

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 687**

51 Int. Cl.:

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/EP2013/067402**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014 WO14029813**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2013 E 13752629 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2887969**

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

30 Prioridad:

23.08.2012 US 201213592853

23.08.2012 US 201213592897

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

19.10.2018

73 Titular/es:

GENERAL ELECTRIC COMPANY (100.0%)

1 River Road

Schenectady, NY 12345, US

72 Inventor/es:

BUTTS, MATTHEW, DAVID;

BONITATIBUS, PETER, JOHN, JNR;

COLBORN, ROBERT, EDGAR y

TORRES, ANDREW, SOLIZ

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 686 687 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

Composiciones nanoparticuladas para diagnóstico por imagen

Antecedentes

5 Esta solicitud se refiere de forma general a composiciones de nanopartículas útiles como agentes de diagnóstico 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.

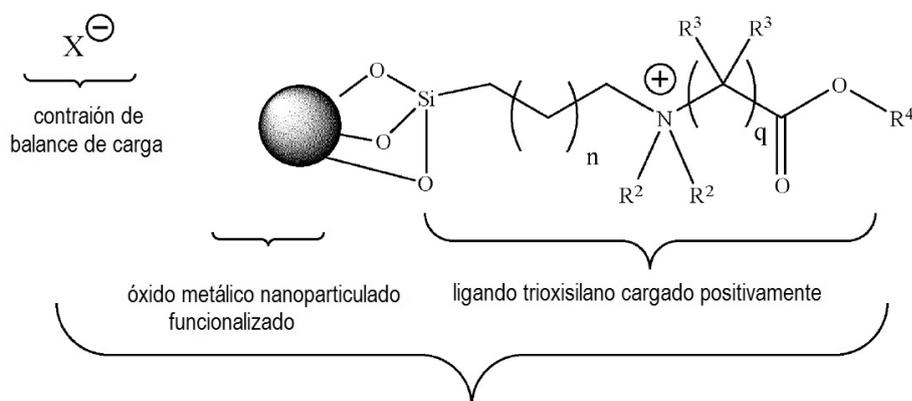
10 Casi todos los agentes de contraste para diagnóstico aprobados clínicamente son composiciones que comprenden moléculas pequeñas. Compuestos aromáticos yodados, relativamente pequeños, se han utilizado como agentes de contraste estándar en rayos-X y TC, mientras que para Imagen por Resonancia Magnética 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 solventen una o más de dichas desventajas y/o que posean características que faciliten nuevos modos de diagnóstico por imagen.

15 Las composiciones nanoparticuladas presentan un potencial considerable en aplicaciones médicas, tanto en diagnóstico 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. Existen evidencias sustanciales de que las composiciones nanoparticuladas presentan beneficios sobre los agentes de molécula pequeña usados actualmente, en términos de eficacia en diagnóstico y terapia. El documento US 2010/166665 A1 (General Electric Company) describe una composición que contiene nanopartículas funcionalizadas con grupos zwitteriónicos que demostró características de imagen mejoradas en comparación con los agentes de contraste de molécula pequeña. 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.

20 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

25 En un 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

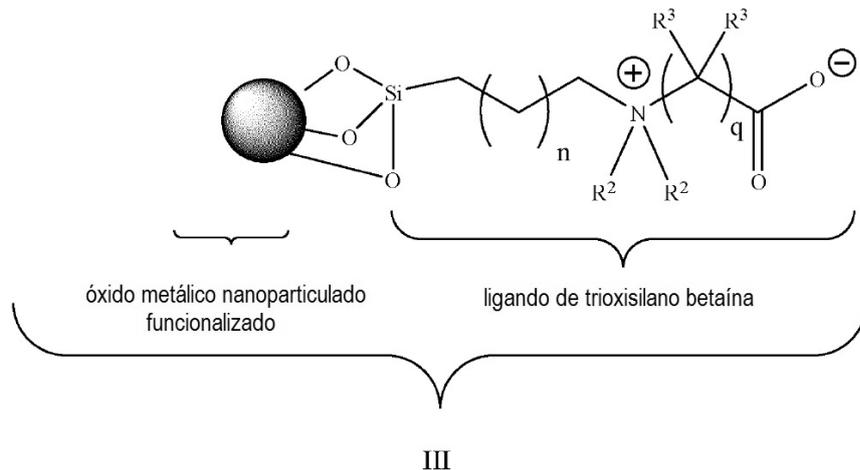


40

II

en donde R^2 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 alifático 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; X^- representa un contraión de balance de carga; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

- 5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar 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



- 10 en donde R^2 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 ; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado, en donde dicho método comprende la ruptura del resto éster que comprende el grupo protector R^4 tal como se ha definido para la anterior estructura II idealizada.

Descripción detallada

- 15 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.

- 20 “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.

