4:1	91	9	50	26
	5:1	96	3	44	27
FeOHT-Ad20	3:1	82	2	21	17
FeOHM-Bic100	1:1	5	nd	nd	nd
	2:1	33	nd	nd	nd
	4:1	78	0	1	10
	5:1	81	0	0,5	6
FeOHM-Bic25	4:1	83	0	1	3

35 Los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con tartrato se prepararon siguiendo el protocolo de "preparación de materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando" (véase métodos) a pH 4,0 en cualquiera de adipato 50 mM (Ad50) o adipato 20 mM (Ad20) sin la presencia de un electrolito. Los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con malato se prepararon siguiendo el mismo procedimiento a pH 8,5 en cualquiera de bicarbonato 100 mM (Bic100) o bicarbonato 25 mM (Bic25) sin la presencia de un electrolito. La desagregación de los materiales se realizó de acuerdo con el método que se establece en el ensayo de Desagregación (véase el método) usando el material no seco para FeOHT-Ad50 y FeOHM-Bic100 y the el material secado al horno para FeOHT-Ad20 y FeOHM-Bic25.

Análisis estructural de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando

Los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando preparados anteriormente difieren de las formulaciones de hierro disponibles en la actualidad en que no son una simple sal de inorgánicas del ión ferroso (por ejemplo, sulfato ferroso), un complejo de hierro en el que el metal está coordinado con ligando orgánico (por ejemplo, trimaltol férrico), ni una partícula de mineral de hierro revestida con ligando orgánico (por ejemplo, polimaltosa y hierro o 'Maltofer').

El análisis elemental de las partículas de nuestros materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando medido con análisis de rayos X de energía dispersión (EDX) muestra claramente la presencia de átomos de carbono en las partículas que contienen hierro y oxígeno (un ejemplo se muestra en la Figura 8). Además, el espectro de infrarrojos del material demuestra la presencia de un enlace de tipo covalente entre el ligando y el metal (Figura 9) además de la presencia abundante de grupos hidroxilo. Esto ilustra que el ligando se incorpora en las estructuras de la red cristalina de oxo-hidróxido metálico a través de la formación de enlaces formales y no simplemente adsorción o 'atrapamiento'. Los cambios en las características de disolución del material se pueden explicar fácilmente por el modo en el que el ligando altera la red cristalina del oxo-hidróxido metálico. En el oxo-hidróxido de hierro recién precipitado se observa una estructura similar a la de la ferrihidrita en algunas regiones cristalinas claras: la adición de ligando B, en este caso triptófano, reduce el alcance de la cristalinidad mientras que la adición de ligando A y B, en este caso triptófano y tartrato, casi anulan la cristalinidad totalmente (Figura 11). El Maltofer, que es una partícula mineral de hierro revestida con ligando orgánico, parece más como un oxo-hidróxido de hierro recién precipitado, lo que indica que el ligando no había modificado de forma significativa su estructura primaria. Esta comparación se observa mejor usando difracción de rayos X en la que no se detectan picos de hidróxido de hierro para un material de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificado con ligando, pero se observan en el Maltofer (Figura 12) aunque aparecen picos anchos y con ruido debido al tamaño muy pequeño de las partículas primarias (unos pocos nanómetros).

Digestión gastrointestinal de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando

Los inventores compararon la desagregación de algunos compuestos de hierro de la técnica anterior y comerciales con la de los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando en condiciones gastrointestinales simuladas (véase Métodos). La desagregación gástrica (pH 1,2) y los perfiles de disolución gástrica de dos de los materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando, en comparación con sulfato ferroso, oxo-hidróxido férrico y polimaltosa y hierro (Maltofer), se muestran en la Figura 10. El sulfato ferroso se desagrega y se disuelve muy bien a pH ácido como se espera para una sal metálica. Por el contrario, el Maltofer se desagrega muy rápidamente en las condiciones gástricas (después de 5 minutos se desagrega casi un 80 % del hierro) pero permanece en una forma de partícula acuosa (por lo general con un diámetro de aproximadamente 20 nm: los resultados no se muestran) (Figura 10). El porcentaje de disolución de hierro del Maltofer era inferior a un 5 % aunque se debería indicar que puede haber una pérdida de hasta un 10 % de hierro a través de la unión a la membrana de ultrafiltración. En comparación, los dos nuevos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando presentaban un perfil intermedio de desagregación en comparación con oxo-hidróxido férrico y sulfato ferroso. Además, la disolución de estos materiales era casi paralela al perfil de desagregación en condiciones gástricas aunque es necesario que éste sea el caso para estos nuevos materiales. Estos datos muestran una clara diferencia entre un oxo-hidróxido férrico sin modificar, Maltofer, sulfato ferroso, y nuestros materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando.

La desagregación de algunos de nuestros nuevos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando en condiciones gástricas e intestinales también se comparó con la desagregación de otros compuestos de hierro disponibles en el mercado, en particular pirofosfato férrico, cloruro férrico, trimaltol férrico y bisglicinato ferroso. Los compuestos comerciales fracasaban en la desagregación de forma apropiada (por ejemplo, pirofosfato férrico), o se desagregaron muy rápidamente (Figura 14). Se cree que esta desagregación rápida, si va en paralelo con la disolución, es responsable de dar lugar a la administración del bolo de iones de hierro en el lumen del intestino y probablemente, por lo tanto, la aparición de efectos secundarios. Los nuevos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando presentaban un grado de liberación controlada aunque se pueden observar claras diferencias en las tasas de desagregación para los nuevos materiales, lo que indica que sus propiedades se pueden adaptar si fuera necesario (Figura 14). En la Figura 14 se debería indicar que si el hierro permanece en solución por no a pH 7,0 es simplemente una función de si están presentes agentes quelantes/ligandos (tal como prestarán de forma natural en el intestino) y de este modo los datos para el sulfato ferroso y el cloruro férrico (cuando el ligando no está presente en el compuesto) no se deberían sobreinterpretar.

La desagregación y disolución del hierro en condiciones tanto gástricas como intestinales para algunos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando que se sometieron a ensayo adicionalmente en voluntarios humanos (véase a continuación) se presentan en la Figura 15. De nuevo los inventores muestran un intervalo de perfiles diferentes de desagregación y disolución para los nuevos materiales, lo que ilustra la posibilidad de adaptarlos si fuera necesario.

Un estudio de la distribución del tamaño de partícula después del paso a través del ensayo de digestión gastrointestinal modificado de algunos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con tartrato se muestra en la Figura 17. El cambio de la proporción de M:L (primera frente a segunda barra), pH de la preparación (segunda frente a tercera barra) y tipo de ligando B (cuarta barra) influye claramente en el tamaño de las partículas obtenidas y por lo tanto en los perfiles de desagregación/disolución. Existe especialmente un aumento en el tamaño de las partículas más pequeñas con concentraciones crecientes de tartrato lo que indica menos agregación de las partículas primarias con el aumento del contenido de L. Además, cuanto mayor es el pH de la preparación, menor de ese tamaño de la partícula resultante.

10 *Absorción de hierro en seres humanos de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando*

15 Se han evaluado adicionalmente siete materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando para su absorción en voluntarios humanos y los resultados se comparan con oxo-hidróxido férrico sin modificar. En la Tabla 4 se muestra un resumen de los resultados.

Tabla 4: Absorción in vivo de diferentes materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando:

Compuesto	Aumento de Fe en suero a los 180 min	% de absorción
FeOHT-3:1-Ad20	9 ± 3	5,8 ± 0,9
FeOHM-4:1-Bic25	5,2 ± 0,6	1,9 ± 0,5
FeOHT-2:1-Niacina50	3 ± 2	2,8 ± 0,7
FeOHT-2:1-TRP15	8 ± 3	5 ± 1
FeOHGlucónico20	4,3 ± 0,5	6 ± 2
FeOHHistidina100	6,0 ± 0,4	3 ± 2
FeOHAdipato100	8 ± 4	18 ± 1
FeOH	-1,3 ± 0,2 *	0,9 ± 1

Aumento de hierro en suero tres horas después de la ingesta y porcentaje de absorción de hierro (calculado como la incorporación de glóbulos rojos de ⁵⁸Fe dividido entre 0,80) de los materiales sólidos de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando. Media ± ETM (n varía de 2-4); * para FeOH a los 180 min se produjo una disminución a partir del valor del hierro en suero de la medida inicial.

20 Los perfiles de absorción en suero de los compuestos (Figura 13) muestran que los nuevos materiales de poli oxo-hidroxi hierro férrico modificados con ligando tienen tasas de absorción de hierro mucho menores que las del sulfato ferroso que puede ser ventajoso ya que evita la exposición sistémica y el daño potencial de altos niveles de hierro transitorios. Se observaba una clara absorción de hierro en todas las formulaciones (Figura 13) y para al menos una preparación que se estima que es equivalente a la del sulfato ferroso. Es especialmente destacable que los informes de la bibliografía indican que la polimaltosa férrica no proporciona un aumento detectable en el hierro en suero después de la ingesta y, que la absorción de hierro es muy baja (Kaltwasser *et al.*, 1987) y sería coherente con los datos de los inventores para el oxo-hidróxido férrico.

