(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 393 780**

(51) Int. CI.:

A61K 49/00 (2006.01)
A61B 5/055 (2006.01)
A61K 49/06 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **03786449 .3**
(96) Fecha de presentación: **16.12.2003**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1572245**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2005**

(54) Título: **Procedimiento de toma de imágenes por resonancia magnética y compuestos para uso en el procedimiento**

(30) Prioridad:

16.12.2002 NO 20026027
22.07.2003 NO 20033312

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:

28.12.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:

28.12.2012

(73) Titular/es:

GE HEALTHCARE AS (100.0%)
NYCOVEIEN 2
0485 OSLO, NO

(72) Inventor/es:

RONGVED, PAL;
KARLSSON, JAN O.G. y
SÆBØ, KAREN BRILEY

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

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 de toma de imágenes por resonancia magnética y compuestos para uso en el procedimiento

La presente invención se refiere a un procedimiento de toma de imágenes por resonancia magnética (IRM), de forma particular a un procedimiento de IRM que permite la detección temprana de isquemia de miocardio y a compuestos para uso como agentes de contraste de RM en el procedimiento.

Las enfermedades relacionadas con isquemia, de forma particular enfermedades arteriales coronarias, se encuentran presentes en la mayoría de las muertes en los países occidentales. La isquemia de miocardio es una afección grave y la identificación y localización rápida de la isquemia de miocardio es por tanto muy deseable de modo que se puedan llevar a cabo las actuaciones necesarias, por ejemplo, tratamiento terapéutico o quirúrgico, con prontitud antes de que tenga lugar el daño de miocardio irreversible.

La lesión isquémica se puede considerar que resulta de dos eventos principales: (i) hipoxia que conduce a un suministro inadecuado de oxígeno a los tejidos; y (ii) transporte reducido de sustratos metabólicos a los tejidos y de productos finales metabólicos desde los tejidos. Las consecuencias inmediatas incluyen falta de energía y una acumulación de protones y lactato en la región de isquemia. Otras consecuencias incluyen una estimulación marcada potencialmente dañina del sistema nervioso simpático, que conduce en última instancia a una rápida pérdida de adenosintrifosfato (ATP), un comienzo prematuro de acidosis y función de órgano reducida.

El tejido cardiaco, como otros tejidos metabólicamente activos, es particularmente vulnerable al daño isquémico. La fase inicial del infarto de miocardio agudo se asocia en general con una pérdida de función contráctil normal, que se manifiesta de por sí como disquinesia regional. Esto puede ser debido a una caída abrupta en la presión de perfusión coronaria, que induce un estado de hibernación agudo, y al rápido cese del transporte de ión transmembranal normal. La reperfusión del miocardio isquémico antes del comienzo de la lesión irreversible puede conducir a un retorno rápido o retardado (stunning) al metabolismo y función cardiaca normal.

Se ha establecido la toma de imágenes por resonancia magnética (IRM) como una técnica de toma de imágenes cardiacas útil. Si bien las técnicas de RM que usan toma de imágenes espín-eco son capaces de mostrar la anatomía del corazón, el uso de agentes de contraste es necesario para la detección de isquemia de miocardio e infarto. Una clase de agentes de contraste de RM son agentes de contraste paramagnéticos, que comprenden un ión de metal paramagnético, en la forma de una sal o en un complejo con un resto quelante/complejante.

El agente de contraste paramagnético GdDTPA (Magnevist™) ha sido sometido a ensayo clínico para uso en toma de imágenes de miocardio. Si bien este complejo metálico se ha demostrado que mejora la identificación de infartos de miocardio agudos en imágenes de RM en animales y humanos, su uso clínico en toma de imágenes de miocardio es limitado debido a su rápida excreción y distribución dentro del espacio de fluido extracelular.

El Mn^{2+} es un ión de metal paramagnético que compite con Ca^{2+} para entrar en el miocardio en contracción mediante canales de Ca^{2+} lentos, dando lugar a un acortamiento significativo del tiempo de relajación T_1 y por tanto mayor intensidad de señal en tejido de miocardio normal. El aflujo total de Mn^{2+} por unidad de tiempo se ve aumentado con mayor ritmo cardiaco y mayor fuerza de contracción. Sin embargo en el miocardio isquémico se capta mucho menos Mn^{2+} debido a la reducción en flujo sanguíneo y reducción de contractilidad. De ahí que se pueda detectar y distinguir miocardio isquémico del tejido de miocardio normal mediante toma de imágenes por RM usando Mn^{2+} paramagnético como un agente de contraste. Además, el Mn^{2+} no es un sustrato para Ca^{2+} ATPasa y el intercambiador de Na^{+}/Ca^{2+} durante la relajación, y por ello es retenido en el corazón durante muchas horas. Este "efecto de memoria" es un lastre para desarrollar la investigación de RM de modo que un paciente al que se administra con un agente de contraste que comprenda Mn^{2+} desarrolle ejercicio físico fuera del equipo captador de imágenes por RM para aumentar el ritmo cardiaco y se lleva luego a cabo la subsiguiente toma de imágenes hasta 1 hora tras la administración. Por el contrario a Ca^{2+}, Mn^{2+} no puede inducir la contracción cardiaca. A dosis altas, es decir, más de 200 µmol de Mn^{2+}/kg de peso corporal, Mn^{2+} inhibe la entrada de Ca^{2+} en una extensión tal que la fuerza de contracción cardiaca falla. A dosis clínicamente relevantes, sin embargo, Mn^{2+} tiene un efecto opuesto, es decir, aumenta realmente la fuerza de contracción cardiaca (Kasten y col., Eur. J. Pharmacol. 253, 35, 1994) y puede mostrar toxicidad cardiaca. En lo que respecta al grupo diana de pacientes que tienen que someterse a toma de imágenes por RM para detectar isquemia e infarto de miocardio tales efectos son, por supuesto, no deseables.

Lauterbur y colaboradores investigaron Mn^{2+} en la forma de cloruro de manganeso ($MnCl_2$) como un agente de contraste en modelos animales (P. Lauterbur y col., Augmentation of tissue water proton spin-lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. In: Sutton, Leigh, Scarpa (Eds) Frontiers of Biological Energetics volumen I, Academic Press, Nueva York (1978) 752-759). Se demostró la significativa mejora de la imagen del hígado y de otros órganos, pero no de sangre, a pesar del uso de cloruro de manganeso. Sin embargo la utilidad clínica potencial del cloruro de manganeso se consideró que era limitada debido a su toxicidad cardiaca aguda.

Los efectos tóxicos de iones metálicos paramagnéticos se reducen de forma significativa tras formación de complejo con un agente quelante. Esto se puede ver como un compromiso entre relajación y toxicidad, véase, V. M. Runge y col., Work in progress: potential oral and intravenous paramagnetic NMR contrast agents. R. B. Lauffer, Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR Imaging: Theory and Design. Chem.

Rev. 87 (1987) 901-927 encontraron que se requiere una constante de formación termodinámica de aproximadamente $10^{16,5}$ para impedir la liberación de iones metálicos libres desde tales complejos *in vivo*.

