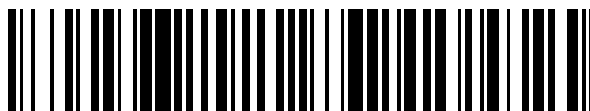


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 393**

51 Int. Cl.:

C07D 257/02 (2006.01)

A61K 31/555 (2006.01)

A61K 49/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2007** **E 07808621 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2013** **EP 2057131**

54 Título: **Procedimiento de polarización nuclear dinámica (PND), y compuestos y composiciones para su uso en el procedimiento**

30 Prioridad:

30.08.2006 NO 20063873

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.12.2013

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GLOEGAARD, CHRISTIAN;
SERVIN, ROLF y
THANING, MIKKEL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 432 393 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 polarización nuclear dinámica (PND), y compuestos y composiciones para su uso en el procedimiento

5 La invención se refiere a un procedimiento mejorado de polarización nuclear dinámica (PND) de ácidos carboxílicos, y a compuestos y composiciones para su uso en el procedimiento.

10 La formación de imágenes mediante resonancia magnética (RM) (IRM) es una técnica de formación de imágenes que se ha convertido en particularmente atractiva para los médicos, pues permite obtener imágenes del cuerpo de un paciente, o sus partes, de una manera no invasiva y sin exponer al paciente ni al personal médico a una radiación potencialmente dañina, tal como rayos X. Debido a sus imágenes de alta calidad, la IRM es una técnica favorable de formación de imágenes de tejidos blandos y órganos, y permite la diferenciación entre el tejido normal y el tejido enfermo, por ejemplo, tumores y lesiones.

15 La IRM se puede llevar a cabo con o sin agentes de contraste para RM. Sin embargo, la IRM mejorada con contraste normalmente permite la detección de cambios mucho más pequeños en los tejidos, convirtiéndola en una potente herramienta para la detección de los cambios producidos en los tejidos en las etapas iniciales como, por ejemplo, pequeños tumores o metástasis.

20 En la IRM se han usado varios tipos de agentes de contraste. Los quelatos metálicos paramagnéticos hidrosolubles, por ejemplo, quelatos de gadolinio tales como OmniscanTM (GE Healthcare) son agentes de contraste de RM ampliamente usados. Debido a su bajo peso molecular, se distribuyen rápidamente en el espacio extracelular (es decir, la sangre y el intersticio) si se administran en el sistema vascular. También se eliminan del cuerpo de manera relativamente rápida.

25 Por otra parte, los agentes de contraste de RM en la acumulación local de sangre, por ejemplo, las partículas de óxido de hierro súper-paramagnético, son retenidos dentro del sistema vascular durante un tiempo prolongado. Han demostrado ser sumamente útiles para mejorar el contraste en el hígado, y también para detectar anomalías en la permeabilidad capilar, por ejemplo, paredes capilares con "fugas" en tumores, por ejemplo, como resultado de una angiogénesis.

A pesar de las propiedades indiscutibles y excelentes de los agentes de contraste anteriormente mencionados, su uso no está exento de riesgos. Aunque los complejos de quelato metálico paramagnético normalmente tienen constantes de estabilidad elevadas, es posible que se liberen iones de metales tóxicos en el cuerpo tras su administración. Además, este tipo de agentes de contraste muestran una baja especificidad.

30 Otra clase de agentes de formación de imágenes mediante RM son los agentes de formación de imágenes mediante RM hiperpolarizados. El documento WO-A-99/35508 divulga un procedimiento de examen de un paciente mediante RM, usando una solución de un agente de T₁ alto hiperpolarizado como agente de formación de imágenes de IRM. El término "hiperpolarización" significa mejorar la polarización nuclear de los núcleos RMN activos presentes en el agente de T₁ alto, es decir, núcleos con espín nuclear distinto de cero, preferentemente núcleos ¹³C o ¹⁵N. Tras mejorar la polarización nuclear de los núcleos RMN activos, la diferencia de población entre los estados excitado y base del espín nuclear de estos núcleos aumenta considerablemente y, por ello, la intensidad de la señal de RM se amplifica en un factor de cien o superior. Cuando se usa un agente de T₁ alto hiperpolarizado, enriquecido en ¹³C y/o ¹⁵N, prácticamente no habrá interferencias de las señales de fondo, ya que la abundancia natural de ¹³C y/o ¹⁵N es insignificante y, por tanto, el contraste de la imagen también será ventajosamente elevado. La principal diferencia entre los agentes de contraste de IRM convencionales y estos agentes de T₁ alto hiperpolarizados es que, en el primero, los cambios de contraste están causados por la modificación de los tiempos de relajación de los protones del agua en el cuerpo, mientras que la segunda clase de agentes se puede considerar como trazadores no radiactivos, ya que la señal obtenida procede únicamente del agente.

45 En el documento WO-A-99/35508 se divulga una variedad de posibles agentes de T₁ alto para su uso como agentes de formación de imágenes mediante RM, incluyendo, pero sin limitación, compuestos no endógenos y endógenos tales como acetato, piruvato, oxalato o gluconato, azúcares tales como glucosa o fructosa, urea, amidas, aminoácidos tales como glutamato, glicina, cisteína o aspartato, nucleótidos, vitaminas tales como ácido ascórbico, derivados de penicilina y sulfonamidas. Además, se afirma que los productos intermedios de ciclos metabólicos tales como el ciclo del ácido cítrico, tal como ácido fumárico y ácido pirúvico, son agentes preferidos de formación de imágenes mediante RM de la actividad metabólica.

50 Los agentes de formación de imágenes de RM hiperpolarizados que participan en los procesos metabólicos del cuerpo humano o no humano son de gran interés, ya que estos agentes de formación de imágenes hiperpolarizados se pueden usar para obtener información sobre el estado metabólico de un tejido en un examen mediante RM *in vivo*, es decir, son útiles para la formación de imágenes *in vivo* de la actividad metabólica. La información del estado metabólico de un tejido se podría usar, por ejemplo, para diferenciar entre tejido sano y el tejido enfermo.

El piruvato es un compuesto que participa en el ciclo del ácido cítrico, y la conversión del piruvato enriquecido con ¹³C (¹³C-piruvato) hiperpolarizado en metabolitos hiperpolarizados se puede usar para los estudio de RM *in vivo* de

los procesos metabólicos del cuerpo humano. El ^{13}C -piruvato hiperpolarizado se puede usar, por ejemplo, como un agente de formación de imágenes mediante RM para la formación de imágenes de tumores *in vivo* como se describe detalladamente en los documentos WO-A-2006/011810 y WO-A-2006/011809, y para evaluar la viabilidad del tejido miocárdico mediante la formación de imágenes mediante RM como se describe en detalle en el documento WO-A-2006/054903.

