MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101995900455390
Data Deposito	19/07/1995
Data Pubblicazione	19/01/1997

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

COMPLESSI TETRAZOLICI NEUTRI DI CATIONI DI MANGANESE O DI LANTANIDI, PARTICOLARMENTE UTILI COME MEZZI DI CONTRASTO NELLA DIAGNOSTICA A RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

Domanda di brevetto per Invenzione Industriale dal titolo: "Chelati tetrazolici neutri di cationi di manganese o di lantanidi, particolarmente utili come mezzi di contrasto nella diagnostica a risonanza magnetica nucleare."

a nome di: PAGANI Giorgio

19 GIU. 1995

Residente in: MILANO

Inventori designati: PAGANI Giorgio, BRADAMANTE Silvia.

Depositata il con il N.

* * * * *

MI 95 A 001561

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce a complessi tetrazolici neutri di cationi di manganese o di lantanidi, in grado di influenzare il tempo di rilassamento di nuclei, in particolare in tessuti umani ed animali, utili nella diagnostica mediante NMR imaging.

STATO DALLA TECNICA

Negli ultimi anni si è affiancata alla radiologia una nuova metodologia diagnostica, ossia la risonanza magnetica, nota anche come tecnica NMR imaging (Nuclear Magnetic Resonance imaging), che sfrutta le proprietà magnetiche degli atomi di idrogeno dell'acqua presente nel corpo umano per ottenere immagini di tessuti od organi vantaggiosamente utilizzabili nella diagnosi e terapia di malattie cardiovascolari, tumorali ecc. Tale tecnica ha suscitato finora vivo interesse, in quanto non utilizza radiazioni ionizzanti ed è una tecnica non distruttiva,

applicabile in vivo in tempi relativamente brevi.

L' NMR imaging è una tecnica basata sulle caratteristiche dei protoni, dotati di proprio momento magnetico ed in grado di orientarsi in presenza di un campo magnetico esterno, allineandosi parallelamente ad esso; per applicazione di uno o più impulsi di radiofrequenze, tali protoni vengono perturbati e passano dallo stato iniziale di equilibrio ad uno stato eccitato, per poi "rilassare", ossia ritornare nuovamente allo stato originario di minore energia mediante rilassamento longitudinale (spin-lattice) e trasversale (spin-spin). Il tempo richiesto per ritornare allo stato di equilibrio, noto come tempo di rilassamento, fornisce valide informazioni sul grado di organizzazione degli atomi stessi e sulle loro interazioni con l'ambiente circostante.

La tecnica dell'NMR imaging, nella sua forma più semplice, prevede l'applicazione di un gradiente di campo magnetico in aggiunta al campo magnetico statico, allo scopo di differenziare le frequenze di risonanza dei nuclei posti lungo diversi assi del corpo umano. I segnali FID (Free Induction Decay) conseguenti all'applicazione di rapidi e ripetuti impulsi di radiofrequenze, vengono trasformati in immagini bidimensionali, mediante l'uso della trasformata di Fourier ed altri algoritmi matematici. In tali immagini, tessuti caratterizzati da brevi tempi di rilassamento danno generalmente un'intensità superiore rispetto a quelli con tempi di rilassamento più lunghi.

Sulla base delle differenze della densità protonica e dei diversi tempi di rilassamento protonico dell'acqua contenuta nei diversi organi e tessuti esaminati, è possibile ottenere delle immagini di tessuti biologici particolarmente utili a scopo diagnostico, in quanto predittive di importanti caratteristiche fisiologiche, quali ad esemupio lo stato di idratazione e la presenza di grassi. In questo modo è possibile discriminare tessuti sani da tessuti "anomali" e, una volta stabilita la presenza di tessuti anomali, è possibile formulare una diagnosi precisa sfruttando tecniche diagnostiche più mirate.

Tanto più elevata è la differenza tra i tempi di rilassamento dei nuclei presenti nei tessuti esaminati e tanto maggiore sarà il contrasto ottenuto nella loro immagine, aumentando il significato diagnostico delle immagini stesse.

Nelle applicazioni cliniche della NMR imaging, la prestazione contrastografica della metodica diagnostica può venire notevolmente migliorata mediante l'uso di mezzi di contrasto. I mezzi di contrasto comunemente utilizzati sono agenti fortemente paramagnetici capaci di influenzare i tempi di rilassamento dei protoni dell'acqua presente nei tessuti. Tali agenti, di natura chimica totalmente diversa da quelli utilizzati in radiologia, vengono solitamente somministrati nel paziente in concomitanza di un esame radiologico, aumentando selettivamente il contrasto e la definizione delle immagini degli organi esaminati.

Tutti i mezzi di contrasto paramagnetici agiscono attraverso un

meccanismo chiamato rilassamento dipolare, che coinvolge l'interazione dei dipoli magnetici degli elettroni spaiati dello ione del metallo paramagnetico con i dipoli dei protoni dell'acqua nella prima sfera di coordinazione del chelato.

Più specificamente, il dipolo magnetico generato dagli elettroni spaiati dell'atomo paramagnetico provoca un abbassamento locale del campo magnetico applicato, con una successiva diminuzione del tempo di rilassamento dei protoni dell'acqua presente nell'area di interesse; il tempo di rilassamento dei protoni varia a seconda dell'ambiente circostante.

Nella tecnica dell' NMR imaging, le specie paramagnetiche vengono utilizzate per alterare sia il tempo di rilassamento T_1 (spin-lattice) che il tempo di rilassamento T_2 (spin-spin) dei nuclei, ma prevalentemente T_1. L'addizione di ioni paramagnetici all'acqua evidenzia un aumento delle velocità di rilassamento R_1 e R_2 (dove $R_{1,2,} = 1/T_{1,2}$), direttamente proporzionale alla concentrazione delle specie paramagnetiche.

Risalgono agli anni '50 le prime testimonianze di tale attività; per primi Bloch et al. descrissero l'uso di sali paramagnetici, in particolare $Fe(NO_3)_3$, per aumentare la velocità di rilassamento dei protoni dell'acqua. Successivamente Lauterbur et al. descrissero degli esperimenti condotti con un sale di Mn(II), catione noto per localizzarsi in regioni ischemiche del miocardio. Per iniezione di questo sale in cani aventi un'arteria coronarica bloccata, fu evidenziata l'esistenza di una

correlazione tra la velocità di rilassamento longitudinale R_1 dei tessuti cardiaci e la concentrazione del Mn(II), che rese possibile la distinzione della regione miocardica ossigenata da quella ischemica. Tale contrasto non era invece evidenziabile in assenza di Mn(II) (Randall B. Lauffer, *Chem. Rev.*, 1987, 87, 901-927).

I primi studi di NMR imaging su esseri umani furono compiuti da Young I. R. et al. (Randall B. Lauffer, riferimento già citato), i quali somministrarono per via orale del cloruro ferrico per evidenziare il tratto gastrointestinale. Tuttavia furono Carr D. H. et al. (*Lancet*, 1984, 1, 484) a dimostrare la potenzialità diagnostica di agenti paramagnetici, somministrando per via intravenosa $[Gd(DTPA)(H_2O)]^{2-}$ (dietilentriamminopentaacetato di Gd(III)) in pazienti affetti da tumori cerebrali.

Il tempo di rilassamento dei protoni dell'acqua presente nei diversi tessuti biologici non dipende solo dagli effetti dipolari dovuti alla presenza di ioni paramagnetici o di macromolecole nell'ambiente circostante, ma anche da variazioni del moto rotazionale e del numero delle molecole d'acqua di coordinazione. Ad esempio in presenza di macromolecole, come nel caso di tessuti di origine biologica, si osserva un'ulteriore variazione delle velocità di rilassamento; tale effetto è determinato dalle interazioni delle molecole d'acqua con le macromolecole circostanti.

Tutti questi effetti vengono vantaggiosamente utilizzati per

distinguere tessuti normali da tessuti alterati, sfruttando il fatto che la concentrazione e l'"attività" dei mezzi di contrasto nei tessuti dipendono dal loro stato fisiologico.

Per poter essere utilizzati come agenti di contrasto nell'NMR imaging, i complessi paramagnetici, oltre ad aumentare la rilassività protonica, devono soddisfare dei precisi requisiti di biocompatibilità necessari alla loro applicazione in vivo, quali la solubilità in acqua, stabilità intrinseca, non tossicità ecc.

