

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 143**

51 Int. Cl.:
A61K 49/10 (2006.01)
A61K 49/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08864838 .1**
96 Fecha de presentación: **19.12.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2222346**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.09.2010**

54 Título: **Agente de obtención de imágenes por RM, medio de obtención de imágenes y procedimientos para la obtención de imágenes en los que se utiliza dicho medio de obtención de imágenes**

30 Prioridad:
21.12.2007 NO 20076640

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.04.2012

73 Titular/es:
**GE HEALTHCARE LIMITED
AMERSHAM PLACE LITTLE CHALFONT
BUCKINGHAMSHIRE HP7 9NA, GB**

72 Inventor/es:
**GISSELSSON, Anna;
HANSSON, Georg;
MÅNSSON, Sven;
IN'T ZANDT, René;
KARLSSON, Magnus;
JENSEN, Pernille, R. y
LERCHE, Mathilde, H.**

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 379 143 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 obtención de imágenes por RM, medio de obtención de imágenes y procedimientos para la obtención de imágenes en los que se utiliza dicho medio de obtención de imágenes

5 La invención se refiere a ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, a su uso como agente de obtención de imágenes, a un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado y a dicho medio de obtención de imágenes para el uso en procedimientos de detección por ^{13}C -RM. Además, la invención se refiere a procedimientos para producir ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado.

10 La obtención de imágenes (IRM) por resonancia magnética (RM) es una técnica que se ha vuelto particularmente atractiva para los médicos ya que pueden obtenerse imágenes del cuerpo de un paciente o partes del mismo en una forma no invasiva y sin exponer al paciente y al personal médico a radiación potencialmente dañina, tal como rayos X. Debido a sus imágenes de alta calidad y buena resolución temporal y espacial, IRM es una técnica favorable de obtención de imágenes para la obtención de imágenes de tejido blando y órganos.

15 IRM puede llevarse a cabo con o sin agentes de contraste para RM. Sin embargo, la IRM potenciadas por contraste habitualmente permite la detección de cambios de tejido mucho más pequeño lo que la convierte en una herramienta poderosa para la detección de cambios de tejido en etapa temprana como por ejemplo tumores pequeños o metástasis.

20 Se han utilizado diversos tipos de agentes de contraste en IRM. Los quelatos metálicos solubles en agua, por ejemplo quelatos de gadolinio como Omniscan™ (GE Healthcare) son agentes de contraste para RM ampliamente usados. Debido a su bajo peso molecular rápidamente se distribuyen en el espacio extracelular (es decir la sangre y el intersticio) cuando se administran en la vasculatura. También se depuran relativamente rápidamente del cuerpo.

25 Los agentes de contraste para RM combinados con sangre por otro lado, por ejemplo partículas de óxido de hierro superparamagnéticas, son retenidas dentro de la vasculatura durante un tiempo prolongado. Han probado ser extremadamente útiles para mejorar el contraste en el hígado pero también para detectar las anomalías de permeabilidad capilar, por ejemplo paredes capilares "con fugas" en tumores que son un resultado de angiogénesis tumoral.

A pesar de las excelentes propiedades indiscutidas de los agentes de contraste antes mencionados su uso implica algún riesgo. Aunque los quelatos metálicos paramagnéticos habitualmente tienen altas constantes de estabilidad, es posible que los iones metálicos tóxicos sean liberados en el cuerpo después de la administración. Además, estos tipos de agentes de contraste muestran poca especificidad.

30 El documento WO-A-99/35508 divulga un procedimiento de investigación por RM de un paciente mediante la utilización de una solución hiperpolarizada de un agente superior T_1 como agente de contraste de IRM. El término "hiperpolarización" significa potenciar la polarización nuclear de los núcleos activos por RMN presentes en el agente superior T_1 es decir núcleos con spin nuclear distinto de cero, preferentemente núcleos ^{13}C o ^{15}N . Al potenciar la polarización nuclear de los núcleos activos por RMN, la diferencia de población entre los estados de spin nuclear excitado y de mínima energía de estos núcleos se incrementa significativamente y de ese modo la intensidad de señal pro RM es amplificada en un factor de cien y más. Al utilizar agente T_1 superior enriquecido con ^{13}C y/o ^{15}N hiperpolarizado, esencialmente no habrá ninguna interferencia de las señales de fondo ya que la abundancia natural de ^{13}C y/o ^{15}N es insignificante y de ese modo el contraste de imagen será ventajosamente alto. La principal diferencia entre los agentes de contraste de IRM convencionales y estos agentes T_1 superiores hiperpolarizados es que los cambios en el contraste en los primeros son causados al afectar los tiempos de relajación de protones de agua en el cuerpo mientras que la última clase de agentes puede considerarse como trazadores no radioactivos, ya que la señal obtenida surge solamente del agente.

35 Una variedad de posibles agentes T_1 superiores para el uso con agentes de obtención de imágenes por RM se divulga en el documento WO-A-99/35508, incluyendo compuestos endógenos y no endógenos. Como ejemplos de los últimos intermediarios en los ciclos metabólicos normales se mencionan lo que se dice que son preferentes para la obtención de imágenes de actividad metabólica. Mediante la obtención de imágenes in vivo de la actividad metabólica, puede obtenerse información del estado metabólico de un tejido y dicha información por ejemplo puede utilizarse para discriminar entre tejido saludable y enfermo.

40 Por ejemplo piruvato es un compuesto que juega un papel en el ciclo ácido cítrico y la conversión de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en sus metabolitos ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada puede utilizarse para el estudio por RM in vivo de los procesos metabólicos en el cuerpo humano.

45 Puede utilizarse la conversión metabólica de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en sus metabolitos ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada en el estudio por RM in vivo de los procesos metabólicos en el cuerpo humano ya que se ha descubierto que dicha conversión es lo suficientemente rápida para permitir la detección de la señal del compuesto progenitor, es decir ^{13}C -piruvato hiperpolarizado, y sus metabolitos. La cantidad de alanina, bicarbonato y lactato depende del estado metabólico del tejido en investigación.

La intensidad de señal por RM del ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada está relacionada con la cantidad de estos compuestos y el grado de polarización que queda al momento de la detección, en consecuencia al monitorear la conversión del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada es posible estudiar los procesos metabólicos in vivo en el cuerpo animal no humano o humano mediante la utilización de obtención de imágenes por RM no invasiva y/o espectroscopía por RM.

Las amplitudes de señal por RM que surgen de los diferentes metabolitos de piruvato varían dependiendo del tipo de tejido. El único patrón de pico metabólico formado por alanina, lactato, bicarbonato y piruvato puede utilizarse como huella digital para el estado metabólico del tejido sometido a examen.

Por ejemplo el ^{13}C -piruvato hiperpolarizado puede utilizarse como un agente de obtención de imágenes por RM para evaluar la viabilidad del tejido miocárdico mediante la obtención de imágenes por MR según lo que se describe en detalle en el documento WO-A-2006/054903 y para la obtención de imágenes tumorales in vivo según lo que se describe en detalle en el documento WO-A-2006/011810.

El tejido tumoral a menudo se caracteriza por una perfusión incrementada y mayor actividad metabólica. El proceso de incrementar el lecho vascular, angiogénesis, es inducido por células que debido a sus necesidades metabólicas superiores y/o su mayor distancia desde un capilar no son capaces de obtener suficientes sustratos que pueden proporcionar la energía necesaria para sostener la homeóstasis de energía. Es en esta área, donde las células tienen problemas en la producción de suficiente energía, se espera un cambio marcado en el patrón metabólico. El tejido con problemas de sostenimiento de homeóstasis de energía alterarán su metabolismo de energía que en particular resulta en un incremento en la producción de lactato. Con el uso de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado como un agente de obtención de imágenes por RM, esta mayor actividad metabólica puede observarse mediante un incremento en la producción de ^{13}C -lactato que puede ser detectada por detección por ^{13}C -RM.

Sin embargo, debido a que la producción de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado que es apropiado como un agente de obtención de imágenes in vivo implica desafíos, existe la necesidad de agentes de obtención de imágenes hiperpolarizados alternativos que puedan utilizarse para obtener información acerca de la actividad metabólica, especialmente en el campo de la oncología.

Los inventores han descubierto ahora que puede utilizarse ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado como dicho agente de obtención de imágenes.

El ácido α -cetoisocaproico es metabolizado en forma reversible en leucina; la aminotransferasa de cadena ramificada enzimática cataliza dicha reacción y se necesita glutamato/ α -cetoglutarato como co-sustrato. Además, la descarboxilación de un ácido α -cetoisocaproico por deshidrogenasa de α -cetoácido de cadena ramificada resulta en la formación de CO_2 y posteriormente bicarbonato. Ambas de estas conversiones metabólicas de ácido α -cetoisocaproico tienen lugar en la mitocondria. En consecuencia, al utilizar ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado como agente de obtención de imágenes, puede evaluarse la actividad metabólica.

De ese modo, en un primer aspecto la invención proporciona un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado

La expresión "medio de obtención de imágenes" indica una composición líquida que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado como agente activo por RM, es decir agente de obtención de imágenes.

El medio de obtención de imágenes en conformidad con las reivindicaciones puede utilizarse como un medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vivo, es decir en seres vivos animales no humanos o humanos. Además, el medio de obtención de imágenes en conformidad con las reivindicaciones puede utilizarse como medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vitro, por ejemplo de cultivos celulares, muestras como por ejemplo orina, saliva o sangre, tejido ex vivo, por ejemplo tejido ex vivo obtenida de una biopsia u órganos aislados, todos ellos obtenidos de un cuerpo vivo de animal no humano o humano. En una realización preferente, el medio de obtención de imágenes en conformidad con las reivindicaciones puede utilizarse como un medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vivo

El término "detección por ^{13}C -RM" indica imágenes por ^{13}C -RM o espectroscopía por ^{13}C -RM o imágenes por ^{13}C -RM y espectroscopía por ^{13}C -RM, es decir imágenes espectroscópicas por ^{13}C -RM. El término además indica imágenes espectroscópicas por ^{13}C -RM en diversos puntos de tiempo.

El término " ^{13}C - α -cetoisocaproato" indica una sal de ácido 4-metil-2-oxopentanoico, es decir una sal que comprende 4-metil-2-oxopentanoato como un anión y dicha sal está isotópicamente enriquecida con ^{13}C .

El enriquecimiento isotópico de ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado es preferentemente al menos 75%, más preferentemente al menos 80% y especialmente preferentemente al menos 90%, siendo mucho más preferente un enriquecimiento isotópico superior al 90%. Idealmente, el enriquecimiento es 100%. Generalmente, ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en conformidad con la invención puede enriquecerse isotópicamente en cualquier átomo de carbono en la molécula. Sin embargo, para lograr un T1 largo, es preferible que ^{13}C - α -cetoisocaproato está

isotópicamente enriquecido con ^{13}C en la posición C1 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato) o en la posición C2 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_2$ - α -cetoisocaproato) o en la posición C4 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_4$ - α -cetoisocaproato). El múltiple enriquecimiento también es posible como el enriquecimiento isotópico en la posición C1 y C2 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_{1,2}$ - α -cetoisocaproato), en la posición C1 y C4 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_{1,4}$ - α -cetoisocaproato) o en la posición C1, C2 y C4 (a continuación indicado $^{13}\text{C}_{1,2,4}$ - α -cetoisocaproato). Es preferente el enriquecimiento isotópico en la posición C1.

