

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 393 833**

51 Int. Cl.:

G01R 33/28 (2006.01)
G01R 33/56 (2006.01)
A61K 49/08 (2006.01)
A61K 49/10 (2006.01)
A61K 49/18 (2006.01)
G01R 33/62 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09009608 .2**
96 Fecha de presentación: **23.12.1998**
97 Número de publicación de la solicitud: **2119457**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.11.2009**

54 Título: **Procedimiento de producir un agente de contraste hiperpolarizado**

30 Prioridad:

05.01.1998 GB 9800158
25.06.1998 GB 9813795

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 1-2 P.O. BOX 4220 NYDALEN
0401 OSLO, NO

72 Inventor/es:

ARDENKJAER-LARSEN, JAN HENRIK;
AXELSSON, OSKAR;
GOLMAN, KLAES;
HANSSON, GEORG;
LEUNBACH, IB;
PETERSSON, STEFAN y
WISTRAND, LARS-GÖRAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 393 833 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 de producir un agente de contraste hiperpolarizado

La invención se refiere a un procedimiento de producir una solución hiperpolarizada de un agente para investigación por resonancia magnética de un cuerpo animal humano o no humano.

5 La resonancia magnética (RM) es una técnica diagnóstica que se ha vuelto particularmente atractiva para los médicos porque es no invasiva y no implica exponer al paciente en estudio a una radiación potencialmente dañina como los rayos X.

10 Con el fin de conseguir un contraste eficaz entre las imágenes de RM de los diferentes tipos de tejido en un sujeto, desde hace tiempo se conoce la administración al sujeto de agentes de contraste para RM (es decir, especies metálicas paramagnéticas) que efectúan tiempos de relajación de los núcleos de imagen de la RM en las zonas en las que se administran o en las que se agregan. La potenciación con contraste también se consigue usando el "efecto Overhauser", en el cual una transición esr en una especie paramagnética administrada (en lo sucesivo en el presente documento un agente de contraste OMRI) se acopla a un sistema de espín nuclear de los núcleos de la imagen (véase, por ejemplo, el documento EP-A-0 355 884). El efecto Overhauser (también conocido como polarización nuclear dinámica) puede aumentar significativamente la diferencia en la población entre los estados de espín nuclear excitado y fundamental de núcleos seleccionados y, de este modo, amplificar la intensidad de la señal de RM por un factor de cien o más, permitiendo generar imágenes de OMRI rápidamente y con campos magnéticos primarios relativamente bajos. La mayoría de los agentes de contraste OMRI divulgados hasta la fecha son radicales que se usan para efectuar la polarización de los núcleos de imagen *in vivo*.

20 En la actualidad se están desarrollando técnicas que implican polarización *ex vivo* de agentes que contienen núcleos de imagen de RM antes de la administración y la medición de la señal de RM. Dichas técnicas pueden implicar el uso de agentes polarizantes, por ejemplo agentes de contraste OMRI convencionales o gases hiperpolarizados para alcanzar la polarización *ex vivo* de núcleos de imagen RM administrables. Por agente polarizante se quiere decir cualquier agente adecuado para realizar polarización *ex vivo* de un agente de imagen para RM.

25 La polarización *ex vivo* de un agente de imagen MK se divulga en la investigación, Disclosure, Mason Publications, Hampshire, 28, vol. 348, nº 33, 1 de abril de 1993.

30 El procedimiento *ex vivo* tiene, entre otras, la ventaja de que es posible evitar administrar la totalidad, o sustancialmente la totalidad, del agente polarizante a la muestra en investigación al tiempo que se sigue consiguiendo la polarización deseada. Por tanto, el procedimiento está menos restringido por factores fisiológicos tales como las restricciones impuestas por la capacidad de administración, de biodegradación y la toxicidad de los agentes de contraste OMRI en las técnicas *in vivo*.

35 Se ha encontrado ahora que los procedimientos *ex vivo* de las pruebas de imagen por resonancia magnética pueden mejorarse usando agentes de imagen para RM polarizados que comprenden núcleos capaces de emitir señales de resonancia magnética en un campo magnético uniforme (p. ej., núcleos de imagen de RM tal como núcleos de ^{13}C o ^{15}N) y capaces de exhibir un tiempo de relajación T_1 largo, preferentemente, Adicionalmente, un tiempo de relajación T_2 largo. Dichos agentes se denominarán en lo sucesivo en el presente documento "agentes de T_1 alto" Normalmente, las moléculas de un agente de T_1 alto contendrán núcleos de imagen de RM en una cantidad mayor que la abundancia natural de dichos núcleos en dichas moléculas (es decir, el agente estará enriquecido con dichos núcleos).

40 Por tanto, desde el punto de vista de un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento de producir una solución hiperpolarizada de un agente de T_1 alto para investigación por resonancia magnética de un cuerpo animal humano o no humano, en el que dicho procedimiento comprende:

- hiperpolarizar una muestra sólida de un agente de T_1 alto mediante polarización nuclear dinámica efectuada por un agente de contraste OMRI; en el que dicho agente de T_1 alto es un estado sólido durante la polarización y en contacto estrecho con dicho agente de contraste OMRI que también está en estado sólido; estando dicho agente de contraste OMRI y dicho agente de T_1 alto presentes como una composición durante la polarización; y efectuándose dicha polarización nuclear dinámica mediante irradiación de espines de electrones en dicho agente de contraste OMR a una temperatura baja y en un campo magnético alto;
- separar opcionalmente la totalidad o una porción de dicho agente de contraste OMRI de dicho agente de T_1 alto;
- y
- disolver la muestra sólida hiperpolarizada de dicho agente de T_1 alto en un disolvente fisiológicamente tolerable para la administración a dicho cuerpo animal humano o no humano;
- en el que dicho agente de T_1 alto contiene núcleos adecuados para imágenes de resonancia magnética, con un valor de T_1 en dicha solución con una intensidad de campo en el intervalo de 0,01-5 T y a una temperatura en un intervalo de 20-40 °C de al menos 5 segundos.

Por "hiperpolarizado" se quiere decir polarizado hasta un nivel sobre el encontrado a temperatura ambiente y 1T, preferentemente polarizado a un nivel de polarización en exceso del 0,1 %, más preferentemente del 1 %, incluso más preferentemente del 10 %.

La polarización se proporciona con la ecuación:

$$P = \frac{N\alpha - N\beta}{N\alpha + N\beta}$$

5

que en equilibrio es igual a

$$\frac{1 - \exp\{-\gamma\hbar B_0/kT\}}{1 + \exp\{-\gamma\hbar B_0/kT\}}$$

en la que N_α es el número de espines en un estado de espín nuclear α (p. ej., $+1/2$);

N_β es el número de espines en un estado de espín nuclear β (p. ej., $-1/2$);

10 γ es la proporción magnetogirica para el núcleo isotópico en cuestión, por ejemplo ^{13}C);

\hbar es la constante de Planck dividida por 2π ;

B_0 es el campo magnético;

k es la constante de Boltzmann; y

T es la temperatura en grados Kelvin.

15 Por tanto, P tiene un valor máximo de 1 (100 % de polarización) y un valor mínimo de 0 (0 % de polarización).

Por "disolvente fisiológicamente tolerable" se quiere decir cualquier disolvente, mezcla o solución de disolventes que es tolerada por el cuerpo animal humano o no humano, por ejemplo agua, soluciones acuosas tales como solución salina, perfluorocarbonos etc.

20 So el agente de T_1 alto conserva su polarización cuando se transporta en un campo magnético y a una temperatura baja, el agente se puede hiperpolarizar en un sitio remoto de su uso final y transportar a su lugar de uso en un campo magnético y a una temperatura alta y ahí se disuelve y administra.

25 En la realización a la que se ha hecho referencia anteriormente, el campo magnético es, preferentemente, mayor que 10 mT, más preferentemente mayor que 0,1T, incluso más preferentemente mayor que 0,5T, todavía más preferentemente mayor que 1T. Por "temperatura baja" se quiere decir, preferentemente, menos de 80K, más preferentemente menos que 4,2K, más preferentemente menos que 1K.

Si la solución hiperpolarizada formada de este modo conserva su polarización cuando se transporta en un campo magnético, el campo magnético es, preferentemente, mayor que 10 mT, más preferentemente mayor que 0,1T, incluso más preferentemente mayor que 0,5T, todavía más preferentemente mayor que 1T.

30 Una realización adicional más de la invención proporciona un procedimiento como se ha descrito anteriormente en el que un campo magnético está presente durante la etapa de disolución. En esta última realización, el campo magnético es, preferentemente, mayor que 10 mT, más preferentemente mayor que 0,1T, incluso más preferentemente mayor que 0,5T, todavía más preferentemente mayor que 1T.

35 Los agentes de T_1 alto adecuados pueden contener núcleos, tales como protones. No obstante, otros núcleos de espín nuclear distinto de cero pueden ser útiles (p. ej., ^{19}F , ^3Li , ^{13}C , ^{15}N , ^{29}Si o ^{31}P , además de ^1H), preferentemente núcleos de ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si y ^{31}P , siendo particularmente preferidos los núcleos ^{13}C y ^{15}N . En este acontecimiento, las señales de RM a partir de las cuales se genera la imagen procederán sustancialmente del propio agente de T_1 alto. No obstante, cuando el agente de T_1 alto polarizado está presente a una concentración alta de medios administrables, puede haber suficiente transferencia significativa de magnetización a los protones para poder realizar ^1H -MPT de los protones de los medios. De un modo similar, el agente de T_1 alto polarizado puede tener un efecto suficientemente significativo sobre los protones in vivo para que se realice la RM ^1H convencional con estos protones.

45 Cuando los núcleos de imagen de la RM son distintos a un protón (p. ej., ^{13}C o ^{15}N), no habrá esencialmente interferencias por señales de fondo (siendo insignificante la abundancia natural de ^{13}C y ^{15}N) y el contraste de imagen será ventajosamente alto. Esto es especialmente cierto cuando el propio agente de T_1 alto está enriquecido por encima de su abundancia natural. Por tanto, el procedimiento de acuerdo con la invención tiene el beneficio de ser capaz de proporcionar a una imagen generada una ponderación espacial significativa. De hecho, la administración de un agente de T_1 alto polarizado en una región seleccionada de una muestra (p. ej., mediante inyección) significa que el efecto de contraste puede estar localizado en dicha región. El efecto preciso del curso depende de la extensión de la biodistribución durante el periodo en el cual el agente de T_1 alto permanece significativamente polarizado. En general, volúmenes corporales específicos (es decir, regiones de interés tales como el sistema vascular u órganos específicos tales como el cerebro, el riñón, el corazón o el hígado) en los que se administra el

50

agente se va a administrar se pueden definir con mejores propiedades de señal-ruido (particularmente mejorado el contraste con el ruido) de las imágenes resultantes en estos volúmenes.

5 En una realización, se puede generar una "imagen nativa" de la muestra (p. ej., cuerpo) (es decir, una obtenida antes de la administración del agente de T_1 alto o uno obtenido para el agente de T_1 alto administrado sin polarización previa como en un experimento de RM convencional) para proporcionar información estructural (p. ej., anatómica) sobre la cual se puede superponer la imagen obtenida en el procedimiento de acuerdo con la invención. Generalmente no se dispone de una "imagen nativa" cuando ^{13}C o ^{15}N es el núcleo de la imagen por la baja abundancia de ^{13}C o ^{15}N en el cuerpo. En este caso, se puede tomar una imagen de RM de protones para proporcionar la información anatómica sobre la cual se puede superponer la imagen de ^{13}C o ^{15}N .

10 El agente de T_1 alto deberá ser, por supuesto, fisiológicamente tolerable o debería poder proporcionarse en una forma administrable y fisiológicamente tolerable. Agentes de T_1 alto preferidos so solubles en medios acuosos (p. ej., agua) y son, por supuesto, no tóxicos cuando el uso final previsto es *in vivo*.

15 De forma conveniente, una vez polarizado, el agente de T_1 alto permanecerá así durante un periodo suficientemente largo para permitir que se lleve a cabo el procedimiento de obtención de imágenes en un periodo de tiempo cómodo. En general, el agente de T_1 alto retendrá suficiente polarización en su forma administrable (p. ej., en solución para inyección) si tiene un valor de T_1 (en una intensidad de campo de 0,01-5T y a una temperatura en el intervalo de 20-40 °C) de al menos 5 s, más preferentemente al menos 10 s, especialmente preferentemente 30s o más, más especialmente preferentemente 70s o más, todavía más especialmente preferentemente 100s o más (por ejemplo a 37 °C en agua a 1T y una concentración de al menos 1 mM). El agente de T_1 alto puede ser, ventajosamente, un agente con un tiempo de relajación T_2 prolongado.

20 El tiempo de relajación T_1 prolongado de ciertos núcleos de ^{13}C es particularmente ventajoso y, por tanto, se prefiere el uso de ciertos agentes de T_1 alto que contienen núcleos de ^{13}C en el presente procedimiento. El factor γ del carbono es aproximadamente $\frac{1}{4}$ del factor γ para hidrógeno, que tiene como resultado una frecuencia de Larmor de aproximadamente 10 MHz a 1T. La absorción rf y los reflejos en un paciente son, en consecuencia y ventajosamente, menos que en las imágenes con agua (protones). Se encuentra que la proporción señal-ruido es independiente de la intensidad de campo de la RM cuando la correspondiente frecuencia es mayor que unos pocos MHz. Preferentemente, el agente de T_1 alto polarizado tiene una polarización nuclear de ^{13}C eficaz correspondiente a la obtenida en un equilibrio térmico a 300K en un campo de 0,1T o más, más preferentemente 25T o más, particularmente preferentemente 100T o más, especialmente preferentemente 5.000T o más (por ejemplo, 50 kT).

30 Cuando la nube de electrones de una molécula dada interacciona con los átomos en el tejido adyacente, la cubierta del átomo responsable de la señal de RM se cambia, dando lugar a un desplazamiento en la frecuencia de la RM ("el efecto de desplazamiento químico"). Cuando la molécula se metaboliza, el desplazamiento químico se cambiará y los agentes de T_1 alto en diferentes entornos químicos se pueden visualizar por separado usando pulsos sensibles al desplazamiento químico. Cuando la diferencia de frecuencia entre moléculas de T_1 alto en diferentes entornos es de 10 Hz o mayor, preferentemente 20 Hz o mayor, más preferentemente 150 Hz o mayor (correspondiente a 3,5 ppm o mayor a 1T), los dos componentes se puede excitar por separado y visualizar en dos imágenes. Después se pueden usar pulsos de excitación selectiva del desplazamiento químico estándar. Cuando la separación de frecuencia es menor, los dos componentes pueden no separarse usando pulsos de rf selectivos de frecuencia. La diferencia de fase creada durante el retraso de tiempo tras el pulso de excitación y antes de la detección de la señal de RM puede usarse después para separar los dos componentes. Se pueden usar procedimientos de secuencia del pulso de imagen sensibles a la fase (Dixon, Radiology, 1984, 153: 189-194 y Sepponen, Mag Res. Imaging, 3, 163 - 167, 1985) para generar imágenes que visualizan entornos químicos diferentes o metabolitos diferentes. El tiempo de relajación T_2 largo que puede ser una característica de un agente de T_1 alto posibilitará, en estas circunstancias, usar tiempos de eco (TE) largos y seguir obteniendo una proporción señal—ruido alta. Por tanto, una ventaja importante de los agentes de T_1 alto usados en el presente procedimiento es que exhibe un desplazamiento químico dependiente de la composición local del cuerpo en el que se localizan. Los agentes de T_1 alto preferidos exhibirán a 1T un desplazamiento químico de más de 2 ppm, preferentemente de más de 10 ppm, en función de si el agente de T_1 alto se localiza dentro o fuera del sistema vascular. Los agentes de T_1 alto preferidos exhibirán un desplazamiento químico de más de 2 ppm, preferentemente de más de 10 ppm, por 2 unidades de pH o por grado Kelvin o tras ser metabolizados. Los agentes de T_1 alto que contienen núcleos de ^{13}C polarizados (o núcleos 15X) exhiben grandes cambios en el desplazamiento químico en respuesta a los cambios fisiológicos (p. ej., pH, $p\text{O}_2$, $p\text{CO}_2$, potencial redox, temperatura o concentraciones iónicas de, por ejemplo, Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) o actividad metabólica y, por tanto, se pueden usar para monitorizar estos parámetros.