I requisiti fondamentali dei mezzi di contrasto per diagnostica a NMR possono essere classificati come segue:

1) **Rilassività**, ossia l'efficienza nell'aumentare la velocità di rilassamento protonico. I mezzi di contrasto devono esercitare un forte effetto sui tempi di rilassamento T_1 e T_2, ed in particolar modo su T_1, a dosaggi al di sotto della tossicità. In altre parole tali agenti devono essere in grado di indurre un significativo aumento della velocità di rilassamento protonico dell'acqua nel tessuto in esame, producendo un aumento del contrasto dell'immagine finale e rendendo così possibile l'ottenimento di chiare informazioni in tempi brevi.

L'NMR imaging permette di distinguere efficientemente tessuti aventi al minimo differenze di rilassività del 10-20%.

2) **Distribuzione specifica in vivo**: idealmente, un buon mezzo di contrasto dovrebbe localizzarsi selettivamente nel tessuto o organo in esame.

Tuttavia molti degli agenti paramagnetici noti nello stato della

tecnica si distribuiscono sia nello spazio vascolare che extracellulare, senza nessuna specificità per particolari organi o tessuti; in questi casi però non è indispensabile la diversa distribuzione tissutale di tali agenti, in quanto per un buona analisi NMR è sufficiente l'esistenza di un gradiente di rilassività dovuto alla differente azione del complesso sul T_1 nei diversi tessuti.

Peraltro sono noti anche dei mezzi di contrasto più avanzati, in grado di presentare un'attività specifica verso determinati organi o tessuti, distribuendosi in essi in concentrazioni più elevate.

I mezzi di contrasto maggiormente utilizzati nella pratica clinica sono i complessi paramagnetici del gadolinio con chelanti poliacidi, quali ad esempio Gd-DTPA (DTPA = acido dietilentriamminopentaacetico). Sono noti nello stato della tecnica complessi di svariati chelanti poliacidi, tra cui vanno ricordati, oltre a DTPA, EDTA (acido etilendiamminotetraacetico), TTHA (acido trietilentetraamminoesaacetico), o azacicli di sviluppo più recente, quali NOTA (acido 1,4,7-triazaciclononan-N,N',N''-triacetico), DOTA (acido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacetico), TETA (acido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecan-N,N',N'',N'''-tetraacetico) ed altri. Tali complessi vengono spesso combinati o coniugati, mediante i gruppi carbossilici delle funzioni poliacide presenti sui gruppi chelanti, con particolari biomolecole di cui è nota la tendenza a

concentrarsi nell'organo da esaminare. Tali biomolecole possono essere ad esempio ormoni, prostaglandine, amminozuccheri, peptidi, proteine, lipidi o anticorpi specifici. Sono noti infatti coniugati dei suddetti chelanti con anticorpi monoclonali, che consentono una circolazione altamente selettiva dei complessi paramagnetici all'interno dell'organismo umano (ad esempio nei confronti di cellule tumorali in tecniche di "tumor targeting").

3) Atossicità ed eliminabilità

Gli ioni dei metalli di transizione e dei lantanidi, ed in particolare gli ioni di ferro (III), cromo (III), manganese (II) e gadolinio (III), sono in grado di esercitare forti influenze sui tempi di rilassamento. Tuttavia questi ioni presentano dei livelli di tossicità, sia acuta che cronica, troppo elevati per consentirne l'uso nell'uomo come tali alle concentrazioni richieste dalla tecnica NMR imaging.

Ad esempio è ben nota la tossicità nel lungo periodo del manganese, che conduce al manganismo cronico, caratterizzato da marcati effetti psicotici e neurologici, mentre la tossicità acuta di tale elemento si manifesta principalmente mediante l'insorgenza di complicanze cardiache. Non meno nota è la rilevante tossicità acuta dei lantanidi.

Allo scopo di limitare gli effetti tossici di tali ioni e e consentirne quindi l'uso in campo diagnostico umano, sono stati sinora proposti diversi chelanti, in grado di fornire con i

suddetti ioni dei complessi non tossici. Tali chelanti svolgono principalmente un'azione detossicante: sono infatti in grado di legare gli ioni paramagnetici e di veicolarli attraverso il corpo umano in maniera da assicurarne una rapida escrezione.

Tuttavia l'"attività" dei mezzi diagnostici di contrasto utilizzati nella tecnica NMR imaging dipende esclusivamente dagli ioni paramagnetici complessati, mentre i chelanti hanno principalmente la funzione di eliminare la tossicità degli ioni metallici stessi, rendendoli fisiologicamente compatibili.

4) **Stabilità e selettività per lo ione paramagnetico:** la tossicità dei complessi metallici somministrati per via endovenosa è strettamente legata alla loro stabilità in vivo ed alla possibilità di eliminazione dei complessi stessi dai tessuti.

I mezzi di contrasto devono possedere un elevato livello di stabilità del complesso, sia in soluzione che nell'organismo, poiché la loro dissociazione avrebbe effetti indesiderati a causa della tossicità dello ione metallico ed eventualmente dei leganti liberi. Inoltre i chelanti dei complessi paramagnetici devono possedere un elevato grado di selettività dell'agente complessante per lo ione paramagnetico "attivo" rispetto ad altri ioni fisiologici.

Una insufficiente selettività della complessazione dello ione paramagnetico "attivo", oltre ad un'insufficiente stabilità del complesso stesso, possono infatti provocare lo scambio dello ione

centrale paramagnetico con metalli essenziali presenti in tracce nell'organismo o con ioni, quali ad esempio Ca^{2+} o Zn^{2+}, presenti nell'organismo in quantità relativamente elevate. Nel caso in cui i complessi presentino un insufficiente grado di stabilità, parte dei metalli essenziali dell'organismo potrebbero venire sequestrati, mentre i metalli paramagnetici tossici ed indesiderati, quali ad esempio Gd^{3+} o Mn^{2+}, potrebbero prendere il posto dei primi, depositandosi nell'organismo e stazionandovi per lungo tempo. Tale tendenza allo scambio limita la possibilità d'impiego di molti complessi come mezzi di contrasto, in particolare nei dosaggi che sarebbero richiesti per una corretta diagnosi di NMR imaging.

5) **Carico ionico**

Un inconveniente evidenziato dalla maggior parte dei mezzi di contrasto noti nello stato della tecnica è rappresentato dal fatto di contenere sali di complessi paramagnetici, che non possono essere quindi somministrati in elevate quantità a causa dei problemi derivanti dalla differenza di osmolalità tra le zone intra ed extracellulari, a causa dell'eccessivo carico ionico che verrebbe introdotto nell'organismo.

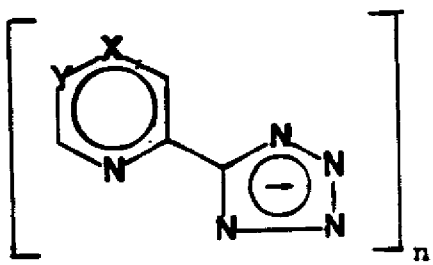
Sarebbe quindi particolarmente vantaggioso poter disporre di efficienti complessi paramagnetici neutri, che non apportino specie ioniche: la neutralità di tali complessi ne consentirebbe la somministrazione nelle concentrazioni richieste dall'NMR imaging.

6) **Solubilità in acqua:** la possibilità di applicazione in vivo dei complessi paramagnetici è subordinata alla loro solubilità in acqua. Questa proprietà chimico-fisica viene spesso accentuata per sostituzione dei chelanti con gruppi organici altamente idrofili.

SOMMARIO

Il Richiedente ha ora trovato dei complessi tetrazolici neutri di metalli paramagnetici che soddisfano le condizioni sopra elencate; tali complessi sono infatti in grado di migliorare, in seguito a somministrazione orale o parenterale, l'intensità dei segnali NMR e l'immagine diagnostica da essi ricavata.

Tali complessi, dotati di buona solubilità in acqua, corrispondono alla formula (1):



(1)

in cui X e Y sono scelti nel gruppo costituito da N, N→O, C-H, C-COOH, $C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NR_1R_2$ e $C-NR_1R_2$, in cui almeno uno dei due residui X e Y è CH, R_1 ed R_2 essendo H o un residuo alchilico lineare o ramificato, saturo o insaturo, contenente da 1 a 6 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con almeno un gruppo -OH; oppure R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di un amminozucchero ed R_2 è H;

Me può essere manganese (II) o un lantanide (III), ed n può essere 2 o 3, con la condizione che, quando X e Y sono C-H, Me^{n+} è diverso da Mn^{2+}.

Tali complessi possono inoltre coordinare diverse molecole di H_2O.