Los términos "hiperpolarizado" y "polarizado" se utilizan en forma intercambiable de aquí en adelante e indican un nivel de polarización nuclear más de 0,1%, más preferente más de 1% y mucho más preferente más de 10%.

El nivel de polarización por ejemplo puede determinarse mediante mediciones por ^{13}C -RMN en estado sólido en ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado sólido, por ejemplo ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado sólido obtenido por polarización nuclear dinámica (DNP) de ^{13}C - α -cetoisocaproato. La medición por ^{13}C -RMN en estado sólido preferentemente consiste en una secuencia de RMN adquirida por pulsos simples mediante la utilización de un ángulo de excitación baja. La intensidad de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en el espectro de RMN se compara con la intensidad de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato en un espectro de RMN adquirido antes del proceso de polarización. El nivel de polarización después se calcula a partir de la relación de las intensidades de señales antes y después de la polarización.

En forma similar, el nivel de polarización para ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado disuelto puede determinarse mediante mediciones de RMN en estado líquido. Nuevamente la intensidad de señal del ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado disuelto se compara con la intensidad de señal del ^{13}C - α -cetoisocaproato disuelto antes de la polarización. El nivel de polarización después se calcula a partir de la relación de las intensidades de señales de ^{13}C - α -cetoisocaproato antes y después de la polarización.

La hiperpolarización de los núcleos ^{13}C activos por RMN puede lograrse mediante diferentes procedimientos que por ejemplo se describen en los documentos WO-A-98/30918, WO-A-99/24080 y WO-A-99/35508 y los procedimientos de hiperpolarización conocidos en la técnica son transferencia por polarización de un gas noble, "fuerza bruta", refrigeración por spin, el procedimiento de parahidrógeno y polarización nuclear dinámica (DNP).

El ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado puede obtenerse mediante la polarización directa de ^{13}C - α -cetoisocaproato o mediante la polarización de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico y posterior conversión (neutralización) del ácido en ^{13}C - α -cetoisocaproato con una base. Debido a que la neutralización con una base es un paso adicional, es preferible polarizar directamente ^{13}C - α -cetoisocaproato. Los ^{13}C - α -cetoisocaproatos apropiados están comercialmente disponibles o pueden prepararse a partir de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico/ ^{13}C - α -cetoisocaproatos comercialmente disponibles y se debatirán en detalle en los siguiente párrafos.

Un modo de obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizados es transferencia por polarización de un gas noble hiperpolarizado que se describe en el documento WO-A-98/30918. Los gases nobles que tienen spin nuclear distinto de cero pueden hiperpolarizarse mediante el uso de luz circularmente polarizada. Un gas noble hiperpolarizado, preferentemente He o Xe, o una mezcla de dichos gases, puede utilizarse para efectuar la hiperpolarización de los núcleos ^{13}C . El gas hiperpolarizado puede estar en la fase gaseosa, puede estar disuelto en un líquido/disolvente, o el mismo gas hiperpolarizado puede servir como disolvente. Alternativamente, el gas puede condensarse en una superficie sólida enfriada y utilizarse en esta forma, o puede permitirse que sublime. Es preferible el mezclado íntimo del gas hiperpolarizado con ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico/ ^{13}C - α -cetoisocaproato.

Otra forma de obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizados es que la polarización sea impartida a los núcleos ^{13}C mediante equilibrio termodinámico a una temperatura muy baja y alto campo. La hiperpolarización en comparación con el campo de operación y la temperatura del espectrómetro de RMN se efectúa mediante el uso de un campo muy alto y temperatura muy baja (fuerza bruta). La resistencia del campo magnético utilizada debe ser tan alta como sea posible, apropiadamente mayor que 1 T, preferentemente mayor que 5 T, más preferentemente 15 T o más y especialmente preferentemente 20 T o más. La temperatura debe ser muy baja, por ejemplo 4,2 K o menos, preferentemente 1,5 K o menos, más preferentemente 1,0 K o menos, especialmente preferentemente 100 mK o menos.

Otra forma de obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado es el procedimiento de refrigeración de spin. Este procedimiento contempla la polarización de spin de un compuesto o sistema sólido mediante la polarización por refrigeración de spin. El sistema se dopa con o mezcla íntimamente con materiales paramagnéticos cristalinos apropiados tales como iones Ni^{2+} , lantánido o actínido con un eje de simetría de orden tres o más. La instrumentación es más simple que la requerida para DNP sin necesidad de un campo magnético uniforme ya que no se aplica ningún campo de excitación de resonancia. El proceso se lleva a cabo mediante la rotación física de la muestra alrededor de un eje perpendicular a la dirección del campo magnético. El pre-requisito para este procedimiento es que la especie paramagnética tenga un factor g altamente anisotrópico. Como resultado de la rotación de la muestra, la resonancia paramagnético electrónica se pondrá en contacto con los spins nucleares, llevando a una reducción en la temperatura de spin nuclear. La rotación de la muestra se lleva a cabo hasta que la polarización del spin nuclear haya alcanzado un nuevo equilibrio.

En una realización preferente, se utiliza DNP (polarización nuclear dinámica) para obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado. En la DNP, la polarización de los núcleos activos por RM en un compuesto a ser polarizado es afectada por un agente de polarización o así denominado agente de DNP, un compuesto que comprende electrones no apareados. Durante el proceso de DNP, se proporciona energía normalmente en forma de radiación de microondas, que inicialmente excitará el agente de DNP. Al descomponerse hasta el estado de mínima energía, existe una transferencia de polarización de electrón no apareado del agente de DNP a los núcleos activos por RMN del compuesto a ser polarizado, por ejemplo a los núcleos ^{13}C en el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato. Generalmente, se utilizan un campo magnético moderado o alto y una temperatura muy baja en el proceso de DNP, por ejemplo al llevar a cabo el proceso de DNP en helio líquido u un campo magnético de aproximadamente 1 T o más. Alternativamente, puede emplearse un campo magnético moderado y cualquier temperatura en la que se logre suficiente potencia de polarización. La técnica de DNP por ejemplo además se describe en el documento WO-A-98/58272 y en el documento WO-A-01/96895.

Para polarizar una entidad química, es decir compuesto, mediante el procedimiento DNP, se prepara una composición del compuesto a ser polarizado y un agente de DNP que después se congela opcionalmente y se inserta en el polarizador de DNP (donde se congelará si no ha sido congelada antes) para la polarización. Después de la polarización, la composición sólida congelada hiperpolarizada es transferida rápidamente al estado líquido fundiéndola o disolviéndola en un medio de disolución apropiado. La disolución es preferente y el proceso de disolución de una composición hiperpolarizada congelada y los dispositivos apropiados a partir de ahí son según lo que se describe en detalle en el documento WO-A-02/37132. El proceso de fusión y los dispositivos apropiados para la fusión por ejemplo se describen en el documento WO-A-02/36005.

Para obtener un alto nivel de polarización en el compuesto a ser polarizado dicho compuesto y el agente de DNP necesitan estar en contacto íntimo durante el proceso de DNP. Esto no es el caso si la composición se cristaliza al ser congelada o enfriada. Para evitar la cristalización, formadores de vidrio necesitan estar presentes en la composición o se necesita elegir compuestos para la polarización que no se cristalicen al ser congelados sino que formen un vidrio.

En una realización, se utiliza ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico, preferentemente ácido $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproico como un material de partida para obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP que después se neutraliza y se convierte en ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado con la ayuda de una base. En otra realización, se utiliza ^{13}C - α -cetoisocaproato, preferentemente $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato como material de partida para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP.

En una primera realización, se utiliza ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico, preferentemente ácido $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproico como material de partida para obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP que después se neutraliza y se convierte en ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado con la ayuda de una base. El ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico es un compuesto comercialmente disponible; puede prepararse alternativamente ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico a partir de ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio comercialmente disponible mediante la conversión con un ácido, un proceso que es bien conocido en la técnica u se ilustra en la parte de Ejemplos de esta solicitud.

En una segunda realización, se utiliza ^{13}C - α -cetoisocaproato, preferentemente $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato como material de partida para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP. Los ^{13}C - α -cetoisocaproatos apropiados son por ejemplo ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio o ^{13}C - α -cetoisocaproatos que comprenden un catión inorgánico del grupo que consiste en NH_4^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Ca^{2+} , Sr^{2+} y Ba^{2+} , preferentemente NH_4^+ , K^+ , Rb^+ o Cs^+ , más preferentemente K^+ , Rb^+ , Cs^+ y mucho más preferentemente Cs^+ , como se describe en detalle en el documento WO-A-2007/111515. En otra realización, se utilizan ^{13}C - α -cetoisocaproatos de una amina orgánica o compuesto amino como material de partida, más preferentemente TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato o ácido de meglumina- ^{13}C - α -cetoisocaproato. Estas sales se describen en detalle en el documento WO-A-2007/069909.

El término "TRIS" indica 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanediol y el término "TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato" indica una sal que contiene un anión de ^{13}C - α -cetoisocaproato y un catión de TRIS, es decir amonio de TRIS (hidroximetil-1,3-propanediol amonio).

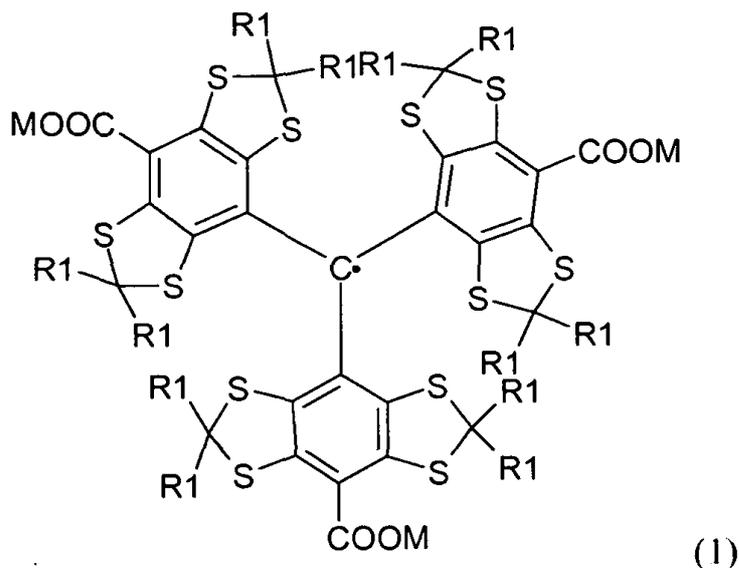
Para la hiperpolarización de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato mediante el procedimiento DNP, se prepara una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato y un agente de DNP.

El agente de DNP juega un papel decisivo en el proceso de DNP ya que su elección tiene un importante impacto en el nivel de polarización que puede lograrse en el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato. Se conoce una variedad de agentes de DNP – en el documento WO-A-99/35508 indicados como "agentes de contraste OIRM". El uso de radicales tritilo estables a base de carbono, a base de azufre o a base de oxígeno según lo que se describe en los documentos WO-A-99/35508, WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711 o WO-A-96/39367 ha dado como resultado altos niveles de polarización en una variedad de diferentes muestras.

