(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 763 950**

(51) Int. Cl.:

A61K 49/18 (2006.01)
A61K 51/04 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2011** **PCT/IB2011/003109**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013** **WO13072717**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2011** **E 11811123 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019** **EP 2780041**

(54) Título: **Agente de contraste y radiofarmacéutico multimodal para formación de imágenes y una terapia dirigida guiada por imágenes**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.06.2020

(73) Titular/es:

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (25.0%)
Campus Gérard-Mégie, 3, rue Michel-Ange
75794 Paris Cedex 16, FR;
LES HOSPICES CIVILS DE LYON (25.0%);
UNIVERSITÉ DE STRASBOURG (25.0%) y
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON I (25.0%)

(72) Inventor/es:

FELDER-FLESCH, DELPHINE;
BILLOTEY, CLAIRE;
LAMANNA, GIUSEPPE;
JANIER, MARC y
KRIZA, DAVID

(74) Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 763 950 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

Agente de contraste y radiofarmacéutico multimodal para formación de imágenes y una terapia dirigida guiada por imágenes

La presente invención se refiere a un agente de contraste y radiofarmacéutico multimodal para formación de imágenes y una terapia dirigida guiada por imágenes.

La vectorización de herramientas de diagnóstico y especialmente terapéuticas es un riesgo muy importante. De hecho, llevar, gracias a un "vehículo", objetos terapéuticos (medicamentos, agentes físicos) específicamente a nivel de las dianas terapéuticas (típicamente células tumorales) puede permitir aumentar la concentración y la eficacia de estas terapias, a la vez que se disminuyen los efectos secundarios resultantes de una distribución no específica. Por lo tanto, el uso de una sustancia altamente eficiente, pero muy tóxica, puede preverse con un sistema de reconocimiento eficaz. En la obtención de bioimágenes, el reconocimiento permite refinar el diagnóstico mediante la mejora de la sensibilidad y sobre todo la especificidad para un diagnóstico más temprano. Podría realizarse previamente un estudio cualitativo y cuantitativo de la internalización en la diana terapéutica mediante formación de imágenes con la misma nanosonda (molécula orgánica con un tamaño nanométrico en contraste con nanopartículas que son moléculas inorgánicas con un tamaño nanométrico) que permite adaptar el nivel de la radioactividad terapéuticamente inyectada.

Pero este objetivo, perseguido por numerosos equipos en el campo de la terapia, reúne importantes obstáculos relacionados, en particular, con la especificidad no óptima del vector para la diana que termina en una proporción demasiado baja [objeto terapéutico en el tejido a tratar]/[objeto terapéutico en el tejido sano]. Dicho problema se encuentra conectado con el hecho de que, excepto el sistema nervioso central, no hay membrana, estructuras enzimáticas u otras estructuras que sean específicas de un único tipo de célula; en otras palabras, no hay dianas totalmente específicas de una población celular determinada, sino simplemente una sobreexpresión de estas dianas. De hecho, las células tumorales sólo difieren de las células normales en una sobreexpresión de "marcadores" celulares. Por lo tanto, el reconocimiento de células específicas por un único marcador a menudo viene junto con una mala especificidad de reconocimiento y entonces grandes efectos secundarios.

Por lo tanto, un enfoque dendrítico para el reconocimiento eficaz parece prometedor, ya que combina varias ventajas tales como:
- aumentar drásticamente la proporción de unión de la nanosonda en el tejido diana, aumentando el número de efectores biológicos dentro de una misma nanosonda;
- permitir una formación de imágenes multimodal (imágenes por resonancia magnética (MRI), tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT)) a través de la formación de complejos de diversos iones metálicos;
- tener propiedades de biodistribución favorables.

De hecho, la eliminación de los complejos no reconocidos es esencial y se puede realizar mediante varias vías, en particular por vía renal o forma hepática y biliar.

Además, la forma globular dendrítica podría mejorar la estabilidad de acoplamiento con los efectores biológicos, así como la estabilidad termodinámica y cinética del complejo metálico.

El uso de dendrímeros o compuestos dendríticas para aplicaciones biomédicas es un área floreciente de investigación, principalmente debido a su estructura definida con precisión y alta capacidad de ajuste, que conduce a sistemas biocompatibles, polifuncionales y solubles en agua (S.E. Stiriba, H. Frey y R. Haag, Angew Chem Int Ed, 2002, 41, 1329-1334; M.J. Cloninger, Curr Opin Chem Biol, 2002, 6, 742-748; R. Duncan y L. Izzo, Adv. Drug Delivery Rev., 2005, 57, 2215-2237; C.C. Lee, J.A. MacKay, J.M.J. Fréchet y F.C. Szoka, Nat Biotechnol., 2005, 23, 1517-1526; O. Rolland, C-O. Turrin, A-M. Caminade, J-P. Majoral, New J. Chem., 2009, 33, 1809-1824).

AGENTES DE CONTRASTE Y RADIOFÁRMACOS DENDRÍTICOS

a) agentes de contraste basados en gadolinio

En los últimos años, varios grupos de investigación han explorado el uso de dendrímeros como una nueva clase de agentes de contraste macromoleculares (MRI). La eficiencia de los agentes de contraste MRI se expresa a menudo en términos de su capacidad de relajación longitudinal ($r_1/mm^{-1}.s_{-1}$), es decir, su capacidad para acortar el tiempo de relajación longitudinal de protones de las moléculas de agua (T_1/s).

En el trabajo seminal, Wiener et al. (E.C. Wiener, M.W. Brechbiel, H. Brothers, R.L. Magin, O.A. Gansow, D.A. Tomalia y P.C. Lauterbur, Magn. Reson. Med., 1994, 31, 1) informaron de la síntesis de diferentes generaciones de dendrímeros PAMAM basados en Gd (III)DTPA. Su agente de contraste MRI dendrítico de sexta generación (PM = 139 kg.mol-1) aparece una r_1 de 34 $mM^{-1}.s^{-1}$ (0,6 T, 20 °C), que era seis veces mayor que la r_1 de Gd(III)DTPA (PM = 0,55 kg.mol-1, r^1 = 5,4 $mM^{-1}.s^{-1}$). Este fuerte aumento de r_1 se atribuyó a la tasa de volteo molecular inferior del

complejo Gd (III)DTPA en la periferia del dendrímero, tal como se evidencia por el aumento de los tiempos de correlación rotacionales (E.C. Wiener, F.P. Auteri, J.W. Chen, M.W. Brechbiel, O.A. Gansow, D.S. Schneider, R.L. Belford, R.B. Clarkson y P.C. Lauterbur, J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, 7774). Curiosamente, no se observó aumento del valor de r_1 para los polímeros macromoleculares flexibles de peso molecular comparable (V.S. Vexler, O. Clement, H. Schmitt-Willich y R.C. Brasch, J. Magn Reson Imaging, 1994, 4, 381; T.S. Desser, D.L. Rubin, H.H. Muller, F. Qing, S. Khodor, G. Zanazzi, S.W. Young, D.L. Ladd, J.A. Wellons y K.E. Kellar, J. Magn. Reson. Imaging, 1994, 4, 467) lo que implica que el movimiento segmentario domina el tiempo de correlación rotacional. Bryant et al. investigaron la relación entre r_1 y el peso molecular del agente de contraste MRI dendrítico utilizando diferentes generaciones de dendrímeros PAMAM basados en Gd (III)DOTA (L.H. Bryant, Jr, M.W. Brechbiel, C. Wu, J.W. Bulte, V. Herynek y J.A. Frank, J. Magn. Reson. Imaging, 1999, 9, 348). En ese caso, se alcanzó un valor de meseta para r_1 de 36 $mM^{-1}.s^{-1}$ (0,47 T, 20 °C) para la séptima generación de dendrímero basado en Gd (III)DOTA (PM = 375 $kg.mol^{-1}$). Por otra parte, se demostró que r_1 del dendrímero de séptima generación aumenta al aumentar la temperatura, lo que indica que el intercambio lento del agua limita la capacidad de relajación (E. Toth, D. Pubanz, S. Vauthey, L. Helm y A.E. Merbach, Chem. Eur. J., 1996, 2, 1607). Rudovsky et al. estudiaron el efecto en r_1 de las interacciones iónicas entre dendrímeros PAMAM basados en Gd(III) cargado negativamente y poli(aminoácidos) cargados positivamente (J. Rudovsky, P. Hermann, M. Botta, S. Aime y I. Lukes, Chem. Commun., 2005, 2390). Los experimentos de titulación en el agente de contraste dendrítico de segunda generación con poli (arginina) mostraron un aumento en r_1 de 20 a 28 $mM^{-1}.s^{-1}$ (0,47 T, 20 °C). Este efecto se atribuyó a una disminución de la movilidad del complejo de Gd (III) inducida por las interacciones entre el dendrímero aniónico y la poli (arginina) actiónica. Se describió una serie de dendrímeros de PPI funcionalizados con Gd(III)-DTPA por Kobayashi et al. (H. Kobayashi, S. Kawamoto, S.-K. Jo, HL Bryant, Jr, MW Brechbiel, Jr y R.A. Star, Bioconjugate Chem., 2003, 14, 388). Los autores demostraron que r_1 aumentó casi linealmente con el peso molecular del dendrímero sin alcanzar un valor de meseta, dando lugar finalmente a un valor de r_1 de 29 $mM^{-1}.s^{-1}$ (1,5 T, 20 °C) para la quinta generación de agente de contraste dendrítico. Más tarde, E.W. Meijer et al. describieron una nueva serie de dendrímeros de PPI basados en Gd (III)DTPA que utilizan un enlazador diferente entre el complejo de Gd (III) y el dendrímero. (S. Langereis, Q.G. de Lussanet, M.H.P. van Genderen, W.H. Backes y E.W. Meijer, Macromolecules, 2004, 37, 3084). Además, para estos dendrímeros, se observó un aumento significativo en r_1, aunque no tan pronunciado como para los agentes de contraste MRI dendríticos descritos por Kobayashi et al, mientras que los pesos moleculares de los dos sistemas fueron comparables (quinta generación: r_1 = 20 $mM^{-1}.s^{-1}$, 1,5 T y 20 °C). Los investigadores en Schering AG (Berlín, Alemania) han desarrollado una clase basada en lisina de agentes de contraste dendríticos: Gadomer- 17® (r_1 = 15,2 $mM^{-1}.s^{-1}$, 1,5 T y 37 °C). (C. Fink, F. Kiessling, M. Bock, M.P. Lichy, B. Misselwitz, P. Peschke, N.E. Fusenig, R. Grobholz y S. Delorme, J. Magn Reson Imaging, 2003, 18, 59; G.M. Nicolle, E. Toth, H. Schmitt-Willich, B. Raduchel y A.E. Merbach, Chem Eur J., 2002, 8, 1040; G. Adam, J. Neuerburg, E. Spuntrup, A. Muhler, K. Scherer y R.W. Gunther, J. Magn Reson Imaging, 1994, 4, 462; G. Adam, J. Neuerburg, E. Spuntrup, A. Muhler, K. Scherer y RW Gunther, Magn Reson Med, 1994, 32, 622; H.C. Schwickert, T.P. Roberts, A. Muhler, M. Stiskal, F. Demsar y R.C. Brasch, Eur J. Radiol, 1995, 20, 144; H.C. Roberts, M. Saeed, T.P. Roberts, A . Muhler, D.M. Shames, J.S. Mann, M. Stiskal, F. Demsar y R.C. Brasch, J. Magn. Reson. Imaging, 1997, 7, 331). Estos agentes de contraste MRI macromoleculares se sintetizaron a partir de un núcleo central trimesoiltriamida, al que se introdujeron 18 residuos de aminoácido lisina.

En todos estos ejemplos, los dendrímeros han demostrado ser andamios sintéticos adecuados para la incorporación de múltiples restos de Gd(III), dando lugar a una sensibilidad mejorada para MRI en términos de r_1. Estas conclusiones se basan en mediciones en campos magnéticos actuales de 0,5-1,5 T. Sin embargo, a altos campos magnéticos de 10 T, los valores de r_1 de agentes de contraste dendríticos son sustancialmente más bajos, sin exceder los valores de r_1 de complejos a base de Gd (III) de bajo peso molecular. Los dendrímeros también mejoran la protección del gadolinio y su estabilidad y por lo tanto disminuyen los riesgos de toxicidad.

Los agentes de contraste MRI dendríticos son excelentes agentes de acumulación de sangre. Sin embargo, estas estructuras carecen de la especificidad requerida para MRI molecular (D. Artemov, J. Cell. Biochem., 2003, 90, 518). El desarrollo de agentes de contraste de MRI específicos de dianas, dirigidos a marcadores moleculares definidos, podría mejorar drásticamente el reconocimineto y la obtención de imágenes de una enfermedad específica, debido a la acumulación de agente de contraste MRI en la región de interés.

b) radiofármacos dendríticos

El uso de dendrímeros para la complejación de ^{99m}Tc apenas se ha descrito en la literatura hasta el momento: en 2001, F. Vögtle et al. (H. Stephan, H. Spies, B. Johannsen, K. Glöe, M. Gorka, F. Vögtle, Eur. J. Inorg. Chem., 2001, 2957-2963) informaron de propiedades hopedador-huésped de dendrímeros multi-corona de cuatro generaciones diferentes hacia pertecnetato de sodio. Los estudios de extracción realizados mostraron que las moléculas huésped se unen principalmente en el interior del esqueleto de poliamina. El mismo año, H. Mukhtar y coll. (M. Subbarayan, S.J. Shetty, T.S. Srivastava, O.P.D. Noronha, A.M. Samuel, H. Mukhtar, Biochem. y Biophys. Res. Commun., 2001, 281, 32-36) informaron de la síntesis y la distribución *in vivo* de porfirinas dendríticas marcadas con ^{99m}Tc solubles en agua para formación de imágenes y el diagnóstico de tumores: estos sistemas dendríticos se administraron a ratas Wistar portadoras de tumores de glioma C6 y estudios de imágenes escintiográficas mostraron su potencial para la detección de tumor en estadio temprano. Por último, A. Adronov, J.F. Valliant et al (M.C. Parrott, S.R. Benhabbour, C. Saab, J.A. Lemon, S. Parker, J.F. Valliant, A. Adronov, J. Am. Chem. Soc., 2009, 131, 2906- 2916)

publicaron muy recientemente un artículo que trata de la utilización de dendrímeros de poliéster de alta generación al complejo 99mTc y su uso para formación de imágenes SPECT: se encontró que las tres generaciones de dendrímero (G5 a G7) se eliminaron rápidamente y eficientemente del torrente sanguíneo a través de los riñones y se excretaron a través de la vejiga en 15 min después de la inyección. Los datos de SPECT-CT fueron corroborados con un estudio de biodistribución cuantitativa que implica la recolección ex vivo de varios órganos y la determinación de la radiactividad dentro de los órganos en función del tiempo.

La solicitud internacional WO2008/043911 se refiere a complejos dendríticos quelados y sus aplicaciones de formación de imágenes biomédicas; dichos complejos tienen la siguiente fórmula:

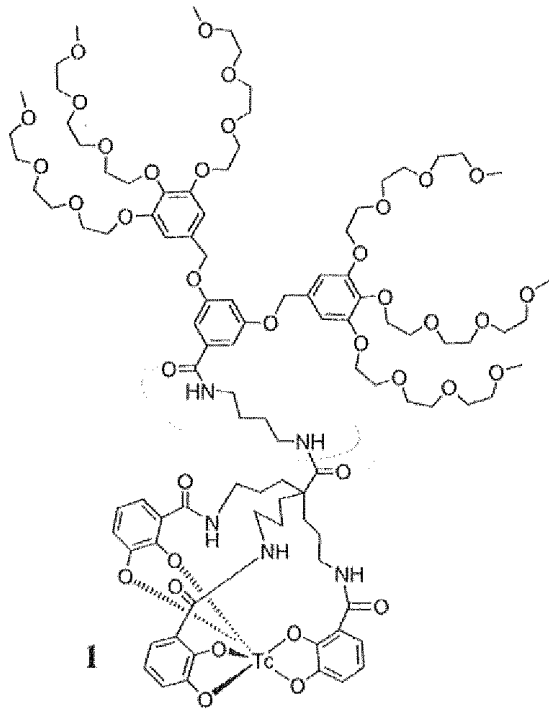
$$[[MC]\text{-}E_n\text{-}[D]mX_{1P1}\ X_{2p2}\ X_{3P3}\ X_{4P4}]_z^{-}\ zB^+$$

en la que:
- M es un catión magnético, en particular elegido entre Gd^{3+}, Mn^{2+} y $99mTc^{3+}$,
- C es un agente quelante del marcador magnético M,
- [MC] es un quelato del marcador magnético M,
- E es un espaciador,
- n = 0 o 1,
- [D] es una estructura dendrítica que tiene un núcleo que comprende al menos un grupo derivado de alcohol bencílico o una bencilamina, el ciclo bencilo de los cuales está sustituido en las posiciones 3, 4, 5 por dendritas compuestas de un patrón de polietilenglicol,
- m es un número entero igual a 1 o 2 o 4,
- Xi es un grupo que aumenta la lipofilia del complejo, tal como un grupo terc-butilo (tBu),
- p1 es un número entero de 0 a 12,
- X2 es un grupo que aumenta la especificidad del complejo para un órgano particular, preferiblemente para el cerebro, tal como L-dopamina,
- p2 es un número entero igual a 0, 1, 2, o 4,
- X3 es un grupo que tiene una actividad terapéutica, preferentemente para enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad Alzheimer, enfermedad de Parkinson y la esclerosis múltiple,
- p3 es un número entero igual a 0, 1, 2, o 4,
- X4 es un grupo CH3,
- p4 es un número entero de 0 a 12
- p1 + p2 + p3 + p4 = 3 cuando m = 1 o p1 + p2 + p3 + p4 = 6 cuando m = 2 o p1 + p2 + p3 + p4 = 12 cuando m = 4,
- contraión B, preferiblemente Na^+ o K^+,
- z es un número entero igual a 0, 1, 2, 3 o 4.

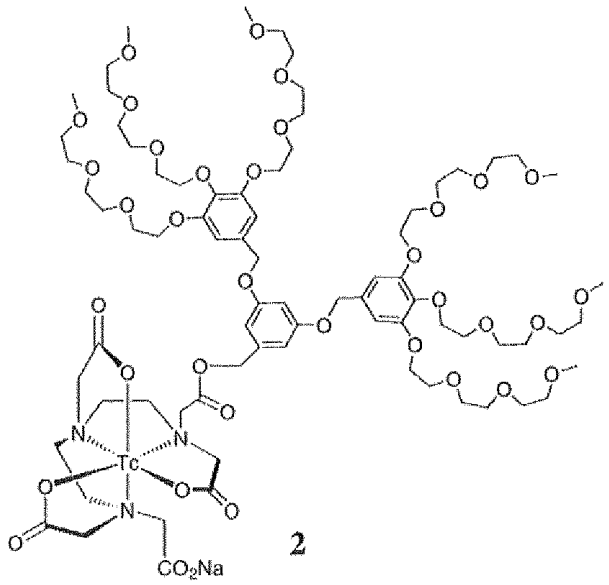
Sin embargo, la solicitud WO2008/043911 es muy confusa para un experto en la técnica porque:
- por un lado, los compuestos preferidos son complejos de la fórmula definida anteriormente en la que las dendritas de cada estructura [D] se funcionalizan con L-dopamina pero es bien conocido para un experto en la técnica que la dopamina no atraviesa la barrera hematoencefálica y, aún más, la memoria descriptiva describe una dendrita [D] que no está funcionalizada con L-dopamina, sino con 3,4-OH-fenilglicina.
- por otra parte, el ejemplo 2 describe la síntesis del compuesto de fórmula III-1 a III-3, pero dicha síntesis no se podría lograr, ya que el compuesto descrito antes de la reacción con un resto metálico, no podría conducir a todas dichas fórmulas.

De este modo, en vista de esta solicitud internacional, un experto en la técnica no conoce las funcionalidades exactas para ser introducidas en la fórmula general para proporcionar un agente formador de imágenes con especificidad de cerebro.

Un artículo publicado en New Journal of chemistry (2010), 34, 267-275, describió compuestos que tienen las siguientes estructuras 1 y 2:



1



2

como agentes de formación de imágenes. No se describe funcionalización del grupo patrón de oligoetilenglicol, pero se concluye que el injerto de L-dopamina a la periferia del dendrón permitirá la elaboración de radiofármacos dirigidos al cerebro.

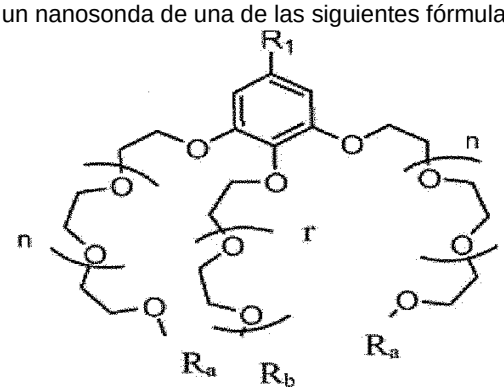
De este modo, la enseñanza de este documento es tan confuso como el de la solicitud internacional WO2008/043911.

Uno de los objetivos de la presente invención es proporcionar nanosondas dendríticas que comprenden varios elementos de reconocimiento idénticos o diferentes de una célula diana, en particular de células de cáncer que presentan importantes capacidades de reconocimiento y que permiten la vectorización del agente de diagnóstico o terapéutico a través de la complejación de muy diversos iones metálicos, siendo dichas nanosondas dendríticas susceptibles de atravesar la barrera hematoencefálica.

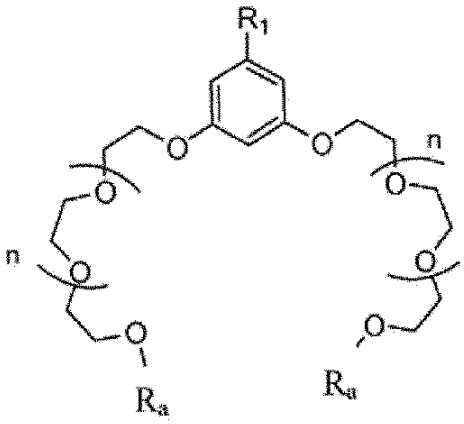
Otro objetivo de la invención es proporcionar nanosondas dendríticas como medicamento, adecuadas especialmente para la detección y/o tratamiento de una célula o tejido u órgano con cáncer.