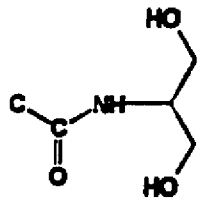
La presente invenzione riguarda inoltre un procedimento per la preparazione dei suddetti complessi tetrazolici neutri di manganese (II) e di lantanidi (III), comprendente la miscelazione di una soluzione o sospensione dell'ossido o di un sale di manganese o di un lantanide in acqua o in alcol inferiore con una quantità equivalente dell'agente chelante, eventualmente con opportuno riscaldamento.

Infine, un ulteriore oggetto della presente invenzione è rappresentato da un mezzo di contrasto per la diagnostica a NMR contenente una quantità efficace di almeno uno dei suddetti complessi tetrazolici neutri di manganese (II) o di lantanidi (III), sciolto o sospeso in un mezzo acquoso o alcolico, eventualmente in associazione con eccipienti e/o diluenti fisiologicamente accettabili.

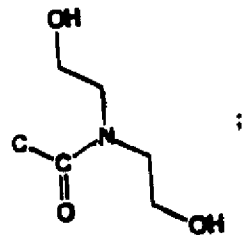
DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Le caratteristiche ed i vantaggi dei complessi tetrazolici neutri di manganese (II) o di lantanidi (III) e dei mezzi di contrasto per la diagnostica a NMR che li contengono, secondo la presente invenzione, saranno maggiormente illustrati nel corso della seguente descrizione dettagliata.

Nei complessi di formula (1), quando X o Y sono $C(=O)-C-NR_1R_2$, sono preferibilmente

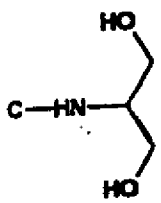


o



;

quando X o Y sono $C-NR_1R_2$, sono preferibilmente



;

infine, nel caso in cui R_1 formi con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di un amminozucchero, tale amminozucchero è preferibilmente glicosammina, ed ancor più preferibilmente D-glucosammina, D-galattosammina o D-mannosammina.

In particolare, la presenza di sostituenti idrofili sull'anello piridinico in posizione 4 o 5 conferisce ai complessi stessi migliorate caratteristiche di solubilità.

In tali complessi lo ione centrale paramagnetico Me^{n+} è preferibilmente scelto nel gruppo costituito da Mn(II), Gd(III), La(III), Sm(III), Dy(III), Ho(III) e Yb (III); ancora più preferibilmente Me è Gd (III) o Mn(II).

Il catione Me^{n+} coordina un numero di molecole di legante pari alla sua carica ed un numero di molecole d'acqua variabile in base alla natura del metallo e del legante, oltre al procedimento

di sintesi e di isolamento utilizzati.

Tali complessi presentano il vantaggio di possedere un elevato numero di molecole d'acqua di cristallizzazione, in quanto il metallo centrale mette a disposizione un elevato numero di siti di coordinazione per ospitarle; inoltre è probabile che i leganti stessi leghino molecole d'acqua.

Come già precedentemente evidenziato, la possibilità di utilizzo di tali complessi come mezzi di contrasto nel campo dell'NMR imaging è direttamente correlata alla loro capacità di aumentare la velocità di rilassamento dei protoni dell'acqua e tale capacità è subordinata, in ultima analisi, al numero di molecole d'acqua che possono essere direttamente coordinate al metallo e che, in soluzione acquosa, sono soggette a continuo scambio con le molecole del mezzo. Ad esempio i chelati del 5-(2-piridil)-tetrazolo con Gd, Eu e Dy cristallizzano con un elevato numero di molecole d'acqua (6,5 per i complessi di Eu e Gd, 7 per il complesso di Dy). I chelati del 5-pirazinil-tetrazolo cristallizzano invece con 10 molecole d'acqua nel caso di Eu e 7 nel caso di Gd.

Un ulteriore vantaggio dei complessi tetrazolici dell'invenzione consiste nell'estrema semplicità della loro struttura chimica, oltre che nel fatto di essere ben tollerabili e adatti per diagnostiche NMR imaging. Infatti detti complessi soddisfano i requisiti necessari per un mezzo di contrasto, ossia aumentano notevolmente il tempo di rilassamento dei protoni dell'acqua e

presentano un ampio spettro d'azione.

Sono stati infatti misurati i tempi di rilassamento dell'acqua per soluzioni dei complessi tetrazolici di Gd^{3+} dell'invenzione a diverse concentrazioni.

Misure di rilassività

Sono state effettuate delle misurazioni dei tempi di rilassamento dei protoni dell'acqua in soluzioni acquose, a pH = 7,4, contenenti i complessi del 5-pirazinil-tetrazolo di gadolinio (III), secondo la presente invenzione, a diverse concentrazioni; inoltre, a scopo comparativo, è stata esaminata una soluzione di Gd^{3+}, nelle stesse condizioni sperimentali.

La misurazione dei tempi di rilassamento T_1 e delle rispettive velocità $R_1 = 1/T_1$ dei protoni dell'acqua è stata effettuata su soluzioni acquose contenenti i suddetti complessi, opportunamente degasati e posti sotto atmosfera inerte di azoto, utilizzando uno strumento a 300 MHz, Varian R.

I risultati ottenuti sono di seguito riportati nella tabella 1.

Tabella 1 Tempi di rilassamento T_1 e velocità di rilassamento R_1 dei protoni dell'acqua di soluzioni acquose contenenti gadolinio (III) od i complessi tetrazolici secondo la presente invenzione.

Complesso	Concentrazione	T_1 (mM·s)	R_1 ($mM^{-1} \cdot s^{-1}$)
Gd^{3+}	$1 \cdot 10^{-3}$ M	0,105	9,56
Complesso di Gd di Es.7	$1 \cdot 10^{-3}$ M	0,104	9,62
Complesso di Gd di Es.7	$0,8 \cdot 10^{-3}$ M	0,119	8,40
Complesso di Gd di Es.7	$0,6 \cdot 10^{-3}$ M	0,143	6,99
Complesso di Gd di Es.7	$0,4 \cdot 10^{-3}$ M	0,259	3,86

Le misure di rilassività sopra riportate indicano che i complessi di gadolinio (III) secondo la presente invenzione sono in grado di aumentare la velocità di rilassamento dei protoni dell'acqua in misura paragonabile all'effetto esercitato da Gd^{3+} libero, a parità di concentrazione dell'elemento paramagnetico.

Riportando in diagramma i valori sperimentali di R_1 ottenuti per soluzioni acquose contenenti il complesso di 2-pirazinil-tetrazolo di gadolinio (III), come descritto nell'Esempio 7, in funzione della concentrazione del complesso stesso nelle soluzioni, si osserva un andamento rettilineo, come riportato nella figura 1.

Uno degli aspetti più interessanti del trovato risiede nel fatto che detti complessi sono neutri e possono essere quindi somministrati nelle dosi necessarie ad una corretta diagnosi NMR senza caricare l'organismo con elevate quantità ioniche.

Un ulteriore aspetto di interesse risiede nella buona solubilità dei complessi dell'invenzione, che consente l'ottenimento di

soluzioni altamente concentrate del mezzo di contrasto, mantenendo quindi il carico volumetrico della circolazione sanguigna entro limiti tollerabili dall'organismo ed ottenendo la corretta diluizione del mezzo di contrasto stesso per mezzo del liquido dell'organismo.

Il complesso di 5-(2-piridil)-tetrazolo di gadolinio presenta infatti un buon valore di solubilità in acqua, pari a $3,0 \cdot 10^{-3}$ M, mentre i complessi di 5-pirazinil-tetrazolo di Gd e di Eu presentano dei valori di solubilità in acqua più che soddisfacenti, pari rispettivamente a $1,7 \cdot 10^{-2}$ M e $2,3 \cdot 10^{-2}$ M.

I complessi tetrazolici secondo la presente invenzione si dimostrano particolarmente adatti come mezzi di contrasto per diagnostica NMR, in quanto presentano un'elevata stabilità sia in vitro che in vivo, in modo da evitare o rendere estremamente lenti i fenomeni di liberazione o scambio degli ioni dei metalli paramagnetici complessati, di per sè tossici.