En una realización preferente, el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado se obtiene mediante DNP y el agente de DNP utilizado es un radical tritilo de fórmula (1). Tal como se menciona brevemente más arriba, la gran polarización de spin electrónico del agente de DNP, es decir el radical tritilo se convierte en

5 polarización de spin nuclear de los núcleos ^{13}C en el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato mediante irradiación con microondas cerca de la frecuencia de Larmor electrónica. Las microondas estimulan la comunicación entre los sistemas de spin nuclear y electrónico a través de transiciones e- e y e-n. Para la DNP efectiva, es decir para lograr un alto nivel de polarización en el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato, el radical tritilo debe ser estable y soluble en estos compuestos o soluciones de los mismos para lograr dicho contacto íntimo entre el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico / ^{13}C - α -cetoisocaproato y el radical tritilo que es necesario para la comunicación antes mencionada entre los sistemas electrónico y de spin nuclear.

En una realización preferente, el radical tritilo es un radical de la fórmula (1)



10 en la que

M representa hidrógeno o un equivalente de un catión; y

R1 que es igual o diferente representa un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido por uno o más grupos hidroxilo o un grupo $-(\text{CH}_2)_n\text{-X-R}_2$,

en el que n es 1, 2 o 3;

15 X es O o S; y

R2 es un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ de cadena lineal o ramificada, opcionalmente sustituido por uno o más grupos hidroxilo.

En una realización preferente, M representa hidrógeno o un equivalente de un catión fisiológicamente tolerable. El término "catión fisiológicamente tolerable" indica un catión que es tolerado por el cuerpo vivo de animal no humano o humano. Preferentemente, M representa hidrógeno o un catión álcali, un ión amonio o un ión amina orgánica, por ejemplo meglumina. Mucho más preferentemente, M representa hidrógeno o sodio.

20 Si se utiliza ^{13}C - α -cetoisocaproato como material de partida para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP, R1 es preferentemente igual, más preferentemente un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ de cadena lineal o ramificada, mucho más preferentemente metilo, etilo o isopropilo; o R1 es preferentemente igual, más preferentemente un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ de cadena lineal o ramificada que es sustituido por un grupo hidroxilo, mucho más preferentemente $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$; o R1 es preferentemente igual y representa $-\text{CH}_2\text{-OC}_2\text{H}_4\text{OH}$.

25 Si se utiliza ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico como material de partida para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante el procedimiento DNP, R1 es igual o diferente, preferentemente igual y preferentemente representa $-\text{CH}_2\text{-OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-OC}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-SC}_2\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SCH}_3$, mucho más preferentemente $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OCH}_3$.

30 Los radicales tritilo antes mencionados de fórmula (1) pueden sintetizarse según lo que se describe en detalle en el documento WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711, WO-A-96/39367, WO-A-97/09633, WO-A-98/39277 y WO-A-2006/011811.

Generalmente, para el proceso de DNP, se prepara una solución del material de partida, es decir ácido ^{13}C - α -

cetosisocaproico o ^{13}C - α -cetosisocaproato (a continuación indicado "muestra") y el agente de DNP, preferentemente un radical tritilo, más preferentemente un radical tritilo de fórmula (1). Se necesita utilizar un disolvente o una mezcla de disolventes para promover la disolución del agente de DNP y la muestra. Si el ^{13}C - α -cetosisocaproato hiperpolarizado se quiere utilizar como agente de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vivo, es preferente mantener la cantidad de disolvente en un mínimo. Para ser usado como un agente de obtención de imágenes in vivo, el ^{13}C - α -cetosisocaproato hiperpolarizado habitualmente se administra en concentraciones relativamente altas, es decir una muestra altamente concentrada preferentemente se utiliza en el proceso de DNP y, en consecuencia, la cantidad de disolvente preferentemente se mantiene en un mínimo. En este contexto, también es importante mencionar que la masa de la composición que contiene la muestra, es decir agente de DNP, muestra y si es necesario el disolvente, se mantiene tan pequeña como sea posible. Una alta masa tendrá un impacto negativo en la eficiencia del proceso de disolución, si se utiliza la disolución para convertir la composición sólida que contiene el ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico / ^{13}C - α -cetosisocaproato hiperpolarizado después del proceso de DNP en el estado líquido, por ejemplo para utilizarlo como agente de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM. Esto se debe al hecho de que para un volumen dado de medio de disolución en el proceso de disolución, la relación de masa de la composición y medio de disolución se reduce, cuando la masa de la composición aumenta. Además, la utilización de ciertos disolventes puede requerir su eliminación antes de que el ^{13}C - α -cetosisocaproato hiperpolarizado utilizado en el medio de obtención de imágenes de la invención sea administrado a un ser humano o animal no humano ya que podrían no ser fisiológicamente tolerables.

Si se utiliza el ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico para obtener ^{13}C - α -cetosisocaproato hiperpolarizado a través de DNP, se prepara una solución del agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y más preferentemente un radical tritilo de fórmula (1) en el ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico, que es un líquido a temperatura ambiente. Puede añadirse opcionalmente un formador de vidrio como por ejemplo glicerol o glicol. El mezclado íntimo de los compuestos puede promoverse mediante diversos medios conocidos en la técnica, tales como agitación, vórtex (mezclado por remolino) o sonicación y/o calentamiento suave.

Si se utiliza un ^{13}C - α -cetosisocaproato como por ejemplo TRIS- ^{13}C - α -cetosisocaproato como material de partida, el mismo puede disolverse en un disolvente apropiado, preferentemente agua, o mezcla de disolventes y el agente de DNP puede añadirse a esta solución. En otra realización, el agente de DNP se disuelve en un disolvente apropiado o mezcla de disolventes y el ^{13}C - α -cetosisocaproato se añade a esta solución. Puede añadirse opcionalmente un formador de vidrio como por ejemplo glicerol o glicol, por ejemplo si ^{13}C - α -cetosisocaproato de sodio. Nuevamente puede promoverse el mezclado íntimo de los compuestos mediante diversos medios conocidos en la técnica, tales como agitación, vórtex o sonicación y/o calentamiento suave.

Si se utilizan ^{13}C - α -cetosisocaproatos como material de partida que se cristaliza al congelarse, como por ejemplo ^{13}C - α -cetosisocaproato de sodio, es preferente la adición de un formador de vidrio al disolvente o mezcla de disolventes. Un disolvente apropiado para los ^{13}C - α -cetosisocaproatos es agua, los formadores de vidrio apropiados son por ejemplo glicol o glicerol. De ese modo en una realización se disuelve ^{13}C - α -cetosisocaproato en un disolvente o mezcla de disolventes y se añaden el agente de DNP y un formador de vidrio a esta solución. En otra realización, el agente de DNP se disuelve en un disolvente o mezcla de disolventes y se añaden el ^{13}C - α -cetosisocaproato y un formador de vidrio a esta solución. In aún en otra realización, se disuelve el agente de DNP en un formador de vidrio y se añade el ^{13}C - α -cetosisocaproato y un disolvente o mezcla de disolventes a esta solución.

La composición a ser polarizada por DNP que comprende ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico o ^{13}C - α -cetosisocaproato y un agente de DNP además puede comprender un ión metálico paramagnético. Se ha descubierto que la presencia de iones metálicos paramagnéticos puede resultar en un incremento en los niveles de polarización en el compuesto a ser polarizado por DNP según lo que se describe en detalle en el documento WO-A2-2007/064226.

La expresión "ión metálico paramagnético" indica iones metálicos paramagnéticos en la forma de sus sales o en forma quelada, es decir quelatos paramagnéticos. Los últimos son entidades químicas que comprenden un quelante y un ión metálico paramagnético, en el que dicho ión metálico paramagnético y dicho quelante forman un complejo, es decir un quelato paramagnético.

En una realización preferente, el ión metálico paramagnético es una sal o quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} , preferentemente un quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} . En una realización más preferente, dicho ión metálico paramagnético es soluble y estable en la composición a ser polarizada.

Como con el agente de DNP descrito antes, el ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico / ^{13}C - α -cetosisocaproato a ser polarizado debe estar en contacto íntimo con el ión metálico paramagnético también. La composición utilizada para DNP que comprende ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico o ^{13}C - α -cetosisocaproato, un agente de DNP y un ión metálico paramagnético puede obtenerse de diversas maneras.

Si se utiliza el ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico como material de partida, es preferible añadir el agente de DNP al ácido ^{13}C - α -cetosisocaproico, como un sólido o en solución. Si se utiliza el radical tritilo de fórmula (1) como agente de DNP, el mismo se añade preferentemente como sólido. En una etapa posterior, se añade el ión metálico paramagnético. El ión metálico paramagnético podría añadirse como un sólido o en solución. Alternativamente, puede prepararse una solución del agente de DNP e ión metálico paramagnético y se añade ácido ^{13}C - α -

cetoisocaproico a esta solución o la solución se añade al ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico. El mezclado íntimo de los compuestos puede promoverse mediante diversos medios conocidos en la técnica, tal como agitación, vórtex o sonicación y/o calentamiento suave.

5 Si se utiliza un ^{13}C - α -cetoisocaproato como TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato como material de partida, el mismo puede disolverse en un disolvente apropiado o mezcla de disolventes y el agente de DNP puede añadirse a esta solución. El agente de DNP, preferentemente un radical tritilo, podría añadirse como un sólido o en solución. En una etapa posterior, se añade el ión metálico paramagnético. El ión metálico paramagnético también podría añadirse como un sólido o en solución. En otra realización, el agente de DNP y el ión metálico paramagnético se disuelven en disolventes apropiados o un disolvente apropiado y a esta solución se añade el ^{13}C - α -cetoisocaproato. Aún en otra
10 realización, el agente de DNP (o el ión metálico paramagnético) se disuelve en un disolvente apropiado y se añade al sólido o ^{13}C - α -cetoisocaproato disuelto. En una etapa posterior, el ión metálico paramagnético (o el agente de DNP) se añade a esta solución, ya sea como un sólido o en solución. Preferentemente, la cantidad de disolvente para disolver todos los compuestos se mantiene en un mínimo. Según lo que se debate antes, si se utilizan ^{13}C - α -cetoisocaproatos como material de partida que se cristalizan con el congelamiento, como por ejemplo ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio, es preferente la adición de un formador de vidrio al disolvente o mezcla de disolventes.
15 Nuevamente el mezclado íntimo de los compuestos puede promoverse mediante diversos medios conocidos en la técnica, tal como agitación, vórtex o sonicación y/o calentamiento suave.

Si se utiliza un radical tritilo como agente de DNP, una concentración apropiada de dicho radical tritilo es 1 a 25 mM, preferentemente 2 a 20 mM, más preferentemente 10 a 15 mM en la composición utilizada para DNP. Si se añade
20 un ión metálico paramagnético a la composición, una concentración apropiada de dicho ión metálico paramagnético es 0,1 a 6 mM (ión metálico) en la composición, y es preferente una concentración de 0,3 a 4 mM.

Después de haber preparado una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato, el agente de DNP y opcionalmente un ión metálico paramagnético dicha composición se congela mediante
25 procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo congelándola en un congelador, en nitrógeno líquido o colocándola simplemente en el polarizador de DNP, donde el helio líquido la congelará. En una realización preferente, la composición se congela como "cuentas" antes de que sea insertada en el polarizador. Dichas cuentas pueden obtenerse añadiendo la composición en gotas al nitrógeno líquido. Se ha observado una disolución más eficiente de dichas cuentas, que es especialmente relevante si se polarizan cantidades mayores de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato, por ejemplo cuando el compuesto está previsto para ser utilizado en un
30 procedimiento de detección por ^{13}C -RM in vivo.