El piruvato es un compuesto endógeno muy bien tolerado por el cuerpo humano, incluso a altas concentraciones. Como precursor del ciclo del ácido cítrico, el piruvato desempeña un papel metabólico importante en el cuerpo humano. El piruvato se convierte en diferentes compuestos: su transaminación produce alanina, a través de la descarboxilación oxidativa, el piruvato se convierte en acetil-CoA y dióxido de carbono (que luego se convierte en bicarbonato), la reducción del piruvato produce lactato y su carboxilación produce oxaloacetato.

Además, la conversión metabólica del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en sus metabolitos ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado (en el caso de $^{13}\text{C}_1$ -piruvato, $^{13}\text{C}_{1,2}$ -piruvato o $^{13}\text{C}_{1,2,3}$ -piruvato solamente) y ^{13}C -alanina hiperpolarizada se puede usar para el estudio de RM *in vivo* de los procesos metabólicos en el cuerpo humano. El $^{13}\text{C}_1$ -piruvato tiene una relajación T_1 en sangre completa humana a 37°C de aproximadamente 42 s, sin embargo, se ha descubierto que la conversión del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada es lo suficientemente rápida para permitir la detección de la señal procedente del compuesto precursor de ^{13}C -piruvato y sus metabolitos. La cantidad de alanina, bicarbonato y lactato depende del estado metabólico del tejido objeto de examen. La intensidad de la señal de RM del ^{13}C -lactato hiperpolarizado, el ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y la ^{13}C -alanina hiperpolarizada se relaciona con la cantidad de estos compuestos y el grado de polarización dejado en el momento de la detección, por lo tanto, mediante el control de la conversión del ^{13}C -piruvato hiperpolarizado en ^{13}C -lactato hiperpolarizado, ^{13}C -bicarbonato hiperpolarizado y ^{13}C -alanina hiperpolarizada es posible estudiar los procesos metabólicos *in vivo* en el cuerpo humano o no humano mediante el uso de formación de imágenes por RM no invasiva imágenes o espectroscopia por RM.

Las amplitudes de la señal de RM que surgen de los diferentes metabolitos de piruvato varían dependiendo del tipo de tejido. El patrón de picos metabólicos único formado por la alanina, el lactato, el bicarbonato y el piruvato se puede usar como identificador genético para el estado metabólico del tejido objeto de estudio.

Se debe destacar que la señal de un agente para formación de imágenes hiperpolarizado decae debido a la relajación y, tras la administración al cuerpo de un paciente, a la dilución. Por lo tanto, el valor T_1 de los agentes de formación de imágenes en los fluidos biológicos (por ejemplo, la sangre) debe ser suficientemente largo (alto) para permitir que el agente se distribuya en el sitio diana del cuerpo del paciente, en un estado muy hiperpolarizado. Además del agente de obtención de imágenes que tiene un valor T_1 alto, es sumamente favorable conseguir un alto nivel de polarización. Si un agente de formación de imágenes hiperpolarizado tiene un alto nivel de polarización, decae debido a la relajación y se produce la dilución a la misma velocidad, sin embargo, al tener un "nivel de partida" más alto, la polarización retenida en el agente formación de imágenes hiperpolarizado después de un período de tiempo dado es superior. Cuanto mayor es el nivel de polarización en el agente de formación de imágenes, las señales de RM que se podrán detectar procedentes del agente de formación de imágenes serán más potentes.

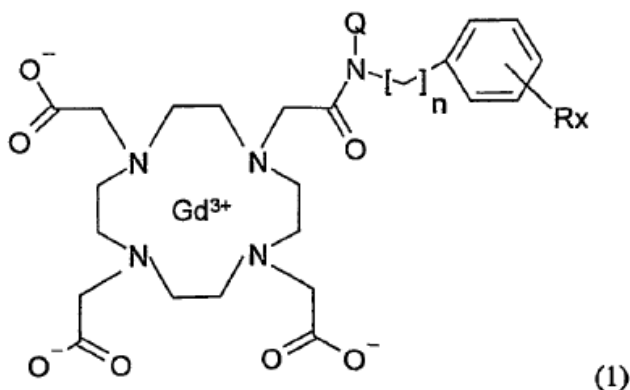
En el documento WO-A-99/35508, se divulgan varios procedimientos para la obtención de agentes de T_1 alto, hiperpolarizados, siendo uno de ellos la técnica de polarización nuclear dinámica (PND), mediante la cual se realiza la polarización de una muestra mediante un agente de polarización o un agente denominado agente de PND, un compuesto que comprende electrones no apareados. Durante el procedimiento de PND, normalmente, la energía se proporciona en forma de radiación de microondas, que excitará inicialmente el agente de PND. Tras el decaimiento al estado base, se produce una transferencia de polarización desde los electrones no apareados del agente de PND a los núcleos RMN activos de la muestra. Generalmente, se usan un campo magnético moderado o alto y una temperatura muy baja en el procedimiento de PND, por ejemplo, llevando a cabo el procedimiento de PND en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. Como alternativa, se pueden emplear un campo magnético moderado y cualquier temperatura a la que se consiga una mejora suficiente de la polarización. La técnica de PND se describe, por ejemplo, en los documentos WO-A-98/58272 y WO-A-01/96895, ambos de los cuales se incluyen por referencia en la presente memoria.

El agente de PND desempeña un papel decisivo en el procedimiento de PND, ya que su elección tiene un gran impacto sobre el nivel de polarización que se puede alcanzar en la muestra por polarizar. Se conoce una variedad de agentes de PND, indicados en el documento WO-A-99/35508 como "agentes de contraste OMRI". El uso de radicales tritilo estables basados en oxígeno, basados en azufre o basados en carbono, como se describe en los documentos WO-A-99/35508, WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711 o WO-A-96/39367 ha producido altos niveles de polarización en una variedad de muestras diferentes.

Los inventores han descubierto ahora, sorprendentemente, que la adición de ciertos quelatos de Gd a una composición que comprende un radical tritilo como agente de PND y ácido pirúvico que se va a polarizar mediante el procedimiento de PND produce un notable aumento del nivel de polarización en el ácido pirúvico. Esto es especialmente favorable en una situación clínica donde el piruvato hiperpolarizado obtenido de la disolución de ácido pirúvico hiperpolarizado sólido obtenido mediante PND en un medio de disolución acuoso que contiene bases se usa como agente de formación de imágenes por RM en un procedimiento de examen mediante RMN de un paciente. Si

el nivel de polarización del ácido pirúvico se pudiera mejorar, por ejemplo, multiplicándolo por x, teóricamente solo sería necesario 1 elevado a x de la concentración de piruvato en el procedimiento de examen por RMN. Por supuesto, esto es ventajoso no solo desde el punto de vista económico, sino también desde el punto de vista de la seguridad, pues se pueden evitar los posibles efectos secundarios no deseados debidos a altas concentraciones y dosis de agente de formación de imágenes de RM.

