(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 613 757**

(51) Int. CI.:

A61K 49/04 (2006.01)
A61K 49/18 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
C07F 7/18 (2006.01)
B82Y 15/00 (2011.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2013 PCT/EP2013/067403**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014 WO2014029814**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2013 E 13752892 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2887970**

(54) Título: **Composiciones nanoparticuladas para diagnóstico por imagen**

(30) Prioridad:

23.08.2012 US 201213592897
23.08.2012 US 201213592853

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.05.2017

(73) Titular/es:

GENERAL ELECTRIC COMPANY (100.0%)
1 River Road
Schenectady, NY 12345, US

(72) Inventor/es:

BONITATIBUS, PETER, JOHN, JNR;
BUTTS, MATTHEW, DAVID;
COLBORN, ROBERT, EDGAR y
TORRES, ANDREW, SOLIZ

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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

Composiciones nanoparticuladas para diagnóstico por imagen

Antecedentes

Esta solicitud se refiere de forma general a composiciones de nanopartículas útiles como agentes de diagnosis por imagen para uso en una o más de Rayos X/Tomografía Computarizada (TC) e Imagen por Resonancia Magnética (IRM). Más particularmente, la solicitud se refiere a composiciones nanoparticuladas útiles como agentes de contraste, y a métodos de fabricación y uso de dichos agentes.

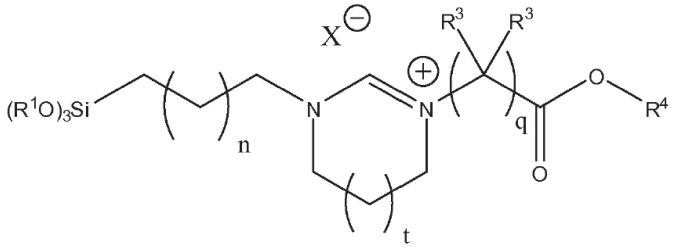
Casi todos los agentes de contraste para diagnóstico aprobados clínicamente son composiciones que comprenden moléculas pequeñas. Compuestos aromáticos yodados, relativamente pequeños, se han utilizado como agentes de contraste estándar en rayos-X y TC, mientras que para Imagen por Resonancia Magnética se usan quelatos de Gd. Los agentes de contraste conocidos adolecen de una o más desventajas, tales como una rápida eliminación del organismo, una retención excesivamente larga en el organismo, toxicidad, no especificidad, falta de estabilidad y un coste elevado. Dichas limitaciones contribuyen a reducir la eficacia global de un programa de terapia basado en el diagnóstico por imagen. A pesar de que hasta la fecha se ha realizado un progreso considerable en este campo, sigue existiendo una necesidad de nuevas clases de agentes de contraste que solvente una o más de dichas desventajas y/o que posean características que faciliten nuevos modos de diagnóstico por imagen.

Las composiciones nanoparticuladas son considerablemente prometedoras en aplicaciones médicas, tanto en diagnosis como en terapia. Aunque solo se han aprobado clínicamente unos pocos agentes que contengan composiciones nanoparticuladas para aplicaciones de imagen por resonancia magnética y para aplicaciones de administración de fármacos, aún están en desarrollo cientos de este tipo de agentes. El documento US 2010/166665 A1 presenta un método para fabricar nanopartículas que comprende una superficie de núcleo libre esencialmente de sílice y un recubrimiento unido a la superficie de núcleo, donde el recubrimiento incluye un resto zwitteriónico funcionalizado con un silano. Existen evidencias sustanciales de que las composiciones nanoparticuladas presentan beneficios sobre los agentes de molécula pequeña usados actualmente, en términos de eficacia en diagnosis y terapia. Sin embargo, el efecto del tamaño de partícula, de la estructura y las propiedades superficiales sobre la bio-distribución y la eliminación *in vivo* de agentes basados en composiciones nanoparticuladas no se conoce bien. Las nanopartículas, dependiendo de su tamaño, tienden a permanecer en el organismo durante periodos de tiempo más largos, en comparación con las moléculas pequeñas. En el caso de los agentes de contraste, se prefiere tener una eliminación renal máxima de los agentes del organismo con una toxicidad mínima a corto o largo plazo.

Por lo tanto, existe una necesidad de nuevas composiciones nanoparticuladas para uso como agentes de contraste y/o agentes de imagen con propiedades mejoradas. En particular, las composiciones nanoparticuladas que presentan características mejoradas en términos de eliminación por vía renal y de toxicidad serían especialmente ventajosas. Adicionalmente, existe una necesidad de nuevos intermedios sintéticos con los que preparar dichas composiciones de nanopartículas.

Descripción breve

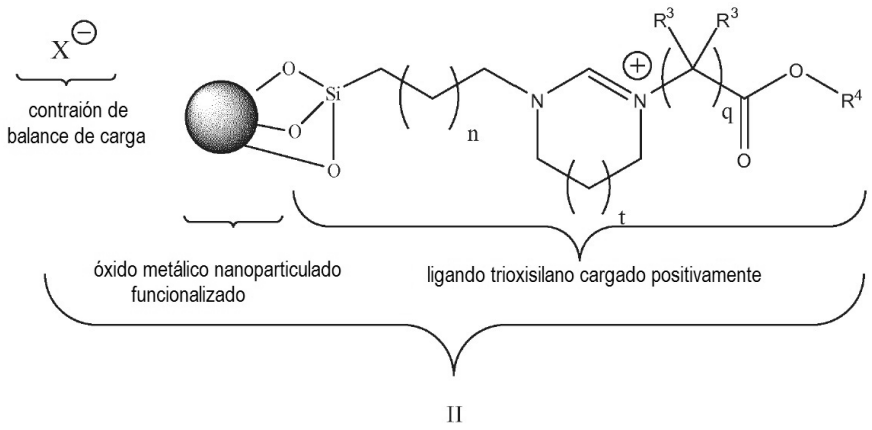
En un primer aspecto, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que tiene la estructura I



I

en donde R^1 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3; R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de equilibrio de carga.

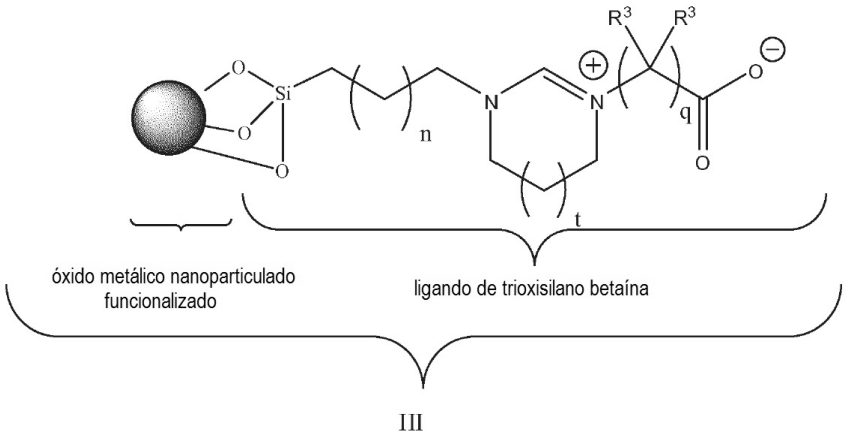
En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada II, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano cargado positivamente



II

en donde R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de balance de carga; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

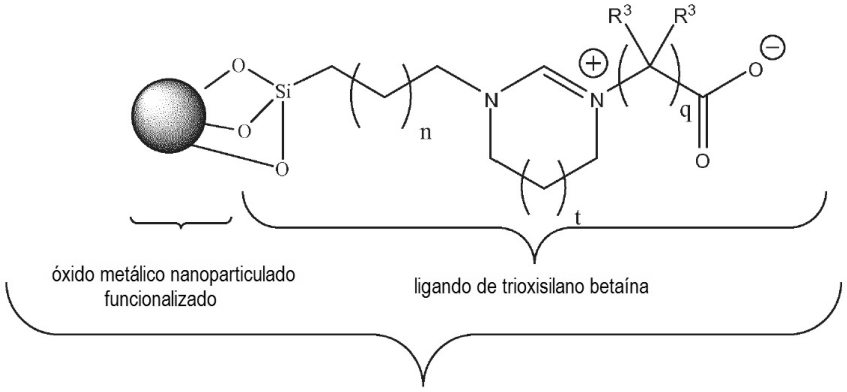
En un tercer aspecto, la presente invención proporciona una composición de nanopartículas que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano betaína



III

en donde R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona una composición de agente de diagnosis por imagen que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano betaína



III

en donde R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

Descripción detallada

En la siguiente especificación y reivindicaciones, que van detrás, se hará referencia a una serie de términos, que se definirán con los siguientes significados.

Las formas singulares “un”, “una”, y “el”, “la” incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

“Opcional” u “opcionalmente” significan que el evento o circunstancia descrito a continuación puede producirse o no, y que la descripción incluye ejemplos en los que el evento se produce y ejemplos en los que no.

Se puede aplicar un lenguaje aproximado, como el usado a lo largo de la presente especificación y reivindicaciones, para modificar cualquier representación cuantitativa que pudiera variar de forma permisible sin dar como resultado un cambio en la función básica a la que se refiere. Por consiguiente, un valor modificado por un término o términos, tales como “aproximadamente” y “sustancialmente”, no está limitado por el valor preciso especificado. En al menos algunos ejemplos, el lenguaje aproximado puede corresponder a la precisión de un instrumento para medir un valor. Aquí y a lo largo de la especificación y de las reivindicaciones, se pueden combinar y/o intercambiar limitaciones de rangos, dichos rangos se identifican e incluyen todos los sub-rangos contenidos en ellos, a menos que el contexto o el lenguaje indiquen lo contrario.