- 30 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 azuleno ($n = 2$), grupos antraceno ($n = 3$) 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

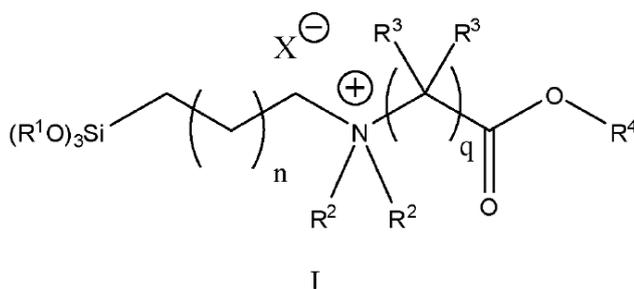
como grupos alquilo, grupos alqueno, grupos alquino, grupos haloalquilo, grupos haloaromáticos, grupos dienilo conjugados, grupos alcohol, grupos éter, grupos aldehído, grupos cetona, grupos ácido carboxílico, grupos acilo (por ejemplo, derivados de ácido carboxílico tales como ésteres y amidas), grupos 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, hexafluoroisopropilidibis(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, dicianometilidibis(4-fen-1-iloxi) (es decir, $-OPhC(CN)_2PhO-$), 3-metilfen-1-ilo, metilidibis(4-fen-1-iloxi) (es decir, $-OPhCH_2PhO-$), 2-etilfen-1-ilo, feniletlenilo, 3-formil-2-tienilo, 2-hexil-5-furanilo, hexametilen-1,6-bis(4-fen-1-iloxi) (es decir, $-OPh(CH_2)_6PhO-$), 4-hidroximetilfen-1-ilo (es decir, $4-HOCH_2Ph-$), 4-mercaptometilfen-1-ilo (es decir, $4-HSCH_2Ph-$), 4-metiliofen-1-ilo (es decir, $4-CH_3SPH-$), 3-metoxifen-1-ilo, 2-metoxicarbonilfen-1-iloxi (p.ej., metil salicilo), 2-nitrometilfen-1-ilo (es decir, $2-NO_2CH_2Ph$), 3-trimetilsililfen-1-ilo, 4-t-butildimetilsililfen-1-ilo, 4-vinilfen-1-ilo, vinilidibis(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 ($C_3H_2N_2-$) representa un radical aromático C_3 . El radical bencilo (C_7H_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 ($C_6H_{11}CH_2-$) 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 alqueno, grupos alquino, 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-bromodifluorometilciclooct-1-ilo, 2-clorodifluorometilciclohex-1-ilo, hexafluoroisopropilidibis(2,2-bis(ciclohex-4-ilo)) (es decir, $-C_6H_{10}C(CF_3)_2C_6H_{10}-$), 2-clorometilciclohex-1-ilo, 3-difluorometilciclohex-1-ilo, 4-triclorometilciclohex-1-iloxi, 4-bromodifluorometilciclohex-1-iltio, 2-bromoetilciclopent-1-ilo, 2-bromopropilciclohex-1-iloxi (p.ej., $CH_3CHBrCH_2C_6H_{10}O-$), y similares. Otros ejemplos de radicales cicloalifáticos incluyen 4-aliloxiciclohex-1-ilo, 4-aminociclohex-1-ilo (es decir, $H_2NC_6H_{10}-$), 4-aminocarbonilciclopent-1-ilo (es decir, $NH_2COC_5H_8-$), 4-acetiloxiciclohex-1-ilo, 2,2-dicianoisopropilidibis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, $-OC_6H_{10}C(CN)_2C_6H_{10}O-$), 3-metilciclohex-1-ilo, metilidibis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, $-OC_6H_{10}CH_2C_6H_{10}O-$), 1-etilciclobut-1-ilo, ciclopropiletlenilo, 3-formil-2-tetrahidrofuranilo, 2-hexil-5-tetrahidrofuranilo, hexametilen-1,6-bis(ciclohex-4-iloxi) (es decir, $-OC_6H_{10}(CH_2)_6C_6H_{10}O-$), 4-hidroximetilciclohex-1-ilo (es decir, $4-HOCH_2C_6H_{10}-$), 4-mercaptometilciclohex-1-ilo (es decir, $4-HSCH_2C_6H_{10}-$), 4-metilciclohex-1-ilo (es decir, $4-CH_3SC_6H_{10}-$), 4-metoxiciclohex-1-ilo, 2-metoxicarbonilciclohex-1-iloxi ($2-CH_3OCOC_6H_{10}O-$), 4-nitrometilciclohex-1-ilo (es decir, $NO_2CH_2C_6H_{10}-$), 3-trimetilsililciclohex-1-ilo, 2-t-butildimetilsililciclopent-1-ilo, 4-trimetoxisililciclohex-1-ilo (p.ej., $(CH_3O)_3SiCH_2CH_2C_6H_{10}-$), 4-vinilciclohexen-1-ilo, vinilidibis(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_4H_7O-) representa un radical cicloalifático C_4 . El radical ciclohexilmetilo ($C_6H_{11}CH_2-$) 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 alqueno, grupos alquino, 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, bromodifluorometilo, bromoetilo, 2-bromotrimetileno (p.ej., $-\text{CH}_2\text{CHBrCH}_2-$), y similares. Ejemplos adicionales de radicales alifáticos incluyen alilo, aminocarbonilo (es decir, $-\text{CONH}_2$), carbonilo, 2,2-dicianoisopropilideno (es decir, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CN})_2\text{CH}_2-$), metilo (es decir, $-\text{CH}_3$), metileno (es decir, $-\text{CH}_2-$), etilo, etileno, formilo (es decir, $-\text{CHO}$), hexilo, hexametileno, hidroximetilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{OH}$), mercaptometilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{SH}$), metiltio (es decir, $-\text{SCH}_3$), metitiometilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{SCH}_3$), metoxi, metoxicarbonilo (es decir, $\text{CH}_3\text{OCO}-$), nitrometilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{NO}_2$), tiocarbonilo, trimetilsililo (es decir, $(\text{CH}_3)_3\text{Si}-$), t-butildimetilsililo, 3-trimetoxisililpropilo (es decir, $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), vinilo, vinilideno, y similares. A modo de ejemplo adicional, un radical alifático $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ contiene al menos uno, aunque no más de 10, átomos de carbono. Un grupo metilo (es decir, $-\text{CH}_3$) es un ejemplo de un radical alifático C_1 . Un grupo decilo (es decir, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9-$) es un ejemplo de un radical alifático C_{10} .