Aún otro objetivo de la invención es proporcionar composiciones farmacéuticas o de diagnóstico que comprenden nanosondas dendríticas.

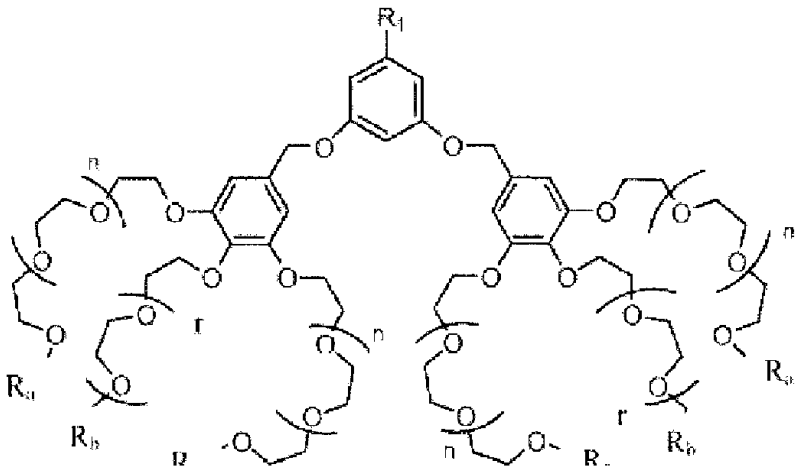
La presente invención se refiere a un nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



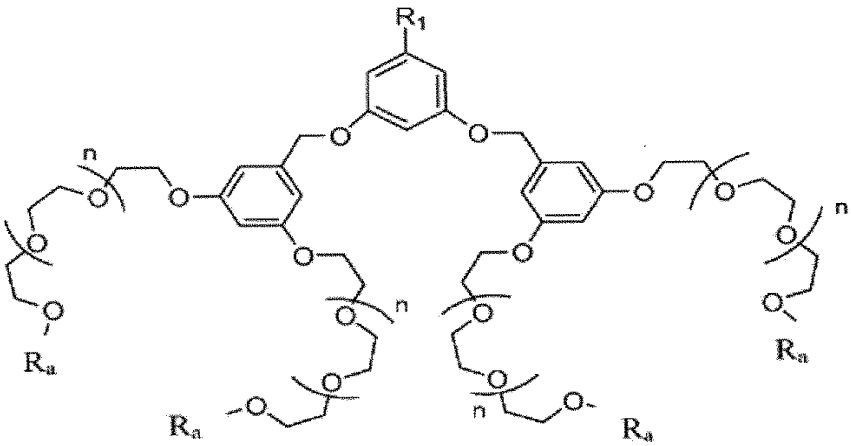
(Ia1)



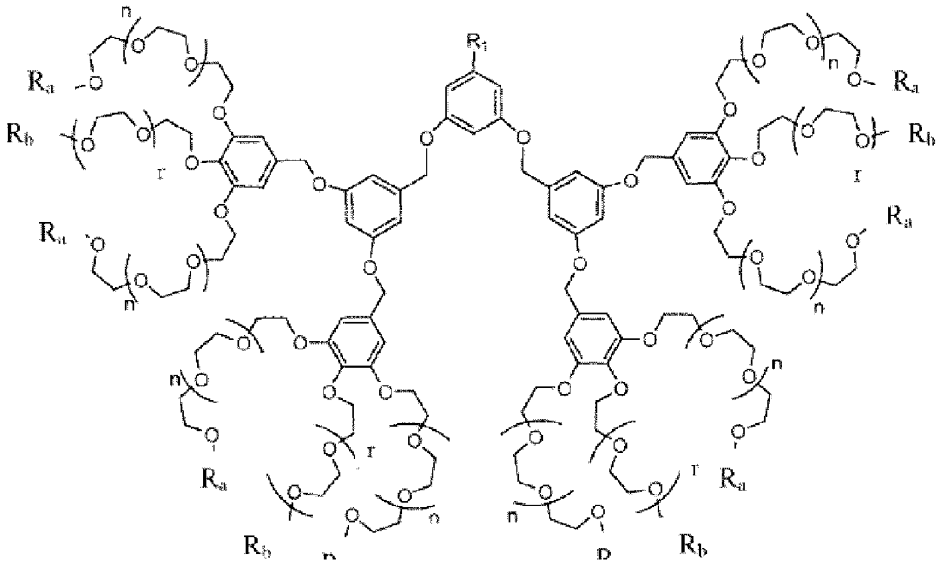
(Ia2)



(Ib1)

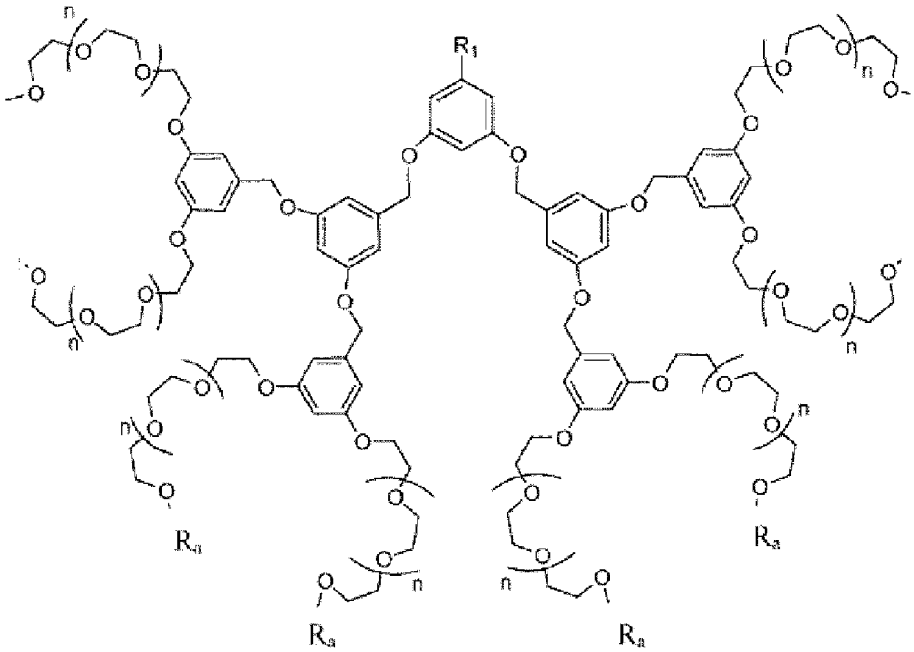


(Ib2)



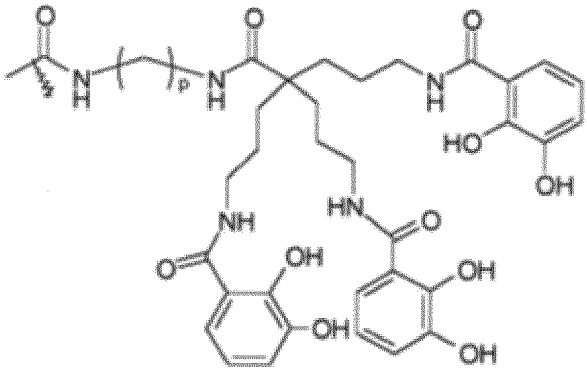
(Ic1)

o



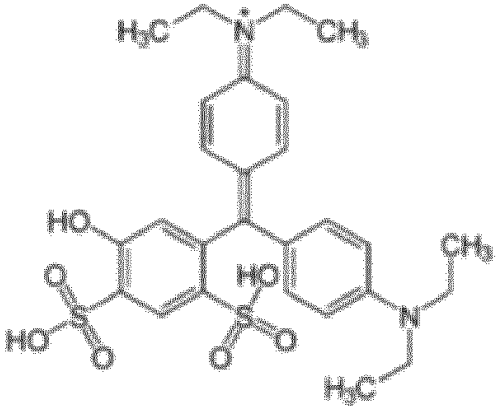
(Ic2)

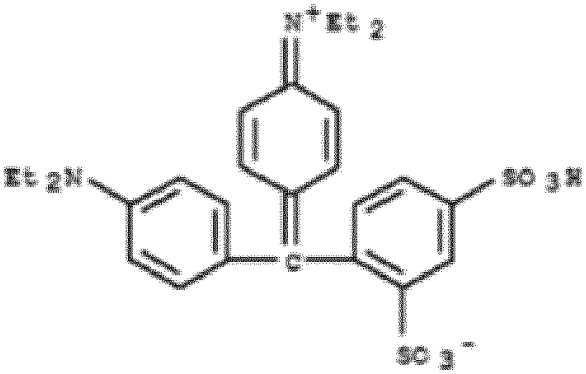
en las que:
· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



(II)

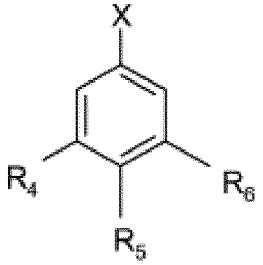
· p está comprendida entre 3 a 6,
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anti-Ca15-3 u hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH), o
- un colorante biocompatible de fórmulas:





y
· Ra es un alquilo lineal o ramificado.

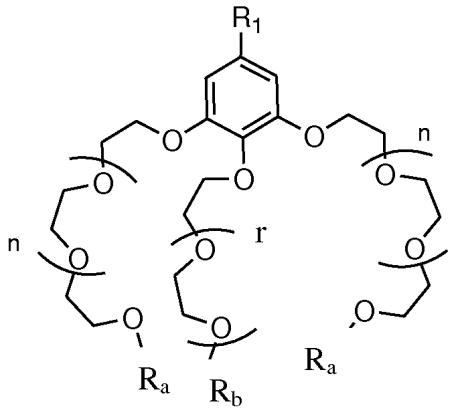
Se da a conocer también nanosondas dendríticas funcionalizadas de la siguiente fórmula (I):



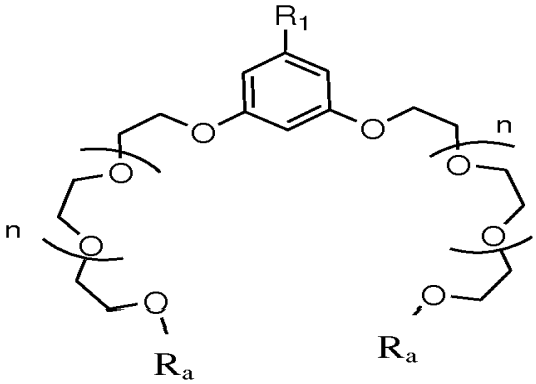
(I)

Según una realización preferida, es de la fórmula (Ia1),
en la que:
- para la generación 1, R_4 y R_6 representan independientemente entre sí una cadena compuesta de patrones de oligoetilenglicol, estando al menos una de dicha cadena de oligoetilenglicol funcionalizada en su extremidad por un grupo elegido entre una molécula biológica, un fluoróforo, o un colorante biocompatible y R_5 representa un átomo de hidrógeno o una cadena compuesta de patrones de oligoetilenglicol, estando dicho cadena opcionalmente funcionalizada en su extremidad por un grupo elegido entre una molécula biológica, un fluoróforo, o un colorante biocompatible,
- para generaciones superiores, R5 representa un átomo de hidrógeno y R_4 y R_6 representan una estructura dendrítica (D)m que comprende al menos un éter de alcohol bencílico, estando dicho bencilo sustituido en las posiciones 3, 4, 5, o en las posiciones 3 y 5 por cadenas compuestas de patrones de oligoetilenglicol, estando al menos una de dicha cadena de oligoetilenglicol funcionalizada en su extremidad por un grupo elegido entre una molécula biológica, un fluoróforo, o un colorante biocompatible y m = 1, 2 o 4.

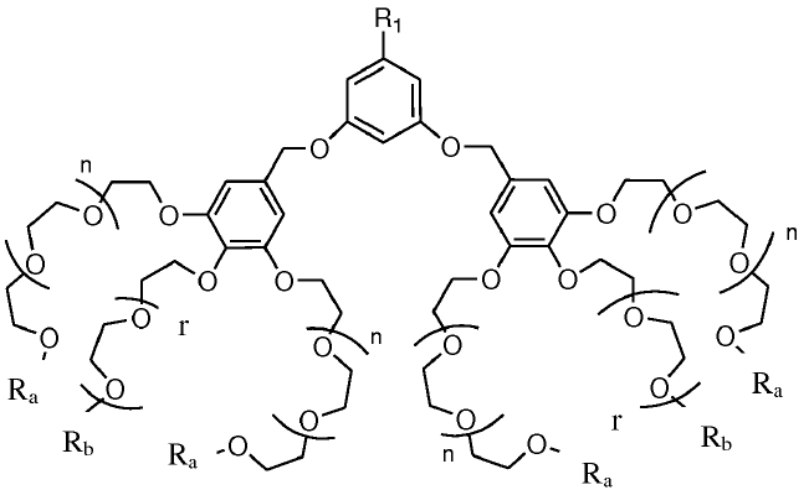
La presente invención se refiere a nanosondas dendríticas funcionalizadas de fórmula (I) seleccionadas entre:



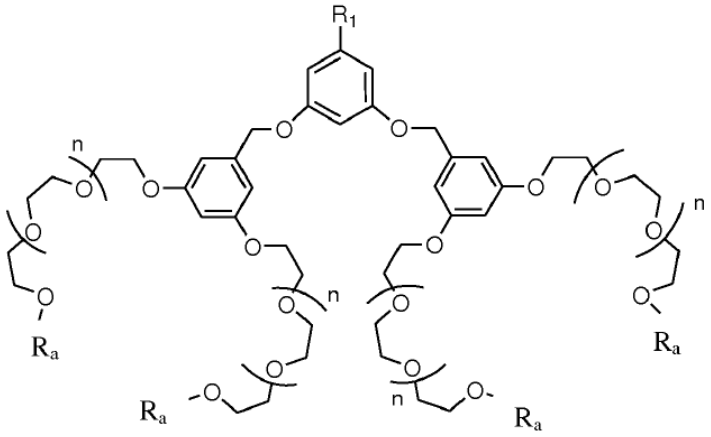
(Ia1)



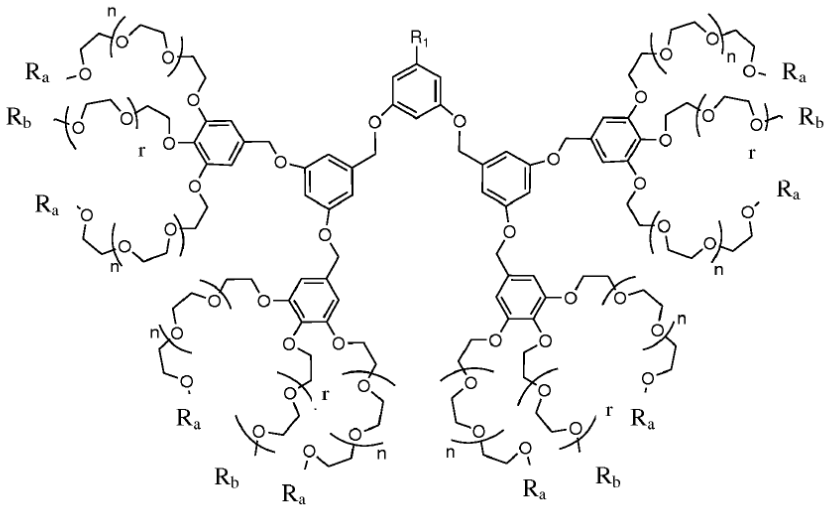
(Ia2)



(Ib1)



(Ib2)



(Ic1)

en las que Ra, Rb y Rc representan independientemente entre sí, un grupo alquilo lineal o ramificado, una molécula biológica, un fluoróforo o un colorante, n es un número entero comprendido de 1 a 10 y r es un número entero comprendido de 1 a 20.

De este modo, los compuestos tal como se describen comprenden una estructura (D)m, en la que D comprende al menos un éter de alcohol bencílico, estando dicho bencilo sustituido en las posiciones 3, 4 o 5, o en las posiciones 3 y 5 por cadenas compuestas de patrones de oligoetilenglicol, y estando al menos una de dichas cadenas funcionalizadas en su extremidad por una molécula biológica, un fluoróforo o un colorante y m = 1, 2 o 4.

Los inventores han encontrado que los compuestos de fórmula I podrían estar polifuncionalizados, es decir, que pueden contener varias moléculas biológicas diferentes y/o diferentes fluoróforos y/o diferentes colorantes para detectar células específicas, en particular células de cáncer y, en particular, en el cerebro. Dicha polifuncionalización conduce, por ejemplo, a un reconocimiento específico de las células cancerosas vis-à-vis de las células normales.

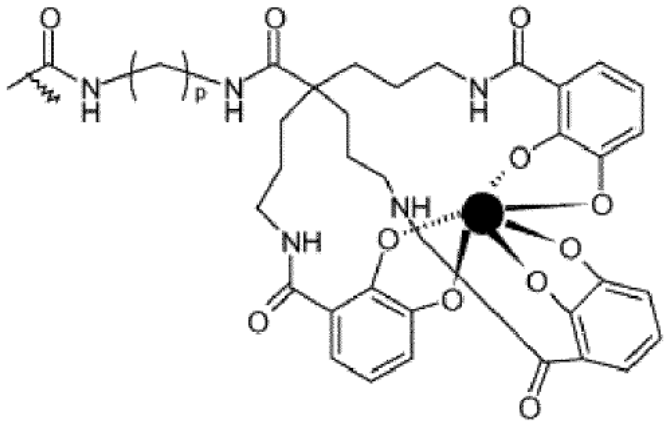
Otra ventaja de la invención es que el reconocimiento específico de una célula de cáncer puede conducir al suministro específico de un principio activo a dicha célula de cáncer si el compuesto de fórmula I contiene al menos un principio activo, tal como un fármaco anticanceroso.

En una realización ventajosa, los compuestos de fórmula (I) se funcionalizan por una o dos o tres moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 1, por una o dos o tres o cuatro o cinco moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 2, por una o dos o tres o cuatro o cinco o seis o siete moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 3, y así sucesivamente.

Una nanosonda que contiene varias moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes, idénticos o diferentes, es susceptible de reconocer específicamente una célula tumoral, ya que las células tumorales difieren de las células normales únicamente por una sobreexpresión de marcadores de células.

Si el reconocimiento es específico, permite tratar específicamente la célula tumoral y no la célula normal y, por lo tanto, disminuir la toxicidad de la terapia y/o aumentar las dosis radiactivas y así la eficacia del tratamiento.

La presente descripción también se refiere a nanosondas de la fórmula I, definida anteriormente, caracterizada porque el grupo de fórmula (II) se compleja con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de fórmula (III):

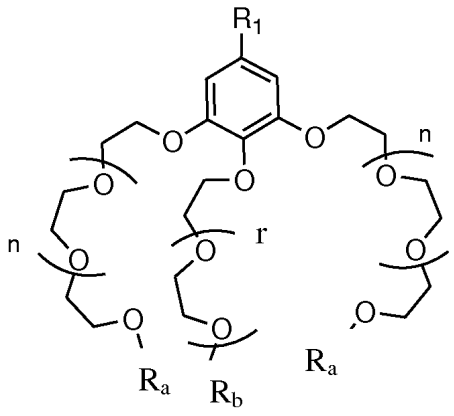


(III)

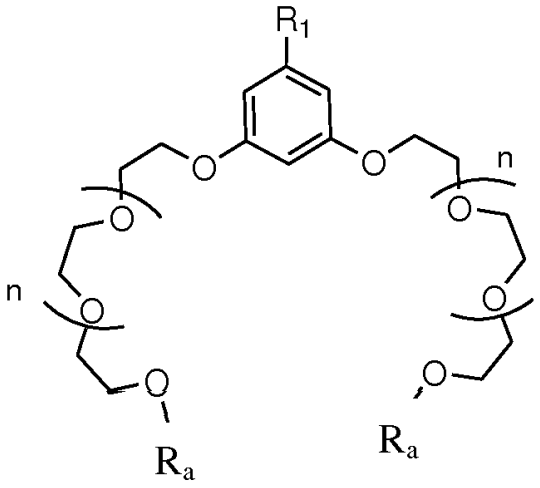
en la que

- representa:
  - un ion metálico, tal como gadolinio o manganeso, o
  - un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones, tales como ^{99m}tecnecio, ^{64}cobre, $^{(67,68)}$galio, ^{124}yodo, o
  - un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio.