Si un ión metálico paramagnético está presente en la composición dicha composición puede desgasificarse antes del congelamiento, por ejemplo por burbujeo de gas de helio a través de la composición (por ejemplo durante un período de tiempo de 2 - 15 minutos) pero la desgasificación puede efectuarse mediante otros procedimientos comunes conocidos.

35 La técnica de DNP por ejemplo se describe en el documento WO-A-98/58272 y en el documento WO-A-01/96895. Generalmente, se utilizan un campo magnético alto o moderado y una muy baja temperatura en el proceso de DNP, por ejemplo al llevar a cabo el proceso de DNP en helio líquido y un campo magnético de alrededor de 1 T o más. Alternativamente, puede emplearse un campo magnético moderado y cualquier temperatura en la se logre el mejoramiento suficiente de polarización. En una realización preferente, el proceso de DNP se lleva a cabo en helio
40 líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o más. Las unidades de polarización apropiadas por ejemplo se describen en el documento WO-A-02/37132. En una realización preferente, la unidad de polarización comprende un medio de criostato y polarización, por ejemplo una cámara de microondas conectada pro una guía de ondas a una fuente de microondas en un agujero central circundado por medios que producen campo magnético tal como un imán superconductor. El agujero se extiende verticalmente hacia abajo hasta al menos el nivel de una región P cerca del imán superconductor donde la resistencia del campo magnético es suficientemente alta, por ejemplo entre 1 y 25 T, para que se produzca la polarización de los núcleos de muestra. El agujero para la sonda (es decir la composición congelada a ser polarizada) es preferentemente sellable y puede evacuarse a baja presiones, por ejemplo presiones en el orden de 1 mbar o menos. Un medio de introducción de sonda tal como un tubo de transporte removible puede estar contenido dentro del agujero y este tubo puede insertarse desde la parte superior del agujero hacia abajo hasta
45 la posición dentro de la cámara de microondas en la región P. La región P se enfría mediante helio líquido hasta una temperatura lo suficientemente baja para que se produzca la polarización, preferentemente temperaturas del orden de 0,1 a 100 K, más preferentemente 0,5 a 10 K, mucho más preferentemente 1 a 5 K. El medio de introducción de sonda es preferentemente sellable en su extremo superior de cualquier manera para retener el vacío parcial en el agujero. Un recipiente de retención de sonda, tal como una taza de retención de sonda, puede encajarse en forma
50 removible dentro del extremo inferior del medio de introducción de sonda. El recipiente de retención de sonda preferentemente es fabricado a partir de material de peso liviano con una capacidad de calentamiento específica baja y buenas propiedades criogénicas tal como, por ejemplo Kelf (policlorotrifluoro-etileno) o PEEK (polieteretercetona) y puede diseñarse de tal manera que pueda sostener más de una sonda.

La sonda se inserta en el recipiente de retención de sonda, se sumerge en el helio líquido y se irradia con
60 microondas, preferentemente en una frecuencia de aproximadamente 94 GHz a 200 mW. El nivel de polarización puede monitorearse por ejemplo mediante la adquisición de señales de ^{13}C -RMN en estado sólido de la sonda

durante la irradiación con microondas. Generalmente, se obtiene una curva de saturación en un gráfico que muestra la señal de RMN versus el tiempo. En consecuencia, es posible determinar cuando se alcanza el nivel de polarización suficiente y/u óptimo. Una medición de ^{13}C -RMN en estado sólido consiste apropiadamente en una secuencia de RMN adquirida por pulsos mediante la utilización de un ángulo de excitación baja. La intensidad de señal de los núcleos polarizados nucleares dinámicos, es decir núcleos ^{13}C en ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato se compara con la intensidad de señal de los núcleos ^{13}C en ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato antes de la DNP. La polarización después se calcula a partir de la relación de las intensidades de señal antes y después de DNP.

Después del proceso de DNP, la composición sólida que comprende el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado es transferida desde un estado sólido a un estado líquido, es decir se licua. Esto puede realizarse mediante la disolución en un disolvente apropiado o mezcla de disolventes (medio de disolución) o fundiendo la composición sólida. Es preferente la disolución y el proceso de disolución y dispositivos apropiados son por ello según lo que se describe en detalle en el documento WO-A-02/37132. EL proceso de fusión y dispositivos apropiados para la fusión por ejemplo se describen en el documento WO-A-02/36005. En síntesis, se utiliza una unidad de disolución/ unidad de fusión que esta físicamente separada del polarizador o es una parte de un equipo que contiene el polarizador y la unidad de disolución/ unidad de fusión. En una realización preferente, la disolución/fusión se lleva a cabo en un campo magnético alto, por ejemplo dentro del polarizador, para mejorar la relajación y retener un máximo de hiperpolarización. Los nodos de campo deben evitarse y un bajo campo puede llevar a relajación potenciada a pesar de las medidas anteriores.

Si se ha utilizado ^{13}C - α -cetoisocaproato como material de partida para la polarización nuclear dinámica y si la composición sólida que comprende el ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado se licua mediante disolución, se utiliza apropiadamente como disolvente un vehículo acuoso, preferentemente un vehículo acuoso fisiológicamente tolerable y farmacéuticamente aceptado como agua, una solución tampón o solución salina, especialmente preferentemente si el ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado está previsto para el uso en un medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vivo. El vehículo acuoso puede contener una base para ajustar el pH de la solución final de tal manera que sea apropiada para la administración in vivo. El pH apropiado varía de 6,8 a 7,8. Para las aplicaciones in vitro también pueden utilizarse disolventes no acuosos o mezclas de disolventes, por ejemplo DMSO o metanol o mezclas que comprenden un vehículo acuoso y un disolvente no acuoso, por ejemplo mezclas de DMSO y agua o metanol y agua. En otra realización preferente, el vehículo acuoso o los disolventes no acuosos o mezclas de disolventes además pueden comprender uno o más compuestos que son capaces de unirse a o complejar iones paramagnéticos libres, por ejemplo agentes quelantes como DTPA o EDTA.

Si se ha utilizado ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico como material de partida para la polarización nuclear dinámica, el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado obtenido necesita ser convertido en ^{13}C - α -cetoisocaproato. Si la composición sólida que comprende el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado se licua mediante disolución, y el ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado está previsto para ser utilizado in vivo, el medio de disolución es preferentemente un vehículo acuoso, por ejemplo agua o una solución tampón, preferentemente una solución tampón fisiológicamente tolerable o el mismo comprende un vehículo acuoso, por ejemplo agua o una solución tampón, preferentemente una solución tampón fisiológicamente tolerable. Los términos "solución tampón" y "tampón" se utilizan de aquí en adelante en forma intercambiable. En el contexto de la presente solicitud "tampón" indica uno o más tampones, es decir también mezclas de tampones.

Los tampones preferentes son tampones fisiológicamente tolerables, más preferentemente tampones que tamponan en el intervalo de aproximadamente pH 7 a 8 como por ejemplo tampón de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$), ACES, PIPES, imidazol/HCl, BES, MOPS, HEPES, TES, TRIS, HEPPS o TRICIN.

Para convertir el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado en ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico generalmente se hace reaccionar con una base. En una realización, se hace reaccionar ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico con una base para convertirlo en ^{13}C - α -cetoisocaproato. Para el uso previsto in vivo se añade posteriormente un vehículo acuoso. En otra realización preferente, el vehículo acuoso y la base se combinan en una solución y esta solución se añade al ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico, disolviéndolo y convirtiéndolo en ^{13}C - α -cetoisocaproato al mismo tiempo. En una realización preferente, la base es una solución acuosa de NaOH, Na_2CO_3 o NaHCO_3 , mucho más preferente la base es NaOH.

En otra realización preferente, el vehículo acuoso tampón o, cuando sea aplicable, el vehículo acuoso/solución base combinadas además comprende uno o más compuestos que son capaces de unirse a o complejar iones paramagnéticos libres, por ejemplo agentes quelantes como DTPA o EDTA.

Para las aplicaciones in vitro de ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado también pueden utilizarse disolventes no acuosos o mezclas de disolventes, por ejemplo DMSO o metanol o mezclas que comprenden un vehículo acuoso y un disolvente no acuoso, por ejemplo mezclas de DMSO y agua o metanol y agua.

Si la hiperpolarización se lleva a cabo mediante el procedimiento DNP, el agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y el ión metálico paramagnético opcional pueden eliminarse del líquido que contiene el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado. La eliminación de estos compuestos es preferente si el

ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado está previsto para el uso en un medio de obtención de imágenes para el uso in vivo. Si se utilizó ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado como material de partida para DNP, es preferible primero convertir el ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado en ^{13}C - α -cetoisocaproato y eliminar el agente de DNP y el ión metálico paramagnético óptimo después de que se haya producido dicha conversión.

Los procedimientos que son útiles para eliminar el radical tritilo y el ión metálico paramagnético son conocidos en la técnica y según lo que se describe en detalle en los documentos WO-A2-2007/064226 y WO-AI-2006/011809.

En una realización preferente el ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado del medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención se obtiene por polarización nuclear dinámica de una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato o 12C- α -cetoisocaproato de sodio, un radical tritilo de fórmula (1) y opcionalmente un quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} .

El medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención puede utilizarse como medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vitro, por ejemplo la detección por ^{13}C -RM de cultivos celulares, muestras, tejido ex vivo u órganos aislados obtenidos del cuerpo de animal no humano o humano human. Para este fin, el medio de obtención de imágenes se proporciona como una composición que es apropiada para ser añadida a, por ejemplo, cultivos celulares, muestras como orina, sangre o saliva, tejidos ex vivo como tejidos de biopsia u órganos aislados. Dicho medio de obtención de imágenes preferentemente comprende además del agente de obtención de imágenes, es decir ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, un disolvente que es compatible con y se utiliza para los ensayos de tejidos o células in vitro, por ejemplo DMSO o metanol o mezclas de disolventes que comprenden un vehículo acuoso y un disolvente no acuoso, por ejemplo mezclas de DMSO y agua o una solución tampón o metanol y agua o una solución tampón. Tal como es evidente para la persona con experiencia, vehículos, excipientes y auxiliares de formulación farmacéuticamente aceptables pueden estar presentes en dicho medio de obtención de imágenes pero no se requieren para dicho fin.

Además, el medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención puede utilizarse como medio de obtención de imágenes para la detección por ^{13}C -RM in vivo, es decir la detección por ^{13}C -RM llevada a cabo en seres animales no humanos o humanos vivos. Para este fin, el medio de obtención de imágenes necesita ser apropiado para la administración a un cuerpo vivo de animal no humano o humano. En consecuencia, dicho medio de obtención de imágenes preferentemente comprende además del agente de obtención de imágenes, es decir ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, un vehículo acuoso, preferentemente un vehículo acuoso fisiológicamente tolerable y farmacéuticamente aceptado como agua, una solución tampón o solución salina. Dicho medio de obtención de imágenes además puede comprender excipientes o vehículos veterinarios farmacéuticos convencionales, por ejemplo auxiliares de formulación tales como estabilizantes, agentes ajustadores de osmolalidad, agentes solubilizantes y similares, que son convencionales para las composiciones diagnósticas en la medicina veterinaria o humana.