Los compuestos de trialcoxisilano se pueden representar mediante la estructura I generalizada



en donde R^1 y R^2 son de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$; R^3 es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$; R^4 es un radical alifático $\text{C}_1\text{-C}_5$, un radical aromático $\text{C}_7\text{-C}_{12}$, o un grupo cicloalifático $\text{C}_5\text{-C}_{10}$; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; y X^- representa una 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.

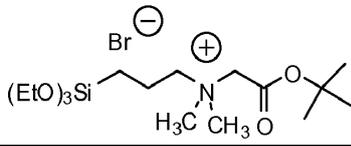
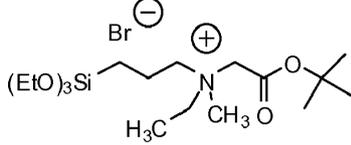
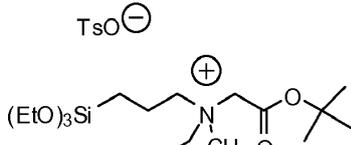
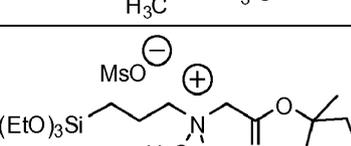
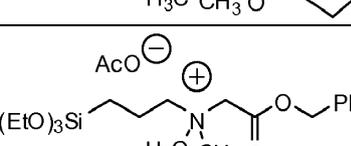
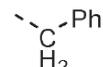
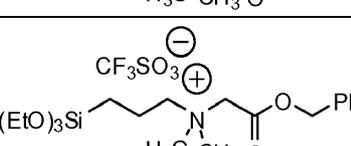
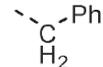
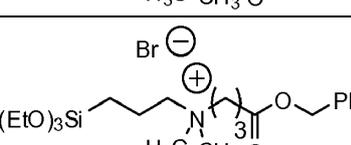
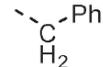
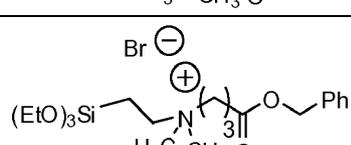
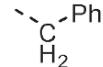
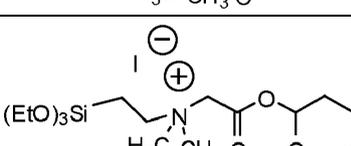
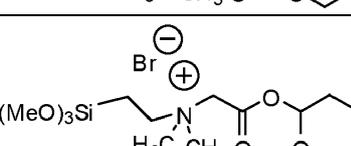
El trialcoxisilano I se puede hacer reaccionar con óxidos metálicos nanoparticulados a través de la agencia del grupo trialcoxisililo para formar óxidos metálicos nanoparticulados en los que el ligando correspondiente a la estructura I está unido al óxido metálico nanoparticulado a través de uno o más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

En referencia al trialcoxisilano que presenta la estructura I, R^1 y R^2 son de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$, por ejemplo un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo isopropilo o un grupo propilo. El nitrógeno mostrado en la estructura I está unido a cuatro átomos de carbono diferentes, y representan el componente cargado positivamente de una sal de amonio cuaternaria. El grupo R^3 puede ser de forma independiente en cada aparición hidrógeno o un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$. 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 hidrogenólisis suaves. Los grupos protectores de éster que pueden eliminarse en condiciones ligeramente ácidas incluyen, aunque sin limitación, grupos butilo terciarios, grupos tetrahidropirano, grupos metiltiometileno, grupos 1-metil-1-ciclopentilo y grupos 1-metil-1-ciclohexilo. Los grupos protectores de éster que pueden eliminarse en condiciones de hidrogenólisis 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 grupo amino. El grupo amino terciario del trialcoxisilano reacciona con el compuesto protegido por éster que comprende un grupo reactivo saliente, transformando de este modo el nitrógeno de amina terciaria en un nitrógeno cuaternario. Los compuestos 1a-1d, 1i-1k y 1m-1o ilustran trialcoxisilanos en los que el grupo R^4 es un grupo protector sensible a ácido. Los compuestos 1e-1h y 1l ilustran trialcoxisilanos en los que el grupo R^4 es un grupo protector (bencilo) que puede eliminarse en condiciones de hidrogenólisis 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.