La patente de Estados Unidos 5.246.696 describe complejos de manganeso o de gadolinio tales como [[(2-hidroxitrimetilen)dinitrilo]-tetraaceto]manganeso (II) de disodio y [[(2-hidroxitrimetilen)dinitrilo]-tetraaceto] gadolinio(III) de sodio que se dice que son útiles para la mejora de las imágenes por resonancia magnética de órganos y tejido corporales y que presentan baja toxicidad. Se describe que el complejo de manganeso reduce los tiempos de relajación T_1 y T_2 de riñón, hígado, bazo, páncreas y tracto gastrointestinal (columna 3, líneas 61 a 66). Adicionalmente en el ejemplo 8 el complejo de manganeso se describe que reduce el tejido T1 particularmente en el hígado pero también el corazón, páncreas y riñón. Sin embargo, el documento no describe que tales complejos se puedan usar en la detección de enfermedades de miocardio tales como, por ejemplo, isquemia de miocardio.

El documento WO-A-99/01162 describe un procedimiento de detección de isquemia de miocardio en humanos o animales en el que se usan agentes de contraste que comprenden complejos de manganeso junto con generación rápida de imagen. Se cree que los iones de manganeso son captados rápidamente por células de miocardio viables y son retenidos en ellas, mientras que en tejido infartado reperfundido los iones de manganeso se distribuyen rápidamente en todo el tejido pero no son retenidos en células no viables. Los iones de manganeso son por ello eliminados eficientemente del tejido a pesar de hacerlo más lentamente que de la sangre. Se dice que la toma de imagen se lleva a cabo de forma conveniente en un periodo de tiempo de 3 a 6 horas tras la inyección. No se cita tratamiento adicional del paciente tal como tratamiento de estrés.

La patente de Estados Unidos 5.980.863 describe una formulación que contiene iones de Mn^{2+} en la forma de sales, por ejemplo, sales de gluconato, y al menos 2 veces la cantidad de iones de Ca^{2+}. Se señala que los iones de Mn son tóxicos; sin embargo se mantiene la formulación de iones de Mn con al menos dos veces la relación molar de iones de Ca para mejorar la seguridad. En los ejemplos se usan formulaciones que muestran una relación molar de Mn/Ca de 1:8-10. Se encuentra en desarrollo una composición planteada para ser cubierta por esta patente denominada EVP 1001.

P. Seoane y col, Proc. Intl. Soc. Magn. Reson. Med 8 (2000) 1593 y 2047 describen una formulación de iones de Mn designada EVP 1001 usada como un agente de contraste para RM. Se inyectó inyección coincidente de dobutamina, un compuesto que induce el estrés farmacológico, en cerdos para demostrar el efecto de formación de imágenes y la seguridad del agente. Se sugiere también que el estrés y la dosificación del agente de contraste se pueden llevar a cabo fuera del equipo.

Aunque los agentes de contraste descritos que comprenden iones de Mn no quelatos e iones de Ca parecen tener buenas propiedades relajantes, aún existen complicaciones en lo relativo a su seguridad. El régimen de administración con infusión durante un periodo de varios minutos parece importante, una inyección en embolada accidental o velocidad de infusión demasiado rápida pueden conducir a problemas de toxicidad cardiaca agudos.

Las sales de calcio no son dañinas cuando se introducen en la circulación sanguínea. Para $CaCl_2$, la DL_{50} en inyección por vía intravenosa en ratones es 42,2 mg/kg. En comparación con esto, para el veneno cardiaco bien conocido $BaCl_2$, la dosis DL_{50} correspondiente es 19,2 mg/kg, véase I. B. Syed y col., Toxicol. Appl. Pharmacol. 22, (1972), 150. Una desventaja adicional del uso de una gran cantidad de calcio en la formulación de agente de contraste es que el calcio compite con manganeo por los canales de calcio en la penetración de los iones divalentes en micocitos. Esto puede conducir a reducción de eficacia, y a una necesidad subsiguiente de inyectar mayores dosis de agente de contraste para compensar este efecto.

Se describió otro estudio de las propiedades de memoria de miocardio de $MnCl_2$ por parte de Hu y col., Magn. Res. en Medicine 46, (2001), 884-890. Se pudo demostrar un claro efecto de contraste en toma de imágenes por RM durante aproximadamente 1 hora tras infusión por vía intravenosa de $MnCl_2$ con inyección coincidente del agente de estrés farmacológico dobutamina. El riesgo de seguridad relacionado con el uso del agente altamente soluble en agua $MnCl_2$ como se citó anteriormente es aún un problema incluso cuando se administra $MnCl_2$ con una baja velocidad de infusión.

Por tanto, el uso de inyecciones o infusiones de Mn^{2+} no quelato, especialmente como una inyección en embolada concentrada, incluye el riesgo de toxicidad cardiaca, en particular para pacientes que tienen la función de miocardio dañada. El Mn^{2+} es captado en células en la parte sana del miocardio y pueden de este modo desarrollar la función de la parte no afectada del corazón enfermo.

En consecuencia, el uso de iones de manganeso libres y otros iones de metal paramagnéticos tales como iones de gadolinio en el cuerpo se ve limitada por su toxicidad. Por tanto, se recomienda la complejación de estos cationes con ligandos y quelantes adecuados, debido a que sirve para reducir en gran medida su toxicidad mientras que se mantienen parcialmente sus propiedades paramagnéticas.

Sin embargo, si la constante de formación termodinámica de tales complejos es alta, no se libera cantidad detectable de iones de metal libres suficientemente rápido *in vivo*, y el agente de contraste no se captará por parte de las células de los tejidos viables. Agentes de contraste extracelulares comercialmente disponibles tales como

Magnevist™ y Dotarem™ son ejemplos de agentes de contraste con altas constantes de estabilidad y de ahí que sean agentes de contraste no favorables para la detección de isquemia de miocardio.

El uso de estrés físico y/o farmacológico aumenta la diferencia de contraste entre miocardio normal e isquémico en 4-5 veces. Por tanto es favorable usar un régimen de estrés que sea permitido para dosis menores del agente de contraste. Además un procedimiento que permita que el agente de contraste sea administrado antes de que el paciente sea dispuesto dentro del equipo de RM sería un procedimiento preferible en la situación clínica.

Por tanto hay una necesidad de un agente de contraste que comprenda un resto que genere contraste (por ejemplo, un ión de metal paramagnético) que sea captado por miocitos viables en una cantidad suficiente para proporcionar un efecto de contraste sostenido en el estado de la técnica del protocolo de toma de imágenes. El resto de generación de contraste debe permanecer dentro de los miocitos durante un periodo de tiempo suficientemente largo para dejar que el paciente se someta al procedimiento de examen por RM, es decir, debe tener un “efecto de memoria”. Adicionalmente la diferencia en mejora de contraste entre el torrente sanguíneo, el tejido de miocardio isquémico y el tejido de miocardio normal debe ser suficiente para proporcionar la delimitación entre el tejido de miocardio isquémico y normal. El agente de contraste debe tener un perfil de seguridad que evite las desventajas descritas anteriormente para los iones metálicos, por ejemplo iones de manganeso no quelados como sales de manganeso.