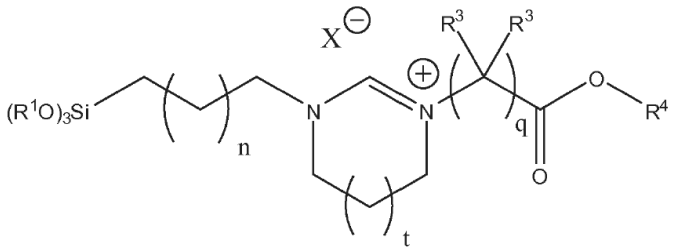
Tal como se usa en la presente memoria, el término “radical aromático” se refiere a un sistema de átomos que presenta una valencia de al menos uno y que comprende al menos un grupo aromático. El sistema de átomos que presenta una valencia de al menos uno que comprende al menos un grupo aromático puede incluir heteroátomos tales como nitrógeno, azufre, selenio, silicio y oxígeno, o puede estar compuesto exclusivamente por carbono e hidrógeno. Tal como se usa en la presente memoria, el término “radical aromático” incluye, aunque sin limitación, radicales fenilo, piridilo, furanilo, tienilo, naftilo, fenileno y bifenilo. Como se ha indicado, el radical aromático contiene al menos un grupo aromático. El grupo aromático es invariablemente una estructura cíclica que tiene 4n+2 electrones “deslocalizados” en donde “n” es un número entero igual a 1 o superior, tal como se ilustra en grupos fenilo (n = 1), grupos tienilo (n = 1), grupos furanilo (n = 1), grupos naftilo (n = 2), grupos azulenilo (n = 2), grupos antraceneilo (n = 3) y similares. El radical aromático también puede incluir componentes no aromáticos. Por ejemplo, un grupo bencilo es un radical aromático que comprende un anillo fenilo (el grupo aromático) y un grupo metileno (el componente no aromático). De forma similar, un radical tetrahidronaftilo es un radical aromático que comprende un grupo aromático (C_6H_3) fusionado a un componente no aromático -$(CH_2)_4$-. Por conveniencia, en la presente memoria el término “radical aromático” se define para que abarque un amplio rango de grupos funcionales tales como grupos alquilo, grupos alquenilo, grupos alquinilo, grupos haloalquilo, grupos haloaromáticos, grupos dienilo conjugados, grupos alcohol, grupos éter, grupos aldehído, grupos cetona, grupos ácido carboxílico, grupos acilo (por ejemplo, derivados de ácido carboxílico tales como ésteres y amidas), grupos amino, grupos nitro, y similares. Por ejemplo, el radical 4-metilfenilo es un radical aromático C_7 que comprende un grupo metilo, siendo el grupo metilo un grupo funcional que es un grupo alquilo. De forma similar, el grupo 2-nitrofenol es radical aromático C_6 que comprende un grupo nitro, siendo el grupo nitro un grupo funcional. Los radicales aromáticos incluyen radicales aromáticos halogenados tales como 4-trifluorometilfenilo, hexafluoroisopropilidenbis(4-fen-1-iloxi) (es decir, -$OPhC(CF_3)_2PhO$-), 4-clorometilfen-1-ilo, 3-trifluorovinil-2-tienilo, 3-triclorometilfen-1-ilo (es decir, 3-CCl_3Ph-), 4(3-bromoprop-1-il)fen-1-ilo (es decir, 4-$BrCH_2CH_2CH_2Ph$-), y similares. Otros ejemplos de radicales aromáticos incluyen 4-aliloxifen-1-oxi, 4-aminofen-1-ilo (es decir, 4-H_2NPh-), 3-aminocarbonilfen-1-ilo (es decir, NH_2COPh-), 4-benzoilfen-1-ilo, dicianometilidenbis(4-fen-1-iloxi) (es decir, -$OPhC(CN)_2PhO$-), 3-metilfen-1-ilo, metilenbis(4-fen-1-iloxi) (es

decir, -OPhCH$_2$PhO-), 2-etilfen-1-ilo, feniletenilo, 3-formil-2-tienilo, 2-hexil-5-furanilo, hexametilen-1,6-bis(4-fen-1-iloxi) (es decir, -OPh(CH$_2$)$_6$PhO-), 4-hidroximetilfen-1-ilo (es decir, 4-HOCH$_2$Ph-), 4-mercaptometilfen-1-ilo (es decir, 4-HSCH$_2$Ph-), 4-metiltiofen-1-ilo (es decir, 4-CH$_3$SPh-), 3-metoxifen-1-ilo, 2-metoxicarbonilfen-1-iloxi (p.ej., metil salicilo), 2-nitrometilfen-1-ilo (es decir, 2-NO$_2$CH$_2$Ph), 3-trimetilsililfen-1-ilo, 4-t-butildimetilsililfen-1-ilo, 4-vinilfen-1-ilo, vinilidenbis(fenilo), y similares. El término "un radical aromático C$_3$-C$_{10}$" incluye radicales aromáticos que contienen al menos tres, pero no más de 10, átomos de carbono. El radical aromático 1-imidazolilo (C$_3$H$_2$N$_2$-) representa un radical aromático C$_3$. El radical bencilo (C$_7$H$_7$-) representa un radical aromático C$_7$.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "radical cicloalifático" se refiere a un radical que tiene una valencia de al menos uno, y que comprende un sistema de átomos que es cíclico pero que no es aromático. Tal como se define en la presente memoria, un "radical cicloalifático) no contiene un grupo aromático. Un "radical cicloalifático" puede comprender uno o más componentes no cíclicos. Por ejemplo, un grupo ciclohexilmetilo (C$_6$H$_{11}$CH$_2$-) es un radical cicloalifático que comprende un anillo de ciclohexilo (el sistema de átomos que es cíclico pero que no es aromático) y un grupo metileno (el componente no cíclico). El radical cicloalifático puede incluir heteroátomos tales como nitrógeno, azufre, selenio, silicio y oxígeno, o puede estar compuesto exclusivamente por carbono e hidrógeno. Por conveniencia, en la presente memoria se define el término "radical cicloalifático" para que abarque un amplio rango de grupos funcionales tales como grupos alquilo, grupos alquenilo, grupos alquinilo, grupos haloalquilo, grupos dienilo conjugados, grupos alcohol, grupos éter, grupos aldehído, grupos cetona, grupos ácido carboxílico, grupos acilo (por ejemplo, derivados de ácido carboxílico tales como ésteres y amidas), grupos amino, grupos nitro, y similares. Por ejemplo, el radical 4-metilciclopent-1-ilo es un radical cicloalifático C$_6$ que comprende un grupo metilo, siendo el grupo metilo un grupo funcional que es un grupo alquilo. De forma similar, el radical 2-nitrociclobut-1-ilo es un radical cicloalifático C$_4$ que comprende un grupo nitro, siendo el grupo nitro un grupo funcional. Un radical cicloalifático puede comprender uno o más átomos de halógeno que pueden ser iguales o diferentes. Los átomos de halógeno incluyen, por ejemplo, flúor, cloro, bromo y yodo. Los radicales cicloalifáticos que comprenden uno o más átomos de halógeno incluyen 2-trifluorometilciclohex-1-ilo, 4-bromodifluorometilcicloct-1-ilo, 2-clorodifluorometilciclohex-1-ilo, hexafluoroisopropiliden-2,2-bis (ciclohex-4-ilo) (es decir, -C$_6$H$_{10}$C(CF$_3$)$_2$ C$_6$H$_{10}$-), 2-clorometilciclohex-1-ilo, 3-difluorometilenciclohex-1-ilo, 4-triclorometilciclohex-1-iloxi, 4-bromodiclorometilciclohex-1-iltio, 2-bromoetilciclopent-1-ilo, 2-bromopropilciclohex-1-iloxi (p.ej., CH$_3$CHBrCH$_2$C$_6$H$_{10}$O-), y similares. Otros ejemplos de radicales cicloalifáticos incluyen 4-aliloxiciclohex-1-ilo, 4-aminociclohex-1-ilo (es decir, H$_2$NC$_6$H$_{10}$-), 4-aminocarbonilciclopent-1-ilo (es decir, NH$_2$COC$_5$H$_8$-), 4-acetiloxiciclohex-1-ilo, 2,2-dicianoisopropilidenbis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, -OC$_6$H$_{10}$C(CN)$_2$C$_6$H$_{10}$O-), 3-metilciclohex-1-ilo, metilenbis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, -OC$_6$H$_{10}$CH$_2$C$_6$H$_{10}$O-), 1-etilciclobut-1-ilo, ciclopropiletenilo, 3-formil-2-tetrahidrofuranilo, 2-hexil-5-tetrahidrofuranilo, hexametilen-1,6-bis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, -OC$_6$H$_{10}$(CH$_2$)$_6$C$_6$H$_{10}$O-), 4-hidroximetilciclohex-1-ilo (es decir, 4-HOCH$_2$C$_6$H$_{10}$-), 4-mercaptometilciclohex-1-ilo (es decir, 4-HSCH$_2$C$_6$H$_{10}$-), 4-metiltiociclohex-1-ilo (es decir, 4-CH$_3$SC$_6$H$_{10}$-), 4-metoxiciclohex-1-ilo, 2-metoxicarbonilciclohex-1-iloxi (2-CH$_3$OCOC$_6$H$_{10}$O-), 4-nitrometilciclohex-1-ilo (es decir, NO$_2$CH$_2$C$_6$H$_{10}$-), 3-trimetilsililciclohex-1-ilo, 2-t-butildimetilsililciclopent-1-ilo, 4-trimetoxisililetilciclohex-1-ilo (p.ej., (CH$_3$O)$_3$SiCH$_2$CH$_2$C$_6$H$_{10}$-), 4-vinilciclohexen-1-ilo, vinilidenbis(ciclohexilo), y similares. El término "un radical cicloalifático C$_3$-C$_{10}$" incluye radicales cicloalifáticos que contienen al menos tres, pero no más de 10, átomos de carbono. El radical cicloalifático 2-tetrahidrofuranilo (C$_4$H$_7$O-) representa un radical cicloalifático C$_4$. El radical ciclohexilmetilo (C$_6$H$_{11}$CH$_2$-) representa un radical cicloalifático C$_7$.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "radical alifático" se refiere a un radical orgánico que tiene una valencia de al menos uno y que consiste en un sistema lineal o ramificado de átomos que no es cíclico. Los radicales alifáticos se definen para comprender al menos un átomo de carbono. El sistema de átomos que comprende el radical alifático puede incluir heteroátomos tales como nitrógeno, azufre, silicio, selenio y oxígeno o puede estar compuesto exclusivamente por carbono e hidrógeno. Por conveniencia, en la presente memoria el término "radical alifático" se define para abarcar, como parte del "sistema de átomos lineal o ramificado que no es cíclico", un amplio rango de grupos funcionales tales como grupos alquilo, grupos alquenilo, grupos alquinilo, grupos haloalquilo, grupos dienilo conjugados, grupos alcohol, grupos éter, grupos aldehído, grupos cetona, grupos ácido carboxílico, grupos acilo (por ejemplo derivados de ácido carboxílico tales como ésteres y amidas), grupos amino, grupos nitro, y similares. Por ejemplo, el radical 4-metilpent-1-ilo es un radical alifático C$_6$ que comprende un grupo metilo, siendo el grupo metilo un grupo funcional que es un grupo alquilo. De forma similar, el grupo 4-nitrobut-1-ilo es un radical alifático C$_4$ que comprende un grupo nitro, siendo el grupo nitro un grupo funcional. Un radical alifático puede ser un grupo haloalquilo que comprende uno o más átomos de halógeno que pueden ser iguales o diferentes. Los átomos de halógeno incluyen, por ejemplo, flúor, cloro, bromo y yodo. Los radicales alifáticos que comprenden uno o más átomos de halógeno incluyen los haluros de alquilo trifluorometilo, bromodifluorometilo, clorodifluorometilo, hexafluoroisopropilideno, clorometilo, difluorovinilideno, triclorometilo, bromodiclorometilo, bromoetilo, 2-bromotrimetileno (p.ej., -CH$_2$CHBrCH$_2$-), y similares. Ejemplos adicionales de radicales alifáticos incluyen alilo, aminocarbonilo (es decir, -CONH$_2$), carbonilo, 2,2-dicianoisopropilideno (es decir, -CH$_2$C(CN)$_2$CH$_2$-), metilo (es decir, -CH$_3$), metileno (es decir, -CH$_2$-), etilo, etileno, formilo (es decir, -CHO), hexilo, hexametileno, hidroximetilo (es decir, -CH$_2$OH), mercaptometilo (es decir, -CH$_2$SH), metiltio (es decir, -SCH$_3$), metitiometilo (es decir, -CH$_2$SCH$_3$), metoxi, metoxicarbonilo (es decir, CH$_3$OCO-), nitrometilo (es decir, -CH$_2$NO$_2$), tiocarbonilo, trimetilsililo (es decir, (CH$_3$)$_3$Si-), t-butildimetilsililo, 3-trimetoxisililpropilo (es decir, (CH$_3$O)$_3$SiCH$_2$CH$_2$CH$_2$-), vinilo, vinilideno, y similares. A modo de ejemplo adicional, un radical alifático C$_1$-C$_{10}$ contiene al menos uno, aunque no más de 10, átomos de carbono. Un grupo metilo (es decir, -CH$_3$) es un ejemplo de un radical alifático C$_1$. Un grupo decilo (es decir, CH$_3$(CH$_2$)$_9$-) es un ejemplo de un radical alifático C$_{10}$.

