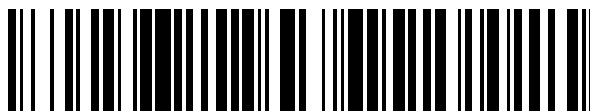


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 750**

51 Int. Cl.:

A61K 49/10 (2006.01)

A61K 49/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06835724 .3**

96 Fecha de presentación: **15.12.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1962912**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.09.2008**

54

Título: **Procedimiento para producir carbosilatos hiperpolarizados de aminas orgánicas**

30

Prioridad:

16.12.2005 NO 20055983

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:

27.12.2012

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

27.12.2012

73

Titular/es:

**GE HEALTHCARE AS (100.0%)
NYCOVEIEN 1-2 PO BOX 4220 NYDALEN
0401 OSLO, NO**

72

Inventor/es:

**THANING, MIKKEL y
GRAM, KARL ANDREAS**

74

Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 393 750 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

Procedimiento para producir carboxilatos hiperpolarizados de aminas orgánicas

La invención se refiere a un procedimiento de polarización nuclear dinámica para producir sales de carboxilato hiperpolarizado de ácidos carboxílicos con aminas orgánicas y compuestos amino orgánicos y composiciones para su uso en ese procedimiento, como se especifica en las reivindicaciones.

La RMN - formación de imágenes por resonancia magnética (RM) - es una técnica de formación de imágenes que ha llegado a ser particularmente atractiva para los médicos ya que permite obtener imágenes del cuerpo de un paciente o de partes del mismo de una manera no invasiva y sin exponer al paciente y al personal médico a radiaciones potencialmente dañinas, tales como los rayos X. Debido a sus imágenes de alta calidad, la RMN es la técnica favorita de formación de imágenes de los tejidos blandos y órganos y permite la discriminación entre tejido normal y enfermo, por ejemplo, tumores y lesiones.

La RMN se puede llevar a cabo con o sin agentes de contraste para RM. Sin embargo, la RMN con contraste normalmente permite la detección de cambios tisulares mucho más pequeños que la convierte en una herramienta poderosa para la detección de cambios tisulares en una fase temprana como por ejemplo pequeños tumores o metástasis.

En la RMN se han utilizado varios tipos de agentes de contraste. Los quelatos de metales paramagnéticos solubles en agua, por ejemplo quelatos de gadolinio como Omniscan™ (GE Healthcare) son agentes de contraste para RM muy utilizados. Debido a su bajo peso molecular se distribuyen rápidamente en el espacio extracelular (es decir, la sangre y el intersticio) cuando se administran en la vasculatura. También se eliminan del cuerpo de forma relativamente rápida.

Por otro lado, los agentes de contraste para RM en el pool sanguíneo, por ejemplo las partículas de óxido de hierro superparamagnéticas, quedan retenidos dentro de la vasculatura durante un tiempo prolongado. Éstos han demostrado ser sumamente útiles para mejorar el contraste en el hígado, pero también para detectar anomalías en la permeabilidad capilar, por ejemplo, paredes capilares con "fugas" en los tumores que son resultado de la angiogénesis tumoral.

A pesar de las excelentes e indiscutibles propiedades de los agentes de contraste anteriormente mencionados su uso no está exento de riesgos. Aunque los quelatos de metales paramagnéticos tienen normalmente constantes de estabilidad altas, es posible que se liberen iones de metales tóxicos en el cuerpo después de la administración. Además, este tipo de agentes de contraste presentan escasa especificidad.

En el documento WO-A-99/35508 se desvela un procedimiento de investigación por RM de un paciente utilizando una solución hiperpolarizada de un agente de T_1 alto como agente de contraste de RMN. El término "hiperpolarización" se refiere a la mejora de la polarización nuclear de los núcleos activos en RMN presentes en el agente de T_1 alto, es decir, los núcleos con espín nuclear no nulo, preferentemente núcleos de ^{13}C ó ^{15}N , hasta un nivel superior al encontrado a temperatura ambiente y 1 T (polarización térmica). Tras mejorar la polarización nuclear de los núcleos activos en RMN, la diferencia de población entre los estados fundamental y excitado de espín nuclear de estos núcleos aumenta significativamente y de ese modo se amplifica la intensidad de señal de RM por un factor de cien y superior. Cuando se utiliza un agente de T_1 alto enriquecido con ^{13}C y/o ^{15}N hiperpolarizado, no habrá prácticamente interferencias de las señales de fondo ya que la abundancia natural de ^{13}C y/o ^{15}N es insignificante y por tanto el contraste de la imagen será ventajosamente alto. La principal diferencia entre los agentes de contraste para RMN convencionales y estos agentes de T_1 alto hiperpolarizados es que en los primeros los cambios en el contraste son causados por la influencia sobre los tiempos de relajación de los protones del agua en el cuerpo, mientras que la última clase de agentes se puede considerar como trazadores no radiactivos, ya que la señal obtenida surge solamente del agente.

En el documento WO-A-99/35508 se desvela una variedad de posibles agentes de T_1 alto para su uso como agentes de formación de imágenes por RM, que incluye compuestos endógenos y no endógenos como acetato, piruvato, oxalato o gluconato, azúcares como glucosa o fructosa, urea, amidas, aminoácidos tales como glutamato, glicina, cisteína o aspartato, nucleótidos, vitaminas como ácido ascórbico, derivados de penicilina y sulfonamidas. Se indica adicionalmente que los intermediarios en los ciclos metabólicos, tales como el ciclo del ácido cítrico, como el ácido fumárico y el ácido pirúvico son agentes de formación de imágenes preferentes para la formación de imágenes por RM de la actividad metabólica.

Los agentes de formación de imágenes por RM hiperpolarizados que desempeñan un papel en los procesos metabólicos en el cuerpo de animales humanos y no humanos son de gran interés, ya que estos agentes de formación de imágenes hiperpolarizados se puede utilizar para obtener información sobre el estado metabólico de un tejido en una investigación mediante RM *in vivo*, es decir, que son útiles para la formación de imágenes *in vivo* de la actividad metabólica. La información sobre el estado metabólico de un tejido se puede utilizar por ejemplo para discriminar entre tejido sano y enfermo.

El piruvato es un compuesto que desempeña un papel en el ciclo del ácido cítrico y se puede utilizar la conversión de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada para el estudio de RM *in vivo* de los procesos metabólicos en el cuerpo humano. Por ejemplo se puede utilizar ^{13}C -piruvato hiperpolarizado como agente de formación de imágenes por RM para la formación de imágenes de tumores *in vivo* como se describe en detalle en el documento WO-A-2006/011810 y para evaluar la viabilidad del tejido miocárdico mediante formación de imágenes por RM como se describe en detalle en el documento WO-A-2006/054903.

Hay que destacar que la señal de un agente de formación de imágenes hiperpolarizado decae debido a la relajación y - tras la administración en el cuerpo del paciente - la dilución. Por lo tanto el valor de T_1 de los agentes de formación de imágenes en los fluidos biológicos (por ejemplo, sangre) debe ser suficientemente largo para permitir que el agente se distribuya al sitio diana en el cuerpo del paciente en un estado altamente hiperpolarizado. Además de que el agente de formación de imágenes tenga un valor de T_1 alto, resulta extremadamente importante y favorable conseguir un nivel de polarización alto.

En el documento WO-A-99/35508 se desvelan varias técnicas de hiperpolarización, una de ellas es la técnica de polarización nuclear dinámica (DNP) mediante la cual la polarización de los núcleos activos en RMN en una muestra es efectuada por un agente de polarización o el denominado agente de DNP, un compuesto que comprende electrones desapareados. Durante el procedimiento de DNP, se proporciona energía, normalmente en forma de radiación de microondas, que inicialmente excitará el agente de DNP. Tras el decaimiento al estado fundamental, se da una transferencia de polarización del electrón desapareado del agente de DNP a los núcleos activos en RMN de la muestra. Generalmente, en el procedimiento de DNP se utilizan un campo magnético moderado o alto y una temperatura muy baja, por ejemplo, llevando a cabo el procedimiento de DNP en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. De manera alternativa, se pueden emplear un campo magnético moderado y cualquier temperatura a la que se consiga una mejora suficiente de la polarización. La técnica de DNP se describe por ejemplo en el documento WO-A-98/58272 y en el documento WO-A-01/9689.

El agente de DNP desempeña un papel decisivo en el procedimiento de DNP ya que su elección tiene un impacto importante en el nivel de polarización que se puede conseguir. Se conoce una variedad de agentes de DNP - denominados "agentes de contraste OMRI" en el documento WO-A-99/35508 -. El uso de radicales de tritilo estables basados en oxígeno, basados en azufre o basados en carbono como 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, WO-A-98/39277 y WO-A-96/39367 como agentes de DNP ha dado como resultado altos niveles de polarización en una variedad de sustancias diferentes.

En los documentos WO 2006/011809, WO 2006/11811 y WO 064226 se desvelan composiciones de carboxilato para ser utilizadas en un procedimiento de formación de imágenes por RMN. Sin embargo, no se desvelan sales de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico.

También se ha descubierto que para la transferencia de polarización del agente de DNP a los núcleos activos en RMN de la muestra durante el procedimiento de DNP es necesario que el agente de DNP y la muestra estén en estrecho contacto. Este estrecho contacto se puede conseguir eligiendo un agente de DNP que sea soluble en la muestra a polarizar. Además, es importante evitar la cristalización de la mezcla de agente de DNP/muestra tras el enfriamiento/congelación. Se ha descubierto que los niveles de polarización en las muestras que cristalizan tras el enfriamiento/congelación son bajos o que incluso podría no obtenerse una mejora sobre el nivel de la polarización térmica, es decir, la polarización natural de una muestra a temperatura ambiente antes del inicio del procedimiento de polarización nuclear dinámica. Se ha descubierto adicionalmente que se pueden mejorar los niveles de polarización en las muestras que cristalizan tras el enfriamiento/congelación añadiendo formadores de vidrio ya que una mezcla de agente de DNP/muestra/formador de vidrio forma un sólido amorfo ("cristal") tras el enfriamiento/congelación.

Son formadores de vidrio adecuados, por ejemplo, el glicerol, propanodiol o glicol. Sin embargo, normalmente se tiene que mantener la adición de formadores de vidrio en el mínimo necesario, ya que esta adición "diluye" la muestra, lo que resulta una desventaja para determinadas aplicaciones como el uso de la muestra hiperpolarizada como agente de formación de imágenes en la RMN. En este caso, es necesario administrar al paciente la muestra hiperpolarizada a una concentración alta, es decir, se debe utilizar una muestra altamente concentrada en el procedimiento de DNP. En este contexto, también es importante que la masa de la composición congelada que contiene la muestra (es decir, agente de DNP, muestra y formadores de vidrio y/o disolventes en caso necesario) se mantenga lo más pequeña posible ya que una masa alta tendrá un impacto negativo en la eficacia del procedimiento de disolución, si se utiliza la disolución para transferir la composición hiperpolarizada sólida después del procedimiento de DNP al estado líquido, por ejemplo, para su uso como agente de formación de imágenes. Además, si la muestra polarizada está destinada a utilizarse como agente de formación de imágenes, la adición de formadores de vidrio podría requerir la eliminación de estos compuestos antes de administrar el agente de formación de imágenes a un paciente. Otra desventaja de la adición de formadores de vidrio es que con frecuencia se observa una disminución de la solubilidad de la muestra polarizada en los vehículos acuosos. Los vehículos acuosos son los medios de disolución preferentes para una muestra hiperpolarizada destinada a utilizarse como agente de formación de imágenes por RM.

Un número considerablemente grande de compuestos metabólicamente activos son carboxilatos, es decir, sales de ácidos carboxílicos. Son ejemplos el piruvato, lactato, bicarbonato, succinato, malato, fumarato, citrato, isocitrato, α -cetoglutarato, u oxalacetato. Estos compuestos están fácilmente disponibles (en el mercado) en forma de sus sales sódicas y la mayoría de ellos se puede disolver en agua y mezclar con un agente de DNP para preparar una composición para el procedimiento de DNP. Sin embargo, tras el enfriamiento/congelación, estas mezclas pueden cristalizar, lo que conduce - sin la adición de formadores de vidrio - a niveles de polarización que son demasiado bajos para utilizar los carboxilatos polarizados como agentes de formación de imágenes mediante RM para la formación de imágenes mediante RM de la actividad metabólica. Algunos de los compuestos anteriormente mencionados, como el piruvato y el lactato, pueden polarizarse en forma de sus ácidos puesto que estos ácidos no cristalizan tras el enfriamiento/congelación y por lo tanto no es necesaria la adición de formadores de vidrio. La desventaja es que el agente de DNP tiene que ser estable y miscible en estos ácidos, criterios que reducen considerablemente la variedad de agentes de DNP adecuados. Además, durante la etapa de disolución o más tarde, se tiene que utilizar una base para convertir el ácido libre en el carboxilato. Esto también requiere consumibles (recipientes, botellas, tubos, etc.) que puedan resistir ácidos y bases fuertes.

