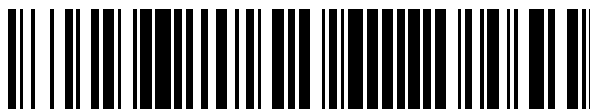


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 567**

51 Int. Cl.:

A61K 49/04 (2006.01)

A61K 49/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2009** **PCT/EP2009/067468**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.07.2010** **WO10076237**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2009** **E 09795424 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017** **EP 2379118**

54 Título: **Agentes de contraste de nanopartículas para el diagnóstico por imágenes**

30 Prioridad:

29.12.2008 US 344608

29.12.2008 US 344606

29.12.2008 US 344604

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.12.2017

73 Titular/es:

GENERAL ELECTRIC COMPANY (100.0%)

1 River Road

Schenectady, NY 12345, US

72 Inventor/es:

**COLBORN, ROBERT EDGAR;
BONITATIBUS JR., PETER JOHN;
TORRES, ANDREW SOLIZ;
MARINO, MICHAEL ERNEST;
BUTTS, MATTHEW DAVID;
KULKARNI, AMIT;
BALES, BRIAN C. y
HAY, BRUCE ALLAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 647 567 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

Agentes de contraste de nanopartículas para el diagnóstico por imágenes

Fundamento

Esta solicitud se refiere generalmente a agentes de contraste para el diagnóstico por imágenes, tales como para usar en rayos X/Tomografía Computerizada (TC) o Imagen por Resonancia Magnética (IRM). Más particularmente, la solicitud se refiere a agentes de contraste basados en nanopartículas y métodos para hacer y usar dichos agentes.

Casi todos los agentes de contraste diagnósticos clínicamente aprobados están basados en moléculas pequeñas. Los compuestos aromáticos yodados han servido como agentes de contraste estándar para rayos X o TC, mientras los quelatos de Gd se usan para la Imagen por Resonancia Magnética. Aunque usados normalmente para el diagnóstico por imagen, los agentes de contraste de moléculas pequeñas pueden sufrir ciertas desventajas tales como fuga desde las paredes de los vasos sanguíneos que llevan a corto tiempo de circulación en sangre, menor sensibilidad, alta viscosidad y alta osmolalidad. Estos compuestos se han asociado generalmente con complicaciones renales en algunas poblaciones de pacientes. Esta clase de agentes de molécula pequeña se conoce por depurarse del cuerpo rápidamente, limitando el tiempo en que pueden usarse para formar una imagen de forma efectiva del sistema vascular además de, con respecto a otras indicaciones, hacer difícil el dirigir estos agentes a sitios de la enfermedad. Por consiguiente hay una necesidad de una nueva clase de agentes de contraste.

Las nanopartículas se están estudiando ampliamente para los usos en aplicaciones médicas, tanto diagnósticas como terapéuticas. El documento US 2006/216239 A1 describe nanopartículas proporcionadas con un núcleo libre de sílice que comprende óxido de hierro superparamagnético y una carcasa hecha de moléculas de silano que están funcionalizadas con ácido fólico.

Mientras que solo unos pocos agentes basados en nanopartículas se han aprobado clínicamente para aplicaciones de formación de imágenes de resonancia magnética y para aplicaciones de distribución de fármacos, cientos de dichos agentes están aún en desarrollo. Hay una evidencia sustancial de que las nanopartículas tienen beneficios sobre los agentes basados en moléculas pequeñas usados actualmente en términos de eficacia para diagnóstico y terapéutica. Sin embargo, el efecto del tamaño de partícula, estructura y propiedades superficiales en la bio-distribución *in vivo* y la depuración de agentes de nanopartícula no se entiende bien. Las nanopartículas, dependiendo de su tamaño, tienden a estar en el cuerpo durante periodos más largos en comparación a las moléculas pequeñas. En el caso de agentes de contraste, se prefiere tener la máxima depuración renal de los agentes en el cuerpo sin provocar toxicidad a corto plazo o largo plazo a ningún órgano.

En vista de lo anterior, hay una necesidad de agentes de contraste o agentes de formación de imagen basados en nanopartículas con propiedades mejorada, particularmente relacionados con los efectos de depuración renal y toxicidad.

Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona una nueva clase de agentes de contraste basados en nanopartículas para rayos X, TC e IRM. Los actuales inventores han encontrado que las nanopartículas funcionalizadas con grupos zwitteriónicos sorprendentemente han mejorado las características de formación de imágenes en comparación con los agentes de contraste de moléculas pequeñas. Las nanopartículas de la presente invención tienen características que dan por resultado la retención mínima de las partículas en el cuerpo en comparación con otras nanopartículas. Estas nanopartículas pueden proporcionar rendimiento mejorado y beneficio en una o más de las siguientes áreas: síntesis fuerte, coste reducido, mejora del contraste de imagen, vida media en sangre aumentada y toxicidad disminuida.

La presente invención está dirigida a nanopartículas y una composición que comprende dichas nanopartículas. Además, la invención está dirigida a un método de fabricación de dichas nanopartículas y métodos de uso, además de su uso.

Así, un aspecto de la invención se refiere a una nanopartícula. La nanopartícula comprende un núcleo, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y una carcasa unida a la superficie del núcleo. La carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano, en donde la nanopartícula no contiene un ligando de dirección y en donde los restos funcionalizados con silano están unidos al núcleo a la superficie del núcleo sin que intervenga ninguna capa de sílice. En una realización, el núcleo comprende un metal de transición. En otra realización, el núcleo comprende un compuesto de metal de transición seleccionado del grupo que consiste en óxidos, carburos, sulfuros, nitruros, fosfuros, boruros, haluros, seleniuros, telururos o combinaciones de los mismos. En una realización, el núcleo comprende un metal con un número atómico ≥ 34 .

En algunas realizaciones, la nanopartícula comprende un núcleo de óxido de tantalio, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y una carcasa unida a la superficie del núcleo, en donde la carcasa comprende al menos un

resto zwitteriónico funcionalizado con silano. La nanopartícula tiene un tamaño de partícula promedio de hasta aproximadamente 6 nm.

5 En algunas otras realizaciones, la nanopartícula comprende un núcleo de óxido de hierro superparamagnético, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y una carcasa unida a la superficie del núcleo, en donde la carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. La nanopartícula tiene un tamaño de partícula promedio de hasta aproximadamente 50 nm.

10 En una o más realizaciones, la invención se refiere a una composición de agente diagnóstico. La composición comprende una pluralidad de nanopartículas, en donde al menos una nanopartícula de la pluralidad comprende un núcleo, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y una carcasa unida a la superficie de núcleo. La carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. En algunas realizaciones, la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente uno o más excipientes.

Un aspecto de la invención se refiere a métodos para hacer nanopartículas. El método comprende (a) proporcionar un núcleo, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y (b) disponer una carcasa unida a la superficie del núcleo, en donde la carcasa comprende un resto zwitteriónico funcionalizado con silano.

15 Otro aspecto de la invención está dirigido a un método que comprende administrar una composición de agente diagnóstico a un sujeto y formar la imagen del sujeto con un dispositivo de rayos X. La composición de agente diagnóstico comprende una pluralidad de nanopartículas, en donde al menos una nanopartícula de la pluralidad comprende un núcleo y una carcasa. La carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. En una o más realizaciones, el núcleo comprende óxido de tantalio.

20 En algunas realizaciones, el método comprende administrar una composición de agente diagnóstico a un sujeto, y formar la imagen del sujeto con un dispositivo diagnóstico. La composición de agente diagnóstico comprende una pluralidad de nanopartículas. Al menos una nanopartícula de la pluralidad comprende un núcleo, que tiene una superficie del núcleo libre de sílice, y una carcasa unida a la superficie del núcleo. La carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano.

25 En una o más realizaciones, el método de uso comprende además monitorizar la distribución de la composición del agente diagnóstico al sujeto con el dispositivo diagnóstico y diagnosticar al sujeto. En algunas realizaciones, el dispositivo diagnóstico emplea un método de formación de imagen seleccionado del grupo que consiste en imagen por resonancia magnética, imagen óptica, tomografía de coherencia óptica, rayos X, tomografía computerizada, tomografía por emisión de positrones o combinaciones de las mismas.

30 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de las nanopartículas 10 descritas anteriormente para la fabricación de una composición para usar como una composición de agente diagnóstico.

Dibujos

35 Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor cuando la siguiente descripción detallada se lea con referencia a los dibujos que la acompañan en que caracteres similares representan partes similares a lo largo de los dibujos, en donde:

La FIG. 1 representa una vista transversal de una nanopartícula que comprende un núcleo y una carcasa de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención.

La FIG. 2 describe ácidos orgánicos y bases orgánicas a partir de las que pueden formarse grupos funcionales zwitteriónicos.

40 Las FIG. 3A, 3B, 3C y 3D describen restos zwitteriónicos funcionalizados con silano, que pueden reaccionar con el núcleo para producir una carcasa que comprende restos zwitteriónicos funcionales de silano.

Descripción detallada

45 En la siguiente memoria y las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a un número de términos que tienen los siguientes significados. Las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. El lenguaje de aproximación, como se usa en esta memoria a lo largo de la memoria y las reivindicaciones, puede aplicarse para modificar cualquier representación cuantitativa que pudiera variar de forma aceptable sin dar por resultado un cambio en la función básica a la que está relacionada. Por consiguiente, un valor modificado mediante un término tal como “aproximadamente” no va a estar limitado al valor preciso especificado. En algunos ejemplos, el lenguaje de aproximación puede corresponder a la precisión de un instrumento para medir el valor. De forma similar, “libre” puede usarse en combinación con un término, y puede incluir un número insustancial, o cantidades traza, mientras que aún se considera libre del término modificado. Por ejemplo, libre de disolvente o sin disolvente, y términos y frases similares, pueden referirse a un ejemplo en que una parte significativa, algo o todo el disolvente se ha eliminado de un material solvatado.