En una realización, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que presenta la estructura I



I

en donde R^1 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3; R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de equilibrio de carga. Tal como se demuestra en la presente descripción, los trialcoxisilanos que entran dentro del alcance de la estructura genérica I son útiles en la preparación de composiciones nanoparticuladas útiles como agentes de contraste en los estudios médicos por imagen.

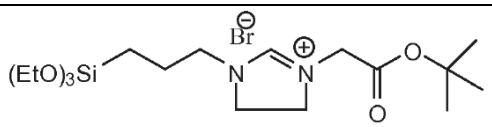
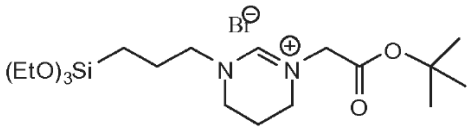
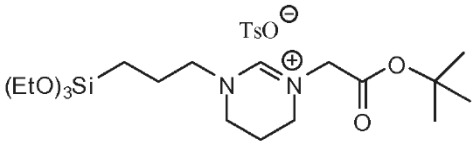
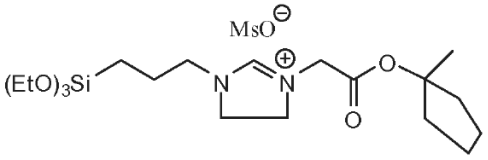
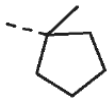
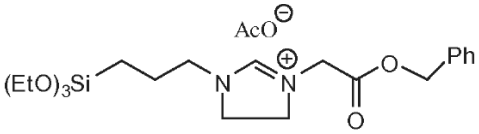
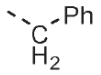
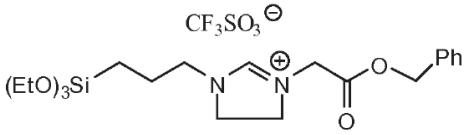
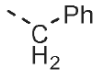
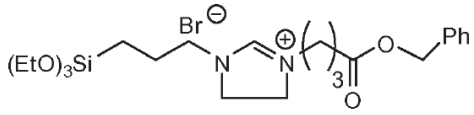
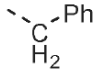
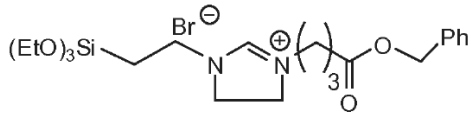
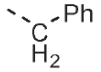
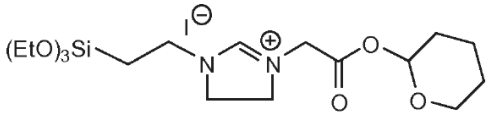
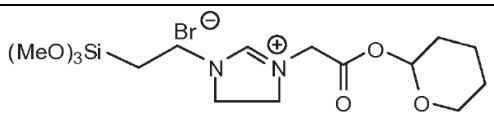
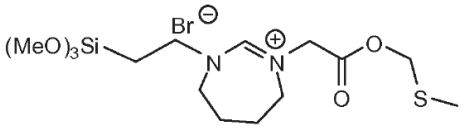
El trialcoxisilano I se puede hacer reaccionar con óxidos metálicos nanoparticulados a través de la agencia del grupo trialcoxisililo para formar óxidos metálicos nanoparticulados en los que el ligando correspondiente a la estructura I está unido al óxido metálico nanoparticulado a través de uno o más enlaces silicio oxígeno.

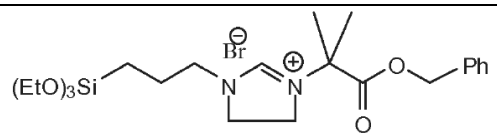
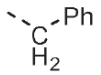
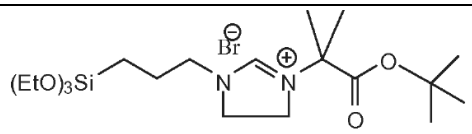
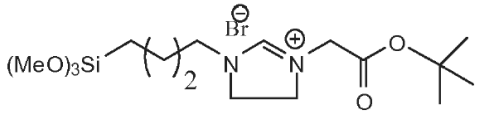
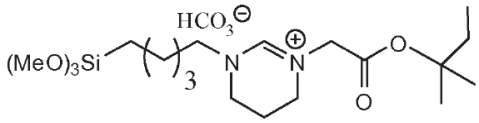
En referencia al trialcoxisilano que presenta la estructura I, R^1 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3, por ejemplo un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo isopropilo o un grupo propilo. Los dos átomos de nitrógeno mostrados en el trialcoxisilano I está unidos a través de 7 enlaces nitrógeno-carbono a 5 átomos de carbono diferentes, y conjuntamente representan el componente cargado positivamente de una sal de amidinio cuaternaria cíclica que tiene la estructura I. Aunque en la estructura I la carga positiva del resto amidinio cíclico se muestra localizado en un único átomo de nitrógeno, los especialistas en la técnica entenderán que según la teoría química aceptada la carga positiva está deslocalizada a lo largo de ambos átomos de nitrógeno del resto de amidinio cíclico y del átomo de carbono sp2 interviniente del mismo. Considerada en conjunto, la estructura I representa tanto un trialcoxisilano como una sal de amidinio cuaternaria cíclica. El grupo R^3 puede ser de forma independiente en cada aparición hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3. En una o más realizaciones, cada R^3 es hidrógeno. El grupo R^4 es un grupo protector que puede ser eliminado en condiciones suaves, por ejemplo en condiciones ligeramente ácidas, o R^4 es un grupo protector que puede ser eliminado en condiciones de hidrogenolisis suaves. Los grupos protectores de éster que pueden eliminarse en condiciones ligeramente ácidas incluyen, aunque sin limitación, grupos butilo terciarios, grupos tetrahidropiranilo, grupos metiltiometileno, grupos 1-metil-1-ciclopentilo y grupos 1-metil-1-ciclohexilo. Los grupos protectores de éster que pueden eliminarse en condiciones de hidrogenolisis suaves incluyen, aunque sin limitación, grupos bencilo, grupos *p*-metoxibencilo y grupos *p*-alquilbencilo.

Los compuestos de trialcoxisilano que presentan la estructura I se ilustran a través de los ejemplos específicos 1a-1o de la Tabla I, mostrada a continuación. Los especialistas en la técnica y que hayan leído la presente descripción entenderán cómo se pueden preparar dichos compuestos. Por ejemplo, un compuesto protegido con éster que comprende un grupo reactivo saliente puede hacerse reaccionar con un trialcoxisilano que comprende un resto de amidina cíclico terciario (es decir, un resto de amidina en el que dos átomos de nitrógeno están unidos a través de enlaces nitrógeno-carbono a 4 átomos de carbono diferentes que incluyen el átomo de carbono sp2 que separa los dos átomos de nitrógeno protegido por éster que comprende un grupo reactivo saliente transformado de este modo el resto de amidina cíclico terciario en un resto de amidinio cíclico cuaternario. Los compuestos 1a-1d, 1i-1k y 1m-1o ilustran trialcoxisilanos proporcionados por la presente invención en los que el grupo R^4 es un grupo protector sensible a ácido. Los compuestos 1e-1h y 1l ilustran trialcoxisilanos proporcionados por la presente invención en los que el grupo R4 es un grupo protector (bencilo) que puede eliminarse en condiciones de hidrogenolisis suaves, p.ej., por exposición a gas hidrógeno en condiciones de presión y temperatura ambientales en presencia de paladio soportado sobre carbón. Cabe destacar que también son adecuados otros grupos protectores que puedan ser eliminados en condiciones hidrogenolíticas, por ejemplo, el grupo *p*-metilbencilo, el grupo *p*-bromobencilo y el grupo *p*-fluorobencilo.

En la Tabla 1, el contraión de balance de carga X^- de la estructura I se ilustra como bromuro (Br^-), yoduro (I^-), tosilato (TsO^-), mesilato (MsO^-), acetato (AcO^-), bicarbonato (HCO_3^-) y trifluorometanosulfonato (Tf^-), aunque también puede ser adecuado un hospedante de aniones orgánicos e inorgánicos.

Tabla I. Ejemplos de trialcoxisilanos que presentan la estructura I.

Entrada	Estructura	R^1	R^3	R^4	X^-	n	q	t
1a		Et	H	t-Bu	Br^-	1	1	0
1b		Et	H	t-Bu	Br^-	1	1	1
1c		Et	H	t-Bu	TsO^-	1	1	1
1d		Et	H		MsO^-	1	1	0
1e		Et	H		AcO^-	1	1	0
1f		Et	H		Tf^-	1	1	0
1g		Et	H		Br^-	1	3	0
1h		Et	H		Br^-	0	3	0
1i		Et	H	TPH	I^-	0	1	0
1j		CH_3	H	TPH	Br^-	0	1	0
1k		CH_3	H	MTM	Br^-	0	1	2

Entrada	Estructura	R^1	R^3	R^4	X^-	n	q	t
1l		Et	CH_3		Br^-	1	1	0
1m		Et	CH_3	t-Bu	Br^-	1	1	0
1n		CH_3	H	t-Bu	Br^-	2	1	0
1o		CH_3	H		HCO_3^-	3	1	1

En una o más realizaciones, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que entra dentro del alcance de la estructura genérica I, en donde cada R1 es metilo, cada R3 es hidrógeno y R4 es butilo terciario, por ejemplo el compuesto 1n de la Tabla I.

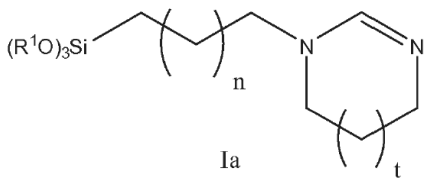
En una o más realizaciones alternativas, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que entra dentro del alcance de la estructura genérica I, en donde cada R^1 es etilo y cada R^3 es metilo, y R^4 es butilo terciario, por ejemplo los compuestos 1 m de la Tabla I.

En una o más realizaciones adicionales, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que entra dentro del alcance de la estructura genérica I, en donde cada R^1 es metilo, cada R^3 es hidrógeno y R^4 es 2-metil-2-butilo, por ejemplo el compuesto 1o de la Tabla I.