55 Los agentes de T_1 alto sólidos (p. ej., sólidos enriquecidos en ^{13}C o ^{15}N) puede exhibir tiempos de relajación T_1 y, por este motivo, son especialmente preferidos para usar en el presente procedimiento. El tiempo de relajación T_1 puede ser de varias horas en la fase de volumen, aunque se puede reducir mediante la reducción del tamaño de grano y/o la adición de impurezas paramagnéticas, por ejemplo oxígeno molecular. El tiempo de relajación prolongado de los sólidos permite de forma ventajosa llevar a cabo el procedimiento convencionalmente con menos prisa y es particularmente ventajoso para permitir almacenar o transportar el agente de T_1 alto sólido antes de la formulación farmacéutica t la administración. En una realización, el agente de T_1 alto polarizado se puede almacenar a una temperatura baja y antes de la administración, y el agente de T_1 alto se puede calentar rápidamente hasta

temperaturas fisiológicas usando técnicas convencionales, tales como radiación de infrarrojos o de microondas o, simplemente, añadiendo medios administrables estériles calientes, por ejemplo solución salina.

Para el uso in vivo, un agente de T_1 alto polarizado se disuelve en medios administrables (p. ej., agua o solución salina), se administra a un sujeto y se realiza la obtención de imágenes RM convencionales. Por tanto, los agentes de T_1 alto sólidos son, preferentemente, de solubilidad rápida (p. ej., hidrosolubles) para ayudar a formular los medios administrables. Preferentemente, el agente de T_1 alto deberán disolverse en un vehículo fisiológicamente tolerable (p. ej., agua o solución de Ringer) a una concentración de al menos 1 mM a una velocidad de $1\text{mM}/3T_1$ o, más particularmente preferentemente $1\text{mM}/2T_1$ o más, especialmente preferentemente $1\text{mM}/T_1$ o más. Cuando el agente de T_1 alto sólido se congela, el medio administrable se puede calentar, preferentemente a una medida tal que la temperatura del medio tras la mezcla está próxima a 37°C .

Un agente de T_1 alto polarizado se puede administrar (solo o con componentes adicionales tales como agentes de T_1 alto adicionales) en forma líquida. La retención de la polarización en un medio líquido frente a un medio gaseoso es significativamente mayor. Por tanto, aunque T_1 y T_2 son, en general, más cortos para el líquido, el efecto T_2^* por la difusión es 10^5 veces menos significativo para el líquido. En consecuencia, para los agentes de T_1 alto, la secuencia de imagen usada generalmente tiene que ser FLASH o GRASS, mientras que, por el contrario, se pueden usar secuencias de imagen más eficientes para los líquidos. Por ejemplo, los líquidos tienen, en general, una difusión más lenta, lo que posibilita usar secuencias tales como imágenes de eco planar (EPI). La técnica global será más rápida y una resolución de mejor rendimiento (tamaño del voxel $< 1\text{mm}$) que las técnicas convencionales (tamaño del voxel aproximadamente 1-5 mm) a los tiempos de adquisición actuales. Dará buenas imágenes en todos los campos, incluido en máquinas de campo bajo (p. ej., 0,01-0,5T).

A menos que el agente hiperpolarizado se almacene (y/o transporte) a una temperatura baja y en un campo aplicado como se ha descrito anteriormente, ya que el procedimiento de la invención se puede llevar a cabo en el tiempo en el que la solución hiperpolarizada del agente de T_1 alto permanece significativamente polarizado, es deseable que la administración del agente de T_1 alto polarizado se efectúe rápidamente y que la medición de RM siga poco después. La vía de administración preferida para el agente de T_1 alto polarizado es parenteral, por ejemplo mediante inyección en bolo, mediante inyección intravenosa, intraarterial o perioral. El tiempo de inyección deberá ser equivalente a $5T_1$ o menor, preferentemente a $3T_1$ o menor, en particular preferentemente a T_1 o menor, especialmente $0,1T_1$. Pueden obtenerse imágenes de los pulmones mediante pulverización, por ejemplo mediante pulverización en aerosol.

El agente de T_1 alto deberá estar enriquecido, preferentemente, con núcleos (p. ej., núcleos de ^{15}N y/o ^{13}C) que tienen un tiempo de relajación T_1 prolongado. Son preferidos los agentes de T_1 alto enriquecidos con ^{13}C que tienen ^{13}C en una posición concreta (o más de una posición concreta) en una cantidad superior a la abundancia natural, es decir por encima del 1 %. Preferentemente, dicha posición del carbono único tendrá un 5 % o más de ^{13}C , particularmente preferentemente un 10 % o más, especialmente preferentemente un 25 % o más, más especialmente preferentemente un 50 % o más, incluso más preferentemente más del 99 % (p. ej., 99,9 %). Los núcleos de ^{13}C ascienden a, preferentemente, $> 2\%$ de todos los átomos de carbono en el compuesto. El agente de T_1 alto está, preferentemente, enriquecido en ^{13}C en una o más posiciones del carbonilo o carbono cuaternario, dado que un núcleo de ^{13}C en un grupo carbonilo o en ciertos carbonos cuaternarios puede tener un tiempo de relajación T_1 normalmente de más de 2 s, preferentemente de más de 5 s, especialmente preferentemente de más de 30 s. Preferentemente, el compuesto enriquecido en ^{13}C deberá estar marcado con deuterio, especialmente adyacente al núcleo de ^{13}C .

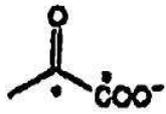
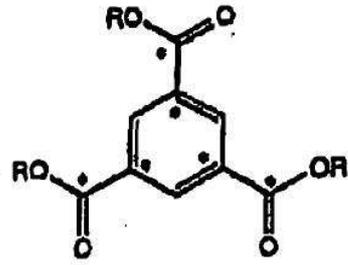
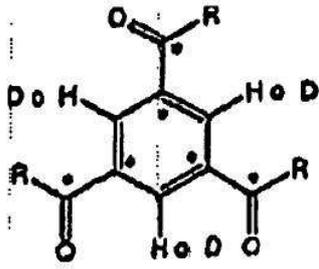
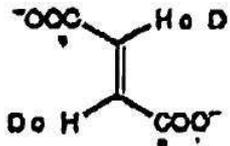
La presente invención se puede usar para proporcionar una composición que comprende una solución hiperpolarizada de un compuesto enriquecido con ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P o ^1H polarizado, junto con uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables.

Desde la perspectiva de un aspecto adicional, la presente invención se puede usar para proporcionar un medio de contraste que comprende una solución hiperpolarizada de un agente de T_1 alto polarizado enriquecido con núcleos de ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P o H que tienen un tiempo de relajación T_1 de 2 s o más, preferentemente de 10 segundos o más, más preferentemente de 30 s o más, especialmente preferentemente de 60 s o más en solución n campos magnéticos de 0,005 – 10T, preferentemente de 0,01 – 10T, junto con uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables.

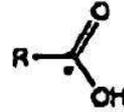
Compuestos enriquecidos en ^{13}C preferidos son aquéllos en los que el núcleo de ^{13}C está rodeado por uno o más núcleos no activos en RM tales como O, S, C o un doble enlace. Agentes enriquecidos en ^{13}C específicamente preferidos son $^{13}\text{CO}_3^{2-}$ y $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$ (sal de sodio para inyectables y sal de calcio o potasio para polarización).

También se prefieren los tipos siguientes de compuestos (★ indica las posiciones enriquecidas en ^{13}C):

(1) los compuestos carboxilo que comprenden de 1 a 4 grupos carboxilo:



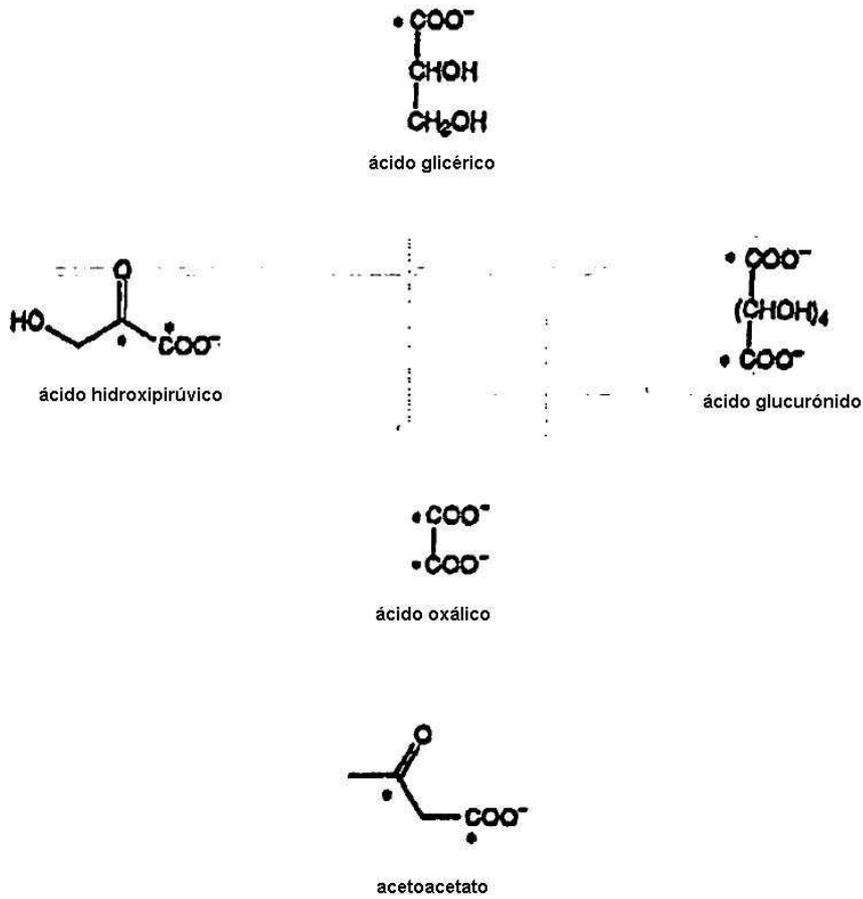
ácido pirúvico
(incluidos los análogos
deuterados y marcados con
19F)



acetato

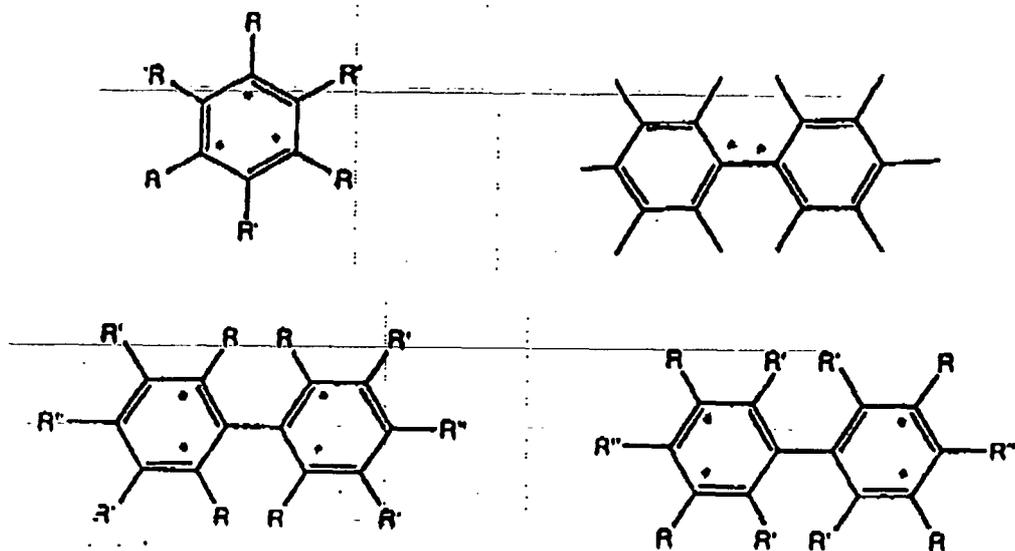


ácido glioxílico



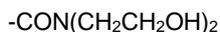
(en los que R representa cualquier resto hidrocarburo lineal o ramificado, preferentemente un átomo de carbono altamente sustituido, especialmente preferentemente un carbono cuaternario) y ésteres, isómeros, especialmente estereoisómeros y rotámeros, de los mismos;

5 (2) compuestos de mono y biarilo sustituidos:

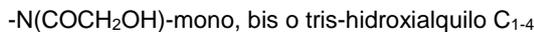
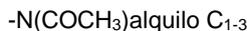


(en los que cada grupo R o R' es, de forma independiente, un átomo de hidrógeno, un átomo de yodo, un átomo de ¹⁹P o siendo un resto hidrófilo M cualquiera de los grupos no ionizantes usados de forma convencional para potenciar la solubilidad en agua dentro del campo de los agentes de contraste para rayos X de triyodofenilo, incluidos, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₁₀ de cadena lineal o ramificado, preferentemente un grupo C₁₋₅, opcionalmente con uno o más restos CH₂ o CH sustituidos por átomos de oxígeno o nitrógeno y sustituidos opcionalmente con uno o más grupos seleccionados de oxo, hidroxilo, amino, derivado de carboxilo y azufre sustituido con oxo y átomos de fósforo).

Ejemplos concretos del grupo M incluyen polihidroxialquilo, hidroxialcoialquilo e hidroxipolialcoialquilo y dichos grupos unidos al grupo fenilo mediante un enlace amida tal como hidroxialquilaminocarbonilo, N-alquilhidroxialquilaminocarbonilo y bis-hidroxialquilaminocarbonilo. Entre dichos grupos M preferidos están los que contienen 1, 2, 3, 4, 5 o 6, especialmente 1, 2 o 3 grupos hidroxilo, por ejemplo



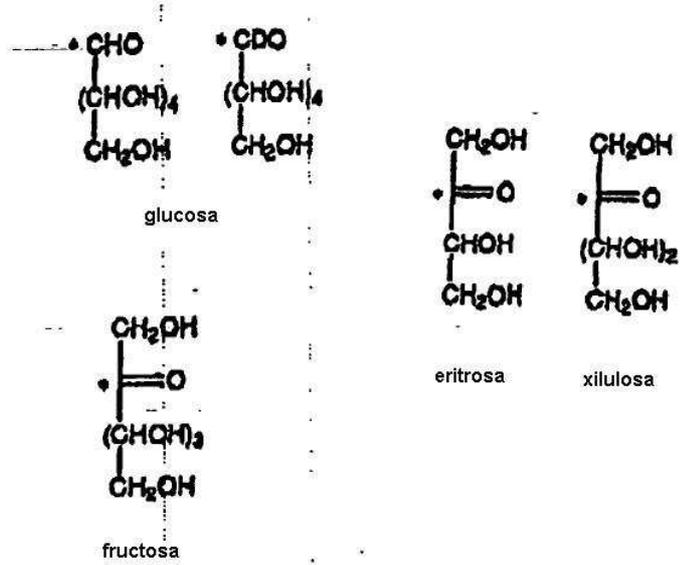
además de otros grupos tales como



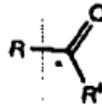
En general, los grupos M comprenderán, cada uno, preferentemente, un grupo polihidroxialquilo C₁₋₄, tal como grupos alquilo C₁₋₄ sustituidos con 1, 2 o 4 grupos hidroxilo (por ejemplo, hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 2,3-bishidroxipropilo, 1,3-bishidroxipro-2-ilo, 2,3,4-trihidroxibutilo y 1,2,4-trihidroxibut-2-ilo) opcionalmente conectados con el anillo fenilo mediante un grupo CO, SO o SO₂ (p. ej., COCH₂OH o SO₂CH₂OH).