30 Los compuestos FeOHT-2:1-TRP15 y FeOHGlucónico20 son ejemplos de cómo el cambio de la composición de estos nuevos materiales cambia su perfil de hierro en suero pero mantiene el mismo porcentaje de absorción de hierro (Figura 13) lo que de nuevo indica que los materiales se pueden adaptar para conseguir los resultados deseados.

35 Bobtelsky M y Jordan J. The structure and behaviour of ferric tartrate and citrate complexes in dilute solutions. *Journal of the American Chemical Society* 1947; 69: 2286-2290.

Edgerton VR, Gardner GW, Ohira Y, Gunawardena KA, Senewiratne B. Iron-deficiency anaemia and its effect on worker productivity and activity patterns. *British Medical Journal* 1979; 2 (6204): 1546-1549.

40 Geisser P y Müller A. Pharmacokinetics of iron salts and ferric hydroxide-carbohydrate complexes. *Arzneimittelforschung/Drug Research* 1987; 37 (1): 100-104.

Goddard AF, James MW, McIntyre AS y Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *BSG Guidelines in Gastroenterology*. 2005.

ES 2 544 960 T3

- Harvey RSJ, Reffitt DM, Doig LA, Meenan J, Ellis RD, Thompson RPH, y Powell JJ. Ferric trimaltol corrects iron deficiency anaemia in patients intolerant to iron. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 1998; 12 (9): 845-848.
- 5 Heinrich HC. Bioavailability of trivalent iron in oral preparations. *Arzneimittelforschung /Drug Research* 1975; 25 (3): 420-426.
- Europe. *Public Health Nutrition* 2001; 4, 537-545, Jugdaohsingh R, Afsharrad S, McCrohan CR, White KN, Thompson RPH y Powell JJ. A rapid non-equilibrium critical precipitation assay to assess aluminium-ligand interactions. *Chemical Speciation and Bioavailability* 2004; 16 (3): 87-96,
- 10 Kaltwasser JP; Werner, E; Niechzial, M (1987). Bioavailability and therapeutic efficacy of bivalent and trivalent iron preparations. *Arzneimittelforschung/ Drug Research*, 37 (1a): 122-129.
- 15 Nielsen P, Gabbe EE, Fisher R, y Heinrich HC. Bioavailability of iron from oral ferric polymaltose in humans. *Arzneimittelforschung /Drug Research* 1994; 44 (1): 743-748.
- Powell JJ, Jugdaohsingh R, Piotrowicz A, White KN, McCrohan CR y Thompson RPH. Application of the critical precipitation assay to complex samples: aluminium binding capacity of human gastrointestinal fluids. *Chemical Speciation and Bioavailability* 2004; 16 (3): 97-104.
- 20 Smith, FE; Herbert, J; Gaudin, J; Hennessy, J; Reid, GR. Serum iron determination using ferene triazine. *Clinical Biochemistry* 1984; 17: 306-310.
- 25 Scholz BD, Gross R, Schultink W, Sastroamidjojo S. Anaemia is associated with reduced productivity of women workers even in less-physically-strenuous tasks. *British Journal of Nutrition* 1997; 77 (1): 47-57.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para producir un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxi (OH), en el que:

M representa uno o más iones metálicos seleccionados entre Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} y Zr^{2+} ,

L representa uno o más ligandos que comprenden un ligando seleccionado entre un ácido carboxílico, maltol, etil maltol, vainillina, bicarbonato, sulfato, fosfato, silicato, borato, molibdato, seleniato, triptófano, glutamina, prolina, valina, histidina, folato, ascorbato, piridoxina, niacina, adipato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, benzoato y propionato, y

en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxi y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxi metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxi por los ligandos es básicamente aleatoria;

en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando total tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles,

comprendiendo proceso:

- (a) mezclar los iones metálicos M y los ligandos L a un primer pH(A) en el que los componentes son solubles;
- (b) cambiar el pH(A) a un segundo pH(B) para hacer que se forme un precipitado sólido del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando; y
- (c) separar, y opcionalmente secar, el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando producido en la etapa (b).

2. El proceso de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente la formulación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en una composición para su administración a un sujeto.

3. El proceso de la reivindicación 2, en el que la etapa de formulación del material comprende la adición de un excipiente.

4. El proceso de la reivindicación 2 o de la reivindicación 3, en el que:

- (i) la composición es para uso como una composición nutricional, médica, cosmética u otra composición biológicamente aplicable; y/o
- (ii) la composición es para administración del ión metálico o del ligando a un sujeto; y/o
- (iii) la composición es para secuestrar o inhibir un componente presente en el sujeto usando el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando.

5. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el pH(A) es superior a un pH en el que comienza la polimerización de oxo-hidroxi del correspondiente oxo-hidróxido metálico.

6. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el pH se cambia del pH(A) al pH(B) mediante la adición de álcali, y preferentemente en el que el álcali se añade como una solución de hidróxido sódico, hidróxido potásico o bicarbonato sódico para aumentar la concentración de OH en la mezcla de la etapa (b) y/o en el que el pH(A) es inferior o igual a pH 2 y el pH(B) es superior o igual a pH 2.

7. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el pH se cambia del pH(A) al pH(B) mediante la adición de ácido, y preferentemente en el que el ácido se añade como un ácido mineral o un ácido orgánico para disminuir la concentración de OH en la mezcla de la etapa (b), y/o en el que el pH(B) es inferior o igual a pH 2 y el pH(A) es superior o igual a pH 2.

8. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles se seleccionan entre disolución (tasa, dependencia de pH y dependencia de pM), características de adsorción y absorción, reactividad-inercia, punto de fusión, resistencia a la temperatura, tamaño de partícula, magnetismo, propiedades eléctricas, densidad, propiedades de absorción/reflexión de la luz, dureza-blandura, propiedades de color y encapsulación.

9. El proceso de la reivindicación 8, en el que la propiedad fisicoquímica reproducible se puede reproducir dentro de un límite de preferentemente $\pm 10\%$, y más preferentemente $\pm 5\%$, e incluso más preferentemente dentro de un límite de $\pm 2\%$.

10. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ión metálico (M) es Fe^{3+} .

11. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ligando de ácido carboxílico se selecciona entre ácido adípico, ácido glutárico, ácido tartárico, ácido málico, ácido succínico, ácido aspártico, ácido pimélico, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido láctico y ácido benzoico.
- 5 12. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el ligando tiene propiedades de tamponamiento o un tampón está presente en un medio para realizar el proceso.
13. El proceso de la reivindicación 12, en el que el tampón se selecciona entre un tampón inorgánico, tal como borato, silicato o bicarbonato, o un tampón orgánico tal como MOPS, HEPES, PIPES o TRIS, o un tampón
10 seleccionado entre ácido adípico, ácido pimélico, triptófano o hidroximetilcelulosa.
14. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la composición es para uso como un suplemento de hierro.
- 15 15. Un proceso para producir un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando y optimizar una propiedad fisicoquímica deseada del material para adaptarlo para una aplicación nutricional, médica, cosmética o aplicación biológicamente relacionada, en el que el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxi (OH), en donde
20 M representa uno o más iones metálicos seleccionados entre Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} y Zr^{2+} ,
L representa uno o más ligandos que comprenden un ligando seleccionado entre un ácido carboxílico, maltol, etil maltol, vainillina, bicarbonato, sulfato, fosfato, silicato, borato, molibdato, seleniato, triptófano, glutamina, prolina, valina, histidina, folato, ascorbato, piridoxina, niacina, adipato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, benzoato y propionato, y
25 en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos L están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxi y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxi metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxi por los ligandos es básicamente aleatoria; en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando total tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles,
30 comprendiendo proceso:
- (a) mezclar el ión o los iones metálicos M y el ligando o los ligandos L en un medio de reacción a un primer pH(A) en el que los componentes son solubles;
- 35 (b) cambiar el pH(A) a un segundo pH(B) para hacer que se forme un precipitado sólido del material de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando;
- (c) separar, y opcionalmente secar, el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando producido en la etapa (b).
- 40 (d) someter a ensayo la característica o las características fisicoquímicas deseadas del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando precipitado; y
- (e) repetir las etapas (a) a (d) cuando sea necesario variando uno o más de:
- 45 (i) la identidad o la concentración del ión o los iones metálicos (M) y/o el ligando o los ligandos (L) proporcionados en la etapa (a); y/o
- (ii) la proporción de ión o iones metálicos (M) a ligando o ligandos (L) proporcionados en (a); y/o
- (iii) pH(A); y/o
- (iv) pH(B); y/o
- (v) la tasa de cambio de pH(A) a pH(B); y/o
- 50 (vi) la presencia o la concentración de un tampón;
- para producir de este modo un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que tiene la propiedad fisicoquímica deseada.
16. El proceso de la reivindicación 15, que comprende adicionalmente la variación de una condición de reacción física o química usada en el proceso para preparar el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando.
- 55 17. El proceso de la reivindicación 16, en el que la condición de reacción física o química se selecciona entre la temperatura de la reacción, la tasa de cambio de pH o el uso o las condiciones usadas para mezclar los reactivos.
- 60 18. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que el primer pH(A) es un pH inferior al pH en el que comienza la polimerización de oxo-hidroxi del correspondiente oxo-hidróxido metálico, y opcionalmente el pH(A) es inferior o igual a pH 2 y el pH(B) es superior o igual a pH 2.
- 65 19. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, en el que el pH se cambia del pH(A) al pH(B) mediante la adición de ácido, y opcionalmente en el que el ácido se añade como un ácido mineral o un ácido

orgánico para disminuir la concentración de OH en la mezcla de la etapa (b).

20. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que el pH(B) es inferior o igual a pH 2 y el pH(A) es superior o igual a pH 2.

21. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 20, en el que:

(a) el cambio del pH de pH(A) a pH(B) se produce en un periodo de 24 horas o inferior, más preferentemente en un periodo de una hora y lo más preferentemente dentro de 20 minutos; y/o

(b) las concentraciones de los iones metálicos totales (M) y del ligando total (L) son superiores a 10^{-6} molar, y más preferentemente son superiores a 10^{-3} molar; y/o

(c) el medio de reacción es una solución acuosa; y/o

(d) el tampón estabiliza el intervalo de pH de la polimerización de oxo-hidroxi; y/o

(e) el tampón se selecciona entre un tampón inorgánico, tal como borato, silicato o bicarbonato, o un tampón orgánico tal como MOPS, HEPES, PIPES o TRIS, o un tampón seleccionado entre ácido adípico, ácido pimélico, triptófano o hidroximetilcelulosa y/o

(f) las concentraciones del tampón son inferiores a 500 mM, preferentemente inferiores a 200 mM y lo más preferentemente inferiores a 100 mM; y/o

(g) la temperatura de la reacción está entre 0 °C y 100 °C, y más preferentemente entre temperatura ambiente (20-30 °C) y 100 °C; y/o

(h) la fuerza iónica del medio de reacción se varía mediante la adición de electrolito; y/o

(i) los componentes se mezclan en la etapa (a) para dar una solución homogénea.

22. Un proceso para preparar un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando para su administración a un sujeto, proceso que comprende haber optimizado un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando de acuerdo con el proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 21 como se desvela en el presente documento, la etapa adicional de preparación del material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando en volumen y/o formulándolo en una composición.

23. Una composición para uso en terapia que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxi (OH), en el que:

M representa uno o más iones metálicos seleccionados entre Ag^{2+} , Al^{3+} , Au^{3+} , Be^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sr^{2+} , V^{5+} , Zn^{2+} y Zr^{2+} ,

L representa uno o más ligandos que comprenden un ligando seleccionado entre un ácido carboxílico, maltol, etil maltol, vainillina, bicarbonato, sulfato, fosfato, silicato, borato, molibdato, seleniato, triptófano, glutamina, prolina, valina, histidina, folato, ascorbato, piridoxina, niacina, adipato, acetato, glutarato, glutarato de dimetilo, pimelato, succinato, benzoato y propionato, y

en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxi y se distribuyen dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxi metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxi por los ligandos es básicamente aleatoria;

en el que al menos alguno de los ligandos se integra en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede determinar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando total tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles.

24. La composición de la reivindicación 23, en la que la administración del ión metálico proporciona beneficio terapéutico al sujeto.

25. La composición de la reivindicación 24, en la que el material es para uso en la eliminación o la inhibición terapéuticas de una sustancia endógena presente en el sujeto que es capaz de unirse al material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando.

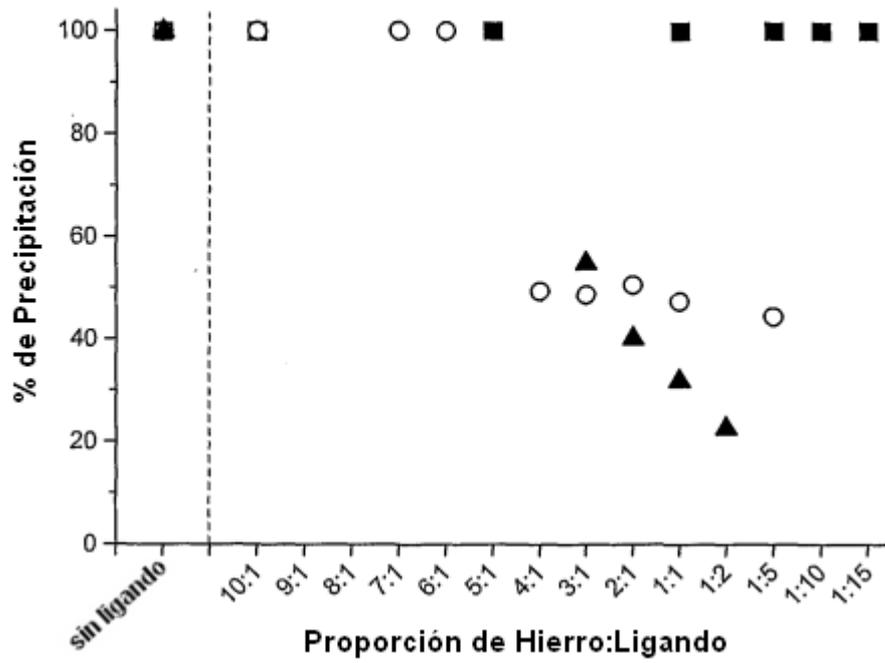
26. Una composición de hierro férrico para uso en terapia que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que comprende iones metálicos (M), ligandos (L) y grupos oxo o hidroxi (OH), en el que M representa uno o más iones metálicos que comprenden iones Fe^{3+} , L representa uno o más ligandos y en el que el material tiene una estructura polimérica en la que los ligandos L están sustituidos de forma no estequiométrica para los grupos oxo o hidroxi y están distribuidos dentro de la estructura de fase sólida del material oxo-hidroxi metálico y de modo que la sustitución de los grupos oxo o hidroxi por los ligandos es básicamente aleatoria, en donde al menos alguno de los ligandos está integrado en la fase sólida de modo que presenta formación de enlace M-L formal que se puede detectar mediante técnicas fisicoanalíticas y el material sólido de poli oxo-hidroxi ión metálico modificado con ligando que tiene una o más propiedades fisicoquímicas reproducibles.

27. La composición de hierro férrico de la reivindicación 26, en la que M son iones Fe^{3+} .

28. La composición de hierro férrico de la reivindicación 26 o de la reivindicación 27, en la que:

- (i) la estructura en fase sólida básicamente aleatoria del material producido por sustitución de grupos hidroxilo u oxo por el ligando L se puede determinar mediante un patrón de difracción de rayos X que no tiene picos identificables para L o MO/MOH; y/o
- 5 (ii) la estructura en fase sólida básicamente aleatoria del material producido por sustitución de grupos hidroxilo u oxo por el ligando L es un aumento de la capacidad de ser amorfa de la estructura del material como se puede determinar mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución; y/o
- (iii) la propiedad fisicoquímica reproducible se selecciona entre uno o más de un perfil de disolución, un perfil de adsorción o una proporción elemental reproducible; y/o
- 10 (iv) la proporción elemental reproducible se puede reproducir dentro de un límite de preferentemente $\pm 10\%$, y más preferentemente $\pm 5\%$, e incluso más preferentemente dentro de un límite de $\pm 2\%$.
29. La composición de hierro férrico de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28, en la que el espectro de infrarrojos comprende adicionalmente uno o más picos para los enlaces entre M-O, O-H y L solo.
- 15 30. La composición de hierro férrico de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 29, en la que:
- (i) el ligando L comprende tartrato o adipato o succinato; o
- (ii) el ligando L comprende tartrato y adipato; o
- 20 (iii) el ligando L comprende tartrato y succinato.
31. La composición de hierro férrico de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 30, en la que la proporción de M:L está entre aproximadamente 1:5 y 5:1.
- 25 32. La composición de hierro férrico de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 31 que es FeOHAd100 y FeT-3:1-Ad20.
33. La composición de hierro férrico de una cualquiera de las reivindicaciones 26 a 32, en donde la composición es un suplemento, un agente de fortalecimiento o un aditivo alimentario.
- 30 34. Uso de una composición que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 33 para la preparación de un medicamento para administración terapéutica del ión metálico a un sujeto o para uso para la eliminación o la inhibición terapéuticas de una sustancia endógena presente en un sujeto que es capaz de unirse al material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando.
- 35 35. Una composición que comprende un material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 33 para uso en terapia para administración del ión metálico al sujeto o para uso para la eliminación o la inhibición terapéuticas de una sustancia endógena presente en un sujeto que es capaz de unirse al material sólido de poli oxo-hidroxilo ión metálico modificado con ligando.
- 40 36. El uso o la composición para uso en terapia de la reivindicación 34 o de la reivindicación 35, en donde:
- (i) el ión metálico (M) es Fe^{3+} ; y/o
- 45 (ii) el ligando de ácido carboxílico se selecciona entre ácido adípico, ácido glutárico, ácido tartárico, ácido málico, ácido succínico, ácido aspártico, ácido pimélico, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido láctico y ácido benzoico; y/o
- (iii) el ligando tiene propiedades de tamponamiento o un tampón está presente en un medio para realizar el proceso.
- 50 37. El uso o la composición para uso en terapia de la reivindicación 36, en donde el tampón se selecciona entre un tampón inorgánico, tal como borato, silicato o bicarbonato, o un tampón orgánico tal como MOPS, HEPES, PIPES o TRIS, o un tampón seleccionado entre ácido adípico, ácido pimélico, triptófano o hidroximetilcelulosa.