Así pues, vista desde un primer aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento de producción de un ácido carboxílico hiperpolarizado sólido, procedimiento que comprende preparar una composición que comprende el ácido carboxílico, un radical tritilo y un quelato de Gd de fórmula (1):



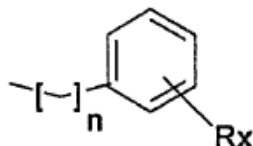
en la que

n es 1 a 10;

x es 0 a 3;

R es idéntico o diferente y representa fluoro, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; y

Q es H, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; o



en la que n, x y R son como se han definido anteriormente;

y llevar a cabo una polarización nuclear dinámica en la composición.

Los términos "hiperpolarizado" y "polarizado" se usan indistintamente de aquí en adelante e indican un nivel de polarización nuclear en un exceso del 0,1 %, más preferentemente, en un exceso del 1 % y lo más preferentemente en un exceso del 10 %.

El nivel de polarización se puede determinar, por ejemplo, mediante mediciones de RMN en estado sólido de los núcleos RMN activos en el ácido carboxílico hiperpolarizado congelado. Por ejemplo, si el núcleo RMN activo del ácido carboxílico hiperpolarizado es ¹³C, se adquiere una RMN de ¹³C en estado sólido de dicho ácido carboxílico hiperpolarizado. La medición de RMN de ¹³C en estado sólido consiste preferentemente en una simple secuencia de RMN de pulso-adquisición, usando un ángulo de inclinación bajo. La intensidad de la señal del ácido carboxílico hiperpolarizado en el espectro de RMN se compara con la intensidad de la señal del ácido carboxílico en el espectro de RMN adquirido antes del procedimiento de polarización nuclear dinámica. A continuación, se calcula el nivel de polarización a partir de la relación entre las intensidades de la señal antes y después de la PND.

De una manera similar, se puede determinar el nivel de polarización para el ácido carboxílico hiperpolarizado disuelto mediante mediciones de RMN en estado líquido del núcleo RMN activo en el ácido carboxílico hiperpolarizado líquido. Una vez más, se compara la intensidad de la señal del ácido carboxílico hiperpolarizado disuelto con la intensidad de la señal del ácido carboxílico disuelto antes del procedimiento de polarización nuclear dinámica. A continuación, se calcula el nivel de polarización a partir de la relación entre las intensidades de las señales antes y después de la PND.

El término "ácido carboxílico" indica una entidad química que comprende al menos un grupo carboxilo, es decir, un grupo COOH-.

Aunque se escribe en forma singular, el término "ácido carboxílico" indica una entidad o entidades químicas, es decir, un cierto ácido carboxílico o varios ácidos carboxílicos diferentes, por ejemplo, mezclas de varios ácidos carboxílicos diferentes. Como ejemplo, el ácido pirúvico es un cierto ácido carboxílico, y el procedimiento de acuerdo con la invención se puede usar para producir ácido pirúvico hiperpolarizado. Además, como ejemplo, el ácido pirúvico y el ácido láctico son varios ácidos carboxílicos diferentes, y el procedimiento de la invención se puede usar para producir una mezcla de ácido pirúvico hiperpolarizado y ácido láctico hiperpolarizado.

El procedimiento de acuerdo con la invención conduce a altos niveles de polarización en el ácido carboxílico por polarizar.

El ácido carboxílico en el contexto de la presente invención puede ser un ácido monocarboxílico como, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido nicotínico o ácidos grasos como el ácido palmítico o ácido oleico. En otra realización, el ácido carboxílico puede ser un ácido di- o policarboxílico como, por ejemplo, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido metilensuccínico, ácido malónico o ácido cítrico o ácido oxálico. Aparte de comprender al menos un grupo carboxilo, el ácido carboxílico puede contener otros grupos funcionales y/o heteroátomos. Los grupos funcionales preferidos son grupos amino, y los ejemplos de ácidos carboxílicos que contienen grupos amino son aminoácidos como los aminoácidos convencionales, preferentemente, glicina, alanina, cisteína, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamato, triptófano y serina, pero también aminoácidos no convencionales, preferentemente, GABA (ácido gamma-aminobutírico), homocisteína, sarcosina o similares. Otros grupos funcionales preferidos que pueden estar presentes en la molécula de ácido carboxílico son grupos ceto, siendo los ejemplos preferidos de dichos compuestos el ácido pirúvico, ácido oxalacético o ácido α -cetoglutarico, o grupos hidroxilo, siendo los ejemplos preferidos de dichos compuestos el ácido láctico y ácido salicílico. En otra realización preferida, el ácido carboxílico contiene uno o más heteroátomos como, por ejemplo, un átomo de nitrógeno como en el ácido nicotínico.

Los ácidos carboxílicos preferidos usados en el procedimiento de la invención son fármacos candidatos, más preferentemente moléculas pequeñas, por ejemplo, de menos de 2.000 Da, o una mezcla de varios fármacos candidatos y el/los fármaco/s candidato/s hiperpolarizado/s obtenido/s mediante el procedimiento de la invención se pueden usar en bioensayos de RMN para determinar, por ejemplo, la afinidad de unión a un cierto receptor o en ensayos enzimáticos. Dichos ensayos se describen en los documentos WO-A-2003/089656 o WO-A 2004/051300, y están basados, preferentemente, en el uso de la espectroscopia de RMN en estado líquido, lo que significa que la composición que contiene el/los fármaco/s candidato/s hiperpolarizado/s sólido/s tiene que ser licuada después de la polarización, preferentemente mediante disolución o fusión. El ácido carboxílico puede estar enriquecido o no isotópicamente.

En otra realización preferida, los ácidos carboxílicos usados en el procedimiento de la invención son para su uso como agentes de formación de imágenes de RM. La expresión "agente de formación de RM" indica un compuesto que se puede usar como un agente de formación de imágenes de RM en la formación de imágenes mediante RM o como un agente de espectroscopia de RM en la espectroscopia por RM. En otra realización preferida, los ácidos carboxílicos usados en el procedimiento de la invención son precursores de un agente de formación de imágenes de RM. Para ambas realizaciones, los ácidos carboxílicos preferidos son compuestos endógenos o precursores de compuestos endógenos. Un ejemplo de esos últimos sería un ácido carboxílico como el ácido pirúvico (un precursor) que se convierte en el compuesto de piruvato endógeno (un derivado, es decir, una sal de un ácido carboxílico), por ejemplo, disolviendo el ácido pirúvico hiperpolarizado sólido tras el procedimiento de PND en un medio de disolución acuosa que contiene bases y el uso del piruvato hiperpolarizado disuelto así obtenido como agente de formación de imágenes de RM. Se prefieren los ácidos carboxílicos endógenos o ácidos carboxílicos que son precursores de compuestos endógenos, es decir, derivados endógenos de ácidos carboxílicos que participan en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano. Cuando se usan dichos ácidos carboxílicos endógenos hiperpolarizados o derivados endógenos de ácidos carboxílicos como agentes de formación de imágenes de RM, se puede obtener información sobre el estado metabólico de un tejido en un examen de RM *in vivo*, es decir, estos agentes son útiles para la formación de imágenes por RM *in vivo* y/o la espectroscopia por RM de una actividad metabólica. La información del estado metabólico de un tejido se podría usar, por ejemplo, para diferenciar entre el tejido sano (normal) y el tejido enfermo.