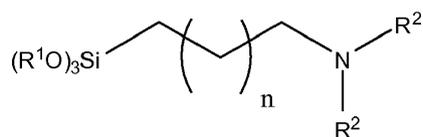
Tabla I. Ejemplos de trialcoxisilanos que presentan la estructura I.

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

Entrada	Estructura	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X ⁻	n	q
1k		CH ₃	Et	H	MTM	Br ⁻	0	1
1l		Et	CH ₃	CH ₃		Br ⁻	1	1
1m		Et	CH ₃	CH ₃	t-Bu	Br ⁻	1	1
1n		CH ₃	CH ₃	H	t-Bu	Br ⁻	2	1
1o		CH ₃	CH ₃	H		HCO ₃ ⁻	2	1

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 (R¹O)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 un 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

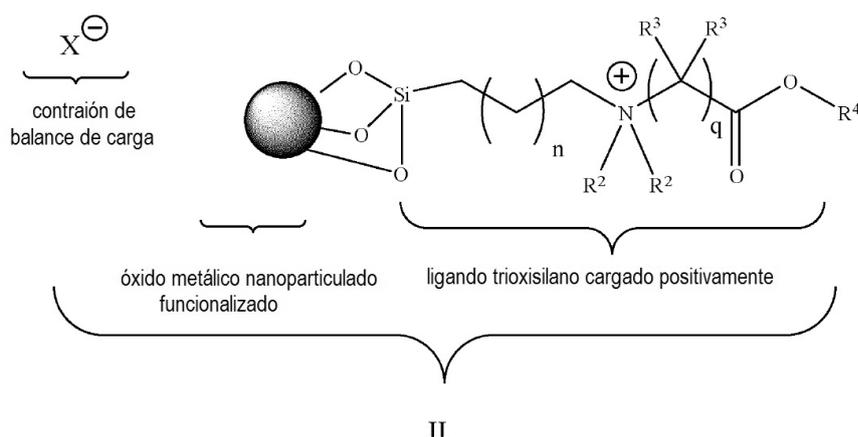
que comprende un resto de amina terciaria y en donde R¹ y R² son de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C₁-C₃; y n es 0, 1, 2 ó 3.

La presencia de dichos ligandos de trioxisilano correspondientes a la amina terciaria Ia en nanopartículas puede afectar a las características de desempeño de dichas nanopartículas como agentes de diagnóstico por imagen, 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



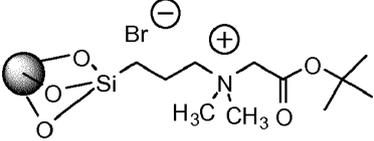
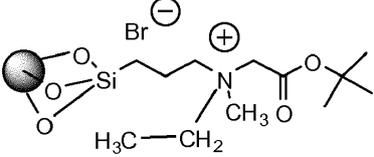
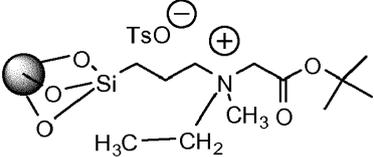
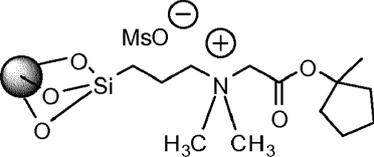
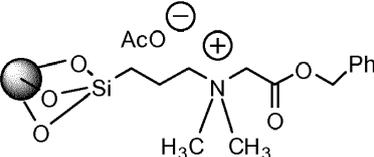
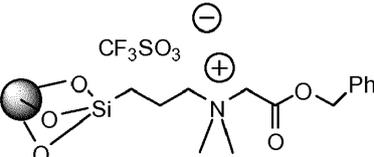
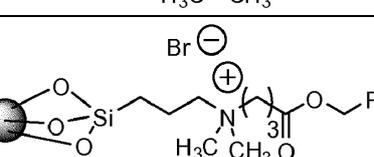
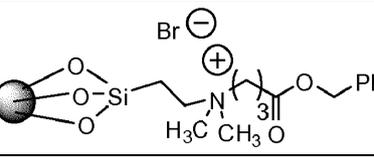
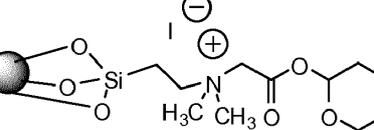
en donde R^2 es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C_1-C_3 ; R^3 es de forma independiente en cada aparición hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_3 ; R^4 es un radical alifático C_1-C_5 , un radical aromático C_7-C_{12} , o un grupo cicloalifático C_5-C_{10} ; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; 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 nanopartículas 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 ²	R ³	R ⁴	X ⁻	n	q
2a		CH ₃	H	t-Bu	Br ⁻	1	1
2b		CH ₃ , Et	H	t-Bu	Br ⁻	1	1
2c		CH ₃ , Et	H	t-Bu	TsO ⁻	1	1
2d		CH ₃	H		MsO ⁻	1	1
2e		CH ₃	H		AcO ⁻	1	1
2f		CH ₃	H		Tf	1	1
2g		CH ₃	H		Br ⁻	1	3
2h		CH ₃	H		Br ⁻	0	3
2i		CH ₃	H	TPH	I ⁻	0	1