Si el medio de obtención de imágenes de la invención se utiliza para la detección por ^{13}C -RM in vivo, es decir en un cuerpo de animal no humano o humano vivo, dicho medio de obtención de imágenes preferentemente se administra a dicho cuerpo por vía parenteral, preferentemente por vía intravenosa. Generalmente, el cuerpo sometido a examen se coloca en un imán de RM. Las bobinas de RF de ^{13}C -RM dedicadas se colocan para cubrir el área de interés. La dosificación y concentración exactas del medio de obtención de imágenes dependerán de un intervalo de factores tales como toxicidad y la vía de administración. Generalmente, el medio de obtención de imágenes se administra en una concentración de hasta 1 mmol de ^{13}C - α -cetoisocaproato por kg de peso corporal, preferentemente 0,01 a 0.5 mmol/kg, más preferentemente 0,1 a 0,3 mmol/kg. En menos que 400 s después de la administración, preferentemente menos que 120 s, más preferentemente menos que 60 s después de la administración, especialmente preferentemente 20 a 50 s, se aplica una secuencia de imágenes por RM que codifica el volumen de interés en una forma selectiva espacial y de frecuencia combinada. El tiempo exacto de aplicación de una secuencia de RM es altamente dependiente del volumen de interés.

El medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención preferentemente se utiliza en un procedimiento para la detección por ^{13}C -RM.

En un segundo aspecto la invención proporciona un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado para el uso in a procedimiento para la detección por ^{13}C -RM,

En una primera realización preferente, la invención proporciona a procedimiento para la detección por ^{13}C -RM mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en el que se detectan señales de ^{13}C -leucina y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

En una segunda realización preferente, la invención proporciona a procedimiento para la detección por ^{13}C -RM mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en el que se detectan señales de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

En una tercera realización preferente, la invención proporciona a procedimiento para la detección por ^{13}C -RM

mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en el que se detectan señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

5 La expresión "se detectan señales de ^{13}C -leucina y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato" significa que en el procedimiento de la invención, solamente se detecta la señal de ^{13}C -leucina o se detectan las señales de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato.

10 La expresión "se detectan señales de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato" significa que en el procedimiento de la invención se detecta solamente la señal de $^{13}\text{CO}_2$ o solamente la señal de ^{13}C -bicarbonato o que se detectan las señales de $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato o que se detectan las señales de $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C - α -cetoisocaproato o las señales de ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato o que se detectan las señales de CO_2 y ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato.

15 La expresión "se detectan señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato" significa que en el procedimiento de la invención se detectan las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ o las señales de ^{13}C -leucina y ^{13}C -bicarbonato o las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato. Además significa que se detectan las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C - α -cetoisocaproato o las señales de ^{13}C -leucina y ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato o las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato.

20 La expresión " ^{13}C -leucina" indica ácido 2-amino-4-metil-pentanoico que está isotópicamente enriquecido con ^{13}C , es decir en el que la cantidad de isótopo ^{13}C es mayor que su abundancia natural. A menos que se especifique lo contrario, el término " ^{13}C -leucina" indica un compuesto que está enriquecido con ^{13}C en la posición C1 y/o C2 y/o C4. La posición del enriquecimiento isotópico en ^{13}C -leucina por supuesto depende de la posición del enriquecimiento isotópico en su compuesto progenitor ^{13}C - α -cetoisocaproato. De ese modo, si se utiliza por ejemplo $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en el medio de obtención de imágenes utilizado en el procedimiento de la invención, se detecta la señal de $^{13}\text{C}_1$ -leucina.

25 La expresión " ^{13}C -bicarbonato" indica HCO_3^- , es decir isotópicamente enriquecido con ^{13}C , es decir en el que la cantidad de isótopo ^{13}C es mayor que su abundancia natural. De la misma manera, el término " $^{13}\text{CO}_2$ " indica dióxido de carbono que está isotópicamente enriquecido con ^{13}C , es decir en el que la cantidad de isótopo ^{13}C es mayor que su abundancia natural. Si es posible detectar ^{13}C -bicarbonato y/o $^{13}\text{CO}_2$, por supuesto, depende de la posición del enriquecimiento isotópico en su compuesto progenitor ^{13}C - α -cetoisocaproato. Solamente si se utiliza ^{13}C - α -cetoisocaproato que está enriquecido con ^{13}C en la posición C1 en el medio de obtención de imágenes utilizado en el procedimiento de la invención, se forma ^{13}C -bicarbonato y $^{13}\text{CO}_2$ y de ese modo puede detectarse mediante la detección por ^{13}C -RM.

30 La conversión metabólica de ácido α -cetoisocaproato en leucina y dióxido de carbono se muestra en el esquema I para $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato; * indica el ^{13}C - α -cetoisocaproato con etiqueta ^{13}C se convierte en $^{13}\text{C}_1$ -leucina por aminotransferasa de cadena ramificada (BCAT, EC 2.6.1.42) y en $^{13}\text{CO}_2$ (y posteriormente ^{13}C -bicarbonato) por deshidrogenasa de alfa-ceto ácidos de cadena ramificada (BCKD, EC 1.2.4.4.).

35

cetoisocaproato se obtienen en dos o más puntos de tiempo para calcular el índice de cambio de ^{13}C -leucina y opcionalmente el índice de cambio de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

5 En otra realización el perfil metabólico incluye o se genera mediante la utilización de datos de señal procesada de ^{13}C -leucina y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato, por ejemplo índices de señales, señales corregidas, o información constantes de índice metabólico o dinámico deducida del patrón de señal de múltiples detecciones de RM, es decir espectros o imágenes.

10 En consecuencia, en una realización preferente se incluye una señal de ^{13}C -leucina corregida, es decir señal de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utiliza para generar el perfil metabólico. En otra realización preferente, se incluye una señal ^{13}C -leucina corregida y ^{13}C -carbono total y se utiliza para generar el perfil metabólico con la señal ^{13}C -carbono total siendo la suma de las señales de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato. En una realización más preferente, se incluye la relación de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utiliza para generar el perfil metabólico.

En una segunda realización más preferente, las señales de CO_2 y/o ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar dicho perfil metabólico.

15 En una realización, las intensidades de señal espectral de CO_2 y/o ^{13}C - α -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar el perfil metabólico. En otra realización, las integrales de señal espectral de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar el perfil metabólico. En otra realización, las intensidades de señal de imágenes separadas de $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato o imágenes separadas de $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C - α -cetoisocaproato o imágenes separadas de ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar el perfil metabólico. En aún en otra realización, las intensidades de señal de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato se obtienen en dos o más puntos de tiempo para calcular el índice de cambio de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente el índice de cambio de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

25 En otra realización el perfil metabólico incluye o se genera mediante la utilización de datos de señal procesada de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato, por ejemplo índices de señales, señales corregidas, o información constante de índice metabólico o dinámico deducida del patrón de señal de múltiples detecciones de RM, es decir espectros o imágenes.

30 En consecuencia, en una realización preferente, se incluye una señal corregida de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato, es decir señal de $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C - α -cetoisocaproato o ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utiliza para generar el perfil metabólico. En otra realización preferente, se incluye una señal corregida de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C -carbono total o se utiliza para generar el perfil metabólico con la señal de ^{13}C -carbono total siendo la suma de las señales de $^{13}\text{CO}_2$ y/o señal de ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato. En una realización más preferente, se incluye la relación de señal de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utiliza para generar el perfil metabólico.

35 En una tercera realización más preferente, las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar un perfil metabólico.

40 En una realización, se utilizan las intensidades de señal espectral de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C - α -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato para generar el perfil metabólico. En otra realización, las integrales de señal espectral de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato se utilizan para generar el perfil metabólico. En otra realización, se utilizan intensidades de señal de imágenes separadas de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato o imágenes separadas de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato para generar el perfil metabólico. Aún en otra realización, las intensidades de señal de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato se obtienen en dos o más puntos de tiempo para calcular el índice de cambio de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente el índice de cambio de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

En otra realización el perfil metabólico incluye o se genera mediante la utilización de datos de señal procesada de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato, por ejemplo índices de señales, señales corregidas, o información constantes de índice metabólico o dinámico deducida del patrón de señal de múltiples detecciones de RM, es decir espectros o imágenes.

50 En consecuencia, en una realización preferente se incluyen señales corregidas de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato, es decir señal de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ o señal de ^{13}C -leucina y ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente señal de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utilizan para generar el perfil metabólico. En otra realización preferente, se incluye una señal corregida de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o señal de ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C -carbono total o se utiliza para generar el perfil metabólico con la señal de ^{13}C -carbono total siendo la suma de las señales de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o señal de ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente ^{13}C - α -cetoisocaproato. En una realización más preferente, se incluye la relación de ^{13}C -leucina y $^{13}\text{CO}_2$ y/o señal de ^{13}C -bicarbonato y señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato o se utiliza para generar el perfil metabólico

El perfil metabólico generado proporciona información acerca de la actividad metabólica del cuerpo, parte del cuerpo, células, tejido, muestra corporal, etc., sometido a examen y dicha información puede utilizarse en una etapa posterior, por ejemplo, para identificar enfermedades.

5 Dicha enfermedad preferentemente es cáncer ya que el tejido tumoral habitualmente se caracteriza por un a mayor actividad metabólica que el tejido saludable. Dicha mayor actividad metabólica será evidente a partir de la comparación del perfil metabólico de un tumor o de una muestra ex vivo de un tumor con el perfil metabólico del tejido saludable (por ejemplo tejido circundante o tejido saludable ex vivo) y puede manifestarse en el perfil metabólico mediante altas señales de ^{13}C -leucina y/o $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato o mediante una alta señal corregida de ^{13}C -leucina y/o $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato o una alta relación de señal de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato y/o $^{13}\text{CO}_2$ y/o señal de ^{13}C -bicarbonato y ^{13}C - α -cetoisocaproato o una alta relación de señal de ^{13}C -leucina y señal de carbono total y/o una alta relación de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y señal de carbono total o un alto índice metabólico de acumulación de ^{13}C -leucina y/o $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato.

15 En el tejido tumoral la concentración de glutamato a menudo es mayor que en el tejido saludable. Este co-sustrato permitirá un alto retornado de ^{13}C - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina en el tejido tumoral donde la actividad de BCAT es alta.

El término "alto" es un término relativo y debe entenderse que la "alta señal, relación, índice metabólico", etc., que se observa en un perfil metabólico de un tejido enfermo según lo que se describe más arriba está incrementada en comparación con la señal, relación, índice metabólico, etc., que se observa en un perfil metabólico de un tejido saludable.

20 En esteatosis hepática, existe una menor actividad de la enzima BCKD en el hígado y se utiliza un ensayo de respiración de ^{13}C basada en la descarboxilación de ^{13}C - α -cetoisocaproato para el diagnóstico de dicho estado de enfermedad. En este ensayo el $^{13}\text{CO}_2$ exhalado se recolecta dinámicamente y se cuantifica mediante procedimientos de la técnica. En consecuencia, hay una indicación de que la información proporcionada por el perfil metabólico generado en la realización preferente del procedimiento en conformidad con la invención puede utilizarse para la identificación de enfermedades relacionadas con el hígado como hígado graso, fibrosis hepática o cirrosis hepática. Para tales enfermedades relacionadas con el hígado, puede asumirse que se manifestarían por sí mismas en un perfil metabólico de un hígado enfermo mediante un cambio en la señal de $^{13}\text{CO}_2$ y/o ^{13}C -bicarbonato y/o relación de estos metabolitos y ^{13}C - α -cetoisocaproato en comparación con un perfil metabólico de un hígado saludable.