Por lo tanto, los ácidos carboxílicos preferidos para su uso en el procedimiento de la invención son el ácido maleico, ácido acético, ácido fumárico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido succínico, ácido oxalacético, ácido láctico y ácido α -cetoglutarico que son precursores para de los compuestos endógenos malato, acetato, fumarato, piruvato, malonato, succinato, oxaloacetato, lactato y α -cetoglutarato, participando todos ellos en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano. Otro ácido carboxílico endógeno preferido que participa en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano es el ácido nicotínico. Otros ácidos carboxílicos endógenos preferidos que participan en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano son aminoácidos como la alanina, glicina, cisteína, prolina, tirosina, sarcosina, GABA u homocisteína. Los ácidos carboxílicos más preferidos son el ácido pirúvico, ácido oxalacético, ácido α -cetoglutarico, alanina y glicina.

Si en el procedimiento de la invención, se usan ácidos carboxílicos endógenos que participan en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano o los ácidos carboxílicos que son precursores de derivados endógenos de ácidos carboxílicos que participan en un proceso metabólico en el cuerpo humano o no humano,

estos ácidos carboxílicos endógenos hiperpolarizados o derivados endógenos hiperpolarizados de los ácidos carboxílicos se usan preferentemente como agentes de formación de imágenes por RM para la formación de imágenes por RM molecular *in vivo* y/o la formación de imágenes por desplazamiento químico y/o espectroscopia de RM de la actividad metabólica en el cuerpo humano o no humano. De estos ácidos carboxílicos endógenos hiperpolarizados o derivados endógenos hiperpolarizados de ácidos carboxílicos, se prefieren los que contienen núcleos polarizados que presentan relajación longitudinal lenta, de manera que se mantiene un nivel bastante alto de polarización durante un período de tiempo suficiente para transferirlos a un cuerpo humano o no humano y la posterior formación de imágenes. Los ácidos carboxílicos endógenos o derivados endógenos de ácidos carboxílicos preferidos contienen núcleos con constantes de tiempo de relajación longitudinal (T_1) que son superiores a 10 segundos, preferentemente superiores a 30 segundos e incluso más preferentemente superiores a 60 segundos a una intensidad de campo magnético de 0,01 a 5 T y una temperatura en el intervalo de 20 a 40 °C. Los denominados "agentes de alto T_1 " se describen, por ejemplo, en el documento WO-A-99/35508. Como alternativa, los valores de T_1 de posibles ácidos carboxílicos endógenos o derivados endógenos de ácidos carboxílicos se pueden encontrar en la bibliografía o se pueden determinar mediante la adquisición de un espectro de RMN del posible compuesto, por ejemplo, un espectro de RMN de ^{13}C para determinar el T_1 de posibles ácidos carboxílicos endógenos o derivados endógenos de ácidos carboxílicos marcados con ^{13}C .

En general, el ácido carboxílico destinado a su uso como un agente de formación de imágenes de RM para la formación de imágenes por RM *in vivo* y/o la formación de imágenes por desplazamiento químico y/o la espectroscopia de RM o que es un precursor para dicho agente es preferentemente un compuesto isotópicamente enriquecido, siendo el enriquecimiento isotópico más preferentemente un enriquecimiento isotópico de núcleos de espín distintos de cero (núcleos activos de RM), siendo adecuado ^{15}N - si está presente en el compuesto - y/o ^{13}C , más preferentemente ^{13}C . El enriquecimiento isotópico puede incluir cualquier enriquecimiento selectivo de uno o más sitios dentro del compuesto o el enriquecimiento uniforme de todos los sitios con un enriquecimiento de un sitio, preferentemente en un núcleo con un alto valor de T_1 . El enriquecimiento se puede lograr, por ejemplo, mediante síntesis química o marcaje biológico, siendo ambos procedimientos conocidos en la técnica y pudiéndose elegir los procedimientos adecuados en función del compuesto específico que se vaya a enriquecer isotópicamente.

Una realización preferida de un ácido carboxílico destinado a su uso como agente de formación de imágenes de RM *in vivo* o que es un precursor de dicho agente es un compuesto que está enriquecido isotópicamente en una sola posición de la molécula, preferentemente con un enriquecimiento del al menos 10 %, de manera más adecuada, del al menos 25 %, más preferentemente, del al menos 75 % y, lo más preferentemente, del al menos 90 %. Lo ideal es que el enriquecimiento sea del 100 %.

La posición óptima para el enriquecimiento isotópico depende del tiempo de relajación de los núcleos RM activos. Preferentemente, los ácidos carboxílicos usados en el procedimiento de la invención están enriquecidos isotópicamente en posiciones con un tiempo de relajación T_1 largo (valores de T_1 altos). Los ácidos carboxílicos enriquecidos con ^{13}C usados en el procedimiento de la invención están enriquecidos preferentemente en un átomo de C de carboxilo, un átomo de C de carbonilo o un átomo de C cuaternario. Como es obvio, las dos últimas posiciones solo pueden estar enriquecidas si están presentes en el ácido carboxílico, es decir, si el ácido carboxílico contiene un grupo carbonilo (como, por ejemplo, ácido pirúvico o ácido α -cetoglutarico) o un átomo de C cuaternario, además del grupo carboxilo (como, por ejemplo, ácido cítrico y aminoácidos, aparte de la glicina). Los ácidos carboxílicos especialmente preferidos para su uso como precursores para los agentes de formación de imágenes de RM son ^{13}C -ácido pirúvico, ^{13}C -ácido acético, ^{13}C -ácido oxaloacético- y ácido ^{13}C - α -cetoglutarico. Estos compuestos son precursores del ^{13}C -piruvato, ^{13}C -acetato, ^{13}C -oxaloacetato y ^{13}C - α -cetoglutarato. Los ácidos carboxílicos especialmente preferidos para su uso como agentes de formación de imágenes son además ^{13}C -alanina y ^{13}C -glicina, más preferentemente, $^{13}\text{C}_1$ -alanina y $^{13}\text{C}_1$ -glicina. El ^{13}C -ácido pirúvico es el ácido carboxílico más preferido y puede estar enriquecido isotópicamente en la posición C1 ($^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico), en la posición C2 ($^{13}\text{C}_2$ -ácido pirúvico), en la posición C3 ($^{13}\text{C}_3$ -ácido pirúvico), en la posición C1- y en la posición C2 ($^{13}\text{C}_{1,2}$ -ácido pirúvico), en la posición C1- y en la posición C3 ($^{13}\text{C}_{1,3}$ -ácido pirúvico), en la posición C2 y en la posición C3 ($^{13}\text{C}_{2,3}$ -ácido pirúvico) o en la posición C1, C2 y C3 ($^{13}\text{C}_{1,2,3}$ -ácido pirúvico). La posición C1 es la posición preferida para el enriquecimiento isotópico en ^{13}C del ácido pirúvico.