Los inventores han descubierto recientemente un procedimiento para polarizar carboxilatos sin la adición de formadores de vidrio. Se ha descubierto que las sales de carboxilato o ácidos carboxílicos con aminas orgánicas y compuestos amino orgánicos se pueden someter a polarización nuclear dinámica sin añadir formadores de vidrio a la mezcla a polarizar, ya que estos carboxilatos no cristalizan tras el enfriamiento/congelación. La ventaja de utilizar carboxilatos en forma de sus sales de ácido carboxílico con aminas orgánicas y compuestos amino orgánicos, es que no hay que añadir formadores de vidrio a la mezcla a polarizar y por lo tanto la "dilución" del compuesto polarizado y la eliminación de los formadores de vidrio de la muestra polarizada ya no suponen un problema. De esta manera, se puede utilizar una concentración mucho más alta de carboxilato en el procedimiento de DNP. Una ventaja adicional de la polarización directa de carboxilatos es que se puede evitar la vía indirecta de polarización del ácido carboxílico libre y todas las desventajas de esta vía como se ha esbozado en el párrafo anterior. Esto se traduce en la posibilidad de utilizar una variedad más amplia de agentes de DNP ya que estos agentes ya no tienen que ser estables en los ácidos.

De esta manera, visto desde un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para producir una sal de carboxilato hiperpolarizado sólido de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico, en el que el carboxilato del ácido carboxílico es un carboxilato endógeno, que está enriquecido con ^{13}C , y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico es un aminoalcohol fisiológicamente tolerable con un peso molecular de 30 a 300 g/mol, comprendiendo el procedimiento preparar una composición que comprende la sal de carboxilato de un ácido carboxílico con la amina orgánica o el compuesto amino orgánico y un agente de DNP y llevar a cabo una polarización nuclear dinámica sobre la composición.

El término "carboxilato" indica una entidad o entidades moleculares (por ejemplo, mezclas de diferentes carboxilatos) a hiperpolarizar mediante una polarización nuclear dinámica.

Los términos "hiperpolarizado" y "polarizado" se utilizan indistintamente en lo sucesivo en el presente documento, e indican un exceso del nivel de polarización nuclear. Preferentemente, los términos "hiperpolarizado" y "polarizado" indican un exceso del nivel de polarización nuclear del 0,1%, más preferentemente un exceso del 1% y lo más preferentemente un exceso del 10%.

El nivel de polarización se puede determinar por ejemplo mediante mediciones por RMN en estado sólido del núcleo activo en RMN en la muestra hiperpolarizada. Por ejemplo, si el núcleo activo en RMN en la muestra hiperpolarizada es ^{13}C , se adquiere una ^{13}C -RMN en estado sólido de dicha muestra. La medición de ^{13}C -RMN en estado sólido consiste preferentemente en una secuencia de RMN de pulso-adquisición simple utilizando un ángulo de inclinación bajo. La intensidad de la señal de la muestra hiperpolarizada se compara con el nivel de polarización de la muestra antes del procedimiento de polarización nuclear dinámica. A continuación se calcula el nivel de polarización a partir de la relación de las intensidades de señal de la muestra antes y después de la DNP.

De manera similar, se puede determinar el nivel de polarización para muestras hiperpolarizadas disueltas mediante mediciones de RMN en estado líquido del núcleo activo en RMN en la muestra hiperpolarizada. De nuevo, la intensidad de la señal de la muestra hiperpolarizada disuelta se compara con el nivel de polarización de la muestra disuelta antes del procedimiento de polarización nuclear dinámica. A continuación se calcula el nivel de polarización a partir de la relación de las intensidades de señal de la muestra antes y después de la DNP.

La expresión "carboxilato de una amina orgánica o un compuesto amino orgánico" indica una sal de un ácido carboxílico y una amina orgánica o un compuesto amino orgánico, preferentemente una sal de pH neutro. El carboxilato puede ser una sal de un ácido monocarboxílico como por ejemplo ácido carbónico, ácido acético, ácido palmítico, ácido oleico, ácido pirúvico o ácido láctico. En otra forma de realización, el carboxilato puede ser una sal de un ácido di- o policarboxílico como por ejemplo, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido malónico o ácido cítrico. En caso de que el carboxilato sea una sal de un ácido di- o policarboxílico, la sal puede ser un monocarboxilato, un dicarboxilato, o un policarboxilato. Por ejemplo en el caso del ácido cítrico, un ácido tricarboxílico, el carboxilato puede ser un (mono)citrato, es decir, con 2 grupos carboxílicos libres, un dicitrato, es decir, con 1 grupo carboxílico libre o un tricitrato, es decir, sin grupos carboxílicos libres. Si el carboxilato utilizado en

el procedimiento de la invención es un carboxilato de un ácido di- o policarboxílico, resulta preferente que el carboxilato no tenga grupos carboxílicos libres.

Se desvelan carboxilatos que son candidatos a fármacos, preferentemente moléculas pequeñas, por ejemplo, inferiores a 2.000 Da, o una mezcla de varios candidatos a fármacos y se puede utilizar el candidato o candidatos a fármaco hiperpolarizados en ensayos de RMN, por ejemplo para determinar la afinidad de unión a un receptor determinado o en ensayos enzimáticos. Tales ensayos se describen en los documentos WO-A-2003/089656 o WO-A-2004/051300 y preferentemente se basan en el uso de la espectroscopia de RMN en estado líquido, lo que significa que la composición hiperpolarizada sólida que contiene el candidato o los candidatos a fármaco se tiene que licuar después de la polarización, preferentemente disolviéndola o fundiéndola.

10 El carboxilato de acuerdo con la invención está enriquecido con ^{13}C .

En una forma de realización preferente, el carboxilato es un agente de formación de imágenes por RM y el carboxilato hiperpolarizado está destinado a utilizarse como agente de formación de imágenes en la formación de imágenes por RM y/o en la formación de imágenes por desplazamiento químico. Los carboxilatos de acuerdo con la invención son carboxilatos endógenos, más preferentemente carboxilatos endógenos que desempeñan un papel en un proceso metabólico en el cuerpo de animales humanos o no humanos. Los carboxilatos preferentes en este contexto son malato, acetato, fumarato, lactato, citrato, piruvato, bicarbonato, malonato, succinato, oxaloacetato, α -cetoglutarato, glutamato, aspartato, e isocitrato. Los carboxilatos más preferentes son acetato, fumarato, glutamato, aspartato y piruvato.

Si en el procedimiento de la invención se utilizan carboxilatos endógenos que desempeñan un papel en un proceso metabólico en el cuerpo de animales humanos o no humanos, estos carboxilatos hiperpolarizados se utilizan preferentemente como agentes de formación de imágenes por RM para la formación de imágenes por desplazamiento químico y/o la formación de imágenes por RM molecular *in vivo* de la actividad metabólica en el cuerpo de animales humanos o no humanos. De estos carboxilatos, resultan preferentes aquellos que contienen núcleos polarizados que presentan una relajación longitudinal lenta de manera que la polarización se mantiene durante un período de tiempo suficiente para la transferencia a un cuerpo de animal humano o no humano y la posterior formación de imágenes. Los carboxilatos preferentes contienen núcleos con constantes de tiempo de relajación longitudinal (T_1) que son superiores a 10 segundos, preferentemente superiores a 30 e incluso más preferentemente superiores a 60 segundos a una intensidad de campo magnético de 0,01 a 5 T y una temperatura en el intervalo comprendido entre 20 y 40°C.

Generalmente, un carboxilato destinado a utilizarse como agente de formación de imágenes para la formación de imágenes por desplazamiento químico y/o formación de imágenes por RM *in vivo* es un carboxilato enriquecido con ^{13}C . El enriquecimiento isotópico puede incluir enriquecimientos selectivos de uno o más sitios dentro del carboxilato o un enriquecimiento uniforme de todos los sitios. El enriquecimiento se puede conseguir por ejemplo mediante síntesis química o marcaje biológico, ambos procedimientos son conocidos en la técnica y se pueden elegir procedimientos adecuados dependiendo del carboxilato específico a enriquecer isotópicamente.

Una forma de realización preferente de un carboxilato que está destinado a utilizarse como agente de formación de imágenes por RM es un carboxilato que está enriquecido isotópicamente sólo en una posición de la molécula, preferentemente con un enriquecimiento de por lo menos el 10%, más convenientemente por lo menos el 25%, más preferentemente por lo menos el 75% y lo más preferentemente por lo menos el 90%. Idealmente, el enriquecimiento es del 100%.

La posición óptima para el enriquecimiento isotópico depende del tiempo de relajación de los núcleos activos en RM. Preferentemente, los carboxilatos se enriquecen isotópicamente en posiciones con un tiempo de relajación T_1 largo. Se utilizan preferentemente carboxilatos enriquecidos con ^{13}C que se enriquecen en un átomo de C del grupo carboxilo, un átomo de C del grupo carbonilo o un átomo de C cuaternario.

Los carboxilatos especialmente preferentes para su uso como agentes de formación de imágenes por RM son ^{13}C -piruvato, ^{13}C -acetato, ^{13}C -lactato, ^{13}C -bicarbonato, ^{13}C -3-hidroxibutirato, ^{13}C -fumarato y ^{13}C -carbonato siendo el más preferente ^{13}C -piruvato. Se puede enriquecer el ^{13}C -piruvato isotópicamente en la posición C1 ($^{13}\text{C}_1$ -piruvato), en la posición C2 ($^{13}\text{C}_2$ -piruvato), en la posición C3 ($^{13}\text{C}_3$ -piruvato), en la posición C1 y en la C2 ($^{13}\text{C}_{1,2}$ -piruvato), en la posición C1 y en la C3 ($^{13}\text{C}_{1,3}$ -piruvato), en la posición C2 y en la C3 ($^{13}\text{C}_{2,3}$ -piruvato) o en la posición C1, C2 y C3 ($^{13}\text{C}_{1,2,3}$ -piruvato). La posición C1 es la preferente para el enriquecimiento isotópico con ^{13}C .

Se puede utilizar el carboxilato del procedimiento de la invención en la espectroscopia de RMN en estado sólido. En este caso, se puede analizar el carboxilato hiperpolarizado sólido mediante espectroscopia de RMN en estado sólido estática o con rotación en ángulo mágico. El carboxilato no se limita a carboxilatos con determinadas propiedades y se pueden utilizar como carboxilatos moléculas de cualquier tamaño y tipo con un grupo carboxilato.

Como se ha mencionado anteriormente, la expresión "carboxilato de una amina orgánica o un compuesto amino orgánico" indica una sal de un ácido carboxílico y una amina orgánica o un compuesto amino orgánico. Las aminas pueden ser aminas primarias, aminas secundarias o aminas terciarias. Debido al par de electrones libres en el átomo de nitrógeno, las aminas pueden reaccionar con los ácidos carboxílicos para formar sales que comprenden

aniones carboxilato y cationes amonio cuaternario. Los compuestos amino son compuestos químicos orgánicos que comprenden un grupo amino que puede ser un grupo amino no sustituido, es decir, $-NH_2$, o un grupo amino sustituido, es decir, $-NHR$ o $-NR_2$, en el que R indica cualquier resto aparte de H. Los compuestos amino pueden contener otros grupos funcionales como grupos hidroxilo, grupos carboxilo, grupos carbonilo o grupos de ácido sulfónico. En el contexto de la invención, se deben elegir compuestos amino que formen sales fácilmente con el ácido carboxílico seleccionado pero que no formen otros productos secundarios no deseados. Se desvelan aminas, aminoalcoholes, es decir, compuestos amino que comprenden un grupo hidroxilo, y ácidos aminosulfónicos.

En el procedimiento de la invención las aminas orgánicas o los compuestos amino orgánicos son aminoalcoholes con un peso molecular de 30 a 300 g/mol, más preferentemente de 30 a 200 g/mol y lo más preferentemente de 30 a 160 g/mol. Resultan preferentes etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, aminopropanodiol, 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol, N-metil-D-glucamina y tris(hidroximetil)-metilamina (TRIS).