Se ha encontrado ahora de forma sorprendente que agentes de contraste que pueden proporcionar liberación de intermedios de iones de metal paramagnético (el resto que genera contraste) – como Mn^{2+} de complejos de ión metálico y un resto complejante quelante – tras inyección por vía intravenosa son especialmente útiles en diagnóstico de enfermedades cardiacas. Tales agentes de contraste proporcionan un compromiso óptimo entre eficacia suficiente y seguridad. Los agentes de contraste tienen preferiblemente un “efecto de memoria”, lo que significa que el resto que genera contraste del agente de contraste se acumula de forma transitoria en las células del miocardio lo que proporciona diferencia de contraste entre tejido normal y tejido enfermo. En la ventana de toma de imagen el contraste en el torrente sanguíneo no es significativamente diferente del pre-contraste del torrente sanguíneo basal. Además no se observó cardiotoxicidad medida como cambios significativos en los parámetros fisiológicos en la sangre durante el procedimiento de toma de imagen.

Los agentes de contraste que presentan un “efecto de memoria” permiten la exposición del cuerpo humano o no humano a estrés físico y/o farmacológico. Agentes de contraste de acuerdo con la invención comprenden complejos relativamente débiles donde se liberan cantidades controladas de los iones paramagnéticos en la sangre tras administración. Los iones de metal paramagnético liberados son capaces de penetrar en las células viables en las regiones de interés, por ejemplo, el miocardio, y permanecer en las células durante el tiempo de adquisición de datos de imagen. La concentración de iones paramagnéticos debe ser suficiente para proporcionar un acortamiento de T_1 en la zona de la imagen, pero no debe superar el nivel donde la cardiotoxicidad comience a ser un problema. El cuerpo en examen se expone preferiblemente a estrés antes de que se administre el agente de contraste, lo más preferiblemente el agente de contraste se administra con estrés de pico y antes de que el paciente se disponga en el equipo de RM.

La presente invención proporciona el uso de una mezcla que comprende un complejo que presenta una constante de formación termodinámica entre 10^3 y 10^{16} que comprende Mn^{2+}, HPTA y de 0,1 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} para la preparación de un agente de contraste para uso en la toma de imágenes por RM del miocardio.

También se describe en esta invención una composición que comprende:

(i) al menos un complejo que comprende un ión de Mn^{2+} y un resto complejante para un cuerpo humano o animal no humano, presentando dicho complejo una constante de formación termodinámica entre 10^3 y 10^{16} y mostrando dicho complejo una disociación mayor de 50% y un periodo de semidesintegración de menos de 1 minuto en condiciones fisiológicas; y

(ii) de 0 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}

para uso como un agente de contraste en un procedimiento de toma de imágenes por RM para identificar zonas enfermas que comprenden zonas que sufren de isquemia de miocardio, comprendiendo dicho procedimiento

a) administrar dicho agente de contraste a un cuerpo humano o animal no humano;

b) exponer dicho cuerpo a un régimen de estrés físico y/o farmacológico antes o simultáneamente a la administración del agente de contraste;

c) registrar los datos de toma de imágenes por RM y;

d) de forma opcional proporcionar imágenes de RM de una zona de interés.

El agente de contraste comprende bien un complejo simple o una mezcla de complejos como se describe en el párrafo precedente.

También se describe en esta invención el uso de compuestos de fórmula (II)

$$Mn_m\ HPTA\ Z_o \qquad (II)$$

en la que m es 1 ó 2, o es 0 a 2 y Z es hidrógeno o un contraión farmacéuticamente aceptable para la preparación de un agente de contraste para uso como un agente de contraste para RM en la detección de isquemia de miocardio. La nomenclatura IUPAC de HPTA es 1,7-dicarboxi-2,6-bis(carboximetil)-4-hidroxi-2,6-diaza)-heptano. Mn es Mn^{2+}. Contraiones farmacéuticamente aceptables adecuados son, por ejemplo, cationes de amonio, amonio sustituido, metal alcalino o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio), o aniones que se derivan de un ácido inorgánico u orgánico.

Los compuestos de fórmula (II) ilustran ejemplos preferidos del complejo usado en el procedimiento de acuerdo con la invención.

Aspectos adicionales de la invención serán evidentes a partir de las reivindicaciones y de la memoria descriptiva.

En el procedimiento de toma de imágenes por RM la composición se usa como un agente de contraste, es importante que los iones de metal paramagnético del complejo se liberen de una forma controlada. La liberación de un ión metálico del complejo está relacionada con la constante de estabilidad del complejo. Se ha encontrado que un complejo que presenta una constante de formación termodinámica k entre 10^3 y 10^{16} (log k entre 3 y 16) proporciona una liberación suficientemente rápida del ión de metal paramagnético proporcionando una concentración intracelular de dicho ión metálico en el miocardio que es adecuada para generar contraste de miocardio en toma de imágenes por resonancia magnética. En tales complejos la velocidad de liberación está suficientemente retardada para evitar la acumulación en miocardio intracelular de iones de metal en una concentración con riesgo de eventos adversos en el cuerpo tras inyecciones por vía intravenosa tal como inyecciones en embolada. Preferiblemente, la constante de formación termodinámica k está entre 10^5 y 10^{10} (log k entre 5 y 10), más preferiblemente entre 10^7 y $10^{9,5}$ (log k entre 7 y 9,5).

El procedimiento de la presente invención usa el resto complejante 1,7-dicarboxi-2,6-bis(carboximetil)-4-hidroxi-2,6-diaza)-heptano (HPTA).

También se describen en esta invención los complejos de fórmula (I)

$$Mn_m(P_3O_{10}{}^{5-})_nZo \qquad (I)$$

en la que m, n y o son números enteros positivos de 1 a 10 y Z es hidrógeno o un contraión farmacéuticamente aceptable para uso en un agente de contraste para RM. Cationes de amonio, metal alcalino o metal alcalinotérreo, o aniones que se derivan de un ácido inorgánico u orgánico adecuados. Mn es Mn^{2+}. También se describe en esta invención un complejo de fórmula (I) que es trifosfato de manganeso (indicado MnTPP) de fórmula (III)

$$Mn^{2+}\ (P_3O_{10}{}^{5-}) \qquad (III)$$

MnTPP tiene una constante de formación termodinámica de $10^{7,1}$ (Smith & Martell, Critical Stability Constants, vol. 4, Inorganic Complexes, Plenum Press, Nueva York (1976) página 63) y se encuentra que proporciona una velocidad de liberación de manganeso *in vivo* particularmente adecuada.

También se describen en esta invención complejos de fórmula (II)

$$Mn_m\ HPTA\ Z_o \qquad (II)$$

en la que m es 1 ó 2, o es 0 a 2 y Z es hidrógeno o un contraión farmacéuticamente aceptable. Contraiones farmacéuticamente aceptables adecuados son, por ejemplo, cationes de amonio, amonio sustituido, metal alcalino o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio), o aniones que se derivan de un ácido inorgánico u orgánico. Mn es Mn^{2+}.

Complejos ejemplo de fórmula (II) son

$$Mn\ Na_2\ HPTA\ (IV) \quad \textbf{y} \quad Mn_2\ HPTA \qquad (V)$$

en las que Mn es Mn^{2+}. El complejo de fórmula (IV) tiene una constante de formación termodinámica k de 10^{9-1}.