En otra realización preferida, los ácidos carboxílicos hiperpolarizados obtenidos mediante el procedimiento de la invención se usan en la espectroscopia de RMN en estado sólido. En este caso, el ácido carboxílico sólido hiperpolarizado se puede analizar mediante cualquier espectroscopia de RMN en estado sólido giratorio en ángulo estático o mágico. En la presente realización, se pueden usar ácidos carboxílicos de cualquier tipo y tamaño de molécula en el procedimiento de la invención.

El radical tritilo usado en el procedimiento de la invención funciona como un agente de PND, que es esencial en el procedimiento de PND cuando la gran polarización de espín electrónico del agente de PND se convierte en polarización de espín nuclear de los núcleos del ácido carboxílico a través de la irradiación de microondas cerca de la frecuencia de Larmor del electrón. Las microondas estimulan la comunicación entre los sistemas de espín electrónico y nuclear mediante transiciones e-e y e-n. Para una PND eficaz, el agente de PND tiene que ser estable y ser soluble en el compuesto que se va a polarizar o en una solución del mismo, para conseguir el contacto íntimo entre dicho compuesto y el agente de PND. Dicho contacto íntimo es necesario para la comunicación, anteriormente mencionada, entre los sistemas de espín electrónico y nuclear. En este contexto, los radicales estables de tritilo

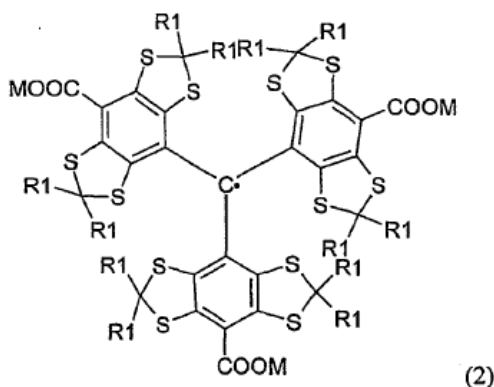
demonstraron ser agentes de PND de gran utilidad. Los radicales estables de tritilo basados en oxígeno, basados en azufre o basados en carbono se describen, por ejemplo, en los documentos WO-A-99/35508, WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711 o WO-A-96/39367.

La elección óptima del radical tritilo depende de varios aspectos. Como se ha mencionado anteriormente, el radical tritilo y el compuesto que se va a polarizar deben estar en contacto íntimo durante el procedimiento de PND para que se produzcan los niveles de polarización óptimos en el compuesto. De esta manera, en una realización preferida de la invención, el radical tritilo es soluble en el ácido carboxílico o en una solución del mismo. La primera es una opción adecuada si el ácido carboxílico que se va a polarizar es líquido a temperatura ambiente como, por ejemplo, el ácido pirúvico, o si el ácido carboxílico se transfiere al estado líquido, por ejemplo, mediante la fusión a temperaturas elevadas. Para preparar una solución de un ácido carboxílico, se pueden usar un disolvente o una mezcla de disolventes. Sin embargo, si el ácido carboxílico polarizado se usa para aplicaciones *in vivo*, tal como su uso como agente de formación de imágenes de RM para una formación de imágenes por RM *in vivo* o como precursor de dicho agente, es preferible mantener la cantidad de disolvente en un mínimo o, si es posible, evitar el uso de disolventes. Para su uso como un agente de formación de imágenes de RM *in vivo*, habitualmente, es necesario administrar un compuesto hiperpolarizado a una concentración relativamente alta, es decir, preferentemente, se usa una composición muy concentrada que comprende el ácido carboxílico, un radical tritilo, un quelato de Gd de fórmula (1) en el procedimiento de PND y, de esta manera, la cantidad de disolvente se mantiene, preferentemente, en un mínimo. En este contexto, también es importante mantener la masa de la composición preferentemente tan baja como sea posible. Una gran masa tendrá un impacto negativo en la eficacia del procedimiento de disolución si se usa una disolución para licuar la composición sólida que comprende el ácido carboxílico hiperpolarizado después del procedimiento de PND, por ejemplo, para su uso como un agente de formación de imágenes de RM o como un precursor, o que se convierte en un agente de formación de imágenes de RM en ese procedimiento de disolución. Esto se debe al hecho de que para un volumen dado de medio de disolución en el procedimiento de disolución, la proporción entre el medio de disolución y la masa de la composición sólida disminuye cuando la masa de la composición sólida aumenta. Además, el uso de ciertos disolventes puede requerir su retirada antes de administrar al paciente el ácido carboxílico hiperpolarizado o el derivado del mismo, usado como un agente de formación de imágenes de RM, ya que estos disolventes podrían no ser fisiológicamente tolerables.

Si el ácido carboxílico usado en el procedimiento de la invención es un compuesto bastante lipófilo o hidrófilo, el radical tritilo también debería ser lipófilo o hidrófilo. La lipofilidad o la hidrofiliidad del radical tritilo puede verse influida por la elección de residuos adecuados que conviertan la molécula de radical tritilo en lipófila o hidrófila. Además, el radical tritilo tiene que ser estable en presencia del ácido carboxílico. De esta manera, si el ácido carboxílico usado en el procedimiento de la invención es un ácido relativamente fuerte como, por ejemplo, ácido oxálico o ácido pirúvico, el radical tritilo debería ser estable en condiciones muy ácidas. Si el ácido carboxílico contiene además grupos reactivos, debería usarse un radical tritilo que sea relativamente inerte hacia estos grupos reactivos. A partir de lo citado anteriormente, es evidente que la elección del radical tritilo depende en gran medida de la naturaleza química del ácido carboxílico usado en el procedimiento de la invención.

En el documento WO-A-2006/011811, se divulgan radicales tritilo que son agentes de PND especialmente útiles para la polarización PND de compuestos orgánicos ácidos, es decir, ácidos carboxílicos. Se prefiere el uso de estos radicales tritilo en el procedimiento de la invención.

En una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, el ácido carboxílico es ácido pirúvico, más preferentemente ^{13}C -ácido pirúvico, más preferentemente $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico, y el radical tritilo es un radical tritilo de la fórmula (2):



en la que

M representa hidrógeno o un equivalente de un catión; y

R1, que es el mismo o diferente, representa un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo -(CH₂)_n-X-R2,

en el que

5 n es 1, 2 o 3;

X es O o S; y

R2 es un grupo alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada.