30 Aún otra enfermedad puede ser enfermedad relacionada con el riñón ya que se conoce que la actividad de BCAT que cataliza la conversión de ^{13}C - α -cetoisocaproato en ^{13}C -leucina es altamente activo en los riñones. En las enfermedades de riñón que se manifiestan por sí mismas mediante un cambio en la actividad de BCAT, puede asumirse que dicho cambio, que puede ser un cambio en la señal de ^{13}C -leucina y/o un cambio en la relación de ^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato puede detectarse en un perfil metabólico de un riñón enfermo/tejido de riñón enfermo al compararse con un perfil metabólico de un riñón saludable/tejido de riñón circundante saludable.

35 Información anatómica y/o – cuando se apropiado – de perfusión puede incluirse en el procedimiento de la invención para la identificación de enfermedades. La información anatómica por ejemplo puede obtenerse adquiriendo un protón o imagen por ^{13}C -RM con o sin emplear un agente de contraste apropiado antes o después del procedimiento de la invención.

40 En otra realización preferente, el medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado se administra repetidamente, permitiendo de ese modo estudios dinámicos. Esto además es una ventaja del medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado en comparación con otros procedimientos de detección por RM mediante la utilización de agentes de contraste para RM convencionales que, en dosis superiores, pueden mostrar efectos tóxicos. El α -cetoisocaproato está presente en el cuerpo humano y ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado fue bien tolerado en los modelos animales que hemos utilizado y se describen en los Ejemplos partes de esta solicitud. En consecuencia, se espera que el ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado también será bien tolerado en pacientes y, de ese modo la administración de dosis repetidas de este compuesto sería posible.

50 Tal como se estableció más arriba, el perfil metabólico proporciona información acerca de la actividad metabólica del cuerpo, parte del cuerpo, células, tejido, muestra corporal, etc., sometido a examen y dicha información puede utilizarse en una etapa posterior, por ejemplo para identificar enfermedades. Sin embargo, un médico también puede utilizar esta información en otra etapa para elegir el tratamiento apropiado para el paciente sometido a examen.

55 De ese modo, dicha información puede utilizarse para monitorear la respuesta al tratamiento, por ejemplo el éxito del tratamiento de las enfermedades arriba mencionadas, y su sensibilidad hace que el procedimiento sea especialmente apropiado para monitorear la respuesta temprana al tratamiento, es decir la respuesta al tratamiento poco después de su comienzo.

En aún otra realización, El procedimiento de la invención puede utilizarse para evaluar la eficacia farmacológica. En dicha realización, los potenciales fármacos para curar una cierta enfermedad como, por ejemplo fármacos anti-cáncer, pueden ensayarse en una etapa muy temprana en la detección de fármaco, por ejemplo in vitro en un cultivo

celular que es un modelo relevante para dicha enfermedad o en tejido enfermo ex vivo o un órgano aislado enfermo. Alternativamente, los potenciales fármacos para curar cierta enfermedad pueden ensayarse en una etapa temprana en la detección de fármacos in vivo, por ejemplo en un modelo animal que sea relevante para dicha enfermedad. Al comparar el perfil metabólico de dicho cultivo celular, el tejido ex vivo, animal de ensayo o aislado antes y después del tratamiento con un potencial fármaco, la eficacia de dicho fármaco y de ese modo la respuesta al tratamiento y éxito pueden determinarse lo que, por supuesto, proporciona información valiosa en la detección de fármacos potenciales.

Aún otro aspecto de la invención es una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato, un agente de DNP en conformidad con la fórmula (1) y opcionalmente un ion metálico paramagnético. Dicha composición puede utilizarse para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante polarización nuclear dinámica (DNP) que puede utilizarse como agente de obtención de imágenes (agente activo de RM) en el medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención.

En una realización, la composición en conformidad con la invención comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico, un agente de DNP en donde el agente de DNP es un radical tritilo de fórmula (1) en el que M representa hidrógeno o sodio y R1 es igual o diferente, preferentemente igual y preferentemente representa $-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{SC}_2\text{H}_5$ o $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SCH}_3$, mucho más preferentemente $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$ y opcionalmente u ion metálico paramagnético. En otra realización preferente dicha composición comprende un ion metálico paramagnético, preferentemente una sal o quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} y más un quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} . Opcionalmente, dicha composición además comprende un disolvente o disolventes y/o un formador de vidrio y opcionalmente un ion metálico paramagnético. La composición puede comprender un formador de vidrio como por ejemplo glicerol. Las composiciones antes mencionadas pueden utilizarse para obtener ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado por polarización nuclear dinámica (DNP) con un alto nivel de polarización. Dicho ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado puede convertirse en ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado mediante la disolución con una base, por ejemplo NaOH, según lo que se describe antes en la solicitud.

Dicha composición puede comprender ^{13}C - α -cetoisocaproato, preferentemente TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato o ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio, un agente de DNP en conformidad con la fórmula (1) y opcionalmente un ion metálico paramagnético. En una realización preferente, dicho DNP es un radical tritilo de fórmula (1) en el que M representa hidrógeno o sodio y R1 es preferentemente igual, más preferentemente un grupo alquilo C_1 - C_4 de cadena lineal o ramificada, mucho más preferentemente metilo, etilo o isopropilo; o R1 es preferentemente igual, más preferentemente un grupo alquilo C_1 - C_4 de cadena lineal o ramificada que es sustituido con un grupo hidroxilo, mucho más preferentemente $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$; o R1 es preferentemente igual y representa $-\text{CH}_2-\text{OC}_2\text{H}_4\text{OH}$. En otra realización preferente dicha composición comprende un ion metálico paramagnético, preferentemente una sal o quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} , y más un quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} . Apropiadamente, dicha composición además comprende un disolvente o disolventes; preferentemente un vehículo acuoso. Opcionalmente, dicha composición comprende un formador de vidrio como por ejemplo glicerol. Las composiciones antes mencionadas pueden utilizarse para obtener ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado por polarización nuclear dinámica (DNP) con un alto nivel de polarización.

Aún otro aspecto de la invención es una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, un agente de DNP en conformidad con la fórmula (1) y opcionalmente un ion metálico paramagnético, en la que dicha composición se obtiene mediante polarización nuclear dinámica de una composición según lo que se describe en los párrafos anteriores.

Aún otro aspecto de la invención es ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, preferentemente TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato o ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio. Las realizaciones preferentes son ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico hiperpolarizado o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, preferentemente TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato o ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio. Los compuestos antes mencionados pueden utilizarse como agente de obtención de imágenes (agente activo por RM) en el medio de obtención de imágenes en conformidad con la invención y dicho medio de obtención de imágenes puede utilizarse en los procedimientos de detección por ^{13}C -RM en conformidad con la invención.

Aún otro aspecto de la invención es un procedimiento para producir hiperpolarizado ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado, el procedimiento que comprende preparar una composición que comprende ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico o ^{13}C - α -cetoisocaproato, un agente de DNP y opcionalmente un ion metálico paramagnético y llevar a cabo la polarización nuclear dinámica sobre dicha composición. La preparación de dicha composición y como llevar a cabo la polarización nuclear dinámica sobre dicha composición se describe en detalle antes en la solicitud.

Breve descripción de los dibujos:

La Fig. 1. representa la conversión de ^{13}C - α -cetoisocaproato en ^{13}C - α -leucina en hígado de ratón posterior a la administración de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado. Se adquirieron los espectros de ^{13}C -RMN resueltos en el tiempo y se detectaron las señales de ^{13}C -

α -cetoisocaproato y $^{13}\text{C}1$ -leucina (176,8 ppm).

La FIG. 2 representa intensidades de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina en una imagen de cambio subquímico de básicamente los riñones en la rata saludable después de la administración de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado. La selección de láminas se muestra en la FIG 2a. La distribución de señal de ^{13}C - α -leucina se muestra en la FIG. 2b y la distribución de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato se muestra en la FIG. 2c.

La FIG. 3 representa intensidades de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina en una imagen de cambio ^{13}C -químico de un tumor linfoma de ratón (EL-4) cultivado por vía subcutánea en un flanco de ratón. La distribución de señal de ^{13}C -leucina se muestra en la FIG. 3a y la distribución de señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato se muestra en la FIG. 3b. La imagen de relación (^{13}C - α -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato) define el tumor y se muestra en la FIG. 3c. Se obtuvo una referencia H con obtención de imágenes potenciadas con OmniscanTM, que se muestra en la FIG. 3d.

La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1 Producción de un medio de obtención de imágenes que comprende TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado

Ejemplo 1a Preparación de TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato

A un tubo de microensayo se añadieron ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio (Isótopos de Cambridge, 151,2 mg, 0,987 mmol), TRIS (156,7 mg, 0,994 mmol) y 2 ml de metanol. El tubo de ensayo se sometió a ultrasonido y se precipitó un polvo blanco (NaCl). Se recogió en una jeringa y se filtró a través de un filtro de jeringa (0,45 μm) en otro tubo de ensayo que contiene 35 ml de dietil éter. La precipitación se centrifugó y se eliminó el éter mediante vacío.

Ejemplo 1b Polarización nuclear dinámica de TRIS- $^{13}\text{C}1$ - α -cetoisocaproato

El TRIS- $^{13}\text{C}1$ - α -cetoisocaproato obtenido en el Ejemplo 1a (73,2 mg, 0,29 mmol) se disolvió en 50,0 mg de una mezcla de sal de sodio de tris(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(hidroxietil)-benzo-[1,2-4,5']-bis-(1,3)-ditiol-4-il)-metilo (radical tritilo; 44,0 mg, 30,8 μmol) que había sido sintetizada en conformidad con el Ejemplo 7 del documento WO-AI-98/39277 (44,0 mg, 30,8 μmol) y el quelato Gd de 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]tria-zinano-2,4,6-triona (ión metálico paramagnético; 2,30 mg, 1,1 μmol) que se había sintetizado en conformidad con el Ejemplo 4 del documento WO-A-2007/064226 en glicerol (1543 μl , 1948 mg). La composición resultante se sometió a ultrasonido y se calentó suavemente para disolver todos los compuestos. La composición (80 μl 10 mM en radical tritilo y 1 mM en Gd^{3+}) se transfirió con una pipeta a una taza de muestra (recipiente de retención de sonda) que fue descendida rápidamente en nitrógeno líquido y después se insertó en un polarizador DNP. La composición se polarizó en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético 3,35 T bajo irradiación con microonda (93,89 GHz). La polarización fue seguida por ^{13}C -RMN en estado sólido y la polarización en estado sólido se determinó que era 36%.

Ejemplo 1c Disolución y producción del medio de obtención de imágenes

Después de 120 minutos de polarización nuclear dinámica, la composición polarizada congelada obtenida se disolvió en 6 ml de tampón de fosfato (pH 7,3, 40 mM). El pH de la solución final que contenía la composición disuelta era 7,3. La concentración de TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato en dicha solución final era 50 mM.

Se determinó que la polarización en estado líquido por ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz era 34 %.