Cuando el complejo usado en la composición de la invención porta una carga general, se usará de forma conveniente en la forma de una sal con un contraión fisiológicamente aceptable, por ejemplo un catión de amonio, amonio sustituido, metal alcalino o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio), o un anión que se deriva de un ácido inorgánico u orgánico. A este respecto, son particularmente preferidos meglumina, calcio y sales de sodio.

En una realización, el complejo usado en la invención comprende Mn^{2+} y un resto complejante, dicho complejo muestra una disociación mayor de 50% y un periodo de semidesintegración de menos de 1 minuto en condiciones fisiológicas. Como se explicó anteriormente es importante para la eficacia del agente de contraste que Mn^{2+} sea liberado del complejo suficientemente rápido de modo tal que esté presente una concentración relativamente alta de Mn^{2+} libre, que pueda penetrar en los miocitos. Por el otro lado la concentración de Mn^{2+} libre no debería ser tal que haya un riego de toxicidad cardiaca aguda. Se ha encontrado ahora que complejos que muestran una disociación mayor de 50% en condiciones fisiológicas y un periodo de semidesintegración de menos de 1 minuto son preferidos ya que cumplen con estos criterios. Una disociación de más de 50% en condiciones fisiológicas asegura una concentración de Mn^{2+} libre que es suficientemente alta para proporcionar buena eficacia. Sin embargo, es adicionalmente favorable que se libere Mn^{2+} rápidamente del complejo, de ahí que los complejos usados preferiblemente en el procedimiento de la invención tengan un periodo de semidesintegración de menos de 1 minuto en condiciones fisiológicas.

En una realización preferida los complejos muestran una disociación mayor del 60% en condiciones fisiológicas, más preferiblemente una disociación mayor del 70% y lo más preferiblemente una disociación mayor del 80%.

El término “condiciones fisiológicas” en el contexto de la solicitud significa en presencia de plasma sanguíneo, preferiblemente plasma sanguíneo de mamífero o de humano, a un intervalo de temperatura de 35 a 40º C. El plasma sanguíneo contiene una variedad de cationes endógenos como, por ejemplo, Zn^{2+}, Fe^{2+}, Cu^{2+} o Mg^{2+}. En presencia de estos cationes tiene lugar la transmetalación lo que significa que se libera Mn^{2+} del complejo y subsiguientemente el resto complejante forma complejos con estos cationes endógenos, cuando la selectividad del resto complejante es mayor para cationes endógenos específicos que para Mn^{2+}.

Hay diversos procedimientos posibles para determinar el % de disociación y el periodo de semidesintegración de los complejos usados en el procedimiento de la invención en condiciones fisiológicas. Por lo general, los procedimientos para observar y determinar las cinéticas de disociación son conocidos en la técnica, por ejemplo, se pueden usar diversos procedimientos de espectroscopía. En una realización una muestra del complejo se mezcla con plasma sanguíneo y las cinéticas de disociación son seguidas por HPLC. El % de disociación y el periodo de semidesintegración del complejo se tienen que calcular a partir de los datos de HPLC de un modo conocido en la técnica.

En una realización preferida, el % de disociación y el periodo de semidesintegración de los complejos se determinan por espectroscopía de RM. El complejo se mezcla con plasma sanguíneo de una temperatura entre 35 y 40º C (= muestra) y la velocidades de relajación longitudinal, Tri, de la muestra se determinan durante un cierto intervalo de tiempo a esta temperatura. La relajación longitudinal, r_1, de la muestra se determina como una función del tiempo de acuerdo con la ecuación (1)

$$r_1 = (R1_{muestra} - R1_{blanco}) / \text{concentración de } Mn^{2+}[mM] \qquad (1)$$

en la que r_1 es la relajación longitudinal ($s^{-1}mM^{-1}$), $R1_{muestra}$ es la velocidad de relajación de la muestra, es decir, el complejo en plasma (s^{-1}) y $R1_{blanco}$ es la velocidad de relajación del plasma sin el complejo (s^{-1}). Preferiblemente se usa una concentración de Mn^{2+} de aproximadamente 0,05 a 0,2 mM como una interrelación lineal que existe entre R1 y la concentración de Mn^{2+} en plasma para este intervalo de concentración. El % de disociación en plasma se determina de acuerdo con la ecuación (2)

$$\% \text{ disociado} = (1 -(r_{1MnC12 \text{ en plasma}} - r_{1muestra,\ t}) / r_{1MnCl2 \text{ en plasma}}) * 100 \qquad (2)$$

en la que $r_{1MnC12 \text{ en plasma}}$ es la relajación de $MnCl_2$ en plasma y $r_{1muestra,\ t}$ es la relajación de la muestra a un tiempo dado t. Preferiblemente el intervalo de tiempo es aproximadamente 1 hora, de ahí que el % de disolución se calcule después de 1 hora de incubación del complejo en plasma a una temperatura en el intervalo de 35 a 40º C. Los valores r_1 como una función frente al tiempo, por ejemplo durante un intervalo de tiempo de 1 hora, se usan para calcular la velocidad de disociación y el periodo de semidesintegración ($t_{1/2}$) del complejo en plasma a la temperatura dada.

Los complejos usados en el procedimiento de la invención se pueden producir a partir de restos complejantes comercialmente disponibles o de restos complejantes descritos en la bibliografía y óxidos o sales de ácido tales como sales de cloruro y de acetato de metal paramagnético, por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos 4.647.447. La síntesis de MnDPDP se describe en el documento EP 0290047 B1. La síntesis de complejos de HPTA se describe en el documento US 5.246.696. Estos documentos se incluyen en esta invención como referencia. Brevemente, la formación de los complejos de Mn para uso en el procedimiento de la invención implica la disolución o suspensión de óxido de manganeso o sales de manganeso como cloruro de manganeso o acetato de manganeso en agua o un alcohol inferior como metanol, etanol o isopropanol. A esta solución o suspensión se añade una cantidad equimolar del resto complejante en agua o un alcohol inferior y se agita la mezcla, en caso necesario con calentamiento, hasta que la reacción se complete. Si el complejo formado es insoluble en el disolvente usado, el producto de reacción se aísla de forma conveniente mediante filtración. Si es soluble el producto de reacción se aísla mediante evaporación hasta sequedad, por ejemplo, por secado por pulverización o liofilización.

Los complejos de Mn anteriormente citados usados en el procedimiento de la invención comprenden Mn en la forma de Mn^{2+} ya que esto asegura captación más efectiva por los canales de calcio en los miocitos. Cuando se usan estos complejos en la invención, la formulación del agente de contraste comprende preferiblemente un antioxidante, por ejemplo, de ácido ascórbico o un azúcar reductor para inhibir la oxidación a Mn^{3+} y Mn^{4+} con precipitación subsiguiente de MnO_2. Proporcionando el producto de agente de contraste comercial en forma liofilizada en una atmósfera de gas inerte, por ejemplo, atmósfera de gas argon, se estabilizará el producto durante el almacenamiento.