Una o más realizaciones de la invención están relacionadas con una nanopartícula, como se describe en la FIG. 1. La nanopartícula 10 comprende un núcleo 20, que tiene una superficie de núcleo 30 esencialmente libre de sílice. En una o más realizaciones, el núcleo 20 contiene un metal de transición, por ejemplo, un compuesto de un elemento de metal de transición. La nanopartícula 10 incluye además una carcasa 40, también denominada como un recubrimiento, unida a la superficie del núcleo 30. La carcasa 40 comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. Como la superficie del núcleo 30 está esencialmente libre de sílice, los restos zwitteriónicos funcionalizados con silano no están unidos al sílice, aunque están unidos al núcleo 20 a la superficie del núcleo 30 sin que intervenga ninguna capa de sílice. El resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un resto silano y un resto zwitteriónico. Como se usa en esta memoria, el término “resto zwitteriónico” se refiere a un resto que es eléctricamente neutro aunque porta cargas positiva y negativa formales en diferentes átomos. Los zwitteriones son polares y normalmente tienen una alta solubilidad en agua y una pobre solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos. En algunas realizaciones, el “resto zwitteriónico” se refiere a un precursor de un resto zwitteriónico. En dichas realizaciones, el precursor experimenta una reacción química secundaria o posterior para formar un resto zwitteriónico.

“Nanopartícula” como se usa en esta memoria se refiere a partículas que tienen un tamaño de partícula en la escala del nanómetro, generalmente menos de 1 micrómetro. En una realización, la nanopartícula tiene un tamaño de partícula de hasta aproximadamente 50 nm. En otra realización, la nanopartícula tiene un tamaño de partícula de hasta aproximadamente 10 nm. En otra realización, la nanopartícula tiene un tamaño de partícula de hasta aproximadamente 6 nm.

Una o más realizaciones de la presente invención se refieren a una composición que comprende una pluralidad de nanopartículas. Una pluralidad de nanopartículas puede caracterizarse por uno o más de tamaño de partícula medio, diámetro promedio o tamaño de partícula, distribución de tamaño de partícula, área superficial de partícula promedio, forma de partícula o geometría transversal de partícula. Además, una pluralidad de nanopartículas puede tener una distribución de tamaños de partícula que puede caracterizarse tanto por un tamaño promedio en número y un tamaño de partícula promedio en peso. El tamaño de partícula promedio en número puede representarse mediante $S_N = \sum (s_i n_i) / \sum n_i$, donde n_i es el número de partículas que tienen un tamaño de partícula s_i . El tamaño de partícula promedio en peso puede representarse por $S_W = \sum (s_i^2 n_i) / \sum (s_i n_i)$. Cuando todas las partículas tienen el mismo tamaño, S_N y S_W pueden ser iguales. En una realización, puede ser una distribución de tamaños, y S_N puede ser diferente de S_W . La relación del promedio en peso al promedio en número puede definirse como el índice de polidispersión (S_{PDI}). En una realización, S_{PDI} puede ser igual a aproximadamente 1. En otras realizaciones, respectivamente, S_{PDI} puede estar en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,2, de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 1,4, de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 1,6, o de aproximadamente 1,6 a aproximadamente 2,0. En una realización, S_{PDI} puede estar en un intervalo que es mayor que aproximadamente 2,0.

En una realización, una pluralidad de nanopartículas puede tener una distribución de tamaño de partícula seleccionada de un grupo que consiste en distribución normal, distribución monomodal y distribución bimodal. Ciertas distribuciones de tamaño de partícula pueden ser útiles para proporcionar ciertos beneficios. Una distribución monomodal puede referirse a una distribución de tamaños de partícula distribuidas aproximadamente de un modo sencillo. En otra realización, las poblaciones de partículas que tienen dos intervalos de tamaño de sub-población distintos (una distribución bimodal) pueden incluirse en la composición.

Una nanopartícula puede tener una variedad de formas y geometrías transversales que pueden depender, en parte, del proceso usado para producir las partículas. En una realización, una nanopartícula puede tener una forma que es una esfera, una barra, un tubo, un copo, una fibra, una placa, un cable, un cubo o un pelo. Una nanopartícula puede incluir partículas que tienen dos o más de las formas mencionadas anteriormente. En una realización, una geometría transversal de la partícula puede ser una o más de circular, elipsoidal, triangular, rectangular o poligonal. En una realización, una nanopartícula puede consistir esencialmente en partículas no esféricas. Por ejemplo, dichas partículas pueden tener la forma de elipsoides, que pueden tener los tres ejes principales de diferentes longitudes, o pueden ser elipsoides de revolución oblatos o prolatos. Las nanopartículas no esféricas de forma alternativa pueden ser laminares en forma, en donde laminar se refiere a partículas en que la máxima dimensión a lo largo de un eje es sustancialmente menor que la máxima dimensión a lo largo de cada una de los otros dos ejes. Las nanopartículas no esféricas pueden tener además la forma de pirámides o conos truncados, o de barras alargadas. En una realización, las nanopartículas pueden ser de forma irregular. En una realización, una pluralidad de nanopartículas puede consistir esencialmente en nanopartículas esféricas.

Una población de nanopartículas puede tener una alta relación de superficie a volumen. Una nanopartícula puede ser cristalina o amorfa. En una realización, puede usarse un solo tipo (tamaño, forma y similar) de nanopartícula, o pueden usarse mezclas de diferentes tipos de nanopartículas. Si una mezcla de nanopartículas se usa pueden distribuirse de forma homogénea o no homogénea en la composición.

En una realización, la nanopartícula puede ser estable frente a la formación de agregado o aglomerado. Un agregado puede incluir más de una nanopartícula en contacto físico con otra, mientras los aglomerados pueden incluir más de un agregado en contacto con otro. En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden no estar

fuertemente aglomeradas y/o agregadas de manera que las partículas pueden dispersarse de forma relativamente fácil en la composición.

En una realización, el núcleo comprende un metal de transición. Como se usa en esta memoria, “metal de transición” se refiere a elementos de los grupos 3-12 de la Tabla Periódica. En ciertas realizaciones, el núcleo comprende uno o más compuestos de metal de transición, tales como óxidos, carburos, sulfuros, nitruros, fosfuros, boruros, haluros, seleniuros y telururos, que contienen uno o más de estos elementos de metal de transición. Por consiguiente, en esta descripción el término “metal” no implica necesariamente que un metal de valencia cero esté presente; en vez de eso, el uso de este término significa la presencia de un material metálico o no metálico que contiene un elemento de metal de transición como un constituyente.

En algunas realizaciones, la nanopartícula puede comprender un único núcleo. En algunas realizaciones distintas, la nanopartícula puede comprender una pluralidad de núcleos. En realizaciones donde la nanopartícula comprende una pluralidad de núcleos, los núcleos pueden ser iguales o diferentes. En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas comprende al menos dos núcleos. En otras realizaciones, cada una de la composición de nanopartículas comprende solo un núcleo.

En algunas realizaciones, el núcleo comprende un único compuesto de metal de transición. En otra realización, el núcleo comprende dos o más compuestos de metal de transición. En realizaciones donde el núcleo comprende dos o más compuestos de metal de transición, el elemento de metal de transición o el catión de metal de transición puede ser del mismo elemento o de dos o más elementos diferentes. Por ejemplo, en una realización, el núcleo puede comprender un único compuesto de metal, tal como óxido de tantalio u óxido de hierro. En otra realización, el núcleo puede comprender dos o más elementos metálicos diferentes, por ejemplo óxido de tantalio y óxido de hafnio u óxido de tantalio y nitruro de hafnio, u óxidos de hierro y manganeso. En otra realización, el núcleo puede comprender dos o más compuestos del mismo elemento metálico, por ejemplo, óxido de tantalio y sulfuro de tantalio.

En una realización, el núcleo crea una mejora de contraste en la imagen de rayos X o tomografía computerizada (TC). Un escáner de TC convencional usa un amplio espectro de energía de rayos X entre aproximadamente 10 keV y aproximadamente 150 keV. Los expertos en la técnica reconocerán que la cantidad de atenuación de rayos X que pasa a través de un material particular por unidad de longitud se expresa como el coeficiente de atenuación lineal. A un espectro de energía de rayos X típico en la imagen de TC, la atenuación de materiales está dominada por el efecto de absorción fotoeléctrica y el efecto de dispersión de Compton. Además, el coeficiente de atenuación lineal se conoce bien por ser una función de la energía del rayo X incidente, la densidad del material (relacionado con la concentración molar) y el número atómico (Z) del material. Para compuestos moleculares o mezclas de diferentes átomos el “número atómico efectivo”, Z_{ef} , puede calcularse como una función del número atómico de los elementos constituyentes. El número atómico efectivo de un compuesto de fórmula química conocida se determina a partir de la relación:

$$Z_{ef} = \left[\sum_{k=1}^P w_{fk} Z_k^\beta \right]^{1/\beta} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde Z_k es el número atómico de los elementos metálicos, P es la cantidad total de elementos metálicos, y w_{fk} es la fracción en peso de elementos metálicos con respecto al peso molecular total de la molécula (relacionado con la concentración molar). La elección óptima de la energía de rayos X incidente para la imagen de TC es una función del tamaño del objeto a formar en imagen y no se espera que varíe mucho de los valores nominales. También se sabe bien que el coeficiente de atenuación lineal del material agente de contraste es linealmente dependiente de la densidad del material, es decir, el coeficiente de atenuación lineal puede aumentarse si la densidad del material se aumenta o si la concentración molar del material de contraste se aumenta. Sin embargo, los aspectos prácticos de inyectar material de agente de contraste en los pacientes, y los efectos de la toxicidad asociada, limitan la concentración molar que puede alcanzarse. Por lo tanto es razonable separar los materiales de agente de contraste potenciales según su número atómico efectivo. En base a simulaciones de la mejora de contraste de TC de materiales típicos para un espectro de energía de TC típico con una concentración molar de aproximadamente 50 mM, se estima que los materiales con número atómico efectivo mayor que o igual a 34 pueden dar la mejora de contraste apropiada de aproximadamente 30 unidades Hounsfield (UH), o 3% más de contraste que el agua. Por lo tanto, en ciertas realizaciones el núcleo comprende un material que tiene un número atómico efectivo mayor que o igual a 34. Véase, por ejemplo, el capítulo 1 en Handbook of Medical Imaging, volumen 1. Physics and Psychophysics, Eds. J. Beutel, H.L. Kundel, R.L. Van Metter, SPIE Press, 2000.