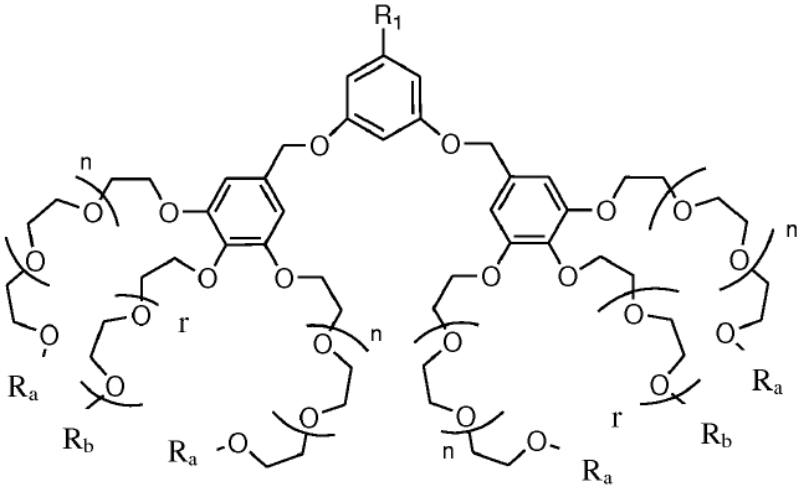
De acuerdo con un objetivo adicional, la presente invención también se refiere a una nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



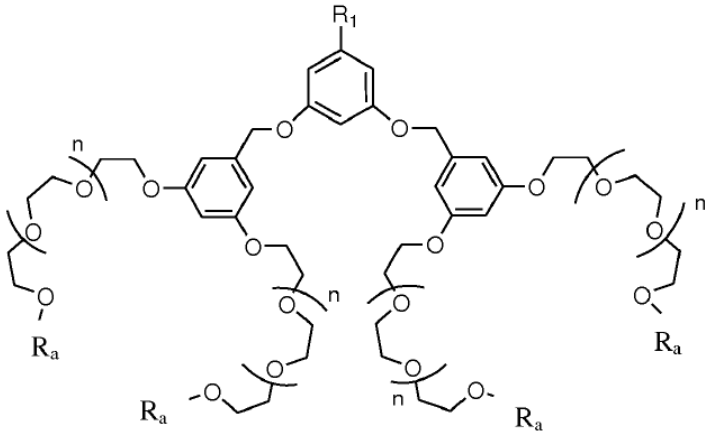
(Ia1)



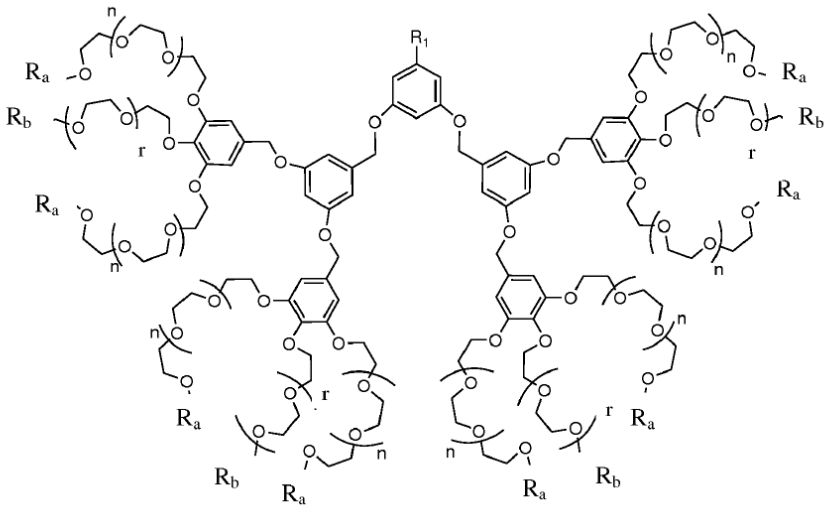
(Ia2)



(Ib1)



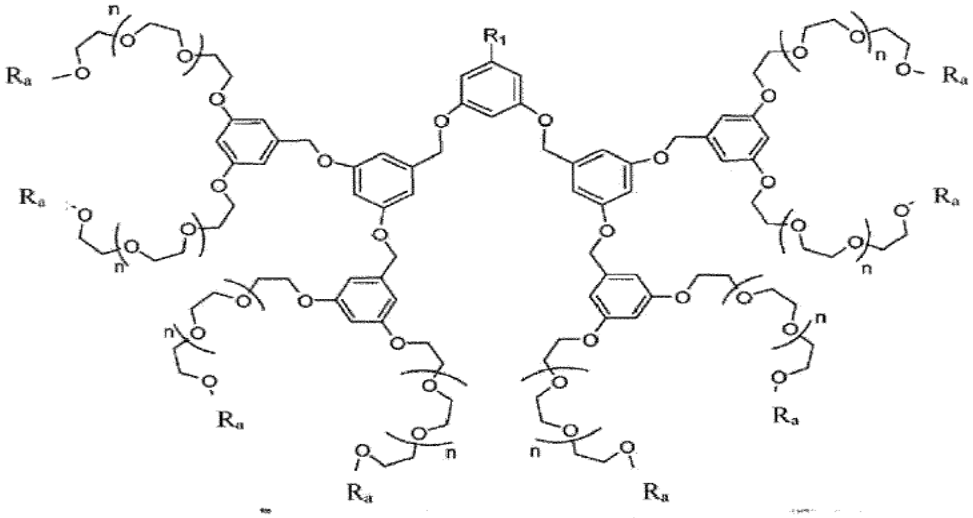
(Ib2)



O

(Ic1)

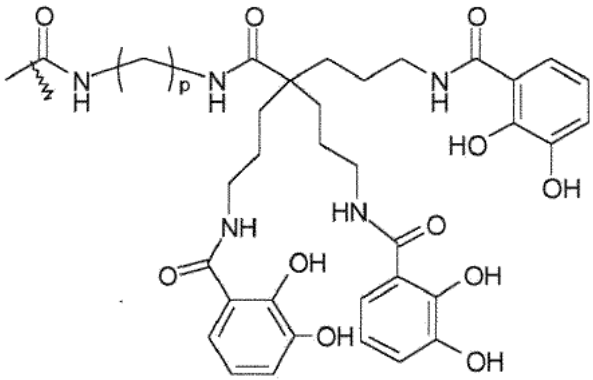
o



(Ic2)

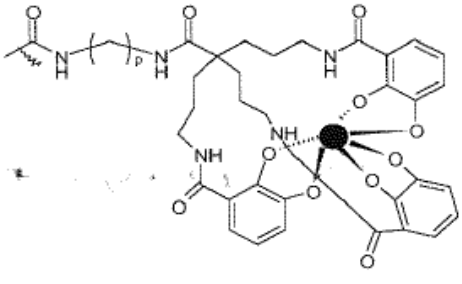
en las que:

· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



(II)

que está complejado con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de la siguiente fórmula (III):



(III)

· • representa: - un ion metálico, tal como gadolinio o manganeso,

- un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones, tales como ^{99m}tecnecio, ^{64}cobre, $^{(67,68)}$galio, ^{124}yodo, o

- un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio

· p está comprendida entre 3 a 6,

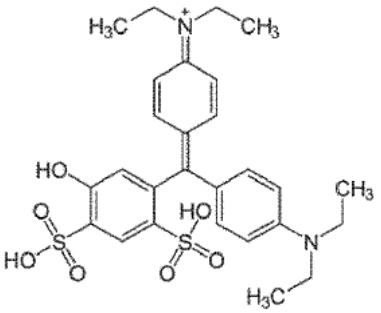
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,

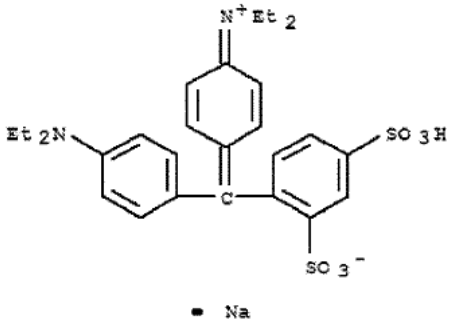
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y

· Rb representa un grupo elegido entre:

- anti-Ca15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),

- un colorante biocompatible de fórmulas





- Ra es un alquilo lineal o ramificado,

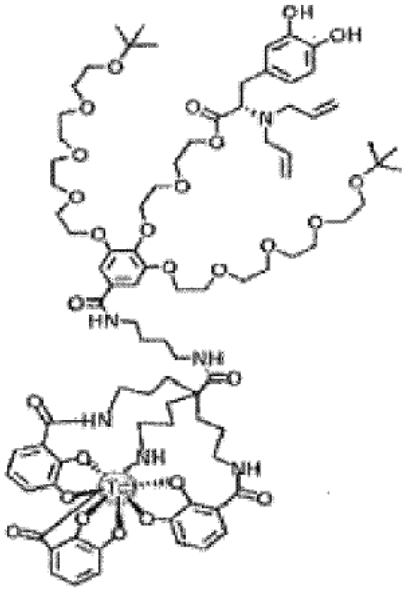
El ión metálico se utiliza para MRI u obtención de imágenes por resonancia magnética mejorada con manganeso (MEMRI) como herramienta de diagnóstico.

Un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones se utilizan en medicina nuclear, en particular la gamma escintigrafía (GSc) y la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) para los emisores gamma, o tomografía por emisión de positrones (TEP) para emisores β^+ como herramienta de diagnóstico.

Un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta se utiliza para curieterapia. Otra ventaja de la invención es el acoplamiento del reconocimiento de células específicas por su parte funcionalizada de polietilenglicol, ya sea con un procedimiento de formación de imágenes para la localización y/o el diagnóstico de la patología, o con un procedimiento de curado, tal como curieterapia, que conduce a la radioterapia específica de células cancerígenas.

La presente descripción también se refiere a nanosondas que tienen un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un grupo de fórmula (III) definida anteriormente, caracterizada porque cuando el ion metálico es ^{99m}tecnecio, R_4 y R_6 representan una cadena A en la que n = 1 y R_a representa un grupo terc-butilo, R_5 representa una cadena A en la que r = 1 y R_b representa un N,N-dialil-L-DOPA unido por su grupo carboxílico, entonces la nanosonda comprende al menos otra cadena de oligoetilenglicol funcionalizada en su extremidad por un grupo elegido entre una molécula biológica, un fluoróforo, o un colorante biocompatible.

La nanosonda descrita a continuación está, por tanto, excluida preferiblemente del alcance de esta realización de la invención:



La presente descripción también se refiere a nanosondas de fórmula I, que tienen un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un grupo de fórmula (III), definido anteriormente, caracterizadas porque su diámetro promedio está comprendido de 2 a 60 nm, preferiblemente de 15 a 50 nm, más preferiblemente de 20 a 35 nm.

Otra ventaja de la invención es que una vez administradas por una ruta intravenosa, las nanosondas presentan una diferente difusión de estructuras puramente moleculares debido a su pequeño tamaño, Una vez administradas por una ruta intradérmica, las nanosondas serán drenadas por una vía linfática hasta el primer filtro, es decir, un nodo que las nanosondas serán susceptibles de cruzar debido a su pequeño tamaño, a continuación se drenarán las nanosondas en el sistema linfático hasta el canal torácico.

Para las nanosondas que proporcionan contraste de MRI de acuerdo con la invención, la capacidad de relajación, que es un indicador de la eficacia como agente de formación de imágenes de un compuesto, es igual o mayor que la de la técnica anterior.

La presente descripción también se refiere a una de las nanosondas definidas anteriormente, caracterizadas porque la fórmula (I) se elige entre las siguientes fórmulas:
De este modo, los compuestos de acuerdo con la invención comprenden una estructura (D)m, en la que D comprende al menos un éter de alcohol bencílico, estando dicho bencilo sustituido en las posiciones 3, 4 o 5, o en las posiciones 3 y 5 por cadenas compuestas de patrones de oligoetilenglicol, y estando al menos una de dichas cadenas funcionalizadas en su extremidad por una molécula biológica, un fluoróforo o un colorante y m = 1, 2 o 4.

Los inventores han encontrado que los compuestos de fórmula I podrían estar polifuncionalizados, es decir, que pueden contener varias moléculas biológicas diferentes y/o diferentes fluoróforos y/o diferentes colorantes para detectar células específicas, en particular células de cáncer y, en particular, en el cerebro. Dicha polifuncionalización conduce, por ejemplo, a un reconocimiento específico de las células cancerosas vis-à-vis de las células normales.

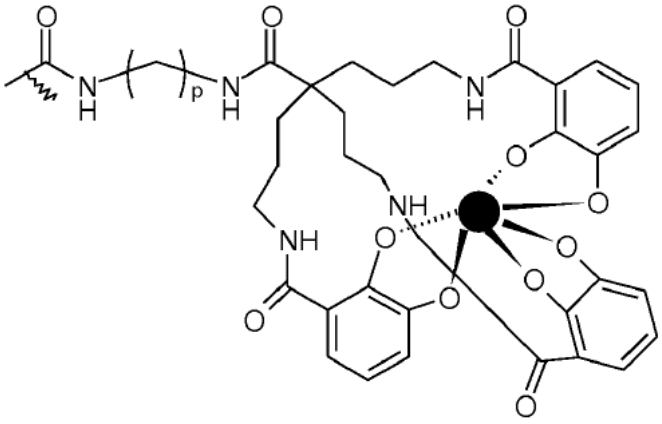
Otra ventaja de la invención es que el reconocimiento específico de una célula de cáncer puede conducir al suministro específico de un principio activo a dicha célula de cáncer si el compuesto de fórmula I contiene al menos un principio activo, tal como un fármaco anticanceroso.

En una realización ventajosa, los compuestos de fórmula (I) se funcionalizan por una o dos o tres moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 1, por una o dos o tres o cuatro o cinco moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 2, por una o dos o tres o cuatro o cinco o seis o siete moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes para la generación 3, y así sucesivamente.

Una nanosonda que contiene varias moléculas biológicas y/o fluoróforos y/o colorantes, idénticos o diferentes, es susceptible de reconocer específicamente una célula tumoral, ya que las células tumorales difieren de las células normales únicamente por una sobreexpresión de marcadores de células.

Si el reconocimiento es específico, permite tratar específicamente la célula tumoral y no la célula normal y, por lo tanto, disminuir la toxicidad de la terapia y/o aumentar las dosis radiactivas y así la eficacia del tratamiento.

En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas de la fórmula I, definida anteriormente, caracterizada porque el grupo de fórmula (II) se compleja con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de fórmula (III):



(III)

en la que

· • representa:

- un ion metálico, tal como gadolinio o manganeso, o
- un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones, tales como ^{99m}tecnecio, ^{64}cobre, $^{(67,68)}$galio, ^{124}yodo, o
- un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio.

El ión metálico se utiliza para MRI u obtención de imágenes por resonancia magnética mejorada con manganeso (MEMRI) como herramienta de diagnóstico.

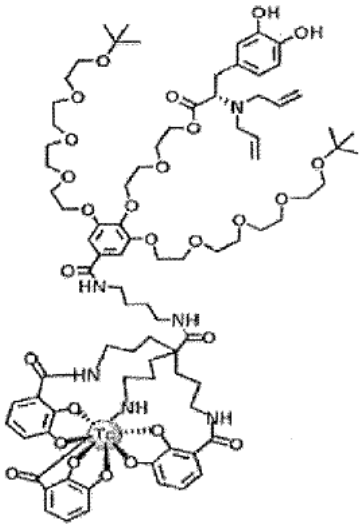
Un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones se utilizan en medicina nuclear, en particular la gamma escintigrafía (GSc) y la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) para los emisores gamma, o tomografía por emisión de positrones (TEP) para emisores β^+ como herramienta de diagnóstico.

Un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta se utiliza para curieterapia.

Otra ventaja de la invención es el acoplamiento del reconocimiento de células específicas por su parte funcionalizada de polietilenglicol, ya sea con un procedimiento de formación de imágenes para la localización y/o el diagnóstico de la patología, o con un procedimientos de curado, tal como curieterapia, que conduce a la radioterapia específica de células cancerígenas.

En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas que tienen un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un grupo de fórmula (III) definida anteriormente, caracterizada porque cuando el ion metálico es ^{99m}tecnecio, R_4 y R_6 representan una cadena A en la que n = 1 y R_a representa un grupo terc-butilo, R_5 representa una cadena A en la que r = 1 y R_b representa un N,N-dialil-L-DOPA unido por su grupo carboxílico, entonces la nanosonda comprende al menos otra cadena de oligoetilenglicol funcionalizada en su extremidad por un grupo elegido entre una molécula biológica, un fluoróforo, o un colorante biocompatible.

La nanosonda descrita a continuación está, por tanto, excluida del alcance de la invención:



En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas de fórmula I, que tienen un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un grupo de fórmula (III), definido anteriormente, caracterizadas porque su diámetro promedio está comprendido de 2 a 60 nm, preferiblemente de 15 a 50 nm, más preferiblemente de 20 a 35 nm.

Otra ventaja de la invención es que una vez administradas por una ruta intravenosa, las nanosondas presentan una diferente difusión de estructuras puramente moleculares debido a su pequeño tamaño, Una vez administradas por una ruta intradérmica, las nanosondas serán drenadas por una vía linfática hasta el primer filtro, es decir, un nodo que las nanosondas serán susceptibles de cruzar debido a su pequeño tamaño y a continuación se drenarán las nanosondas en el sistema linfático hasta el canal torácico.

Para las nanosondas que proporcionan contraste de MRI de acuerdo con la invención, la capacidad de relajación, que es un indicador de la eficacia como agente de formación de imágenes de un compuesto, es igual o mayor que la de la técnica anterior.

Una de las ventajas de la invención es proporcionar nanosondas que tienen, en particular, L-DOPA, susceptible de cruzar la barrera hematoencefálica y de reconocer receptores específicos de la célula de cáncer, en particular, tumores neuroendocrinos o neuroblastomas.

Una de las ventajas de la invención es proporcionar nanosondas que contienen, en particular, N,N-dialil-L-DOPA, los grupos de dialilo del cual se eliminan *in vivo*, lo que conduce a nanosondas que tienen, en particular, L-DOPA.

Se dan a conocer nanosondas que tienen, en particular, L-DOPA, susceptibles de cruzar la barrera hematoencefálica y de reconocer receptores específicos de la célula de cáncer, en particular, tumores neuroendocrinos o neuroblastomas.

Se dan a conocer nanosondas que contienen, en particular, N, N-dialil-L-DOPA, los grupos de dialilo del cual se eliminan *in vivo*, lo que conduce a nanosondas que tienen, en particular, L-DOPA.

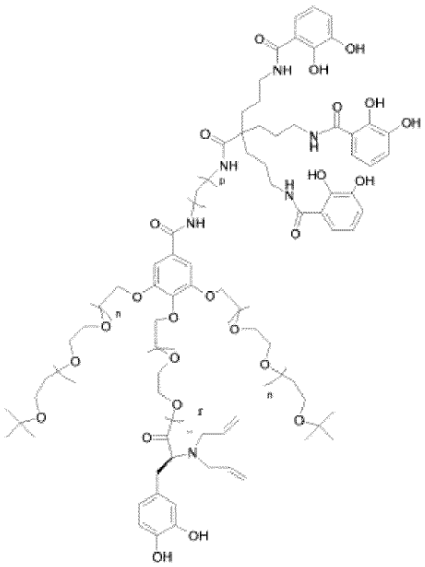
El anticuerpo anti-Ca15-3 reconoce las células de cáncer de mama.

El anticuerpo Ipilimumab humano es un anticuerpo contra el receptor CTLA-4 de Bristol Myers Squibb para el tratamiento de melanoma.

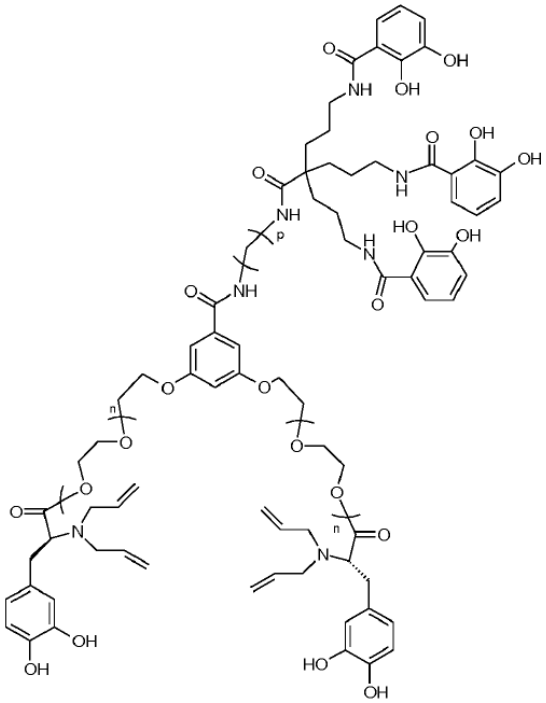
Los amonios cuaternarios reconocen proglicanos y permiten la detección y el tratamiento de tumores de cartílago.

Por lo tanto, la invención permite mejorar el diagnóstico y la estadificación del tumor, especialmente la estadificación del nódulo (por detección externa con formación de imágenes del estado de tumor de nódulos centinela) y propone una terapia dirigida.