A



B

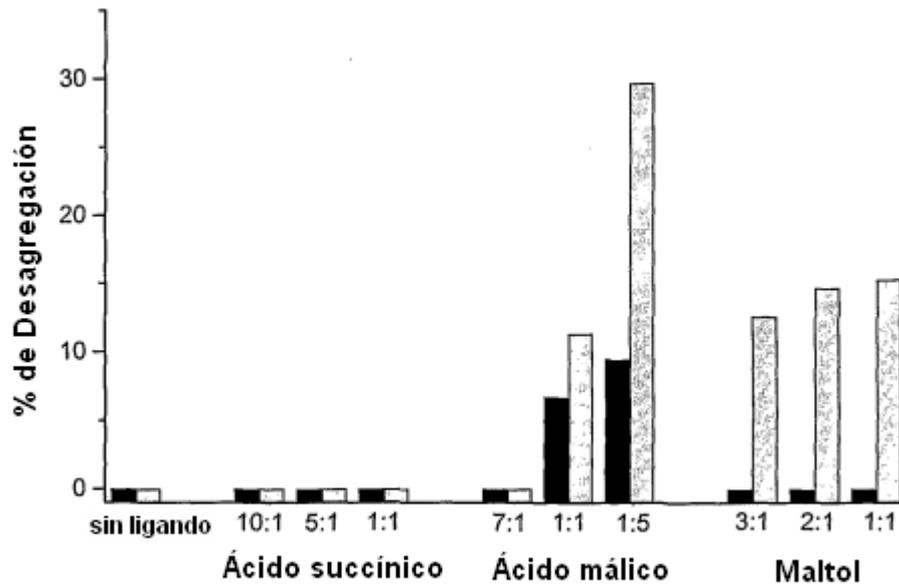


Figura 1

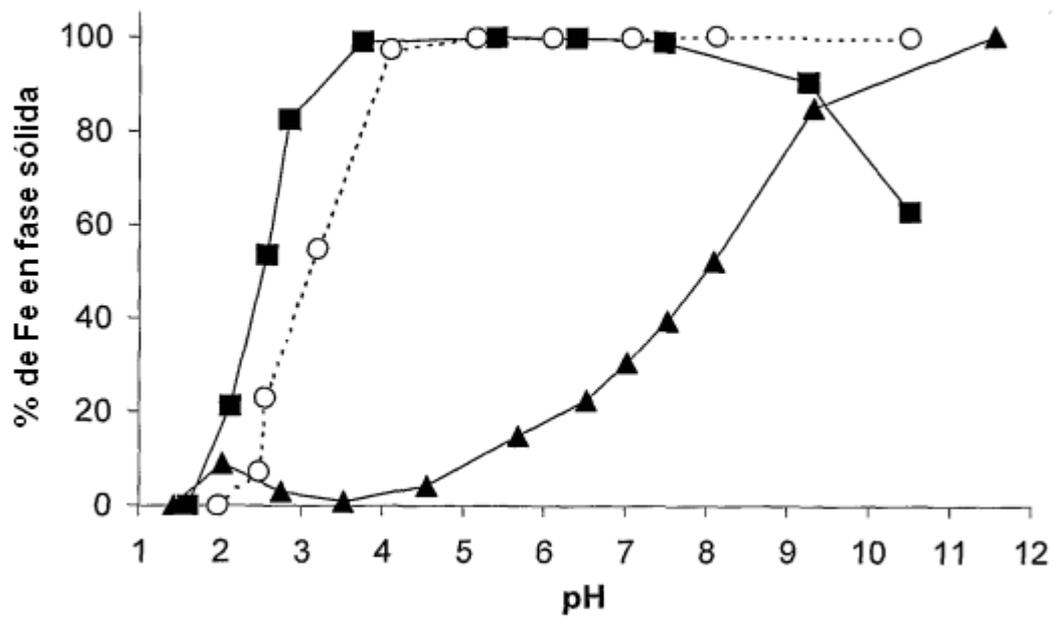


Figura 2

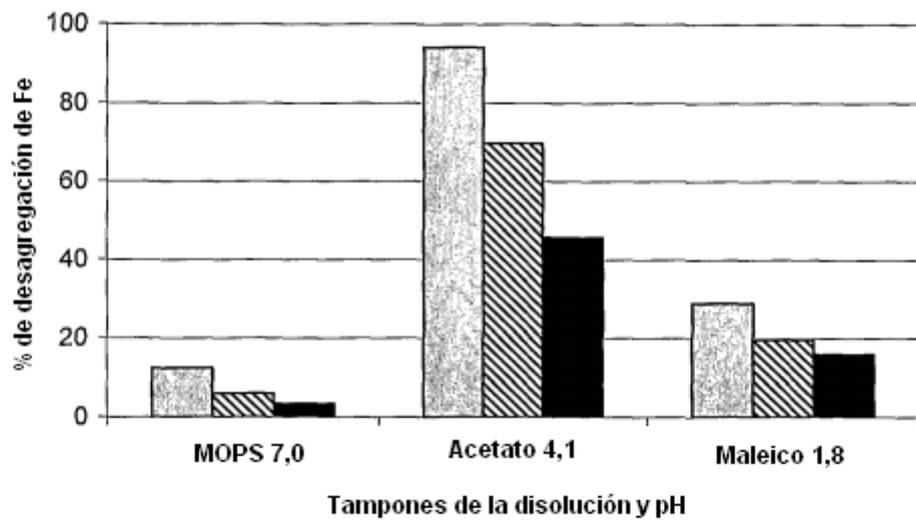
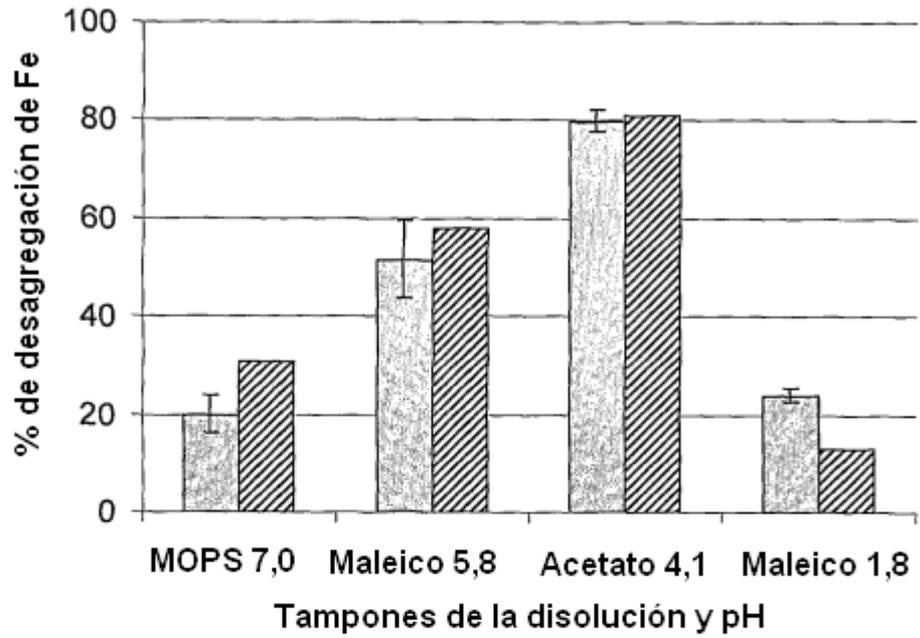