Un núcleo que contiene metales de transición con número atómico relativamente alto como se describe anteriormente puede proporcionar realizaciones que tienen ciertas características deseables. En dichas realizaciones, el núcleo es sustancialmente radiopaco, que significa que el material del núcleo impide que significativamente menos radiación de rayos X pase a su través que en materiales encontrados típicamente en organismos vivos, dando así potencialmente a las partículas utilidad como agentes de contraste en aplicaciones de imagen de rayos X tales como tomografía computerizada (TC). Ejemplos de elementos de metal de transición que pueden proporcionar esta propiedad incluyen tungsteno, tantalio, hafnio, zirconio, molibdeno, plata y zinc. El óxido de tantalio es un ejemplo particular de una composición de núcleo adecuada para usar en aplicaciones de imagen

de rayos X. En una o más realizaciones, el núcleo de la nanopartícula comprende óxido de tantalio y la nanopartícula tiene un tamaño de partícula de hasta aproximadamente 6 nm. Esta realización puede ser particularmente atractiva para aplicaciones en técnicas de imagen que aplican rayos X para generar datos de imagen, debido al alto grado de radiopacidad del núcleo que contiene tantalio y el pequeño tamaño que ayuda a la rápida depuración renal, por ejemplo.

En algunas realizaciones, el núcleo de la nanopartícula comprende al menos aproximadamente 30% de material de metal de transición en peso. En ciertas realizaciones, el núcleo comprende al menos aproximadamente 50% de material de metal de transición en peso. En aún realizaciones adicionales, el núcleo comprende al menos aproximadamente 75% de material de metal de transición en peso. Tener un alto contenido en material de metal de transición en el núcleo proporciona la nanopartícula con mayor grado de radiopacidad por unidad de volumen, dando por lo tanto un rendimiento más eficiente como un agente de contraste.

En otra realización, el núcleo comprende material que muestra comportamiento magnético, que incluye, por ejemplo, comportamiento superparamagnético. El "material superparamagnético" como se usa en esta memoria se refiere a material que puede mostrar un comportamiento similar al paramagnetismo incluso cuando está a temperaturas por debajo de la temperatura de Curie o Néel. Ejemplos de materiales magnéticos o superparamagnéticos potenciales incluyen materiales que comprenden uno o más de hierro, manganeso, cobre, cobalto o níquel. En una realización, el material superparamagnético comprende óxido de hierro superparamagnético. En algunas realizaciones, las nanopartículas de la presente invención pueden usarse como agentes de contraste de resonancia magnética (RM). Estas nanopartículas pueden dar una señal de resonancia magnética T2*, T2 o T1 tras la exposición a un campo magnético. En una o más realizaciones, el núcleo de la nanopartícula comprende óxido de hierro superparamagnético y la nanopartícula tiene un tamaño de partícula de hasta aproximadamente 50 nm.

En una realización, la nanopartícula 10 comprende una carcasa 40 que cubre sustancialmente el núcleo 20. Esta carcasa 40 puede servir para estabilizar el núcleo 20, es decir, la carcasa 40 puede evitar que un núcleo 20 entre en contacto con un núcleo adyacente 20, evitando así que una pluralidad de dichas nanopartículas 10 se agregue o aglomere como se describe en esta memoria, o evitando la lixiviación de metal u óxido metálico, por ejemplo, en la escala de tiempo de experimentos de formación de imagen *in vivo*. En una realización, la carcasa 40 puede ser de un espesor suficiente para estabilizar el núcleo 20 y evitar dicho contacto. En una realización, la carcasa 40 tiene un espesor promedio de hasta aproximadamente 50 nm. En otra realización, la carcasa 40 tiene un espesor promedio de hasta aproximadamente 3 nm.

Como se usa en esta memoria, el término "que cubre sustancialmente" significa que un porcentaje de cobertura de superficie de la nanopartícula es mayor que aproximadamente 20%. El porcentaje de cobertura de superficie se refiere a la relación de superficie de nanopartícula cubierta por la carcasa al área superficial no cubierta por la carcasa. En algunas realizaciones, el porcentaje de cobertura de superficie de la nanopartícula puede ser mayor que aproximadamente 40%.

En algunas realizaciones, la carcasa puede facilitar la solubilidad en agua mejorada, reducir la formación de agregado, reducir la formación de aglomerado, evitar la oxidación de nanopartículas, mantener la uniformidad de la entidad núcleo-carcasa, o proporcionar biocompatibilidad para las nanopartículas. En otra realización, el material o materiales que comprenden la carcasa pueden comprender además otros materiales que están adaptados para una aplicación particular, tal como, aunque no limitado a, aplicaciones diagnósticas. Por ejemplo, en una realización, la nanopartícula puede además estar funcionalizada con un ligando de dirección. El ligando de dirección puede ser una molécula o una estructura que proporciona el direccionamiento de la partícula a un órgano, tejido o célula deseada. El ligando de dirección puede incluir, aunque no está limitado a, proteínas, péptidos, anticuerpos, ácidos nucleicos, derivados de azúcar o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la nanopartícula comprende además agentes de dirección de manera que, cuando se usan como agentes de contraste, las partículas pueden dirigirse a áreas enfermas específicas del cuerpo del sujeto. En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden usarse como agentes de acumulación de sangre.

Los núcleos pueden cubrirse con una o más carcassas. En algunas realizaciones, una pluralidad de núcleos puede cubrirse con la misma carcasa. En una realización, una única carcasa puede cubrir todos los núcleos presentes en la composición de nanopartículas. En algunas realizaciones los núcleos individuales pueden cubrirse con una o más carcassas. En otra realización, todos los núcleos presentes en la nanopartícula pueden cubrirse con dos o más carcassas. Una carcasa individual puede comprender el mismo material o puede comprender dos o más materiales diferentes. En las realizaciones donde el núcleo puede cubrirse con más de una carcasa, la carcasa puede ser del mismo o diferente material.

En una realización, la carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano, en donde el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un resto silano y un resto zwitteriónico. En algunas realizaciones, el resto silano de la carcasa zwitteriónica funcionalizada con silano está unido directamente al núcleo.

En una realización, la carcasa comprende una pluralidad de restos silano, en donde al menos uno de la pluralidad de restos silano está funcionalizado con al menos un resto zwitteriónico. En algunas realizaciones, la carcasa comprende restos zwitteriónicos funcionalizados con silano y restos no zwitteriónicos funcionalizados con silano. En

dichas realizaciones, una relación de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano a restos no zwitteriónicos funcionalizados con silano es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100. En algunas otras realizaciones, la relación de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano a restos no zwitteriónicos funcionalizados con silano es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20.

- 5 En algunas realizaciones, la carcasa comprende una pluralidad de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano. El término "pluralidad restos zwitteriónicos funcionalizados con silano" se refiere a múltiples ejemplos de un resto silano particular, funcionalizado con al menos un resto zwitteriónico. Los restos silano puede ser los mismos o diferentes. En una realización, cada núcleo está rodeado por una pluralidad de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano, en donde todos los restos silano son del mismo tipo. En otra realización, cada núcleo está rodeado por
- 10 una pluralidad de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano, en donde los restos silano son de diferentes tipos. En una realización, cada uno de la pluralidad de restos silano está funcionalizado con al menos un resto zwitteriónico. En una realización, al menos uno de la pluralidad de restos silano está funcionalizado con un resto zwitteriónico de manera que cada nanopartícula, en promedio, comprende al menos un resto zwitteriónico. En una o más realizaciones, cada nanopartícula comprende una pluralidad de restos zwitteriónicos.
- 15 En realizaciones en donde la carcasa comprende una pluralidad de restos zwitteriónicos funcionalizados con silano, los restos silano y los restos zwitteriónicos pueden ser los mismos o diferentes. Por ejemplo, en una realización, todos los restos silano pueden ser los mismos y todos los restos zwitteriónicos pueden ser los mismos. En otra realización, los restos silano son los mismos pero los restos zwitteriónicos son diferentes. Por ejemplo, la carcasa puede comprender dos restos zwitteriónicos funcionalizados con silano diferentes. El primero comprende un resto silano tipo 1 y un resto zwitteriónico tipo 1. El segundo comprende un resto silano tipo 1 y un resto zwitteriónico tipo
- 20 2, o un resto silano tipo 2 pero un resto zwitteriónico tipo 1, o un resto silano tipo 2 y un resto zwitteriónico tipo 2. En una o más realizaciones, el resto zwitteriónico funcionalizado con silano puede comprender dos o más restos zwitteriónicos. En realizaciones donde el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende dos o más restos zwitteriónicos, los restos zwitteriónicos pueden ser los mismos o diferentes.
- 25 En algunas realizaciones, el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un resto cargado de forma positiva, un resto cargado de forma negativa y un primer grupo espaciador entre el resto cargado de forma positiva y el resto cargado de forma negativa. El resto cargado de forma positiva puede originarse a partir de bases orgánicas y el resto cargado de forma negativa puede originarse a partir de ácidos orgánicos. La FIG. 2 presenta una lista de ácidos y bases orgánicas ilustrativas a partir de las que pueden originarse el resto cargado de forma negativa y el
- 30 resto cargado de forma positiva.
- En algunas realizaciones, el resto cargado de forma positiva comprende aminas primarias protonadas, aminas secundarias protonadas, alquilaminas terciarias protonadas, amidinas protonadas, guanidinas protonadas, piridinas protonadas, pirimidinas protonadas, pirazinas protonadas, purinas protonadas, imidazoles protonados, pirroles protonados, alquilaminas cuaternarias o combinaciones de los mismos.
- 35 En algunas realizaciones, el resto cargado de forma negativa comprende ácidos carboxílicos desprotonados, ácidos sulfónicos desprotonados, ácidos sulfínicos desprotonados, ácidos fosfónicos desprotonados, ácidos fosfóricos desprotonados, ácidos fosfónicos desprotonados o combinaciones de los mismos.
- En una o más realizaciones, el primer grupo espaciador comprende grupos alquilo, grupos arilo, grupos alquilo y arilo sustituidos, grupos heteroalquilo, grupos heteroarilo, grupos carboxi, éteres, amidas, ésteres, carbamatos, ureas, grupos alquilo de cadena lineal de 1 a 10 átomos de carbono de longitud, o combinaciones de los mismos.
- 40 En algunas realizaciones, un átomo de silicio del resto zwitteriónico funcionalizado con silano está conectado al resto cargado de forma positiva o negativa por medio de un segundo grupo espaciador. En algunas realizaciones, el segundo grupo espaciador comprende grupos alquilo, grupos arilo, grupos alquilo y arilo sustituidos, grupos heteroalquilo, grupos heteroarilo, grupos carboxi, éteres, amidas, ésteres, carbamatos, ureas, grupos alquilo de cadena lineal de 1 a 10 átomos de carbono de longitud o combinaciones de los mismos.
- 45 En algunas realizaciones, el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende el producto de hidrólisis de un precursor tri-alcoxisilano, tal como los ilustrados en la FIG. 3A-3D. En algunas realizaciones, el precursor tri-alcoxisilano comprende N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio, ácido 3-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propano-1-sulfónico, ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propano-1-sulfónico, 2-(2-(trimetoxisilil)etoxi(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio, 2-(2-(trimetoxisilil)etil(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio, N,N,N-trimetil-3-(N-3-(trimetoxisilil)propionilsulfamoyl)propan-1-aminio, N-((2H-tetrazol-5-il)metil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, N-(2-carboxietil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, ácido 3-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propanoico, ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propanoico, N-(carboximetil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, ácido 2-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)acético, ácido 2-(3-(trimetoxisilil)propilamino)acético, ácido 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acético, ácido 3-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)propanoico, ácido 2-(metil(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)amino)-acético, ácido 2-(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)aminoacético, o combinaciones de los mismos.
- 50
- 55