En una realización, la presente invención proporciona un trialcoxisilano que entra dentro de la estructura genérica I, en donde R^4 es bencilo, por ejemplo los compuestos 1e-1h, y 1l de la Tabla I. En una realización alternativa, R^4 es *p*-metoxibencilo.

Como se ha indicado, los trialcoxisilanos I son útiles en la preparación de nanopartículas, que son útiles en sí mismas como medio de contraste en la diagnosis por imágenes. El resto de trialcoxisilano $(R^1O)_3Si$ presente en el trialcoxisilano I se puede hacer condensar con grupos que contengan oxígeno reactivo de un óxido metálico nanoparticulado tal como óxido de tántalo nanoparticulado, recubriendo de este modo la superficie del óxido metálico nanoparticulado para proporcionar una composición nanoparticulada que comprende un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y una ligando de trioxisilano cargado positivamente. Las estructuras de dichos óxidos metálicos nanoparticulados funcionalizados pueden ser complejas y contener una pluralidad de ligandos de trioxisilano ligados a las partículas de óxido metálico nanoparticulado. El término “funcionalizado” cuando se usa en el contexto de la presente invención puede considerarse que significa “recubierto” o “recubierto parcialmente” y en donde al menos una porción de los ligandos de trioxisilano que “recubren” el óxido metálico nanoparticulado están en realidad unidos químicamente a través de uno o más enlaces oxígeno-silicio al óxido metálico nanoparticulado.

En determinadas circunstancias, las nanopartículas proporcionadas por la presente invención que comprenden ligandos de trioxisilano que corresponden al trialcoxisilano I, pueden comprender adicionalmente ligandos de trioxisilano que corresponden al trialcoxisilano Ia



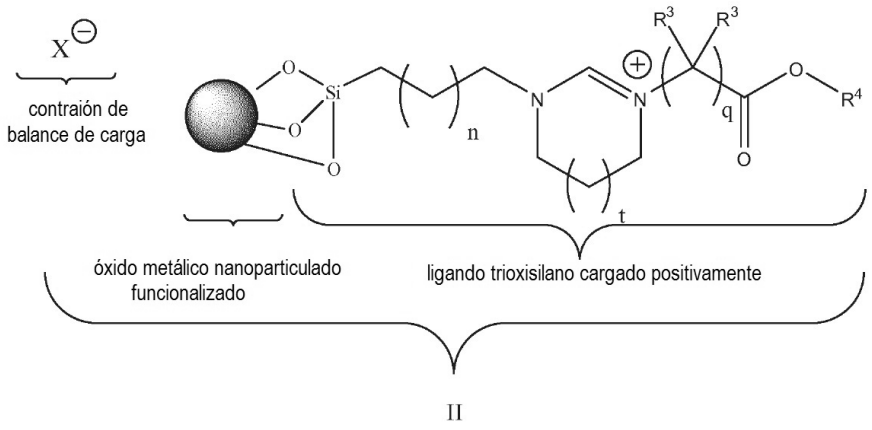
Ia

que comprende un resto de amidina terciaria y en donde R^1 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3; n es 0, 1, 2 ó 3; y; t es 0, 1 ó 2.

La presencia de dichos ligandos de trioxisilano correspondientes a la amidina terciaria Ia en nanopartículas puede afectar a las características de desempeño de dichas nanopartículas como agentes de diagnóstico por imágenes, y también puede afectar a las características de toxicidad de dichas nanopartículas. En determinadas realizaciones, las nanopartículas proporcionadas por la presente invención comprenden tanto ligandos de trioxisilano correspondientes al trialcoxisilano I como ligandos de trioxisilano correspondientes al trialcoxisilano Ia. En una realización, menos del 50 por ciento de los ligandos de trioxisilano presentes en una nanopartícula proporcionada por la presente invención corresponden al trialcoxisilano Ia. En otra realización, menos del 20 por ciento de los ligandos de trioxisilano presentes en una nanopartícula proporcionada por la presente invención corresponden al trialcoxisilano Ia. En otra realización adicional, menos del 5 por ciento de los ligandos de trioxisilano presentes en una nanopartícula proporcionada por la presente invención corresponden al trialcoxisilano Ia. En una realización alternativa, la nanopartícula proporcionada por la presente invención está sustancialmente libre de ligandos de trioxisilano correspondientes al trialcoxisilano Ia.

Por comodidad, las composiciones nanoparticuladas funcionalizadas se muestran frecuentemente como un cuerpo esférico que representa el óxido metálico nanoparticulado unido a un único ligando de trioxisilano de aproximadamente el mismo tamaño. En realidad, las partículas de óxido metálico nanoparticulado son considerablemente más grandes que la pluralidad asociada de ligandos de trioxisilano unidos a cada partícula de óxido metálico nanoparticulado de la composición. Adicionalmente, son posibles rutas de condensación múltiple ya que el trialcoxisilano I se condensa con grupos que contengan oxígeno reactivo del óxido metálico nanoparticulado. A pesar de esta idealización significativa en la representación química de la composición nanoparticulada, los especialistas en la técnica apreciarán la naturaleza y las estructuras químicas de las composiciones nanoparticuladas proporcionadas por la presente invención, y cómo dichas estructuras difieren de composiciones nanoparticuladas conocidas. Cuando la estructura química de una composición nanoparticulada ha sido simplificada en uno o más aspectos, a veces se dice en la presente memoria que tiene una estructura idealizada.

En una realización, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada II, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano cargado positivamente



II

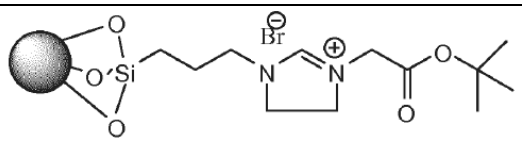
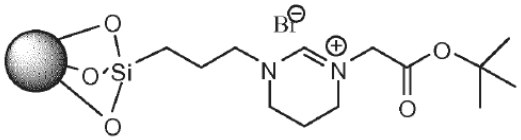
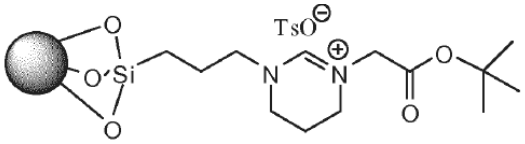
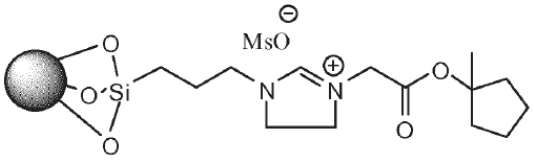
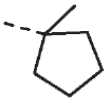
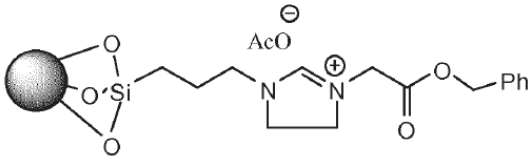
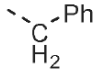
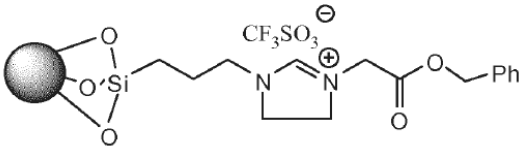
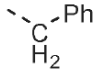
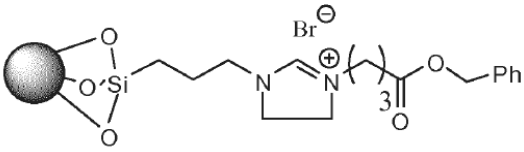
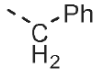
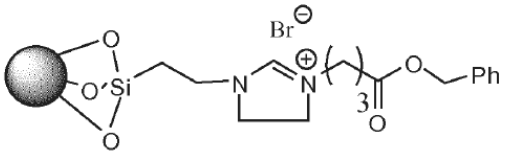
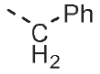
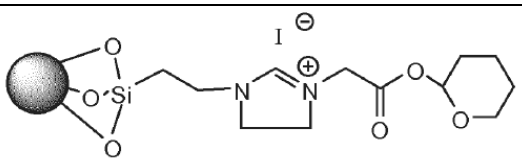
en donde R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de balance de carga; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

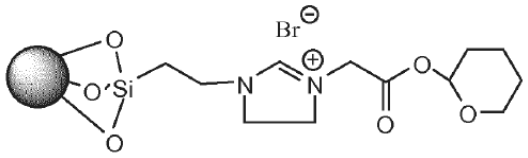
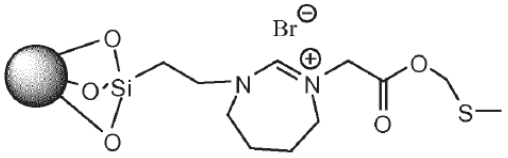
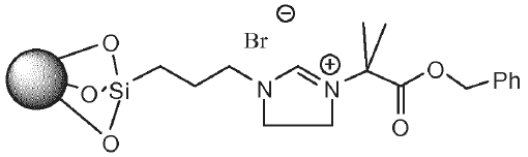
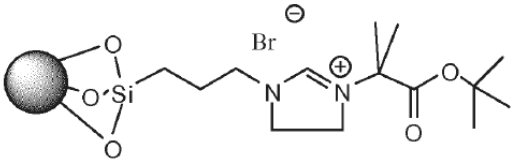
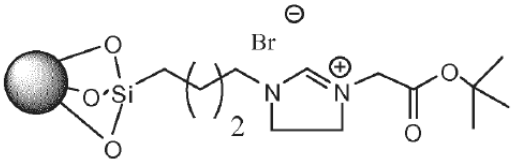
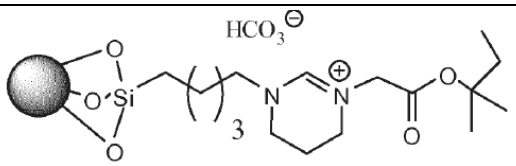
Cada una de las composiciones de nanopartículas proporcionadas por la presente invención comprende un óxido metálico nanoparticulado que comprende óxido de tántalo (Ta_2O_5). En una o más realizaciones, el óxido metálico nanoparticulado que comprende óxido de tántalo (Ta_2O_5) comprende otros óxidos metálicos, por ejemplo óxido de hierro y óxido de titanio, además del Ta_2O_5. Sin embargo, típicamente la cantidad de dichos óxidos metálicos adicionales es pequeña en comparación con la cantidad de óxido de tántalo presente en el óxido metálico nanoparticulado. En una realización, el óxido metálico nanoparticulado usado según uno o más aspectos de la presente invención contiene aproximadamente el 90% en peso de óxido de tántalo. En otra realización, el óxido metálico nanoparticulado usado según uno o más aspectos de la presente invención contiene aproximadamente el 95% en peso de óxido de tántalo. En una realización, se dice que el óxido metálico nanoparticulado consiste esencialmente en óxido de tántalo y contiene menos de un 1% en peso de otras especies de óxidos metálicos.