La presente descripción también se refiere a una de las nanosondas definidas anteriormente, caracterizadas porque la fórmula (I) se elige entre las siguientes fórmulas:

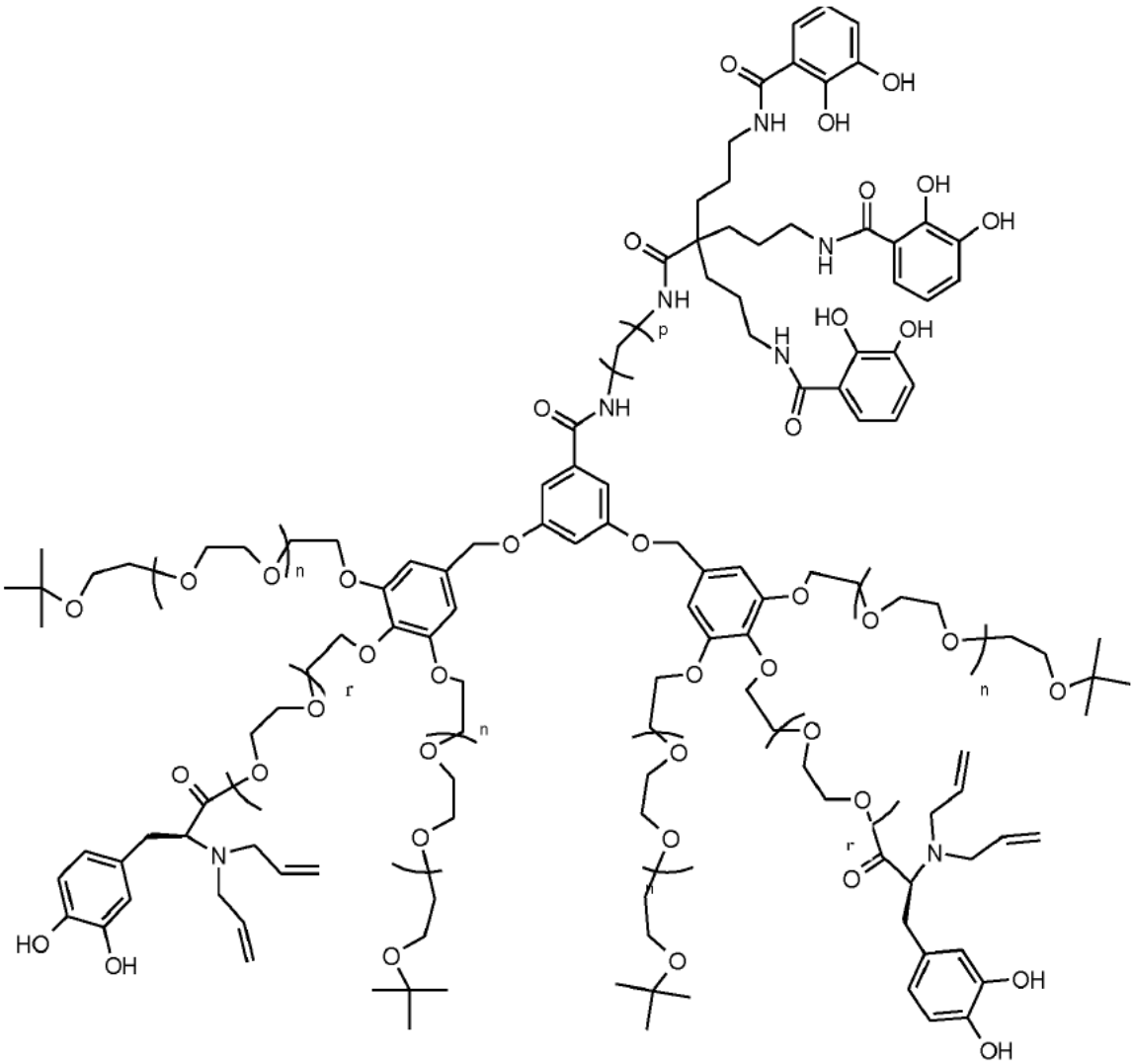


(Ia1a)



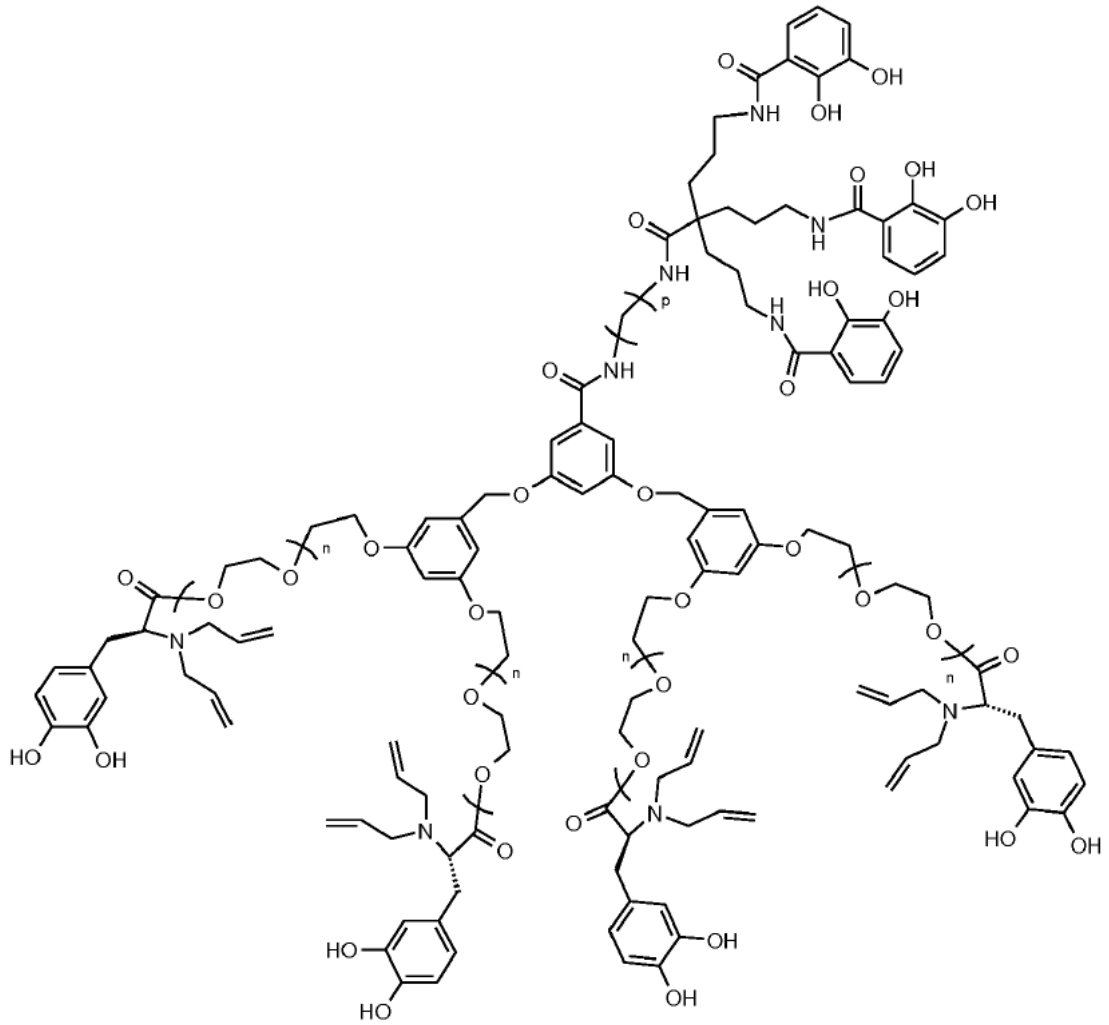
(Ia2a)

o



(Ib1a)

o



(Ib2a)

En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas elegidas entre (Ia1a), (Ia2a), (Ib1a), o (Ib2a) que comprende además un ^{99m}tecnecio complejado.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a nanosondas de fórmula (I), en la que X representa un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un compuesto de fórmula (III),
para su uso como un medicamento, adecuado especialmente para la detección y/o tratamiento de una célula o tejido u órgano con cáncer.

En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas de fórmula (I), en la que X representa un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un compuesto de fórmula (III),
para su uso como un medicamento, especialmente adecuado para detectar y/o tratar una célula o tejido u órgano con cáncer, en el que dicho cáncer es cáncer de cerebro.

En una realización ventajosa, la presente invención se refiere a nanosondas de fórmula (I), en la que X representa un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un compuesto de fórmula (III), para su uso como un medicamento, especialmente adecuado para detectar y/o tratar una célula o tejido u órgano con cáncer, en el que dicho cáncer es cáncer de mama y el órgano es el nódulo centinela.

Otra ventaja de la invención es proporcionar nanosondas que contienen, en particular, varios efectores biológicos, en particular, anticuerpos antitumorales, susceptibles de reconocer un nódulo que comprende células tumorales, y/o un fluoróforo y/o un colorante. Por lo tanto, las nanosondas permiten identificar mediante una ruta externa por la formación de imágenes de nódulos metastásicos, en particular, el nódulo centinela antes de la cirugía y durante la cirugía.

El conocimiento antes de la cirugía del estado del tumor de nódulos centinela permite adaptar el gesto quirúrgico para evitar un segundo tiempo de retardo de la cirugía o por el contrario la utilidad de una disección de los nódulos.

De este modo, la formación de imágenes negativas antes de la cirugía evita un muestreo de nódulos que es inútil y la formación de una imagen positiva permite llevar a cabo la disección de los nódulos linfáticos durante la cirugía del tumor primario.

La tendencia a formar complejos muy simplemente de un elemento radioactivo en las nanopartículas permite realizar dicha complejación en un laboratorio de radiofármacos de un servicio radionuclear.

Por lo tanto, con las nanopartículas de la invención, es posible llevar a cabo radioterapia metabólica dirigida o curieterapia con una alta especificidad y las ventajas potenciales de una nanopartícula (buena difusión, efecto de concentración más alto que con un radiofármaco molecular). Por ejemplo, la radioterapia metabólica de tumores hepáticos se puede obtener mediante inyección selectiva en la arteria hepática de nanopartículas complejadas con radioelementos tóxicos (emisores de radiación negativa alfa o beta).

De acuerdo con un objetivo, la presente invención se refiere a una nanosonda, tal como se define anteriormente, complejado con un grupo de fórmula (III), tal como se define anteriormente, para su uso como medicamento, para su uso para el tratamiento de una célula o tejido u órgano con cáncer, o para su uso para la detección *in vivo* de células o tejido u órgano con cáncer.

La presente descripción también se refiere a composiciones farmacéuticas o de diagnóstico que comprenden nanosondas de fórmula (I), en la que X representa un grupo de fórmula (II) complejado con un ligando para dar un compuesto de fórmula (III).

En una realización ventajosa, la composición farmacéutica es susceptible de ser administrada i.v.

En una realización ventajosa, la composición farmacéutica es susceptible de ser administrado p.o.

La presente invención será ilustrada por las figuras 1A-E a 9 y los ejemplos 1 y 2 a continuación.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las **figuras 1A a 1E** presentan la formación de imágenes escintigráficas (tomografía computarizada por emisión de fotón único SPECT) obtenidas con la nanosonda (Ia1a) después de la inyección intravenosa en ratas a una dosis de 20 MBq de 99mTc-Dopadendron (Ia1a).

No se observó efectos secundarios adversos después de la inyección intravenosa (IV) en ratas y ratones.

La adquisición dinámica adquirida plana obtenida justo después de la inyección intravenosa en la vena safena derecha:
Figura A: imagen de 10 s a 1 min después de la inyección;
Figuras B y C – imágenes de 30 s respectivamente 10 y 20 minutos después de la inyección de 20 MBq de 99mTc-Dopadendron
(K = actividad del riñón, SI = sitio de inyección, C = actividad cardíaca, L = actividad del hígado);
Figuras D y E: imágenes SPECT-CT adquiridas de 30 min a 1H30 después de la inyección
(Figura D = proyección posterior, figura E = proyección posterior oblicua izquierda).
Figuras 1A a 1E muestran una dispersión vascular rápida, una captación hepática baja, una actividad renal rápida e intensa. La actividad vascular persistió 20 minutos después de la inyección IV. SPECT reveló una absorción digestiva, tal como se observa en humanos después de la inyección de 18F-Dopa. Una hora después de la inyección, la actividad del hígado y vascular ha desaparecido, y sólo la absorción renal fue intensa. No se observó captación del sistema reticuloendotelial (RES).
La **Figura 2** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **3** protegido con alilo.
La **Figura 3** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **4** protegido con alilo.
La **Figura 4** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **6**.
La **Figura 5** presenta el RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **6**.
La **Figura 6** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **9**.
La **Figura 7** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **11**.
La **Figura 8** presenta el RMN de ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **12**.
La **Figura 9** presenta el RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) del compuesto **12**.

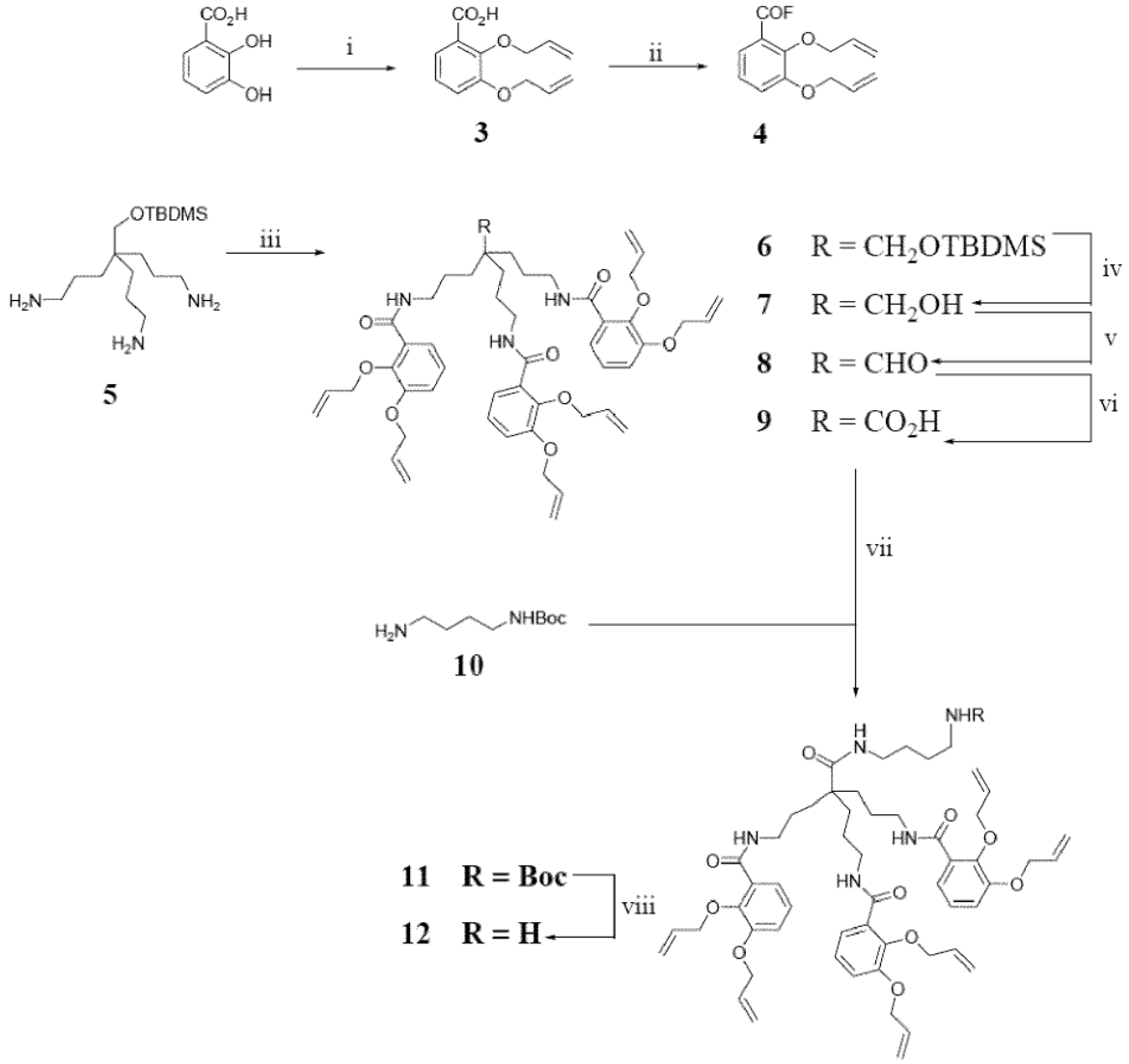
EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis de nanosondas Ia1a en la que n = 2 complejado con ^{99m}Tc

Ejemplo 1.1: Síntesis de catecol

El catecol se ha sintetizado según el esquema I:

ESQUEMA 1



Materiales y síntesis:

Los reactivos y disolventes se adquirieron de calidad de reactivo y se usaron sin purificación adicional.
Los compuestos **5**[1], **10**[2] y **13**[3] se prepararon de acuerdo con la bibliografía (respectivamente: [1]: D. Imbert, F. Thomas, P. Bare !, G. Serratrice, D. Gaude, J.-L. Pierre, J.-P Laulhère, New J. Chem. 2000, 24, 281-288; [2]: M. Ou, X.L. Wang, R. Xu, C.W. Chang, D.A. Bull, S.W. Kim, Bioconj Chem, 2008, 19,626-633; [3]: A Bertin, 1. Steibel, A.-I. Michou-Gallani, J.-L. Gallani, D. Felder-Flesch, Bioconj Chem. 20, 760-767).

Todas las reacciones se realizaron en material de vidrio estándar bajo Ar y los disolventes se purificaron, si era necesario, mediante procedimientos convencionales antes del uso. La evaporación y la concentración se realizaron a presión de aspirador de agua y secado en vacío a 10^{-2} Torr (1,33 Pa). La cromatografía en columna: gel de sílice 60 (malla 230-400, 0,040-0,063 mm) de E. Merck. Los espectros de RMN: Bruker AM-300 (300 MHz); picos de disolvente como referencia; δ en ppm.

Compuesto 3:

Se calentó una solución de ácido 2,3-dihidroxibenzoico (10,00 g, 64,89 mmol) y K_2CO_3 (33,20 g, 240,07 mmol) en acetonitrilo (140 ml) a 80 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente y se añadió gota a gota una solución de bromuro de alilo (20,80 ml, 240,07 mmol) en acetonitrilo (80 ml). La mezcla resultante se calentó 17 horas a 70 °C y se filtró. El filtrado se evaporó a sequedad y se diluyó en EtOH (100 ml). Después de añadir una solución de NaOH (7,40 g, 184,92 mmol) en 12 ml de agua, la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 23 horas y se evaporó a sequedad. El residuo así obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml) y se añadieron 150 ml de HCl 1N. La subfase acuosa se extrajo dos veces usando CH_2Cl_2 (200 ml) y las fases orgánicas se juntaron, se lavaron dos veces con agua (200 ml), se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se evaporaron. Después de recristalización en una mezcla hexano/éter (50 ml/50 ml), el compuesto **3** (9,88 g, 42,18 mmol) se obtuvo con un rendimiento del 65%. Polvo blanco. Pf 138 °C. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 4,62 (d, ^{3}J = 5 Hz, 2H), 4,82 (d, ^{3}J = 6 Hz, 2H), 5,32-5,50 (m, 4H), 6,01-6,15 (m, 2H), 7,16 (m, 2H), 7,75 (dd, ^{3}J = 6 Hz, IH); $C_{13}H_{14}O_4$: calc. C 66,66, H 6,02, O 27,32; encontrado C 66,58, H 6,02, O 27,40.

Compuesto 4:

Se añadieron 0,51 ml (5,977 mmol) de trifluorotriazina a una solución agitada de **3** (2,00 g, 8,54 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (100 ml) enfriada a 0 °C. La mezcla se agitó 10 min antes de la adición de una solución en CH_2Cl_2 anhidro (30 ml) de piridina (0,76 ml, 9,39 mmol). Después de 17 h a temperatura ambiente, la mezcla se lavó con agua fría (2 x 75 ml) y agua saturada con NaCl (75 ml). A continuación, la subfase orgánica se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporó. El compuesto bruto **4** se obtuvo como un aceite marrón (1,82 g, 7,69 mmol) con un rendimiento del 90% y se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 4,60-4,66 (m, 4H), 5,23-5,48 (m, 4H), 6,00-6,19 (m, 2H), 7,09-7,22 (m, 2H), 7,49 (d, ^{3}J = 9 Hz, IR); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 70,03, 75,02, 117,95, 118,42, 120,32, 123,99, 124,10, 132,46, 133,55, 150,50, 152,76, 157,46.

Compuesto 6:

El compuesto **4** (4,96 g, 21,00 mmol) en CH_2Cl_2 recién destilado (100 ml) se añadió gota a gota durante 90 min a una solución agitada de N, N-diisopropiletilamina (4,52 ml, 27,36 mmol) y 5 (2,11 g, 6,36 mmol) en CH_2Cl_2 recién destilado (100 ml) mantenida en atmósfera de nitrógeno. Después de 60 h de agitación a temperatura ambiente, la mezcla en bruto se filtró, se lavó con agua, se secó (MgSO4), se filtró y después se evaporó a sequedad. La cromatografía en columna (SiO_2, CH_2Cl_2/1% MeOH) permitió obtener el compuesto **6** (6,05 g, 6,17 mmol) con un rendimiento del 97%. Aceite amarillo pálido. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): -0,01 (s, 6H), 0,82 (s, 9H), 1,25-1,48 (m, 12H), 3,29 (s, 2H), 3,34-3,38 (m, 6H), 4,57 (d, 12H), 5,24-5,46 (m, 12H), 6,00-6,12 (m, 6H), 6,99 (d, 3J = 13 Hz, 3H), 7,03 (d, ^{3}J = 9,7 Hz, 3H), 7,68 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 8,02 (t, 3H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 5,67, 18,06, 23,35, 25,76, 31,48, 39,38, 40,54, 66,51, 69,77, 74,59, 116,75, 117,67, 118,76, 123,17, 124,23, 127,50, 132,80, 133,19, 146,24, 151,48, 164,98; $C_{56}H_{77}N_3O_{10}Si$. 1/2 H_2O: calc. C 68,09, H 7,90, N 4,26; encontrado C 68,23, H 7,83, N 4,12.

Compuesto 7:

El compuesto **6** (735 mg, 0,75 mmol) se disolvió en 10 ml de THF a 0 °C. Se añadió lentamente fluoruro de tetra-n-butilamonio (2,21 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. La solución se evaporó y el residuo así obtenido se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporó. La cromatografía en columna (SiO_2, CH_2Cl_2/3% MeOH) proporcionó **7** (610 mg, 0,71 mmol) con un rendimiento del 94%. Aceite de color amarillo. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1: 1,27-1,63 (m, 12H), 3,39 (m, 8H), 4,58 (d, 12H), 5,26-5,46 (m, 12H), 6,00-6,12 (m, 6H), 7,02 (d, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,12 (t, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,68 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 8,08 (t, ^{3}J = 5 Hz, 3H), ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 23,27, 31,14, 39,41, 40,43, 66,39, 69,76, 74,63, 116,78, 117,73, 118,87, 123,13, 124,37, 127,39, 132,78, 133,21, 146,24, 151,48, 158,25, 165,18; $C_{50}H_{63}N_3O_{10}$: calc. C 69,34, H 7,33; encontrado C 69,04, H 7,78.

Compuesto 8:

Se añadió una solución de sulfóxido de dimetilo anhidro (144 ml, 2,03 mmol) en 300 µl de diclorometano anhidro a una solución de cloruro de oxalilo (89 µl, 1,02 mmol) en diclorometano recién destilado (1 ml) mantenida a -60 °C. La mezcla se agitó durante 15 min y después se añadió una solución de **7** (0,80 g, 0,92 mmol) en diclorometano anhidro (3 ml) en un período de 10 min; la solución obtenida se agitó durante 1 h adicional y se dejó que la mezcla de reacción se calentara hasta -30 °C. Se añadió N, N-diisopropiletilamina (10 eq.) y se dejó que la mezcla de reacción se calentara hasta temperatura ambiente. Se añadieron agua (50 ml) y diclorometano (50 ml) y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO4), se filtró y se evaporó a sequedad. El compuesto **8** se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Aceite incoloro. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1,26-1,58 (m, 12H), 3,40 (m, 6H), 4,58 (d, 12H), 5,26-5,47 (m, 12H), 6,02-6,11 (m, 6H), 7,01 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,11 (t, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,68 (d, ^{3}J = 7 Hz, 3H), 8,08 (t, 3H), 9,42 (s, IH); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 23,72, 29,30, 39,93, 51,29, 69,75, 74,49, 116,86, 117,71, 118,79, 123,09, 124,27, 127,20, 132,74, 133,15, 146,25, 151,46, 165,13, 206,59.