La composición que comprende una pluralidad de nanopartículas puede usarse como una composición de agente diagnóstico. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una composición de agente diagnóstico. La composición de agente diagnóstico comprende una pluralidad de las nanopartículas 10 descritas anteriormente. En una realización, la composición de agente diagnóstico comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente uno o más excipientes. En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser esencialmente agua. Los excipientes opcionales pueden comprender uno o más de sales, desintegradores, aglutinantes, cargas o lubricantes.

Un tamaño de partícula pequeño puede ser ventajoso para facilitar la depuración desde los riñones y otros órganos, por ejemplo. En una realización, la pluralidad de nanopartículas puede tener un tamaño de partícula medio de hasta aproximadamente 50 nm. En otra realización, la pluralidad de nanopartículas puede tener un tamaño de partícula medio de hasta aproximadamente 10 nm. En otra realización, la pluralidad de nanopartículas puede tener un tamaño de partícula medio de hasta aproximadamente 6 nm.

Un aspecto de la invención se refiere a métodos para hacer nanopartículas. En general, un método comprende (a) proporcionar un núcleo que tiene una superficie de núcleo esencialmente libre de sílice, y (b) disponer una carcasa unida a la superficie del núcleo, en donde la carcasa comprende un resto zwitteriónico funcionalizado con silano.

En una o más realizaciones, la etapa de proporcionar un núcleo comprende proporcionar un primer material precursor, en donde el primer material precursor comprende al menos un metal de transición. En una realización, el primer material precursor reacciona para generar el núcleo que comprende al menos un metal de transición. En una realización, el primer material precursor descompone para generar el núcleo. En otra realización, el primer material precursor hidroliza para generar el núcleo. En otra realización, el primer material precursor reacciona para formar el núcleo. Los métodos de síntesis de nanopartículas se conocen bien en la técnica y cualquier método adecuado para fabricar un núcleo de nanopartícula de un material apropiado puede ser adecuado para usar en este método.

En una o más realizaciones, la etapa de disponer una carcasa comprende proporcionar un segundo material precursor, tal como un material que comprende un resto silano o un precursor de un resto silano. El resto silano puede reaccionar con el núcleo para formar una carcasa que comprende un resto silano. En algunas realizaciones, el precursor puede experimentar una reacción de hidrólisis antes de reaccionar con el núcleo. En algunas realizaciones, el resto silano puede funcionalizarse con al menos un resto zwitteriónico o al menos un precursor de un resto zwitteriónico. En realizaciones en donde el resto silano está funcionalizado con al menos un resto zwitteriónico, la carcasa, así formada, comprende un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. En realizaciones en donde el resto silano está funcionalizado con un precursor de un resto zwitteriónico, la carcasa, así producida, puede no ser de naturaleza zwitteriónica, aunque puede reaccionar posteriormente con un reactivo apropiado para convertir el precursor en un resto zwitteriónico. En una o más realizaciones, el segundo material precursor comprende el resto zwitteriónico funcionalizado con silano o precursor de un resto zwitteriónico funcionalizado con silano, tal como uno o más de los precursores tri-alcóxidosilanos descritos anteriormente.

Se entenderá que el orden y/o la combinación de etapas pueden variarse. Por tanto, según algunas realizaciones, las etapas (a) y (b) se dan como etapas secuenciales para así formar la nanopartícula a partir del núcleo y el segundo material precursor. Por medio del ejemplo y sin limitación, en algunas realizaciones, el primer material precursor comprende al menos un metal de transición; en donde el núcleo comprende un óxido de al menos un metal de transición; y la etapa (a) comprende además hidrólisis del primer material precursor. Según algunas realizaciones, el primer material precursor es un alcóxido o haluro del metal de transición, y el proceso de hidrólisis incluye combinar el primer material precursor con un ácido y agua en un disolvente alcohólico. En algunas realizaciones, el silano puede comprender grupos polimerizables. La polimerización puede darse por medio de polimerización por condensación catalizada por ácido. En algunas realizaciones distintas, el resto silano puede adsorberse físicamente en el núcleo. En algunas realizaciones, el resto silano puede funcionalizarse adicionalmente con otros polímeros. El polímero puede ser soluble en agua y biocompatible. En una realización, los polímeros incluyen, aunque no están limitados a, polietilenglicol (PEG), polietilenimina (PEI), polimetacrilato, polivinilsulfato, polivinilpirrolidona o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el núcleo comprende óxidos metálicos. En una realización, el núcleo de óxido metálico puede sintetizarse en la hidrólisis de un alcóxido metálico en presencia de un ácido orgánico. En algunas realizaciones, el alcóxido metálico puede ser un alcóxido de tantalio tal como etóxido de tantalio, el ácido orgánico puede ser un ácido carboxílico tal como ácido isobutírico, ácido propiónico o ácido acético y la reacción de hidrólisis puede realizarse en presencia de un disolvente de alcohol tal como 1-propanol o metanol.

En otra realización, el núcleo y el segundo material precursor pueden ponerse en contacto el uno con el otro. En una realización, el segundo material precursor puede comprender una especie que contiene silicio tal como un tri-alcóxidosilano organofuncional o mezcla de tri-alcóxidosilanos organofuncionales. Al menos uno de los tri-alcóxidosilanos organofuncionales puede contener un grupo zwitteriónico o un precursor de un grupo zwitteriónico, de manera que cada nanopartícula, en promedio, puede contener al menos un resto zwitteriónico o precursor de un resto zwitteriónico. En una realización, cada nanopartícula puede contener en promedio, una pluralidad de restos zwitteriónicos o precursores de restos zwitteriónicos. En otras realizaciones, el núcleo puede tratarse con una mezcla que contiene al menos dos restos silano. En una realización, un resto silano está funcionalizado con un resto

zwitteriónico, o un precursor de un resto zwitteriónico, y el segundo resto silano puede no estar funcionalizado con ningún resto zwitteriónico. Los restos silano cargados pueden añadirse de forma simultánea o secuencial. En algunas realizaciones, uno o más restos silano funcionalizados con un resto zwitteriónico, o con un precursor de un resto zwitteriónico, puede añadirse a los núcleos funcionalizados con restos silano no zwitteriónicos, o bien de forma simultánea o secuencial.

En una realización, un núcleo de óxido de tantalio puede permitirse reaccionar con un alcoxisilano que contiene tanto, un nitrógeno cuaternario además de un grupo sulfonato como un grupo carboxi, por ejemplo, un grupo sulfobetaína o un grupo betaína. En una realización el núcleo de óxido de tantalio puede permitirse reaccionar con $(\text{RO})_3\text{Si}(\text{CH}_2)_x\text{NR}'_2(\text{CH}_2)_y\text{SO}_3$, donde R es un grupo alquilo o arilo, x es 1-10, y es 1-10, y R' es H, un grupo alquilo o un grupo arilo. En una realización, el R es un grupo alquilo, tal como metilo o etilo, x es 3, y está entre 2-5 y R' es H o un grupo alquilo tal como metilo.

En una realización, los silanos funcionalizados con sulfobetaína pueden sintetizarse por la reacción de apertura de anillo de alquilsultonas o una mezcla de alquilsultonas con silanos sustituidos con amina. En otra realización, las alquil-lactonas o mezclas de alquil-lactonas pueden usarse en lugar de las alquilsultonas. En ciertas realizaciones, la carcasa comprende una mezcla de sulfobetaína y silanos con betaína funcional. En otra realización, el núcleo de óxido metálico puede reaccionar con una sulfobetaína o resto silano con betaína funcional, en que el grupo sulfonato o carboxi puede estar protegido químicamente.