En la Tabla II se ilustran composiciones nanoparticuladas que comprenden nano partículas que tienen la estructura idealizada II y que corresponden al producto de condensación de un óxido metálico nanoparticulado que comprende óxido de tántalo con un compuesto de trialcoxisilano que presenta la estructura I. Con fines ilustrativos, cada uno de los compuestos de trialcoxisilano enumerados en la Tabla I se muestra transformado en el correspondiente ligando de trioxisilano unido al óxido metálico nanoparticulado funcionalizado en la Tabla II. De esta manera, la estructura 1a

de la Tabla I se corresponde con la estructura 2a de la Tabla II, la estructura 1b de la Tabla I se corresponde con la estructura 2b de la Tabla II, y así con los demás. Cada una de las estructuras mostradas en la Tabla II ha sido idealizada por comodidad. Los especialistas en la técnica que hayan leído la presente descripción entenderán que la identidad del contraión de balance de carga de una composición dada puede depender de los protocolos de reacción empleados en la preparación de la composición nanoparticulada que comprende las nanopartículas II.

Tabla II. Ejemplos de nanopartículas que presentan la estructura idealizada II.

Entrada	Estructura	R^3	R^4	X^-	n	q	t
2a		H	t-Bu	Br^-	1	1	0
2b		H	t-Bu	Br^-	1	1	1
2c		H	t-Bu	TsO^-	1	1	1
2d		H		MsO^-	1	1	0
2e		H		AcO^-	1	1	0
2f		H		Tf^-	1	1	0
2g		H		Br^-	1	3	0
2h		H		Br^-	0	3	0
2i		H	TPH	I^-	0	1	0

Entrada	Estructura	R^3	R^4	X^-	n	q	t
2j		H	TPH	Br^-	0	1	0
2k		H	MTM	Br^-	0	1	2
2l		CH_3		Br^-	1	1	0
2m		CH_3	t-Bu	Br^-	1	1	0
2n		H	t-Bu	Br^-	2	1	0
2o		H		HCO_3^-	3	1	1

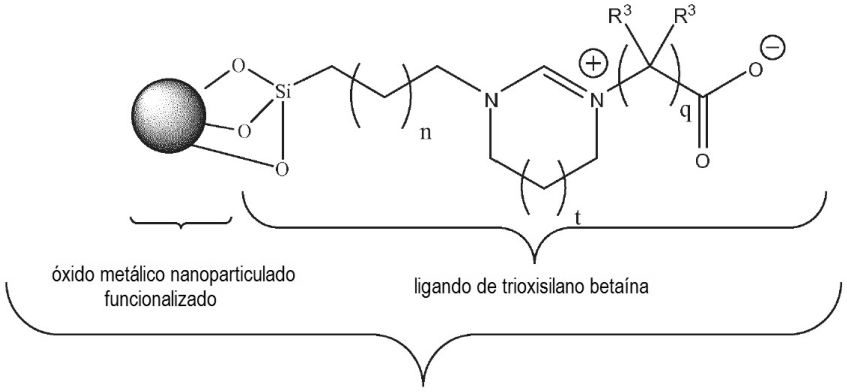
En una o más realizaciones, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro del alcance de la estructura genérica II, en donde cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es butilo terciario, por ejemplo los compuestos 2a-2c y 2n de la Tabla II.

En una o más realizaciones alternativas, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro del alcance de la estructura genérica II, en donde cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es 2-metil-2-butilo, por ejemplo la nanopartícula 2o de la Tabla II.

En una realización, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica II en donde R^4 es bencilo, por ejemplo los compuestos 2e-2h y 2l de la Tabla II. En una realización alternativa, R^4 es *p*-metoxibencilo.

En una realización, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica II en donde cada R^3 es hidrógeno, R^4 es butilo terciario, n es 1, q es 1; y el óxido metálico nanoparticulado consiste esencialmente en óxido de tántalo nanoparticulado. Véase por ejemplo la nanopartícula que tiene la estructura idealizada 2a de la Tabla II.

En un aspecto, las composiciones nanoparticuladas que comprenden nanopartículas que entra dentro de la estructura genérica II son útiles principalmente como precursores de composiciones nanoparticuladas que comprenden ligandos de trioxisilano betaína tales como los mostrados en la estructura idealizada III



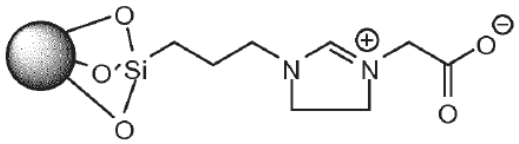
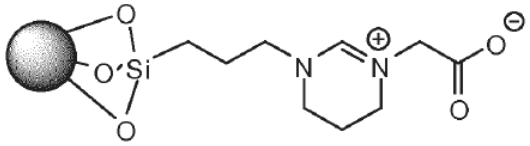
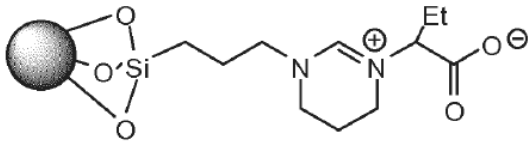
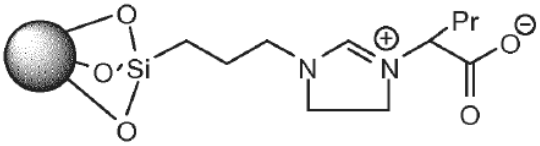
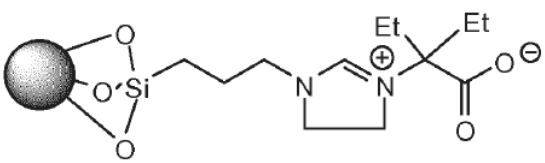
III

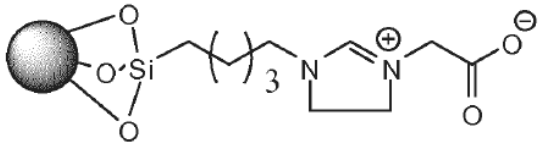
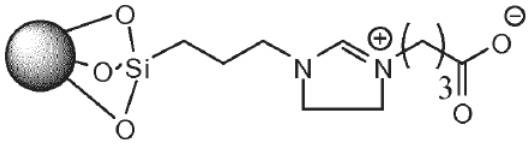
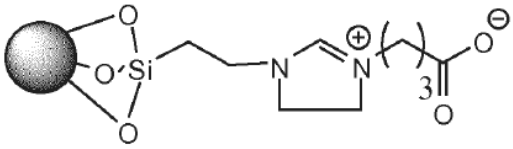
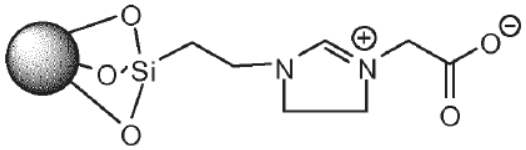
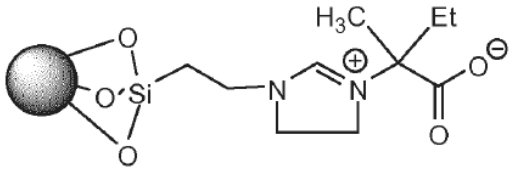
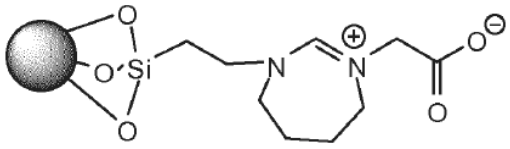
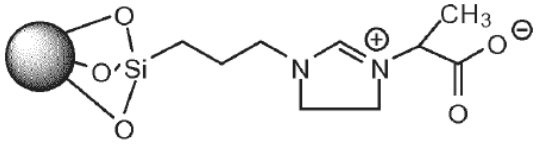
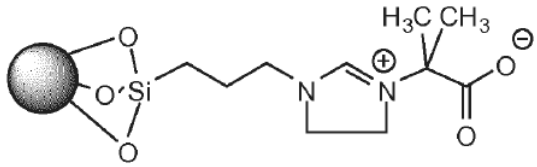
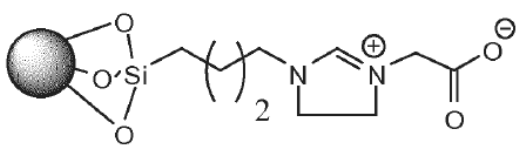
en donde R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado. Dichas composiciones nanoparticuladas muestran potencial como agentes de contraste en el diagnóstico médico por imagen.

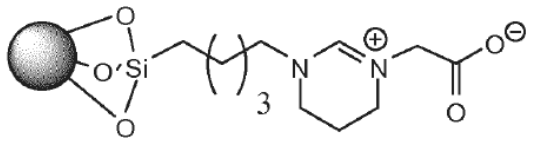
Los especialistas en la técnica que hayan leído la presente descripción entenderán que la ruptura de resto éster que comprende el grupo protector R4 proporciona un resto carboxilato que puede actuar como contraión de balance de carga para el resto de amidinio cuaternario cargado positivamente. Dichas especies de carga separada, pero equilibrada, se denominan betaínas en química orgánica.

La Tabla III proporciona ejemplos de composiciones nanoparticuladas que comprenden nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica III y que comprenden un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano betaína.

Tabla III. Ejemplos de nanopartículas que presentan la estructura idealizada III.

Entrada	Estructura	R^3	n	q	t
3a		H	1	1	0
3b		H	1	1	1
3c		H, Et	1	1	1
3d		H, Pr	1	1	0
3e		Et	1	1	0

Entrada	Estructura	R^3	n	q	t
3f		H	3	1	0
3g		H	1	3	0
3h		H	0	3	0
3i		H	0	1	0
3j		CH_3, Et	0	1	0
3k		H	0	1	2
3l		H, CH_3	1	1	0
3m		CH_3	1	1	0
3n		H	2	1	0

Entrada	Estructura	R^3	n	q	t
3o		H	3	1	1

En una o más realizaciones, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica III, en donde cada R^3 es hidrógeno, por ejemplo las nanopartículas representadas por las estructuras 3a, 3b, 3f-3i, 3k y 3n-3o de la Tabla III.

En una o más realizaciones alternativas la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica III en donde cada R^3 es metilo, por ejemplo las nanopartículas representadas por la estructura 3m de la Tabla III.

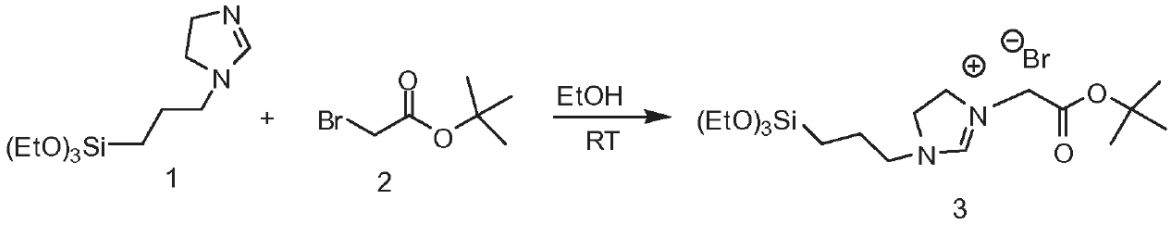
En una o más realizaciones alternativas la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica III en donde n es 1; q es 1; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado consiste esencialmente en óxido de tántalo, por ejemplo las nanopartículas representadas por las estructuras 3a-3e y 3l-3m de la Tabla III.