Tra i leganti dei complessi paramagnetici dell'invenzione, il 5-(2-piridil)-tetrazolo, i cui complessi sono riportati nella formula (1), dove X=Y=C-H, è già noto nello stato della tecnica. Gill N. S. et al. (*Aust. J. Chem.*, 1979, 32, 1669-78) descrivono infatti la preparazione di complessi di 5-(2-piridil)-tetrazolo e suoi derivati metilati con vari metalli bivalenti della prima serie di transizione, ed in particolare ferro, cobalto, nichel e rame, nonché zinco ed argento. Tra tali complessi viene menzionato anche il complesso di manganese (II), senza che

tuttavia ne venga fornito alcun dato sperimentale. Tali complessi vengono descritti solo dal punto di vista della sintesi chimica, senza alcun accenno o suggerimento alle possibili proprietà paramagnetiche utilizzabili nell'NMR imaging.

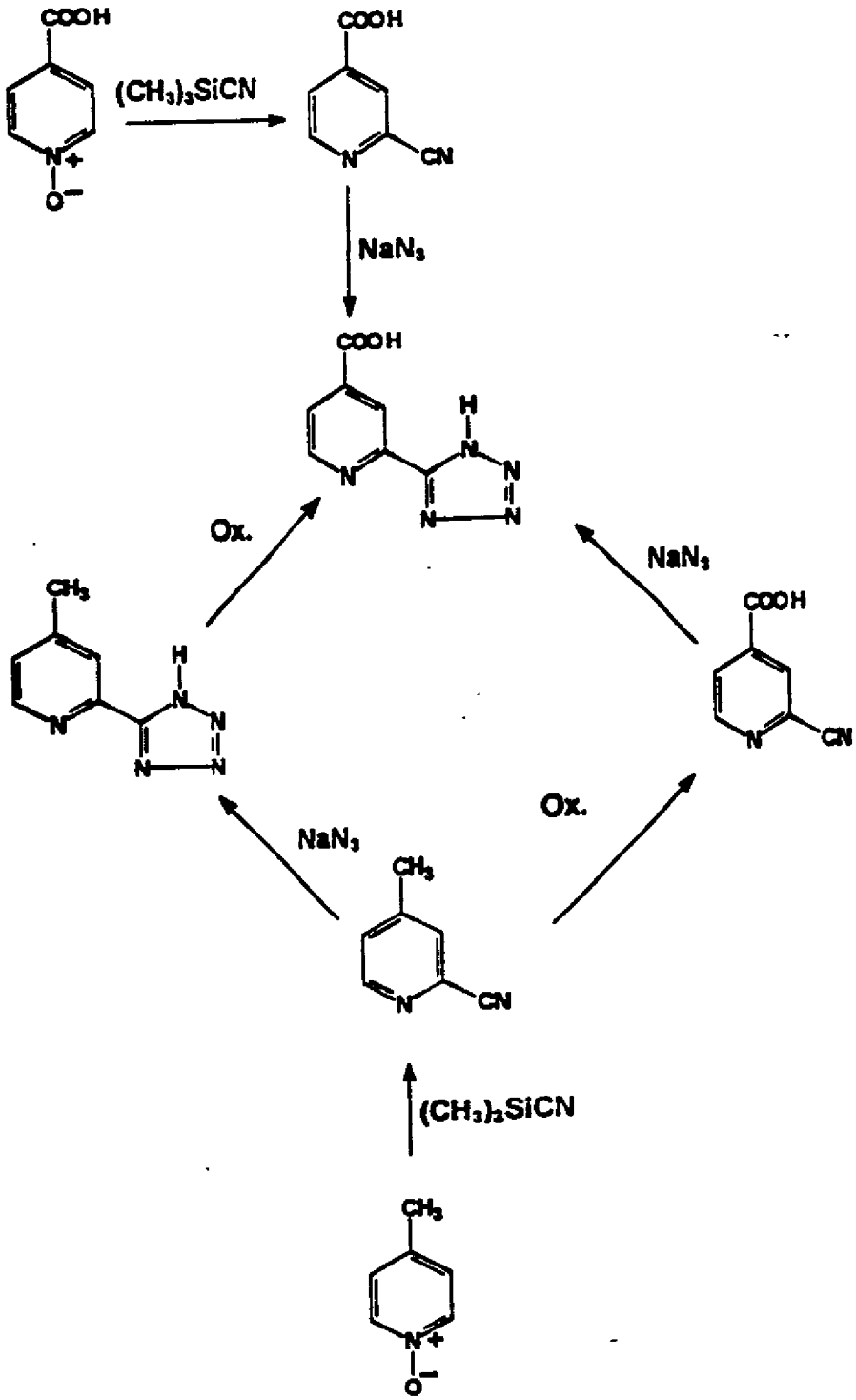
Anche il 5-pirazinil-tetrazolo, i cui complessi sono riportati nella formula (1), dove X=N e Y=C-H, è già noto nello stato della tecnica; il brevetto americano US 448107 (riassunto Derwent) ne descrive infatti la sintesi e l'utilizzo come agente antilipemico, senza alcun accenno alle sue proprietà chelanti. Secondo quanto noto al Richiedente, ad oggi non sono mai stati sintetizzati i complessi del 5-pirazinil-tetrazolo con metalli di transizione o lantanidi.

I leganti tetrazolici che formano i complessi dell'invenzione possono essere preparati mediante procedimenti noti nello stato della tecnica.

In particolare il 5-(2-piridil)-tetrazolo può venire vantaggiosamente preparato per condensazione di 2-cianopiridina con acido azotidrico, secondo procedure note.

Analogamente, il 5-pirazinil-tetrazolo può venire preparato per reazione di ciano-pirazina con NaN_3, in presenza di NH_4Cl.

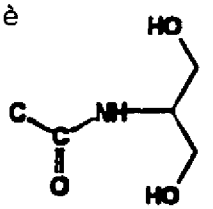
Nel caso del legante 5-(4-carbossi-2-piridil)-tetrazolo, il cui complesso è riportato nella formula (1), in cui X è C-COOH e Y è C-H, sono particolarmente vantaggiosi gli approcci sintetici di seguito riportati nello schema 1, che utilizzano procedure note nello stato della tecnica:



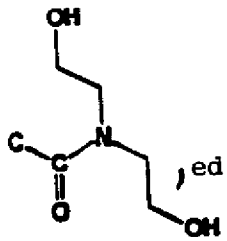
Schema 1

Nel caso invece dei leganti il cui complesso è riportato nella

Nel caso invece dei leganti il cui complesso è riportato nella formula (1), in cui X è