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

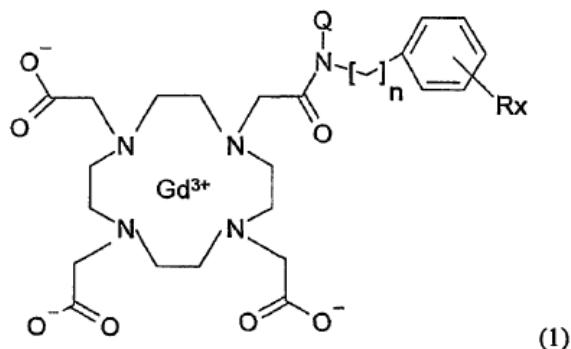
En una realización preferida adicional, R1 es el mismo, más preferentemente, un grupo alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada, lo más preferentemente, metilo, etilo o isopropilo.

En una realización preferida adicional, R1 es el mismo o diferente, preferentemente el mismo, y representa -CH₂-OCH₃, -CH₂-OC₂H₅, -CH₂-CH₂-OCH₃, -CH₂-SCH₃, -CH₂-SC₂H₅ o -CH₂-CH₂-SCH₃, lo más preferentemente, -CH₂-CH₂-OCH₃.

En una realización más preferida, M representa hidrógeno o sodio, y R1 es el mismo y representa -CH₂-CH₂-OCH₃.

Los radicales tritilo usados en el procedimiento de la invención se pueden sintetizar como se describe en detalle en los documentos WO-A-88/10419, WO-A-90/00904, WO-A-91/12024, WO-A-93/02711, WO-A-96/39367 y WO-A-2006/011811.

Como se ha indicado anteriormente, los quelatos de Gd usados en el procedimiento de la invención son quelatos de Gd de fórmula (1):



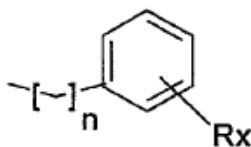
en la que

25 n es 1 a 10;

x es 0 a 10;

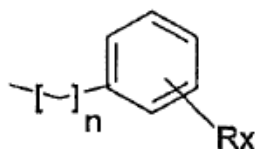
R es idéntico o diferente, y representa fluoro, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; y

30 Q es H, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; o



en la que n, x y R son como se han definido anteriormente.

En una realización preferida, Q es H, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, preferentemente metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *iso*-butilo o *terc*-butilo, o Q es idéntico a

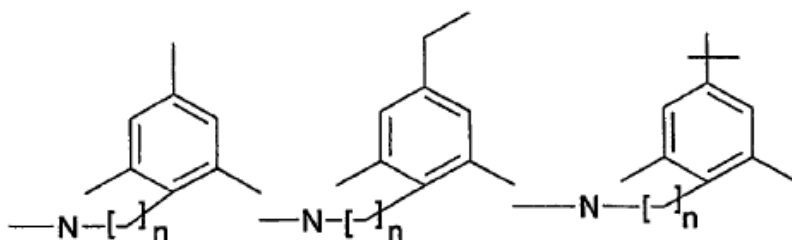


En una realización preferida de la realización anterior, n es 1 a 5 y, más preferentemente, 1 a 3.

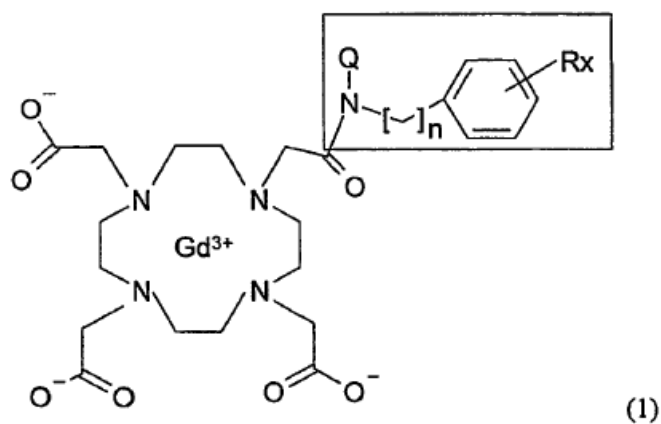
Si R es un grupo alquilo C_1-C_6 de cadena lineal o ramificada, R es preferentemente metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *iso*-butilo o *terc*-butilo.

- 5 Si R es un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono, R es preferentemente ciclopentilo, ciclohexilo, metilciclopentilo, metilciclohexilo, bencilo, fenilo o toliilo.

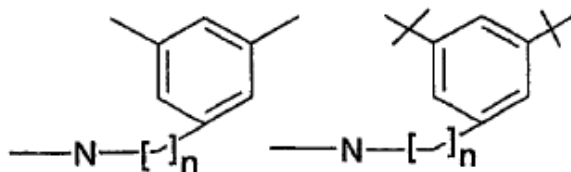
En una realización, x es 3 y los tres grupos R que son idénticos o diferentes están unidos preferentemente en las posiciones *orto* y en la posición *para*. Los siguientes restos son ejemplos de dicha realización:



- 10 en las que los restos anteriores se corresponden con el resto enmarcado del quelato de Gd de fórmula (1) mostrado a continuación:



- 15 En otra realización, x es 2 y los dos grupos R que son idénticos o diferentes, preferentemente idénticos, se unen preferentemente en las posiciones *meta*. Los ejemplos preferidos de dicha realización son los siguientes restos, correspondiendo los restos con el resto enmarcado del quelato de Gd de fórmula (1) que se ha mostrado anteriormente:

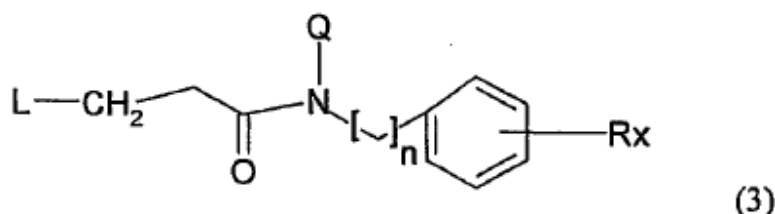


- 20 En una realización preferida, x es 1 y el grupo R está unido preferentemente en la posición *para*. En la presente realización, R se selecciona preferentemente de entre fluoro, metilo, isopropilo, isobutilo y *terc*-butilo, más preferentemente se selecciona de entre metilo y *terc*-butilo.

En otra realización preferida, x es 0 y n es de 1 a 5, preferentemente de 1 a 3.

El quelato de Gd de fórmula (1) se sintetiza convenientemente mediante el uso de un quelante como un derivado DO3A con grupos carboxílicos protegidos como material de partida. Los derivados de DO3A adecuados son, por ejemplo, 1,4,7-tris(*terc*-butoxicarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano o 1,4,7-tris(benciloxicarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano. Estos derivados de DO3A se pueden preparar mediante procedimientos conocidos tales como los descritos en el documento US 4.885.363 o WO-A-96/28433, que se incorporan en la presente memoria por referencia.