Compuestos preferidos son aquéllos en los que dos o tres grupos R no adyacentes en o cada resto C₆R₅ son yodo y al menos uno, y preferentemente dos o tres, grupos R, en el o cada resto C₆R₅ y los restos M o M₁; cada M es, de forma independiente, un resto hidrófilo no iónico; y cada M₁ representa de forma independiente un grupo alquilo C₁₋₄ sustituido con al menos un grupo hidroxilo y unido opcionalmente al anillo fenilo mediante un grupo carbonilo, sulfato o sulfóxido, al menos un grupo R, preferentemente al menos dos grupos R y, especialmente preferentemente, al menos un grupo R en el o cada resto C₆R₅, siendo un resto M₁. Especialmente preferidos son los compuestos divulgados en el documento WO-A-96/09282.

(3) azúcares:

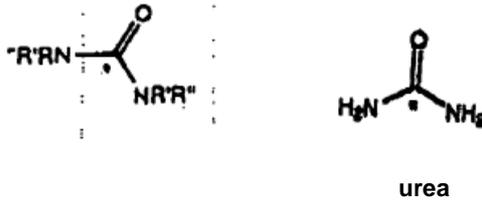


(4) cetonas:

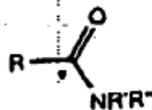


(en las que R y R' son como se ha definido con anterioridad)

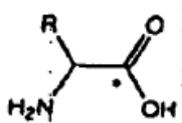
5 (5) ureas:



(6) amidas:

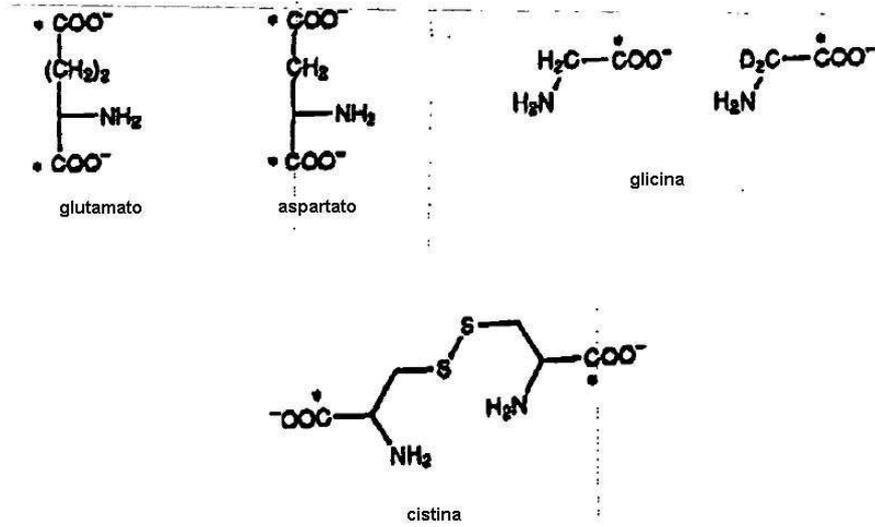


10 (7) aminoácidos:

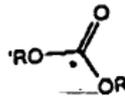


y péptidos y proteínas marcados en la posición carbonilo, particularmente los que en la técnica se sabe que son útiles para dirigir a las células tumorales. De las proteínas, la albúmina es especialmente preferida. Los polímeros también son útiles, particularmente aquéllos con una toxicidad baja (p. ej., polilisina) y aquéllos con muchos grupos carboxilo (p. ej., ácido poliglutámico). Los siguientes aminoácidos son especialmente preferidos.

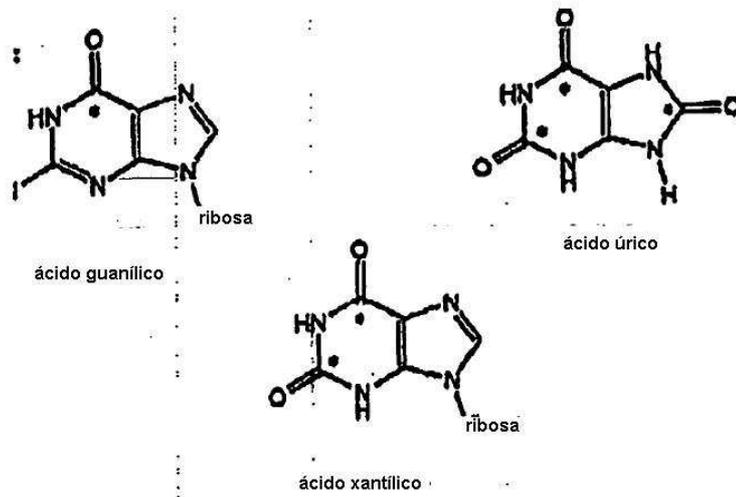
15



(8) carbonatos:

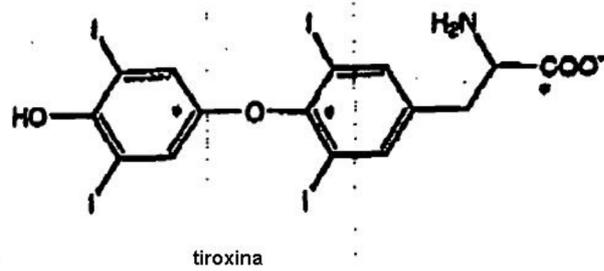


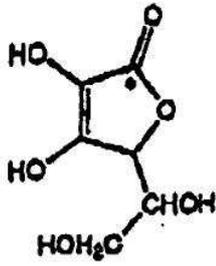
(9) nucleótidos



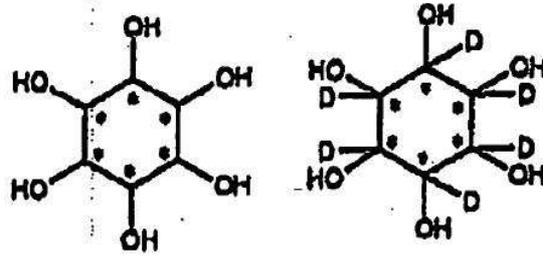
5

(10) marcadores:

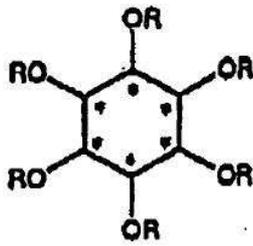




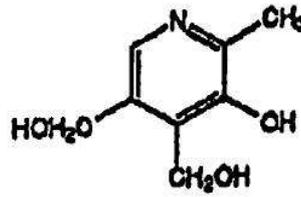
ácido ascórbico



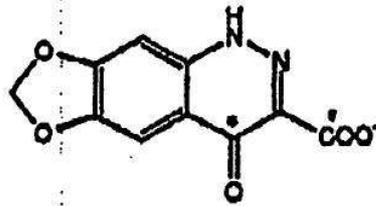
Inositol



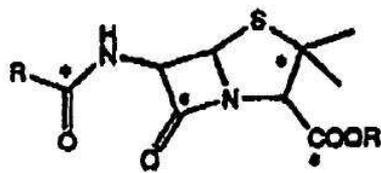
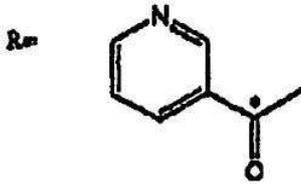
inositolhexanitotinato
(hexanicil, astra)



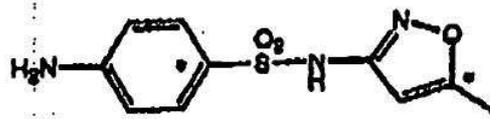
piridoxina



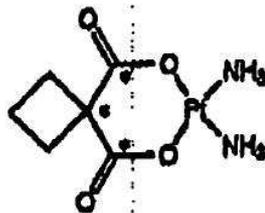
cinoxacina



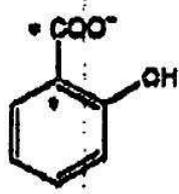
derivados de penicilina



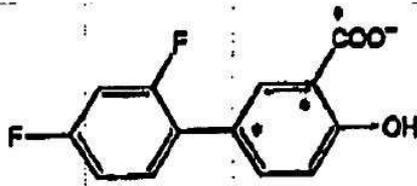
Sulfonamida



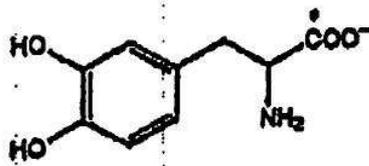
Carboplatino



salicilato

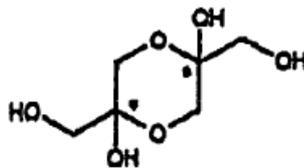
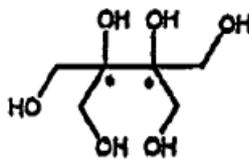


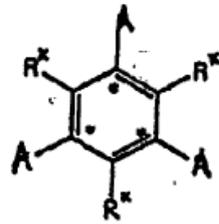
diflunisal



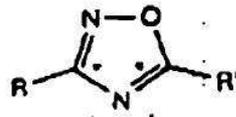
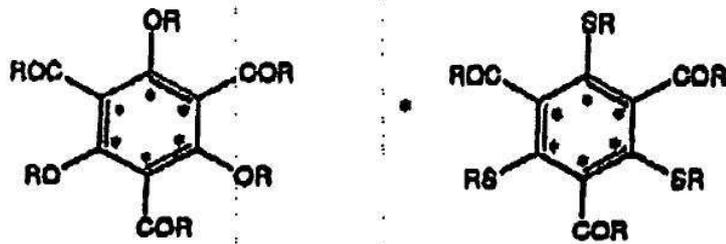
DOPA

y (11) compuestos tales como:

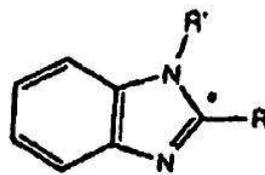




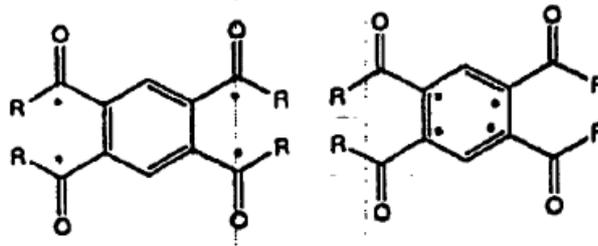
(en los que R indica cualquiera de las cadenas laterales convencionales adecuadas para usar en los agentes de contraste para rayos X y A indica I, D, OR, RC=O o ^{19}F)

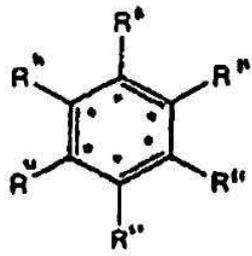


(elegir uno de los dos ^{13}C)

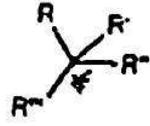


5

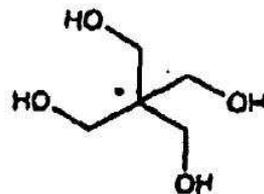
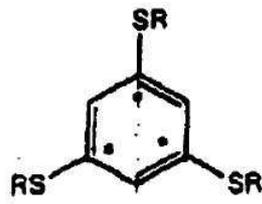
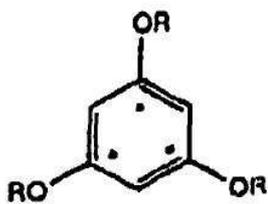
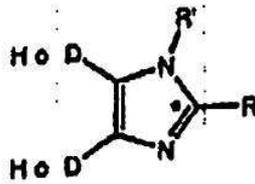
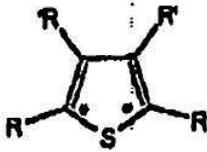
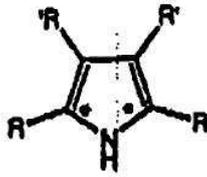
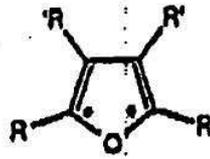




R no N,H,F,P



R no H, F, P



En cualquiera de las definiciones anteriores, a menos que se especifique lo contrario, R, R', R'' y R''' indican cualquier sustituyente adecuado, preferentemente un sustituyente unido por un núcleo no magnético.

Los análogos total o parcialmente marcados con deuterio o con ^{19}F de cualquiera de estos compuestos son particularmente preferidos.

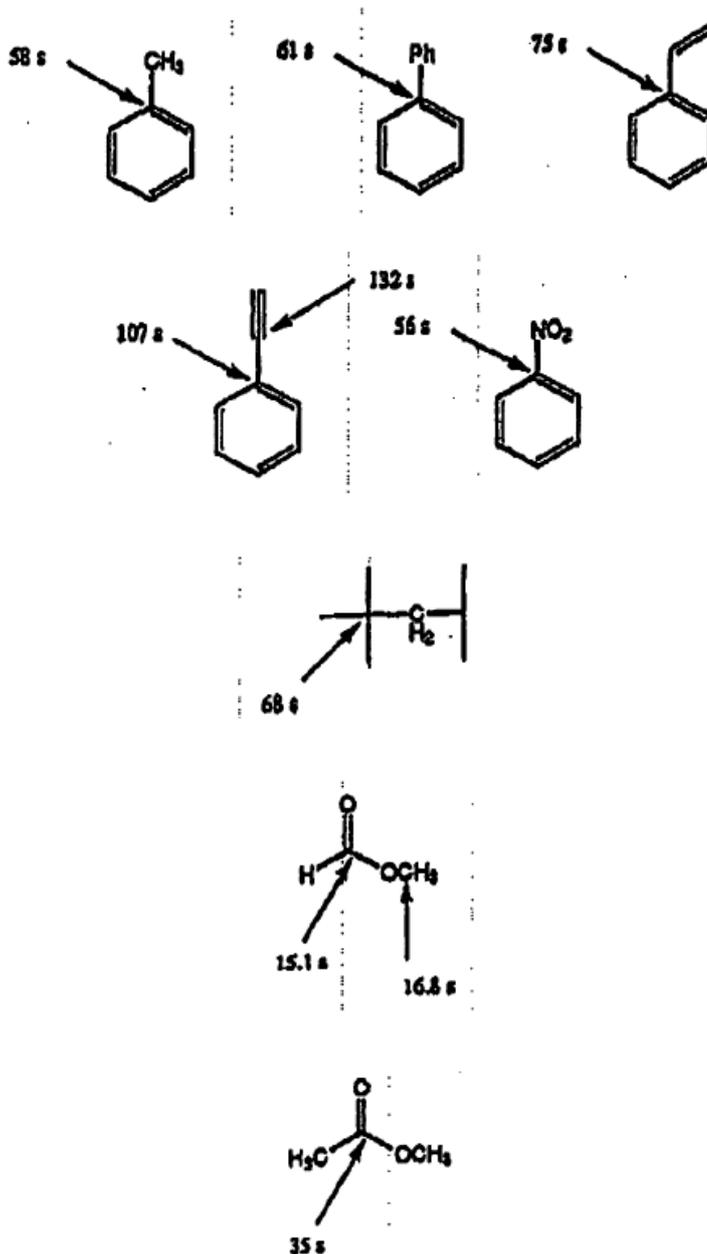
- 5 Ciertos de estos compuestos enriquecidos con ^{13}C mencionados anteriormente son nuevos *per se* y forman un aspecto adicional de la invención. Los compuestos que son hidrosolubles son particularmente preferidos.