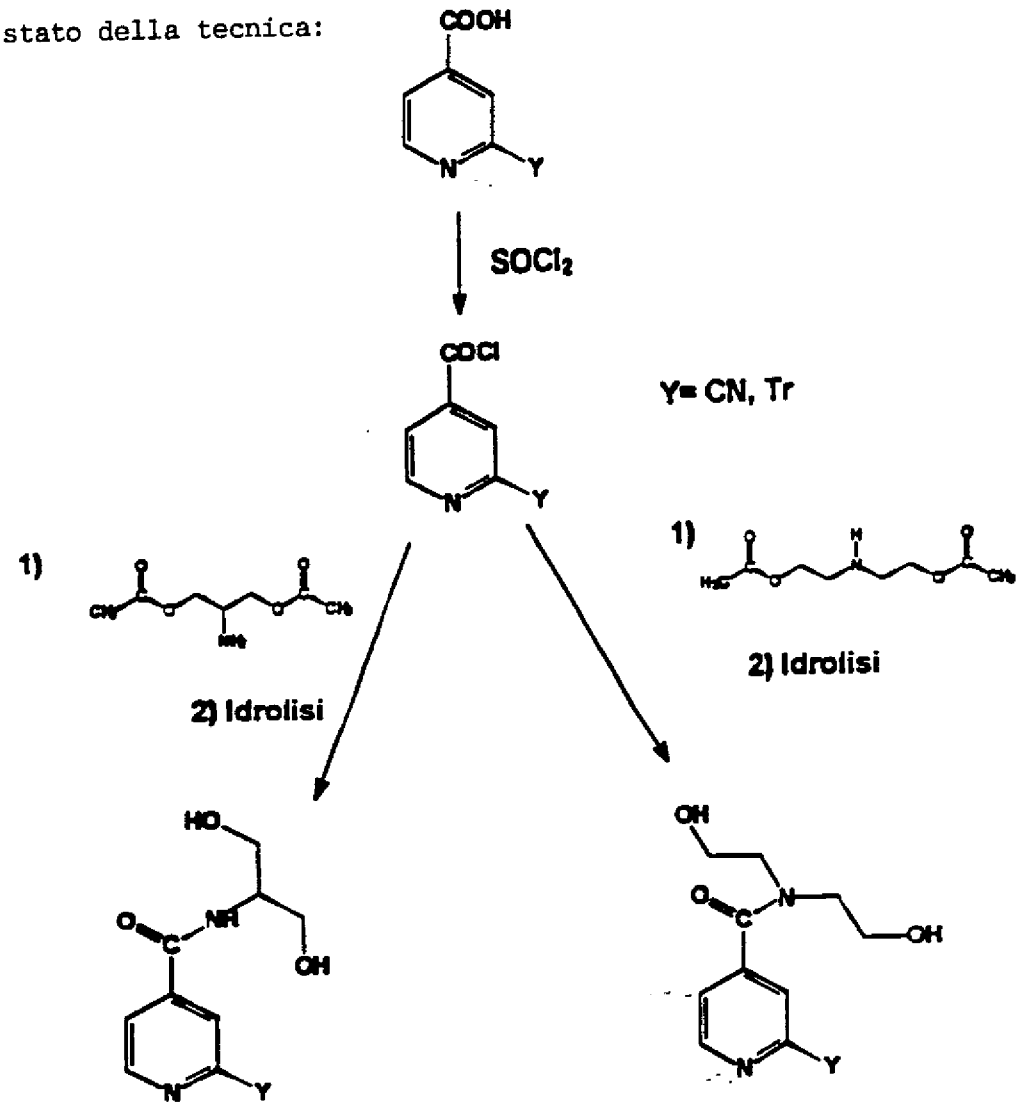


o



, ed y è C-H,

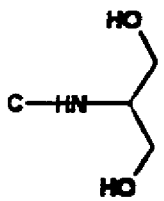
possono essere utilizzati gli approcci sintetici di seguito riportati nello schema 2, utilizzando steps di reazione noti nello stato della tecnica:



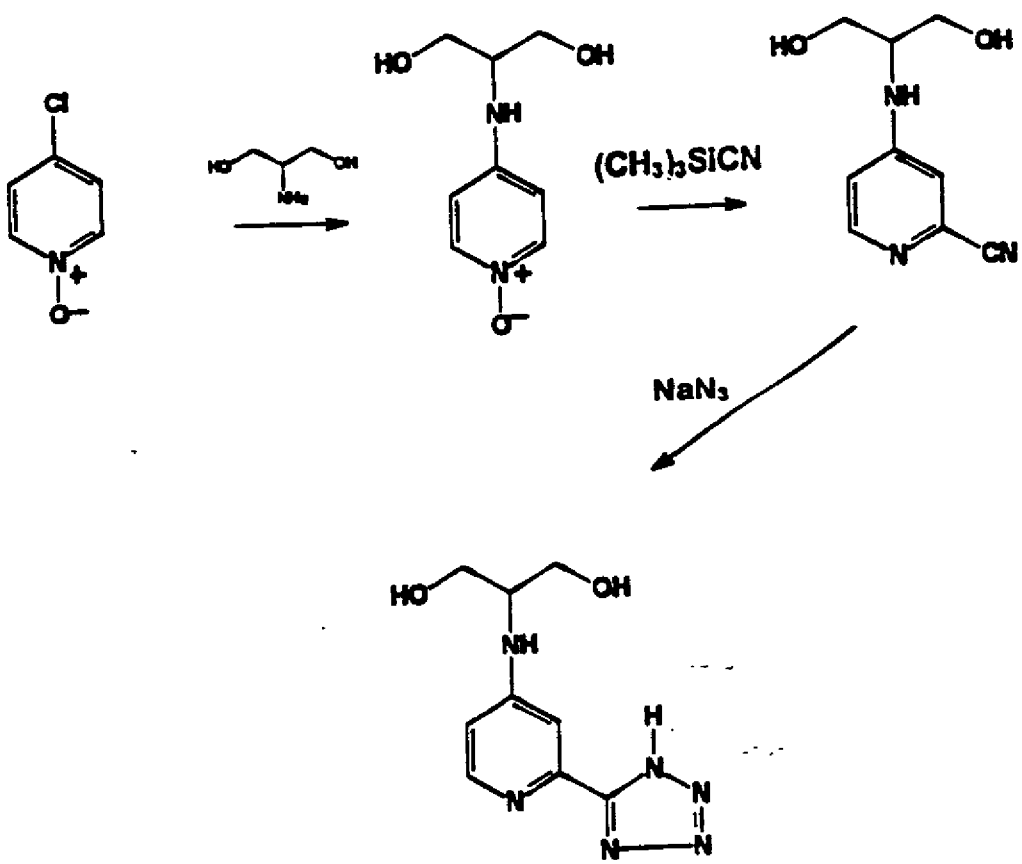
Schema 2

Schema 2

Secondo tale schema di sintesi, il serinolo e la dietanolammina possono essere fatti reagire proteggendo eventualmente in modo opportuno i gruppi ossidrilici liberi, ad esempio mediante esterificazione.

Infine, il legante in cui X è  ed y è C-H,

può essere vantaggiosamente sintetizzato mediante una sostituzione nucleofila sulla piridina, eventualmente proteggendo in modo opportuno gli ossidrili liberi del serinolo, secondo lo schema di sintesi 3 di seguito riportato:



Schema 3

Analoghi schemi di sintesi possono essere utilizzati anche nel caso in cui Y sia diverso da C-H, secondo procedure note nello stato della tecnica.

I complessi paramagnetici secondo la presente invenzione possono essere preparati sciogliendo o sospendendo l'ossido o un sale del metallo paramagnetico da complessare (ad esempio acetato, cloruro, nitrato o solfato) in acqua o in un alcol inferiore, quale ad esempio metanolo, etanolo o isopropanolo, ed aggiungendo sotto agitazione una quantità equivalente dell'agente chelante, eventualmente con opportuno riscaldamento. Detto chelante può venire aggiunto in forma solida o in soluzione acquosa o alcolica, o ancora come anione corrispondente in soluzione acquosa o alcolica.

Il complesso finale così ottenuto può venire isolato per filtrazione, se insolubile nel solvente di reazione, oppure per evaporazione della miscela di reazione fino a secchezza, mediante tecniche note.

I complessi dell'invenzione possono venire preparati anche con procedimenti differenti, noti nello stato della tecnica.

Alla luce della loro buona solubilità in acqua, i complessi dell'invenzione possono essere vantaggiosamente somministrati sia per via orale che per via parenterale, ed in particolare per via intravascolare, ad esempio intravenosa, intraarteriale, intracoronarica, intratecale, intraperitoneale, intralinfatica,

intracavitarica ed intraparenchimale.

Soluzioni o sospensioni de complessi dell'invenzione possono essere formulate in forma di aerosol, particolarmente adatti per broncografia.

La preparazione dei mezzi di contrasto per la diagnostica a NMR secondo la presente invenzione può venire vantaggiosamente effettuata sospendendo o sciogliendo i suddetti complessi in un mezzo acquoso, eventualmente in associazione con opportuni eccipienti e/o diluenti fisiologicamente accettabili, eventualmente sterilizzando la soluzione o sospensione finale nel caso di somministrazioni parenterali.

Detti eccipienti e/o diluenti fisiologicamente accettabili possono essere opportuni tamponi, elettroliti, aromi ecc.

Tuttavia possono essere utilizzati diversi procedimenti noti nello stato della tecnica.

I mezzi diagnostici secondo la presente invenzione contengono preferibilmente i suddetti complessi tetrazolici neutri in concentrazioni variabili da 1 μM a 1 M e vengono somministrati in quantità variabile da 0,001 a 5 mmoli/kg.

A scopo illustrativo ma non limitativo della presente invenzione, vengono di seguito riportati i seguenti esempi.

ESEMPIO 1

Sintesi di 5-(2-piridil)-tetrazolo

Ad una sospensione di 5,00 g di 2-cianopiridina (48,0 mmoli) e 4,17 g di NaN_3 (64,1 mmoli) in 125 ml di DMF anidra sono stati

aggiunti cautamente a spatolate 3,77 g di NH_4Cl (70,5 mmoli) e la miscela è stata posta in atmosfera di azoto.

La miscela di reazione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica per 20 ore, a 130°C, ed è stata quindi sottoposta a filtrazione. Il filtrato così ottenuto è stato quindi evaporato a secchezza, ottenendo un solido giallo chiaro.

Il prodotto è stato ridisciolto in 130 ml di HCl 0,1 M, scaldando fino alla solubilizzazione. Per raffreddamento a 4°C, sono stati infine isolati per precipitazione 5,48 g (37,2 mmoli) di 5-(2-piridil)-tetrazolo puro, con una resa pari al 77,5%.