Ejemplo 2 Producción de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado

Ejemplo 2a Polarización nuclear dinámica de ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio

Se disolvió ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio (19,5 mg, 0,126 mmol) en 50,0 mg de una mezcla de sal de sodio de tris(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(hidroxietil)-benzo-[1,2-4,5']-bis-(1,3)-ditiol-4-il)-metilo (radical tritilo; 44,0 mg, 30,8 μmol) que se había sintetizado en conformidad con el Ejemplo 7 del documento WO-AI-98/39277 (44,0 mg, 30,8 μmol) y el quelato Gd de 1,3,5-tris-(N-(D03A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metilfenil)-[1,3,5]tria-zinano-2,4,6-triona (ión metálico paramagnético; 2,30 mg, 1,1 μmol) que se había sintetizado en conformidad con el Ejemplo 4 del documento WO-A-2007/064226 en glicerol (1543 μl , 1948 mg). A esta solución se añadieron 5 μl de agua. La composición resultante se sometió a ultrasonido y se calentó suavemente para disolver todos los compuestos. La composición (110 μl , 12,5 mM en radical tritilo y 1,3 mM en Gd^{3+}) se transfirió con una pipeta a una taza de muestra que fue descendida rápidamente en nitrógeno líquido y después se insertó en un polarizador DNP. La composición se polarizó en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético 3,35 T bajo irradiación con microonda (93,89 GHz). La polarización fue seguida por ^{13}C -RMN en estado sólido y se determinó que la polarización en estado sólido era aproximadamente 30%.

Ejemplo 2b Disolución y producción del medio de obtención de imágenes

Después de 120 minutos de polarización nuclear dinámica, la composición polarizada congelada obtenida se disolvió en 6 ml de tampón de fosfato (pH 7,3, 40 mM) El pH de la solución final que contenía la composición disuelta era 7,3. La concentración de ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio en dicha solución final era 50 mM.

- 5 Se determinó que la polarización en estado líquido por ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz era 29 %.

Ejemplo 3 Producción de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado**Ejemplo 3a Preparación de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico**

- 10 Se disolvió ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio (210,0 mg, 1,37 mmol) en una solución enfriada de 500 μl de H_2SO_4 concentrado en 2 ml de agua. La mezcla se extrajo 4 veces con 6 ml de dietil éter. Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre MgSO_4 . La solución seca se filtró (filtro de jeringa de 0,45 μm) para eliminar los granos de MgSO_4 y el dietil éter se eliminó al vacío. Se obtuvieron 175 mg de ácido $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproico (98 %).

Ejemplo 3a Polarización nuclear dinámica de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico

- 15 El radical tritilo sal de sodio de tris(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(metoxietil)-benzo-[1,2-4,5]-bis-(1,3)-ditiol-4-il)-metilo (1,18 mg, 0,74 mmol) que se había sintetizado en conformidad con el Ejemplo 1 del documento WO-A2-2006/011811 y 1,52 mg de una solución acuosa de quelato Gd de 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazina-2,4,6-triona (ión metálico paramagnético, 14,5 $\mu\text{l/g}$ de solución) que se había sintetizado en conformidad con el Ejemplo 4 del documento WO-A-2007/064226 se disolvieron en 49 μl de ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico (50,5 mg, 0,19 mmol). La composición resultante se sometió a ultrasonido y se calentó suavemente para disolver todos los compuestos. La composición (42 μl , 14 mM en radical tritilo y 1,5 mM en Gd^{3+}) se transfirió con una pipeta a una taza de muestra que fue descendida rápidamente en nitrógeno líquido y después se insertó en un polarizador DNP. La composición se polarizó en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético 3,35 T bajo irradiación con microonda (93,89 GHz). La polarización fue seguida por ^{13}C -RMN en estado sólido y se determinó que la polarización en estado sólido era 27 %.

Ejemplo 3c Disolución y producción del medio de obtención de imágenes

Después de 90 minutos de polarización nuclear dinámica, la composición polarizada congelada obtenida se disolvió en 6 ml de una solución preparada a partir de 5,97 ml de tampón de fosfato (pH 7,3, 40 mM) y 30 μl de solución acuosa de NaOH (12 M). El pH de la solución final que contenía la composición disuelta era 7,3. La concentración de $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio en dicha solución final era 50 mM.

- 30 Se determinó que la polarización en estado líquido por ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz era 25 %.

Ejemplo 4 Detección por ^{13}C -RM in vivo con una bobina superficial colocada para detectar el hígado en un ratón mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado

- 35 175 μl de un medio de obtención de imágenes que comprendía $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado que se prepararon según lo que se describe en el Ejemplo 1 se inyectaron en ratón C57Bl/6 durante un período de tiempo de 6 s. La concentración de $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio en dicho medio de obtención de imágenes era aproximadamente 50 mM. Una bobina superficial de 12 mm (ajustada para carbono) se colocó sobre el ratón para cubrir la región del hígado y se detectaron las señales de ^{13}C - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina mediante espectroscopía por ^{13}C -RM que se llevó a cabo en un espectrómetro 2.4 T Bruker para generar un perfil metabólico. 40 Se adquirió un total de 10 espectro de ^{13}C con un tiempo de repetición de 5 s y pulsos de RF de grado 30. El resultado se muestra en la Fig. 1. En este Ejemplo, la señal de ^{13}C -leucina es aproximadamente 1% de la señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato.

Ejemplo 5 Imágenes de desplazamiento químico en ^{13}C in vivo de un riñón de rata saludable mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprendía $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado

- 45 Se inyectaron 2 ml de un medio de obtención de imágenes que comprende $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado que se preparó según lo que se describe en el Ejemplo 2 en una rata Wistar durante un período de tiempo de 6 s. La concentración de $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato de sodio en dicho medio de obtención de imágenes era aproximadamente 50 mM. Una bobina de rata (ajustada para carbono y protón) se colocó sobre la rata para cubrir la región del riñón y se detectaron las señales de $^{13}\text{C}_1$ - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina por espectroscopía por ^{13}C -RM que se llevó a cabo mediante la utilización de un espectrómetro 2.4 T Bruker para generar un perfil metabólico de la región del riñón. Se adquirió una imagen de desplazamiento químico en ^{13}C con los siguientes parámetros: FOV 12,6x 12,6 mm^2 x 12 mm, tamaño de matriz 18x 18, pulso de RF de grado 7, TR = 66 ms. El tiempo de adquisición total fue 15 segundos y la imagen de desplazamiento químico comenzó 18 segundos después del inicio de la

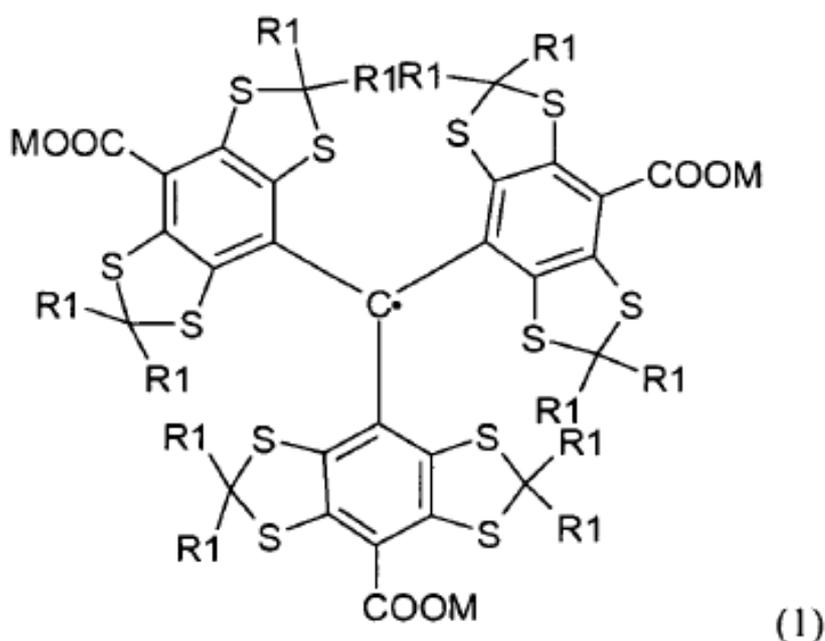
inyección del medio de obtención de imágenes. Se adquirió una imagen de protones de alta resolución para referencia. Los resultados se muestran en la Fig. 2.

Ejemplo 6 Imágenes de desplazamiento químico en ^{13}C in vivo con una bobina superficial colocada sobre el linfoma subcutáneo de ratón (EL-4) mediante la utilización de un medio de obtención de imágenes que comprendía ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado

Las células EL-4 se inyectaron en un ratón C57B1/6 para generar un linfoma subcutáneo de ratón. 175 μl de un medio de obtención de imágenes que comprendía ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado que se preparó según se describe en el Ejemplo 2 se inyectó en el ratón durante un período de tiempo de 6 s. La concentración de ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio en dicho medio de obtención de imágenes era aproximadamente 50 mM. Una bobina superficial de 20 mm (ajustada para carbono) se colocó sobre el tumor subcutáneo y se detectaron las señales de ^{13}C - α -cetoisocaproato y ^{13}C -leucina por espectroscopía por ^{13}C -RM que se llevó a cabo mediante la utilización de un espectrómetro 2.4 T Bruker para generar un perfil metabólico del tumor y el tejido circundante saludable. Se adquirió una imagen de desplazamiento químico en ^{13}C con los siguientes parámetros: FOV 35x35 mm² x10 mm, tamaño de matriz 16x16, pulso de RF de grado 10, TR = 35 ms. El tiempo de adquisición total fue 11 segundos (boquilla para disparo en la respiración) y las imágenes de desplazamiento químico comenzaron 15 segundos después del inicio de la inyección del medio de obtención de imágenes. Se realizaron las imágenes de protones mejoradas con Omniscan™(GE Healthcare) para confirmar la posición del tumor y perfusión. Los resultados se muestran en la Fig.3. La señal de ^{13}C - α -cetoisocaproato es la más alta en los vasos sanguíneos grandes; sin embargo, la distribución de ^{13}C - α -cetoisocaproato se observa sobre el campo de visión completo de la bobina superficial. La distribución de ^{13}C -leucina está confinada al área tumoral y una imagen proporcional (^{13}C -leucina y ^{13}C - α -cetoisocaproato) define el área tumoral que es confirmada y se muestra en la imagen de protones potenciada con contraste.