En otra realización, al núcleo de óxido de tantalio se le puede permitir reaccionar con un silano que contiene amina, tal como trialcoxisilano amino funcional, para formar un núcleo de óxido de tantalio funcionalizado con el silano que contiene amina. En una segunda etapa, el núcleo funcionalizado con el silano puede aislarse. En una realización alternativa, el núcleo funcionalizado con el silano puede usarse in situ. Al núcleo funcionalizado con el silano se le puede permitir reaccionar con una alquilsultona, una alquil-lactona, un ácido o éster haloalquilcarboxílico, mezclas de alquilsultonas, mezclas de alquil-lactonas, mezclas de ácidos o ésteres haloalquilcarboxílicos, o mezclas tanto de alquilsultonas como alquil-lactonas para formar un resto zwitteriónico. La cantidad de sultona, lactona o mezcla de sultonas y/o lactonas puede ser suficiente para proporcionar, en promedio, al menos un resto zwitteriónico por nanopartícula. Ejemplos no limitantes de alquilsultonas incluyen propanosultona y butilsultona. Ejemplos no limitantes de lactonas incluyen propanolactona y butil-lactona.

En una realización, el método comprende además fraccionar la pluralidad de nanopartículas. La etapa de fraccionamiento puede incluir filtrar las nanopartículas. En otra realización, el método puede comprender además la purificación de la pluralidad de nanopartículas. La etapa de purificación puede incluir el uso de diálisis, filtración de flujo tangencial, diafiltración, o combinaciones de las mismas. En otra realización, el método comprende además el aislamiento de las nanopartículas purificadas.

En combinación con cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, algunas realizaciones se refieren a un método para fabricar una composición de agente diagnóstico para rayos X/tomografía computerizada o IRM. La composición de agente diagnóstico comprende una pluralidad de nanopartículas. En algunas realizaciones, el tamaño de partícula medio de la pluralidad de nanopartículas puede no ser más de aproximadamente 10 nm, por ejemplo no más de aproximadamente 7 nm, y en realizaciones particulares no más de aproximadamente 6 nm. Se entenderá que según algunas realizaciones, el tamaño de partícula de la pluralidad de nanopartículas puede seleccionarse para así dejar a la nanopartículas sustancialmente depurables mediante un riñón de mamífero, tal como un riñón humano, en forma particulada.

En algunas realizaciones, la presente invención está dirigida a un método de uso de la composición de agente diagnóstico que comprende una pluralidad de las nanopartículas descritas en esta memoria. En algunas realizaciones, el método comprende la administración *in vivo* o *in vitro* de la composición de agente diagnóstico a un sujeto, que en algunos ejemplos puede ser un sujeto vivo, tal como un mamífero, y la posterior generación de imagen del sujeto con un dispositivo de rayos X/TC. Las nanopartículas, como se describen anteriormente, comprenden un núcleo y una carcasa, en donde la carcasa comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano. En una realización, el núcleo comprende óxido de tantalio. La nanopartícula puede introducirse en el sujeto mediante una variedad de métodos conocidos. Ejemplos no limitantes para introducir la nanopartícula en el sujeto incluyen administración intravenosa, intra-arterial u oral, aplicación dérmica o inyección directa en el músculo, piel, la cavidad peritoneal u otros tejidos o compartimientos corporales.

En otra realización, el método comprende administrar la composición de agente diagnóstico a un sujeto, y generar la imagen del sujeto con un dispositivo diagnóstico. El dispositivo diagnóstico emplea un método de formación de imagen, ejemplos de los cuales incluyen, aunque no están limitados a, IRM, imagen óptica, tomografía de coherencia óptica, rayos X, tomografía computerizada, tomografía de emisión de positrones, o combinaciones de los mismos. En el método de uso el cuerpo puede preadministrarse también con la composición de agente diagnóstico. La composición de agente diagnóstico, como se describe anteriormente, comprende una pluralidad de las nanopartículas 10.

En una realización, los métodos descritos anteriormente para el uso del agente de contraste diagnóstico comprenden además monitorizar la distribución de la composición del agente diagnóstico al sujeto con el dispositivo

diagnóstico, y diagnosticar al sujeto; en este método los datos pueden compilarse y analizarse generalmente de acuerdo con la operación normal del equipo médico de imagen diagnóstica. La composición de agente diagnóstico puede ser un agente de contraste de rayos X o TC, por ejemplo, tal como una composición que comprende un núcleo de óxido de tantalio. La composición de agente diagnóstico puede proporcionar una señal de TC en un intervalo de aproximadamente 100 unidades Hounsfield a aproximadamente 5000 unidades Hounsfield. En otro ejemplo, la composición de agente diagnóstico puede ser un agente de contraste de IRM, tal como un agente que comprende un núcleo de óxido de hierro superparamagnético.

Una realización de la invención proporciona un método para la determinación de la extensión a la que las nanopartículas 10 descritas en esta memoria, tales como nanopartículas que tienen núcleos de óxido de tantalio u óxido de hierro, están distribuidas en un sujeto. El sujeto puede ser un mamífero o un material biológico que comprende una muestra de tejido o una célula. El método puede ser un método *in vivo* o *in vitro*. La nanopartícula puede introducirse al sujeto mediante una variedad de métodos conocidos. Los ejemplos no limitantes para introducir la nanopartícula al sujeto incluyen cualquiera de los métodos conocidos descritos anteriormente. En una realización, el método comprende (a) introducir las nanopartículas en el sujeto, y (b) determinar la distribución de las nanopartículas en el sujeto. La distribución en un sujeto puede determinarse usando una técnica de imagen diagnóstica tal como las mencionadas anteriormente. De forma alternativa, la distribución de la nanopartícula en el material biológico puede determinarse por análisis elemental. En una realización, el Plasma Acoplado de forma Inductiva Espectroscopia de Masas (ICP-MS) puede usarse para determinar la concentración de la nanopartícula en el material biológico.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de las nanopartículas 10 descritas anteriormente para la fabricación de una composición para usar como una composición de agente diagnóstico.

Se incluyen los siguientes ejemplos para demostrar las realizaciones particulares de la presente invención. Debería apreciarse por los expertos en la técnica que los métodos descritos en los ejemplos que siguen meramente representan realizaciones ilustrativas de la presente invención. Sin embargo, los expertos en la técnica, a la luz de la presente descripción, deberían apreciar que pueden hacerse muchos cambios en las realizaciones específicas descritas y obtener aún un resultado parecido o similar sin apartarse del espíritu y del alcance de la presente invención.

Ejemplos

La práctica de la invención se entenderá aún más completamente a partir de los siguientes ejemplos, que se presentan en esta memoria solo para ilustración y no deberían interpretarse como limitantes de la invención de ninguna forma.

Las abreviaturas usadas en la sección de ejemplos se amplían como sigue: “mg”: miligramos; “mL”: mililitros; “mg/mL”: miligramos por mililitro; “mmoles”: milimoles; “μL” y μLs: microlitros; “LC”: cromatografía líquida; “DLS”: Dispersión de luz dinámica; “DI”: agua desionizada; “ICP”: Plasma acoplado de forma inductiva.

A menos que se anote otra cosa, todos los compuestos químicos de grado reactivo se usaron como se recibieron, y se usó agua Millipore en la preparación de todas las disoluciones acuosas.

Síntesis de nanopartículas con base de óxido de tantalio

Etapas 1: Síntesis de N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio

Se añadieron tolueno (anhidro, 250 mL), N,N-dimetilaminotrimetoxisilano (25 g, 121 mmoles) y 1,3-propanosultona (13,4 g, 110 mmoles) a un matraz de fondo redondo de 500 mL que contenía una barra de agitación. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La mezcla se filtró después para aislar el producto precipitado, que se lavó posteriormente con tolueno anhidro fresco (2x60 mL). El rendimiento de polvo blanco después de secar al vacío fue 23,6 g.

Etapas 2: Reacción de N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio con núcleo con base de óxido de tantalio

Método 1: 1-propanol como disolvente

Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 250 mL que contenía una barra de agitación se cargó con 1-propanol (73 mL), seguido por adición de ácido isobutírico (1,16 mL, 12,51 mmoles, 1,27 eq con respecto al Ta) y agua DI (1,08 mL, 59,95 mmoles, 6,09 eq con respecto al Ta) para formar una mezcla de reacción. Se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla de reacción durante 20 minutos seguido por adición en gotas de etóxido de tantalio (Ta(OEt)₅) (2,55 mL, 4 g, 9,84 mmoles) a la mezcla de reacción a temperatura ambiente con agitación durante 15 minutos. Durante la adición de Ta(OEt)₅, el nitrógeno se continuó burbujeando a través de la mezcla de reacción. La mezcla de reacción mencionada anteriormente se dejó agitar a temperatura ambiente en nitrógeno durante 16 horas después de que se completara la adición de Ta(OEt)₅.

La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y después se tomó una alícuota (1,5 mL) de la mezcla de reacción, se filtró a través de una membrana de filtración de 20 nm, y se midió el tamaño de partícula (como el radio hidrodinámico) en agua mediante DLS inmediatamente después de la etapa de filtración. El tamaño de partícula promedio se midió que era aproximadamente 3,6 nm. Se disolvió N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio (4,03 g, 12,23 mmoles, 1,24 eq con respecto al Ta) en 50 mL de agua DI. Esta disolución se añadió a la mezcla de reacción mencionada anteriormente en gotas durante unos pocos minutos. La mezcla de reacción homogénea, incolora, se transformó inmediatamente en una disolución blanca turbia y finalmente se convirtió en una disolución lechosa por el final de la adición del resto zwitteriónico funcionalizado con silano. Después de completarse la adición se conectó un condensador al matraz, y la mezcla de reacción se mantuvo en una capa de nitrógeno. El matraz se colocó en un baño de aceite precalentado a 75°C y la mezcla de reacción se agitó durante 6 horas. La mezcla de reacción se volvió más clara. Después de 6 horas, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente bajo una capa de aire. La mezcla de reacción heterogénea se neutralizó a pH 6-7 usando NH_4OH 1(M). La mezcla de reacción se transfirió a un segundo matraz de fondo redondo bajo una capa de aire. Durante la transferencia de la mezcla de reacción al segundo matraz, una cantidad de material blanco permaneció en el matraz, y no se transfirió al segundo matraz (producto A en bruto). Este producto A en bruto se secó en un flujo de nitrógeno toda la noche. Mientras, la disolución del segundo matraz se evaporó usando un evaporador rotatorio a 50°C. El residuo blanco seco obtenido después de la evaporación de la disolución (producto B en bruto) se dejó estar en un flujo de nitrógeno toda la noche.