Si el carboxilato hiperpolarizado está destinado a utilizarse como agente de formación de imágenes por RM, es importante que tenga una alta concentración del carboxilato en la composición a polarizar, ya que es necesario administrar al paciente el carboxilato hiperpolarizado en concentraciones relativamente altas. Además, resulta ventajoso mantener la masa de la composición a polarizar tan pequeña como sea posible y al mismo tiempo tener una alta concentración del carboxilato en la composición. De nuevo, esto se puede conseguir eligiendo una amina o un compuesto amino de bajo peso molecular. Si se puede mantener pequeña la masa de la composición a polarizar, se puede llevar a cabo la disolución de la composición hiperpolarizada después de la polarización - por ejemplo, en caso de que el carboxilato hiperpolarizado se utilice en la formación de imágenes por RM o RMN en estado líquido - de manera más eficaz.

Para la utilización de carboxilatos hiperpolarizados como agentes de formación de imágenes por RM, resulta preferente elegir una amina orgánica o un compuesto amino orgánico que sea fisiológicamente tolerable, puesto que un compuesto de este tipo no tiene por qué ser eliminado del carboxilato hiperpolarizado - por ejemplo, intercambiado por otro catión fisiológicamente tolerable - antes de su administración a un paciente. De acuerdo con la invención, se utilizan aminoalcoholes fisiológicamente tolerables.

Los aminoalcoholes preferentes son tris(hidroximetil)metilamina (TRIS) y N-metil-D-glucamina (me glumina). Ambos son compuestos fisiológicamente tolerables bien conocidos; la me glumina se utiliza como catión en preparaciones iónicas de varios agentes de contraste de RM y rayos X, mientras que el TRIS se utiliza como tampón en las formulaciones líquidas de agentes de diagnóstico y terapéuticos que se utilizarán en o se aplicarán a animales humanos o no humanos.

En una forma de realización preferente del procedimiento de la invención, se utiliza un carboxilato de pH neutro de una amina orgánica o de un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones. Para obtener un carboxilato de pH neutro de este tipo, se combina una amina orgánica o un compuesto amino orgánico con un ácido carboxílico en una relación molar tal que todos los grupos carboxilo presentes en el ácido carboxílico se conviertan en carboxilatos, es decir, en una relación molar que de como resultado un carboxilato de pH neutro de una amina orgánica o de un compuesto amino orgánico. Si, por ejemplo se hace reaccionar ácido pirúvico con el aminoalcohol TRIS, una relación molar 1:1 de ácido pirúvico y TRIS dará como resultado un tris-piruvato de aproximadamente pH 5. Por lo tanto, se tiene que utilizar un ligero exceso de TRIS para obtener un TRIS-piruvato de pH neutro.

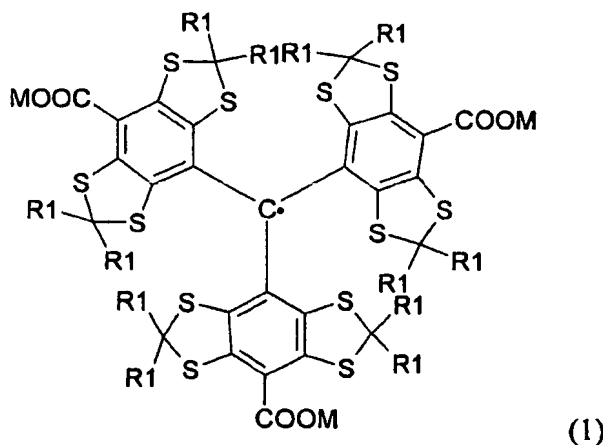
Para obtener la sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico utilizado en el procedimiento de la invención, se combina una amina orgánica o un compuesto amino orgánico con un ácido carboxílico, por ejemplo añadiendo la amina orgánica o el compuesto amino orgánico al ácido carboxílico. Esto se podría hacer añadiendo lentamente la amina orgánica o el compuesto amino orgánico a un recipiente de reacción que contiene el ácido carboxílico. Se puede agitar la mezcla de reacción para asegurar una mezcla apropiada de los compuestos y se puede enfriar el recipiente de reacción. En otra forma de realización, se pueden añadir la amina orgánica o el compuesto amino orgánico y el ácido carboxílico a una solución del agente de DNP, preferentemente una solución del agente de DNP en agua. Además, se pueden disolver el ácido carboxílico y o la amina orgánica o el compuesto amino orgánico en un disolvente, por ejemplo agua; sin embargo, la cantidad de disolvente se debe mantener al mínimo. También se pueden mezclar el ácido carboxílico y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico disueltos llevando las soluciones desde 2 recipientes hasta una pieza en T que asegura la mezcla. En caso necesario, se pueden utilizar medios para bombear las soluciones desde los recipientes a través de los conductos/tubos hasta el interior de la pieza en T. En una forma de realización más, se pueden disolver una sal del ácido carboxílico, por ejemplo, la sal sódica, en un disolvente como agua y hacerse pasar a través de una columna de intercambio de iones cargada con la sal de amonio cuaternario de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico. Este procedimiento puede ser más conveniente cuando se utilizan carboxilatos marcados isotópicamente en el procedimiento de la invención, puesto que estas sales sódicas están fácilmente disponibles en el mercado con mayor frecuencia, mientras que los ácidos carboxílicos libres no lo están. Además, puesto que se evita la generación de calor y el contacto prolongado de los compuestos, se reduce en gran medida la formación de productos secundarios no deseados. Para mantener la cantidad de disolvente al mínimo, se puede evaporar el disolvente al volumen deseado después de la producción del carboxilato mediante procedimientos conocidos en la técnica.

En una forma de realización preferente, la composición a polarizar es una composición líquida, más preferentemente una composición disuelta, es decir una solución de una sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones y el DNP en un disolvente o una mezcla de disolventes. El término "disolvente" indica en lo sucesivo en el presente documento disolventes y mezclas de disolventes. El disolvente se elige de manera que el carboxilato y el agente de DNP sean solubles en dicho disolvente. Además, si se utiliza el carboxilato hiperpolarizado como un agente de formación de imágenes por RM, el disolvente es preferentemente un disolvente fisiológicamente tolerable como un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptado, por ejemplo una solución tampón o solución salina o más preferentemente agua. En una forma de realización preferente, el disolvente se mantiene en el mínimo necesario para dar como resultado una composición disuelta.

La composición a polarizar en el procedimiento de la invención comprende adicionalmente un agente de DNP, que es esencial en el procedimiento de DNP. Para conseguir un nivel de polarización alta en el carboxilato a polarizar, el agente de DNP tiene que ser estable y soluble en el carboxilato (disuelto). En este contexto, los radicales tritilo estables son los agentes de DNP preferentes y tales radicales tritilo estables basados en oxígeno, basados en azufre o basados en carbono se describen por ejemplo en los documentos WO-A-99/35508, WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711, WO-A-96/39367, WO-A-98/39277 y WO-A-2006/011811.

La elección óptima del agente de DNP depende de varios aspectos. Como se ha mencionado anteriormente, el agente de DNP y el carboxilato deben estar en estrecho contacto con el fin de dar como resultado niveles de polarización óptimos en el carboxilato. De esta manera, en una forma de realización preferente, el agente de DNP es soluble en el carboxilato (disuelto). Si el carboxilato a polarizar es un compuesto lipófilo (hidrófilo), el agente de DNP debe ser también lipófilo (hidrófilo). Si el agente de DNP es un radical tritilo, la lipofilia o hidrofilia de dicho radical tritilo puede ser influenciada por la elección de restos lipófilos o hidrófilos adecuados. Además, el agente de DNP tiene que ser estable en presencia del carboxilato. Por tanto, si el carboxilato contiene grupos reactivos, se debe utilizar un agente de DNP que sea relativamente inerte frente a estos grupos reactivos. A partir de lo anteriormente mencionado resulta evidente que la elección del agente de DNP depende fundamentalmente de la naturaleza química de la muestra.

En una forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención, el carboxilato es piruvato, más preferentemente ^{13}C -piruvato y lo más preferentemente $^{13}\text{C}_1$ -piruvato y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico es TRIS o meglumina. En este caso, el agente de DNP es preferentemente 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- $\text{C}_1\text{-C}_6$ de cadena lineal o ramificada, un grupo $\text{C}_1\text{-C}_6$ -hidroxialquilo o un grupo $(\text{CH}_2)_n\text{-X-R}_2$, en el que n es 1, 2 ó 3;

X es O o S y R2 es un grupo alquilo- $\text{C}_1\text{-C}_4$ de cadena lineal o ramificada.

En una forma de realización preferente, M representa hidrógeno o un equivalente de un catión fisiológicamente tolerable. La expresión "catión fisiológicamente tolerable" indica un catión que es tolerado por el cuerpo vivo de un animal humano o no humano. Preferentemente, M representa hidrógeno o un catión alcalino, un ion amonio o un ion de amina orgánica, por ejemplo meglumina. Lo más preferentemente, M representa hidrógeno o sodio.

En una forma de realización preferente adicional, R1 es igual, más preferentemente un grupo $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alquilo de cadena lineal o ramificada, más preferentemente metilo, etilo o isopropilo o un grupo $\text{C}_1\text{-C}_4$ -hidroxialquilo, lo más preferentemente hidroximetilo o hidroxietilo.

En una forma de realización preferente adicional, R1 es igual o diferente, preferentemente igual y 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 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SCH}_3$, lo más preferentemente

-CH₂-CH₂-OCH₃.

Tales radicales tritilo se pueden sintetizar como se describe en detalle en los documentos WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711, WO-A-96/39367, WO-A-98/39277 y WO-A-2006/011811.

Se puede obtener la composición que comprende una sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones y un agente de DNP combinando la sal de carboxilato, en caso necesario disuelta en un disolvente, preferentemente en agua y el agente de DNP para formar una mezcla homogénea. En otra forma de realización, el agente de DNP se disuelve en un disolvente, preferentemente en agua y el ácido carboxílico y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico se añaden a esta solución, preferentemente en porciones alternas, para formar la sal de carboxilato *in situ*. Se puede provocar un buen mezclado de los compuestos mediante varios medios conocidos en la técnica, tales como agitación, agitación vorticial o sonicación.

En una forma de realización preferente, la composición utilizada en el procedimiento de la invención comprende adicionalmente un ion de metal paramagnético. Resulta preferente la presencia de iones de metales paramagnéticos en la composición a polarizar ya que conduce a un aumento de los niveles de polarización del carboxilato.

El ion de metal paramagnético comprendido en la composición utilizada en el procedimiento de la invención es un ion de metal paramagnético de un metal lantánido con número atómico del 58 al 70 o de un metal de transición con número atómico del 21 al 29, 42 ó 44. En el procedimiento de la invención se pueden utilizar iones de metales paramagnéticos de un solo metal o de metales diferentes. Preferentemente, se utilizan iones de metales paramagnéticos de un solo metal. Iones paramagnéticos adecuados incluyen, por ejemplo Cr³⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Cd³⁺, Sm³⁺, Gd³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺, Ho³⁺, Er³⁺ e Yb³⁺. En una forma de realización preferente, el ion de metal paramagnético está seleccionado del grupo que consiste en Cr³⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Fe²⁺, Gd³⁺ y Tb³⁺, en una forma de realización más preferente, del grupo que consiste en Cr³⁺, Mn²⁺, Fe³⁺ y Gd³⁺.

Convenientemente, se utilizan iones de metales paramagnéticos en forma de quelatos o en la forma de sus sales.

Si el carboxilato a polarizar está destinado a someterse a RMN en estado sólido, se utilizan preferentemente iones de metales paramagnéticos en forma de sus sales. Las sales adecuadas son, por ejemplo, CrCl₃, MnCl₂, FeCl₂, FeCl₃, GdCl₃ o carboxilatos de metales paramagnéticos, preferentemente carboxilatos que son aquellos que están polarizados. Por tanto, si el carboxilato a polarizar es acetato, el ion de metal paramagnético sería preferentemente un acetato de metal paramagnético, por ejemplo acetato de Fe (III). Análogamente, si el carboxilato a polarizar es el piruvato, el ion de metal paramagnético sería preferentemente un piruvato de metal paramagnético, por ejemplo piruvato de Gd (III). Resulta ventajoso seleccionar una sal que sea soluble en el carboxilato o una solución del carboxilato. En otra forma de realización, los iones de metales paramagnéticos se pueden añadir en forma de quelatos.

Para la RMN en estado líquido o para su uso como agente de formación de imágenes en un cuerpo humano o animal vivo, el carboxilato hiperpolarizado sólido obtenido mediante el procedimiento de la invención se tiene que disolver o fundir para dar como resultado una solución o un líquido. Sin embargo, los iones paramagnéticos libres en una solución o en un líquido de este tipo acorta drásticamente el tiempo de relajación T₁ de los núcleos polarizados en la muestra, es decir, acelerando el decaimiento natural de la polarización y acortando así el tiempo el carboxilato proporcionará altas intensidades de la señal de RM. Por otro lado, si el carboxilato a polarizar está destinado a utilizarse como un agente de formación de imágenes en el cuerpo humano o animal vivo, los iones libres de metales paramagnéticos - si no se eliminan del inyectable final - con frecuencia no son tolerados o son mal tolerados fisiológicamente y tienen por lo tanto efectos no deseados, por ejemplo, efectos tóxicos.