Figura 3

A



B

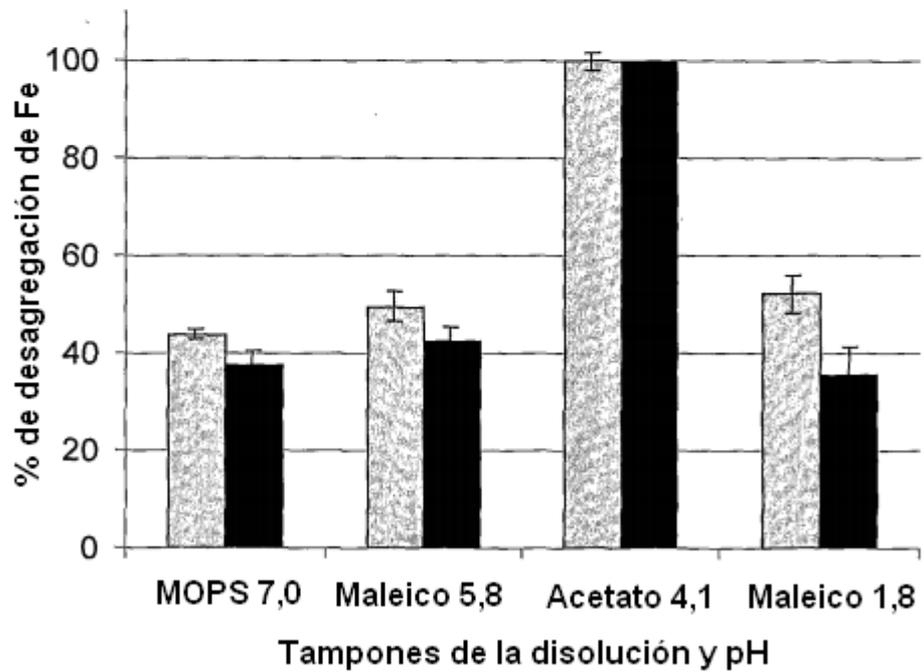


Figura 4

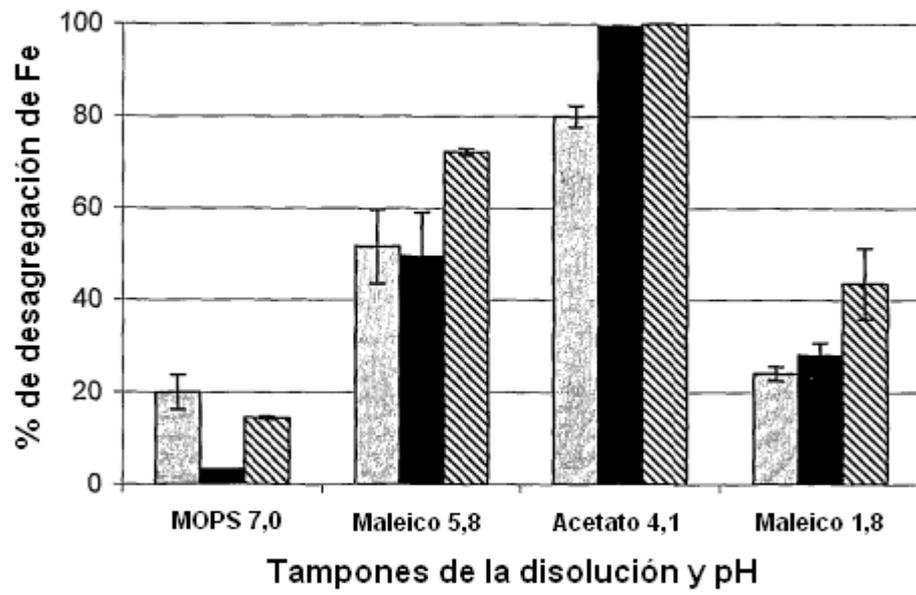
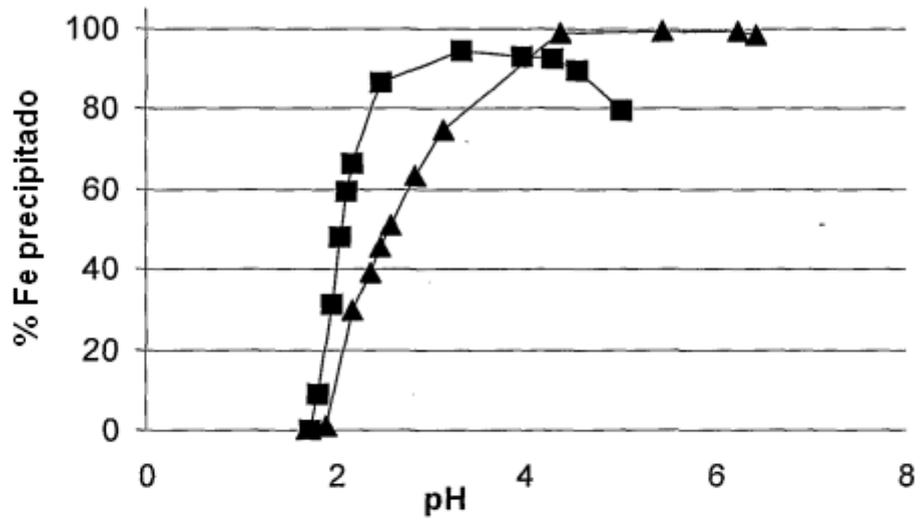


Figura 5

(i)



(ii)