En general, los aminoácidos enriquecidos con ^{13}C y cualquiera de los agentes de contraste conocidos de los campos de agentes de contraste para rayos X y de agentes de contraste para RM (el agente quelante sin el contraion metálico, por ejemplo agentes quelantes de Gd convencionales sin Gd) son agentes de T_1 preferidos. Los intermediarios en los ciclos metabólicos normales, tales como el ciclo del ácido cítrico, por ejemplo ácido fumárico y ácido pirúvico, se prefieren para la obtención de imágenes de la actividad metabólica.

- 10

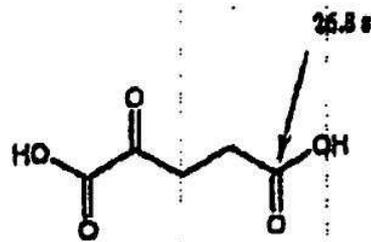
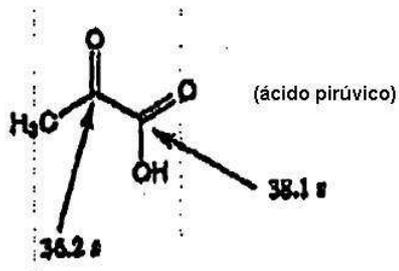
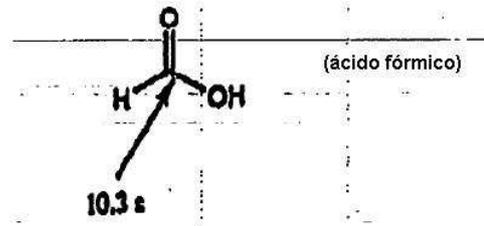
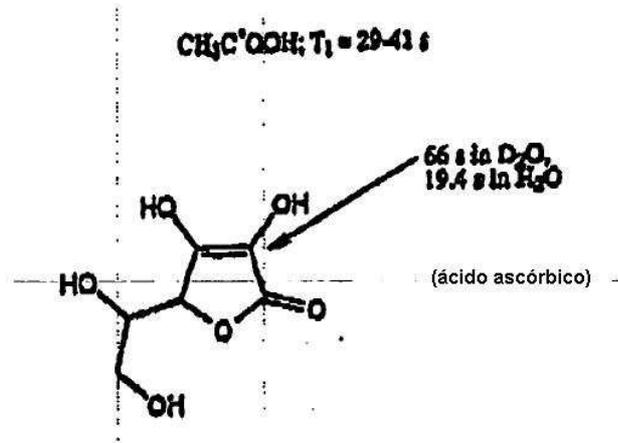
Los valores T_1 para compuestos enriquecidos con ^{13}C útiles en la invención se notifican en la literatura y pueden determinarse de forma rutinaria. Ejemplos incluyen:

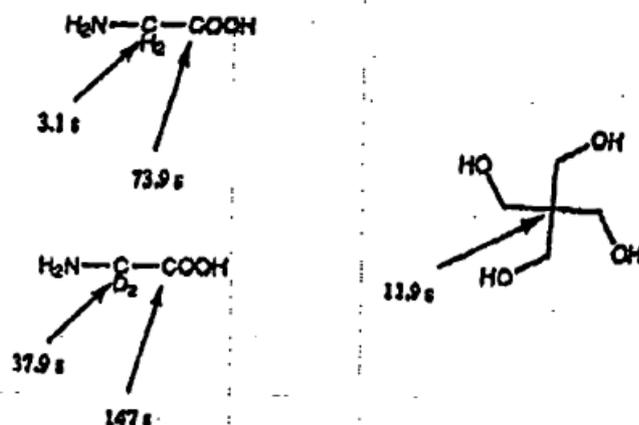
(a) uno no hidrosoluble en agua (es decir, soluble en un disolvente orgánico):



15

(b) hidrosoluble





En general, la hiperpolarización se puede llevar a cabo mediante tres procedimientos que se describen a continuación en el presente documento. No obstante, cabe destacar que el procedimiento de la invención está limitado al procedimiento de la reivindicación 1, que comprende hiperpolarización de una muestra sólida de un agente de T_1 alto mediante polarización nuclear dinámica efectuada por un agente de contraste OMRI, estando el agente de T_1 alto en estado sólido durante la polarización y en contacto estrecho con el agente de contraste OMRI que está también en estado sólido.

Se prevé que, en el procedimiento de acuerdo con la invención, el nivel de polarización alcanzado debería ser suficiente para permitir que la solución hiperpolarizada del agente de T_1 alto para alcanzar una potenciación de contraste eficaz para el diagnóstico en la muestra a la que después se administra en cualquier forma. En general, es deseable alcanzar un nivel de polarización que sea al menos un factor de 2 o más por encima del campo en el que se realiza la RM, preferentemente un factor de 10 o más, particularmente preferentemente de 100 o más y especialmente preferentemente de 1.000 o más, por ejemplo 50.000.

En el procedimiento de acuerdo con la invención, como se define con la reivindicación 1, el agente de contraste OMRI y el agente de T_1 alto están presentes como composición durante la polarización.

La polarización nuclear dinámica se puede conseguir mediante tres posibles mecanismos (1) el efecto Overhauser, (2) el efecto sólido y (3) el efecto de mezclado térmico (véase A. Abragam y M. Goldman, Nuclear Magnetism: order and disorder, Oxford University Press, 1982). El efecto Overhauser es un procedimiento dirigido por relajación que se produce cuando la interacción electrón-núcleo depende del tiempo (debido al movimiento térmico o a los efectos de relajación) en la escala de tiempo de la frecuencia Larmor de electrones inversos o más corto. La relajación cruzada nuclear de electrones tiene como resultado un intercambio de energía, dando la matriz lugar a una polarización nuclear potenciada. La potenciación global depende de la intensidad relativa de la interacción electrón-núcleo escalar y bipolar y la potencia de microondas. Para los sistemas estáticos son operativos tanto el mezclado térmico como el efecto sólido. En el efecto sólido, el sistema de espín de electrones se irradia a una frecuencia que corresponde a la suma o la diferencia de las frecuencias de Larmor electrónicas y nucleares. El depósito de Zeeman nuclear absorbe o emite la diferencia de energía y su temperatura de espín se modifica, lo que tiene como resultado una polarización nuclear potenciada. La eficiencia depende de las probabilidades de transición de las transiciones de otro modo prohibidas que se permiten por la mezcla de estados nucleares por términos no seculares de la interacción bipolar electrón-núcleo. La mezcla térmica se produce cuando el depósito bipolar electrón-electrón establece contacto térmico con el depósito nuclear de Zeeman. Esto tiene lugar cuando la anchura característica de la línea de resonancia electrónica es del orden de la frecuencia nuclear de Larmor. La relajación cruzada electrón-electrón entre espines con diferencia de energía igual a la energía nuclear de Zeeman es absorbida o emitida por el depósito bipolar electrónico, lo que cambia su temperatura de espín y se potencia la polarización nuclear. Para la mezcla térmica se pueden usar transiciones tanto prohibidas como permitidas.

Cuando el agente de polarización es un agente de contraste OMRI, el procedimiento se puede llevar a cabo de forma conveniente usando un primer imán para proporcionar el campo magnético polarizante y un segundo imán para proporcionar el campo magnético primario para la obtención de imágenes por RM. El mismo imán se puede usar para ambos fines. La Figura 1 de las figuras adjuntas es una representación esquemática de un aparato adecuado para llevar a cabo la primera realización de la invención. Un imán polarizante autónomo (1) opcionalmente con un filtro rodea un resonador EPR (2) que proporciona la polarización nuclear. Se proporciona un contenedor (3) que comprende una bomba para transportar la composición de contraste que se libera en un sujeto (4) por medio de una vía de liberación (5). El sujeto se introduce dentro de un escáner de RM convencional (6).

En el aparato anterior se puede usar un resonador dieléctrico en el procedimiento de polarización nuclear dinámica. En términos generales, la polarización nuclear dinámica requiere un volumen con un campo magnético de alta

frecuencia bastante fuerte y un campo eléctrico adjunto que se hace lo más pequeño posible. Se puede usar un resonador dieléctrico para proporcionar una disposición de campo preferida en la que las líneas del campo magnético tienen una forma de paja en un fajo de maíz con un campo eléctrico formando círculos como la cuerda que ata el fajo. Una disposición de campo de este tipo se puede formar mediante uno de varios anillos o tubos de un material con una constante dieléctrica alta y pocas pérdidas. El experto en la técnica apreciará que dicho tubo exhibirá diferentes modos resonantes electromagnéticos. Uno de los modos dominantes tiene la característica deseada del campo eléctrico circulante alrededor del eje del tubo dentro de la pared y es cero en el eje y en todas partes perpendiculares al mismo. Por otro lado, el campo magnético se concentra alrededor del eje del tubo y está principalmente dirigido a lo largo del mismo. La composición que se va a polarizar se coloca de forma conveniente dentro del resonador que está colocado dentro de una caja de metal con un aclaramiento habitualmente del orden del tamaño del resonador y se excita a las resonancias deseadas con un bucle de acoplamiento o similar. La caja de metal garantiza que la energía electromagnética no se pierde por radiación. La Figura 2 de las figuras adjuntas muestra un resonador dieléctrico (1) (con un eje de simetría rotacional (2)) con una caja de metal (3).

Una alternativa al resonador dieléctrico es una cavidad resonante de la cual los expertos en la técnica conocen. Una cavidad resonante simple y eficiente es una caja de metal, como una caja de metal cilíndrica. Un modo adecuado es uno conocido como TM_{1,1,0}, que produce un campo magnético perpendicular en el eje de la cavidad. Es posible excitar dos de estos modos en la misma cavidad a la misma frecuencia produciendo campos que son mutuamente perpendiculares. Disponiéndolos para que tengan una diferencia de fase de 90° se puede producir un campo rotatorio que sea especialmente eficiente para implementar la polarización dinámica con un mínimo de disipación en la muestra. Modos con distribuciones de campo similares para diferentes formas de cavidades, por ejemplo cavidades rectangulares, son familiares para los expertos en la técnica.

La composición también puede estar dispersa en una pluralidad de compartimentos durante la etapa de polarización nuclear dinámica. Por tanto, la composición podría dividirse normalmente en canales paralelos proporcionados, por ejemplo, mediante placas, discos o tubos de separación paralelos, habitualmente tubos de extremos abiertos. Las pérdidas eléctricas (corrientes de eddy) en la composición debidas al campo magnético se reducen dividiendo la composición en volúmenes más pequeños usando barreras de aislamiento eléctrico, situadas preferentemente perpendiculares al campo. Si la composición está en un vaso cilíndrico rodeado por un resonador dieléctrico como se ha descrito anteriormente en el presente documento, las barreras de aislamiento serían planos que pasan radialmente desde el eje del vaso a su pared. Una disposición más simple y más práctica es polarizar la composición en un contenedor que contiene una pluralidad de tubos de pared fina de un material de aislamiento, tal como cuarzo, vidrio o plástico. Esto tiene la ventaja de reducir las pérdidas eléctricas en la composición, que permite polarizar un mayor volumen de la composición para la misma potencia electromagnética aplicada. Las paredes, interna, externa o ambas, de los tubos pueden servir de forma similar como sustrato sobre el cual el agente de contraste OMRI está unido, de forma que la presión aplicada en un extremo del contenedor puede forzar el agente de contraste sustancialmente OMRI polarizado, el agente de T₁ alto fluido a salir del contenedor, por ejemplo con una vía de liberación que conduce al sujeto (paciente) que está siendo sometido a la exploración con RM.

Se prevé que, en el procedimiento de acuerdo con la invención, se puede usar cualquier agente de contraste OMRI conocido capaz de polarizar un agente de T₁ alto en una medida tal que se alcanza una potenciación de contraste eficaz para el diagnóstico en la muestra a la que se administra el agente de T₁ alto. Cuando el agente de contraste OMRI es un radical libre paramagnético, el radical se puede preparar de forma conveniente in situ desde un precursor radical estable mediante una etapa de generación de radicales física o química poco antes de la polarización o, como alternativa, mediante el uso de radiación ionizante. Esto es particularmente importante cuando el radical tiene una semivida corta. En estos casos, habitualmente el radical no será reutilizable y puede descartarse convenientemente una vez que se ha completado la etapa de separación del procedimiento de acuerdo con la invención.

En sólidos, se prefiere efectuar una polarización nuclear dinámica irradiando un espín de electrones a una temperatura baja y con un campo alto. Ejemplos específicos de polarización nuclear dinámica de agentes de T₁ alto sólidos son:

(1) lisosoma T4 marcado en Ala con 15N y glicina-13C en soluciones acuosas congeladas de glicerol/agua 60:40 con el radical libre 4-amino TEMPO como fuente de polarización de electrones (D.A. Hall, D. Maus, G. Gerfen and R.G. Griffin, Science, 1997), se obtuvieron potenciaciones de aproximadamente 50 y 100, respectivamente a 5T y 40K;

(2) Glicina marcada con carboxi-¹³C en solución acuosa congelada de glicerol/agua 60:40 con TEMPO como radical libre. Se obtuvo una potenciación de 185 a 5T y 14K (G.J. Gerfen, L.R. Becerra, D.A. Hall, R.G. Griffin, R.J. Temkin, D.J. Singel, J. Chem. Phys. 102(24), 9494-9497 (1995);

(3) Polarización dinámica de protones y deuterones en 1,2-etanodiol dopado con complejos de Cr a 2,5T. El grado de polarización obtenido es 80 % (W. De Boer and T.O Niinikoski, Nucl. Instrum. Meth. 114, 495 (1974).

Por supuesto, preferentemente, un agente de contraste OMRI escogido exhibirá una semivida prolongada (preferentemente de al menos una hora), tiempos de relajación largos (T_{1B} y T_{2B}), alta capacidad de relajación y un número pequeño de vías de transición a ESR. Por tanto, los radicales libres orgánicos paramagnéticos basados en oxígeno, basados en azufre o basados en carbono o las partículas magnéticas a las que se hace referencia en los

documentos WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711 o WO-A-96/39367 serían agentes de contraste OMRI adecuados.

No obstante, los agentes de contraste OMRI útiles en el presente procedimiento no se limitan a los radicales libres orgánicos paramagnéticos. Las partículas que exhiben las propiedades magnéticas de paramagnetismo, superparamagnetismo, ferromagnetismo o ferrimagnetismo también pueden ser agentes de contraste OMRI útiles, como lo pueden ser otras partículas que tienen electrones libres asociados. Las nanopartículas superparamagnéticas (p. ej., nanopartículas de óxido de hierro o de hierro) pueden ser particularmente útiles. Las partículas magnéticas tienen las ventajas sobre los radicales libres orgánicos de una estabilidad alta y un fuerte acoplamiento de espín electrónico/nuclear (es decir, relatividad alta) que conduce a mayores factores de potenciación de overhauser.