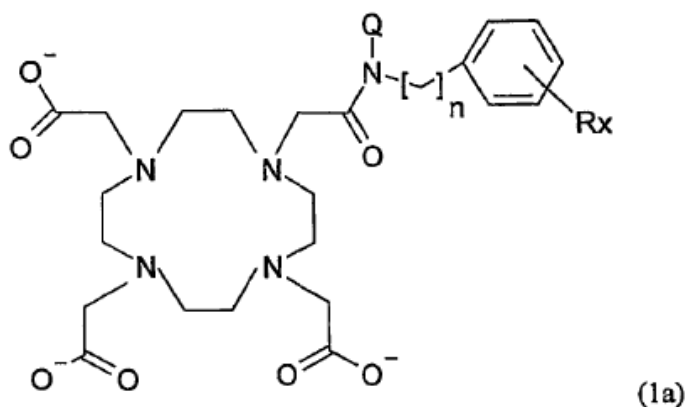
Los derivados de DO3A se pueden hacer reaccionar en un disolvente y en presencia de una base con un compuesto de fórmula (3):



en la que L es un grupo saliente tal como halógeno, preferentemente cloruro, y Q, n, x y R son como se han definido anteriormente.

Los compuestos de fórmula (3) se pueden obtener mediante la reacción de aminas sustituidas con Rx o, en el caso de que x sea 0, de aminas con cloruro de 2-halogenoacetilo, preferentemente cloruro de 2-cloroacetilo, en un disolvente y en presencia de una base. Los procedimientos para sintetizar aminas sustituidas con Rx y aminas son conocidos en la técnica, y hay una variedad de dichas aminas sustituidas con Rx y aminas disponibles en el mercado.

Tras eliminar los grupos de protección presentes, por ejemplo, mediante la reacción con ácido trifluoroacético en el caso de un derivado de DO3A con grupos carboxílicos protegidos con *terc*-butoxi, el quelante de fórmula (1a):



en la que Q, n, x y R son como se han definido anteriormente, se hace reaccionar con un compuesto de Gd^{3+} adecuado como Gd_2O_3 o sales de Gd^{3+} como $GdCl_3$ en un disolvente adecuado, por ejemplo, agua, dando lugar a los quelatos de Gd de fórmula (1). Otras formas adecuadas de síntesis de los quelantes de la fórmula (1a) y los compuestos de fórmula (3) se describen en el documento US 5.737.752.

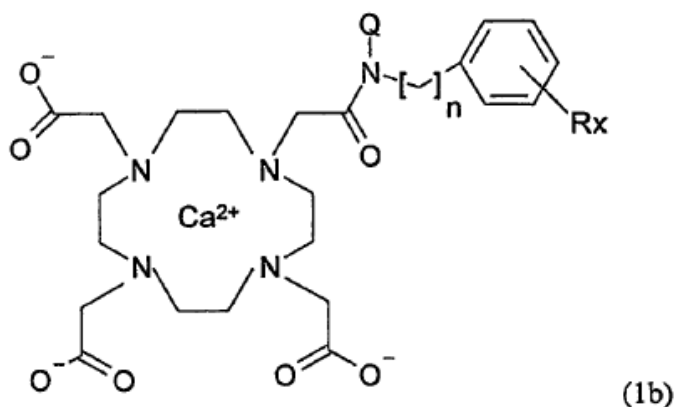
Los quelatos de Gd de fórmula (1) son especialmente útiles en la polarización PND de ácidos carboxílicos, ya que estos quelatos de Gd son estables en presencia de dichos ácidos. Esta es una característica importante, ya que la disociación del complejo del quelato de Gd (desquelación) dará lugar a iones Gd^{3+} libres con consecuencias perjudiciales para la polarización. La polarización decae mucho más rápidamente en presencia de iones metálicos paramagnéticos libres como los iones Gd^{3+} , que acortan de manera espectacular el "tiempo de vida" de un compuesto hiperpolarizado destinado a su uso como agente de formación de imágenes de RM.

Si el ácido carboxílico que se va a polarizar es un líquido o está disuelto en un disolvente, es preferible usar un quelato de Gd de fórmula (1) que sea soluble en el ácido carboxílico líquido o la solución del mismo. Si el ácido carboxílico que se va a polarizar es bastante lipófilo, el quelato de Gd de fórmula (1) debería ser también bastante lipófilo. La lipofilia puede verse influida por la elección del tipo y el número apropiado de grupos R. Opcionalmente, la composición usada en el procedimiento de la invención que comprende el ácido carboxílico, un radical tritilo y un quelato de Gd de fórmula (1) comprende además un quelante y/o un quelato de Ca.

La expresión "quelante" se refiere a una entidad química que se une a (forma complejos con) un ión metálico, por ejemplo, Gd^{3+} , para formar un quelato.

Se puede añadir un quelante a la composición para evitar cualquier ión Gd^{3+} libre en la composición líquida después de haber disuelto o fundido la composición sólida que comprende el ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo tras el procedimiento de PND. Como se ha indicado anteriormente, los iones Gd^{3+} libres tienen consecuencias perjudiciales sobre la polarización, pues la polarización decae mucho más rápidamente en presencia de iones metálicos paramagnéticos libres como los iones Gd^{3+} . Esto, a su vez, acorta drásticamente el "tiempo de vida" de un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo como agente de formación de imágenes de RM. El quelante adicional presente en la composición reacciona los iones Gd^{3+} libres para formar un quelato de Gd y, por lo tanto, los iones Gd^{3+} libres son "depurados" de la composición una vez que se licua (es decir, se disuelve o se funde). Los quelantes adecuados son aquellos que forman fácil y rápidamente complejos con iones Gd^{3+} , preferentemente EDTA, DOTA-BOM o DTPA-BMA. Estos quelantes y su síntesis son conocidos en la técnica. En otra realización preferida, se usa un quelante de fórmula (1a).

En lugar de un quelante, a la composición, se puede añadir un quelato de Ca que comprenda un quelante como se ha descrito anteriormente. El efecto es similar a la adición de un quelante, pues los quelatos de Ca son complejos débiles. En presencia de iones Gd^{3+} libres, se produce un intercambio entre los iones Ca^{2+} y los iones Gd^{3+} , pues los quelantes descritos anteriormente forman complejos mucho más fuertes con Gd^{3+} que con Ca^{2+} . Sin embargo, los iones Ca^{2+} libres no tienen las consecuencias perjudiciales en la polarización descritas anteriormente, ya que no son iones paramagnéticos. Por lo tanto, los quelatos de Ca preferidos son Ca-EDTA, Ca-DOTA-BOM y Ca-DTPA-BMA. En otra realización preferida, se usa un quelato de Ca de fórmula (1b):



en la que en la que Q, x y R son como se han definido anteriormente.

Como alternativa, la composición usada en el procedimiento de la invención puede contener tanto un quelante como un quelato de Ca. El quelante puede ser idéntico a o diferente del quelante del quelato de Ca, por ejemplo, el quelante puede ser EDTA y el quelato de Ca puede ser Ca-EDTA. En otra realización, el quelante puede ser EDTA y el quelato de Ca puede ser Ca-DTPA-BMA. En una realización preferida, el quelante es el quelante de fórmula (1a) y el quelato de Ca es el quelato de Ca de fórmula (1b).