Para superar los efectos anteriormente mencionados de los iones libres de metales paramagnéticos, se puede utilizar los iones de metales paramagnéticos en forma de quelatos. La ventaja es que la eliminación del quelato paramagnético del carboxilato hiperpolarizado líquido no se tiene que llevar a cabo a una presión de tiempo tan alta para evitar el acortamiento de T₁ como se ha analizado anteriormente. Mediante el uso de una sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones de acuerdo con el procedimiento de la invención en lugar de polarizar el ácido carboxílico libre, también es posible utilizar una variedad considerablemente más amplia de quelatos paramagnéticos, la mayoría de los cuales no serían estables en un ácido carboxílico libre debido a la protonación de los átomos de nitrógeno y los grupos carboxílicos comúnmente presentes en los agentes quelantes.

Los efectos anteriormente mencionados se pueden superar adicionalmente utilizando iones de metales paramagnéticos en forma de sus sales y eliminando rápidamente los iones de metales paramagnéticos después de disolver o fundir el carboxilato hiperpolarizado. Los procedimientos para la eliminación de los iones de metales paramagnéticos se desvelan más adelante en la presente solicitud.

En otra forma de realización, se pueden superar los efectos anteriormente mencionados utilizando iones de metales paramagnéticos en forma de sus sales y añadiendo agentes quelantes al medio de disolución para complejizar rápidamente los iones libres de metales paramagnéticos. En este caso se debe elegir un agente quelante que sea soluble y estable en el medio de disolución y que forme rápidamente un complejo estable con el ion libre de metal

paramagnético.

Como se ha indicado anteriormente, los iones de metales paramagnéticos se pueden utilizar en el procedimiento de la invención en forma de quelatos. La expresión "quelato paramagnético" en el presente documento indica adicionalmente iones de metales paramagnéticos en forma de quelatos, es decir, complejos de iones de metales paramagnéticos y agentes quelantes.

Se conoce una variedad de agentes quelantes para este fin. Generalmente, se puede utilizar agentes quelantes cíclicos y acíclicos que contienen con frecuencia heteroátomos como N, O, P o S, siendo preferentes los agentes quelantes cíclicos. Agentes quelantes acíclicos adecuados son por ejemplo DTPA y compuestos del mismo como EDTA-BMA, DPDP, PLED, HPTA, amidas o diamidas como TOGDA, criptandos o sulfonatos. Agentes quelantes cíclicos adecuados son por ejemplo PCTA-[12], PCTP-[12], PCTP-[13], DOTA, DO3A y compuestos del mismo como HP-DO3A y DO3A-butriol. Los agentes quelantes cíclicos preferentes son DOTA, DO3A y compuestos del mismo. Estos agentes quelantes son conocidos en la técnica y el experto en la materia es capaz de encontrar abundante literatura acerca de estos agentes quelantes y su preparación.

En otra forma de realización, se utilizan agentes quelantes que son entidades químicas relativamente inertes, por ejemplo, fullerenos o zeolitas. Tales agentes quelantes que encierran o encapsulan un ion de metal paramagnético resultan preferentes si el carboxilato a polarizar comprende grupos funcionales reactivos que podrían reaccionar con más agentes quelantes reactivos, por ejemplo, como los mencionados en el párrafo anterior.

En el procedimiento de la invención, los quelatos paramagnéticos pueden ser un quelato paramagnético monomérico, es decir, una entidad química que consiste en un agente quelante y un único ion de metal paramagnético o un quelato paramagnético multimérico, es decir, una entidad química que consiste en dos o más subunidades en la que cada subunidad consiste en un agente quelante y un único ion de metal paramagnético. Un ejemplo de un quelato paramagnético trimérico es 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metilfenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona, un quelato paramagnético que consiste en un núcleo triazinatriona con 3 subunidades conectadas a dicho núcleo en el que cada subunidad comprende Gd^{3+} como ion de metal paramagnético y un derivado de DO3A como agente quelante. La síntesis de este quelato paramagnético trimérico se describe en la parte de Ejemplo de la presente solicitud

Como con el agente de DNP descrito anteriormente, el carboxilato a polarizar debe estar en estrecho contacto con el ion de metal paramagnético. En adelante, a menos que se indique o especifique lo contrario, la expresión "ion de metal paramagnético" se utiliza para los iones de metales paramagnéticos en forma de sus sales y para los quelatos paramagnéticos. Si el carboxilato está en solución (es decir, disuelto en un disolvente como agua), resulta preferente utilizar un ion de metal paramagnético que sea soluble en el carboxilato disuelto. Por lo tanto, como con el agente de DNP, el ion de metal paramagnético y el carboxilato forman preferentemente una mezcla homogénea. Si el carboxilato a polarizar es un compuesto lipófilo (hidrófilo), el quelato paramagnético debe ser también lipófilo (hidrófilo). La lipofilia o hidrofilia de los quelatos paramagnéticos puede por ejemplo estar influenciada por la elección de agentes quelantes que comprenden restos lipófilos o hidrófilos adecuados. Además, resulta preferente que el quelato paramagnético sea estable en presencia del carboxilato ya que la disociación del complejo (dequelación) dará lugar a iones paramagnéticos libres con consecuencias perjudiciales sobre el decaimiento de la polarización y por lo tanto el nivel de polarización en un carboxilato hiperpolarizado licuado como se ha descrito anteriormente, a menos que los iones libres de metales paramagnéticos se eliminen rápidamente después haber licuado el carboxilato hiperpolarizado sólido. Si el carboxilato a polarizar contiene grupos reactivos se debe utilizar un ion de metal paramagnético que sea relativamente inerte frente a estos grupos reactivos. A partir de lo anteriormente mencionado resulta evidente que la elección del ion de metal paramagnético depende fundamentalmente de la naturaleza química del carboxilato y su uso final (RMN en fase sólida, RMN en fase líquida o agente de formación de imágenes).

Otro aspecto de la invención es un procedimiento para producir un carboxilato hiperpolarizado líquido, comprendiendo el procedimiento preparar una composición que comprende una sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones, un agente de DNP y opcionalmente un ion de metal paramagnético, llevar a cabo la polarización nuclear dinámica sobre la composición, licuar la composición y opcionalmente eliminar el agente de DNP de la composición licuada.

Para llevar a cabo los procedimientos de acuerdo con la invención, la primera etapa es preparar una composición que comprende una sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones, un agente de DNP y, opcionalmente, un ion de metal paramagnético.

Si la sal de carboxilato utilizada en el procedimiento de la invención está en solución, por ejemplo, disuelta en un disolvente, preferentemente en un vehículo acuoso o agua, la sal de carboxilato disuelta se combina con el agente de DNP elegido, preferentemente un radical tritilo y, opcionalmente, con un ion de metal paramagnético para formar una composición en la que los compuestos están en estrecho contacto. Más preferentemente, el agente de DNP elegido y el ion de metal paramagnético son solubles en la sal de carboxilato disuelta. Se puede provocar un buen

mezclado de los compuestos mediante varios medios conocidos en la técnica, tales como agitación, agitación vorticial o sonicación. En otra forma de realización, se prepara una solución del agente de DNP en un disolvente, preferentemente agua, y se añaden porciones alternas del ácido carboxílico y de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico para formar la sal de carboxilato del ácido carboxílico con la amina orgánica o con el compuesto amino orgánico como se define en las reivindicaciones *in situ*. Opcionalmente, se añade un ion de metal paramagnético y se disuelve en la solución que contiene el agente de DNP y el carboxilato. En una forma de realización más, se prepara una solución del ion de metal paramagnético, preferentemente en agua, y se añaden porciones alternas del ácido carboxílico y de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico para formar el carboxilato de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico *in situ*. Posteriormente se añade el agente de DNP y se disuelve en la solución que contiene el ion de metal paramagnético y el carboxilato. En una forma de realización más, el agente de DNP y el ion de metal paramagnético se disuelven en un disolvente, preferentemente agua, simultánea o posteriormente y se añaden porciones alternas del ácido carboxílico y de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico para formar el carboxilato de la amina orgánica o del compuesto amino orgánico *in situ*.

Si se utiliza como agente de DNP un radical tritilo, una concentración adecuada de tal radical tritilo es de 5 a 25 mM, preferentemente de 10 a 20 mM en la composición. Si se añade a la composición un ion de metal paramagnético, una concentración adecuada de un ion de metal paramagnético de este tipo es de 0,1 a 6 mM (ion de metal) en la composición, y resulta preferente una concentración de 0,5 a 4 mM.

Después de haber preparado la composición, dicha composición se enfría/congela. El enfriamiento/congelación se puede conseguir mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo congelando la composición en nitrógeno líquido o simplemente colocándola en el polarizador DNP, donde el helio líquido la congelará.

La composición puede desgasificarse antes del enfriamiento/congelación. La desgasificación se puede conseguir haciendo burbujear gas helio a través de la composición (por ejemplo, durante un período de tiempo de 2 a 15 minutos), pero se puede efectuar mediante otros procedimientos comunes conocidos.

La técnica de DNP se describe por ejemplo en el documento WO-A-98/58272 y en el documento WO-A-01/96895. Generalmente, en el procedimiento de DNP se utilizan un campo magnético moderado o alto y una temperatura muy baja, por ejemplo, llevando a cabo el procedimiento de DNP en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. De manera alternativa, se pueden emplear un campo magnético moderado y cualquier temperatura a la que se consiga una mejora suficiente de la polarización. En una forma de realización preferente, el procedimiento de DNP se lleva a cabo en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. Las unidades de polarización adecuadas (= polarizadores) se describen por ejemplo en el documento WO-A-02/37132. En una forma de realización preferente, la unidad de polarización comprende un criostato y medios de polarización, por ejemplo, una cámara de microondas conectada por una guía de ondas a una fuente de microondas en un orificio central rodeado por los medios que producen el campo magnético tales como un imán superconductor. El orificio se extiende verticalmente hacia abajo hasta por lo menos el nivel de una región P cerca del imán superconductor donde la fuerza del campo magnético es lo suficientemente alta, por ejemplo, entre 1 y 25 T, para que tenga lugar la polarización de los núcleos de la muestra. Preferentemente, el orificio para la sonda (= composición a polarizar) es sellable y se puede evacuar a presiones bajas, por ejemplo presiones del orden de 100 Pa o menos. Un medio de introducción de la sonda tal como un tubo de transporte extraíble pueden estar contenidos en el interior del orificio y este tubo se puede insertar desde la parte superior del orificio hasta una posición dentro de la cámara de microondas en la región P. La región P se enfría mediante helio líquido a una temperatura lo suficientemente baja como para que tenga lugar la polarización, preferentemente a temperaturas del orden de 0,1 a 100 K, más preferentemente de 0,5 a 10 K, lo más preferentemente de 1 a 5 K. Preferentemente, el medio de introducción de la sonda es sellable en su extremo superior de cualquier manera adecuada para retener el vacío parcial en el orificio. Se puede instalar un recipiente de retención de sonda, tal como una copa de retención de sonda, de manera desmontable en el interior del extremo inferior del medio de introducción de sonda. La copa de retención de sonda está hecha preferentemente de un material ligero con baja capacidad calorífica específica y buenas propiedades criogénicas tales como, por ejemplo, Kelf (policlorotrifluoroetileno) o PEEK (polieteretercetona) y que se puede diseñar de manera que pueda contener más de una sonda.

La sonda se inserta en la copa de retención de sonda, se sumerge en el helio líquido y se irradia con microondas, preferentemente a una frecuencia de aproximadamente 94 GHz a 200 mW. Se puede monitorizar el nivel de polarización, por ejemplo, adquiriendo señales de RMN en estado sólido de la sonda durante la irradiación de microondas, dependiendo de la muestra a polarizar. Generalmente, se obtiene una curva de saturación en un gráfico que muestra la señal de RMN vs. el tiempo. Por tanto es posible determinar cuándo se alcanza el nivel de polarización óptimo.