El producto A en bruto se secó toda la noche. Este sólido se disolvió completamente en agua DI. El producto B en bruto se disolvió también completamente en agua DI, y las dos disoluciones (producto A en bruto y producto B en bruto) se combinaron (el volumen total fue 60 mL). La disolución acuosa se filtró secuencialmente a través de membranas de filtración de 450 nm, 200 nm y 100 nm y finalmente a través de una membrana de filtración de 20 nm. La disolución se dializó entonces primero a pH 7,0 usando tampón de fosfato sódico (tubo de celulosa regenerada de piel de serpiente con límite de peso molecular de 10K), y después tres veces en agua DI.

Finalmente, la nanopartícula se aisló por liofilización. Rendimiento de polvo blanco = 1,748 g (38% de rendimiento en base al Ta). Potencial zeta: (-)8,18 mV. Análisis elemental: $38,3 \pm 0,3\%$ de Ta, $4,8 \pm 0,1\%$ de Si. Se midió que el tamaño de partícula promedio era 8,9 nm mediante DLS. La pureza de la nanopartícula se midió por cromatografía líquida (LC)/plasma acoplado de forma inductiva (ICP).

Método 2: Trifluoroetanol como disolvente

Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 100 mL que contenía una barra de agitación se cargó con trifluoroetanol (42 mL). Mientras el disolvente se lavaba con nitrógeno, se añadió ácido isobutírico (0,53 mL, 5,7 mmoles) seguido por agua (0,13 mL, 7,4 mmoles) usando una jeringa. La disolución se dejó agitar durante unos 15 min adicionales con burbujeo de nitrógeno continuo. Se añadió etóxido de tantalio ($\text{Ta}(\text{OEt})_5$) (2 g, 4,9 mmoles) en gotas usando una jeringa. La disolución ligeramente brumosa se dejó agitar a temperatura ambiente en nitrógeno durante 17 horas. Se disolvió N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio (ejemplo 1, 3,2 g, 9,8 mmoles) en agua (15 mL). Esta disolución incolora homogénea se añadió a la mezcla de reacción que contenía tantalio en gotas aunque rápidamente en aire con agitación. El matraz se ajustó con un condensador y después se colocó en un baño de aceite precalentado a 78°C. Después de agitar a esta temperatura durante 6 horas, la mezcla de reacción homogénea incolora se enfrió a temperatura ambiente. El trifluoroetanol se eliminó sustancialmente en un evaporador rotatorio después de añadir agua (20 mL). La disolución acuosa se neutralizó usando hidróxido de amonio concentrado y después se filtró sucesivamente a través de filtros de 200 nm, 100 nm y después 20 nm. La disolución se dializó después usando tubos de diálisis de piel de serpiente de celulosa regenerada de límite de PM 3500 4 veces. La primera diálisis se realizó en agua DI 50:50 a tampón fosfato de pH 7,0. Las diálisis posteriores se realizaron en agua DI. El producto de nanopartículas purificado no se aisló del agua. Un ensayo de porcentaje de sólidos en una alícuota se usó para determinar que el rendimiento de las nanopartículas recubiertas fue 1,55 g. Se determinó por dispersión de luz dinámica que el tamaño de partícula promedio era 1,6 nm.

Síntesis de nanopartículas con base de óxido de tantalio

Etapas 1: Síntesis de 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acetato de etilo

Se añadió (3-isocianatopropil)trimetoxisilano (4,106 g) a una disolución de etilacetoxipiperazina (3,789 g) en cloruro de metileno (20 mL). La disolución se agitó durante 16 horas, y después el disolvente se eliminó a presión reducida, dando 8,37 g de material que se usó sin purificación adicional.

Etapas 2: Reacción de 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acetato de etilo con núcleo con base de óxido de tantalio.

Un matraz de fondo redondo de 500 mL se cargó con n-propanol (99 mL), ácido isobutírico (1,4 mL) y agua (1,2 mL). La disolución se agitó durante 5 minutos, después se añadió $\text{Ta}(\text{OEt})_5$ (5,37 g) en gotas a la disolución. La disolución se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante 18 horas. Un total de 60 mL de esta disolución se añadió después a 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acetato de etilo (6,37 g), y la disolución se agitó en nitrógeno durante 2 horas a 100°C. La mezcla se enfrió después a temperatura ambiente, se añadió agua (20 mL), y

la mezcla se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. Un total de 75 mL de ácido clorhídrico acuoso 0,33 N se añadió después, y la disolución se calentó a 60°C durante 6 horas. La mezcla se enfrió entonces a temperatura ambiente, se añadieron 250 mL de amoníaco acuoso al 28%, y la mezcla se agitó durante 5 días. El amoníaco y el propanol se eliminaron a presión reducida, después el material se vertió en tubos de diálisis de celulosa regenerada de límite de PM 3.000, y se dializó frente a agua destilada durante 48 horas, cambiando el tampón de diálisis cada 12 horas. La disolución se filtró después a través de filtros centrífugos de límite de PM 30.000, dando partículas con un tamaño promedio de 4,5 nm, como se midió por DLS.

Síntesis de nanopartícula con base de óxido de hierro

Síntesis de nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético

- 10 Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 100 mL se cargó con 706 mg de $\text{Fe}(\text{acac})_3$ y 20 mL de alcohol bencílico anhidro. La disolución se lavó con nitrógeno y después se calentó a 165°C durante 2 horas en una atmósfera de nitrógeno. La disolución se enfrió entonces, y se almacenó, a temperatura ambiente.

Reacción de 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acetato de etilo con óxido de hierro superparamagnético

- 15 Una alícuota de 10 mL de nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético en alcohol bencílico (5,58 mg de Fe/mL) se diluyó con 50 mL de tetrahidrofurano. Se añadieron 2,00 g de 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acetato de etilo, y la mezcla se calentó a 60°C con agitación durante 2 horas, seguido por enfriamiento a temperatura ambiente. Se añadieron 50 mL de carbonato de potasio acuoso 1,0 M después de lo cual el matraz se selló después y se calentó con agitación a 60°C durante 18 horas. La mezcla se enfrió después y se centrifugó, y la fase acuosa se vertió en tubos de diálisis de celulosa regenerada con límite de PM 10.000 y se dializó frente a 4 litros de citrato sódico 10 mM durante 48 horas, cambiando el tampón de diálisis cada 12 horas. El volumen final fue 94 mL, con un total de 0,416 mg de hierro por mL de disolución. El material tenía un tamaño de partícula promedio de 8,4 nm en cloruro sódico acuoso 150 mM como se mide por dispersión de luz dinámica.

- 25 Reacción de N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio con óxido de hierro superparamagnético

Una alícuota de 16,75 mL de nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético en alcohol bencílico (5,58 mg de Fe/mL) se añadió a tetrahidrofurano para un volumen total de 94,5 mL. Esta disolución se añadió después a un matraz de presión, junto con 3,1 g de N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio, y la mezcla se calentó a 50°C con agitación durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió un total de 31 mL de isopropanol y 76 mL de hidróxido de amonio acuoso concentrado (28% de NH_3 en agua); el matraz se selló entonces y se calentó a 50°C con agitación durante 18 horas. La mezcla se enfrió y se lavó con hexanos (100 mL x 3). La fase acuosa se vertió en tubos de diálisis de celulosa regenerada con límite de PM de 10.000, y se dializó frente a 4 litros de citrato sódico 10 mM durante 18 horas. La disolución final tenía un total de 0,67 mg de hierro por mL de disolución. El material tenía un tamaño de partícula de 9,2 nm.

- 35 Determinación del tamaño de partícula y estabilidad de las nanopartículas en agua

Las nanopartículas del método 1 (36,2 mg) se disolvieron en 2 mL de agua DI. La disolución se filtró a través de una membrana de filtración de 20 nm. El tamaño de partícula promedio se midió como un radio hidrodinámico mediante dispersión de luz dinámica (DLS), inmediatamente después de la etapa de filtración. La muestra se almacenó durante 15 días a 37°C, con monitorización periódica por DLS. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

- 40 Tabla 1

Tiempo (t)	Tamaño de partícula promedio*
0	10,1 nm
5 días	12,8 nm
15 días	12,2 nm

*El tamaño de partícula promedio se midió a 37°C, usando DLS.

Estudios de biodistribución de nanopartículas

- 45 Los estudios *in vivo* se llevaron a cabo con ratas de Lewis macho con un intervalo de tamaño de entre 150 y 500 gramos de peso corporal. Las ratas se alojaron en alojamientos estándar con alimento y agua ad libitum y un ciclo de luz día-noche de 12 horas. Todos los animales usados para biodistribución fueron de otra forma sujetos normales no tratados.

Las nanopartículas se administraron como una disolución esterilizada mediante filtro o bien en agua o en solución salina. La administración se realizó bajo anestesia de isoflurano (4% de inducción, 2% de mantenimiento) por medio de un catéter 26 G insertado en la vena de la cola lateral. Los volúmenes de inyección se determinaron en base a la concentración de las nanopartículas en el inyectado y el tamaño de la rata, aunque fueron generalmente menores de 10% del volumen de sangre del roedor. La dosis objetivo fue 100 mg de metal de núcleo (por ejemplo, tantalio) por kg de peso corporal. Una vez inyectados, los animales se quitaron de la anestesia y, después de un periodo de observación para efectos adversos, volvieron al alojamiento normal. En un periodo posterior de tan poco como unos pocos minutos a tan largo como 6 meses, las ratas se sometieron a eutanasia y los órganos de interés se recogieron, se pesaron, y se analizaron para su contenido de metal total (por ejemplo, tantalio) mediante análisis ICP. Junto con los órganos, una muestra del material inyectado se presentó para determinar la concentración exacta de inyectado. Estos datos combinados determinaron el porcentaje de la dosis inyectada ("% de ID") que queda en un tejido de interés. Estos datos se presentaron o bien como % de ID/órgano, o % de ID/gramo de tejido. Los experimentos se realizaron generalmente con cuatro ratas duplicadas en cada punto temporal, permitiendo la determinación del error experimental ($\pm$ desviación estándar).