Entrada	Estructura	R ²	R ³	R ⁴	X ⁻	n	q
2j		CH ₃	H	TPH	Br ⁻	0	1
2k		Et	H	MTM	Br ⁻	0	1
2l		CH ₃	CH ₃		Br ⁻	1	1
2m		CH ₃	CH ₃	t-Bu	Br ⁻	1	1
2n		CH ₃	H	t-Bu	Br ⁻	2	1
2o		CH ₃	H		HCO ₃ ⁻	2	1

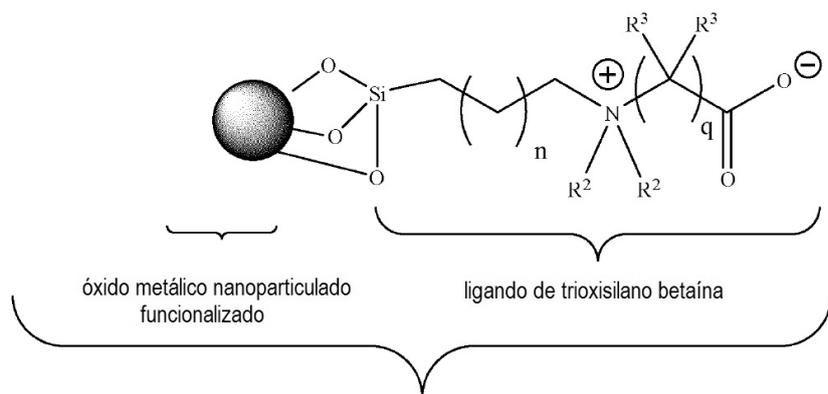
En una o más realizaciones, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro del alcance de la estructura genérica II, en donde cada R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, y R⁴ es butilo terciario, por ejemplo los compuestos 2a y 2n de la Tabla II.

- 5 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 R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, y R⁴ es 2-metil-2-butilo, por ejemplo la nanopartícula 2o de la Tabla II.

- 10 En una realización, la presente invención proporciona una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura genérica II en donde R⁴ es bencilo, por ejemplo los compuestos 2e-2h y 2l de la Tabla II. En una realización alternativa, R⁴ 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 R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, R⁴ 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.

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



5 en donde R² es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C₁-C₃; R³ es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₃; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; 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 del resto éster que comprende el grupo protector R⁴ tal como se define en la estructura II idealizada proporciona un resto carboxilato que puede actuar como contraión de balance de carga para el nitrógeno cuaternario cargado positivamente. Dichas especies de carga separada, pero equilibrada, se denominan betainas en química orgánica.

10 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 betaina.

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

Entrada	Estructura	R ²	R ³	n	q
3a		CH ₃	H	1	1
3b		CH ₃ , Et	H	1	1
3c		CH ₃ , Et	CH ₃	1	1
3d		CH ₃ , Et	CH ₃ , H	1	1
3e		CH ₃	CH ₃ , H	1	1

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

5 En una o más realizaciones, la presente invención proporciona un método para preparar una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura III genérica, en donde cada R² es metilo y cada R³ es hidrógeno, por ejemplo las nanopartículas representadas por las estructuras 3a, 3g, 3h, 3i y 3l de la Tabla III.

En una o más realizaciones alternativas, la presente invención proporciona un método para preparar una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que entran dentro de la estructura III genérica, en donde cada R² es metilo y cada R³ es hidrógeno, por ejemplo las nanopartículas representadas por las estructuras 3k y 3m de la Tabla III.

10 En una o más realizaciones alternativas la presente invención proporciona un método para preparar 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-3f y 3k de la Tabla III.

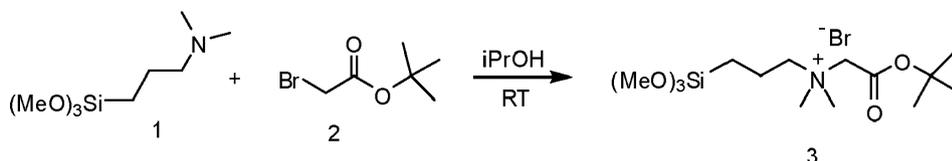
15 La presente invención puede usarse para preparar una composición de agente de diagnóstico por imagen que comprende nanopartículas que presentan la estructura idealizada III. La composición de agente de diagnóstico por imagen puede comprender un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. 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.