Compuesto 9:

Se añadieron ácido sulfámico (466 mg, 4,80 mmol) y a continuación clorito de sodio (434 mg, 4,80 mmol) a una solución agitada de **8** (3,19 g, 3,69 mmol) en una mezcla THF/agua (1/1). Después de agitar 13 h a temperatura ambiente, se añadieron 200 ml de CH_2Cl_2 y 200 ml de agua y la capa orgánica resultante se lavó con salmuera, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporó a sequedad. La cromatografía en columna (SiO_2, CH_2Cl_2/3% MeOH) proporcionó **9** (0,47 g, 0,53 mmol) con un rendimiento del 58% en las dos etapas. Aceite amarillo pálido. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1,53-1,66 (m, 12H), 3,40 (d, 6H), 4,57 (d, 12H), 5,24-5,45 (m, 12H), 5,99-6,12 (m, 6H), 6,98 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,09 (t, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,68 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 8,08 (t, 3H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 24,16, 31,92, 40,02, 48,06, 69,76, 74,64, 116,80, 117,72, 118,96, 123,12, 124,25, 127,34, 132,79, 133,16, 146,25, 151,48, 165,19, 178,96; $C_{49}H_{61}N_3O_{11}$. 1,5 H_2O: calc. C 66,23, H 7,06, N 4,63, O 22,08%; encontrado C 66,43, H 6,83, N 4,31, O 22,43.

Compuesto 11:

Se añadieron una mezcla de DCC (112 mg, 0,55 mmol) y DMAP (11 mg, 0,09 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (5 ml) y una solución de 109 (85 mg, 0,46 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (5 ml) a **9** (400 mg, 0,46 mmol) disuelto en diclorometano recién destilado (10 ml). A continuación, se añadió una cantidad catalítica de HOBt y la mezcla obtenida se agitó durante 60 h a temperatura ambiente antes de la filtración y la evaporación a sequedad. La cromatografía en columna (SiO_2, CH_2Cl_2/3% MeOH) proporcionó **11** (455 mg, 0,44 mmol) con un rendimiento del 97%. Aceite amarillo pálido. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1,41-1,55 (m, 25H), 3,07 (d, ^{3}J = 5 Hz, 2H), 3,23 (d, ^{3}J = 5 Hz, 2H), 3,37 (d, 6H), 4,56 (d, 12H), 5,24-5,45 (m, 12H), 5,98-6,11 (m, .6H), 6,98 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,09 (t, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,66 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 8,04 (t, ^{3}J = 11 Hz, 3H), ^{13}C RMN ($CDCl_3$). 24,28, 25,57, 26,83, 27,53, 28,40, 32,21, 40,00, 47,87, 69,77, 74,65, 116,82, 117,73, 118,96, 123,06, 124,25, 127,36, 132,77, 133,19, 146,26, 151,49, 156,14, 165,21, 175,60; $C_{59}H_{79}N_5O_{12}$. MeOH: calc. C 66,58, H 7,73, N 6,47, O19,22; encontrado C 66,77, H 7,75, N 6,63, O 18,85.

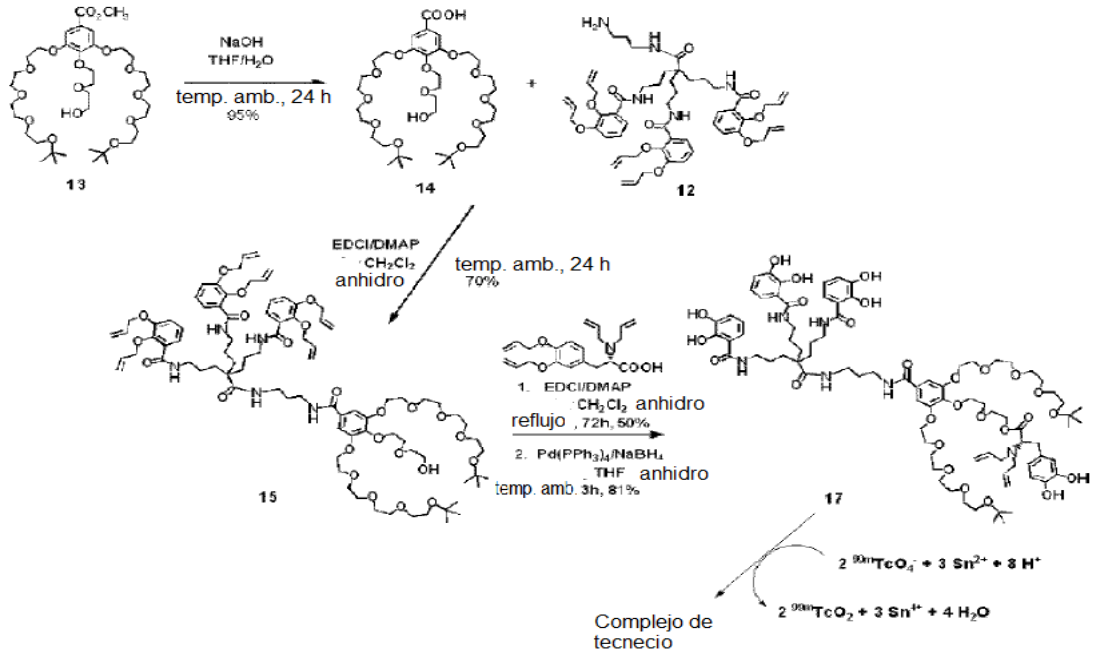
Compuesto 12:

Se añadió TFA (68 ml, 0,89 mmol) a una solución de **11** (465 mg, 0,44 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (10 ml). Después de 6 h de agitación a reflujo, la mezcla de reacción se evaporó y se filtró sobre una almohadilla de sílice (SiO_2, CH_2Cl_2/5% de MeOH). El compuesto **12** (376 mg, 0,40 mmol) se obtuvo como una espuma blanca con un rendimiento del 90%. H RMN ($CDCl_3$): 1,46-1,73 (m, 16H), 2,99 (d, 2H), 3,26-3,32 (m, 8H), 4,56 (d, 12H), 5,23-5,43 (m, 12H), 5,96-6,09 (m, 6H), 6,98 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,06 (t, ^{3}J = 8 Hz, 3H), 7,56 (d, 3H), 7,80 (br s, 2H), 8,34 (br s, 4H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 24,19, 24,60, 26,10, 31,84, 38,65, 39,87, 40,20, 47,94, 69,77, 74,67, 117,16, 117,76, 119,03, 122,64, 124,33, 126,76, 132,68, 133,06, 146,33, 151,52, 165,81, 176.71; $C_{54}H_{71}N_5O_{10}$. 2,5 CH_2Cl_2: calc. C 58,59, H 6,56, N 5,99; encontrado C 58,25, H 6,35, N 5,67.

Ejemplo 1.2: N, N di-alil-L-Dopa Tris-catecolamida 17 y complejo con tecnecio de la misma

Estos compuestos se han sintetizado de acuerdo con el Esquema II:

Esquema II



Compuesto 14:

Se añadió una solución de hidróxido de sodio (0,11 g, 2,82 mmol) en 7,5 ml de agua a una solución de **13** (1,60 g, 2,17 mmol) en THF anhidro (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Después de la evaporación de THF, la solución acuosa resultante se acidificó con HCl concentrado hasta pH = 2 y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 150 ml). El secado de las capas orgánicas combinadas sobre $MgSO_4$ y la evaporación del disolvente produjeron el compuesto deseado **14** como un aceite amarillo (1,49 g, 2,06 mmol) con un rendimiento del 95% y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1,19 (s, 18H), 3,45-3,53 (m, 4H), 3,55-3,70 (m, 24H), 3,72-3,90 (m, 6H), 4,15-4,30 (m, 6H), 7,28 (s, 2H), ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 27.29, 60,95, 61,40, 68,66, 69,46, 70,21, 70,35, 70,42, 70,45, 70,56, 70,95, 72,23, 72,27, 72,93, 109,24, 124,60, 142,43, 152,02, 168,97; C_{35} H_{62} O_{15}: calc. C 58,15, H 8,65; encontrado C 58,20, H 8,73.

Compuesto 15:

A una solución de amina **12** (0,58 g, 0,61 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (100 ml) se añadieron EDCI (0,19 g, 0,98 mmol), DMAP (0,03 g, 0,24 mmol) y luego lentamente (en 2 horas) una solución de ácido carboxílico 14 (0,44 g, 0,61 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml). La mezcla obtenida se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente y a continuación se diluyó con CH_2Cl_2 (50 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de NH_4Cl (2 x 150 ml) y salmuera (1 x 150 ml), se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró al vacío. La cromatografía en columna (SiO_2, AcOEt) proporcionó 15 (0,70 g, 0,42 mmol) como un aceite incoloro con un rendimiento del 70%. H RMN ($CDCl_3$): 1,17 (s, 18H), 1,40-1,60 (m, 16H), 3,20-3,40 (m, 10H), 3,45-3,52 (m, 4H), 3,53-3,71 (m, 24H), 3,72-3,80 (m, 6H), 4,10-4,20 (m, 6H), 4,51-4,61 (m, 12H), 5,22-5,44 (m, 12H), 5,96-6,10 (m, 7H), 6,96-7,08 (m, 6H), 7,22 (s, 2H), 7,58 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,88 (br s, 1H), 8,12 (br s, 3H); 13C RMN ($CDCl_3$): 24,36, 27,00, 27,20, 27,40, 32,23, 38,20, 38,90, 40,02, 47,95, 53,38, 61,07, 61,55, 68,63, 69,57, 69,78, 70,30, 70,52, 70,53, 70,54, 71,13, 72,30, 72,40, 72,94, 74,65, 106,72, 116,92, 117,76, 118,95, 122,88, 124,29, 127,18, 130,01, 132,75, 133,20, 140,33, 146,30, 151,53, 152,14, 165,26, 166,73, 175,62; MS (MALDI-TOF) m/z: 1677,92 $[M + Na]^+$; C_{89} $H1_{31}$ N_5 O_{24}: calc. C 64,59, H 7,98, N 4,23; encontrado C 65,50, H 7,75, N 4,87.

Compuesto 16:

A una solución de alcohol **15** (0,48 g, 0,29 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (35 ml) se añadieron EDCI (0,09 g, 0,46 mmol), DMAP (0,015 g, 0,12 mmol) y después L-DOPA protegida con alilo (0,10 g, 0,29 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 72 h y a continuación se diluyó con CH_2Cl_2 (100 ml). La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de NH_4Cl (2 x 150 ml) y salmuera (1 x 150 ml), se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporó a sequedad. La cromatografía en columna (SiO_2, CH_2Cl_2/1% MeOH) proporcionó el compuesto **16** (0,30 g, 0,15 mmol) como un aceite incoloro con un rendimiento del 50%. ^{1}H RMN ($CDCl_3$): 1,16 (s, 18H), 1,40-1,60 (m, 16H), 2,72-2,80 (m, IH), 2,92-3,07 (m, 3H), 3,20-3,40 (m, 12H), 3,42-150 (m, 4H), 3,51-3,78 (m, 30H), 4,06-4,15 (m, 6H), 4,21-4,31 (m, IH), 4,51-4,62 (m, 16H), 5,00-5,13 (m, 4H), 5,20-5,44 (m, 16H), 5,55-5,71 (m, 2H), 5,91-6,11 (m, 9H), 6,64-6,79 (m, 3H), 6,95-7,09 (m, 6H), 7,22 (s, 2H), 7,58 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,84 (br s, IH), 8,12 (br s, 3H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 24,35, 27,03, 27,22, 27,43, 32,22, 35,38, 39,19, 39,78, 40,00, 47,93, 53,33, 61,06, 63,11, 63,62, 68,63, 68,90, 69,58, 69,76, 69,86, 70,02, 70,32, 70,53, 70,61, 71,12, 72,33, 72,88, 74,63, 106,79, 114,14, 115,60, 116,91, 116,98, 117,28, 117,73, 118,92, 121,89, 122,88, 124,26, 127,18, 130,00, 131,67, 132,74, 133,19, 133,54, 133,65, 136,36, 140,61, 146,29, 146,94, 148,16, 151,51, 152,19, 165,24, 166,73, 172,32, 175,60; MS (MALDI-TOF) m/z: 1995,00 $[M + H]^+$, 2.016,86 $[M + Na]^+$; C_{110} $H1_{56}$ N_6 O_{27}: calc. C 66,24, H 7,88, N 4,21; encontrado C 65,90, H 7,78, N 4,17.

Compuesto 17:

A una solución de compuesto **16** (0,057 g, 0,028 mmol) en THF anhidro (4 ml) se añadió, en atmósfera de Ar, $Pd(PPh_3)_4$ (0,005 g, 0,004 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos y a continuación se añadió $NaBH_4$ (0,008 g, 0,224 mmol). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente, en atmósfera de Ar, durante 3 h y después se inactivó mediante adición de MeOH (4 ml). Después de la evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (THF) para producir el compuesto **17** (0,038 g, 0,023 mmol) como un sólido marrón con un rendimiento del 81%. H RMN (CD_3OD): 1,21 (s, 18H), 1,45-1,80 (m, 16H), 2,75-2,85 (m, 1H), 2,92-3,03 (m, 1H), 3,13-3,23 (m, 2H), 3,24-3,51 (m, 12H), 3,53-3,90 (m, 34H), 4,18-4,40 (m, 7H), 5,12-5,30 (m, 4H), 5,70-5,91 (m, 2H), 6,35-6,43 (m, 1H), 6,48-6,53 (m, 2H), 6,57-6,74 (m, 6H), 7,18 (d, ^{3}J = 9 Hz, 3H), 7,38 (s, 2H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$): 25,40, 27,78, 28,00, 28,10, 30,11, 33,09, 40,20, 40,65, 40,85, 54,65, 61,98, 63,80, 64,00, 66,10, 69,35, 70,33, 71,05, 71,12, 71,27, 72,13, 73,65, 74,54, 107,10, 108,50, 110,30, 111,68, 114,27, 117,80, 118,06, 118,19, 119,35, 131,80, 137,49, 153,00, 153,20, 153,67, 153,84, 168,88, 170,40, 174,10, 178,80; MS (MALDI-TOF) m/z: 1674,86 $[M + H]^+$, 1.679,12 $[M + 5H]^+$; C_{86} H_{124} N_6 O_{27} : calc. C 61,71, H 7,47, N 5,02; encontrado C 63,50, H 8,93, N 4,11.

Complejación del compuesto 17 con tecnecio:

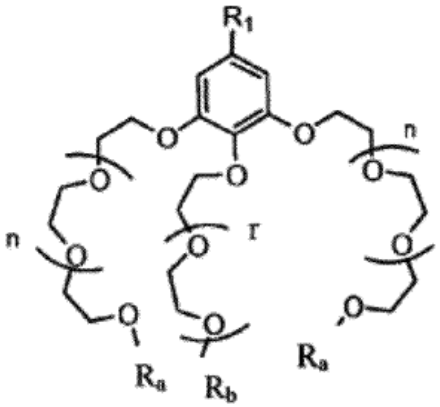
El compuesto 17 se disuelve en agua (2 ml, 1 mg/ml). Se añade primero una solución (250 microlitros) de cloruro estannoso (1 mg/ml, 1,3 mmol) en ácido clorhídrico 0,1 M a la solución anterior y después la solución de

99mTc(VII)O4 (220 MBq mL/L). También se añaden en orden 25 ml de una solución acuosa de NaOH 1 N (25 mmol) y 200 ml de una solución acuosa de ascorbato de sodio (150 mM) con el fin de tamponar la mezcla de reacción a pH 7 y mantener un potencial redox bajo.

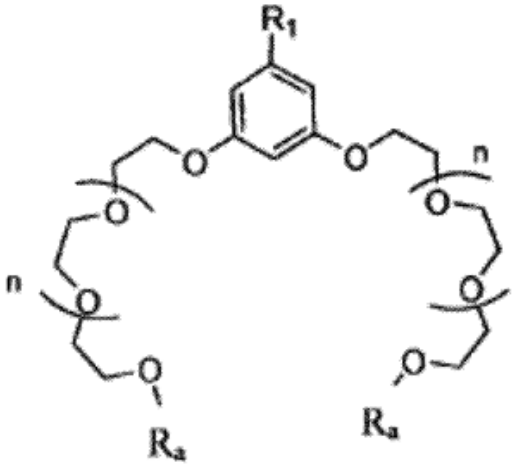
La mezcla resultante se agita a continuación a temperatura ambiente durante 15 min.
El proceso de radiomarcaje con pertecnetato fue eficiente y alcanzó el 95% de complejación con ^{99m}Tc.

REIVINDICACIONES

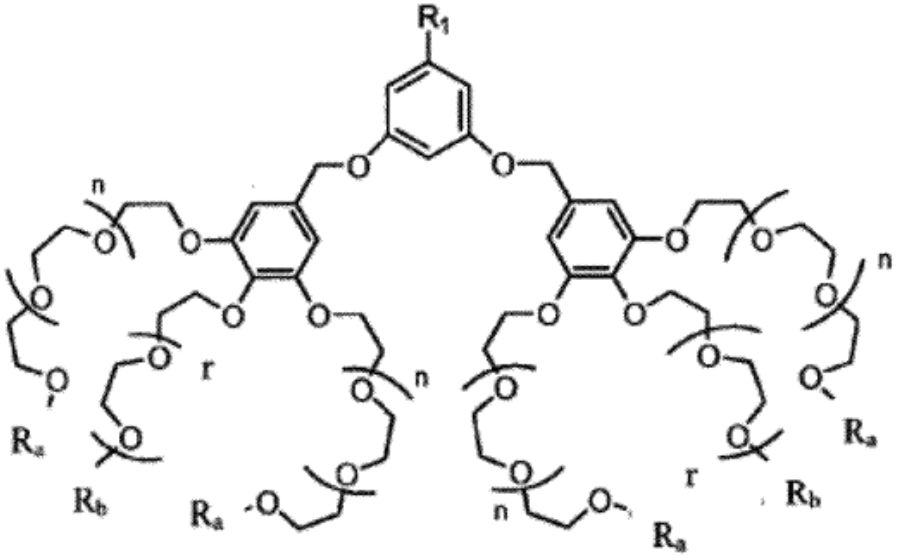
1. Nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



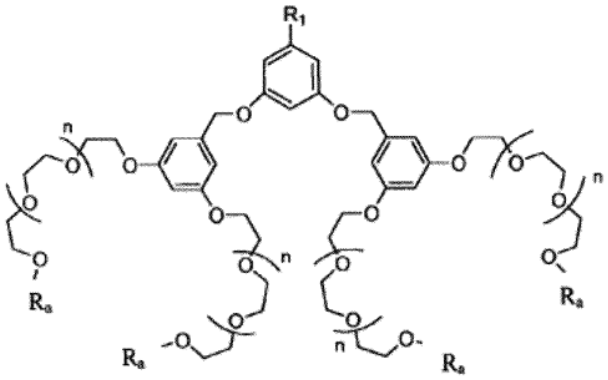
(Ia1),



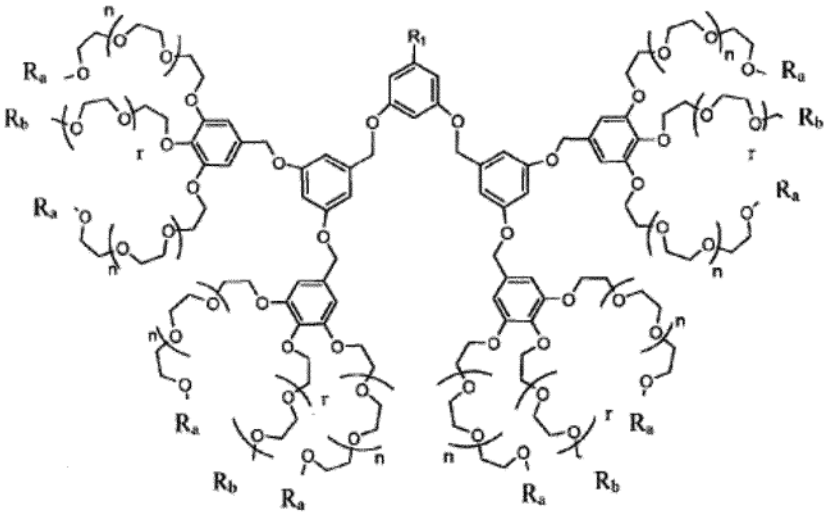
(Ia2),



(Ib1),

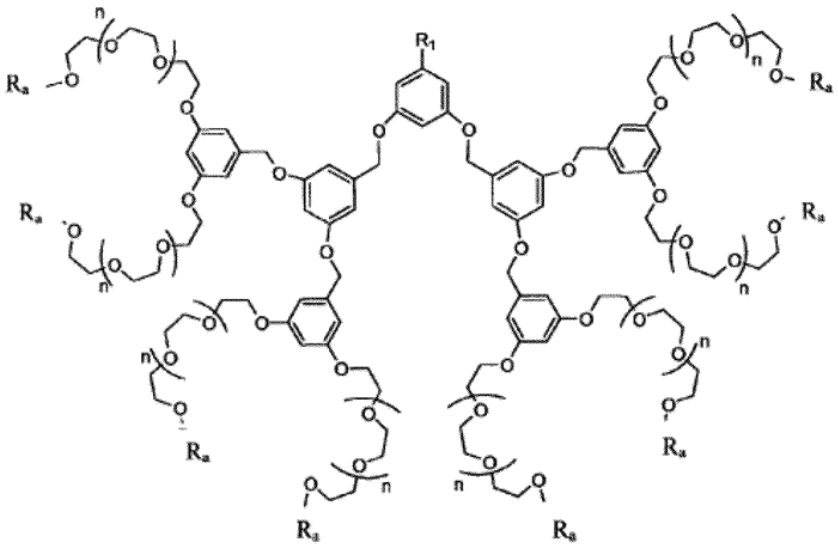


(Ib2),



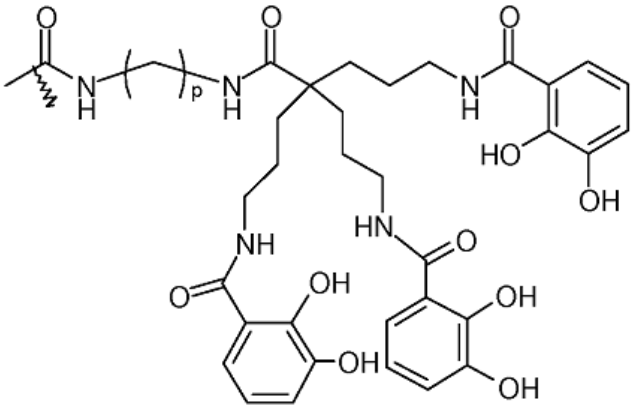
(Ic1),

y



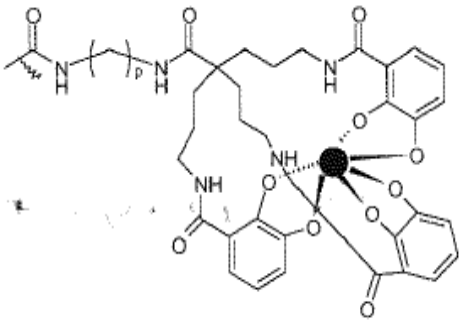
(Ic2)

en las que:
· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



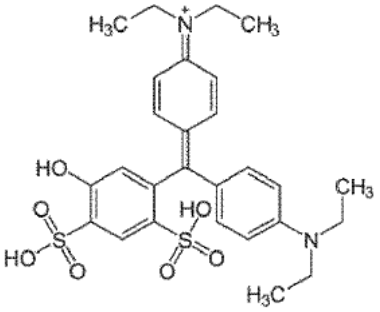
(II)

que está complejado con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de la siguiente fórmula (III):

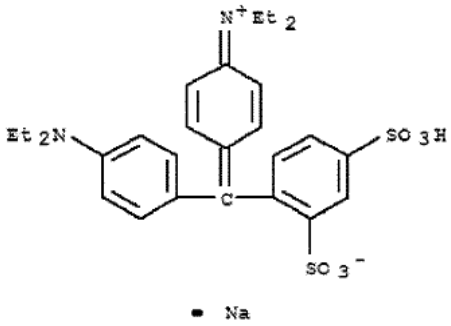


(III)

· • representa un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio
· p está comprendida entre 3 a 6,
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anticuerpo anti-Ca15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),
- un colorante biocompatible de fórmulas:



o

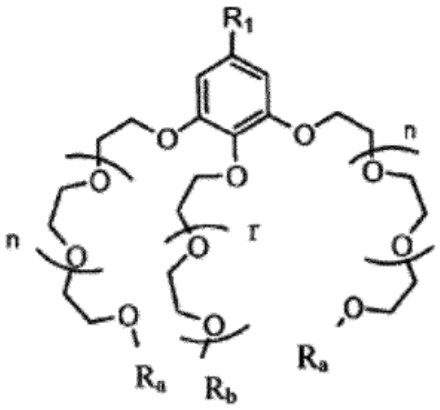


y

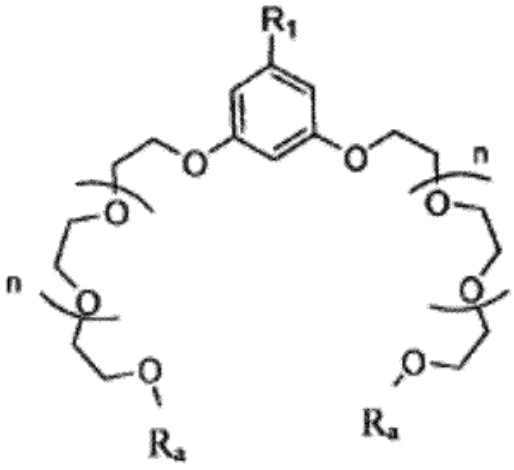
- Ra es un alquilo lineal o ramificado,

para usar como medicamento.