Los complejos usados en la invención comprenden Mn^{2+} y un resto complejante y adicionalmente de 0,1 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}, más preferiblemente de 0,1 a 1,75 mol y lo más preferiblemente de 0,5 a 1 mol. De ahí que un complejo particularmente preferido sea CaMnHPTA que contiene 1 mol de Ca por mol de Mn^{2+} y el resto complejante preferido HPTA. Otro agente de contraste particularmente preferido comprende Z_2MnHPTA, en la que Z es hidrógeno o un ión de metal alcalino, preferiblemente un ión de sodio, y Ca^{2+} con 0,5 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}. En una realización preferida, los complejos usados en el procedimiento de la invención se preparan a partir de una mezcla de Ca^{2+} (por ejemplo, en la forma de una sal como cloruro de calcio) y Mn^{2+} en la relación molar descrita. En otra realización preferida, el agente de contraste se prepara añadiendo Ca^{2+} (por ejemplo, en la forma de una sal como cloruro de calcio) a un complejo que contienen Mn^{2+} para obtener la relación molar descrita.

Los agentes de contraste que comprenden los complejos usados en la presente invención pueden comprender adicionalmente coadyuvantes de formulación farmacéutica o veterinaria convencionales, por ejemplo, estabilizantes, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmoralidad, tampones y agentes de ajuste del pH. Los agentes de contraste pueden estar en una forma adecuada para inyección o infusión directamente o tras dispersión en o dilución con un medio vehículo fisiológicamente aceptable, por ejemplo, agua para inyecciones. Por tanto, los agentes de contraste pueden estar en una forma de administración farmacéutica convencional tal como un producto liofilizado, un polvo, una solución, una suspensión, una dispersión, etc. Sin embargo se preferirán por lo general soluciones en medio vehículo fisiológicamente aceptable. Aditivos adecuados incluyen, por ejemplo, tampones fisiológicamente biocompatibles.

Las soluciones del agente de contraste para administración por vía parenteral, por ejemplo, administración por vía intravenosa, deberían ser estériles y estar libres de agentes fisiológicamente no aceptables, y deberían tener baja osmolarilidad para minimizar la irritación u otros efectos adversos tras administración. Las soluciones de agente de contraste deberían ser preferiblemente isotónicas o ligeramente hipertónicas. Vehículos adecuados incluyen vehículos acuosos de diseño específico usados para administración de soluciones por vía parenteral tales como solución de cloruro de sodio, solución de Ringer, solución de dextrosa, solución de dextrosa y cloruro de sodio, solución de Ringer con lactato y otras soluciones. Tales vehículos se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª edición, Easton: Mack Publishing Co., páginas 1405-1412 y 1461-1487 (1975) y The National Formulary XIV, 14ª edición. Washington: American Pharmaceutical Association (1975).

Las soluciones del agente de contraste pueden contener adicionalmente conservantes, agentes antimicrobianos, tampones, y antioxidantes usados convencionalmente para soluciones para vía parenteral. Se pueden usar también excipientes y otros aditivos que son compatibles con los complejos y que no interfieren con la fabricación, almacenamiento o uso de los productos.

Preferiblemente el agente de contraste para uso en la invención que comprende los complejos se administra a una dosis de 0,1 a 30 µmol de ión de metal paramagnético/kg de peso corporal, más preferiblemente de 0,5 a 30 µmol de ión de metal paramagnético/kg, lo más preferiblemente de 10 a 20 µmol de ión de metal paramagnético/kg.

En el procedimiento de toma de imagen por RM el agente de contraste se administra preferiblemente en una inyección en embolada si bien es también adecuada inyección lenta o infusión del agente de contraste. Para complejos de Mn^{2+} con bajas constantes de formación, por ejemplo en la zona de 10^3 a 10^8 podría haber un riesgo de que la liberación de Mn^{2+} del complejo pueda ser aún suficientemente rápida para inducir reacciones cardiotóxicas en el cuerpo. Para evitar tales reacciones tóxicas, el agente de contraste que comprende tales complejos podría proporcionarse en soluciones que comprendan bajas concentraciones de tales complejos. Si se prefiere proporcionar el agente de contraste en forma seca, por ejemplo, como un polvo liofilizado, en lugar de la preparación de solución para inyección, complejos con propiedades que evitan la preparación de soluciones de alta concentración proporcionan una ventaja adicional. Por ejemplo, la sal sódica de MnTPP, $Na_3MnP_3O_{10}$, presenta una solubilidad limitada, evitando así inyecciones de soluciones de manganeso de alta concentración. La solubilidad máxima de la sal sódica de MnTPP en agua es 23 mmol/l, que está próxima a una formulación adecuada para inyección a una concentración de 15 mmol/l. A una dosis clínica de 10 µmol/kg se necesita inyectar un volumen de más de 45 ml de solución de agente de contraste. Este volumen de inyección evita adicionalmente inyecciones rápidas en embolada de sales de sodio de MnTPP.

En el procedimiento de RM el cuerpo se expone a un régimen de estrés. Dicho estrés es preferiblemente un estrés físico fuera del equipo, por ejemplo, estrés por ejercicio, por ejemplo, en un tapiz rodante. De forma alternativa el estrés se puede usar, por ejemplo, con la administración de agentes como dobutamina o dipiridamol. El agente de contraste se puede administrar al cuerpo durante o después de la exposición a estrés. Preferiblemente el agente de contraste se administra a tensión de pico. El uso de estrés físico o farmacológico aumenta significativamente el flujo

sanguíneo (4 a 5 veces) lo que conduce en cambio a diferencia de contraste significativo entre miocardio normal e isquémico. Adicionalmente un procedimiento que permite que el agente de contraste sea administrado antes de que el paciente se disponga en el equipo de RM es un procedimiento preferido en la situación clínica.

Preferiblemente el cuerpo se somete a toma de imágenes por RM después de un periodo de tiempo suficiente para que la intensidad de señal de RM del torrente sanguíneo comience a ser insignificantemente diferente de la intensidad de señal basal de precontraste. Más preferiblemente, el cuerpo se somete a toma de imágenes por RM después de un periodo de tiempo de al menos 5 minutos desde la administración del agente de contraste, más preferiblemente dentro de un periodo de 10 a 60 minutos, incluso más preferiblemente dentro de un periodo de 10 a 45 minutos y lo más preferiblemente dentro de un periodo de 15 a 30 minutos tras la administración del agente de contraste.

Se prefieren técnicas de toma de imágenes rápidas o ultrarrápidas muy sensibles a T_1 que permitan la generación de una serie de imágenes con un intervalo de tiempo tan corto como sea posible entre imágenes sucesivas. Esto asegurará la adquisición de datos durante el primer paso del agente de contraste a través del corazón, permitiendo así que se use una dosis clínicamente aceptable del agente de contraste. Son particularmente preferidas técnicas de toma de imágenes por RM capaces de generar imágenes con intervalos de tiempo de menos de 100 milisegundos. Por tanto, técnicas de toma de imágenes por RM adecuadas en el procedimiento de la invención incluyen toma de imágenes por gradiente eco y eco planar, especialmente toma de imágenes de inversión-recuperación eco planar, por ejemplo, toma de imágenes de inversión-recuperación eco planar refocalizada con gradiente. Técnicas de toma de imágenes eco planar particularmente adecuadas son aquellas en las que T1 (tiempo de inversión) es de 100 a 800 milisegundos, TR (tiempo de repetición) se corresponde con el ritmo cardiaco y TE (tiempo eco) es menos de 20 milisegundos, por ejemplo de 10 a 20 milisegundos. La sensibilidad de la técnica de toma de imágenes se puede aumentar mediante monitorización del impulso en cada latido del corazón. Ángulos de inclinación para uso en el intervalo de preparación que precede la adquisición de datos de imagen puede ser de 180° o 90°, prefiriéndose 90°. El uso de un ángulo de inclinación de 90° es preferible para adquirir la resolución temporal del latido del corazón.