Para los fines de administración, el agente de T_1 alto deberá administrarse, preferentemente, en ausencia de todo, o de sustancialmente todo, el agente de contraste OMRI. Preferentemente se elimina al menos un 80 % del agente de contraste OMRI, particularmente preferentemente un 90 % o más, especialmente preferentemente un 95 % o más, más especialmente un 99 % o más. En general, es deseable eliminar tanto agente de contraste OMRI como sea posible antes de la administración para mejorar la tolerabilidad fisiológica y para incrementar el T_1 . Por tanto, agentes de contraste OMRI preferidos para usar en la primera realización del procedimiento de acuerdo con la invención son aquéllos que se pueden separar de forma rápida y conveniente del agente de imagen para RM de T_1 alto polarizado usando las técnicas conocidas que se tratan más adelante. No obstante, cuando el agente de contraste OMRI es no tóxico, se puede omitir la etapa de separación. Una composición sólida (p. ej., congelada) que comprende un agente de contraste OMRI y un agente de T_1 alto que se ha sometido a polarización se pueden disolver rápidamente en solución salina (p. ej., solución salina templada) y la mezcla inyectada poco después.

En la etapa de separación del procedimiento de la invención, es deseable eliminar sustancialmente todo el agente de contraste OMRI de la composición (o al menos para reducirlo a niveles fisiológicamente tolerables) lo más rápido posible. En la técnica se conocen muchas técnicas de extracción o separación física o química y se pueden usar para efectuar una separación rápida y eficiente del agente de contraste OMRI y del agente de T_1 alto. Claramente, las técnicas de separación más preferidas son aquéllas que se pueden efectuar con rapidez y, particularmente, aquéllas que permiten la separación en menos de un segundo. A este respecto, las partículas magnéticas (p. ej., partículas superparamagnéticas) se pueden usar de forma ventajosa como agente de contraste OMRI, así como será posible usar las propiedades magnéticas inherentes de las partículas para alcanzar una separación rápida mediante técnicas conocidas. De un modo similar, cuando el agente de contraste OMRI o la partícula se une a una esfera sólida, se puede separar de forma conveniente del líquido (es decir, si la esfera sólida es magnética mediante un campo magnético adecuadamente aplicado).

Para facilitar la separación del agente de contraste OMRI y el agente de T_1 alto, es particularmente preferido que la combinación de los dos sea un sistema heterogéneo, por ejemplo un líquido de dos fases, un sólido en suspensión líquida o un sustrato sólido de área de superficie relativamente alta dentro de un líquido, por ejemplo un sólido en forma de fibras o láminas de esfera dispuestas en un agente de T_1 alto en fase líquida. En todos los casos, la distancia de difusión entre el agente de T_1 alto y el agente de contraste OMRI debe ser lo bastante pequeño como para conseguir una potenciación overhauser eficaz. Ciertos agentes de contraste OMRI son de naturaleza inherente particulada, por ejemplo las partículas para magnéticas y los agentes superparamagnéticos a los que se ha hecho referencia anteriormente. Otros se pueden inmovilizar, absorber o acoplar en un sustrato o soporte sólido: (p. ej., un polímero orgánico o matriz inorgánica, tal como una zeolita o un material de silicio) por medios convencionales. Una unión covalente fuerte entre el agente de contraste OMRI y un sustrato o soporte sólido limitarán, en general, la eficacia del agente en la consecución del efecto overhauser deseado y, de este modo, se prefiere que la unión, si existe, entre el agente de contraste OMRI y el sustrato o soporte sólido es débil de modo que el agente de contraste OMRI todavía puede rotar libremente. El agente de contraste OMRI puede estar unido a un sustrato/soporte insoluble en agua antes de la polarización o el agente de contraste OMRI puede estar fijado/unido al sustrato/soporte tras la polarización. El agente de contraste OMRI puede separarse después del agente de T_1 alto, por ejemplo mediante filtración antes de la administración. El agente de contraste OMRI puede también estar unido a una macromolécula hidrosoluble y el agente de contraste OMRI-macromolécula puede separarse del agente de T_1 alto antes de la administración.

Cuando la combinación de un agente de contraste OMRI y el agente de T_1 alto es un sistema heterogéneo será posible usar las diferentes propiedades físicas de las fases para llevar a cabo la separación mediante técnicas convencionales. Por ejemplo, cuando una fase es acuosa y la otra no acuosa (sólida o líquida), puede ser posible simplemente decantar una fase de la otra. Como alternativa, cuando el agente de contraste OMRI es un sustrato sólido o un sólido (p. ej., una esfera) suspendido en un agente de T_1 alto líquido, el sólido se puede separar del líquido por medios convencionales, por ejemplo filtración, medios gravimétricos, cromatográficos o centrífugos. También se prevé que los agentes de contraste OMRI pueden comprender restos liofílicos y, de este modo, se separan del agente de T_1 alto mediante su paso o a través de un medio lipófilo fijado o el agente de contraste OMRI puede estar unido químicamente a una esfera sólida lipófila. De acuerdo con la invención, el agente de T_1 alto está en un estado sólido (p. ej., congelado) durante la polarización y en contacto estrecho con un agente de contraste OMRI. Tras la polarización se puede disolver en agua o solución salina caliente o fundirse y eliminarse o separarse del agente de contraste OMRI cuando este último puede ser tóxico y no se puede administrar.

Una técnica de separación hace uso de un polímero de intercambio de cationes y un agente de contraste OMRI catiónico, por ejemplo un radical de triarilmetilo portador de grupos carboxilato pendientes. Como alternativa, la acidificación de la solución a un pH de aproximadamente 4 puede hacer que el agente de contraste OMRI precipite. A continuación, la separación se puede llevar a cabo mediante, por ejemplo, filtración seguida de neutralización. Una técnica alternativa implica añadir iones, lo que produce precipitación de los agentes OMRI iónicos que, después, se pueden eliminar mediante filtración.

Ciertos agentes de contraste OMRI, tales como el radical triarilmetilo, pueden tener afinidad por proteínas. Por tanto, tras la polarización, una composición que contiene un agente de contraste OMRI con una afinidad proteica se puede pasar a través o sobre una proteína en una forma que exponga un área de superficie grande al agente, por ejemplo en forma particulada o unida a la superficie. De este modo, la unión del agente de contraste OMRI a la proteína permite su eliminación de la composición.

Como alternativa, cuando un agente de T_1 alto hidrófilo está en forma sólida (p. ej., congelada), se puede poner en contacto con un agente de contraste OMRI que se disuelve en un fluido orgánico con una temperatura de fusión superior a la del agente de T_1 alto. La mezcla se congela y se realiza la polarización. Tras la polarización, la mezcla se calienta y el agente de contraste OMRI sólido y su disolvente se elimina. El agente de T_1 alto permanecerá hiperpolarizado durante un tiempo significativo en estado congelado y se puede transportar a distancias largas antes de su disolución en agua o solución salina para inyectables.

En general, la hiperpolarización de los núcleos se puede efectuar mediante un gas hiperpolarizado o mediante el uso de un campo alto. Estos dos ejemplos se describen a continuación, aunque no representan realizaciones de la presente invención.

La hiperpolarización de los núcleos se puede efectuar mediante un gas hiperpolarizable. Este ejemplo comprende:

- (a) hiperpolarizar un gas hiperpolarizable antes, durante o después de introducir un agente de T_1 alto de modo que se produce polarización nuclear de dicho agente de T_1 alto;
- (b) disolver en un disolvente fisiológicamente tolerable dicho agente de T_1 alto.

Por gas hiperpolarizable se quiere decir un gas con un momento angular de espín distinto de cero capaz de sufrir una transición de electrones a un estado de electrón excitado y, después, de volver al estado fundamental. Dependiendo de la transición que se bombea ópticamente y de la felicidad de la luz se puede conseguir una hiperpolarización de espín positiva o negativa (hasta un 100 %). Ejemplos de gases adecuados para usar en la segunda realización del procedimiento de la invención incluyen los gases nobles He (p. ej., He o ^4He) y Xe (p. ej., ^{129}Xe), preferentemente He, particularmente preferentemente ^3He . También se pueden usar vapores de metales alcalinos, por ejemplo vapores de Na, K, Rb, Cs. También se pueden usar mezclas de los gases o el gas hiperpolarizable se puede usar en forma líquida o sólida. El término gas hiperpolarizable también cubre cualquier gas con espín nuclear distinto de cero que se puede polarizar mediante bombeo óptico y es, preferentemente, ^{129}Xe o ^3He .

Se apreciará que el gas hiperpolarizado puede transferir polarización al sistema de espín nuclear de un agente de T_1 alto directa o indirectamente. Cuando el agente de T_1 alto se va a polarizar indirectamente mediante vapor de agua, puede ser ventajosamente hidrosoluble.

Para los fines de polarización de acuerdo con la segunda realización de la invención, el agente de T_1 alto puede estar, en general, en forma gaseosa, líquida o sólida.

Cuando el agente de T_1 alto se polariza durante su estado gaseoso, es conveniente (para los fines de separación del gas hiperpolarizado y de administración) poder convertirlo rápidamente en un líquido o sólido. Esto tiene el beneficio añadido de incrementar significativamente el T_1 . Por tanto, la eliminación de la presión y temperatura elevadas impuestas sobre la mezcla de gas conducirá a un enfriamiento rápido y a la condensación. Aunque es posible más enfriamiento mediante, por ejemplo, el contacto del agente de T_1 alto polarizado con una superficie fría.

En una realización preferida, se pasa un fluido hiperpolarizado, por ejemplo ^{129}Xe , a una presión elevada y/o a una temperatura baja a través de una columna de agente de T_1 alto sólido enriquecido con ^{13}C y/o enriquecido con ^{19}F hasta casi conseguir la polarización en equilibrio del sólido. En general, se puede usar cualquiera de los agentes enriquecidos con ^{13}C mencionados anteriormente.

En otro ejemplo, un gas hiperpolarizado se congela/cristaliza sobre la superficie sólida/congelada de un agente de T_1 alto sólido que se ha preparado con un área de superficie tan grande como sea posible. La mezcla se puede transportar antes de añadir el medio caliente administrable (p. ej., solución salina) y alcanzar la temperatura fisiológica antes de la inyección.

El gas ^{129}Xe se puede producir en un estado de espín altamente polarizado en cantidades macroscópicas. Debido a la limitada solubilidad y a la naturaleza inerte del xenón, existe un interés en transferir la polarización a otros núcleos.

También se puede producir irradiando un agente polarizante, por ejemplo con una radiación de estimulación de la transición de resonancia de espín de electrones (p. ej., radiación por microondas). Esto puede proporcionar un procedimiento de investigación por resonancia magnética de una muestra, preferentemente un cuerpo animal humano o no humano, en el que dicho procedimiento comprende:

- 5 i) producir ^{129}Xe hiperpolarizado sólido irradiando un agente polarizante de modo que se produce una polarización nuclear dinámica.

En el procedimiento anterior, dicho agente polarizante es, preferentemente, una sustancia que contiene un electrón desapareado, por ejemplo nitróxido, tritilo, (Cr(V) o los agentes OMRI mencionados anteriormente.

10 Se ha generado considerable interés en la nueva técnica de obtención de imágenes pulmonares mediante RM usando gases hiperpolarizados tales como ^3He y ^{129}Xe como medio de contraste inhalado. No obstante, la producción de estos gases en su forma hiperpolarizada es laboriosa y requiere tiempo. En la actualidad, el ^3He , en el que está depositado el mayor interés hoy en día, se puede generar a una velocidad de unos pocos litros a la hora. No obstante, si la hiperpolarización se pudiera realizar en la fase sólida o líquida, serían posibles velocidades de producción mucho más altas. Usando solo "la fuerza bruta", es Dessié a temperaturas a milikelvin y $>10\text{T}$, los campos serían un procedimiento extremadamente costoso, sin embargo, "la fuerza bruta doble", es decir irradiación de Xe congelado en presencia de un radical libre (ion metálico, radical tritilo, nitróxido etc.) a una temperatura comparativamente moderada (unos pocos K) sería un procedimiento más práctico. El radical se añadiría en forma pura o unido a una matriz. Una vez realizada la irradiación, el calentamiento de la muestra liberaría el gas hiperpolarizado y se podrían condensar e irradiar un nuevo lote de Xe. Dado que la hiperpolarización en este caso se lleva a cabo en Xe sólido, las posibilidades de producir grandes cantidades de gas serían considerables.

15 El principal mecanismo de relajación para el ^{129}Xe sólido es el intercambio de espín con la relajación rápida de ^{131}Xe , el componente principal en el xenón natural. La proporción magnetogirica de ^{129}Xe y ^{131}Xe difiere por un factor de cuatro. Normalmente, las anchuras de la línea de las resonancias de los sólidos son del orden de unos pocos kHz, Cuando la diferencia en la frecuencia de Larmor es del mismo orden que la anchura de la línea, la polarización de los núcleos se equilibrarán rápidamente. Suponiendo que los autores tienen una muestra fría (más fría que el punto de congelación del xenón, aproximadamente 150 K, dependiendo de la presión), finalmente dividida (tamaño de grano de algunos micrómetros) de una sustancia marcada con ^{13}C con un T_1 largo en el sólido y permite que el xenón hiperpolarizado forme escarcha sobre el polvo. Si esta operación se realiza en un campo magnético de la intensidad adecuada, el ^{129}Xe y el ^{13}C se solaparán y el vuelco del espín de Xe-C será eficiente, equilibrando la polarización entre xenón y carbono. Después, el xenón se puede retirar mediante bombeo y el proceso se puede repetir hasta alcanzar un nivel de polarización adecuado. La intensidad de campo adecuada depende de las formas exactas de la línea, pero suponiendo anchuras de la línea del orden de 5-10 kHz, que es bastante normal para los sólidos, el campo óptimo es de aproximadamente 10 mT, normalmente el campo fuera de un RMN-imán o un pequeño imán de juguete. La base de esto es que la frecuencia del centro de la línea depende del campo, mientras que la anchura de la línea es esencialmente independiente del campo.

20 La Figura 3 muestra el comportamiento de dicho sistema a varias intensidades de campo. Un factor importante a tener en cuenta es que todos los núcleos en la muestra se deben tener en cuenta. Este procedimiento funcionará para transferir de ^{129}Xe a ^{13}C y posiblemente a ^{27}Si , pero no se espera que funcione con ^{16}N que tiene una frecuencia de resonancia que está más cercana a ^{131}Xe que a ^{129}Xe . Habrá interferencia desde los núcleos cuadrupolares como ^{23}Na , ^{79}Br , ^{81}Br , ^{127}I y una serie de metales de transición, teniendo todos frecuencias de resonancia similares a las del carbono.

25 Con el fin de generar un gas hiperpolarizado, el gas se somete primero a una descarga u otros medios de excitación (p. ej., una radiofrecuencia adecuada) que crea un estado de espín de electrones no aireado metaestable y, después, se bombea ópticamente (p. ej., con láser) a una frecuencia adecuada para crear hiperpolarización de electrones. Los diversos procedimientos para alcanzar esto son bien conocidos para los expertos en la técnica o se describen en, entre otros, el documento US-A-5545396.

30 Los gases hiperpolarizables preferidos son aquéllos que se pueden separar de forma conveniente y rápida del agente de T_1 alto polarizado. Los gases nobles son particularmente útiles dados sus puntos de ebullición muy bajos y su naturaleza de inertes. Preferentemente, el gas elegido exhibirá una semivida de hiperpolarizabilidad larga (preferentemente al menos miles, particularmente al menos cuatromiles y especialmente preferentemente ochomiles o más).

Un gas hiperpolarizado puede, si se desea, almacenarse durante periodos extendidos de tiempo en un estado hiperpolarizado. Esto se consigue manteniendo el gas a temperaturas muy bajas, preferentemente en estado congelado.