20 Una característica importante que resalta la utilidad de las composiciones de agente de diagnóstico por imagen es consecuencia de la naturaleza nanoparticulada de las propias nanopartículas. Las nanopartículas que constituyen

las composiciones de agente de diagnóstico por imagen pueden presentar una mediana de tamaño de partícula de hasta 10 nm. Las nanopartículas que constituyen las composiciones de agente de diagnóstico por imagen pueden presentar una mediana de tamaño de partícula de hasta 6 nm.

PARTE EXPERIMENTAL

5 Ejemplo 1 – Síntesis del trialcoxisilano 3

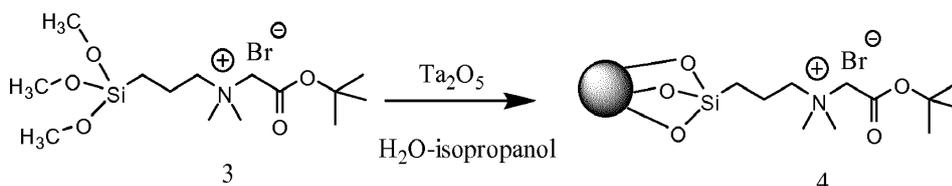


10 En un matraz de fondo redondo de 250 mL equipado con barra de agitación se cargó isopropanol anhidro (90 mL, Aldrich) y dimetilaminopropil trimetoxisilano 1 (destilado previamente, 26,9 mL, 123,1 mmol, Gelest). Se añadió bromo-*t*-butilacetato (Compuesto 2, 19,1 mL, 129,2 mmol, Aldrich) gota a gota con una jeringa. La disolución incolora resultante se dejó agitando a temperatura ambiente durante 22 horas para dar lugar a una disolución del trialcoxisilano 3 en isopropanol.

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

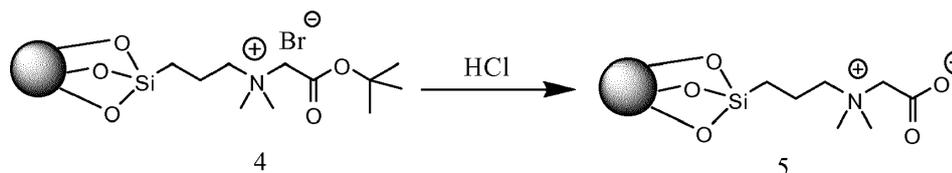
15 Se hizo pasar gas nitrógeno a través de un matraz de fondo redondo de tres bocas de 2L, equipado con una barra de agitación, un adaptador para gas nitrógeno y un embudo de adición, y se cargó con isopropanol anhidro (456 mL), ácido isobutírico (7,25 mL, 78,2 mmol, Aldrich) y agua purificada (6,8 mL, 374,9 mmol). Tras burbujear la disolución a través de una aguja durante 15 minutos, se añadió gota a gota a través de una jeringa etóxido de tántalo (25 g, 61,5 mmol). La disolución homogénea incolora se dejó agitar a temperatura ambiente durante 21 horas para dar lugar a una disolución de Ta_2O_5 nanoparticulada.

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



20 La disolución de isopropanol que contenía el trialcoxisilano 3 preparado en el Ejemplo 1 se añadió gota a gota a lo largo de 40 minutos a la disolución de Ta_2O_5 nanoparticulada preparada en el Método 1. Se aplicó un condensador al recipiente de reacción y se calentó en un baño de aceite a 75°C durante 2 horas. Se añadió gota a gota a través de una jeringa agua purificada (12,4 mL, 1 equivalente completo de agua por cada grupo alcóxido añadido a la mezcla de reacción) y la mezcla se dejó agitar durante otras 3 horas. A continuación se redujo la temperatura hasta 50°C. Después de 17 horas a 50°C, se añadió una disolución acuosa de NH_4OH (4 molar, 75 mL) a 50°C en el transcurso de varios minutos. Durante un periodo de tiempo que comenzó aproximadamente 7,5 horas después de la adición de la disolución acuosa de NH_4OH y que finalizó aproximadamente 3 horas después, el recipiente de reacción fue barrido con nitrógeno, y durante dicho periodo de tiempo se arrastraron aproximadamente 100 mL de isopropanol del recipiente de reacción. Veinticuatro horas después de la adición de NH_4OH , la mezcla de reacción fue enfriada hasta temperatura ambiente para producir una disolución que comprendía nanopartículas con la estructura idealizada 4.