En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición de agente de diagnóstico por imagen que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III. En una o más realizaciones, la composición de agente de diagnóstico por imagen puede comprender un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente adecuados aceptables incluyen, aunque sin limitación, agua y etanol acuoso. Los excipientes farmacéuticamente adecuados aceptables incluyen, aunque sin limitación, sales, desintegrantes, aglomerantes, rellenos, lubricantes y combinaciones de dos o más de los anteriores.

Una característica importante que resalta la utilidad de las composiciones de agente de diagnóstico por imagen proporcionadas por la presente invención es consecuencia de la naturaleza nanoparticulada de las propias nanopartículas. En una o más realizaciones, las nanopartículas que constituyen las composiciones de agente de diagnóstico por imagen presentan una mediana de tamaño de partícula de hasta 10 nm. En otra realización, las nanopartículas que constituyen las composiciones de agente de diagnóstico por imagen presentan una mediana de tamaño de partícula de hasta 6 nm.

PARTE EXPERIMENTAL

Ejemplo 1 – Síntesis del trialcoxisilano 3

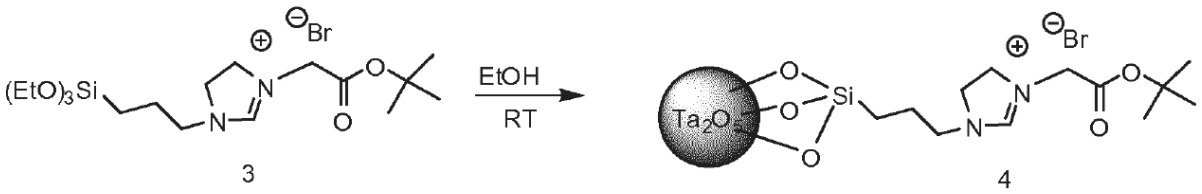


A una disolución agitada de N-[3-(trietoxisilil)propil]-4,5-dihidroimidazol (12,615 g, Compuesto 1) disuelto en 50-55 mL de etanol anhidro a temperatura ambiente (RT) se añadió bromo *terc*-butil acetato 2 (8,965 g). La mezcla de reacción resultante se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 4 días para dar lugar a una disolución del trialcoxisilano 3 en etanol.

Método 1 – Preparación de óxido de tántalo (Ta_2O_5) nanoparticulado

A 170 mL de metanol anhidro se añadieron 2,5 mL de ácido isobutírico y 0,695 mL de óxido de deuterio a temperatura ambiente (RT) con agitación en una caja seca con atmósfera de nitrógeno. Dicha mezcla se agitó durante 30 minutos, tras lo cual se añadió etóxido de tántalo (9,34 g) gota a gota. Se dejó agitar la mezcla de reacción durante 5 horas para producir una disolución de Ta_2O_5 nanoparticulado. Se extrajo el matraz de la caja seca y se llevó a atmósfera inerte usando un sistema de Schlenck/línea de vacío para preparar el procedimiento descrito a continuación en el Ejemplo 2.

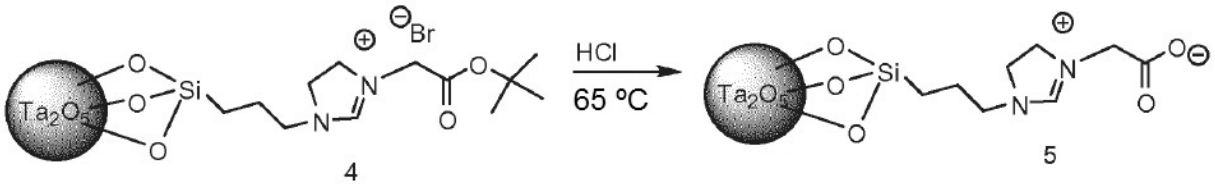
Ejemplo 2 – Reacción de recubrimiento, síntesis de la nanopartícula 4



3 4

La disolución de etanol que contenía el trialcoxisilano 3 preparado en el Ejemplo 1 se añadió como un bolo a la disolución de Ta_2O_5 nanoparticulado preparada en el Método 1 y la mezcla resultante se llevó a reflujo durante una noche en atmósfera de nitrógeno. Al siguiente día, la mezcla de reacción se enfrió a 60ºC y se añadió gota a gota 2,482 mL de agua purificada tras alcanzar equilibrio térmico para promover la hidrólisis de los silanos. Después de agitar durante 3 horas y 45 minutos, se añadieron 2 mL de HCl 3 M en agua, y se continuó calentando y agitando durante 3 horas. A continuación, se añadieron otros 2 mL de HCl 3 M en agua gota a gota y se mantuvo la agitación y la calefacción durante una noche. Al día siguiente la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente (RT) y se dejó continuar la agitación durante 24 horas para producir una disolución que comprendía nanopartículas con la estructura idealizada 4.

Ejemplo 3 – Síntesis de la nanopartícula 5 (CZ3)



4 5

La disolución que comprendía nanopartículas 4 preparada en el Ejemplo 2 se concentró a presión reducida a 40ºC para producir una espuma sólida. Al matraz que contenía la espuma se añadieron 100 mL de HCl 0,01 M en agua. A continuación se cerró el matraz herméticamente y se agitó el contenido a 65ºC durante 68 horas para hidrolizar el éster de butilo terciario. La disolución marrón tostado/dorada predominantemente homogénea resultante fue enfriada a continuación y llevada a pH 4-4,5 usando hidróxido amónico 0,05-0,2 N en agua. Se extrajo una alícuota y un análisis espectroscópico de RMN de ^1H indicó que la hidrólisis del éster de t-butilo se había completado. La disolución del producto que comprendía nanopartículas con la estructura idealizada 5, a veces denominada en la presente memoria “CZ3” se purificó como se describe a continuación en el Ejemplo 4.

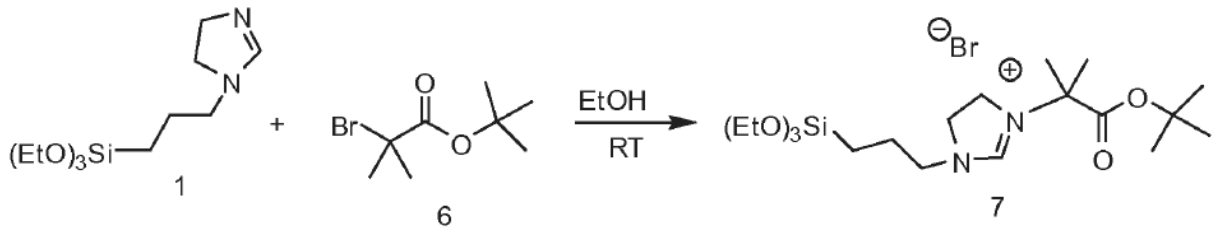
Ejemplo 4 – Purificación de la nanopartícula 5

La disolución que comprende las nanopartículas 5 preparadas en el Ejemplo 3 se filtró secuencialmente a través de un filtro de 0,22 µm y después un filtro de 100 nm. La disolución resultante se concentró a 40ºC hasta aproximadamente 100 mL, se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y después se dializó usando un tubo de diálisis de piel de serpiente de celulosa regenerado MWCO de 3,5 kDa para eliminar las impurezas de bajo peso molecular. El baño de diálisis tenía un volumen de aproximadamente 3 L y contenía dos tubos, cada uno de ellos con 50 mL de la disolución que comprendía las nanopartículas 5. Después de un total de 7 cambios de baño, las disoluciones que contenían producto fueron retiradas de los tubos y purificadas adicionalmente mediante filtración a 100 nm para dar lugar a una disolución purificada de la composición de nanopartículas producto que comprendía las nanopartículas 5. Se secó por congelación una alícuota y se analizó espectroscópicamente. El rendimiento del producto fue del 70% y se basó en la cantidad de tántalo presente en la disolución de producto purificado. Se observó que la relación molar Si:Ta era de 1,46, determinada mediante análisis elemental. El porcentaje en peso de tántalo (% Ta) en el producto fue de 33,5% en peso, determinado mediante análisis elemental. Se observó que el tamaño de partícula promedio ($Z_{efectivo}$) era de 3,7 nm. La asignación de estructura de recubrimiento de partícula fue consistente con los datos espectroscópicos.

Método 2 – Preparación alternativa de óxido de tántalo (Ta_2O_5) nanoparticulado

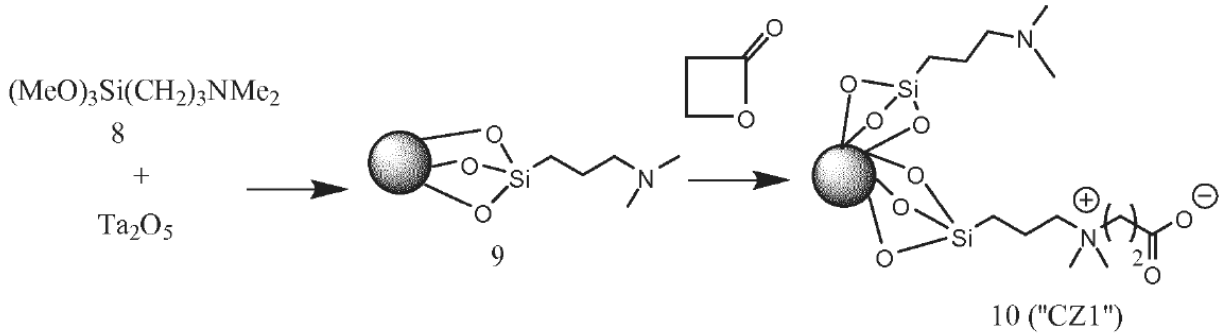
A 364 mL de metanol anhidro se añadieron 5,36 mL de ácido isobutírico y 1,495 mL de óxido de deuterio a temperatura ambiente con agitación en una caja seca con atmósfera de nitrógeno. Dicha mezcla fue agitada durante 30 minutos, tras lo cual se añadió etóxido de tántalo (20 g) gota a gota a lo largo de un periodo de aproximadamente 8 minutos. Se dejó agitar la mezcla de reacción durante 5 horas, tras lo cual se retiró el matraz que contenía el producto de Ta_2O_5 nanoparticulado de la caja seca y se llevó a atmósfera inerte usando un sistema de Schlenck/línea de vacío.

Ejemplo 5 – Síntesis del trialcoxisilano 7



A N-[3-(trietoxisilil)propil]-4,5-dihidroimidazol 1 (13,243 g) puro se añadió 2-bromo *terc*-butil isopropionato 6 (10,755 g) en condiciones altamente anhidras en una atmósfera inerte. La mezcla pura se agitó durante 6 horas con nitrógeno a 90ºC. El producto trialcoxisilano 7 se solidificó tras enfriar. El análisis de RMN de ^1H ($CDCl_3$) indicó una conversión aproximada del 85% y el análisis espectral de masas ((+) MALDI) mostró una señal limpia del catión de imidazolio a 417 m/z.