35 Para facilitar la separación del gas hiperpolarizable y el agente de T_1 alto, la combinación de los dos puede ser, de forma ventajosa, un sistema heterogéneo, por ejemplo el agente de T_1 alto es un sólido a temperaturas ambientales. En todos los casos, la distancia de difusión entre el agente de T_1 alto y gas, fluido o sólido debe ser lo bastante pequeño como para conseguir una polarización eficaz.

En la etapa de separación, es deseable eliminar sustancialmente todo el gas hiperpolarizable de la composición (o al menos para reducirlo a niveles fisiológicamente tolerables) lo más rápido posible. Si se desea, el gas se puede volver a usar, lo que puede ser una consideración importante dado los gastos de los gases nobles. Se pueden usar muchas técnicas de extracción o separación física o química conocidas en la materia para efectuar una separación rápida y eficiente del agente de contraste OMRI y del agente de T₁ alto. Claramente, las técnicas de separación más preferidas son aquéllas que se pueden efectuar con rapidez y, particularmente, aquéllas que permiten la separación en una fracción del tiempo de relajación T₁ del agente de T₁ corto.

En un ejemplo adicional, la hiperpolarización de los núcleos de imágenes de RM se efectúa mediante el uso de un campo alto, como se describe en los documentos US-A-5479925 (GEC) y US-A-5617859 (GEC). El documento US-A-5479925 divulga un procedimiento para generar angiogramas de RM en los que, *ex vivo*, un agente de contraste se pasa a través de un imán polarizante pequeño de campo alto, con el fin de generar una magnetización longitudinal alta en el agente antes de su administración al sujeto. No obstante, no se menciona ni sugiere el uso de agentes de T₁ alto para alcanzar un mejor efecto.

En términos generales, la polarización de un núcleo de imagen de RM se puede conseguir mediante equilibrio termodinámico a temperaturas bajas y en un campo magnético alto. Cuando el medio de contraste que se va a administrar es un material sólido (p. ej., cristalino), se puede introducir en un campo magnético a una temperatura muy baja. En estas condiciones, T₁ es muy largo (normalmente muchas horas o meses) y, en consecuencia, requiere un tiempo inaceptablemente largo para que el medio alcance un equilibrio termodinámico. Por tanto, si el medio de contraste sufre movimientos pequeños en el campo de gradiente mediante, por ejemplo, exposición a un gradiente de campo magnético y ultrasonidos o mediante movimiento relativo dentro del campo de gradiente, T₁ disminuirá. Cuando se consigue el equilibrio termodinámico, todos los núcleos en el medio de contraste estarán altamente polarizados con respecto a la temperatura ambiente y a los campos magnéticos normales usados en la RM. Este procedimiento tiene la ventaja de permitir retirar el medio de contraste del imán y transportarlo en una forma "lista para usar" al lugar al que se va a usar. Preferentemente, pero no esencialmente, el transporte puede tener lugar a una temperatura relativamente baja (p. ej., a una temperatura del nitrógeno líquido). El T₁ del medio de contraste sólido de T₁ alto será lo bastante largo para permitir el transporte a temperatura ambiente antes de usar.

Uno de los principales obstáculos en el uso de la denominada polarización de "intensidad bruta" como procedimiento para hiperpolarizar muestras son los valores de T₁ largos a temperaturas bajas y campos altos, normalmente varias semanas a temperaturas por debajo de 1 K. No obstante, se ha descubierto que es posible usar la dependencia de campo no lineal de T₁ para acortar el tiempo necesario para la relajación mediante un incremento gradual del campo magnético externo.

Como se ha indicado anteriormente, es de gran interés obtener agentes de contraste inyectables hiperpolarizados. En teoría, el modo más sencillo de obtener un material altamente polarizado de espín es enfriarlo hasta una temperatura muy baja en un campo magnético fuerte y dejar que la muestra alcance el equilibrio térmico. El principal problema práctico en el uso de esta técnica es el tiempo requerido para que se produzca el equilibrio térmico. A temperaturas por debajo de 1K, la constante de tiempo para el procedimiento, T₁ podría ser del orden de semanas.

La constante de tiempo de la relajación longitudinal nuclear, T₁, muestra una dependencia cuadrática de la intensidad de campo en materiales sólidos:

$$T_1 = T_{1,0} + cB^2$$

Cuando T_{1,0} es la constante de tiempo para la relajación en ningún campo magnético externo, c es una constante y B es el campo magnético externo.

La tasa de magnetización de la muestra, dM/dt, a una intensidad de campo dada se proporcionará mediante:

$$dM/dt = (M_{max} - M) / T_1$$

Donde M_{máx} es la magnetización de la muestra tras una relajación completa en el campo final. Dado que la dependencia de campo de la constante de tiempo es no lineal, será posible obtener una magnetización más grande a un tiempo dado mediante ajuste constante del campo magnético externo de modo que la tasa de magnetización todo el tiempo es lo más grande posible. El ejemplo mostrado en las figuras 4 y 5 adjuntas se escogió para simular el comportamiento del carbono del carbonilo en acetato sódico sólido. El T₁ a 7T es 1.700 segundos y el T_{1,0} es de aproximadamente 5 segundos. El tiempo hasta alcanzar el mismo grado de magnetización después de 1.700 segundos en un campo constante de 7T se reduce a 1.390 segundos, una reducción de caso el 20 %, que podría reducir fácilmente el tiempo de equilibrado en una semana a temperaturas de milikelvin. La rampa de campo optimizada se muestra en la Figura 4, mientras que en la Figura 5 se muestran los valores previstos de una integración numérica de la ecuación para dM/dt dada anteriormente. Este procedimiento será aplicable para todos los núcleos con espín, pero será más interesante con compuestos con valores de T₁ largos.

Como se ha indicado anteriormente, uno de los principales obstáculos en el uso de la denominada polarización de "intensidad bruta" como procedimiento para hiperpolarizar muestras son los valores de T_1 largos encontrados a temperaturas bajas y campos altos, normalmente varias semanas a temperaturas por debajo de 1 K. Es posible usar la técnica del apareamiento de campo bajo para aumentar la tasa de relajación el grado de polarización de los espines nucleares en sólidos a una temperatura baja. Esto tiene la ventaja adicional de que un polarizador de intensidad bruta no tiene que poseer ninguna electrónica de radiofrecuencia.

Se conoce bien que diferentes núcleos en la misma molécula relajarán con diferentes constantes de tiempo. Un modo de acelerar la polarización del núcleo de ^{13}C interesante y obtener al mismo tiempo una polarización mejor es usar la polarización cruzada del protón de relajación rápida al carbono de relajación lenta, un procedimiento de uso rutinario en la espectroscopia de RMN en estado sólido. Debido a la gran diferencia en la proporción magnetogirica entre el protón y ^{13}C , la diferencia de energía es grande y, por tanto, la transferencia de polarización lenta. La proporción magnetogirica del protón es aproximadamente un factor de cuatro más grande que la del carbono. La situación puede mejorar usando el procedimiento de cierre de espín en condiciones de Hartman-Hahn. El cierre de espín (pulso_y de 90_x de longitud) en ambos núcleos con la amplitud (B_1) del pulso largo que satisface la condición de Hartman-Hahn.

$$\gamma_H B_{1H} = \gamma_C B_{1C}$$

en la que γ_H es la proporción magnetogirica de hidrógeno, γ_C es la proporción magnetogirica de carbono, B_{1H} es el campo de excitación de los protones y B_{1C} es el campo de excitación del carbono.

Esto permite los vuelcos mutuamente apareados de los espines. Dado que esto es un proceso de espín-espín, normalmente se produce a escalas de tiempo de aproximadamente 100 μs a unos pocos ms.

Un problema con esto es que se requiere electrónica de radiofrecuencia y, además, la homogeneidad del campo magnético debe ser lo bastante alta como para permitir ángulos de pulso precisos. Un modo de sortear este problema es el siguiente.

Un modo bruto de plantear la condición de Hartman-Hahn es decir que la difusión del espín es eficiente cuando las líneas de resonancia de los dos núcleos se solapan. Se asume que el sustrato es un material sólido con una anchura de la línea a media altura de 5 kHz. Esta anchura de línea se debe al acoplamiento bipolar y es independiente del campo externo. La condición de Hartman-Hahn se vuelve a indicar a hora del siguiente modo. La difusión de espín eficiente tiene lugar cuando los máximos de las dos resonancias están separados por menos que la suma de sus anchuras de línea a media altura. El campo en el que esta condición se cumple deriva del siguiente modo.

La frecuencia de resonancia, ν , viene dada por:

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi \quad (1)$$

en la que γ es la proporción magnetogirica y B_0 es el campo magnético externo. La separación requerida, ν , era de 5 kHz:

$$\nu = \nu_H - \nu_C = 5000 \text{ s}^{-1} \quad (2)$$

La combinación de las ecuaciones (1) y (2) da:

$$\nu = B_0 (\gamma_H - \gamma_C) / 2\pi$$

que se puede reescribir como:

$$B_0 = \nu 2\pi / (\gamma_H - \gamma_C) = 156 \mu\text{T}$$

Este campo están dentro de un factor 2 del campo magnético de la tierra, lo que significa que si la muestra se retira del imán polarizante durante unos pocos segundos, la polarización se equilibrará entre carbono e hidrógeno en una escala de tiempo similar a T_2 , de modo que habrá mucho tiempo para volver a colocar la muestra en el imán de nuevo antes de que la relajación T_1 pase a ser significativa, incluso si tiene que tenerse en cuenta que el T_1 se acorta espectacularmente para sólidos en campos bajos. No obstante, nunca será tan corto como el T_2 .

Este procedimiento se puede repetir después de haber repolarizado los protones de nuevo, generando sucesivamente la polarización del carbono hasta que la temperatura de espín de los dos núcleos se convierta en la

misma. Los protones en acetato sódico sólido tienen, a temperatura ambiente, un T_1 de 31 s, mientras que el T_1 del carbono del carbonilo en la misma muestra es de 1.700 s. Si esta diferencia se pudiera usar completamente, habría un acortamiento del tiempo de polarización por un factor de 55. En general, el flúor se relaja incluso más rápido que los protones y sería posible incluir un átomo de flúor en la molécula del agente de contraste como un agente de relajación interna.

También es posible usar núcleos cuadrupolares para este proceso. Los iones de sodio en acetato sódico sólido tienen un T_1 de 1,7 s a temperatura ambiente. El sodio tiene una proporción magnetogirica sólo ligeramente superior que el carbono, lo que significa que el equilibrio se produce en un campo mucho más alto, en este caso a 8,9 mT, un campo encontrado aproximadamente 15 cm encima del Dewar de un imán de RMN 7T. Esto es de gran ayuda para la rápida polarización de las muestras a temperatura baja, pero también es un problema en el almacenamiento de muestras polarizadas. El campo de almacenamiento magnético debe ser lo bastante grande como para evitar el solapamiento de las resonancias del núcleo deseado y cualquier núcleo cuadrupolar de relajación rápida. Se sabe que este fenómeno causa la relajación rápida del ^{129}Xe congelado en un campo bajo, cuando la difusión de espín al ^{131}Xe cuadrupolar se hace eficiente.

También existe la posibilidad de transferir la polarización de los electrones no apareados al carbono. Debido a la gran diferencia en las proporciones magnetogiricas, esto requiere un campo mucho menor que el campo magnético de la tierra para ser eficiente. Dicho campo bajo requiere que la muestra se mueva a un área cubierta magnéticamente. Un modo de conseguir esto es tener un imán pequeño con una polaridad opuesta alguna distancia a lo largo del eje de la polaridad de la bobina principal. Con un cuidadoso diseño se puede hacer que los campos cancelen en el centro del imán pequeño.

La intensidad del campo magnético deberá ser lo más alto posible, preferentemente $> 1\text{T}$, más preferentemente 5T o más, especialmente preferentemente 15T o más. La temperatura deberá ser muy baja, por ejemplo 100K o menor, preferentemente $4,2\text{K}$ o menor, más preferentemente 1K o menor, incluso más preferentemente $0,1\text{K}$ o menor, especialmente preferentemente 1mK o menor.

Por tanto, un procedimiento para preparar agentes de T_1 alto puede comprender:

- (i) someter un agente de T_1 alto a un campo magnético alto (p. ej., 1T o más) a temperatura baja (p. ej., 100K o menor);
- (ii) exponer el agente a un efecto de acortamiento de T_1 con el fin de alcanzar el equilibrio termodinámico a dicha temperatura baja.

El efecto de acortamiento de T_1 se puede proporcionar mediante exposición a un gradiente de campo magnético variable, pero también se puede conseguir añadiendo material magnético (p. ej., materiales paramagnéticos, superparamagnéticos o ferromagnéticos) al agente durante el periodo en el que el agente está expuesto a una temperatura baja, ciclando el campo hasta un campo que permita la polarización cruzada, incrementando gradualmente el campo magnético a una velocidad tal que el incremento de la polarización del agente de T_1 alto se maximiza, disminuyendo gradualmente la temperatura a una velocidad tal que el incremento de la polarización del agente de T_1 alto se maximiza o añadiendo un material con electrones desapareados durante el periodo en el que el agente de T_1 alto está expuesto a dicha temperatura baja. Posibles agentes de acortamiento de T_1 incluyen Gd y NO^* , pero agentes de acortamiento de T_1 preferidos son O_2 y NO , que pueden separarse de forma conveniente del agente de T_1 alto antes del transporte y el posterior uso.

Tanto el agente de T_1 alto como el disolvente acuoso (p. ej., agua) en el que se disuelve pueden estar polarizados. Esto puede llevarse a cabo a una temperatura baja convenientemente en el mismo campo magnético y, tras mezcla la composición administrable, deberá calentarse muy rápidamente antes de la administración.

Los agentes de T_1 alto usados en el procedimiento de acuerdo con la invención se pueden formular convenientemente con vehículos o excipientes farmacéuticos o veterinarios convencionales. Las formulaciones fabricadas o usadas de acuerdo con la presente invención pueden contener, además del agente de T_1 alto, adyuvantes de la formulación como estas son convencionales para composiciones terapéuticas y diagnósticas en medicina humana o veterinaria. Por tanto, la formulación puede incluir, por ejemplo, estabilizantes, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmolalidad, agentes solubilizantes, emulsionantes, potenciadores de la viscosidad, tampones etc. La formulación puede estar en formas adecuadas para aplicación parenteral (p. ej., intravenosa o intraarterial) o enteral (p. ej., oral o rectal), por ejemplo para aplicación directamente en las cavidades corporales que tienen conductos de salida al exterior (tales como los pulmones, el tracto gastrointestinal, la vejiga urinaria y el útero) o para inyección o infusión en el sistema cardiovascular. No obstante, generalmente se preferirán soluciones, suspensiones y dispersiones en vehículos fisiológicos tolerables.

Para usar en pruebas de imagen in vivo, la formulación, que preferentemente será sustancialmente isotónica, puede administrarse de forma conveniente a una concentración suficiente para dar una concentración de 1micromolar a 10M del agente de T_1 alto en la zona de imagen; no obstante, la concentración y dosificación precisas dependerán, por supuesto, de una serie de factores tales como la toxicidad, la capacidad para dirigirse al órgano del agente de T_1 alto y la vía de administración. La concentración óptima para el agente de obtención de imagen de RM representa un

equilibrio entre varios factores. En general, en la mayoría de los casos, las concentraciones óptimas estarían en el intervalo de 0,1 mM a 10 M, preferentemente más de 10 mM, especialmente más de 100 mM. La solución isotónica puede ser especialmente preferida. En ciertas circunstancias se prefieren concentraciones superiores a 1M. Las formulaciones para administración intravenosa o intraarterial contendrían, preferentemente, el agente de T₁ alto en concentraciones de 10 mM a 10 M, especialmente más de 50 mM. Para la inyección en bolo, la concentración puede ser, convenientemente, de 0,1 mM a 56 M, preferentemente más de 200 mM, más preferentemente más de 500 mM. En ciertas circunstancias, la concentración preferida es superior a 1 M, incluso más preferentemente superior a 5M.