Si el carboxilato polarizado está destinado a utilizarse como un agente de formación de imágenes por RM, la composición que contiene el carboxilato se transfiere de un estado hiperpolarizado sólido a un estado hiperpolarizado líquido (es decir licuado), disolviéndolo después del procedimiento de DNP en un disolvente o mezcla de disolventes apropiados, por ejemplo un vehículo acuoso fisiológicamente tolerable y farmacéuticamente aceptado como el agua, una solución tampón o solución salina, o fundiéndolo. Resulta preferente la disolución y el procedimiento de disolución y por lo tanto los dispositivos adecuados se describen en detalle en el documento WO-A-02/37132. El procedimiento de fusión y los dispositivos adecuados para la fusión se describen por ejemplo en

el documento WO-A-02/36005.

En una forma de realización preferente, la composición sólida que contiene la sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en las reivindicaciones se disuelve en agua o en una solución tampón acuosa, preferentemente TRIS.

- 5 En una etapa posterior, se pueden eliminar el agente de DNP y el ion de metal paramagnético opcionalmente presente de la composición licuada. Si el carboxilato hiperpolarizado está destinado a utilizarse como un agente de formación de imágenes por RM o para otras aplicaciones en un ser humano o animal vivo, el agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y el ion de metal paramagnético se eliminan preferentemente de la composición licuada.
- 10 Los procedimientos utilizables para eliminar parcialmente, considerablemente o por completo el radical tritilo y el ion de metal paramagnético son conocidos en la técnica. Generalmente, los procedimientos aplicables dependen de la naturaleza del radical tritilo y del ion de metal paramagnético. Tras la disolución de la composición hiperpolarizada sólida, el radical tritilo y/o el ion de metal paramagnético pueden precipitar y se pueden separar así fácilmente del líquido por filtración.
- 15 Si no se produce la precipitación, se pueden eliminar el radical tritilo y el ion de metal paramagnético mediante técnicas de separación cromatográficas, por ejemplo, cromatografía en fase líquida como la cromatografía en fase inversa, cromatografía de intercambio iónico, extracción (en fase sólida) u otros procedimientos de separación cromatográficos conocidos en la técnica. En general, resulta preferente utilizar un procedimiento que sea capaz de eliminar el radical tritilo y el ion de metal paramagnético en una sola etapa ya que la polarización en el carboxilato líquido decae debido a la relajación T_1 . Cuanto más eficaz y más rápidamente se eliminan los compuestos no deseados del carboxilato líquido mayor será el nivel de polarización retenido en el carboxilato. Por tanto, resulta beneficioso seleccionar un radical tritilo y un ion de metal paramagnético que tengan propiedades químicas similares, por ejemplo, que sean ambos compuestos químicos lipófilos o hidrófilos, no sólo desde el punto de vista de tener un estrecho contacto entre el carboxilato, el radical tritilo y el ion de metal paramagnético, sino también desde el punto de vista de una eliminación rápida. Si por ejemplo se utilizan un radical tritilo lipófilo y un quelato paramagnético lipófilo, ambos compuestos se pueden eliminar por cromatografía líquida en fase inversa en una única columna de cromatografía.

- Si están presentes en la composición licuada iones libres de metales paramagnéticos (por ejemplo, debido al uso de una sal de metal paramagnético), estos iones se eliminan preferentemente utilizando una columna de intercambio catiónico o resinas iónicas impresas como se desvela en O. Vigneau y col., Anal. Chim. Acta 435 (1), 2001, 75-82. Otro procedimiento posible es la nanofiltración por complejación selectiva de iones libres de metales paramagnéticos sobre una membrana orgánica cargada, como se desvela en A. Sorin y col., J. Membrane Science 267 (1-2), 2005, 41-49. Además, se pueden eliminar los iones libres de metales paramagnéticos de la composición licuada por cromatografía de afinidad en analogía con lo que se desvela en S. Donald y col. J. Inorg. Biochem. 56 (3), 1994, 167-171.
- 30
- 35

- Como los radicales tritilo tienen un espectro de absorción UV/visible característico, es posible utilizar la medición de la absorción UV/visible como procedimiento para comprobar su presencia en la composición líquida después de su eliminación. Con el fin de obtener resultados cuantitativos, es decir, la concentración del radical tritilo presente en la composición líquida, se puede calibrar el espectrómetro óptico de manera que la absorción a una longitud de onda específica de una muestra de la composición líquida proporcione la correspondiente concentración de radical tritilo en la muestra. La eliminación del radical tritilo resulta especialmente preferente si el carboxilato hiperpolarizado líquido se utiliza como agente de formación de imágenes para la formación de imágenes por RM *in vivo* de un cuerpo de animal humano o no humano.
- 40

- Después de la eliminación del ion de metal paramagnético - si ha estado presente en la composición que se polariza - y/o el radical tritilo, se puede comprobar la muestra líquida para determinar la presencia de radical tritilo y/o de ion de metal paramagnético residual.
- 45

- Como procedimiento para comprobar la presencia de quelatos paramagnéticos se pueden utilizar la medición de absorción de fluorescencia o de UV/visible, siempre que los quelatos contengan un cromóforo (fuerte). Otra forma de comprobar la presencia de quelatos paramagnéticos es la detección electroquímica, siempre que esté presente en el quelato un resto electroactivo.
- 50

- Si se utilizaran en la composición sales de metales paramagnéticos, se pueden utilizar mediciones de fluorescencia para comprobar la presencia de iones libres de metales paramagnéticos después de su eliminación de la composición líquida. Si por ejemplo se utiliza una sal de Gd^{3+} , se puede utilizar la fluorescencia con una longitud de onda de excitación de 275 nm y la monitorización de la emisión a 314 nm como procedimiento para detectar Gd^{3+} libre con alta especificidad. Además, se puede detectar Gd^{3+} libre por absorbancia visible a 530-550 nm después de la complejación con el agente colorimétrico PAR (4-(2-piridilazo)resorcinol). Otros agentes colorimétricos adecuados para otros iones de metales paramagnéticos son conocidos en la técnica y se pueden utilizar de la misma manera.
- 55

En una forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención, la composición comprende un ^{13}C -piruvato, preferentemente $^{13}\text{C}_1$ -piruvato de TRIS o meglumina, un radical tritilo, preferentemente un radical tritilo de fórmula (1) y, un quelato paramagnético que comprende Gd^{3+} como ion de metal paramagnético o una sal de Gd^{3+} como GdCl_3 o Gd -piruvato. Se prepara una composición preferentemente disolviendo el quelato de Gd o sal de Gd en un disolvente, preferentemente agua, y añadiendo $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico y TRIS o meglumina, preferentemente en porciones alternas, a dicha solución. En una etapa posterior, se añade a la solución el radical tritilo de fórmula (1) y la composición así obtenida se enfría/congela. Después de la polarización nuclear dinámica, la composición hiperpolarizada sólida se disuelve en un vehículo acuoso, preferentemente en agua.

Si se ha utilizado una sal de Gd^{3+} como ion de metal paramagnético, es importante eliminar los iones de Gd^{3+} del ^{13}C -piruvato disuelto tan rápidamente como sea posible. Los procedimientos adecuados son la eliminación utilizando una columna de intercambio catiónico o resinas iónicas impresas como se desvela en O. Vigneau y col., Anal. Chim. Acta 435 (1), 2001, 75-82. Otro procedimiento posible es la nanofiltración por complejación selectiva de Gd^{3+} libre sobre una membrana orgánica cargada, como se desvela en A. Sorin y col., J. Membrane Science 267 (1-2), 2005, 41-49. Además, se puede eliminar el Gd^{3+} libre por cromatografía de afinidad como se desvela en S. Donald y col. J. Inorg. Biochem. 56 (3), 1994, 167-171. En otra forma de realización, el medio de disolución comprende uno o más compuestos que son capaces de complejizar los iones libres de Gd^{3+} , por ejemplo, agentes quelantes como EDTA, DTPA o compuestos del mismo como DTPA-BMA. Los quelatos de Gd así obtenidos se pueden eliminar del ^{13}C -piruvato disuelto como se describe en el párrafo siguiente.

Si se ha utilizado un quelato de Gd como ion de metal paramagnético, y un radical tritilo de fórmula (1), se puede eliminar el quelato utilizando cromatografía líquida en fase inversa, lo que permite la eliminación simultánea del radical tritilo de fórmula (1).

Los procedimientos adecuados para comprobar la presencia de Gd^{3+} libre, quelato de Gd y radical tritilo de fórmula (1) residuales en el carboxilato purificado disuelto se describen en la página 22/23.

El ^{13}C -piruvato hiperpolarizado líquido producido de acuerdo con el procedimiento de la invención se puede utilizar como un agente "convencional" de formación de imágenes por RM, es decir, que proporciona una mejora del contraste excelente para la formación de imágenes anatómicas. Una ventaja adicional del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado líquido producido de acuerdo con el procedimiento de la invención es que el piruvato es un compuesto endógeno que es bien tolerado por el cuerpo humano, incluso a concentraciones más altas. Como precursor en el ciclo del ácido cítrico, el piruvato desempeña un papel metabólico importante en el cuerpo humano. El piruvato se convierte en compuestos diferentes: su transaminación da como resultado alanina, a través de la descarboxilación oxidativa el piruvato se convierte en acetil-CoA y bicarbonato, la reducción del piruvato da como resultado lactato y su carboxilación, oxaloacetato.

Además, se puede utilizar la conversión del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado (en el caso del $^{13}\text{C}_1$ -piruvato, $^{13}\text{C}_{1,2}$ -piruvato o $^{13}\text{C}_{1,2,3}$ -piruvato solamente) y ^{13}C -alanina hiperpolarizada para el estudio de RM *in vivo* de procesos metabólicos en el cuerpo humano. El ^{13}C -piruvato tiene una relajación T_1 en sangre humana completa a 37°C de aproximadamente 42 s, sin embargo, se ha descubierto que la conversión del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada es lo suficientemente rápida para permitir una detección de señal del precursor ^{13}C -piruvato y sus metabolitos. La cantidad de alanina, bicarbonato y lactato depende del estado metabólico del tejido investigado. La intensidad de la señal de 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 en el momento de la detección, por tanto, monitorizando 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 de animales humanos o no humanos utilizando de la formación de imágenes por RM no invasiva.

Se ha descubierto que las amplitudes de la señal de RM que surgen de los diferentes metabolitos de piruvato varían dependiendo del tipo de tejido. Se puede utilizar el patrón del pico metabólico único formado por alanina, lactato, bicarbonato y piruvato como huella identificativa para el estado metabólico del tejido examinado y permite así distinguir el tejido sano del tejido tumoral. Esto hace de la composición de acuerdo con la invención un excelente agente para la formación de imágenes de tumores por RM *in vivo*. En el documento WO-A-2006/011810 se describe en detalle el uso de piruvato para la formación de imágenes de tumores.

Además, en el documento WO-A-2006/054903 se describe el uso de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado para la formación de imágenes cardíacas.

Otro aspecto de la invención es una composición que comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en la reivindicación 1, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y opcionalmente un ion de metal paramagnético. En una forma de realización preferente, la composición comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y un ion de metal paramagnético.

Un aspecto más de la invención son composiciones que comprenden una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en la reivindicación 1, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y opcionalmente un ion de metal paramagnético para su uso en una polarización nuclear dinámica. En una forma de realización preferente, la composición comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en la reivindicación 1, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y un ion de metal paramagnético para uso en una polarización nuclear dinámica.

Un aspecto más de la invención es una composición que comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico tal como se define en la reivindicación 1, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y opcionalmente un ion de metal paramagnético, obteniéndose la composición por polarización nuclear dinámica. En una forma de realización preferente, la composición comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico como se define en la reivindicación 1, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo y un ion de metal paramagnético, obteniéndose la composición por polarización nuclear dinámica.

Ejemplos

Ejemplo 1 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene $^{13}\text{C}_1$ -piruvato sódico, un radical tritilo y agua (ejemplo de comparación)

Se disolvieron 128,3 mg de $^{13}\text{C}_1$ -piruvato sódico en 244,1 mg de agua. Se añadió sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietil)benzo[1,2-d:4,5d']bis(1,3)ditiol-4-il)metilo que se preparó como se describe en el ejemplo 7 del documento WO-A-98/39277 para dar como resultado una composición de 15,2 mM en radical tritilo. La composición se colocó en una copa de sonda y se insertó en un polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,950 GHz). Después de 2,5 horas, se detuvo la polarización.

Se determinó la polarización mediante ^{13}C -RMN en estado sólido. La medición de la ^{13}C -RMN en estado sólido consistió en una secuencia de RMN de pulso-adquisición simple utilizando un ángulo de inclinación bajo. La intensidad de la señal de la muestra sometida a polarización nuclear dinámica se compara con la muestra polarizada térmicamente, es decir, la polarización natural de la muestra a temperatura ambiente antes del inicio del procedimiento de polarización nuclear dinámica. Se calculó la polarización a partir de la relación de las intensidades de señal de la muestra polarizada térmicamente y la muestra sometida a polarización nuclear dinámica. Como resultado, la polarización en estado sólido de la composición fue idéntica a la polarización térmica de la composición, lo que significa que no se podía aumentar la polarización de los espines nucleares de los núcleos de ^{13}C presentes en la composición mediante polarización DNP.