Ejemplo Comparativo – Síntesis de la nanopartícula "CZ1"

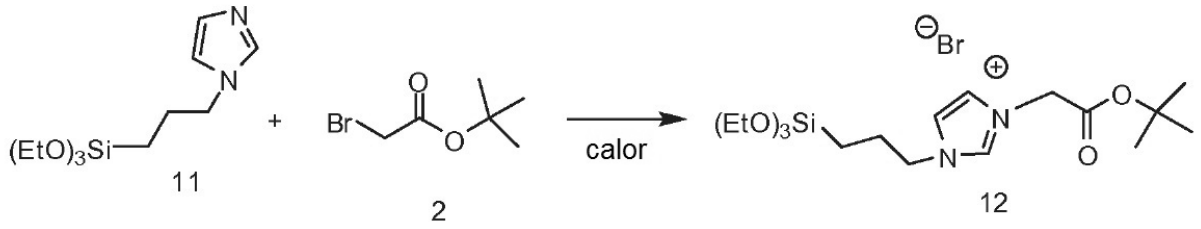


Se añadió trimetoxisilano de dimetilaminopropilo 1 (11,23 g) en forma de bolo al Ta_2O_5 nanoparticulado preparado en el Método 2 anterior y la mezcla resultante se sometió a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente para proporcionar una disolución que comprende las nanopartículas 9. A continuación se añadió beta-propiolactona (7,95 g) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después se añadió lentamente agua purificada (5,35 mL) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se llevó entonces a pH 10 usando hidróxido sódico 1,73 M en agua (aproximadamente 20-50 mL) y se calentó a 50ºC durante 8 horas. En ese momento se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se neutralizó usando HCl 1,2 M en agua hasta alcanzar un pH de 3, momento en el cual la mezcla de reacción se agitó otras 7 horas más a temperatura ambiente. A continuación se elevó el pH a 8 usando hidróxido sódico 4 M en agua para proporcionar una disolución producto que contenía nanopartículas que presentaban la estructura idealizada 10, a veces denominada "CZ1".

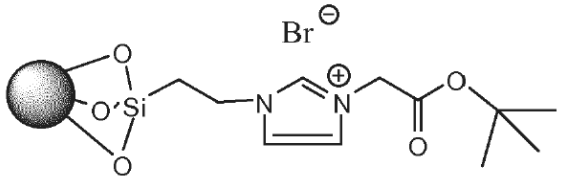
Método 3 – Purificación de la nanopartícula 10 (CZ1)

Una diálisis exhaustiva usando tubos MWCO de 3,5 kDa eliminó las impurezas de bajo peso molecular. El baño de diálisis tenía un volumen de aproximadamente 3 L y contenía de cuatro a cinco tubos, cada uno de ellos con 50 mL de volumen de la disolución producto. Después de un total de 21 cambios de baño, la disolución producto purificada se retiró de los tubos y se purificó adicionalmente mediante filtración centrífuga a través de una membrana de celulosa regenerada de 30 kDa (4 K rpm durante 15 minutos). El rendimiento de reacción tras la purificación fue del 58,3% en base a los moles de tántalo. La relación molar Si:Ta fue de 1,05, determinada mediante análisis elemental. Se obtuvo un tamaño de partícula promedio (Zefectivo) de 4,8 nm. La asignación de estructura de recubrimiento de partícula es consistente con los datos espectroscópicos. Un análisis de espectroscopía de RMN de ^1H indicó que aproximadamente el 50% de los grupos amino terciarios presentes en las nanopartículas 9 habían sido convertidos al correspondiente resto de amonio cuaternario.

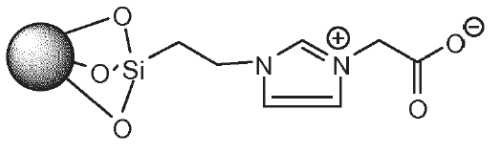
Ejemplo 6 – Síntesis del trialcoxisilano 12



Se añadió 1 equivalente de 2-bromo *terc*-butil acetato 2 a N-3-(trietoxisilil)propilimidazol 11 puro en condiciones anhidras en atmósfera inerte. La mezcla pura se agitó durante 1-6 horas en atmósfera de nitrógeno a una temperatura en el rango de 40 a 90ºC. El producto de trialcoxisilano 12 puede aislarse mediante recristalización y/o cromatografía en columna. El trialcoxisilano 12 puede convertirse en nanopartículas representadas por las estructuras idealizadas 13 y 14 usando técnicas análogas a las descritas en los Ejemplos 2-4 de la presente memoria. Se cree que las composiciones nanoparticuladas que comprenden las nanopartículas 13 son útiles en la preparación de agentes nanoparticulados de diagnóstico por imagen. Se cree que las composiciones nanoparticuladas que comprenden las nanopartículas 14 son útiles como agentes nanoparticulados de diagnóstico por imagen.



13



14

ESTUDIOS *IN VIVO*

Se formularon composiciones nanoparticuladas de óxido de tántalo para inyección y se evaluaron para determinar la contaminación de endotoxinas usando kits comerciales (Endosafe, Charles River Labs). Ninguno de los agentes usados en la evaluación *in vivo* contenía cantidades medibles de endotoxinas. Cada una de las composiciones nanoparticuladas evaluadas presentó esencialmente la misma distribución de tamaño de partícula.

Se llevaron a cabo estudios con animales según los protocolos aprobados por el “Institutional Animal Care and Use Comittee” de GE Global Research. Se realizaron inyecciones a ratas (n=4 por agente y por dosis) a través de la vena de la cola, estando despiertas, en dosis de 400 y 1500 miligramos de Ta por kilogramo de peso corporal. Las ratas inyectadas se devolvieron a las jaulas y se tomaron muestras sanguíneas a diferentes tiempos desde la inyección para análisis hematológico (recuento sanguíneo completo y análisis químico clínico). A los 7 días de la inyección, las ratas fueron sometidas a eutanasia con CO_2 y se recolectaron los órganos para análisis clínico. Se determinó la cantidad de Ta retenido por órgano y en el cuerpo completo de las ratas inyectadas mediante ICP AES.

Se recolectaron secciones representativas de tejido con un peso aproximado de 500 mg para digestión en microondas y posterior análisis de ICP-OES. Las muestras fueron transferidas cuantitativamente desde tubos de centrífuga VWR® de 50 mL de polipropileno, estériles, libres de metal, a tubos recipientes de microondas de fluoropolímero CEM Corp XP-1500 Plus™ TFM™ de 100 mL. Los tubos fueron lavados de forma efectiva de la muestra residual mediante adición secuencial de disolvente, agitación de vórtice y transferencia a 2 mL de agua desionizada 18MΩ (DIW; Millipore, Bedfort, MA, EE.UU.), 500 µL de HF (46,0-51,0%) + 1 mL de HNO_3 (70%) Ultrex® II ultrapuro grado reactivo y 2 mL de H_2O_2 (30-32%) ‘Baker Analyzed’® A.C.S. grado reactivo (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EE.UU.). Se dejó que las muestras fueran pre-digeridas durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de sellar el recipiente de microondas y realizar un procesado en una unidad MARSXpress (CEM Corp, Matthews, NC, EE.UU.) con una rampa hasta 180ºC en 15 minutos y manteniendo durante 30 minutos. Se permitió que los recipientes se enfriaran hasta temperatura ambiente antes de despresurizar y transferir a tubos de

centrífuga de 50 mL pesados previamente que contenían 2 mL de disolución de 100 ppm de Nb en HF al 1% como patrón interno. Las muestras se llevaron a un volumen total de 20 mL usando DIW 18MΩ, lavando el recipiente de microondas un mínimo de 3 veces y pesando.

Se llevaron a cabo análisis con las condiciones instrumentales descritas en la Tabla 1, se tomaron hasta 3 réplicas en las condiciones espectrales de 3 puntos por pico usando una corrección de fondo de 2 puntos y un retardo de equilibrado de fuente de 30 segundos. Para el calibrado se usaron patrones de matriz coincidente en HNO_3 al 5% + HF al 0,5% de 0,2 a 100 ppm de Specpure® 10.000 µg/mL de $TaCl_5$ en HF al 2% (Alfa Aesar, Ward Hill, MA, EE.UU.) y para el control de calidad se usó una disolución 4 multi-elemento SPEX CertiPrep® de 1 ppm a partir de un reservorio de 10 mg/L (Metuchen, NJ, EE.UU.). La disolución de lavado de ICP-OES de HNO_3 al 5% + HF al 0,5% fue bombeada con un caudal de 2,0 $mL \cdot min^{-1}$ durante 45 segundos entre cada análisis.

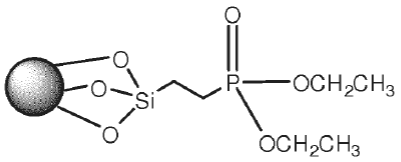
Tabla 1. Parámetros operacionales usados en el PerkinElmer Inc. Optima 5300™ DV ICP-OES con configuración vista radialmente*

Parámetro	Valor
Potencia de generador de RF (W)	1450
Caudal de gas de plasma ($L \cdot min^{-1}$)	15,0
Caudal de gas auxiliar ($L \cdot min^{-1}$)	0,20
Caudal de gas nebulizador ($L \cdot min^{-1}$)	0,85
Caudal de muestra ($mL \cdot min^{-1}$)	1,50
Longitudes de onda (nm)	Ta 240,063 Nb 269,706

*El instrumento está equipado con un autoinyector PerkinElmer AS 93, inyector de alúmina de 2,0 mm d.i., Cámara de Pulverización Ryton Scott y sistema de introducción de muestra al nebulizador de flujo cruzado Gem Tip.

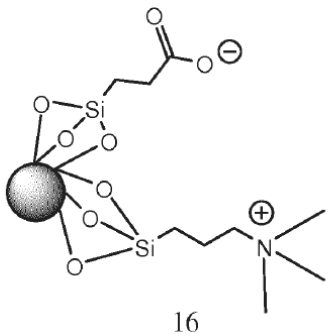
En las Tablas 2-5, mostradas a continuación, se presentan los datos de retención en órganos correspondientes a cuatro composiciones nanoparticuladas de tántalo diferentes. Las composiciones nanoparticuladas referidas en la Tabla 2 (PHS-Ta_2O_5) y la Tabla 3 (ZMS-Ta_2O_5) y la Tabla 5 (CZ1) se presentan con fines comparativos e ilustran el comportamiento mejorado de los agentes de contraste proporcionados por los datos ilustrativos de la presente invención, los cuales se proporcionan en la Tabla 4.

El PHS-Ta_2O_5, también conocido como 2-dietilfosfatoetilsilano-TaO, es una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada 15, y que fue preparada como se ha descrito en Investigative Radiology Vol. 47, Nº10, pág. 1-10, 2012.



15

El ZMS-Ta_2O_5, también descrito como metoxi silano zwitteriónico TaO, es una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada 16, que fue preparada como se ha descrito en un artículo académico titulado “Preclinical Assessment of a Zwitterionic Tantalum Oxide Nanoparticle X-ray Contrast Agent (ACS Nano, publicado on-line el 25 de julio de 2012 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22768795).