Las formas administrables por vía parenteral deberán ser, por supuesto, estériles y estar libres de agentes fisiológicamente inaceptables, y deberán tener una osmolalidad baja para minimizar la irritación u otros efectos adversos tras la administración y, por tanto, la formulación deberá ser, preferentemente, isotónica o ligeramente hipertónica. Vehículos adecuados incluyen vehículos acuosos usados habitualmente para administrar soluciones parenterales tales como solución de cloruro sódico, solución de Ringer, solución de dextrosa, solución de dextrosa y cloruro sódico, solución de Ringer lactato y otras soluciones como las descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pág. 1405-1412 and 1461-1487 (1975) y el The National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975). Las composiciones pueden contener conservantes, agentes antimicrobianos, tampones y antioxidantes usados convencionalmente para soluciones parenterales, excipientes y otros aditivos que son compatibles con los agentes de T₁ alto y que no interferirán con la fabricación, almacenamiento o uso de los productos.

Cuando el agente de T₁ alto se va a inyectar, puede ser conveniente inyectar de forma simultánea en una serie de sitios de administración, de forma que se puede visualizar una mayor proporción del árbol vascular antes de perder la polarización a través de la relajación.

Las dosis del agente de T₁ alto usadas de acuerdo con el procedimiento de la presente invención variarán de acuerdo con la naturaleza precisa de los agentes de T₁ alto usados, del tejido u órgano de interés y del aparato de medición. Preferentemente, la dosis se mantendrá lo más baja posible al tiempo que se alcanza un efecto de contraste detectable. En general, la dosis máxima dependerá de las restricciones por toxicidad.

La Figura 1 es una representación esquemática de un aparato adecuado para llevar a cabo la invención;

La Figura 2 muestra un resonador dieléctrico (1) (con un eje de simetría rotacional (2)) con una caja de metal (3).

La Figura 3 muestra el comportamiento de un sistema a varias intensidades de campo;

La Figura 4 muestra una acumulación de magnetización frente al tiempo; y

La Figura 5 muestra el campo magnético frente al tiempo.

Ejemplo 1

Un agente de T₁ alto se coloca en una cámara a una temperatura muy baja (aproximadamente 4K). Se añade O₂ fluyente y se cristaliza sobre la superficie del agente de T₁ alto. En una cámara aparte, el H₂O congelada se somete al mismo tratamiento que el agente de T₁ alto. Ambas cámaras se colocan en un campo magnético fuerte (de aproximadamente 15T) y la temperatura se mantiene baja.

Cuando se alcanza el equilibrio termodinámico, la temperatura aumenta hasta aproximadamente 200 K. El oxígeno desaparece como un gas. El agente de T₂ alto y el H₂O congelada se mezclan y almacenan hasta que se necesitan. La temperatura se aumenta y se inyecta la solución que comprende el agente de T₁ alto polarizado y agua hiperpolarizada.

Ejemplo 2

Dentro de una jeringuilla de inyección de plástico de 10 ml se introducen 300 mg de Na₂¹³CO₃ o NaH¹³CO₃ estéril. El gas en el interior de la jeringuilla está enriquecido con > 20 % de oxígeno. La jeringuilla se introduce en un imán (1-20T) a una temperatura de aproximadamente 4 ° (0,001-5K) hasta que se alcanza el equilibrio termodinámico.

Se saca la jeringuilla y se transporta al sujeto localizado en el imán para RM. Se aspira 10 ml de solución de Ringer estéril (a 37 °C, pH 7,4) y se inyecta a una velocidad de 10 ml/s inmediatamente después de disolver el agente de T₁ alto. La RMN de ¹³C se realiza usando una secuencia de pulsos rápida. El T₁ en de la sangre es de aproximadamente 20 s y la distribución del agente se sigue con el aparato de obtención de imágenes de RM.

Ejemplo 3

A una muestra de acetato sódico (1-¹³C) se añade el complejo α,γ-bisfenil-β-fenilalil benceno (5 % en peso/peso). Los compuestos se mezclan juntos para dar una mezcla íntima, que se transfiere a una ampolla de vidrio de borosilicato. Después, esto se saca y llena repetidamente con helio. La última vez se deja una presión de 200 mbares de helio en la ampolla, que después se sella con calor.

La muestra se polariza mediante microondas (70 GHz) durante al menos una hora en un campo de 2,5T a una temperatura de 4,2 K. El progreso del proceso de polarización es seguido *in situ* mediante RMN (paso adiabático

rápido). Cuando se ha alcanzado un nivel de polarización adecuado, la ampolla se retira rápidamente del polarizador y, cuando se trata en un campo magnético de no menos de 50 mT, se rompe y se abre y el contenido se sale rápidamente y disuelve en agua caliente (40 °C).

5 Experimento 1: Esta solución se transfiere rápidamente a un espectrómetro y se registra el espectro ^{13}C con intensidad potenciada.

Experimento 2: La solución de la muestra se inserta en una máquina para RM con capacidad de ^{13}C y se obtiene una imagen con intensidad potenciada y contraste mediante una técnica de único disparo.

Experimento 3: La solución se inyecta rápidamente en una rata y se obtiene una imagen de RM de ^{13}C con intensidad potenciada y contraste, también en este caso usando una técnica de único disparo.

10 Ejemplo 4

A una muestra de bicarbonato sódico- ^{13}C se añade MnCl_2 (5 % en peso/peso). Los compuestos se mezclan juntos para dar una mezcla íntima, que se transfiere a una ampolla de vidrio de borosilicato. Después, esto se saca y llena repetidamente con helio. La última vez se deja una presión de 200 mbares de helio en la ampolla, que después se sella con calor.

15 La muestra se polariza mediante microondas (70 GHz) durante al menos una hora en un campo de 2,5T a una temperatura de 4,2 K. El progreso del proceso de polarización es seguido *in situ* mediante RMN (paso adiabático rápido). Cuando se ha alcanzado un nivel de polarización adecuado, la ampolla se retira rápidamente del polarizador y, cuando se trata en un campo magnético de no menos de 50 mT, se rompe y se abre y el contenido se sale rápidamente y disuelve en agua caliente (40 °C).

20 Experimento 1: Esta solución se transfiere rápidamente a un espectrómetro y se registra el espectro ^{13}C con intensidad potenciada.

Experimento 2: La solución de la muestra se inserta en una máquina para RM con capacidad de ^{13}C y se obtiene una imagen con intensidad potenciada y contraste mediante una técnica de único disparo.

25 Experimento 3: La solución se inyecta rápidamente en una rata y se obtiene una imagen de RM de ^{13}C con intensidad potenciada y contraste, también en este caso usando una técnica de único disparo.

Ejemplos 5-7

Bombeo de campo bajo de ^{23}C

Ejemplo 5

30 Una muestra de 1- ^{13}C -2,2',2',2",2"-hexadeuterotris(hidroximetil)nitrometano sólido se sometió a un campo magnético de 6,56T a una temperatura de 2,5K durante 10 minutos. La muestra se retiró del centro del imán y se pasó al campo (7mT) durante 1 s y, después, se devolvió al imán. Tras otros 10 minutos se repitió el proceso una vez más. Se registró un espectro de RMN de ^{13}C y se encontró que la señal se adecuaba al equilibrio térmico a 6,56 T y 2,5K.

Los valores de T_1 para el átomo ^{13}C de 1- ^{13}C -2,2,2',2',2",2"-hexadeuterotris(hidroximetil)nitrometano

35	H_2O , aire saturado, 37°C, 7 T	95 s
	H_2O , desgasificada, 37°C, 7 T	102 s
	Plasma sanguíneo humano, 37°C, 7 T	60 s
	Sólido, 20 °C, 7T	22 min
	Sólido, -30 °C, 7T	47 min
	Sólido, 2,5 K, 7T	55 horas

40 Ejemplo 6

Una muestra de 1- ^{13}C -1/1-bis(hidroxidideuterometil)-2,2,3,3-tetradeterociclopropano sólido se sometió a un campo magnético de 6,56T a una temperatura de 2,5K durante 10 minutos. La muestra se retiró después del centro del imán y se pasó a la bandeja del campo (7mT) durante 1 s y, después, se devolvió al imán. Tras otros 10 minutos se repitió el proceso una vez más. Se registró un espectro de RMN de ^{13}C de la muestra sólida y se encontró que la

45 señal se adecuaba al equilibrio térmico a 6,56 T y 2,5K.

Ejemplo 7

Una muestra de 2- ^{13}C -2,2-bis(trideuterometil)-1,1,3,3-tetradeteropropano-1,1,3-diol sólido se sometió a un campo magnético de 6,56T a una temperatura de 2,5K durante 10 minutos. La muestra se retiró del centro del imán y se pasó al campo (7mT) durante 1 s y, después, se devolvió al imán. Tras otros 10 minutos se repitió el proceso una

50 vez más. Se registró un espectro de RMN de ^{13}C y se encontró que la señal se adecuaba al equilibrio térmico a 6,56

T y 2,5K.

Valores de T_1 para el átomo ^{13}C de 2- ^{13}C -2,2-bis(trideuterometil)-1,1,3,3-tetradeuteropropano-1,3-diol

5	H ₂ O, aire saturado, 37°C, 7 T	133 s
	H ₂ O, desgasificada, 37°C, 7 T	157 s
	Plasma sanguíneo humano, 37°C, 7 T	96 s
	Sólido, 20 °C, 7T	237 s
	Sólido, 2,5 K, 7T	45 horas

Ejemplos 8-9

Experimentos en solución

10 Ejemplo 8

Una muestra de 1- ^{13}C -2,2,2',2',2'',2'''-hexadeuterotris(hidroximetil)nitrometano sólido (20 mg) se sometió al procedimiento de bombeo mencionado anteriormente (véanse los Ejemplos 5-7) y, después, en menos de un segundo se pasa a un campo de retención de 0,4T, en el que también se tiene una muestra de óxido de deuterio (3 ml) a una temperatura de 40 °C agitada con burbujas de nitrógeno. El sólido se añadió al líquido y se obtuvo una solución transparente en menos de 1 s. Esta solución se pipeteó e introdujo en un tubo para muestras para RMN estándar de 5 mm y se llevó a un espectrómetro de RMN cercano, manteniendo en un campo de retención de 10 mT. La muestra se insertó en el espectrómetro y se registró un espectro de ^{13}C . La totalidad del proceso de sacar la muestra del criomán, disolución, preparación de la muestra, transporte y espectroscopia duró 35 s. La intensidad de la señal ^{13}C se comparó con la intensidad una vez que la muestra hubo alcanzado el equilibrio térmico a 40 °C y 7T. Se encontró un factor de potenciación de 12.

Ejemplo 9

Una muestra de 2- ^{13}C -2,2-bis(trideuterometil)-1,1,3,3-tetradeuteropropano-1,3-diol sólido (20 mg) se sometió al procedimiento de bombeo mencionado anteriormente (véanse los Ejemplos 5-7) y, después, en menos de un segundo se pasó a un campo de retención de 0,4T, en el que también se tiene una muestra de óxido de deuterio (3 ml) a una temperatura de 40 °C agitada con burbujas de nitrógeno. El sólido se añadió al líquido y se obtuvo una solución transparente en menos de 1 s. Esta solución se pipeteó e introdujo en un tubo para muestras para RMN estándar de 5 mm y se llevó a un espectrómetro de RMN cercano, manteniendo en un campo de retención de 10 mT. La muestra se insertó en el espectrómetro y se registró un espectro de ^{13}C . La totalidad del proceso de sacar la muestra del criomán, disolución, preparación de la muestra, transporte y espectroscopia duró 35 s. La intensidad de la señal ^{13}C se comparó con la intensidad una vez que la muestra hubo alcanzado el equilibrio térmico a 40 °C y 7T. Se encontró un factor de potenciación de 21.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir una solución hiperpolarizada de un agente de T_1 alto para investigación por resonancia magnética de un cuerpo animal humano o no humano, en el que dicho procedimiento comprende:
- 5 - hiperpolarizar una muestra sólida de un agente de T_1 alto mediante polarización nuclear dinámica efectuada por un agente de contraste OMRI; en el que dicho agente de T_1 alto está en estado sólido durante la polarización y en contacto estrecho con dicho agente de contraste OMRI que también está en estado sólido; estando dicho agente de contraste OMRI y dicho agente de T_1 alto presentes como una composición durante la polarización; y efectuándose dicha polarización nuclear dinámica mediante irradiación de espines de electrones en dicho agente de contraste OMR a una temperatura baja y en un campo magnético alto;
- 10 - separar opcionalmente la totalidad o una porción de dicho agente de contraste OMRI de dicho agente de T_1 alto; y
- disolver la muestra sólida hiperpolarizada de dicho agente de T_1 alto en un disolvente fisiológicamente tolerable para la administración a dicho cuerpo animal humano o no humano;
- 15 - en el que dicho agente de T_1 alto contiene núcleos adecuados para obtención de imágenes por resonancia magnética, con un valor de T_1 en dicha solución a una intensidad de campo en el intervalo de 0,01- 5 T y a una temperatura en el intervalo de 20 – 40 °C de al menos 5 segundos.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha temperatura es de 4,2 °K.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho agente de contraste OMRI es un radical libre paramagnético; un radical de triarilmetilo; partícula que exhibe las propiedades magnéticas de paramagnetismo, superparamagnetismo, ferromagnetismo o ferrimagnetismo; partículas que tienen electrones libres asociados; o nanopartículas superparamagnéticas.
- 20 4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha polarización nuclear dinámica se consigue mediante el efecto sólido.
5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una composición sólida que comprende dicho agente de contraste OMRI y dicho agente de T_1 alto, que se ha sometido a polarización, se disuelve rápidamente en solución salina y la mezcla se inyecta poco después.
- 25 6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el agente de T_1 alto está enriquecido con núcleos de ^{13}C en una cantidad superior a la abundancia natural en una posición concreta o en más de una posición concreta.
- 30 7. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que un campo magnético está presente durante la etapa de disolución, siendo el campo magnético superior a 10 mT.
8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho agente de T_1 alto está enriquecido con ^{13}C en una o más posiciones del carbono del carbonilo o del carbono cuaternario.