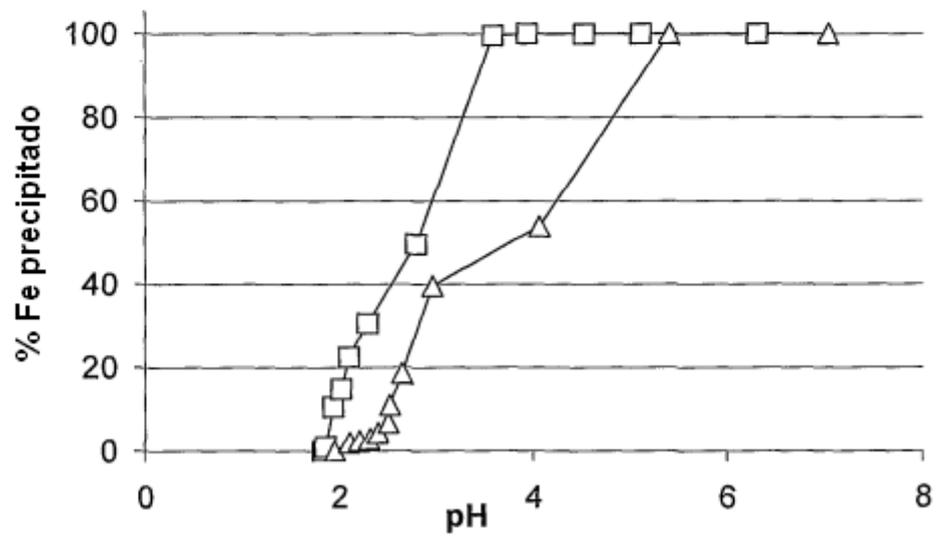


Figura 6

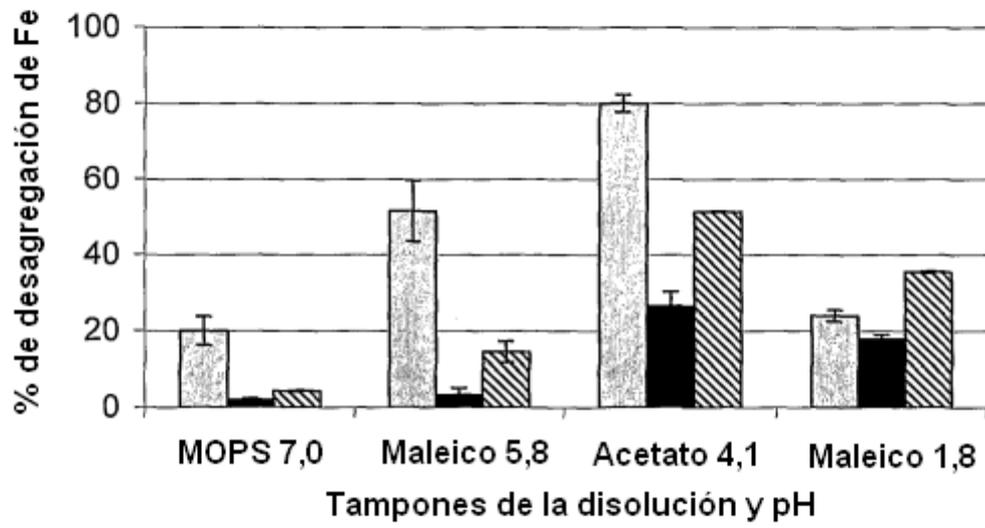


Figura 7

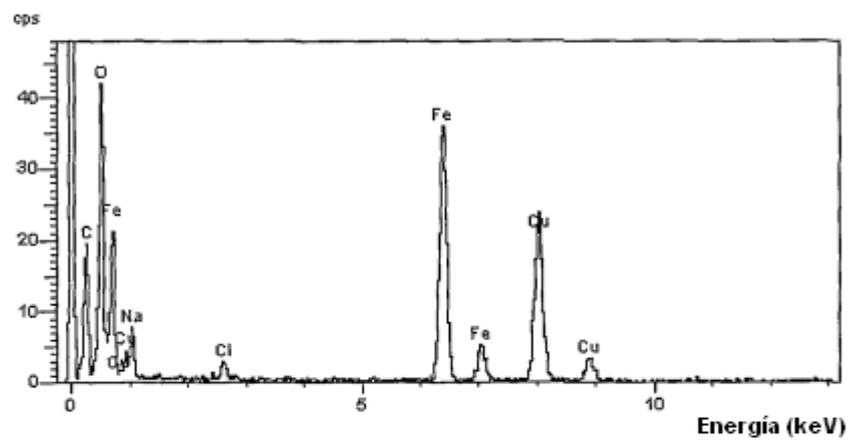


Figura 8

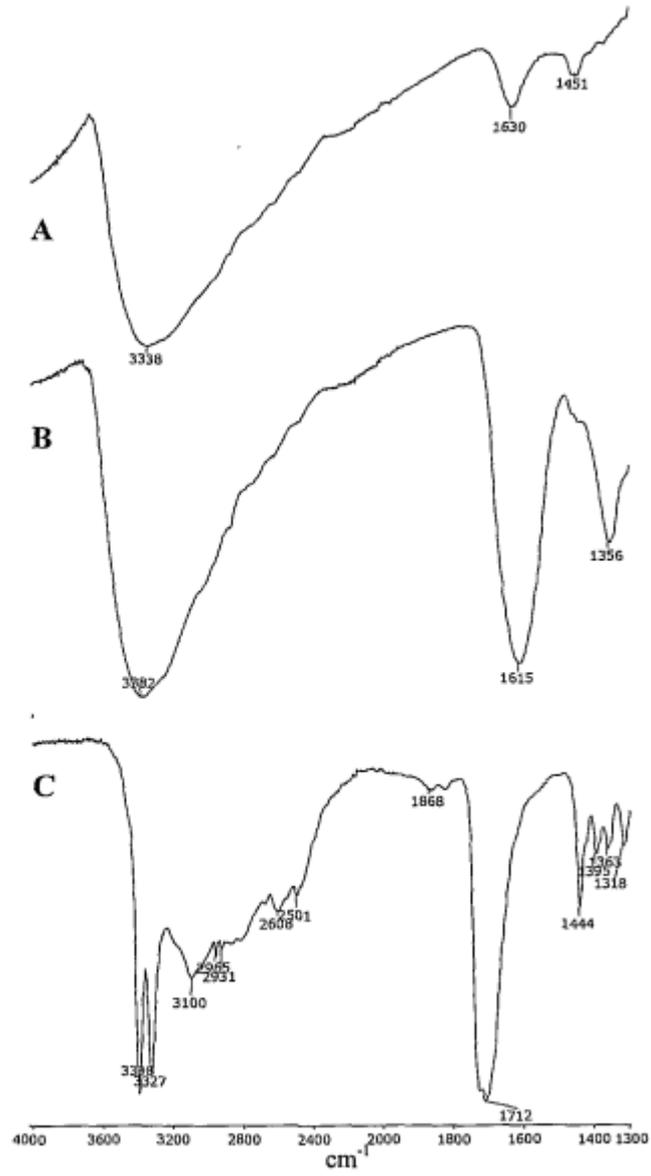


Figura 9

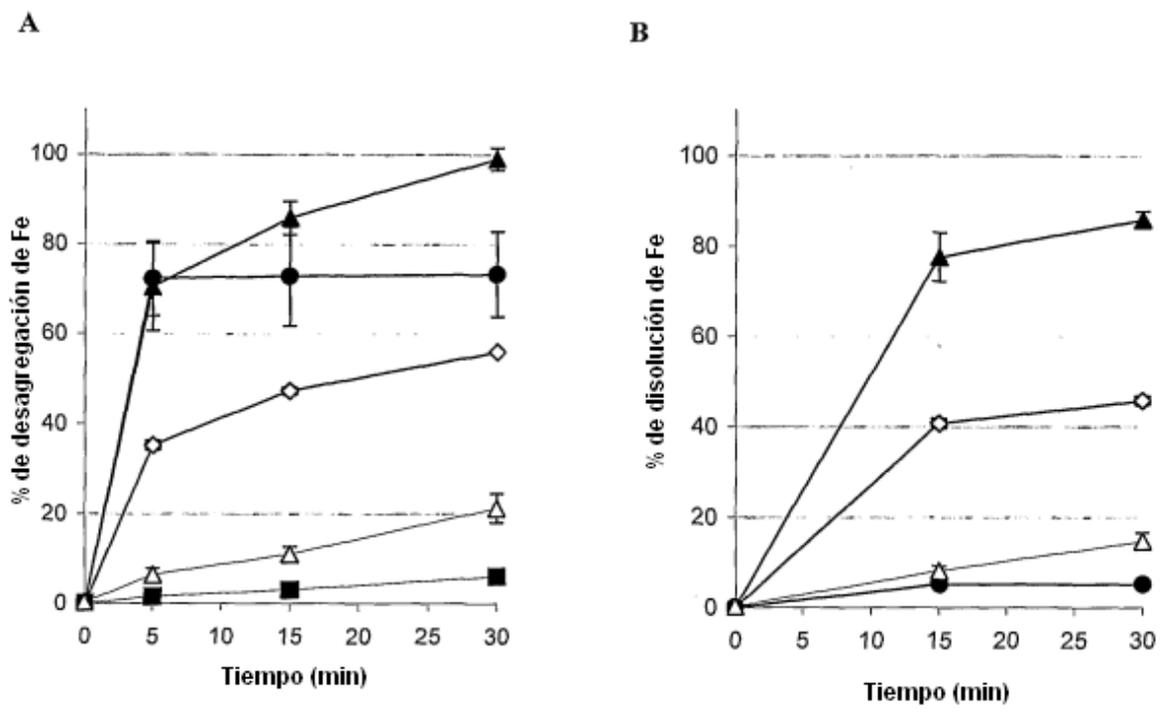