Ejemplo 2 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene $^{13}\text{C}_1$ -piruvato sódico, radical tritilo, un formador de vidrio y agua (ejemplo de comparación)

Se disolvieron 128,3 mg $^{13}\text{C}_1$ -piruvato sódico en 244,1 mg de agua y se añadieron 309,3 mg de glicerol para hacer un volumen total de 540 μl . Se añadieron 11,2 mg del radical tritilo del Ejemplo 1 para dar como resultado una composición de 15,2 mM en radical tritilo. La composición contenía un 14,6% (p/p) de piruvato que es la mezcla de piruvato sódico más concentrada que se puede obtener. Se colocó un alícuota de 102,4 μl de la composición en una copa de sonda y se insertó en un polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,950 GHz). Después de 2,5 horas, se detuvo la polarización y se disolvió la composición sólida en agua que contenía 100 mg de EDTA por litro.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 9,6%. Por tanto, añadiendo un formador de vidrio se podía mejorar la polarización de los espines nucleares de los núcleos de ^{13}C presentes en la composición mediante la polarización DNP.

Ejemplo 3 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -piruvato, un radical tritilo y agua

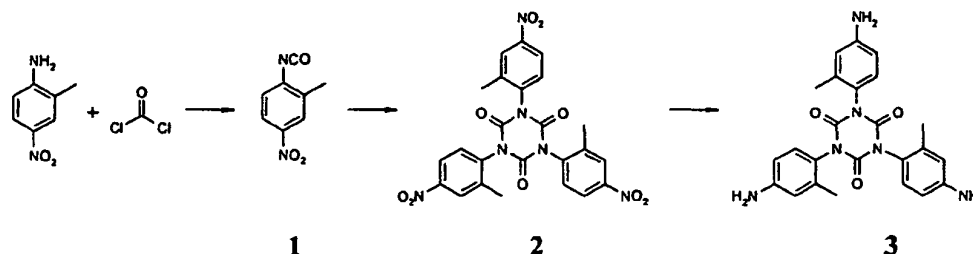
Se mezclaron 78,4 mg (0,65 mmol) de TRIS con 64,3 mg de $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico (90% de pureza, 0,65 mmol) en 51,3 mg de agua a una solución transparente de 160 μl de volumen. Se añadió el radical tritilo del Ejemplo 1 para dar como resultado una composición de 15,5 mM en radical tritilo. La composición contenía un 30% (p/p) de piruvato. Se colocó un alícuota de 136,6 mg de la composición en una copa de sonda y se insertó en un polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,950 GHz). Después de 2,5 horas, se detuvo la polarización y se disolvió la composición sólida en agua que contenía 100 mg de EDTA por litro.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 10,5%. Por tanto, preparando un TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -piruvato se podía mejorar la polarización de los espines nucleares de los núcleos de ^{13}C presentes en la composición mediante la polarización DNP hasta aproximadamente el mismo nivel

que en la composición del Ejemplo 2. Sin embargo, la composición del Ejemplo 3 contiene más del doble de cantidad de piruvato y si el piruvato estaba destinado a utilizarse como agente de formación de imágenes por RM, no se tendría que eliminar ningún formador de vidrio añadido antes de administrarse a un paciente.

Ejemplo 4 Síntesis del quelato de Gd de 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]-triazinano 2,4,6-triona (10)

4a) Preparación de 2-metil-4-nitrofenilisocianato (1)



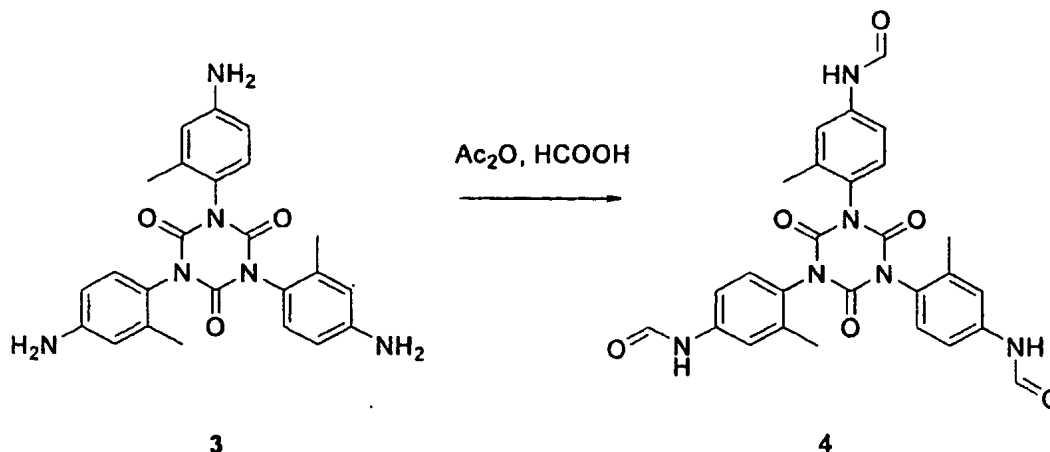
Se disolvió 2-metil-4-nitroanilina (35,0 g, 230 mmol) en acetato de etilo (400 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió, gota a gota, fosgeno (180 ml, 20% en tolueno) durante 30 minutos, siguió instantáneamente la precipitación de una sal blanca. Después de la última adición, se dejó aumentar la temperatura lentamente a temperatura ambiente, y a continuación se llevó a reflujo la mezcla de reacción (~ 100°C). Se calentó a reflujo durante 2 horas y 30 minutos, después de lo cual se destilaron 200 ml de disolvente antes de que la temperatura bajara a 80°C y se añadió, gota a gota, fosgeno (140 ml, 20% en tolueno). Después de la última adición, se calentó a reflujo la solución de reacción durante 3 horas, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. Se disolvió el material marrón/amarillo en éter dietílico (250 ml), se filtró y se concentró para dar un polvo marrón claro (36 g, 88%).

4b) Preparación de 1,3,5-tris-(4-nitro-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (2)

A 2-metil-4-nitrofenilisocianato (36,0 g) en un matraz de 250 ml se añadió DMSO (50 ml) y se selló el matraz con un tapón de vidrio que se mantuvo en su sitio con un clip de plástico. Se puso inmediatamente el matraz en un baño de aceite calentado a 85°C y se calentó la solución de reacción marrón oscuro durante 16 horas y 30 minutos. Se retiró el baño de aceite y se dejó enfriar la solución de reacción a temperatura ambiente antes de ser vertida en agua (800 ml), fue sonicada, y se separó por filtración el precipitado. Se añadió la torta de filtración a etanol (500 ml) y se calentó a reflujo durante 4 horas, a continuación se dejó enfriar a temperatura ambiente y se separó por filtración el producto para dar un polvo de color blanquecino (28,1 g, 78%).

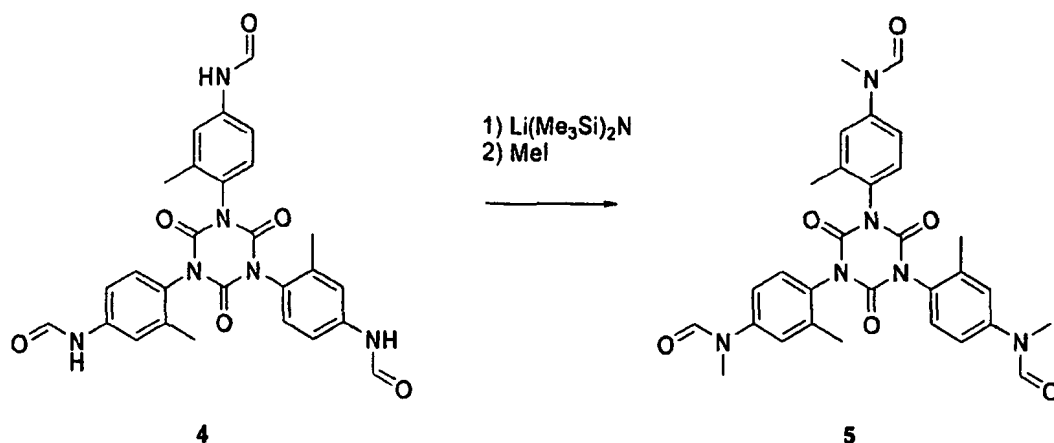
4c) Preparación de 1,3,5-tris-(4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (3)

Se disolvió 1,3,5-tris-(4-nitro-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (2,86 g, 5,4 mmol) en THF (70 ml). Se añadió HCl (4,5 ml, 6 M), agua (18 ml) y Pd/C (0,6 g, 10%). Se evacuó el recipiente de reacción y se llenó con argón en tres ciclos antes de ser hidrogenado en un aparato de hidrogenación Parr (413,8 x 10³ Pa). Después de 2 horas, se evacuó el exceso de hidrógeno con una bomba de membrana y se separó por filtración el Pd/C (10%). Se concentró la solución de reacción transparente hasta que no quedó más THF y se ajustó el pH a 7 con NaHCO₃ (-3,7 g). Se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 100 ml) y se secaron las fases orgánicas combinadas con MgSO₄, se filtró y se concentró para dar un polvo marrón. Se recristalizó el producto bruto en metanol para dar el producto como un polvo blanquecino (1,9 g, 80%).

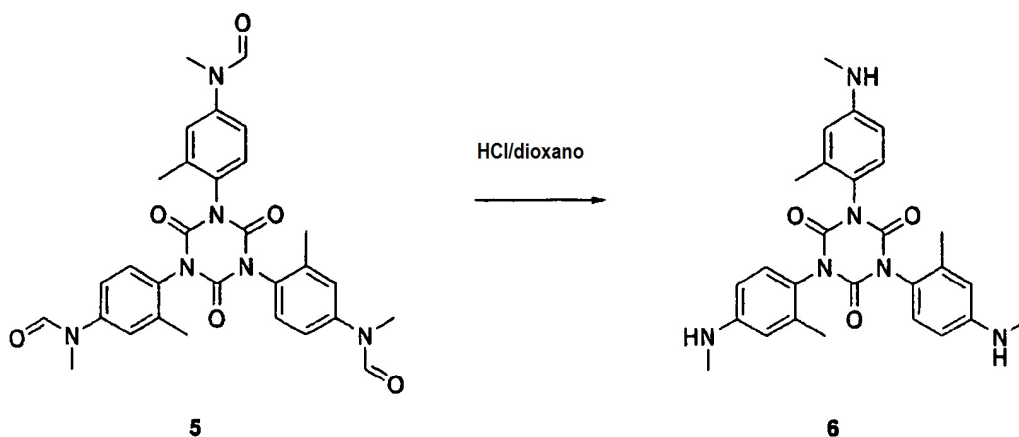


4d) Preparación de 1,3,5-tris-(4-formamido-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (4)

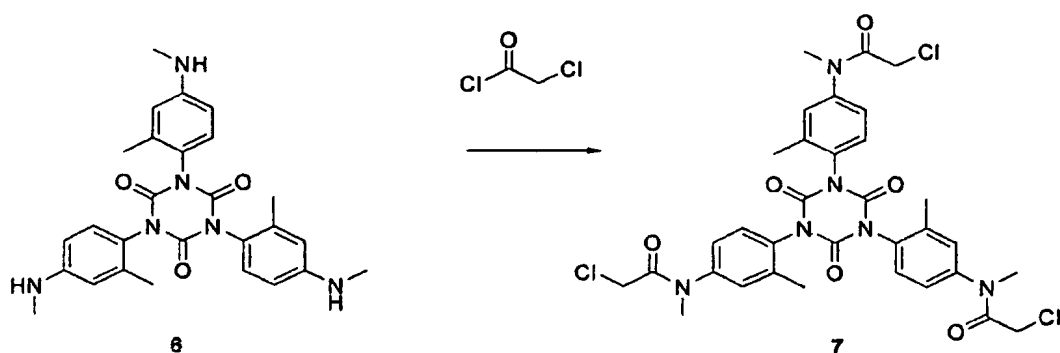
Se puso ácido fórmico (175 ml) en un matraz de fondo redondo de 500 ml enfriado con hielo. Se añadió anhídrido acético (15 ml, 0,16 mol) y se agitó la solución amarilla en atmósfera de argón durante 1 hora a 0°C. Se añadió a esta solución la triamina **3** (8,7 g, 0,020 mol) y se retiró el baño de hielo. Después de agitar en atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 minutos, la HPLC mostró que la reacción había finalizado. Se eliminó el disolvente *in vacuo* y se suspendió el resto marrón pegajoso en H₂O y se separó por filtración. A continuación se lavó minuciosamente con H₂O para asegurarse de que se había eliminado todo el ácido. El producto era un sólido marrón claro (10,2 g, 99%).