También se describen en esta invención compuestos de fórmula (II)

$$Mn_m\ HPTA\ Z_o \qquad (II)$$

en la que m es 1 ó 2, o es 0 a 2 y Z es hidrógeno o un contraión farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un agente de contraste para uso como un agente de contraste de RM en la detección de isquemia de miocardio. La nomenclatura IUPAC de HPTA es 1,7-dicarboxi-2,6-bis(carboximetil)-4-hidroxi-2,6-diaza)-heptano. Mn es Mn^{2+}. Contraiones farmacéuticamente aceptables adecuados son, por ejemplo, cationes de amonio, amonio sustituido, metal alcalino o metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio), o aniones que se derivan de un ácido inorgánico u orgánico. En una realización preferida Z es Na.

Complejos particularmente preferidos de fórmula (II) son

$$Mn\ Na_2\ HPTA\ (IV) \quad y \quad Mn_2\ HPTA \qquad (V)$$

en la que Mn es preferiblemente Mn^{2+}.

Los complejos de fórmula (II) se pueden sintetizar de acuerdo con los procedimientos descritos en el documento US 5.246.696.

Los complejos de Mn para uso en la presente invención comprenden Mn en la forma de Mn^{2+} ya que esto asegura la captación más efectiva por los canales de calcio en los miocitos. Cuando se usan estos complejos en agentes de contraste de RM, la formulación de agente de contraste comprende preferiblemente un antioxidante, por ejemplo, ácido ascórbico o un azúcar reductor para inhibir la oxidación a Mn^{3+} y Mn^{4+} con precipitación subsiguiente de MnO_2. Proporcionando el producto de agente de contraste comercial en forma liofilizada en una atmósfera de gas inerte, por ejemplo atmósfera de gas argon, se estabilizará el producto durante el almacenamiento.

Para la toma de imágenes por RM, los complejos de Mn anteriormente citados se administran preferiblemente a una dosis de 0,1 a 30 µmol Mn/kg de peso corporal, más preferiblemente de 0,5 a 30 µmol de Mn/kg, lo más preferiblemente de 10 a 20 µmol Mn/kg.

También se describe en esta invención el uso de una mezcla que comprende un complejo que comprende Mn^{2+} y un resto complejante, presentando dicho complejo una disociación mayor de 50% y un periodo de semidesintegración de menos de 1 minuto en condiciones fisiológicas y de 0,1 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} para la fabricación de un agente de contraste para uso en la toma de imágenes por RM del miocardio, preferiblemente para uso en la detección de imágenes por RM de isquemia de miocardio e infarto.

La presente invención describe el uso de una mezcla que comprende un complejo que presenta una constante de formación termodinámica entre 10^3 y 10^{16} que comprende Mn^{2+}, HPTA y de 0,1 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}

para la fabricación de un agente de contraste para uso en la toma de imágenes por RM del miocardio, preferiblemente para el uso en la detección de imágenes por RM de isquemia de miocardio e infarto.

Una realización incluso más preferida es el uso de una mezcla que comprende un complejo que presenta una constante de formación termodinámica entre 10^3 y 10^{16} que comprende Mn^{2+}, HPTA y de 0,5 a 1 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} para la fabricación de un agente de contraste para uso en la toma de imágenes por RM del miocardio, preferiblemente para uso en la detección de imágenes por RM de isquemia de miocardio e infarto.

Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran características de la invención. R1 denota la velocidad de relajación longitudinal en s^{-1}.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de complejos de manganeso

a) Preparación de $MnCl_2$ 15 mM (ejemplo comparativo)

Se disolvieron 7,4 g (37,5 mmol) de cloruro de manganeso tetrahidratado ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) y 13,2 g (75 mmol) de ácido ascórbico en 2,5 l de agua purificada dando una concentración de Mn^{2+} de 15 mM. Se filtró la solución a través de un filtro de 0,22 µm antes de inyección.

b) MnDPDP

MnDPDP se encuentra comercialmente disponible con el nombre Teslascan™ en Amersham Health AS, Noruega.

c) Preparación de solución de trifosfato de manganeso 15 mM

Se disolvieron 7,4 g (37,5 mmol) de cloruro de manganeso tetrahidratado ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$), 27,6 g (75 mmol) de trifosfato de penta-sodio y 13,2 g (75 mmol) de ácido ascórbico en 2,5 l de agua purificada dando una concentración de Mn^{2+} de 15 mM. Se filtró la solución a través de un filtro de 0,22 µm antes de inyección.

Ejemplo 2: estudios de velocidad de relajación en cerdo

Se estableció un modelo de cerdo isquémico mediante introducción de un tubo con diámetro interior (0,5 mm) y exterior (1,75 mm) conocidos y una longitud de 6 mm insertado en la LAD (arteria coronaria ascendente izquierda) con catéter que comprende un alambre guía. Tras introducción del tubo en la arteria el catéter y el alambre guía se retiraron. Para verificar que la arteria coronaria estaba abierta antes y tras la inyección del agente de contraste se llevó a cabo una angiografía por rayos X, véase la figura 3. A estos cerdos isquémicos de 20 a 30 kg de peso corporal se les administraron dosis acumulativas de los siguientes agentes de contraste: 5, 15 y 30 µmol/kg de $MnCl_2$, MnTPP y MnDPDP. Se midió R1 en sangre y miocardio a 5, 15, 25 y 35 minutos tras inyección. El resultado se muestra en la figura 1.

Ejemplo 3: toma de imagen

En un cerdo anestesiado se controlaron el ritmo cardiaco y la presión sanguínea sistólica/diastólica. Se infundió dobutamina a una dosis de 10 µg/kg de peso corporal/minuto y se aumentó en 10 µg/kg/minuto cada segundo minuto hasta que se alcanzó un PRP (producto presión-ritmo) de un factor de 2,5.

Se inyectaron 10 µmol/kg de peso corporal de MnTPP en embolada durante 4 segundos. No se observaron signos clínicos representados por cambios en parámetros fisiológicos durante el experimento.

El cerdo se sometió a toma de imagen a 1,5 T en un escáner clínico. Se adquirieron imágenes a vista de eje corto del miocardio 45 minutos tras la inyección. Las imágenes se visualizaron en la zona subperfundida (véase la figura 2). Se llevó a cabo la angiografía por rayos X antes y después del experimento de toma de imagen con ensayo de estrés (figura 3).

Ejemplo 5: cálculo del % de disociación y periodo de semidesintegración de MnHPTA y MnHPTA que contiene Ca^{2+}

Preparaciones de MnHPTA que contienen 0, 0,5 y 1 equivalente de Ca^{2+} mediante adición de Ca-ácido ascórbico a MnHPTA. Se diluyeron las soluciones madre de MnHPTA de manganeso 200 mM (con o sin calcio) hasta manganeso 5 mM transfiriendo 250 microlitros de solución stock en 10 ml de agua RO.