16

Tabla 2 – Ta retenido en órganos. PHS-Ta_2O_5 siete días después de inyección.

Tejido	% dosis inyectada (dosis de 400 mg Ta/kg) +/- SD	% dosis inyectada (dosis de 1500 mg Ta/kg) +/- SD
Hígado	2,49 (+/- 0,200)	1,29 (+/- 0,090)
Riñones	2,91 (+/- 0,39)	1,06 (+/- 0,10)
Bazo	0,23 (+/- 0,020)	0,14 (+/- 0,040)

Tabla 3 – Ta retenido en órganos. ZMS-Ta_2O_5 siete días después de inyección.

Tejido	% dosis inyectada (dosis de 400 mg Ta/kg) +/- SD	% dosis inyectada (dosis de 1500 mg Ta/kg) +/- SD
Hígado	0,640 (+/- 0,001)	0,30 (+/- 0,010)
Riñones	0,300 (+/- 0,009)	0,216 (+/- 0,009)
Bazo	0,070 (+/- 0,0001)	0,04 (+/- 0,0001)

Tabla 4 – Ta retenido en órganos. CZ3 (Estructura idealizada 5) siete días después de inyección.

Tejido	% dosis inyectada (dosis de 400 mg Ta/kg) +/- SD	% dosis inyectada (dosis de 1500 mg Ta/kg) +/- SD
Hígado	0,042 (+/- 0,014)	0,384 (+/- 0,229)
Riñones	0,299 (+/- 0,012)	0,216 (+/- 0,011)
Bazo	0,003 (+/- 0,0001)	0,004 (+/- 0,0002)

Tabla 5 – Ta retenido en órganos. CZ1 siete días después de inyección.

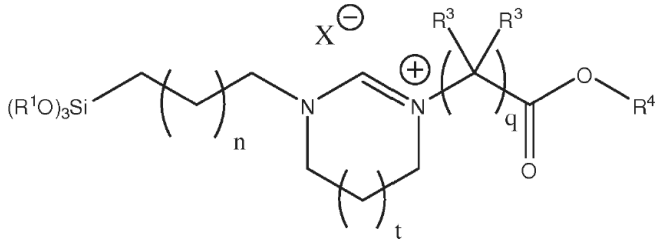
Tejido	% dosis inyectada (dosis de 400 mg Ta/kg) +/- SD	% dosis inyectada (dosis de 1500 mg Ta/kg) +/- SD
Hígado	2,53 (+/- 0,34)	no determinado
Riñones	0,43 (+/- 0,021)	no determinado
Bazo	0,26 (+/- 0,066)	no determinado

Los datos presentados en las Tablas 2-5 demuestran el comportamiento mejorado de la composición nanoparticulada CZ3 (Tabla 4, estructura idealizada 5) respecto a las composiciones nanoparticuladas de control PHS-Ta_2O_5, ZMS-Ta_2O_5 y CZ1. A pesar de tener el mismo tamaño, las diferentes composiciones nanoparticuladas exhiben perfiles de retención en órganos muy diferentes. La composición nanoparticulada CZ3 exhibe una tasa de eliminación de órganos muy superior a las composiciones nanoparticuladas CZ1, PHS-Ta_2O_5 y ZMS-Ta_2O_5, un indicio prometedor de utilidad y seguridad clínicas potencialmente mejoradas para las realizaciones de la presente invención que están sustancialmente libres, o que contienen niveles relativamente bajos, de ligandos de trioxisilano que contienen amidina terciaria correspondientes al trialcoxisilano Ia. La composición nanoparticulada CZ1 (estructura idealizada 10) fue lo suficientemente tóxica para que los estudios de retención no pudieran ser llevados a cabo con éxito al nivel de 1500 mg/kg.

Los anteriores ejemplos son meramente ilustrativos, y sirven únicamente para ilustrar algunas de las características de la invención. Las reivindicaciones anexas están dirigidas a reivindicar la invención tan ampliamente como ha sido concebida, y los ejemplos de la presente memoria son ilustrativos de realizaciones seleccionadas a partir del abanico de todas las posibles realizaciones. Por consiguiente, es intención de los solicitantes que las reivindicaciones anexas no estén limitadas por la elección de ejemplos utilizados para ilustrar las características de la presente invención. Tal como se usa en las reivindicaciones, la palabra “comprende” y sus variantes gramaticales lógicamente también incluyen frases de extensión variable y diferente tales como, por ejemplo, aunque sin limitación, “que consiste esencialmente en” y “que consiste en”. Cuando ha sido necesario se han proporcionado rangos, dichos rangos son inclusivos de todos los sub-rangos contenidos en ellos.

REIVINDICACIONES

1. Un trialcoxisilano que tiene la estructura I



I

en donde:

R^1 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3; R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; o,

R^1 es metilo, cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es butilo terciario; o,

R^1 es etilo, cada R^3 es metilo, y R^4 es butilo terciario, n es 1 y q es 1; o,

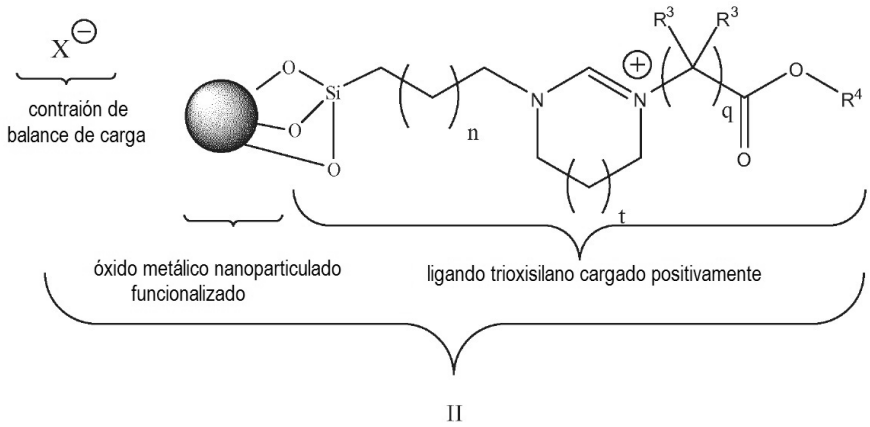
cada R^1 es metilo, cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es 2-metil-2-butilo; y,

n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de equilibrio de carga.

2. El trialcoxisilano según la reivindicación 1, en donde R^4 es bencilo.

3. El trialcoxisilano según la reivindicación 1, en donde R^4 es 4-metoxibencilo.

4. Una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada II, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano cargado positivamente



II

en donde:

R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; R^4 es un radical alifático C_1-C_5, un radical aromático C_7-C_{12}, o un grupo cicloalifático C_5-C_{10}; o,

cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es butilo terciario; o,

cada R^3 es hidrógeno, y R^4 es 2-metil-2-butilo; y,

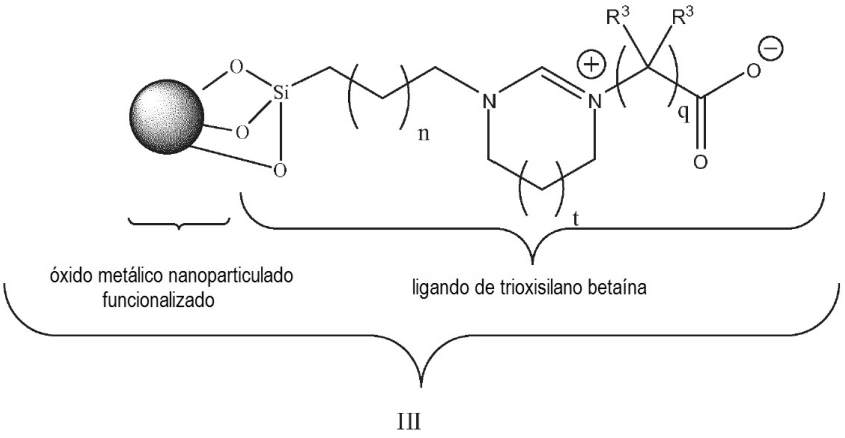
n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y X^- representa un contraión de balance de carga; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

5. La composición nanoparticulada según la reivindicación 4, en donde X- representa un ion bromuro.

6. La composición nanoparticulada según la reivindicación 4, en donde el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado consiste esencialmente en óxido de tántalo.

7. La composición nanoparticulada según la reivindicación 4, en donde R3 es hidrógeno, R4 es butilo terciario, n es 1, q es 1, t es 0, y el óxido metálico nanoparticulado consiste esencialmente en óxido de tántalo nanoparticulado.

8. Una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano betaína



III

en donde:

R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; o,

cada R^3 es hidrógeno;

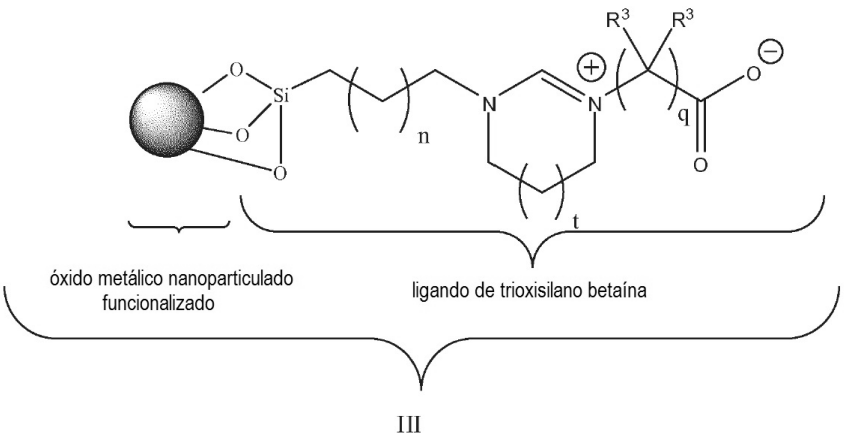
n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

9. La composición nanoparticulada según la reivindicación 8, en donde cada R^3 es metilo, y q es 1, y t es 0.

10. La composición nanoparticulada según la reivindicación 9, en donde n es 1, y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado consiste esencialmente en óxido de tántalo.

11. La composición nanoparticulada según la reivindicación 8, en donde n es 0, q es 2.

12. Una composición de agente de diagnóstico por imagen que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III, comprendiendo las nanopartículas un óxido metálico nanoparticulado funcionalizado y un ligando de trioxisilano betaína



III

en donde:

R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3; o,

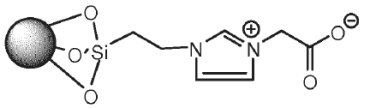
cada R^3 es hidrógeno;

n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; t es 0, 1 ó 2; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

13. La composición de agente de diagnóstico por imagen según la reivindicación 18, en donde las nanopartículas presentan una mediana de tamaño de partícula de hasta 10 nm.

14. La composición de agente de diagnóstico por imagen según la reivindicación 12, en donde cada R^3 es metilo y q es 1, y t es 0.

15. Una composición de agente de diagnóstico por imagen que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada 14



14