Tabla 2

Recubrimiento	Riñón (% de ID/órgano)	Hígado (% de ID/órgano)	Bazo (% de ID/órgano)
Dietilfosfatoetiltrióxosilano (PHS)	4,2 $\pm$ 0,43	2,57 $\pm$ 0,64	0,16 $\pm$ 0,05
N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio (SZWIS)	0,29 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,02	ND
N-(2-carboxietil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio (CZWIS)	0,70 $\pm$ 0,47	0,33 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,01

La Tabla 2 describe la biodistribución de nanopartículas fraccionadas con recubrimientos no zwitteriónicos (PHS) y zwitteriónicos (SZWIS y CZWIS) en los principales órganos de depuración 1 semana después de la inyección IV. "ND" significa "no detectado".

La cantidad de tantalio retenido por órgano se representa en la Tabla 2 como la fracción de la dosis inyectada. Las nanopartículas recubiertas no zwitteriónicas de tamaño comparable se retienen a niveles mucho mayores (casi un orden de magnitud) que cualquiera de los recubrimientos zwitteriónicos probados.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de agente diagnóstico que comprende una pluralidad de nanopartículas en donde al menos una nanopartícula (10) comprende:

a) un núcleo (20) que tiene una superficie del núcleo (30) libre de sílice, y

5 b) una carcasa (40) unida a la superficie del núcleo (30); en donde la carcasa (40) comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano;

en donde la nanopartícula no contiene un ligando de dirección; y

en donde los restos funcionalizados con silano están unidos al núcleo a la superficie del núcleo sin que intervenga ninguna capa de sílice.

10 2. La composición según la reivindicación 1, en donde el núcleo (20) comprende un metal de transición o compuesto de metal de transición.

3. La composición según la reivindicación 2, en donde el núcleo (20) comprende un óxido de tantalio.

4. La composición según la reivindicación 1, en donde el núcleo (20) comprende un material superparamagnético, opcionalmente en donde el material superparamagnético es óxido de hierro superparamagnético.

15 5. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un resto cargado de forma positiva, un resto cargado de forma negativa y un primer grupo espaciador entre el resto cargado de forma positiva y el resto cargado de forma negativa, opcionalmente en donde el grupo espaciador es un grupo alquilo.

20 6. La composición según la reivindicación 5, en donde el resto cargado de forma positiva comprende una alquilamina cuaternaria.

7. La composición según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde el resto cargado de forma negativa comprende un ácido carboxílico desprotonado o un ácido sulfónico desprotonado.

25 8. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde un átomo de silicio del resto zwitteriónico funcionalizado con silano está conectado al resto cargado de forma positiva o negativa por medio de un segundo grupo espaciador, opcionalmente en donde el grupo espaciador es un grupo alquilo.

9. La composición según cualquier reivindicación anterior, en donde el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un producto de hidrólisis de un precursor tri-alcoxisilano.

10. Una composición de agente diagnóstico que comprende una pluralidad de nanopartículas en donde al menos una nanopartícula (10) comprende:

30 a) un núcleo (20) que tiene una superficie de núcleo (30) libre de sílice, y

b) una carcasa (40) unida a la superficie del núcleo (30); en donde la carcasa (40) comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano, y en donde el resto zwitteriónico funcionalizado con silano comprende un producto de hidrólisis de un precursor tri-alcoxisilano, en donde el precursor tri-alcoxisilano comprende N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio, ácido 3-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propano-1-sulfónico, ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propano-1-sulfónico, 2-(2-(trimetoxisilil)etoxi(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio, 2-(2-(trimetoxisilil)etil(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio, N,N,N-trimetil-3-(N-3-(trimetoxisilil)propionilsulfamoil)propan-1-aminio, N-((2H-tetrazol-5-il)metil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, N-(2-carboxietil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, ácido 3-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propanoico, ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propanoico, N-(carboximetil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, ácido 2-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)acético, ácido 2-(3-(trimetoxisilil)propilamino)acético, ácido 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acético, ácido 3-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)propanoico, ácido 2-(metil(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)amino)acético, ácido 2-(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)aminoacético, o combinaciones de los mismos;

45 en donde los restos funcionalizados con silano están unidos al núcleo a la superficie del núcleo sin que intervenga ninguna capa de sílice.

11. La composición según la reivindicación 10, en donde el precursor tri-alcoxisilano comprende N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio, N-(2-carboxietil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio, N-(carboximetil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio o ácido 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acético.

12. Una composición según la reivindicación 10 o la reivindicación 11 en donde el núcleo comprende un óxido de tantalio.
13. La composición según cualquier reivindicación anterior, en donde la nanopartícula (10) tiene un tamaño de partícula de hasta 50 nm.
- 5 14. Una composición según la reivindicación 1, para usar en diagnóstico.
15. Un método para hacer nanopartículas como se define en cualquier reivindicación anterior, comprendiendo el método las etapas de:
 - a) proporcionar un núcleo (20) que tiene una superficie de núcleo (30) libre de sílice; y
 - b) disponer una carcasa (40) unida a la superficie del núcleo (30), en donde la carcasa (40) comprende un resto zwitteriónico funcionalizado con silano.
- 10 16. El método según la reivindicación 15, en donde proporcionar un núcleo (20) comprende proporcionar un primer material precursor, en donde el primer material precursor comprende al menos un metal de transición.
- 15 17. El método según la reivindicación 15, en donde el disponer una carcasa (40) unida a la superficie del núcleo (30) comprende proporcionar un segundo material precursor y hacer reaccionar el segundo material precursor con el núcleo (20) para producir una carcasa (40) dispuesta en el núcleo (20), opcionalmente en donde el segundo material precursor comprende un resto silano.
18. Un método para fabricar nanopartículas que comprende:
 - i) un núcleo (20) que tiene una superficie del núcleo (30) libre de sílice, y
 - ii) una carcasa (40) unida a la superficie del núcleo (30); en donde la carcasa (40) comprende al menos un resto zwitteriónico funcionalizado con silano; y en donde los restos funcionalizados con silano están unidos al núcleo a la superficie del núcleo sin que intervenga ninguna capa de sílice;
- 20 comprendiendo dicho método las etapas de:
 - a) proporcionar un núcleo (20) que tiene una superficie de núcleo (30) libre de sílice; y
 - b) poner en contacto el núcleo con un tri-alcoxisilano organofuncional, en donde el tri-alcoxisilano organofuncional contiene al menos un resto zwitteriónico o un precursor de un resto zwitteriónico.
- 25 19. Un método de formación de imágenes de un sujeto que comprende la formación de imágenes del sujeto con un dispositivo diagnóstico, en donde el sujeto se ha administrado previamente con una composición de agente diagnóstico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
20. Un método según la reivindicación 19, en donde el dispositivo es un dispositivo de rayos X.

10

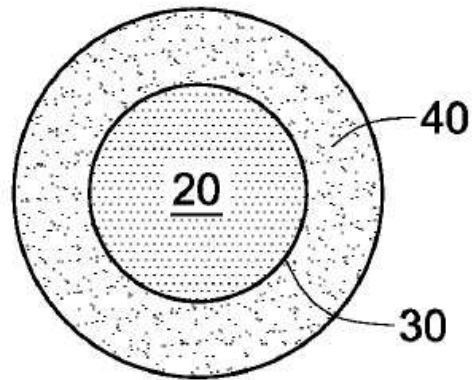
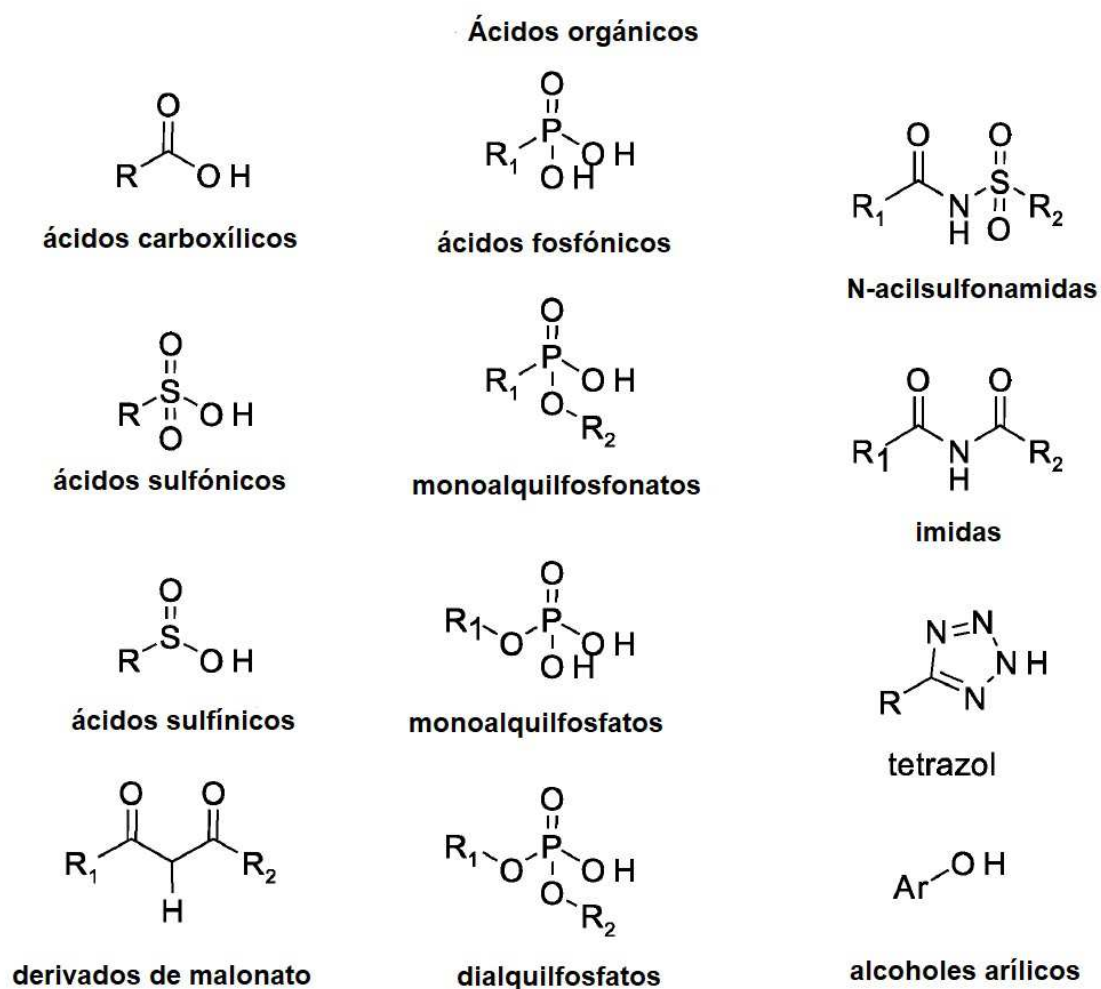