Se obtuvieron 10 ml de sangre humana completa de un voluntario sano. La sangre contenía heparina sódica como el anti-coagulante. El hematocrito en porcentaje de la sangre se determinó mediante técnicas de micro-centrifugación y se determinó por ICP-AES la concentración de cationes de metal endógeno.

Se prepararon cuatro alícuotas de 2 ml de la sangre y se calentaron hasta 40° C. Después de calentar se añadieron 40 microlitos de MnHPTA 5 mM a la sangre dando una muestra con manganeso 0,1 mM. Se invirtió la muestra tres veces y se determinó de forma inmediata el tiempo de relajación longitudinal (T1). Los valores de T1 se obtuvieron

usando un Bruker Minispec 20 MHZ (Bruker Analytik GmbH, Rheinstetten, Alemania) operando a 40° C. Los valores de T1 se calcularon a partir del ajuste mono-exponencial de intensidad de señal frente al tiempo obtenido de una secuencia de recuperación de inversión con 12 tiempos de inversión diferentes. Los valores de T1 se obtuvieron cada 5 minutos durante un periodo de tiempo de una hora. El procedimiento anterior se repitió para muestras de MnHPTA que contienen 0,5 y 1 equivalente de calcio.

La disociación en porcentaje total de MnHPTA después de una hora se determinó con la ecuación 2. Se calculó el periodo de semidesintegración del complejo (cuando era posible) usando un programa de software validado (Pharm-NCA versión 1.4, InnaPhase, Champs-sur-Marne, Francia). Se obtuvieron los parámetros cinéticos usando análisis farmacocinético bi-exponencial convencional, y se determinó el periodo de semidesintegración del complejo de acuerdo con:

$$C(t) = f_a \exp\left(\frac{-0.693t}{t_{1/2}a}\right) + f_b \exp\left(\frac{-0.693t}{t_{1/2}b}\right)$$

donde $t_{1/2}a$ y $t_{1/2}b$ son el periodo de semidesintegración del complejo de los dos componentes y *f*a y *f*b representan los volúmenes fraccionarios de los dos componentes.

Los resultados del estudio indican que más del 80% del complejo MnHPTA se disocia en 1 minuto tras exposición a sangre completa humana. La adición de calcio no alteraba las cinéticas de disociación.

Ejemplo 7: Efectos cardiovasculares de MnHPTA con diversas cantidades de Ca^{2+}

Se investigaron los efectos cardiovasculares de MnHPTA con diversas cantidades de Ca^{2+} (0, 0,5 y 1 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}) en presencia y ausencia de dobutamina inducido estrés farmacológico en perros anestesiados.

Se indujo la anestesia con pentobarbital (12-25 mg/kg por vía i.v.) y fentanilo (1,5-2,5 µg/kg por vía i.v.), seguido de una infusión continua por vía i.v. de fentanilo (20 µg/kg/h y pentobarbital (10 mg kg/h). Se llevó a cabo la ventilación artificial con aire del entorno a través de un tubo traqueal, lo que ayudó a conseguir valores de gas en sangre fisiológicos normales. Se introdujo un catéter a través de la arteria femoral derecha para la medida de SAP. Se dispuso un catéter transductor de presión microtip (Millar) en el ventrículo izquierdo a través de la arteria carótida para medidas de LVdP/dt. Se introdujo un catéter Swan-Ganz por la vena femoral derecha para medida de PAP (presión arterial pulmonar). Se controló de forma continua un ECG de 3 vías. Se dispuso una sonda de flujo ultrasónica en torno a la arteria femoral izquierda para medida del flujo. Se introdujeron cánulas de Venflon en la vena yugular izquierda y derecha para inyecciones de agente de contraste e infusiones de dobutamina, respectivamente.

Se llevaron a cabo inyecciones de MnHPTA (con varias adiciones de Ca^{2+}) como inyecciones en embolada rápidas (inyección de la dosis completa de 30 µmol/kg durante 10 segundos) a través de una vena periférica de la pata trasera. Se usó solución salina como una sustancia de control. Todas las inyecciones se llevaron a cabo en primer lugar durante el estrés con dobutamina, seguido de inyección en reposo, es decir, en ausencia de estrés con dobutamina. Se llevó a cabo la infusión de dobutamina a una dosis de 5-20 µg/kg/minuto. La dosis exacta se seleccionó mediante valoración de la dosis inferior hasta que se observase un aumento en presión arterial sistólica de aproximadamente 50%. Se continuó la infusión de dobutamina durante 2 minutos tras inyección de MnHPTA seguido de 3 minutos de infusión a 30% de la dosis seleccionada. Después de esto finalizó la infusión de dobutamina.

Se controlaron de forma continua la presión sistólica, diastólica y sistémica media (SYS, DIA MEAN), LVdP/dt, flujo de arteria femoral, PAP (presión arterial pulmonar) media, HR (ritmo cardiaco) y ECG y se registró con un sistema informático.

Inyección de MnHPTA durante estrés con dobutamina:

La dobutamina sola aumentó la mayoría de los parámetros hemodinámicos controlados. El aumento más pronunciado se observó en dP/dt max que aumentaba 4 veces. La inyección salina no provocó cambio alguno principal en los parámetros hemodinámicos medidos. Los efectos hemodinámicos observados tras inyección de 30 µmol/kg de MnHPTA alcanzaron el pico en 2 minutos, es decir, durante la infusión máxima de dobutamina. El aumento más pronunciado en HR (aproximadamente del 50%) se observó después de MnHPTA sin Ca^{2+}, con un aumento simultáneo en flujo sanguíneo femoral. La adición de Ca^{2+} atenuó estos efectos; 0,5 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} hasta una extensión algo mayor de 1 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}. Aunque los otros parámetros se vieron afectados de forma modesta, MnHPTA con 0,5 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} estaba más próximo al control salino en todos los casos en comparación con MnHPTA con 0 ó 1 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}.

Inyección de MnHPTA durante reposo:

La mayor parte de los parámetros se encontraban próximos al control salino tras inyección de MnHPTA. Sin embargo la presión sanguínea sistémica, en particular DIA, era transitoriamente reducida tras inyección de MnHPTA, independientemente del contenido en Ca^{2+}. La dP/dt max aumentaba tras aumento en el contenido de Ca^{2+} de MnHPTA.

Ejemplo 8: Comparación de captación de MnHPTA que contiene diversas cantidades de Ca^{2+}

Se estudió la comparación de captación de MnHPTA que contiene 0, 1, 2 y 6 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} en un modelo de cerdo usando evaluación cuantitativa del cambio de R1 en pre- y post-inyección.

12 cerdos divididos en grupos de 4 recibieron MnHPTA en una dosis de 15 µmol/kg de peso corporal, MnHPTA que contenía 0, 1, 2 y 6 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}. Se valoró R1 usando una secuencia Lock-Locker con 70 puntos de datos seguido de la recuperación de la señal tras un pulso de inversión inicial de 180º en una vista de eje corto del miocardio. Se ajustó una curva monoexponencial que describía la recuperación de T1 para los datos y se llevó a cabo la compensación de las excitaciones rf. Se calculó luego la R1 y ΔR1 en el miocardio a partir de las curvas de T1 ajustadas.