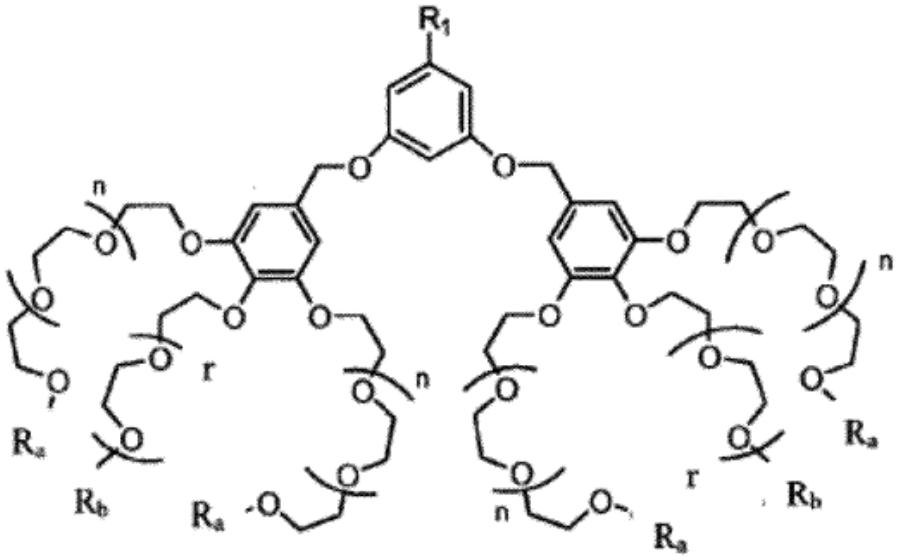
2. Nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



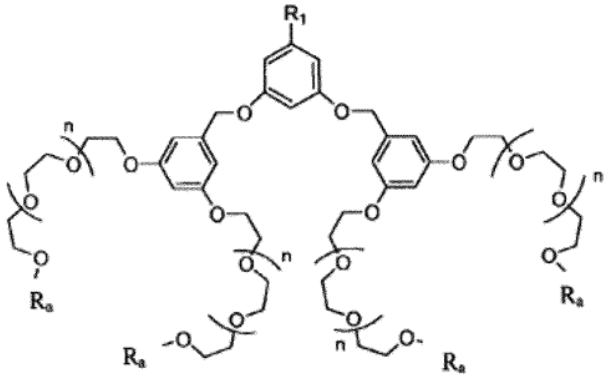
(Ia1),



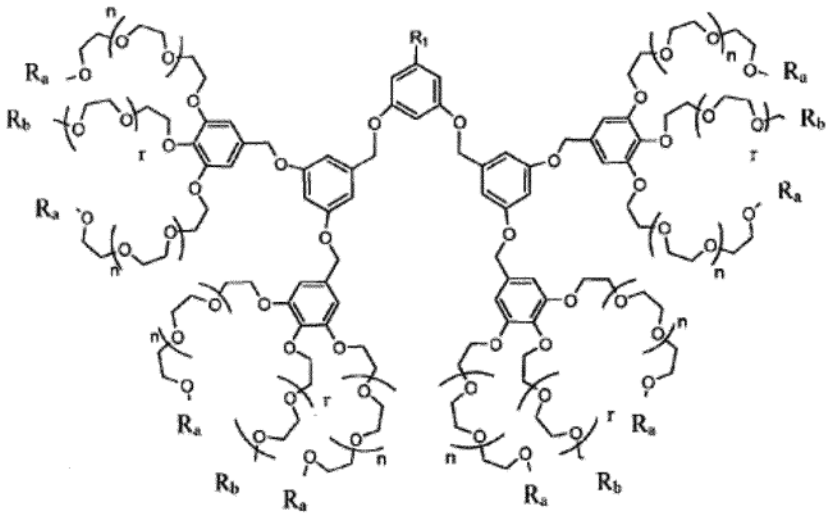
(Ia2),



(Ib1),

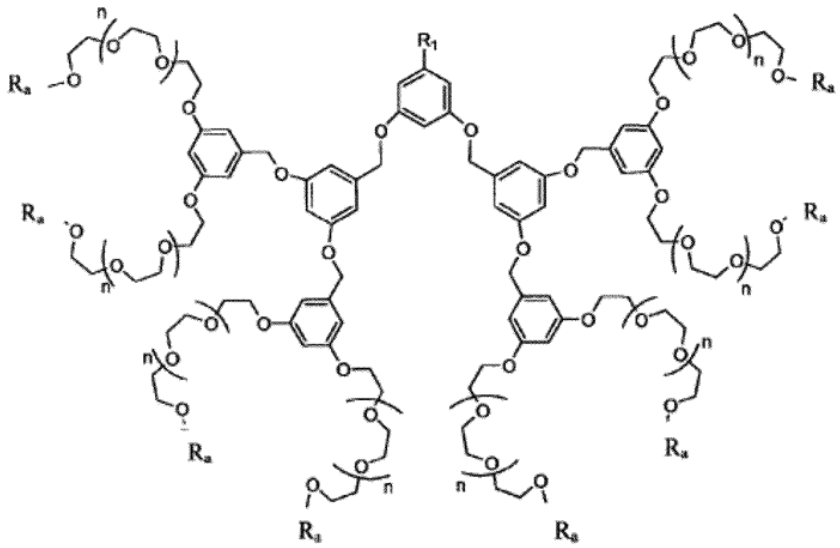


(Ib2),



(Ic1),

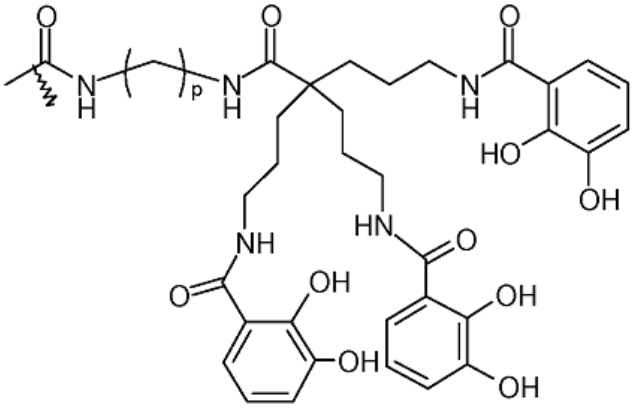
y



(Ic2)

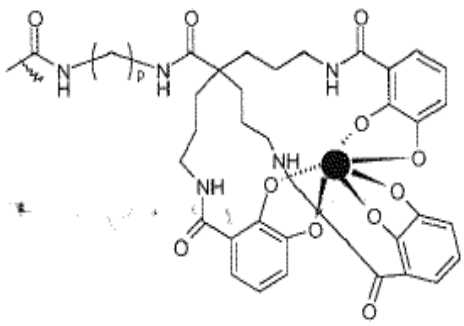
en las que:

· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



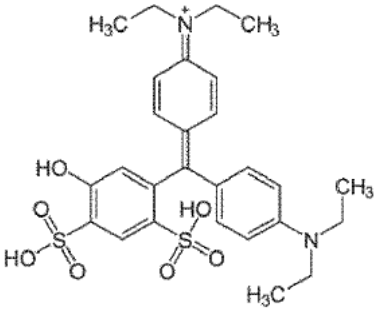
(II)

que está complejado con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de la siguiente fórmula (III):

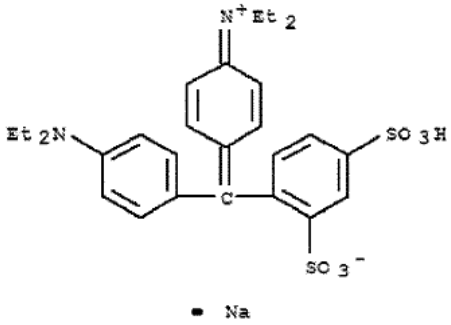


(III)

· • representa un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio
· p está comprendida entre 3 a 6,
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anticuerpo anti-Ca15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),
- un colorante biocompatible de fórmulas:

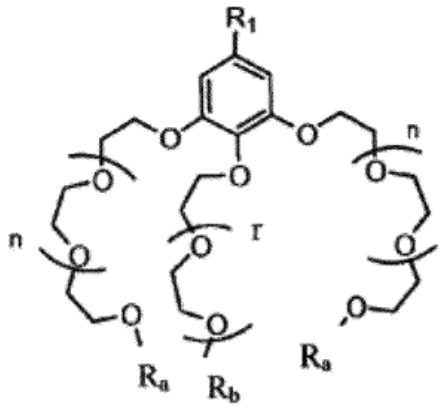


o

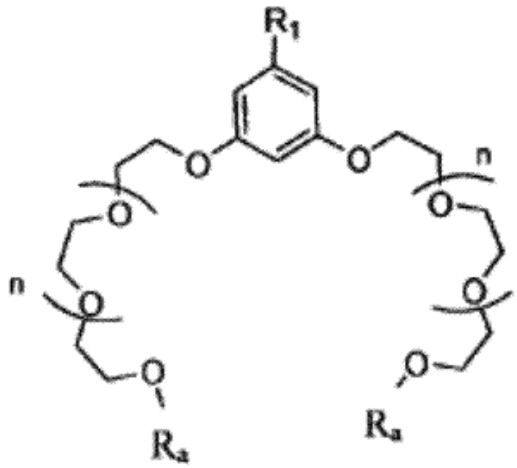


- Ra es un alquilo lineal o ramificado,
para usar para tratar una célula o tejido u órgano con cáncer.

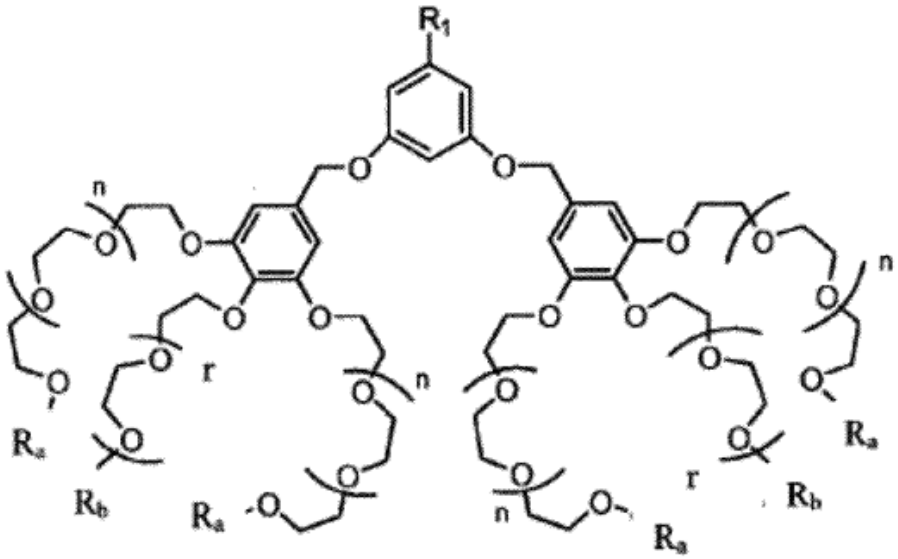
3. Nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



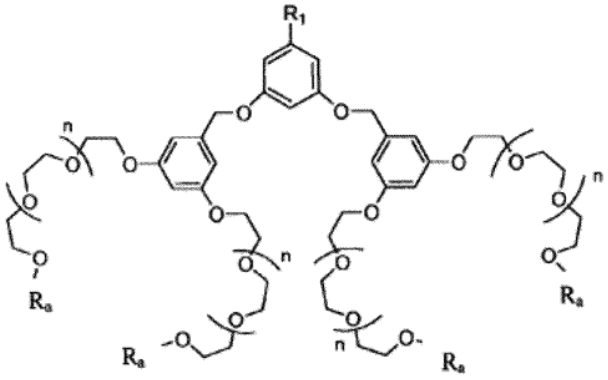
(Ia1),



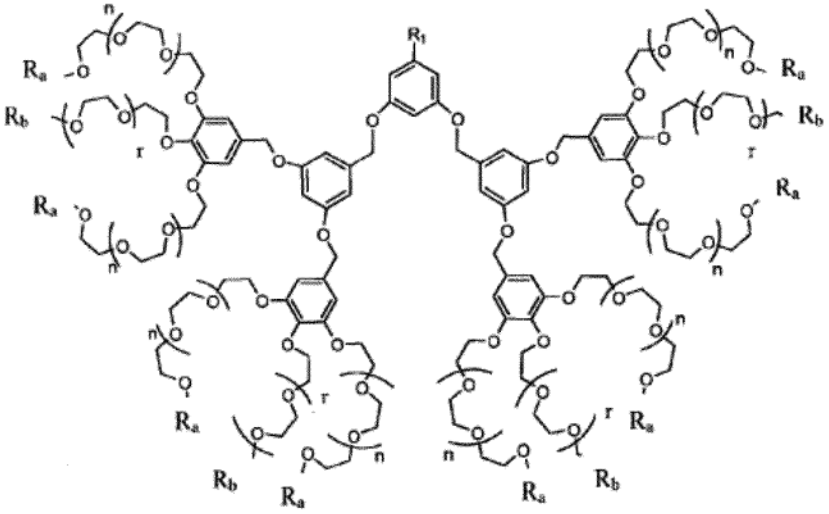
(Ia2),



(Ib1),

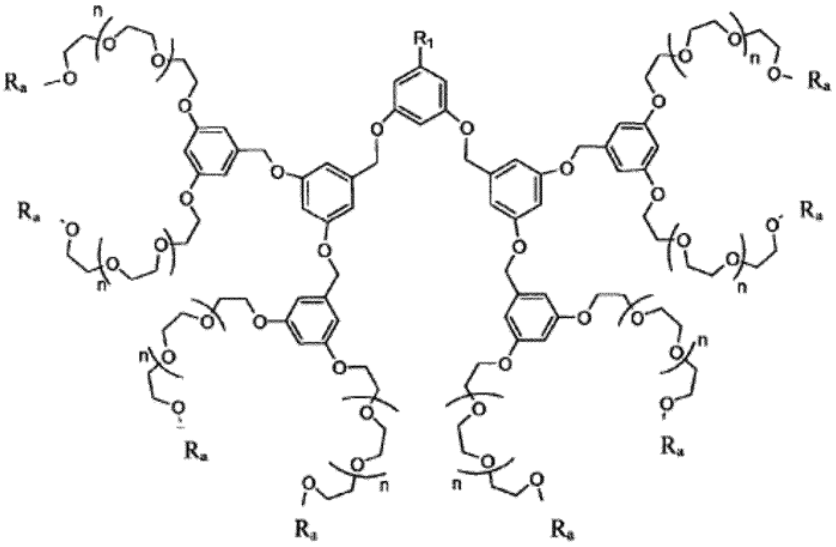


(Ib2),



(Ic1),

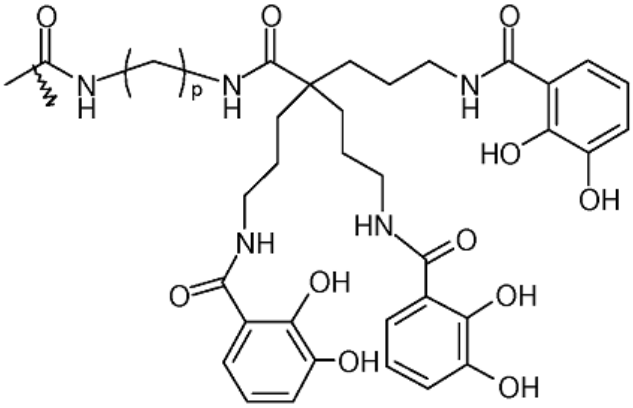
y



(Ic2)

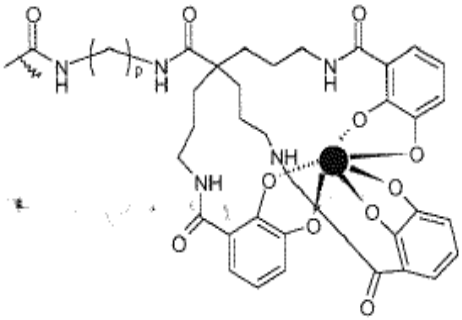
en las que:

· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



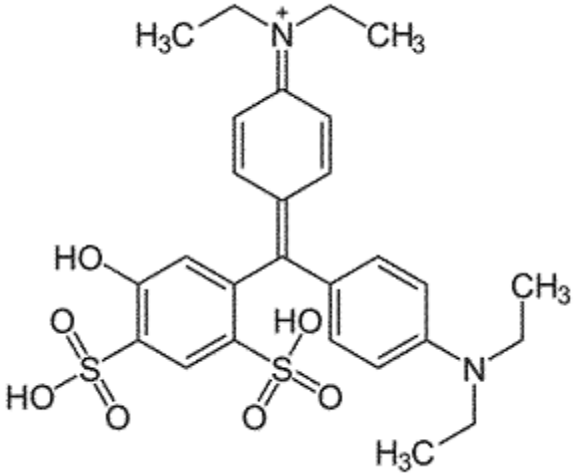
(II)

que está complejado con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de la siguiente fórmula (III):

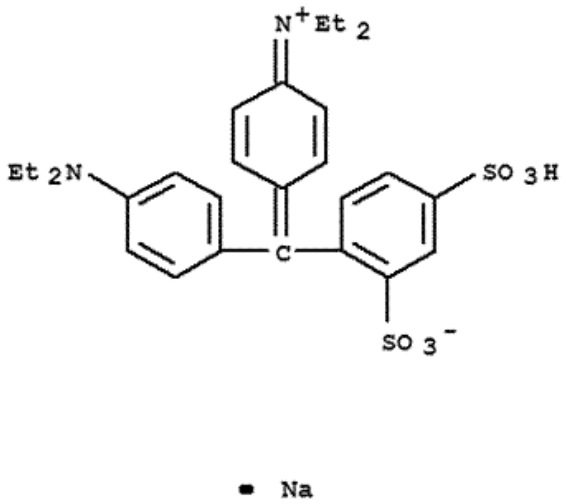


(III)

· • representa:
- un ion metálico, tal como gadolinio o manganeso, o
- un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones, tales como ^{99m}tecnecio, ^{64}cobre, $^{(67,68)}$galio o ^{124}yodo,
· p está comprendida entre 3 a 6,
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anticuerpo anti-CA15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),
- un colorante biocompatible de fórmulas:



o

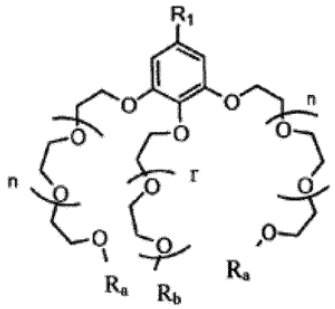


- Ra es un alquilo lineal o ramificado,

para usar para detectar *in vivo* una célula o tejido u órgano con cáncer.

4. Nanosonda para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada porque** su diámetro promedio está comprendido de 2 a 60 nm, preferiblemente de 15 a 50 nm, más preferiblemente de 20 a 35 nm.