REIVINDICACIONES

1. Medio de obtención de imágenes que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado.
2. El medio de obtención de imágenes en conformidad con la reivindicación 1 en el que dicho ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado es ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado.
- 5 3. El medio de obtención de imágenes en conformidad con reivindicaciones 1 o 2 en el que dicho ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado es TRIS- ^{13}C - α -cetoisocaproato hiperpolarizado o ^{13}C - α -cetoisocaproato de sodio hiperpolarizado.
4. El medio de obtención de imágenes en conformidad con reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la detección por ^{13}C -RM in vivo o in vitro.
- 10 5. El medio de obtención de imágenes en conformidad con la reivindicación 4 en el que el uso incluye que se detectan las señales de ^{13}C -leucina y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.
6. El medio de obtención de imágenes en conformidad con la reivindicación 4 en el que el uso incluye que se detectan las señales de ^{13}C - CO_2 y/o ^{13}C -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.
- 15 7. El medio de obtención de imágenes en conformidad con la reivindicación 4 en el que el uso incluye que se detectan las señales de ^{13}C - α -leucina y ^{13}C - CO_2 y/o ^{13}C - α -bicarbonato y opcionalmente de ^{13}C - α -cetoisocaproato.
8. El medio de obtención de imágenes en conformidad con reivindicaciones 4 a 7 en el que dicho uso es para la detección por ^{13}C -RM in vitro y dichas señales se utilizan para generar un perfil metabólico de células en un cultivo celular, de muestras, de tejido ex vivo o de un órgano aislado obtenido de un ser humano o animal no humano.
9. El medio de obtención de imágenes en conformidad con la reivindicación 4 en el que dicho uso es para detección por ^{13}C -RM in vivo y dichas señales se utilizan para generar un perfil metabólico de un ser animal no humano o humano vivo.
- 20 10. El medio de obtención de imágenes en conformidad con reivindicaciones 8 y 9 en el que el perfil metabólico se utiliza para identificar enfermedades, preferentemente cáncer.
11. La composición que comprende ^{13}C - α -cetoisocaproato o ácido ^{13}C - α -cetoisocaproico, un agente de DNP y
25 opcionalmente un ión metálico paramagnético, en el que el agente de DNP es un radical tritilo de fórmula (1)



en la que

M representa hidrógeno o un equivalente de un catión; y

R1 que es igual o diferente representa un grupo alquilo C_1 - C_6 de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido

por uno o más grupos hidroxilo o un grupo $-(CH_2)_n-X-R_2$,

en el que n es 1, 2 o 3;

X es O o S; y

R2 es un grupo alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada, opcionalmente sustituido por uno o más grupos hidroxilo.

5 12. La composición en conformidad con la reivindicación 11 en la que está presente dicho ión metálico paramagnético y es un quelato paramagnético que comprende Gd³⁺.

13. La composición en conformidad con reivindicaciones 11 a 12 para su uso en polarización nuclear dinámica.

10 14. La composición que comprende ¹³C- α -cetoisocaproato hiperpolarizado o ácido ¹³C- α -cetoisocaproico, un agente de DNP y opcionalmente un ión metálico paramagnético, en la que dicha composición se obtiene por polarización nuclear dinámica de la composición de las reivindicaciones 11 a 12.

15

FIG. 1

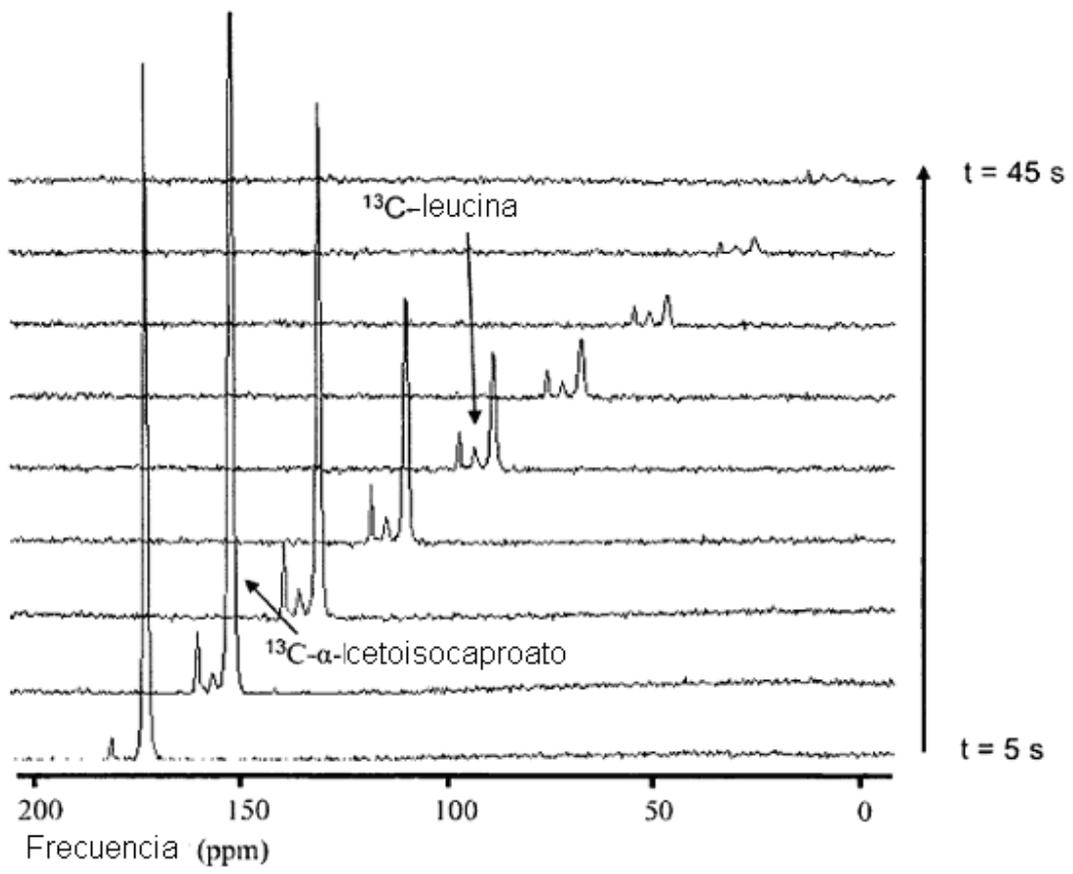
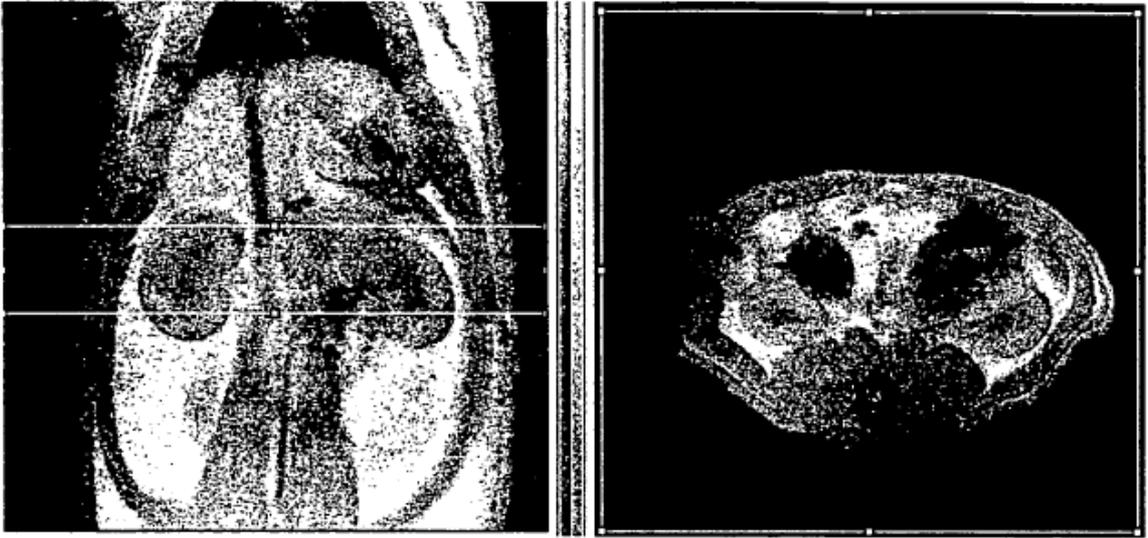
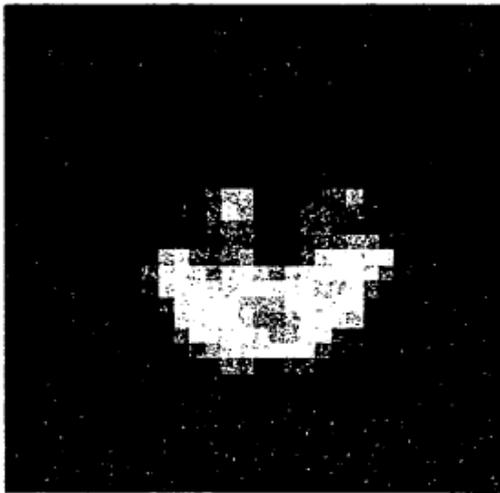


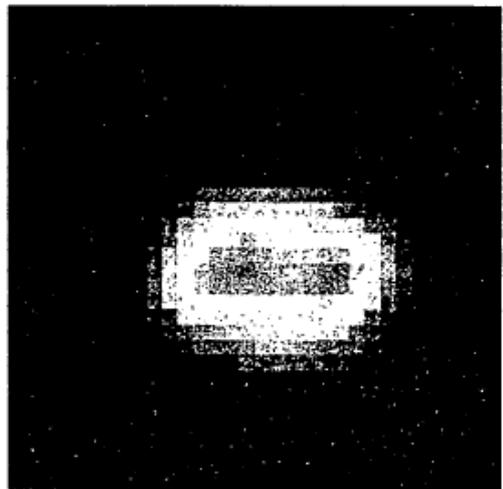
FIG. 2



2a

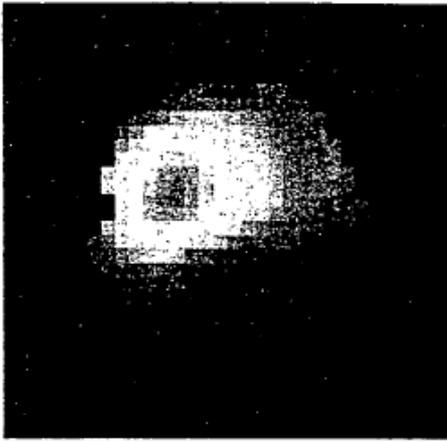


2b

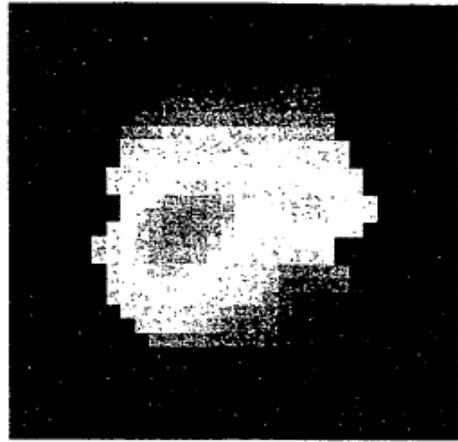


2c

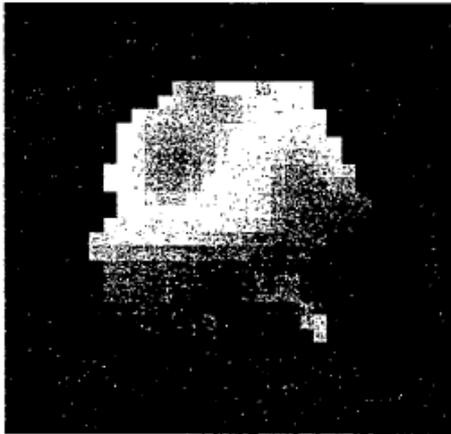
FIG. 3



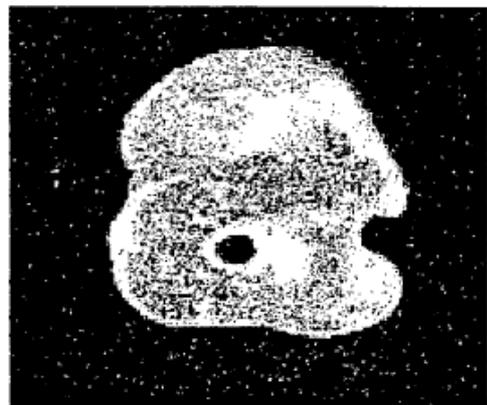
3a



3b



3c



3d