FIG. 1



Bases orgánicas

aminas 1ª, 2ª, 3ª, 4ª

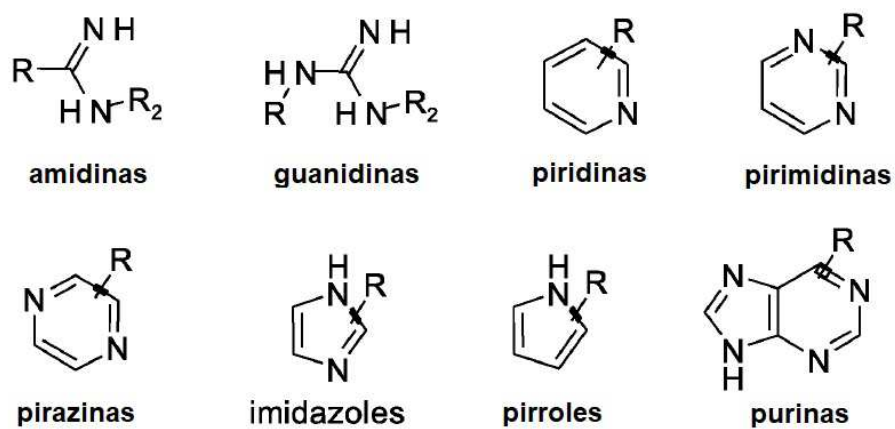
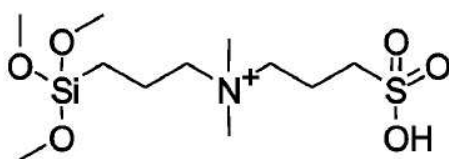
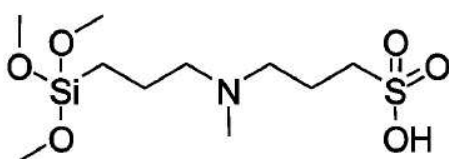


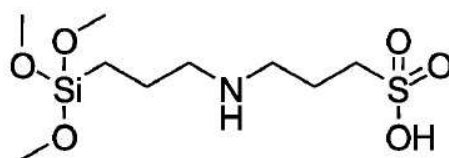
FIG. 2



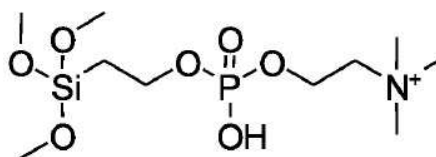
N,N-dimetil-3-sulfo-N-(3-(trimetoxisilil)propil)propan-1-aminio



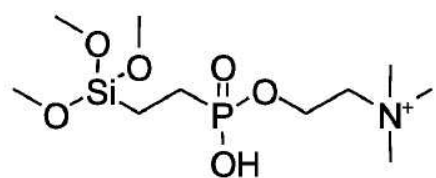
ácido 3-(metil-(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propano-1-sulfónico



ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propano-1-sulfónico

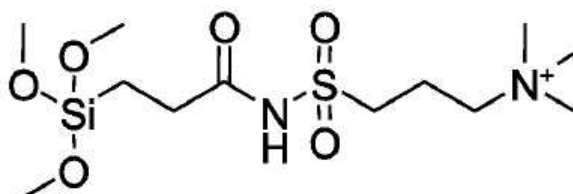


2-(2-(trimetilsilil)etoxi(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio

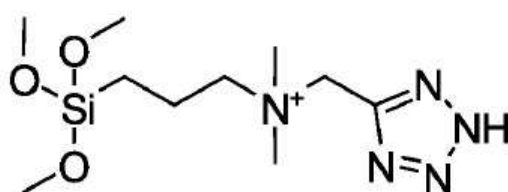


2-(2-(trimetoxisilil)etil(hidroxi)fosforiloxi)-N,N,N-trimetiletanaminio

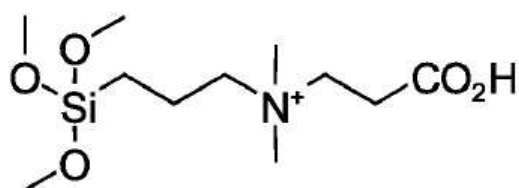
FIG. 3A



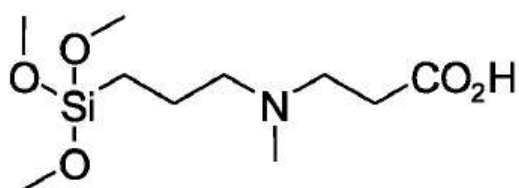
N,N,N-trimetil-3-(N-3-(trimetoxisilil)propionil-sulfamoyl)propan-1-aminio



N-((2H-tetrazol-5-il)metil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio

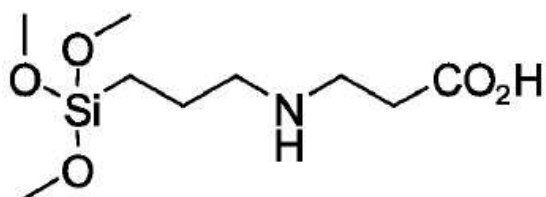


N-(2-carboxietil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio

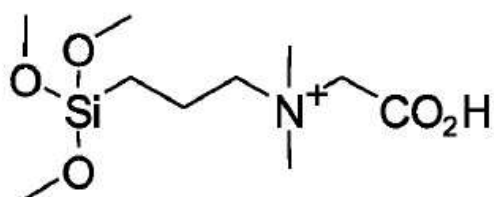


ácido 3-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)propanoico

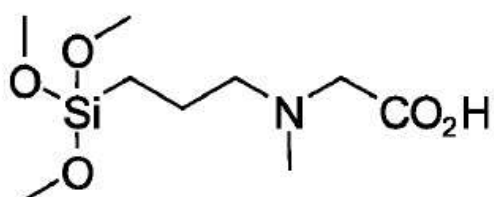
FIG. 3B



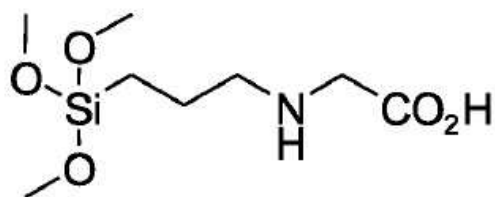
ácido 3-(3-(trimetoxisilil)propilamino)propanoico



N-(carboximetil)-N,N-dimetil-3-(trimetoxisilil)propan-1-aminio

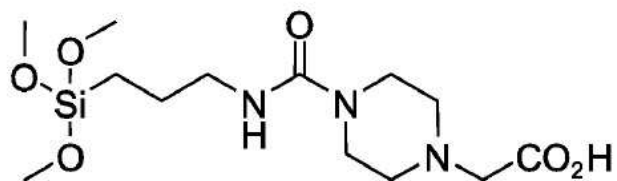


ácido 2-(metil(3-(trimetoxisilil)propil)amino)acético

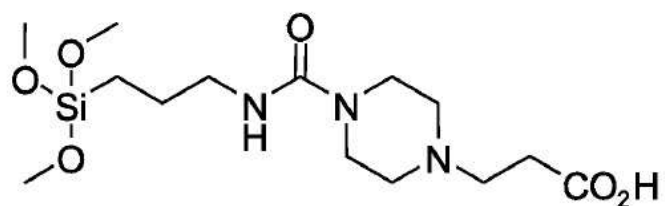


ácido 2-(3-(trimetoxisilil)propilamino)acético

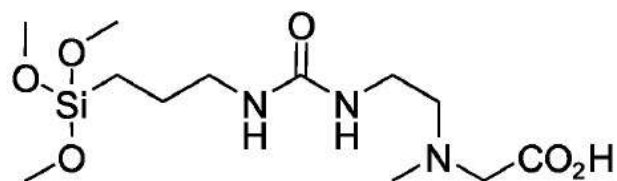
FIG. 3C



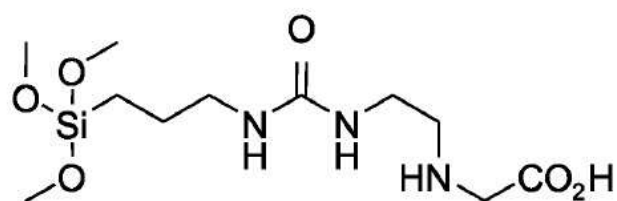
ácido 2-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)acético



ácido 3-(4-(3-(trimetoxisilil)propilcarbamoil)piperazin-1-il)propanoico



ácido 2-(metil(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)amino)acético



ácido 2-(2-(3-(trimetoxisilil)propilureido)etil)aminoacético

FIG. 3D