Le caratteristiche chimico-fisiche del 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco aghiforme
Punto di fusione:	213 °C
Formula bruta:	$C_6H_5N_5$
Peso molecolare:	147,15

Spettro ^{1}H-NMR (300 MHz Varian®, in DMSO-d_6):

8,79 (1H, dd, ^3J=5,0; ^4J=1,7; H-6)

8,22 (1H, d, ^3J=8,0; H-3)

8,08 (1H, td, H-4)

7,63 (1H, dd, ^3J=8,0; H-5)

Spettro ^{1}H-NMR (300 MHz Bruker®, in D_2O):

8,79 (1H, d, ^3J=5,6; H-6)

8,35-8,48 (2H, m, H-3 e H-4)

7,88 (1H, dd, ^3J=7,5; H-5)

ESEMPIO 2

Sintesi di 5-pirazinil-tetrazolo

Ad una sospensione di 10,00 g di cianopirazina (95,15 mmoli) e 8,26 g di NaN_3 (127 mmoli) in 260 ml di DMF anidra sono stati aggiunti cautamente a spatolate 7,49 g di NH_4Cl (140 mmoli) e la miscela è stata posta in atmosfera di azoto.

La miscela di reazione è stata mantenuta sotto agitazione magnetica per 4 ore, a 130°C, ed è stata quindi sottoposta a filtrazione. Il filtrato così ottenuto è stato quindi evaporato a secchezza, ottenendo un solido arancio.

Il prodotto è stato ridisciolto in 150 ml di acqua distillata e la soluzione così ottenuta, inizialmente a pH=4, è stata quindi acidificata per aggiunta goccia a goccia di HCl 10% fino a pH=1, provocando la precipitazione del prodotto. Sono stati così isolati 10,7 g (72,2 mmoli) di 5-pirazinil-tetrazolo, con resa del 75,9%. Il prodotto è stato successivamente ricristalizzato da 80 ml di acqua.

Le caratteristiche chimico-fisiche del 5-pirazinil-tetrazolo ottenuto come descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido rosa chiaro
Punto di fusione:	192 °C
Formula bruta:	$C_5H_4N_6$
Peso molecolare:	148,13

Spettro ^{1}H-NMR (300 MHz Bruker®, in DMSO-d_6):

9,40 (1H, s, H-3)

8,90 (2H, s, H-5 e H-6)

Spettro ^{13}**C-NMR** (300 MHz Varian® in DMSO-d_6):

153,55 (C-2')

146,85 (C-5; J=186,8; ^{2}J=9,9; ^{3}J=9,9)

144,92 (C-6; J=186,7; ^{2}J=10,8)

143,40 (C-3; J=188,0; ^{3}J=10,0)

140,02 (C-2; ^{2}J=9,0; ^{3}J=9,0)

ESEMPIO 3

Preparazione del complesso di gadolinio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo

141 mg (1,02 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti in 5 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono stati aggiunti 300 mg (2,04 mmoli) di 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come descritto nell'Esempio 1. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

227 mg di acetato di gadolinio $Gd(OAc)_3$ (0,680 mmoli) sono stati sciolti in 5 ml di acqua e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-(2-piridil)-tetrazolo. Nella soluzione così ottenuta, inizialmente limpida, dopo 15 minuti, alla temperatura di 60°C, è stata osservata la formazione di un precipitato bianco, che è stato ulteriormente lasciato sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente per 90 minuti. Dopo filtrazione, sono stati isolati 351 mg di complesso di gadolinio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo

(0,492 mmoli), con una resa del 72,4%.

Il complesso così ottenuto è stato quindi ricristallizzato da 35 ml di acqua distillata e lasciato asciugare all'aria per 8 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di gadolinio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come sopra descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco
Punto di fusione:	> 240 °C
Formula bruta:	$C_{18}H_{25}GdN_{15}O_{6,5}$
Formula molecolare:	$(C_6H_4N_5)_3Gd \cdot 6,5\ H_2O$
Peso molecolare:	712,78
Solubilità in acqua:	$3,0 \cdot 10^{-3}$ M

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	30,33	30,14
% H	3,54	3,41
% N	29,48	29,53
% H_2O	16,43	16,30

(determinata con il metodo di Karl Fischer)

ESEMPIO 4

Preparazione del complesso di europio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo

141 mg (1,02 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti in 5 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono stati aggiunti 300 mg (2,04 mmoli) di 5-(2-piridil)-tetrazolo,

ottenuto come descritto nell'Esempio 1. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

224 mg di acetato di europio $Eu(OAc)_3$ (0,680 mmoli) sono stati sciolti in 5 ml di acqua e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-(2-piridil)-tetrazolo. Nella soluzione così ottenuta è stata immediatamente osservata la precipitazione di un solido bianco, che è stato lasciato sotto agitazione magnetica per 5 minuti, alla temperatura di 60°C e quindi a temperatura ambiente per un'ora. Dopo filtrazione, sono stati isolati 361 mg di complesso di europio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo (0,510 mmoli), con una resa del 75,0%.

Il complesso così ottenuto è stato quindi ricristallizzato da 50 ml di acqua distillata e lasciato asciugare all'aria per 5 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di gadolinio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come sopra descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco
Punto di fusione:	> 240°C
Formula bruta:	$C_{18}H_{25}EuN_{15}O_{6,5}$
Formula molecolare:	$(C_6H_4N_5)_3Eu \cdot 6,5\ H_2O$
Peso molecolare:	707,50

Spettro ^{1}H-NMR (300 MHz Varian®, in DMSO-d_6):

8,82-8,72 (1H, m, H-4 o H-5 accoppiato con il segnale a 8,30-8,22)

8,30-8,22 (1H, m, H-6 o H-3)

7,94-7,82 (1H, m, H-5 o H-4 accoppiato con il segnale a 7,82-7,72)

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	30,55	30,41
% H	3,57	3,41
% N	29,70	29,65
% H_2O	16,55	17,03

(determinata con il metodo di Karl Fischer)

ESEMPIO 5

Preparazione del complesso di disprosio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo

141 mg (1,02 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti in 5 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono stati aggiunti 300 mg (2,04 mmoli) di 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come descritto nell'Esempio 1. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

231 mg di acetato di disprosio $Dy(OAc)_3$ (0,680 mmoli) sono stati sciolti in 5 ml di acqua e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-(2-piridil)-tetrazolo. La soluzione così ottenuta è stata lasciata a reagire per 30 minuti, alla temperatura di 60°C, senza che sia stata osservata la formazione di alcun precipitato. Lasciando raffreddare la soluzione fino a temperatura ambiente è stato

osservato un intorbidimento della soluzione stessa, che è stata quindi mantenuta sotto agitazione magnetica per 12 ore a temperatura ambiente.

Dopo filtrazione, sono stati isolati 241 mg di complesso di disprosio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo (0,331 mmoli), con una resa del 48,7 %.

Il complesso così ottenuto è stato quindi ricristallizzato da 60 ml di acqua distillata e lasciato asciugare all'aria per 20 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di disprosio (III) di 5-(2-piridil)-tetrazolo ottenuto come sopra descritto sono le seguenti:

Stato fisico: solido bianco

Punto di fusione: > 240 °C

Formula bruta: $C_{18}H_{26}DyN_{15}O_7$

Formula molecolare: $(C_6H_4N_5)_3Dy \cdot 7\ H_2O$

Peso molecolare: 727,04

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	29,74	29,76
% H	3,61	3,47
% N	28,90	28,68

ESEMPIO 6

Preparazione del complesso di manganese (II) di 5-pirazinil-tetrazolo

233 mg (1,69 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti

in 5 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono stati aggiunti 500 mg (3,38 mmoli) di 5-pirazinil-tetrazolo, ottenuto come descritto nell'Esempio 2. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

414 mg di acetato di manganese $Mn(OAc)_2 \cdot 4\ H_2O$ (1,69 mmoli) sono stati sciolti in 3 ml di acqua distillata e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-pirazinil-tetrazolo. Nella soluzione così ottenuta è stata immediatamente osservata la precipitazione di un solido bianco, che è stato lasciato sotto agitazione magnetica per 1 ora, alla temperatura di 60°C.

Dopo filtrazione ed essiccamento sotto vuoto a 100°C per 3 ore, sono stati isolati 626 mg di complesso di manganese (II) di 5-pirazinil-tetrazolo (1,63 mmoli), con una resa del 96,4 %.