Figura 10

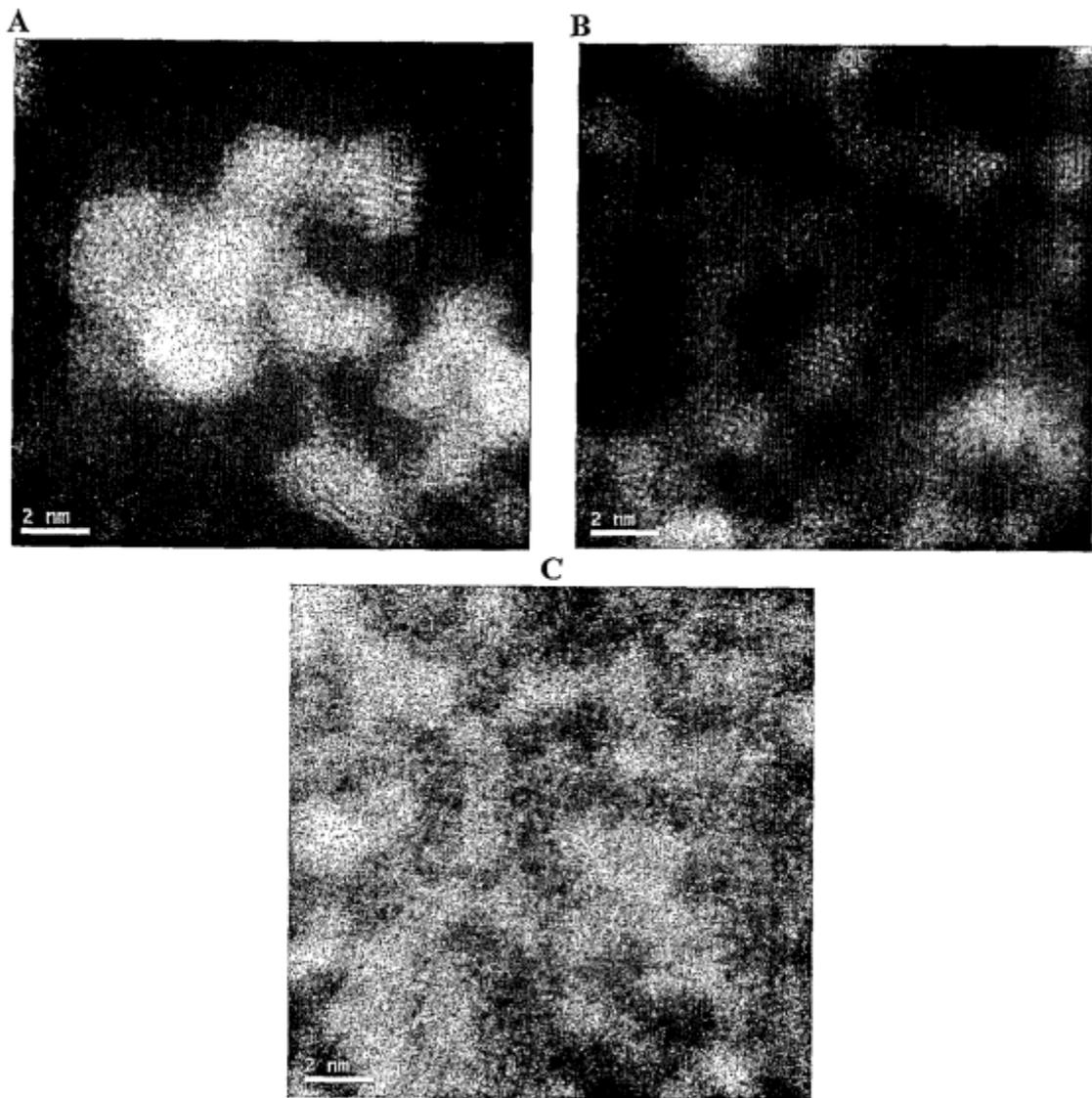


Figura 11

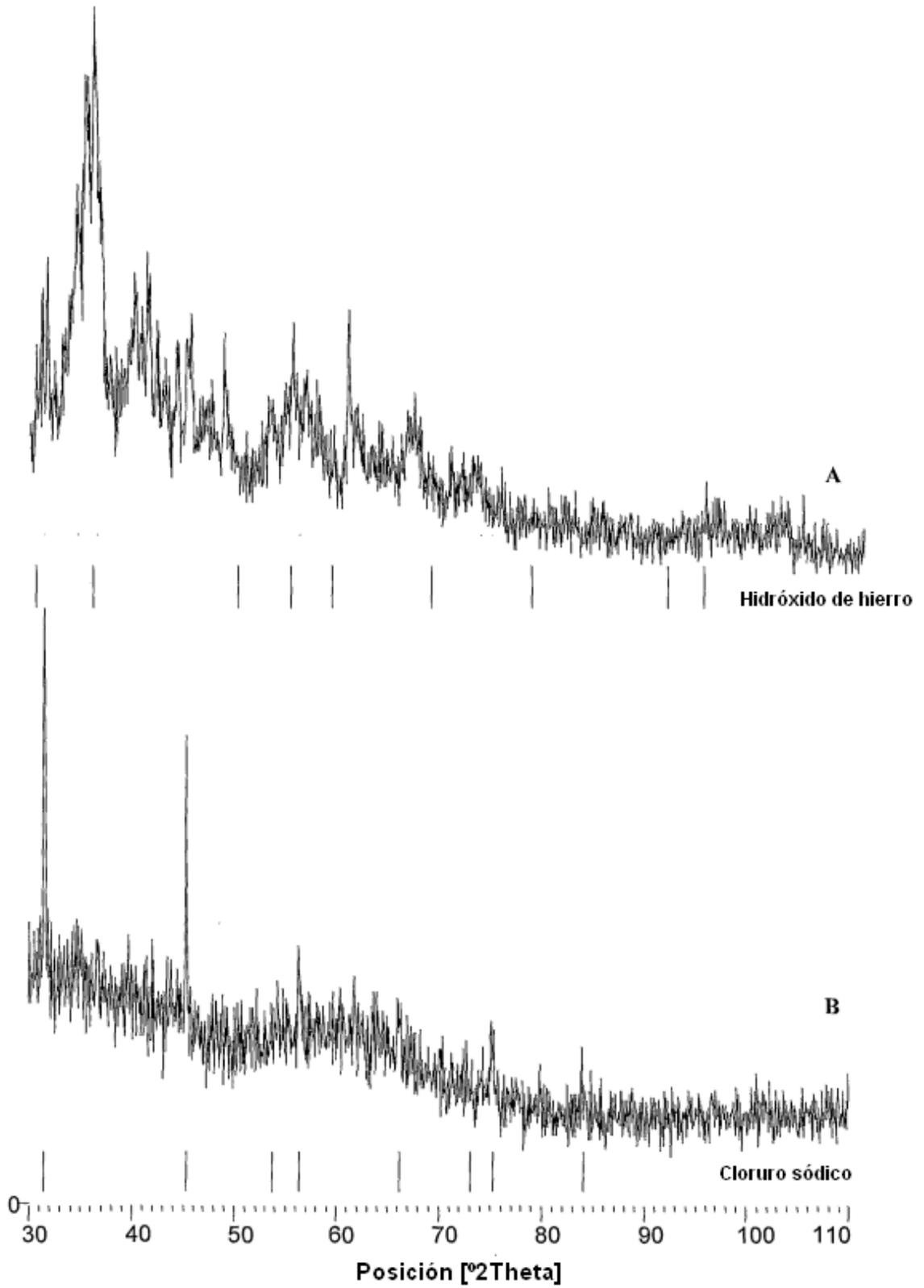
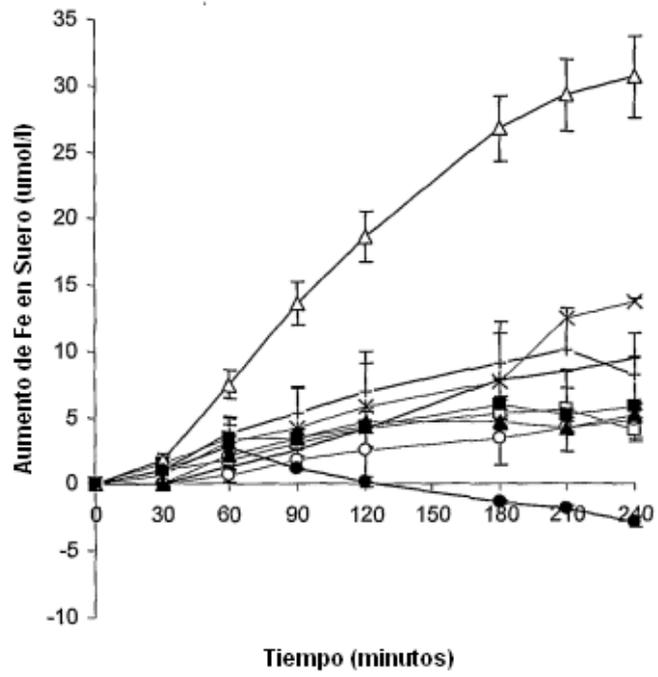


FIG 12

A



B

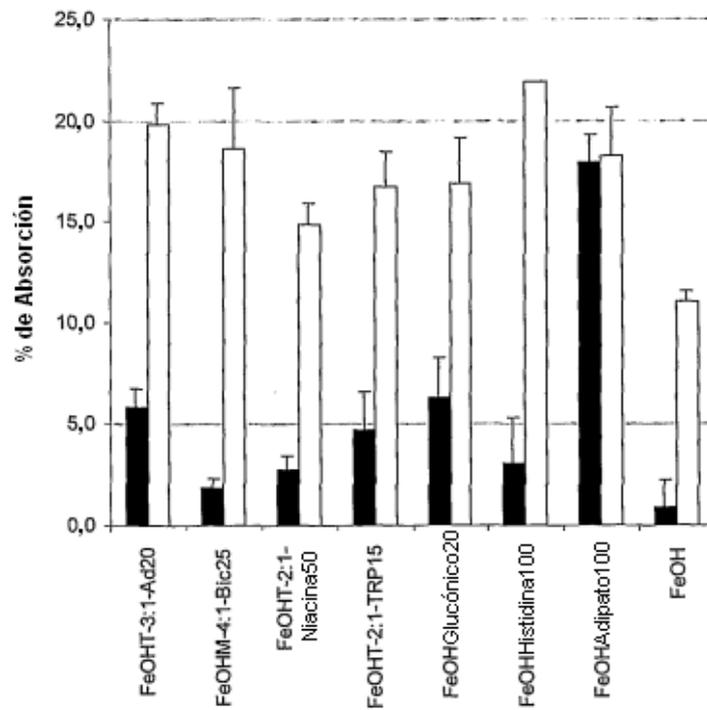
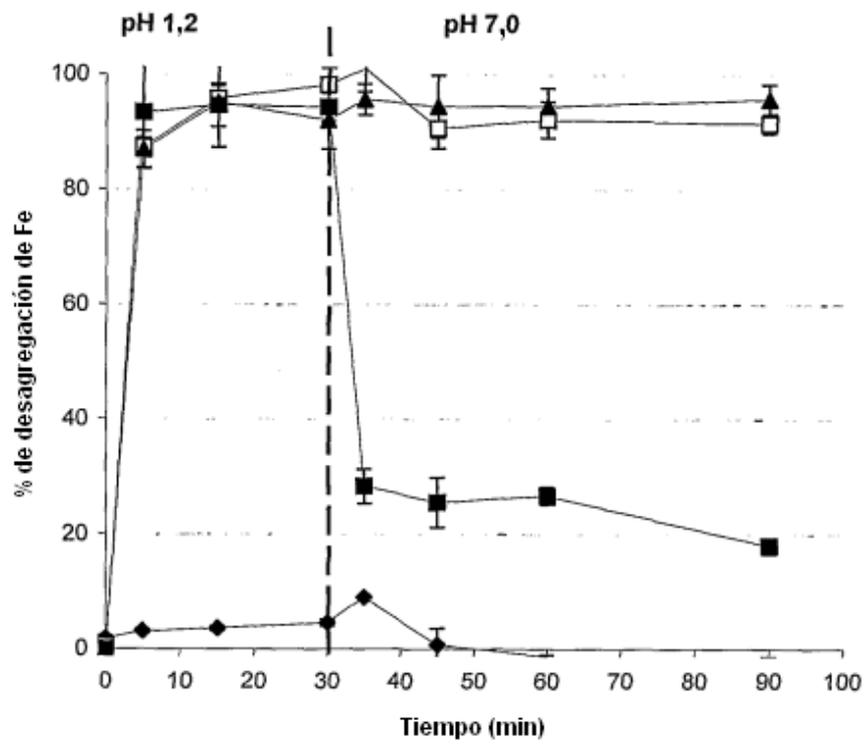