Ejemplo 3 – Síntesis de la nanopartícula 5



35 A la disolución que comprendía la nanopartícula 4 preparada en el Ejemplo 2 anterior se añadió una disolución acuosa de HCl (2 molar, 250 mL). La mezcla se calentó entonces hasta 50°C y se agitó durante 47 horas, periodo durante el cual la mezcla de reacción se volvió heterogénea. A continuación se añadió agua purificada (100 mL) y la mezcla de reacción se volvió homogénea de manera inmediata. Se elevó entonces la temperatura hasta 75°C durante 48 horas. 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 se enfrió hasta temperatura ambiente y se neutralizó con una disolución acuosa de NH_4OH (120 mL,

4,93 M). La nanopartícula que presenta la estructura idealizada 5 a veces es denominada en la presente memoria simplemente como "CZ2".

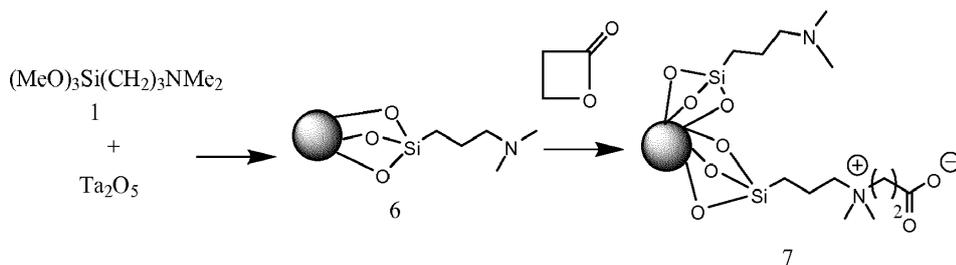
Ejemplo 4 – Purificación de la nanopartícula 5

5 La disolución que comprende la nanopartícula 5 preparada en el Ejemplo 3 fue concentrada en un evaporador rotatorio hasta 300 mL y se filtró, en secuencia, a través de membranas de 450 nm, 100 nm y 20 nm. La disolución filtrada se concentró adicionalmente hasta 129 g y se dializó contra 2L de agua purificada durante un total de seis ciclos usando un tubo de diálisis de celulosa regenerado de piel de serpiente MWCO de 3,5 kDa para dar lugar a una disolución del producto de composición de nanopartículas purificada que comprendía la nanopartícula 5. Se secó por congelación una alícuota y se analizó espectroscópicamente. El rendimiento del producto fue del 58,3% 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 1,49, y que el % 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 3,1 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

15 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 de nanopartícula 7



25 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 la nanopartícula 6. 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 50°C 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 7, a veces denominadas "CZ1".

35 Ejemplo 5 – Purificación de la nanopartícula 7 (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 (Z_{efectivo}) de 4,8 nm. La asignación de estructura de recubrimiento de partícula es consistente con los datos espectroscópicos.

ESTUDIOS *IN VIVO*

45 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 Committee" 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 siete 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 18M Ω (DIW; Millipore, Bedford, 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 180°C 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 18M Ω , 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ durante 45 segundos entre cada análisis.

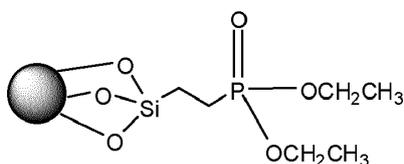
Tabla 1. Parámetros operacionales usados en el PerkinElmer Inc. Optima 5300™ DV ICP-OES con configuración vista radialmente*

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

*El instrumento estaba 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.

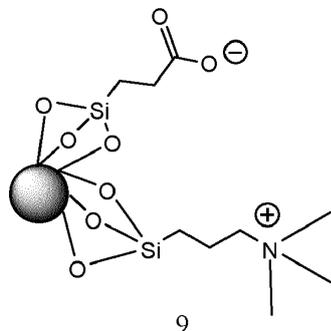
En las Tablas 2-4, mostradas a continuación, se presentan los datos de retención en órganos correspondientes a cuatro composiciones nanoparticuladas de tántalo diferentes. Las composiciones nanoparticuladas referidas en la Tabla 2 (PHS-Ta₂O₅, estructura 8) y la Tabla 3 (ZMS-Ta₂O₅, estructura 9) se presentan 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-Ta₂O₅, también conocido como 2-dietilfosfatoetilsilano-TaO, es una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada 8, y que fue preparada como se ha descrito en Investigative Radiology Vol. 47, N°10, pág. 1-10, 2012.



8

El ZMS-Ta₂O₅, también descrito como metoxi silano zwitteriónico TaO, es una composición nanoparticulada que comprende nanopartículas que tienen la estructura idealizada 9, 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>)).