**4e) Preparación de 1,3,5-tris-(N-formil-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (5)**

Se secó cuidadosamente el material de vidrio en un horno y se secó la DMF sobre tamices moleculares de 4 Å. Se añadió Li(Me₃Si)₂N (116 ml, 0,116 mol, 1 M en hexano) a una solución de DMF (115 ml) de **4** (10,2 g, 0,0193 mol) en un matraz de fondo redondo de 500 ml. La mezcla de reacción, que cambió de una solución marrón claro a una suspensión de color rojo ladrillo, se agitó en atmósfera de argón durante 1 hora. Se añadió yoduro de metilo (12,2 ml, 0,196 mol) y se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas o hasta que se pudo demostrar la finalización de la metilación en la HPLC. A continuación se eliminó el hexano en un evaporador rotatorio y el resto se vertió en una solución de NaH₂PO₄ (1.300 ml, 100 mM) con agitación vigorosa. El precipitado de **5** formado se separó por filtración como un sólido de color claro (6,7 g, 60%).

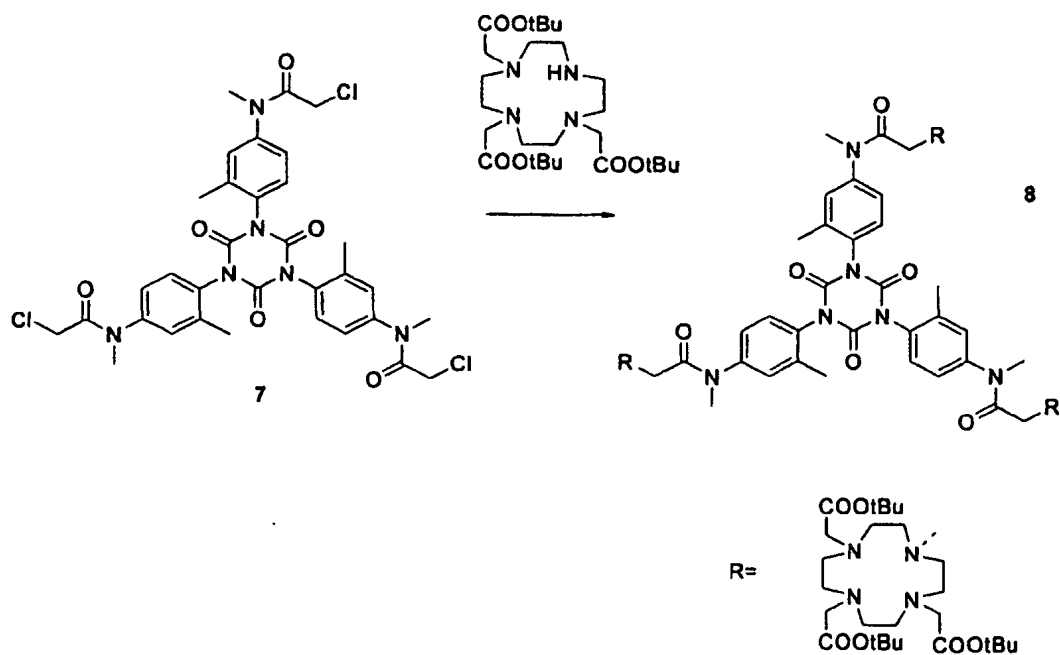
**4f) Preparación de 1,3,5-tris-(N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (6)**

Se mezclaron dioxano (52 ml), HCl (52 ml, 6 M) y **5** (6,5 g, 11 mmol) en un matraz de fondo redondo de 250 ml para formar una suspensión de color claro. Se calentó a reflujo la mezcla de reacción durante 30 minutos en atmósfera de argón. Se dejó enfriar la solución, ahora de color amarillo, a temperatura ambiente y a continuación se eliminaron los disolventes en un evaporador rotatorio. A continuación se disolvió el resto naranja en 500 ml de H₂O y se neutralizó con una solución de NaHCO₃ (saturada) con agitación vigorosa. Se separó por filtración el precipitado formado y se lavó varias veces con H₂O dando un sólido de color claro (4,7 g, 84%).



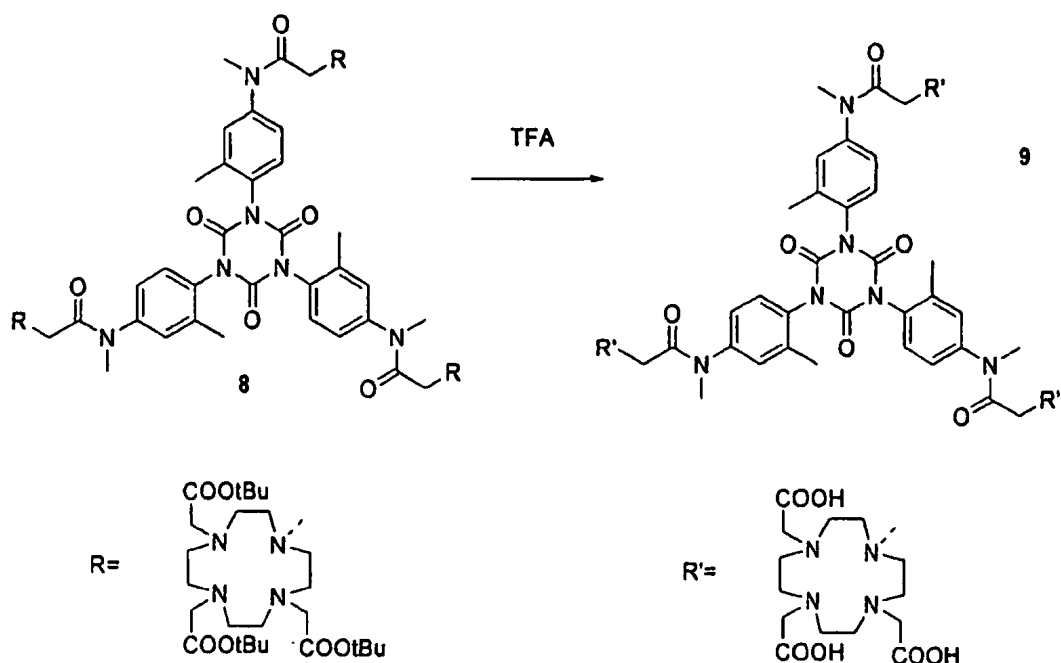
4g) Preparación de 1,3,5-tris-(N-cloroacetil-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (7)

En un matraz de fondo redondo de 100 ml se disolvió **6** (4,6 g, 9,5 mmol) en DMA (15 ml) y se añadió cloruro de cloroacetilo (2,6 ml, 33 mmol) con agitación a 0°C. La reacción se agitó en atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 minutos o hasta que la HPLC mostró la finalización de la cloroacetilación. A continuación se vertió la suspensión en un vaso de precipitados grande con agua (500 ml) con agitación mecánica vigorosa. Se separó por filtración el precipitado formado y se secó *in vacuo* a 30 Pa (6,3 g). Se disolvió el sólido de color claro en 70 ml de acetonitrilo y se vertió en 500 ml de H₂O con agitación mecánica vigorosa. Se separó por filtración el precipitado formado y se dejó secar en un desecador (6,1 g, 89%).



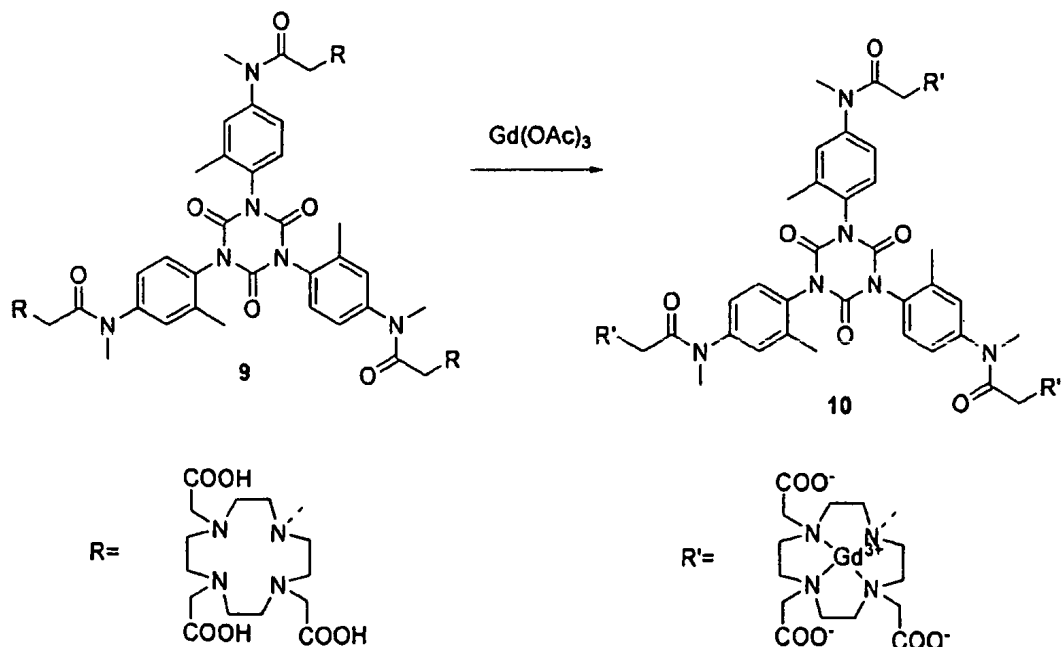
4h) Preparación de 1,3,5-tris-(N-(DO3A t-butiléster-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (8)

En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se suspendió **7** (0,50 g, 0,70 mmol) junto con DO3A t-butiléster (2,5 g, 4,2 mmol), diisopropiletilamina (910 µl, 5,2 mmol) y acetonitrilo (15 ml). Después de la sonicación se agitó la mezcla de reacción a 75°C en atmósfera de argón hasta que una LC/MS mostró la finalización del acoplamiento. A continuación se eliminaron los disolventes en un evaporador rotatorio y se utilizó el producto bruto (2,9 g) en la reacción posterior.



4i) Preparación de 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]-triazinano-2,4,6-triona (9)

Se disolvió el producto bruto de **8** (1,9 g) en TFA (130 ml) y CH_2Cl_2 (130 ml) y se agitó a 50°C en atmósfera de argón. Se agitó la solución durante 1 hora o hasta que una LC/MS mostró la finalización de la desprotección. A continuación se eliminaron los disolventes en un evaporador rotatorio y se secó el resto *in vacuo* durante toda la noche. A continuación se utilizó el producto bruto (2,4 g) en la etapa final.



4j) Preparación del quelato de gadolinio de 1,3,5-tris-(N-(DO3A-acetamido)-N-metil-4-amino-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazinano-2,4,6-triona (10)

Se disolvió el producto bruto de **9** (2,4 g) en agua y se añadió $\text{Gd}(\text{OAc})_3$ (1,4 g, 4,2 mmol) con agitación. A continuación se aplicó vacío (30 Pa) y se monitorizó continuamente la reacción mediante LC/MS. Cuando se detectó la finalización de la complejación, se eliminaron los disolventes *in vacuo*. A continuación se purificó el producto bruto de **3,1** g mediante HPLC preparativa (410 mg, 42% a partir de **7**)

Ejemplo 5 Síntesis del radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(metoxietil)-benzo[1,2-4,5']bis-(1,3)ditiol-4-il)metilo

Se suspendieron 10 g (70 mmol) de sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(hidroxietil)benzo-[1,2-4,5']-bis-(1,3)-ditiol-4-il)metilo que se había sintetizado de acuerdo con el Ejemplo 7 del documento WO-A1-98/39277 en 280 ml de dimetilacetamida en una atmósfera de argón. Se añadió hidruro sódico (2,75 g) seguido de yoduro de metilo (5,2 ml) y se dejó que la reacción, que es ligeramente exotérmica, continuara durante 1 hora en un baño de agua 34°C durante 60 minutos. Se repitió dos veces la adición de hidruro sódico y yoduro de metilo con las mismas cantidades de cada uno de los compuestos y después de la adición final, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 68 horas y a continuación se vertió en 500 ml de agua. Se ajustó el pH a pH > 13 utilizando 40 ml de NaOH 1 M (acuoso) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 horas para hidrolizar los ésteres de metilo formados. A continuación se acidificó la mezcla utilizando 50 ml de HCl 2 M (acuoso) a un pH de aproximadamente 2 y se extrajo 3 veces el acetato de etilo (500 ml y 2 x 200 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na₂SO₄ y a continuación se evaporó a sequedad. Se purificó el producto bruto (24 g) mediante HPLC preparativa utilizando como eluyentes acetonitrilo/agua. Se evaporaron las fracciones recogidas para eliminar el acetonitrilo. Se extrajo la fase acuosa restante con acetato de etilo y se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄ y a continuación se evaporó a sequedad. Se añadió agua (200 ml) al resto y se ajustó cuidadosamente el pH a 7 con NaOH 0,1 M (acuoso), disolviéndose el resto lentamente durante este procedimiento. Después de la neutralización, se liofilizó la solución acuosa.