Figura 13

A



B

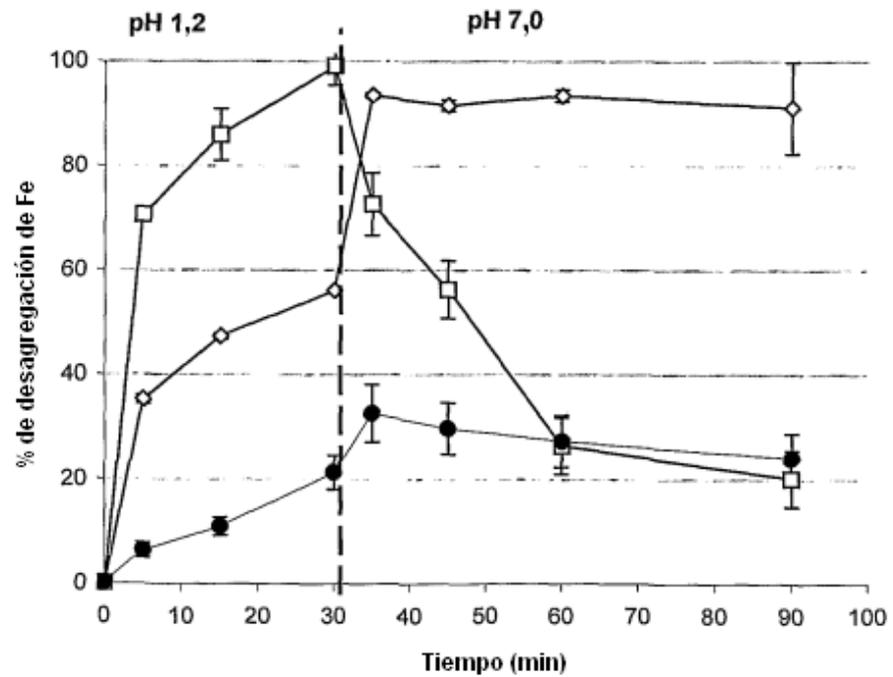
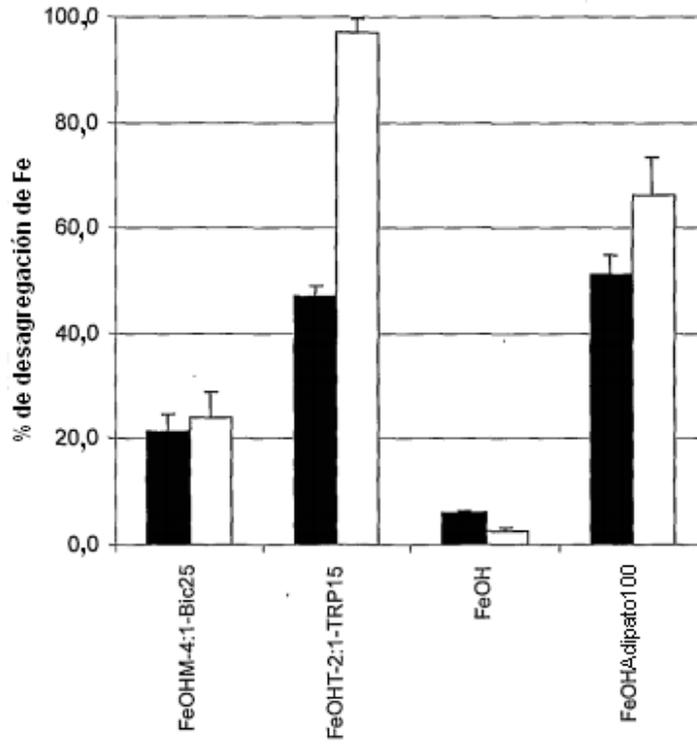


Figura 14

A



B

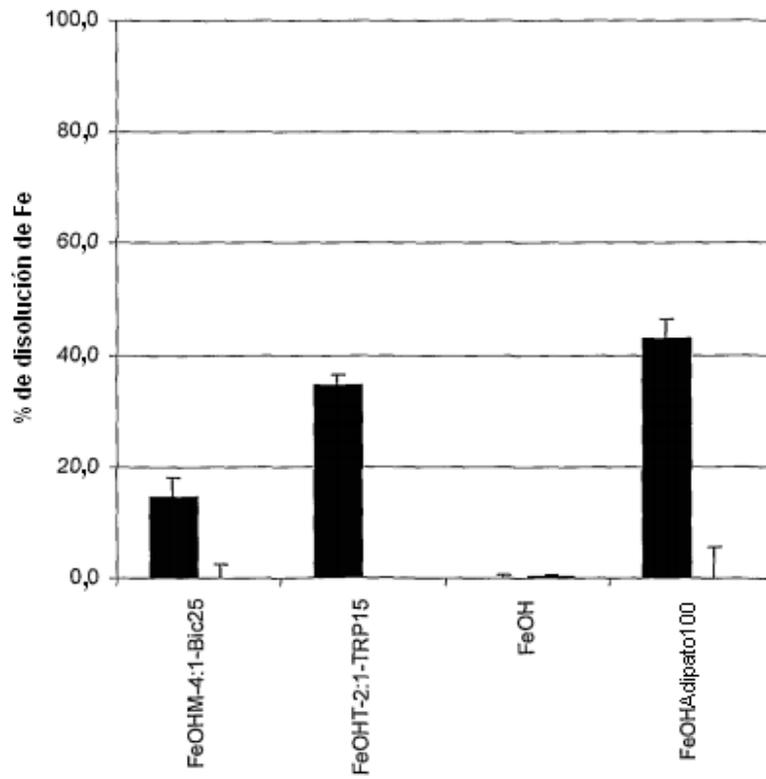


Figura 15

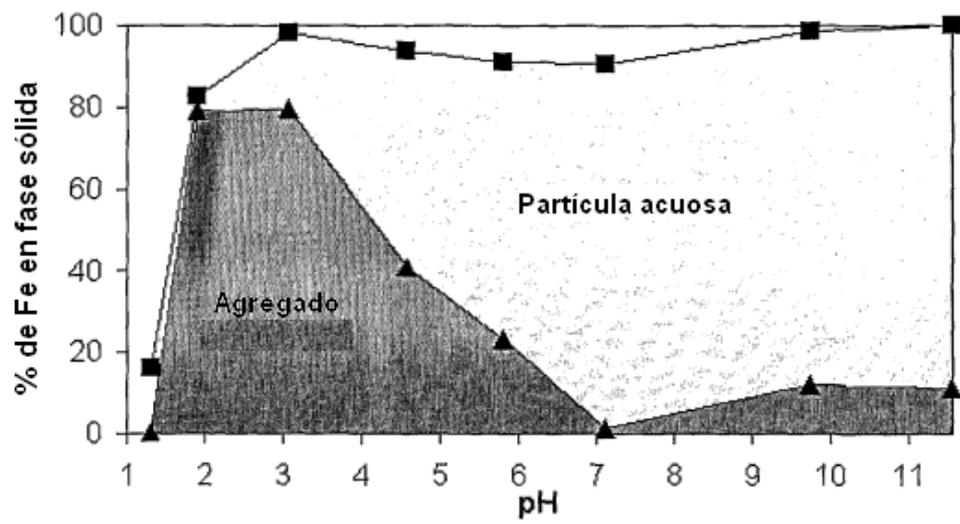


Figura 16

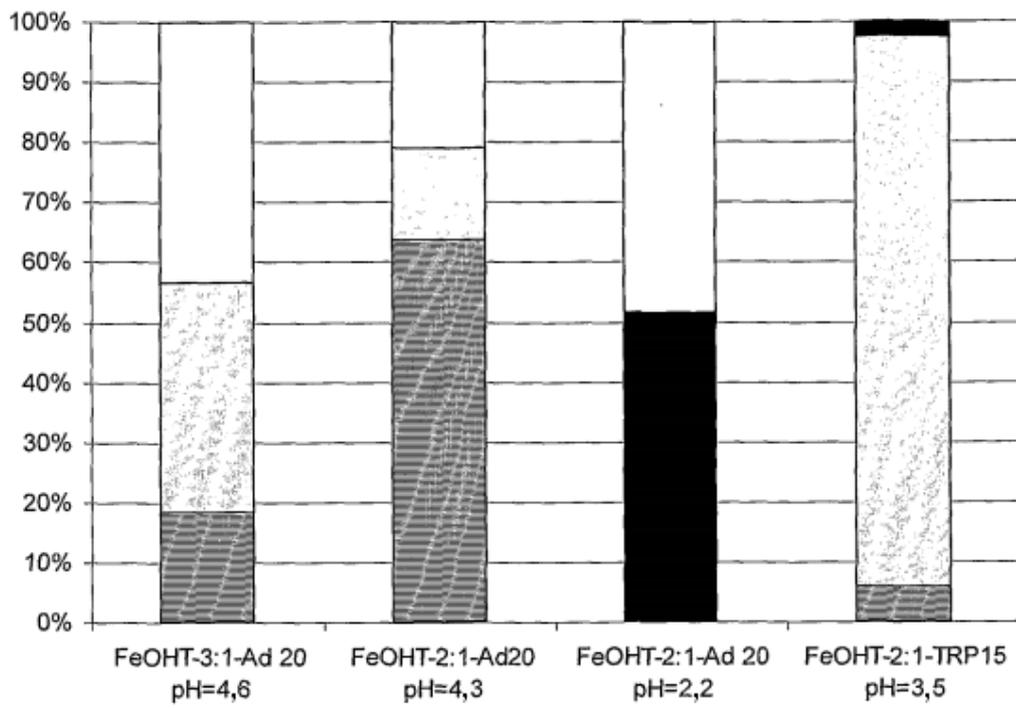


Figura 17