Il complesso così ottenuto è stato lavato con 8 ml di MeOH all'ebollizione e successivamente con 8 ml di acqua all'ebollizione, quindi nuovamente asciugato sotto vuoto a 100°C per 3 ore e lasciato all'aria per 5 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di manganese (II) di 5-pirazinil-tetrazolo ottenuto come sopra descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco
Punto di fusione:	> 240 °C
Formula bruta:	$C_{10}H_{10}MnN_{12}O_2$

Formula bruta:	$C_{10}H_{10}MnN_{12}O_2$
Formula molecolare:	$(C_5H_3N_6)_2Mn \cdot 2\ H_2O$
Peso molecolare:	385,21

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	31,18	31,15
% H	2,62	2,50
% N	43,63	43,46

ESEMPIO 7

Preparazione del complesso di gadolinio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo.

141 mg (1,02 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti in 2 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono stati aggiunti 300 mg (2,03 mmoli) di 5-pirazinil-tetrazolo, ottenuto come descritto nell'Esempio 2. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

252 mg di cloruro di gadolinio $GdCl_3 \cdot 6\ H_2O$ (0,677 mmoli) sono stati sciolti in 4 ml di acqua distillata e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-pirazinil-tetrazolo. La soluzione limpida così ottenuta è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 15 minuti, alla temperatura di 60°C; dopo rimozione del bagno ad acqua, la soluzione è stata lasciata sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente e dopo 20 minuti si è osservata la formazione di un precipitato bianco, che è stato ulteriormente

Dopo filtrazione ed essiccamento sotto vuoto a 100°C per 1 ora, sono stati isolati 320 mg di complesso di gadolinio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo (0,442 mmoli), con una resa del 65,3 %.

Il complesso così ottenuto è stato ricristallizzato da acqua e nuovamente asciugato all'aria per 5 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di gadolinio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo ottenuto come sopra descritto sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco
Punto di fusione:	> 240 °C
Formula bruta:	$C_{15}H_{23}GdN_{18}O_7$
Formula molecolare:	$(C_5H_3N_6)_3Gd \cdot 7\ H_2O$
Peso molecolare:	724,73
Solubilità in acqua:	$1,7 \cdot 10^{-2}$ M

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	24,86	24,65-24,60
% H	3,20	2,79-2,81
% N	34,79	34,45-34,37
% H_2O	17,40	17,75

(determinata con il metodo di Karl Fischer)

ESEMPIO 8

Preparazione del complesso di europio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo

141 mg (1,02 mmoli) di carbonato di potassio sono stati sciolti in 2 ml di acqua distillata ed alla soluzione così ottenuta sono

stati aggiunti 300 mg (2,03 mmoli) di 5-pirazinil-tetrazolo, ottenuto come descritto nell'Esempio 2. La miscela è stata lasciata quindi sotto costante agitazione magnetica, in un bagno ad acqua a 60°C, fino a completa solubilizzazione.

248 mg di cloruro di europio $EuCl_3 \cdot 6\ H_2O$ (0,677 mmoli) sono stati sciolti in 3 ml di acqua distillata e la soluzione risultante è stata aggiunta goccia a goccia alla soluzione contenente il 5-pirazinil-tetrazolo. La soluzione limpida così ottenuta è stata lasciata reagire per 10 minuti, alla temperatura di 60°C; dopo rimozione del bagno ad acqua, la soluzione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente e dopo 5 minuti è stata osservata la formazione di un precipitato solido bianco, che è stato ulteriormente lasciato sotto agitazione per 1 ora a temperatura ambiente.

Dopo filtrazione, sono stati isolati 357 mg di complesso di europio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo (0,462 mmoli), con una resa del 68,2 %.

Il complesso così ottenuto è stato ricristallizzato da 5 ml di acqua e lasciato infine asciugare all'aria per 8 giorni.

Le caratteristiche chimico-fisiche del complesso di europio (III) di 5-pirazinil-tetrazolo, ottenuto come sopra descritto, sono le seguenti:

Stato fisico:	solido bianco
Punto di fusione:	104 °C
Formula bruta:	$C_{15}H_{29}EuN_{18}O_{10}$

Formula molecolare: $(C_5H_3N_6)_3Eu \cdot 10\ H_2O$

Peso molecolare: 773,50

Solubilità in acqua: $2,3 \cdot 10^{-2}$ M

Spettro ^{1}H-NMR (300 MHz Bruker®, in DMSO-d_6):

9,28 (1H, s, H-3)

8,67 (1H, s, H-5)

8,59 (1H, s, H-6)

Analisi elementare:	teorico	trovato
% C	23,29	23,34
% H	3,78	3,49
% N	32,60	32,60
% H_2O	23,29	22,60

(determinata con il metodo di Karl Fischer)

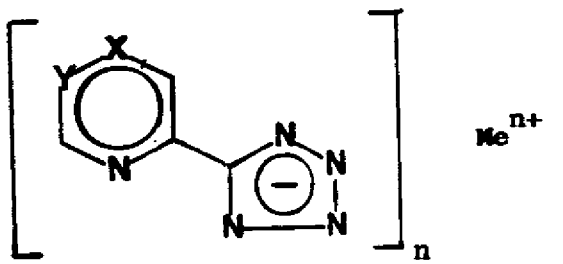
ESEMPIO 9

Preparazione di una soluzione del complesso di Gd (III) del 5-pirazinil-tetrazolo (Es. 7) per uso parenterale

725 g (1 mole) del complesso di gadolinio (III) del 5-pirazinil-tetrazolo, preparato come descritto nell'esempio 7, sono stati sospesi in 1000 ml di acqua per iniezione; la soluzione neutra cosi ottenuta è stata travasata, attraverso un filtro pirogeno, in fiale e sterilizzata a caldo, ottenendo un mezzo di contrasto 1 M, utile per somministrazione parenterale.

RIVENDICAZIONI

1. Complesso neutro di formula (1):

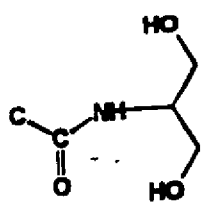


(1)

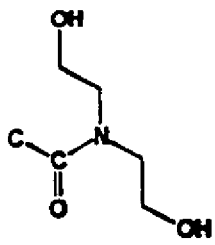
in cui X e Y sono scelti nel gruppo costituito da C-H, N, N→O, C-COOH, $C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NR_1R_2$ e $C-NR_1R_2$, in cui almeno uno dei due residui X e Y è C-H, R_1 ed R_2 essendo H o un residuo alchilico lineare o ramificato, saturo o insaturo, contenente da 1 a 6 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con almeno un gruppo -OH; oppure R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di un amminozucchero ed R_2 è H;

Me può essere manganese (II) o un lantanide (III), ed n può essere 2 o 3, con la condizione che, quando X e Y sono C-H, Me^{n+} è diverso da Mn^{2+}.

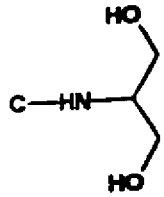
2. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che $C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NR_1R_2$ è



o



3. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1,

caratterizzato dal fatto che $C\text{-}NR_1R_2$ è 

4. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di una glicosammina.

5. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che detta glicosammina è scelta nel gruppo costituito da D-glucosammina, D-galattosammina e D-mannosammina.

6. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che Me è scelto nel gruppo costituito da Mn(II), Gd(III), La(III), Sm(III), Dy(III), Ho(III) e Yb(III).

7. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 6, caratterizzato dal fatto che Me è Gd(III) o Mn(II).

8. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che X e Y sono C-H e Me^{n+} è scelto nel gruppo costituito da Eu^{3+}, Gd^{3+} e Dy^{3+}.

9. Il complesso neutro secondo al rivendicazione 8, caratterizzato dal fatto che Me^{n+} è Eu^{3+} o Gd^{3+} e detto complesso coordina 6,5 molecole d'acqua.

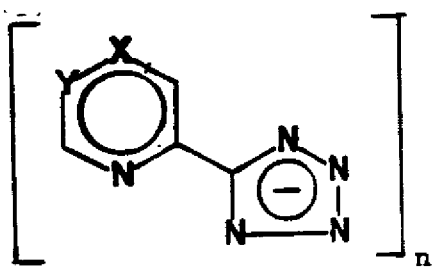
10. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che X è N, Y è C-H e Me^{n+} è scelto nel gruppo costituito da Eu^{3+}, Gd^{3+} e Mn^{2+}.

11. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 10, caratterizzato dal fatto che Me^{n+} è Eu^{3+} e detto complesso coordina 10 molecole d'acqua.

12. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 10, caratterizzato dal fatto che Me^{n+} è Gd^{3+} e detto complesso coordina 7 molecole d'acqua.

13. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 10, caratterizzato dal fatto che Me^{n+} è Mn^{2+} e detto complesso coordina 2 molecole d'acqua.

14. Procedimento per la preparazione di un complesso neutro di formula (1):



(1)

in cui X e Y sono scelti nel gruppo costituito da C-H, N, N→O, C-COOH, $C-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NR_1R_2$ e $C-NR_1R_2$, in cui almeno uno dei due residui X e Y è CH, R_1 ed R_2 essendo H o un residuo alchilico lineare o ramificato, saturo o insaturo, contenente da 1 a 6 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con almeno un gruppo -OH; oppure R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di un amminozucchero ed R_2 è H;

Me può essere manganese (II) o un lantanide (III), ed n può

essere 2 o 3, con la condizione che, quando X e Y sono C-H, Me^{n+} è diverso da Mn^{2+}, comprendente:

- la miscelazione di una soluzione o sospensione dell'ossido o di un sale di Me in acqua o in alcol inferiore con una quantità equivalente dell'agente chelante, eventualmente con opportuno riscaldamento;
- l'isolamento del complesso neutro per filtrazione o per essiccazione della miscela ottenuta dallo stadio precedente.

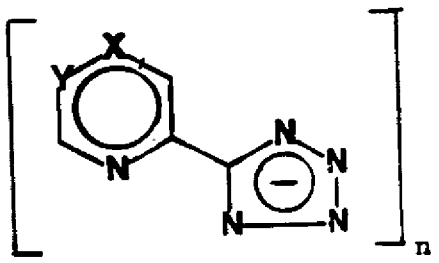
15. Il procedimento secondo la rivendicazione 14, caratterizzato dal fatto che detto sale di Me è scelto nel gruppo costituito da acetato, cloruro, nitrato e solfato di Me.

16. Il procedimento secondo la rivendicazione 14, caratterizzato dal fatto che detto alcol inferiore è metanolo, etanolo e/o isopropanolo.

17. Il procedimento secondo la rivendicazione 14, caratterizzato dal fatto che detto agente chelante viene preventivamente sciolto o sospeso in soluzione acquosa o alcolica.

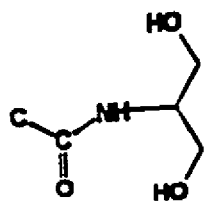
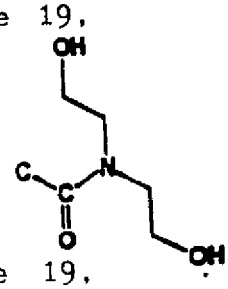
18. Il procedimento secondo la rivendicazione 17, caratterizzato dal fatto che detto agente chelato è preparato in forma anionica.

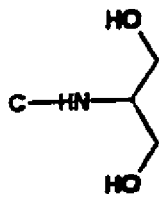
19. Mezzo di contrasto per diagnostica a NMR contenente una quantità efficace di almeno un complesso neutro di formula (1):



(1)

in cui X e Y sono scelti nel gruppo costituito da C-H, N, N-O, C-COOH, $C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NR_1R_2$ e $C-NR_1R_2$, in cui almeno uno dei due residui X e Y è CH, R_1 ed R_2 essendo H o un residuo alchilico lineare o ramificato, saturo o insaturo, contenente da 1 a 6 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con almeno un gruppo -OH; oppure R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di un amminozucchero ed R_2 è H; Me può essere manganese (II) o un lantanide (III), ed n può essere 2 o 3;
in cui detto complesso neutro è sciolto o sospeso in un mezzo acquoso o alcolico, eventualmente in associazione con adatti eccipienti e/o diluenti.

20. Il mezzo di contrasto secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che $C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NR_1R_2$ è  o 

21. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che $C-NR_1R_2$ è 

22. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che R_1 forma con l'atomo di azoto adiacente il residuo amminico di una glicosammina.

23. Il complesso neutro secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che Me è Gd(III) o Mn(II).

24. Il mezzo di contrasto secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che X e Y sono C-H e Me^{n+} è scelto nel gruppo costituito da Eu^{3+}, Gd^{3+} e Dy^{3+}.

25. Il mezzo di contrasto secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che X è N, Y è C-H e Me^{n+} è scelto nel gruppo costituito da Eu^{3+}, Gd^{3+} e Mn^{2+}.

26. Il mezzo di contrasto secondo la rivendicazione 19, caratterizzato dal fatto che detto complesso neutro è contenuto in quantità variabili da 1 μM a 1 M.

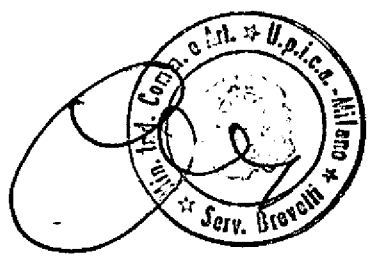
(REV/lm)
REV
Milano, li 19 LUG. 1995

p. PAGANI GIORGIO

il Mandatario

Dr.ssa Gemma Gervasi della

NOTARBARTOLO & GERVASI s.r.l.



NOTARBARTOLO & GERVASI S.R.L.

MI 95 A 001561

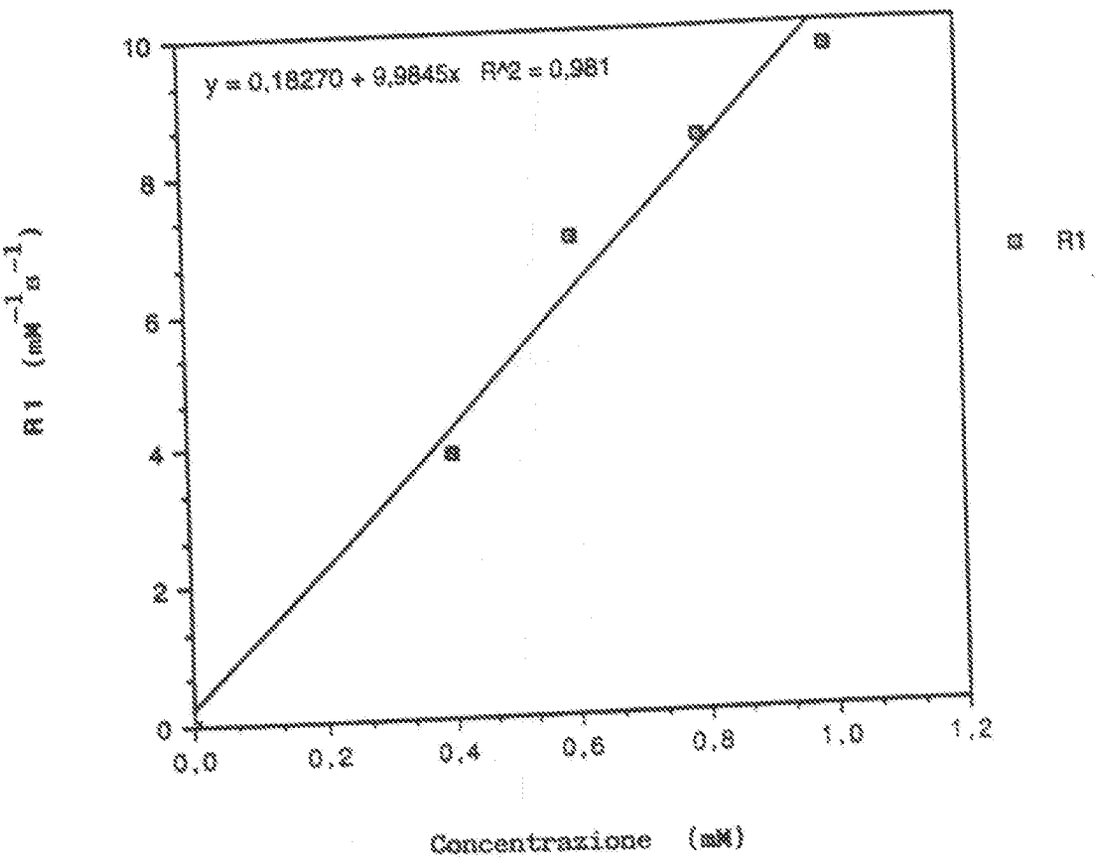


FIGURA 1

Velocità di rilassamento R_1 dei protoni dell'acqua in soluzioni contenenti il complesso di Gd(III) dell'Esempio 7 in funzione delle concentrazioni delle soluzioni stesse, a 300 MHz.