5. Nanosonda para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada porque** es de la fórmula (Ia1):

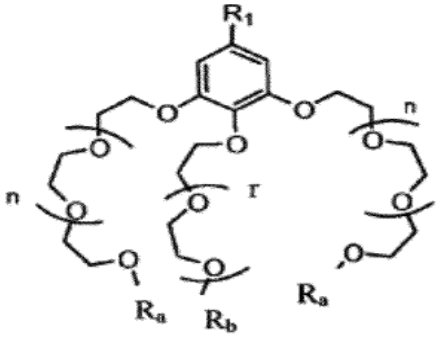


(Ia1)

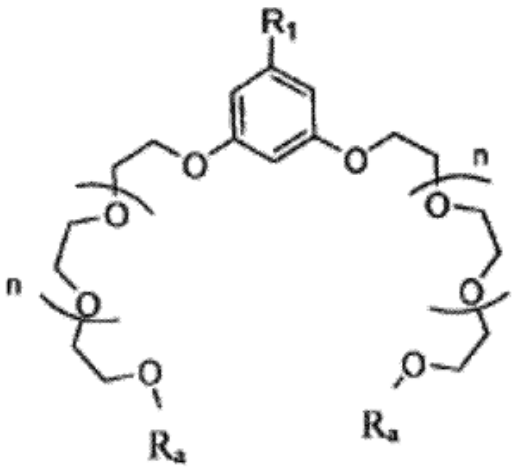
6. Nanosonda para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada porque** el cáncer es cáncer de mama.

7. Nanosonda para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada porque** el cáncer es cáncer de mama y el órgano es el nódulo centinela.

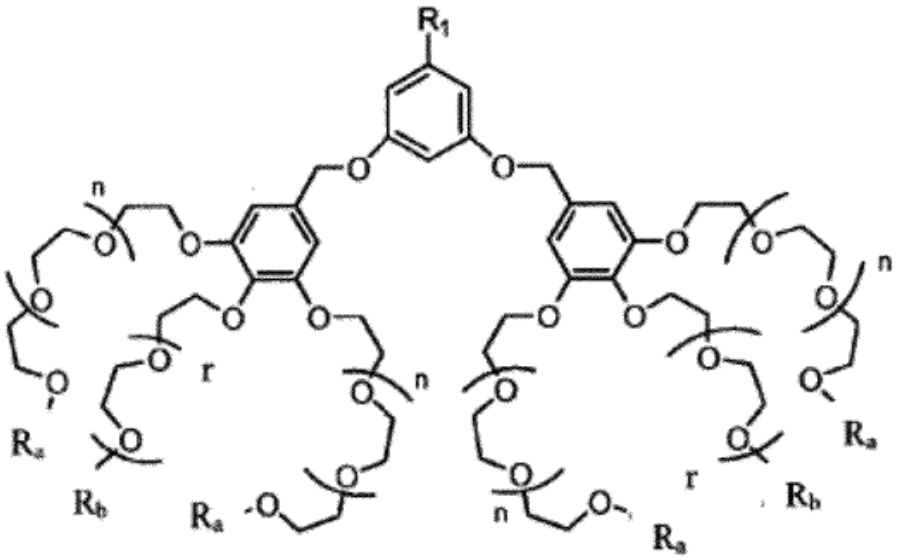
8. Nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



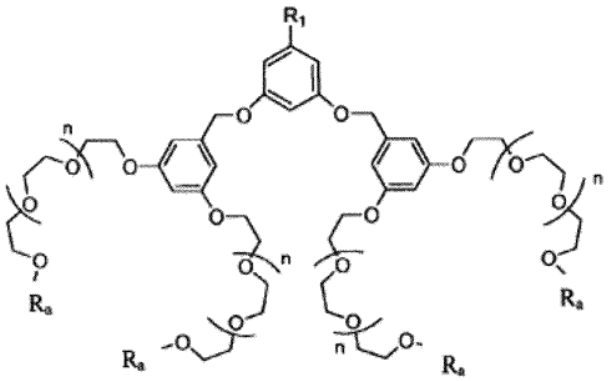
(Ia1),



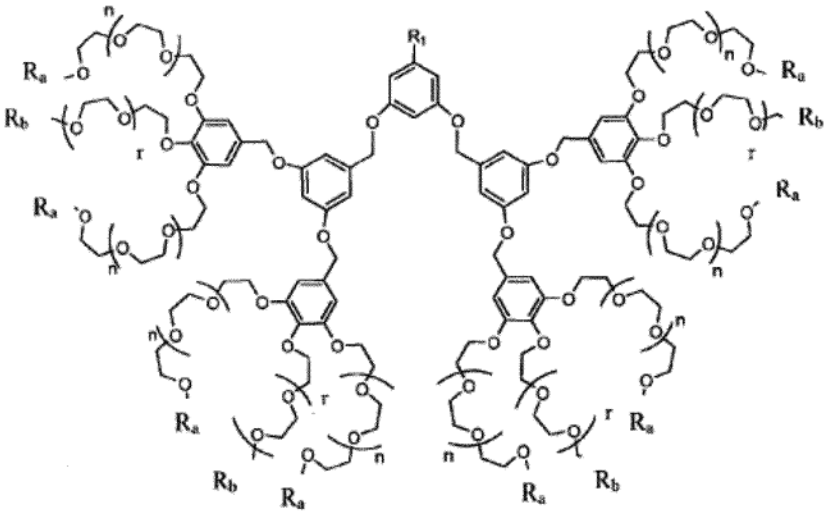
(Ia2),



(Ib1),

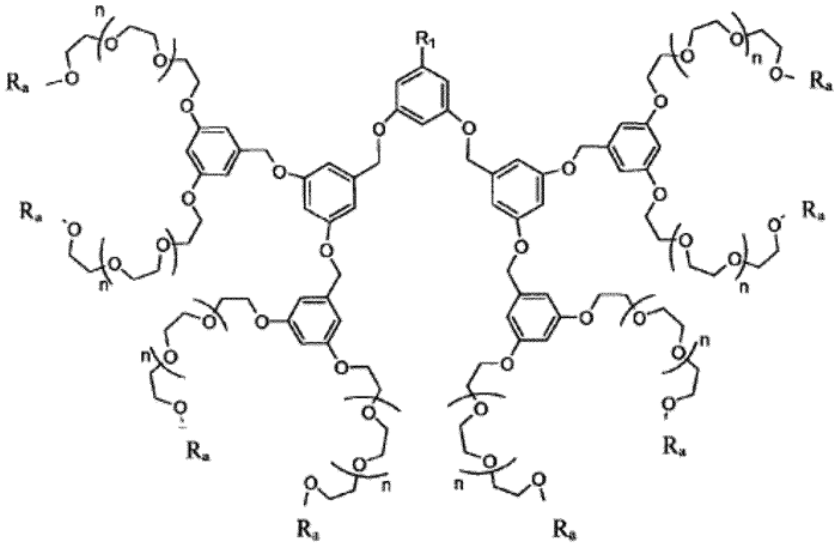


(Ib2),



(Ic1),

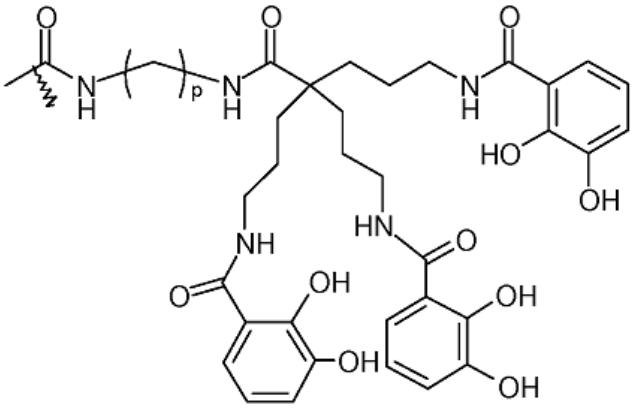
y



(Ic2)

en las que:

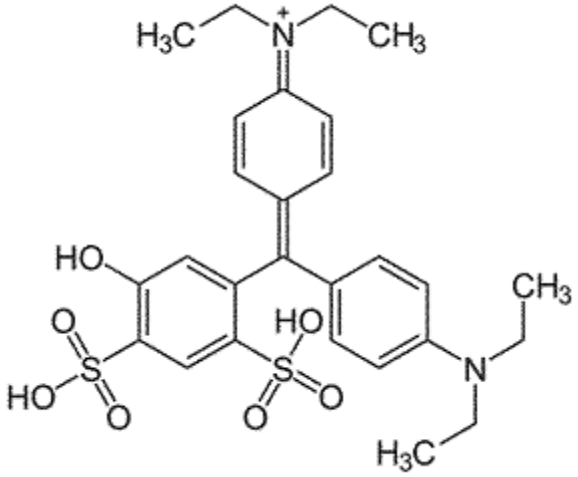
· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



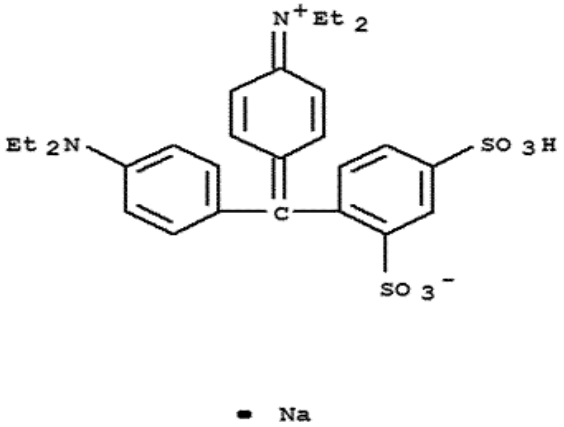
(II)

· p está comprendida entre 3 a 6,

· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anticuerpo anti-CA15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),
- un colorante biocompatible de fórmulas:



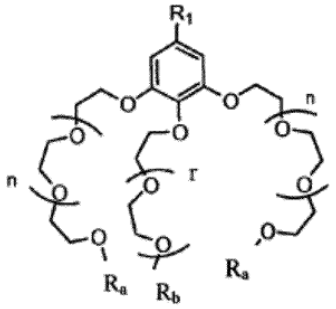
o



y
- Ra es un alquilo lineal o ramificado.

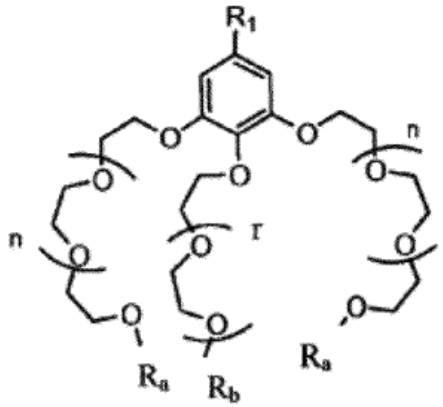
9. Nanosonda, según la reivindicación 8, **caracterizada porque** su diámetro promedio está comprendido de 2 a 60 nm, preferiblemente de 15 a 50 nm, más preferiblemente de 20 a 35 nm.

10. Nanosonda, según cualquiera de las reivindicaciones 8 y 9, **caracterizada porque** la estructura de la fórmula (I) es de la fórmula (Ia1):

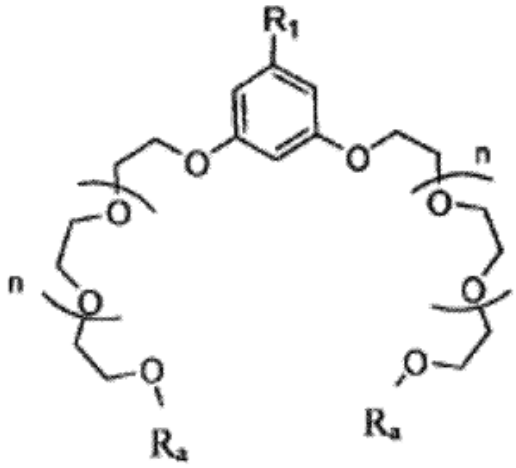


(Ia1)

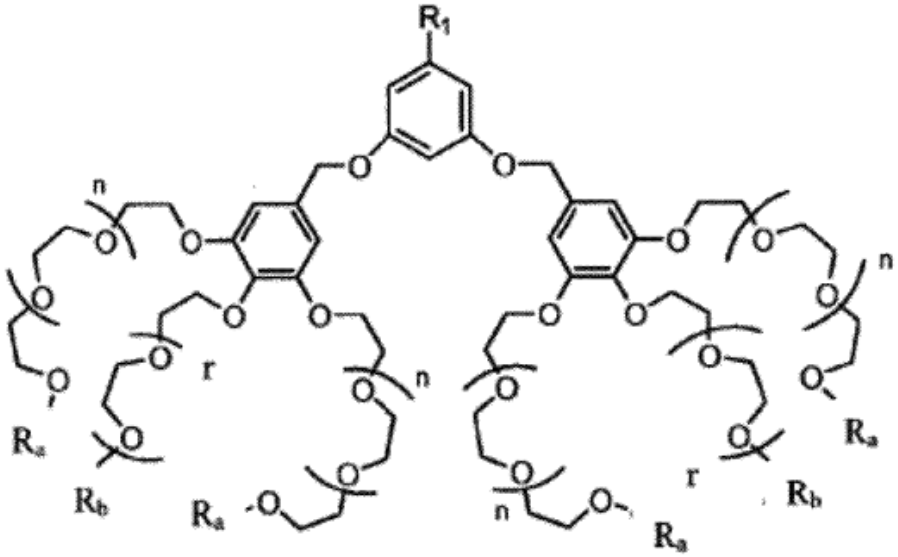
11. Nanosonda de una de las siguientes fórmulas:



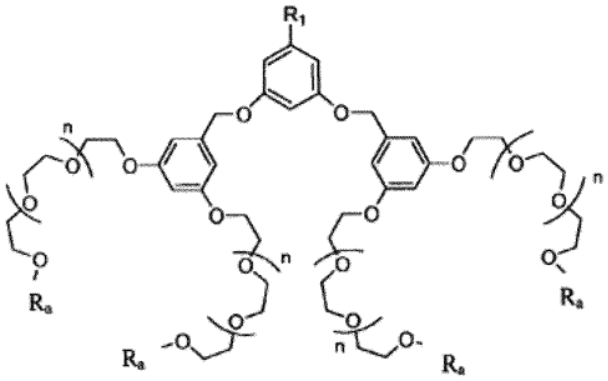
(Ia1),



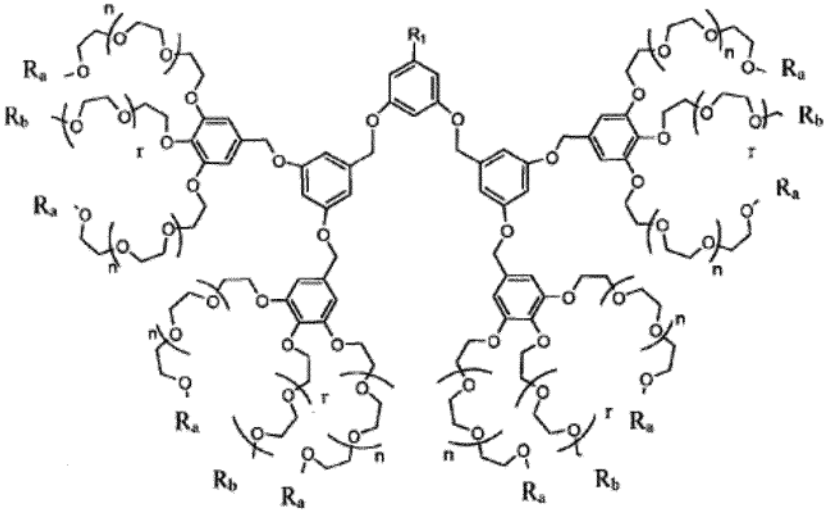
(Ia2),



(Ib1),

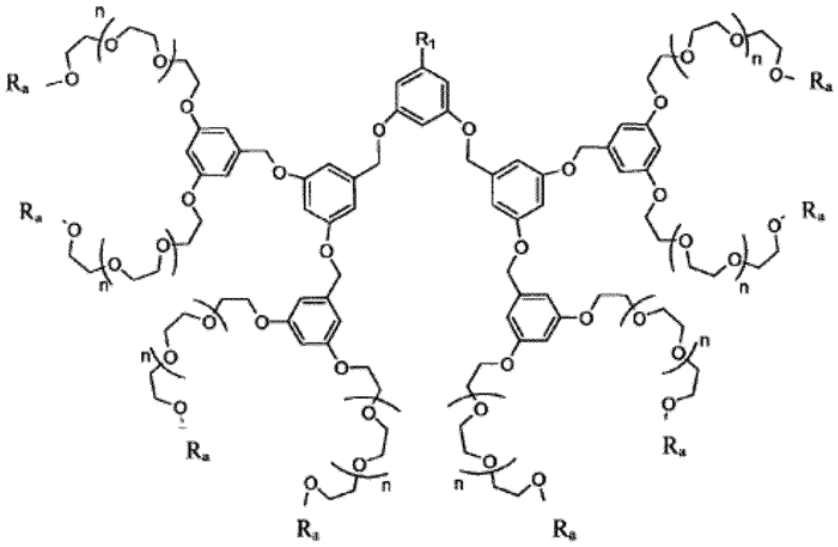


(Ib2),



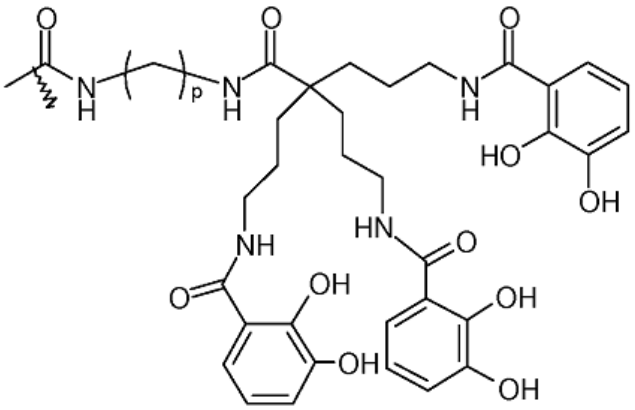
(Ic1),

y



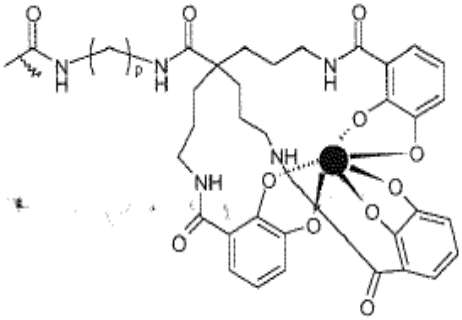
(Ic2)

en las que:
· R1 representa un grupo de la siguiente fórmula (II):



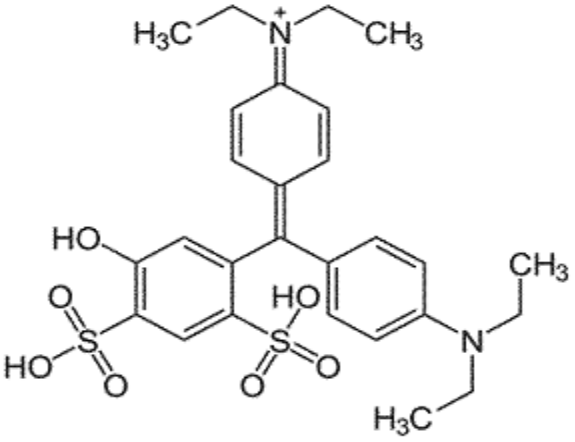
(II)

que está complejado con un ligando o un elemento radioactivo para dar un grupo de la siguiente fórmula (III):

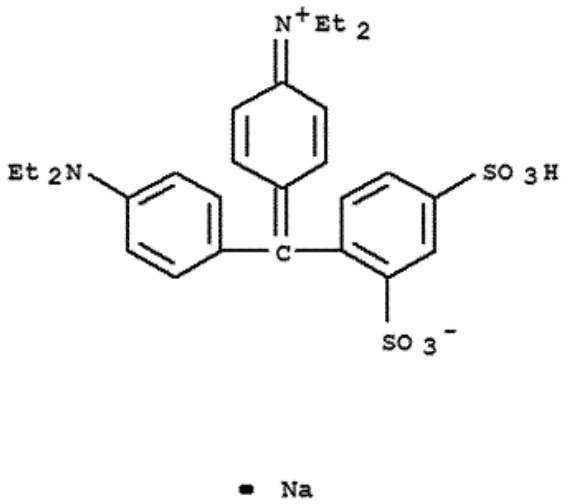


(III)

· • representa:
- un ion metálico, tal como gadolinio o manganeso, o
- un elemento radioactivo emisor de radiación gamma o un elemento radioactivo emisor de positrones, tales como ^{99m}tecnecio, ^{64}cobre, $^{(67,68)}$galio o ^{124}yodo, o
- un elemento radioactivo emisor de radiación negativa alfa o beta, tales como ^{177}lutecio, ^{90}itrio, ^{166}holmio o ^{186}renio,
· p está comprendida entre 3 a 6,
· n es un número entero comprendido de 1 a 10,
· r es un número entero comprendido de 1 a 20, siendo r ≥ n, y
· Rb representa un grupo elegido entre:
- anticuerpo anti-CA15-3 o una hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH),
- un colorante biocompatible de fórmulas:

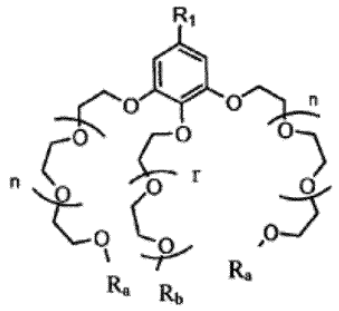


o



12. Nanosonda, según la reivindicación 11, **caracterizada porque** su diámetro promedio está comprendido de 2 a 60 nm, preferiblemente de 15 a 50 nm, más preferiblemente de 20 a 35 nm.

13. Nanosonda, según cualquiera de las reivindicaciones 11 y 12, **caracterizada porque** la estructura de la fórmula (I) es de la fórmula (Ia1):



(Ia1)

14. Nanosonda, según la reivindicación 13, que comprende un ^{99m} tecnecio complejado.

15. Composición farmacéutica o de diagnóstico, que comprende nanosondas, según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14.