Mayores cantidades de Ca^{2+} (2 y 6 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}) dieron lugar a ΔR1 significativamente menores en la fase temprana (de 0 a 20 min). Esto se puede explicar por el hecho de que la captación inicial de Mn en el miocardio se ve limitada debido a que el Ca compite con el Mn para la captación. Sin embargo, en la fase tardía (de 30 a 60 min) la mejora del contraste es similar independientemente de la cantidad de Ca.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una mezcla que comprende un complejo que presenta una constante de formación termodinámica entre 10^3 y 10^{16} que comprende Mn^{2+}, HPTA y 0,1 a 2 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+} para la fabricación de un agente de contraste para uso en la toma de imágenes por RM del miocardio.

2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la mezcla comprende 0,5 a 1 mol de Ca^{2+} por mol de Mn^{2+}.

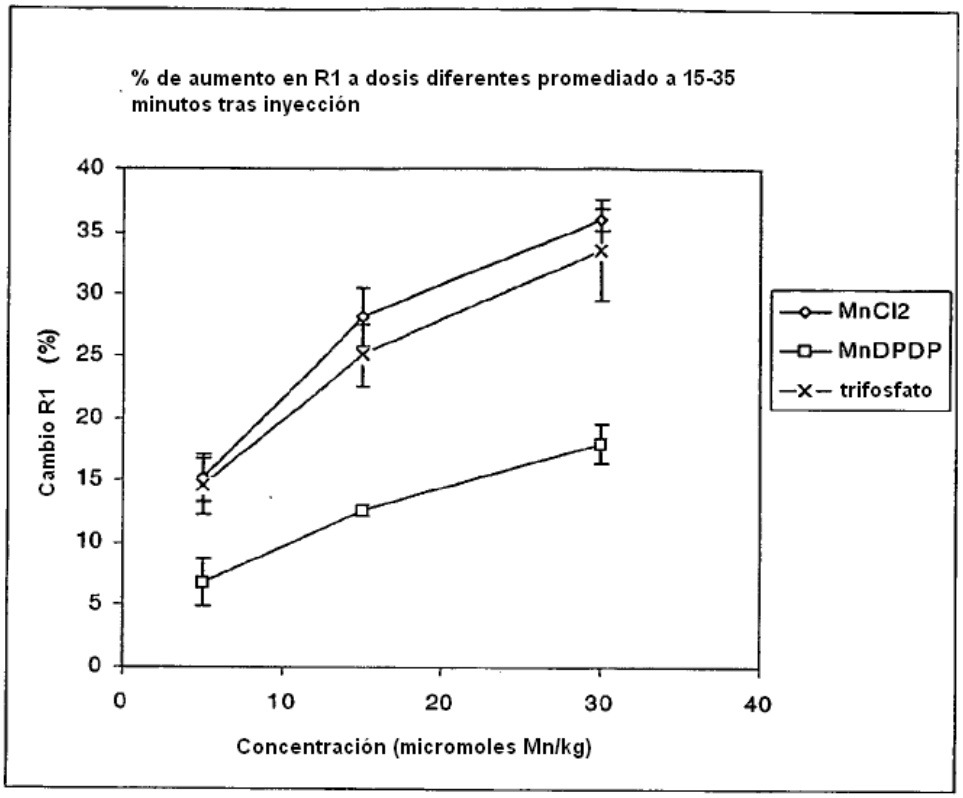
% de aumento en R1 a dosis diferentes promediado a 15-35 minutos tras inyección
Cambio R1 (%)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
0
10
20
30
40
Concentración (micromoles Mn/kg)
MnCl2
MnDPDP
trifosfato

Fig. 1

Fig. 2

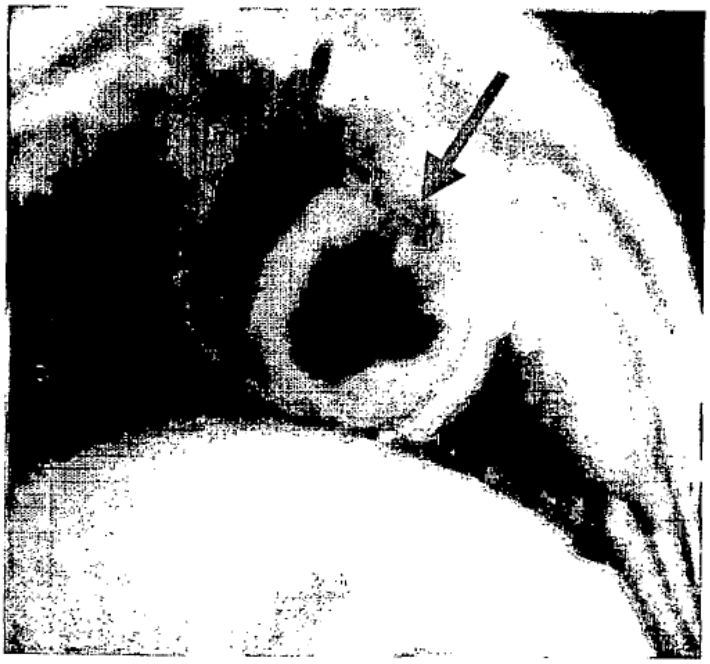
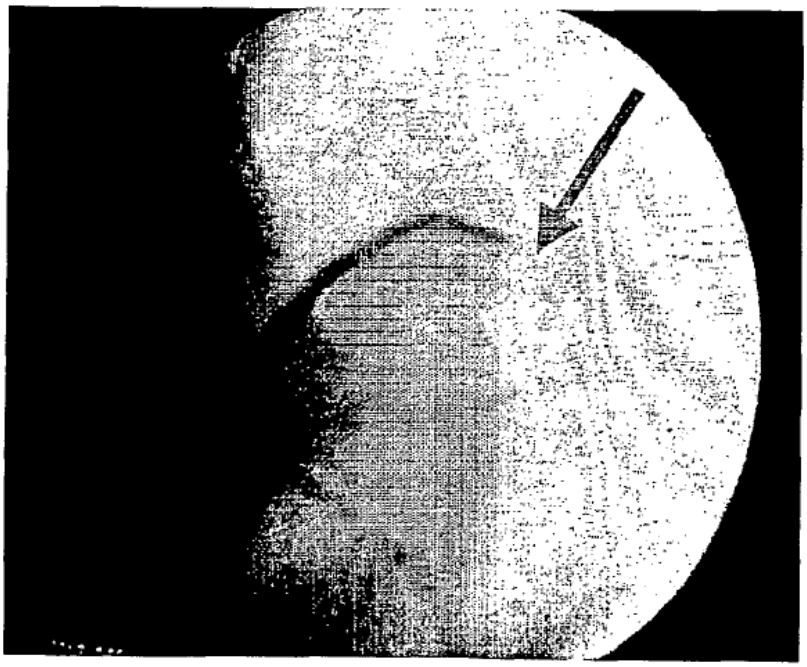
Fig. 3