5

9

Tabla 2 – Ta retenido en órganos. PHS-Ta₂O₅ 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-Ta₂O₅ 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)

10 Tabla 4 – Ta retenido en órganos. CZ2 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	0,081 (+/- 0,008)	0,364 (+/- 0,219)
Riñones	0,225 (+/- 0,016)	0,247 (+/- 0,046)
Bazo	0,005 (+/- 0,0001)	0,05 (+/- 0,001)

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

15 Los datos presentados en las Tablas 2-5 demuestran el comportamiento mejorado de la composición nanoparticulada CZ2 (Tabla 4, estructura idealizada 5). A pesar de tener el mismo tamaño, las diferentes composiciones nanoparticuladas exhiben perfiles de retención en órganos muy diferentes. La composición nanoparticulada CZ2 exhibe una tasa de eliminación de órganos muy superior a las composiciones nanoparticuladas de control PHS-Ta₂O₅ y ZMS-Ta₂O₅, así como un resultado superior con respecto a la composición nanoparticulada CZ1, 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

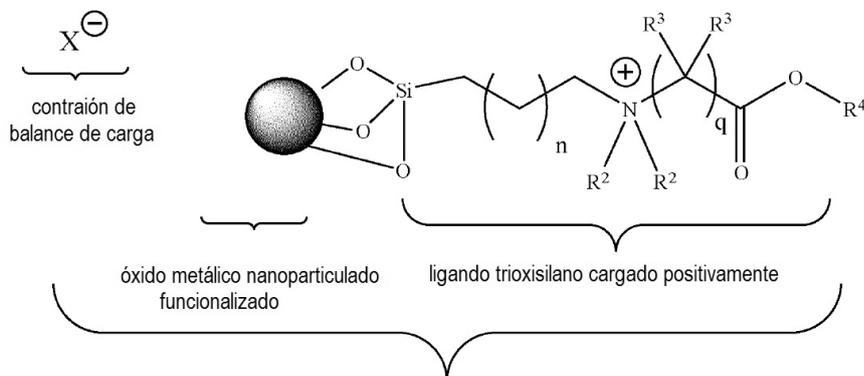
20

trioxisilano que contienen amina terciaria correspondientes al trialcoxisilano Ia. La composición nanoparticulada CZ1 (estructura idealizada 7) que comprende un porcentaje significativo (es decir, 50%) de ligandos de trioxisilano correspondientes al trialcoxisilano 1, fue lo suficientemente tóxica para que los estudios de retención no pudieran ser llevados a cabo con éxito al nivel de 1500 mg/kg.

5

REIVINDICACIONES

1. 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

donde R² es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C₁-C₃; R³ es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alifático C₁-C₃; R⁴ es un radical alifático C₁-C₅, un radical aromático C₇-C₁₂, o un grupo cicloalifático C₅-C₁₀; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; X⁻ representa un contraión de balance de carga; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado.

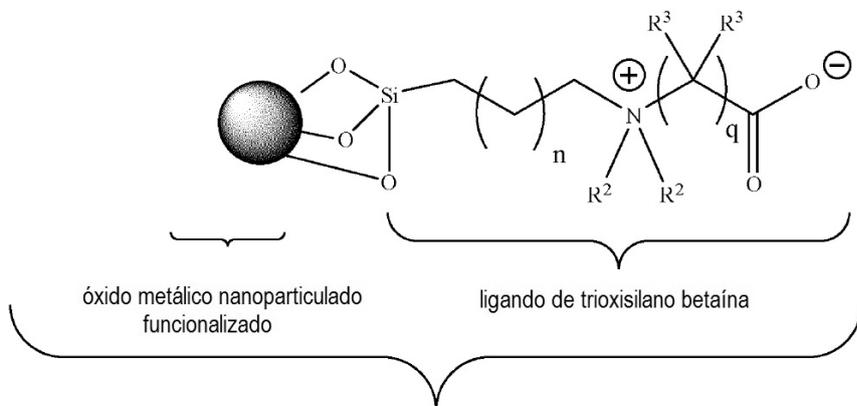
2. La composición nanoparticulada según la reivindicación 1, en donde cada R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, y R⁴ es butilo terciario, o donde cada R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, y R⁴ es 2-metil-2-butilo.

3. La composición nanoparticulada según la reivindicación 1, en donde X⁻ representa un ion bromuro.

4. La composición nanoparticulada según la reivindicación 1, en donde el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado consiste esencialmente en óxido de tántalo.

5. La composición nanoparticulada según la reivindicación 1, en donde cada R² es metilo, cada R³ es hidrógeno, R⁴ es butilo terciario, n es 1, q es 1; y el óxido metálico nanoparticulado consiste esencialmente en óxido de tántalo nanoparticulado.

6. Un método para preparar 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 R² es de forma independiente en cada aparición un grupo alquilo C₁-C₃; R³ es de forma independiente en cada aparición un hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₃; n es 0, 1, 2 ó 3; q es 1, 2 ó 3; y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado comprende óxido de tántalo nanoparticulado;

en donde dicho método comprende la ruptura del resto éster que comprende el grupo protector R^4 tal como se ha definido para la anterior estructura II idealizada en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

7. El método según la reivindicación 6, en donde cada R^2 es metilo y cada R^3 es hidrógeno; o donde cada R^2 es metilo y cada R^3 es metilo.

5 8. El método según la reivindicación 6, en donde n es 1, q es 1, y el óxido metálico nanoparticulado funcionalizado consiste esencialmente en óxido de tántalo.

9. El método según la reivindicación 8, en donde cada R^2 es metilo y cada R^3 es hidrógeno.