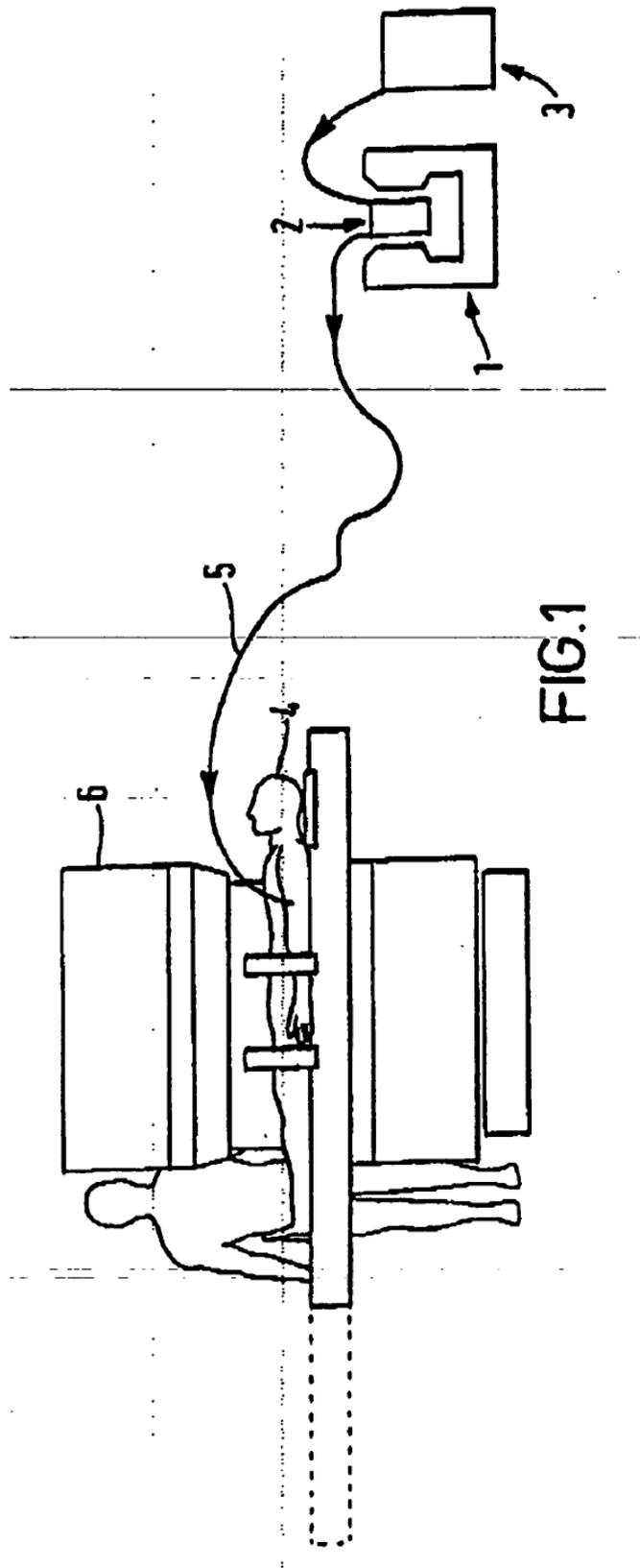


FIG.1

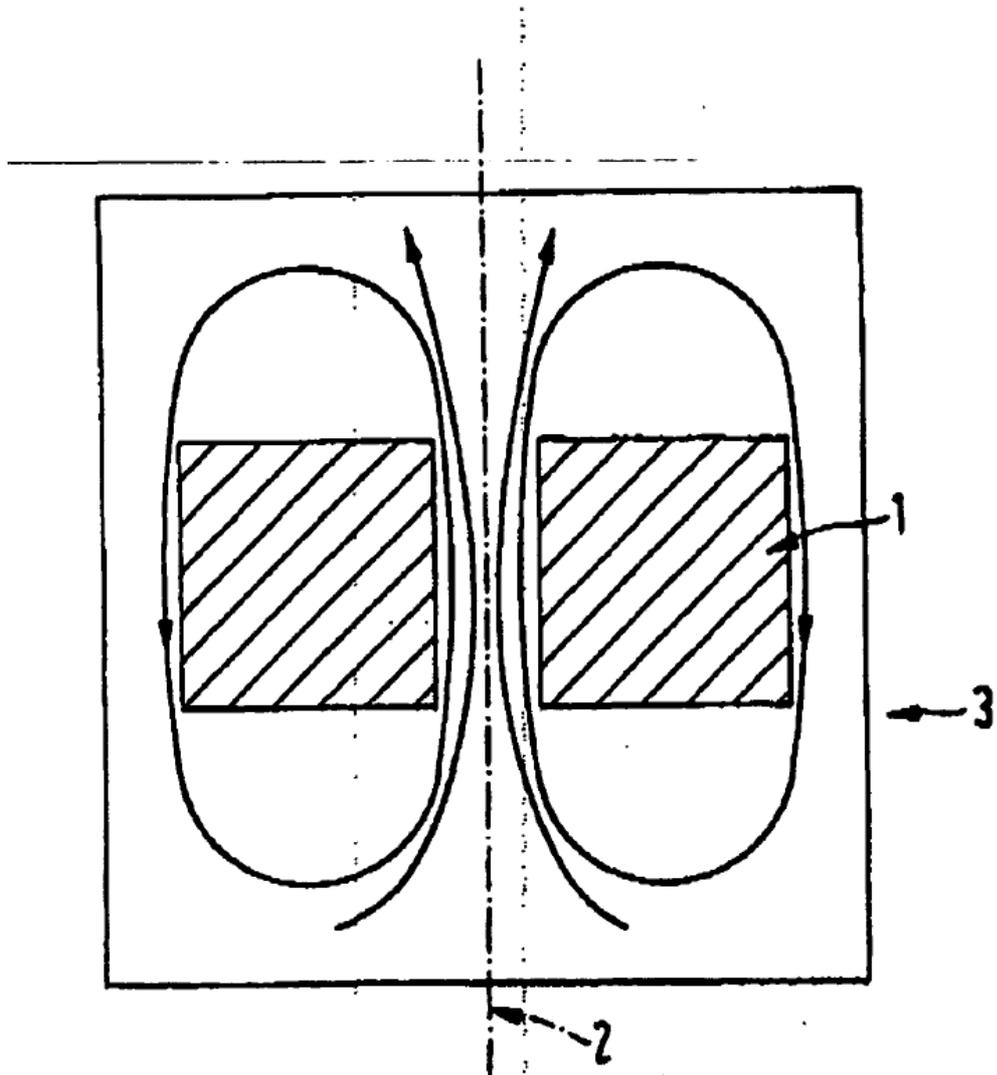


FIG.2

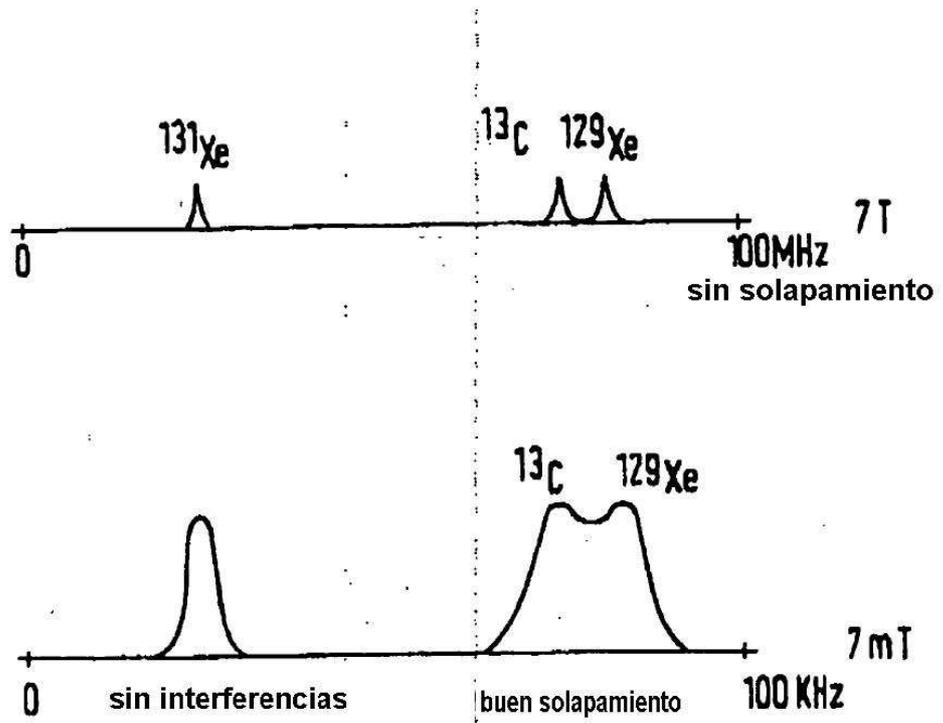


FIG.3

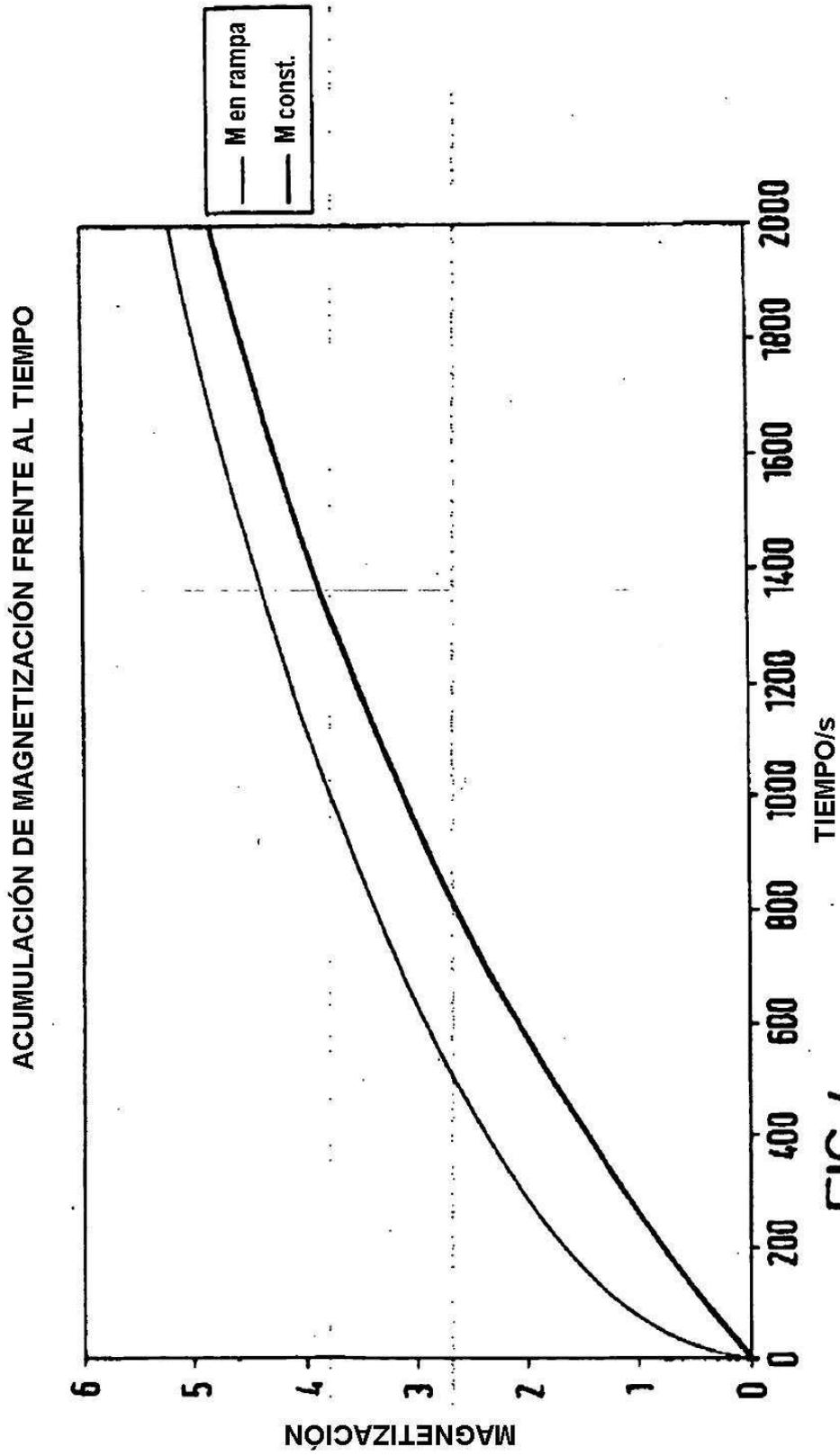


FIG.4

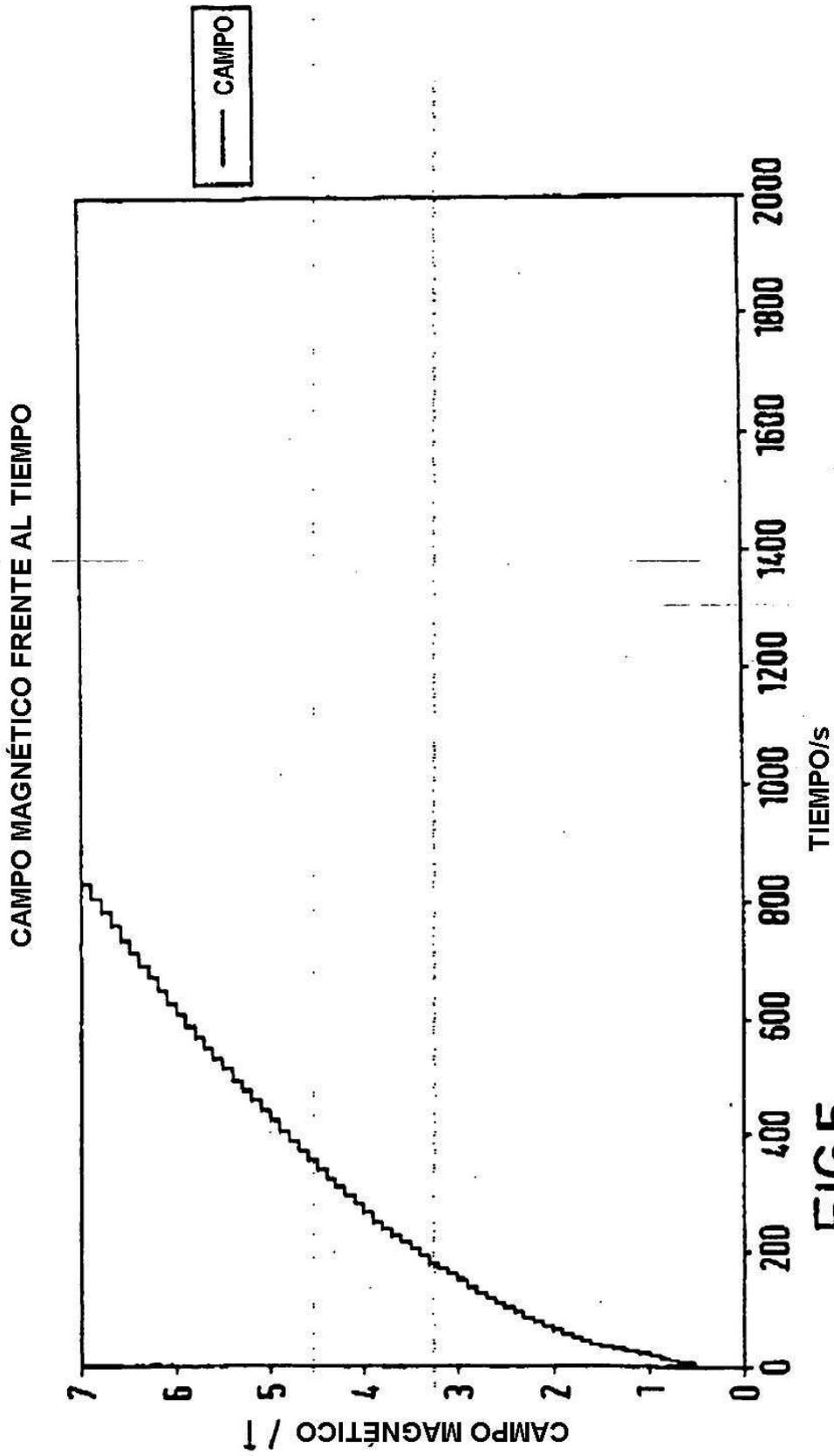


FIG.5