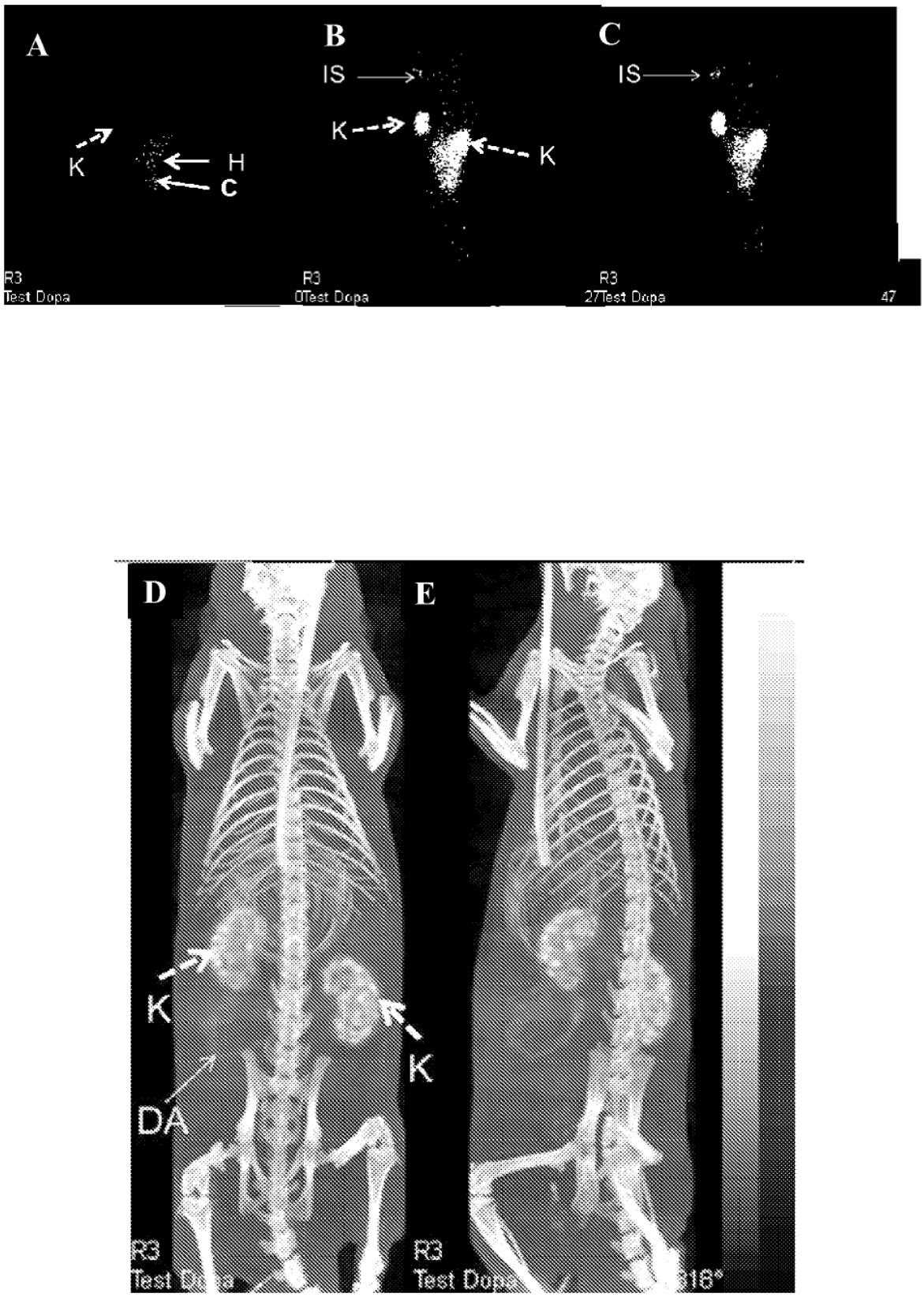

A
K
H
C
R3
Test Dopa
B
IS
K
K
R3
0Test Dopa
C
IS
R3
27Test Dopa
47
D
K
DA
R3
Test Dopa
E
K
R3
Test Dopa

Figura 1

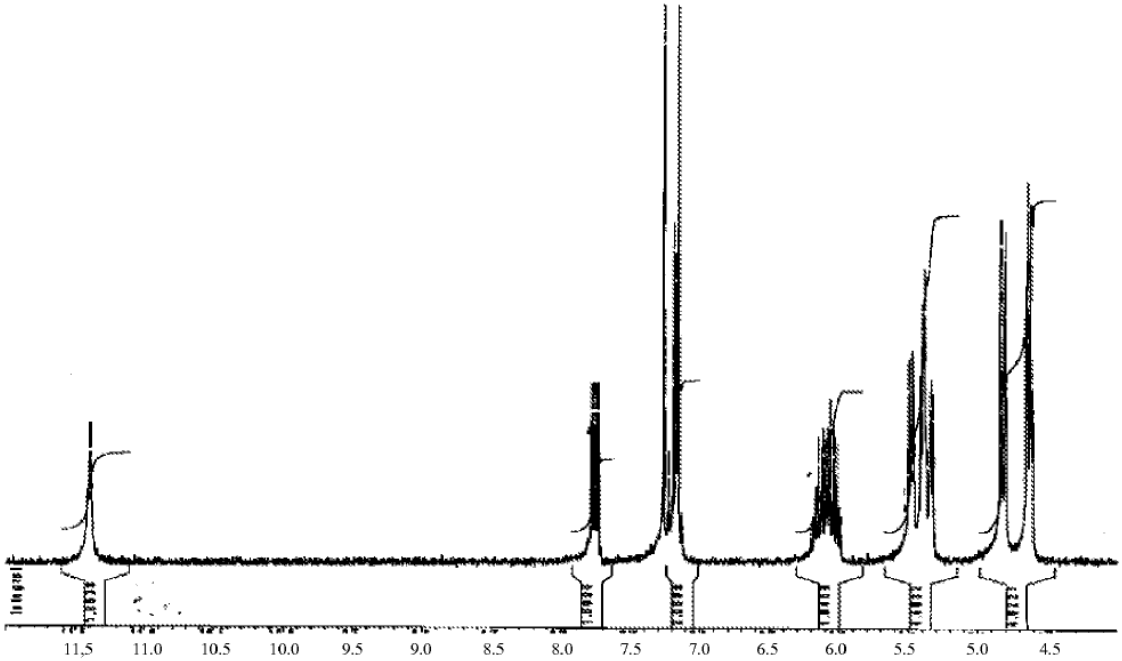


Figura 2

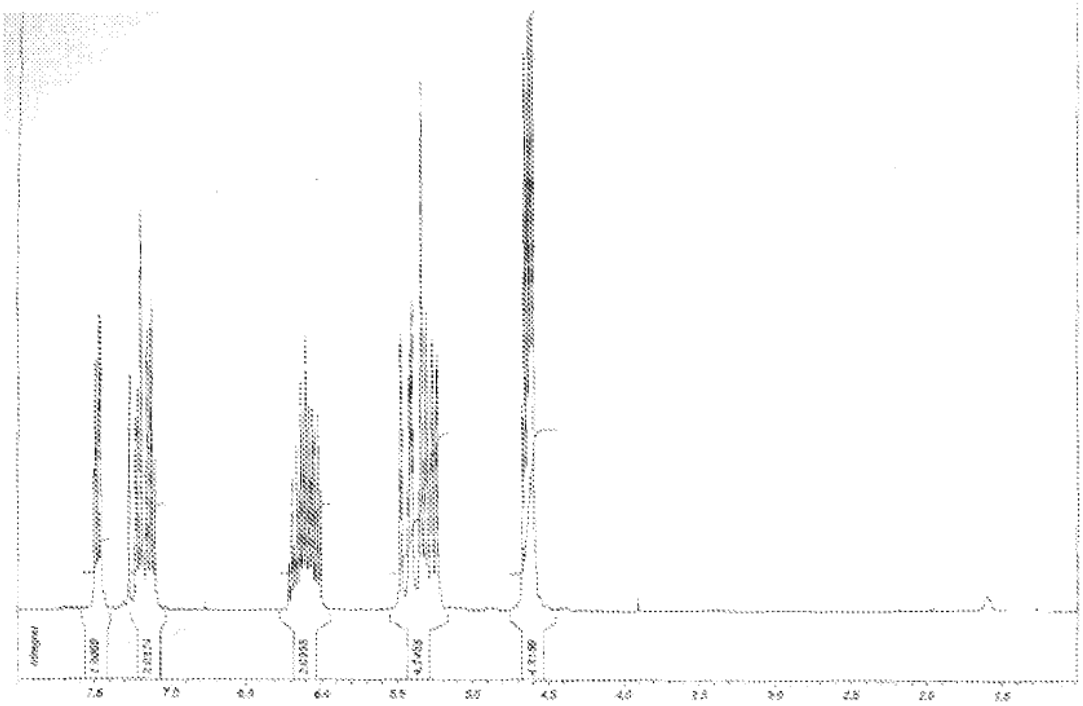


Figura 3

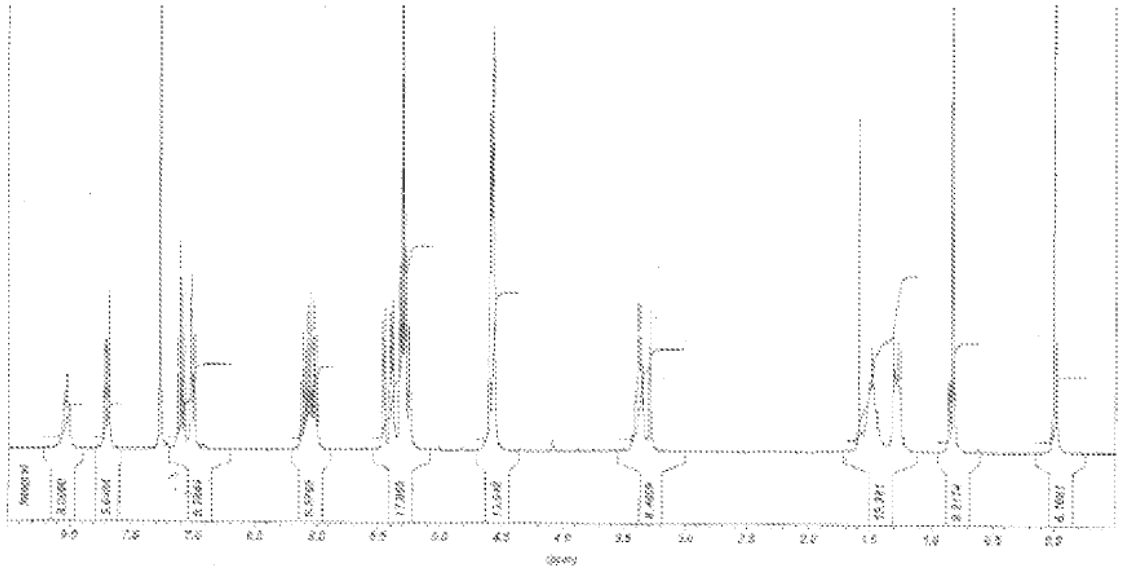


Figura 4

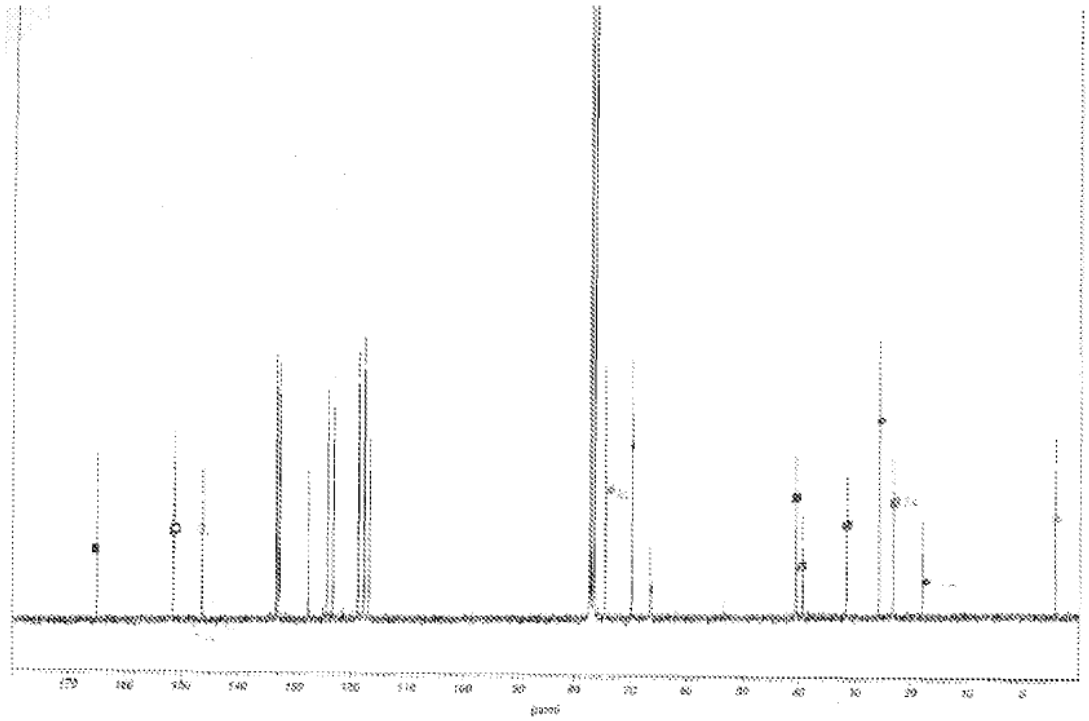


Figura 5

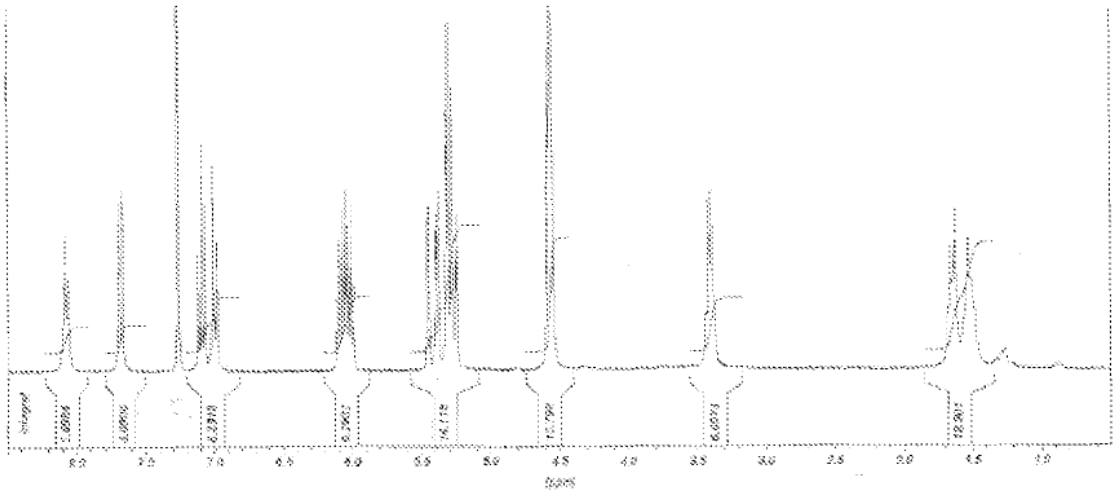


Figura 6

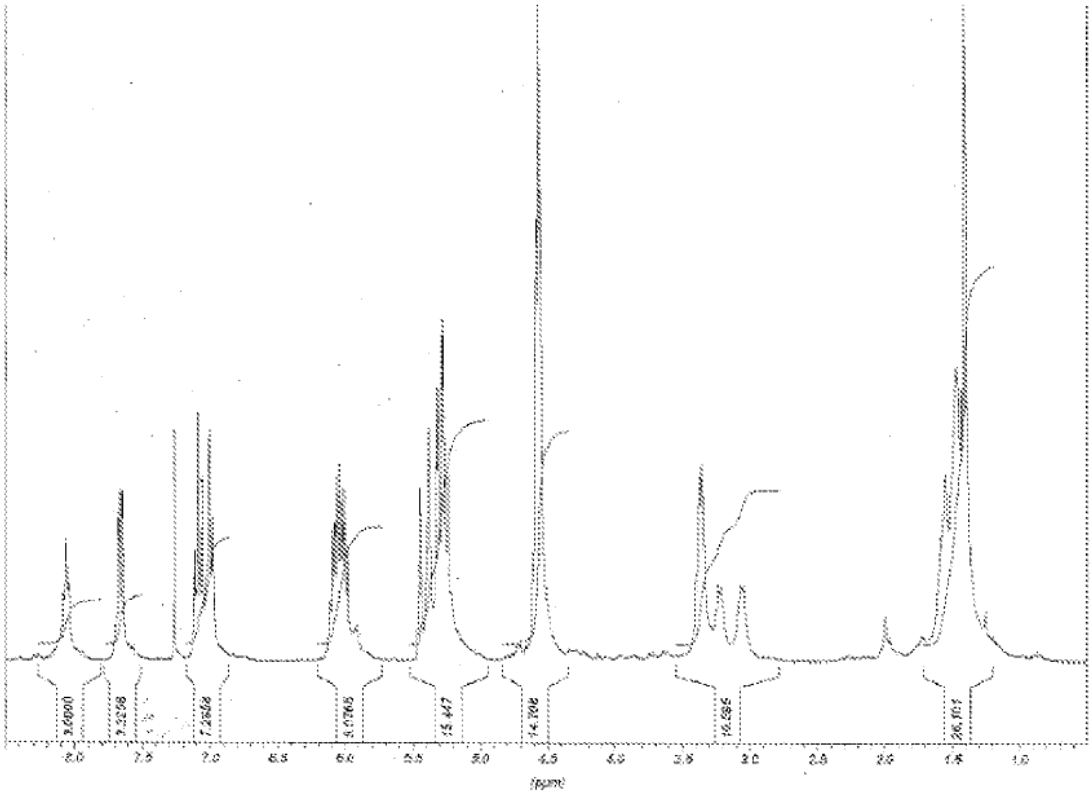

3.6001
7.2258
7.2658
3.0765
15.447
14.108
16.595
26.101
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
(ppm)

Figura 7

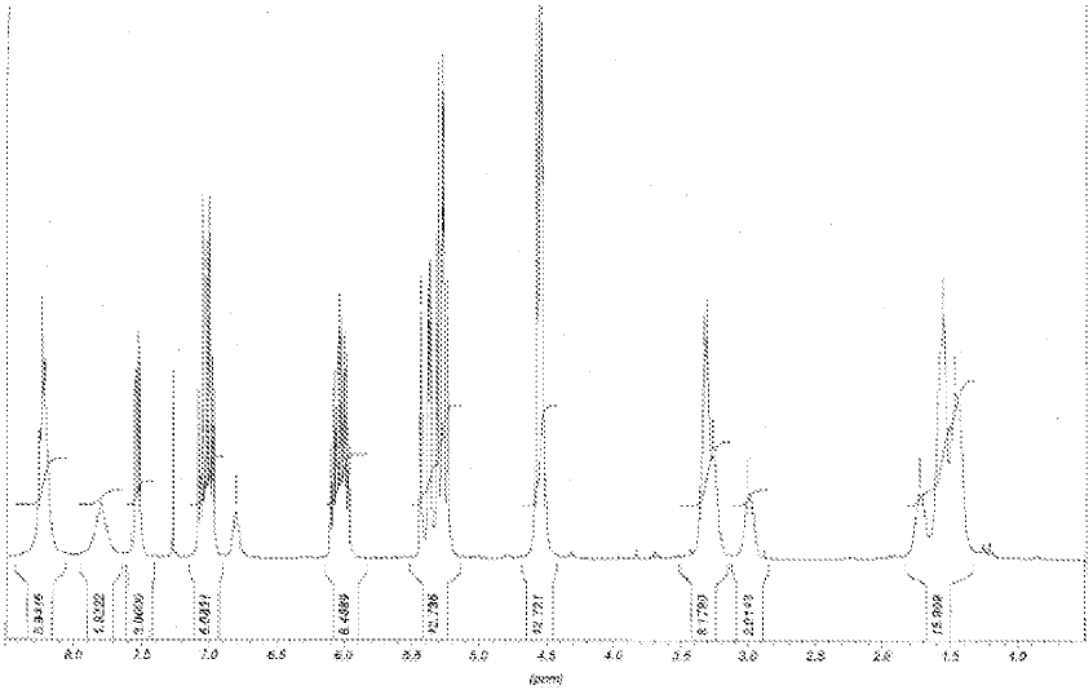


Figura 8

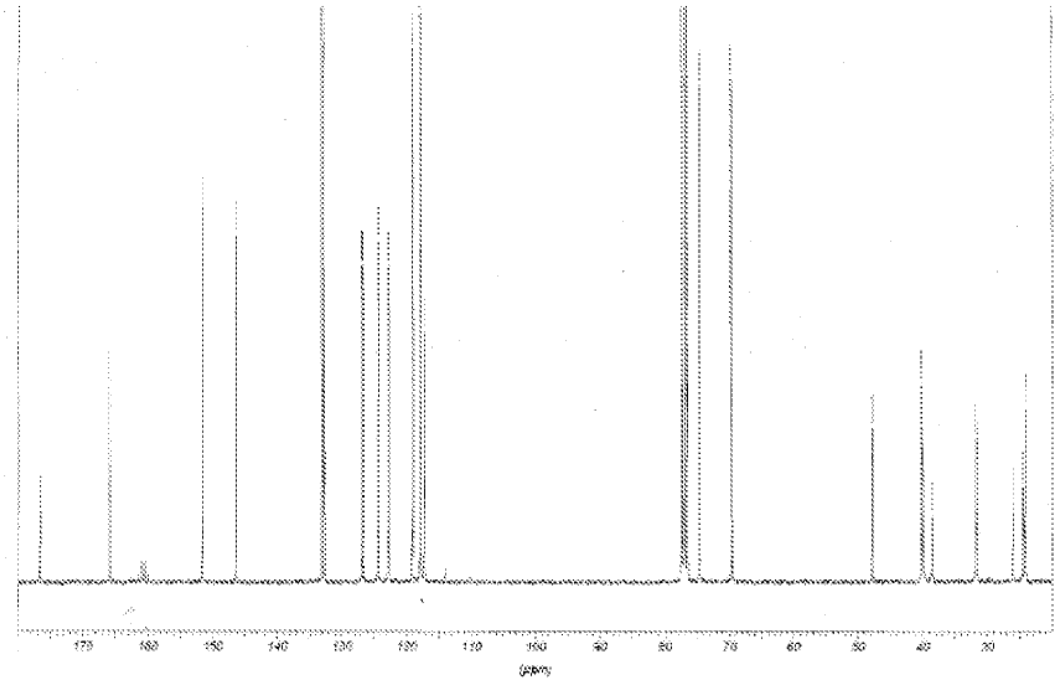


Figura 9