Ejemplo 6 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene ¹³C₁-ácido pirúvico, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua (ejemplo de comparación)

Se prepararon 43 mg de una composición de 18,9 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo del Ejemplo 5 en ¹³C₁-ácido pirúvico. Se añadió el quelato de Gd del Ejemplo 4 para dar como resultado una composición de 0,63 mM en quelato de Gd del Ejemplo 4, es decir, 1,89 mM en Gd³⁺. Se mezcló la composición hasta la homogeneidad, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,950 GHz). Después de 2 horas, se detuvo la polarización y se disolvió la composición utilizando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa de hidróxido sódico y TRIS para proporcionar una solución neutra de ¹³C₁-piruvato sódico hiperpolarizado con una concentración total de piruvato de aproximadamente 78 mM en 40 mM de tampón TRIS.

Se determinó, mediante ¹³C-RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 44,7%.

Ejemplo 7 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS-¹³C₁-piruvato, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua

Se diluyeron 11,7 mg de solución del quelato de Gd 10 mM del Ejemplo 4 con agua hasta un peso total de 40,1 mg. A esta solución se añadieron 79,0 mg (0,65 mmol) de TRIS y 57,6 mg de ¹³C₁-ácido pirúvico (90% de pureza, 0,65 mmol). Se agitó la mezcla hasta obtener una solución transparente de 160 µl de volumen. Se disolvieron en la solución 3,47 mg del radical tritilo del Ejemplo 1 dando como resultado una composición de 15 mM en radical tritilo. La composición contenía un 29% (p/p) de piruvato y era 0,7 mM en quelato de Gd del Ejemplo 4, es decir, 2,1 mM en Gd³⁺. Se colocó una alícuota de 137,4 mg de la composición en una copa de sonda y se insertó en un polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,950 GHz). Después de 2,5 horas, se detuvo la polarización y se disolvió la composición sólida en agua que contenía 100 mg de EDTA por litro.

Se determinó, mediante ¹³C-RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 36,9%. Se obtuvo una polarización en estado líquido del 36,9%. Por tanto, polarizando TRIS-piruvato en vez de ácido pirúvico, se podía mejorar la polarización de los espines nucleares de los núcleos de ¹³C presentes en la composición mediante polarización DNP hasta aproximadamente 4/5 de la polarización obtenida en ácido pirúvico. Sin embargo, se puede utilizar una variedad más amplia de quelatos de Gd y radicales tritilo en la composición a polarizar, ya que se pueden evitar las condiciones altamente ácidas en ácido pirúvico puro y también la reacción del ácido pirúvico con los quelatos de Gd y/o el radical tritilo para formar productos secundarios no deseados en la composición ya no supone un problema.

Ejemplo 8 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS-¹³C₁-D₂-fumarato, un radical tritilo y agua

Se preparó una composición de 10 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,21 mmol de ¹³C₁-D₂-ácido fumárico y 0,24 mmol de TRIS disuelto en 17 µl de agua. Se mezcló la composición hasta la homogeneidad mediante una combinación de agitación vortical, calentamiento lumínico y ultrasonidos, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas, se detuvo la polarización.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado sólido llevado a cabo como se ha descrito en el Ejemplo 1, que la polarización en estado sólido era de 220 (integral/mmol- ^{13}C).

Ejemplo 9 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -D2-fumarato, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua

5 En otro experimento, se preparó una composición de 10 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)-metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,21 mmol de $^{13}\text{C}_1$ -D2-ácido fumárico y 0,24 mmol de TRIS disuelto en 17 μl de agua. Además, se añadió el quelato de Gd del Ejemplo 4 para dar como resultado una composición de 0,7 mM en el quelato de Gd, es decir, 2,1 mM en Gd^{3+} . Se mezcló la composición hasta la homogeneidad, mediante una combinación de agitación vorticial, calentamiento lumínico y ultrasonidos, y se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas, se detuvo la polarización.

15 Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado sólido como se ha descrito en el Ejemplo 1b, que la polarización en estado sólido era de 630 (integral/mmol- ^{13}C).

Ejemplo 10a Producción de una solución de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -fumarato hiperpolarizado

20 Se disolvió la composición sólida polarizada del Ejemplo 8 utilizando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa de hidróxido sódico para proporcionar una solución neutra de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -fumarato hiperpolarizado con una concentración total de fumarato de aproximadamente 40 mM en 40 mM de tampón TRIS.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 9%.

Ejemplo 10b Producción de una solución de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -fumarato hiperpolarizado

25 Se disolvió la composición sólida polarizada del Ejemplo 9 utilizando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa de hidróxido sódico para proporcionar una solución neutra de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -fumarato hiperpolarizado con una concentración total de fumarato de aproximadamente 40 mM en 40 mM de tampón TRIS.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 23%.

Ejemplo 11 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -acetato, un radical tritilo y agua

30 Se preparó una composición de 10 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,199 mmol de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -acetato y 13 μl de agua. Se mezcló la composición hasta la homogeneidad mediante una combinación de agitación vorticial, calentamiento lumínico y sonicación, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas, se detuvo la polarización.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado sólido llevada a cabo como se ha descrito en el Ejemplo 1, que la polarización en estado sólido era de 195 (integral/mmol- ^{13}C).

Ejemplo 12 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -acetato, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua

40 Se preparó una composición de 10 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)-metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,199 mmol de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -acetato y 13 μl de agua. Además, se añadió el quelato de Gd del Ejemplo 4 para dar como resultado una composición de 0,2 mM en el quelato de Gd, es decir, 0,6 mM en Gd^{3+} . Se mezcló la composición hasta la homogeneidad, mediante una combinación de agitación vorticial, calentamiento lumínico y sonicación, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas, se detuvo la polarización.

50 Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado sólido como se ha descrito en el Ejemplo 1, que la polarización en estado sólido era de 450 (integral/mmol- ^{13}C).

Ejemplo 13 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -glutamato, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua

Se preparó una composición de 16 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)-metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,06 mmol de $^{13}\text{C}_1$ -ácido glutámico, 74 μmol de TRIS y 7 μl de agua. Además, se añadió el quelato de Gd del Ejemplo 4 para dar como resultado una composición de 0,3 mM en el quelato de Gd, es decir, 0,9 mM en Gd^{3+} . Se mezcló la composición hasta la homogeneidad mediante una combinación de agitación vorticial, calentamiento lumínico y sonicación, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas se detuvo la polarización y se disolvió la composición utilizando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa para proporcionar una solución neutra de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -glutamato hiperpolarizado, con una concentración total de aproximadamente 10 mM.

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

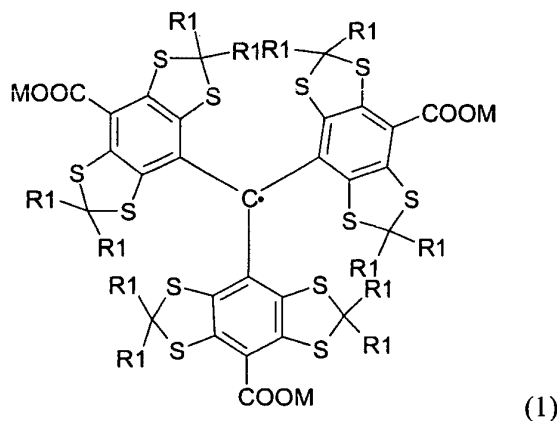
Ejemplo 14 Polarización nuclear dinámica de una composición que contiene TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -aspartato, un radical tritilo, un quelato de Gd y agua

Se preparó una composición de 16 mM en radical tritilo disolviendo el radical tritilo sal sódica de tris-(8-carboxi-2,2,6,6-tetra(hidroxietoxi)-metilbenzo[1,2-d:4,5-d']-bis-(1,3-ditiol-4-il)metilo que se sintetizó de acuerdo con el Ejemplo 29 del documento WO-A-97/09633 en una mezcla de 0,058 mmol de $^{13}\text{C}_1$ -ácido aspártico, 72 μmol de TRIS y 7 μl de agua. Además, se añadió el quelato de Gd del Ejemplo 4 para dar como resultado una composición de 0,3 mM en el quelato de Gd, es decir, 0,9 mM en Gd^{3+} . Se mezcló la composición hasta la homogeneidad mediante una combinación de agitación vorticial, calentamiento lumínico y sonicación, se colocó en una copa de sonda y se insertó en el polarizador DNP. Se polarizó la composición en condiciones de DNP a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T con irradiación de microondas (93,890 GHz). Después de 3 horas se detuvo la polarización y se disolvió la composición utilizando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa para proporcionar una solución neutra de TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -aspartato hiperpolarizado con una concentración total de aproximadamente 10 mM.

Se determinó, mediante ^{13}C -RMN en estado líquido a 400 MHz, que la polarización en estado líquido era del 16%.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende una sal de carboxilato hiperpolarizado de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico, un agente de DNP y opcionalmente un ion de metal paramagnético, en la que el carboxilato del ácido carboxílico es endógeno y está enriquecido con ^{13}C , y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico es un aminoalcohol fisiológicamente tolerable con un peso molecular de 30 a 300 g/mol.
2. Composición según la reivindicación 1, obtenida por polarización nuclear dinámica.
3. Composición según las reivindicaciones 1 a 2 en la que el carboxilato desempeña un papel en un proceso metabólico en un cuerpo de animal humano o no humano.
4. Composición según las reivindicaciones 1 a 3, en la que el carboxilato está enriquecido con ^{13}C en un átomo de C del grupo carboxilo, un átomo de C del grupo carbonilo o un átomo de C cuaternario.
5. Composición según las reivindicaciones 1 a 4 en la que el agente de DNP es un radical tritilo estable basado en oxígeno, basado en azufre o basado en carbono.
6. Composición según la reivindicación 5 en la que el radical tritilo es un radical 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- $\text{C}_1\text{-C}_6$ de cadena lineal o ramificada, un grupo hidroalquilo- $\text{C}_1\text{-C}_6$ o un grupo $(\text{CH}_2)_n\text{-X-R}_2$, en el que n es 1, 2 ó 3;
 X es O o S y R2 es un grupo alquilo- $\text{C}_1\text{-C}_4$ de cadena lineal o ramificada.

7. Composición según las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición comprende un ion de metal paramagnético de un metal lantánido de número atómico de 58 a 70 o de un metal de transición de número atómico de 21 a 29, 42 ó 44.
8. Composición según la reivindicación 7 en la que el ion de metal paramagnético es soluble en la sal de carboxilato, que está disuelta en un disolvente o una mezcla de disolventes.
9. Composición según las reivindicaciones 1 a 8, en la que la sal de carboxilato de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico es TRIS- $^{13}\text{C}_1$ -piruvato.
10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso como agente de formación de imágenes por RM.
11. Procedimiento para producir una sal de carboxilato hiperpolarizado sólido de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico, en el que el carboxilato del ácido carboxílico es un carboxilato endógeno, que está enriquecido con ^{13}C , y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico es un aminoalcohol fisiológicamente tolerable con un peso molecular de 30 a 300 g/mol, comprendiendo el procedimiento preparar una composición que comprende la sal de carboxilato, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo, y opcionalmente un ion de metal paramagnético y llevar a cabo una polarización nuclear dinámica sobre la composición.
12. Procedimiento para producir una sal de carboxilato hiperpolarizado líquido de un ácido carboxílico con una amina orgánica o con un compuesto amino orgánico, en el que el carboxilato del ácido carboxílico es un carboxilato endógeno, que está enriquecido con ^{13}C , y la amina orgánica o el compuesto amino orgánico es un aminoalcohol

fisiológicamente tolerable con un peso molecular de 30 a 300 g/mol, comprendiendo el procedimiento preparar una composición que comprende la sal de carboxilato, un agente de DNP, preferentemente un radical tritilo, y opcionalmente un ion de metal paramagnético, llevar a cabo una polarización nuclear dinámica sobre la composición y licuar la composición por disolución.