Para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con la invención, se prepara una composición que comprende un ácido carboxílico, un radical tritilo, un quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca.

Si el ácido carboxílico usado en el procedimiento de la invención es un líquido a temperatura ambiente como, por ejemplo, ácido pirúvico, dicho ácido carboxílico líquido se combina con el radical tritilo seleccionado y el quelato de Gd de fórmula (1) seleccionado y, opcionalmente, con un quelante y/o un quelato de Ca para formar una composición en la que todos los componentes de esa composición están en contacto íntimo. Preferentemente, el radical tritilo seleccionado, el quelato de Gd de fórmula (1) y el quelante opcional y/o quelato de Ca son solubles en el ácido carboxílico líquido. Como alternativa, pero menos preferida, se pueden preparar una solución del radical tritilo seleccionado y/o una solución del quelato de Gd de fórmula (1) seleccionado y/o una solución del quelante opcional y/o quelato de Ca en uno o varios disolventes adecuados, por ejemplo, agua, que se añade después al ácido carboxílico líquido. Luego se puede promover aún más el mezclado íntimo mediante varios procedimientos conocidos en la técnica tales como agitación, movimientos vorticiales o sonicación.

Si el ácido carboxílico usado en el procedimiento de la invención es un sólido a temperatura ambiente, se puede fundir (con la condición de que no se produzca la degradación del ácido carboxílico), y el ácido carboxílico fundido se combina con el radical tritilo seleccionado, el quelato de Gd de fórmula (1) seleccionado y, opcionalmente, con un quelante y/o un quelato de Ca según lo descrito en el párrafo anterior.

En otra realización, se puede preparar una solución del ácido carboxílico sólido, por ejemplo, disolviendo el ácido carboxílico en un disolvente o mezcla disolvente adecuados, preferentemente en un disolvente que sea un buen formador de vidrio para evitar la cristalización de la composición tras la refrigeración/congelación. Los formadores de vidrio adecuados son, por ejemplo, glicerol, propanodiol o glicol. Posteriormente, el ácido carboxílico disuelto se combina con el radical tritilo seleccionado, el quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, con un quelante y/o un quelato de Ca, preferentemente todos como componentes secos. Como alternativa, pero menos preferida, se puede preparar una solución del radical tritilo seleccionado y/o una solución del quelato de Gd de fórmula (1) seleccionado y/o una solución del quelante opcional y/o quelato de Ca en uno o varios disolventes adecuados, por ejemplo, agua, que se añade a continuación al ácido carboxílico disuelto. Los formadores de vidrio también se pueden añadir a los ácidos carboxílicos disueltos en disolventes no formadores de vidrio para evitar que la composición cristalice tras la refrigeración/congelación. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, la adición de disolventes y/o formadores de vidrio se debería mantener al mínimo necesario. Por lo tanto la forma preferida consiste en seleccionar un radical tritilo, un quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca que sean solubles en o miscibles con el ácido carboxílico, siempre que el ácido carboxílico se encuentre en estado líquido a temperatura ambiente o se pueda fundir sin degradación.

Lo adecuado es que la concentración de radical tritilo sea de 5 a 25 mM, preferentemente de 10 a 20 mM en la composición. En cuanto a la concentración de quelato de Gd de fórmula (1), es adecuada de 0,1 a 8 mM en la composición, prefiriéndose las concentraciones de 0,1 a 6 mM y prefiriéndose más de 0,5 a 4 mM. Si hay un quelante y/o un quelato de Ca presentes en la composición destinada a usarse en el procedimiento de la invención, la concentración de dicho quelante y/o quelato de Ca en dicha composición es adecuadamente de 0,1 a 10 mM, preferentemente de 0,5 a 8 mM y más preferentemente de 1,5 a 7 mM.

La composición se enfría y/o congela preferentemente de tal manera que se prohíbe la cristalización. La refrigeración/congelación se pueden realizar mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo mediante la congelación de la composición en un congelador o en nitrógeno líquido o, simplemente colocándola en el de polarización de PND, donde el helio líquido la congelará.

En una realización, la composición se desgasifica antes de la refrigeración/congelación. La desgasificación se puede realizar mediante el burbujeo de gas helio a través de la composición (por ejemplo, durante un período de tiempo de 2-15 min), pero se puede efectuar mediante otros procedimientos comunes conocidos.

De acuerdo con el procedimiento de la invención, la composición sufre una polarización nuclear dinámica, PND. La técnica de PND se describe, por ejemplo, en los documentos WO-A-98/58272 y WO-A-01/96895, ambos de los cuales se incluyen por referencia en la presente memoria. En general, se usan un campo magnético, moderado o alto, y una temperatura muy baja en el procedimiento de PND, por ejemplo, llevando a cabo el procedimiento de PND en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. Como alternativa, se puede emplear un campo magnético moderado y cualquier temperatura a la que se consiga una mejora suficiente de la polarización. En una realización preferida, el procedimiento de PND se lleva a cabo en helio líquido y un campo magnético de aproximadamente 1 T o superior. Las unidades de polarización adecuadas (= polarizadores) se describen, por ejemplo, en el documento WO-A-02/37132. En una realización preferida, la unidad de polarización comprende un criostato y medios de polarización, por ejemplo, una cámara de microondas conectada, por medio de una guía de ondas, a una fuente de microondas en un orificio central rodeado por medios productores del campo magnético tales como un imán superconductor. El orificio se extiende verticalmente hacia abajo hasta al menos el nivel de una región "P" cercana al imán superconductor, donde la intensidad del campo magnético es suficientemente alta, por ejemplo, de entre 1 y 25 T, para que tenga lugar la polarización de los núcleos de la muestra. Preferentemente, el orificio para la sonda, es decir, la composición por polarizar, se puede cerrar herméticamente, pudiéndose evacuar a bajas presiones, por ejemplo, a presiones del orden de 0,1 kPa o inferiores. Puede haber un medio de introducción de la sonda, tal como un tubo de transporte extraíble, contenido dentro del orificio y este tubo se puede insertar desde la parte superior del orificio hasta una posición en el interior de la cámara de microondas de la región P. La región P se enfría mediante helio líquido a una temperatura suficientemente baja para que tenga lugar la polarización, preferentemente, a temperaturas del orden de 0,1 a 100K, más preferentemente, de 0,5 a 10 K, más preferentemente de 1 a 5 K. Preferentemente, el medio de introducción de la sonda se puede cerrar herméticamente en su extremo superior, de cualquier forma adecuada, para mantener el vacío parcial en el orificio. Se puede instalar un recipiente de retención de la sonda, tal como una copa de retención de la sondas, de manera desmontable, en el interior del extremo inferior del medio de introducción de la sonda. El recipiente de retención de la sonda es, preferentemente, de un material ligero, con una baja capacidad calorífica específica y buenas propiedades criogénicas, tal como, por ejemplo, de KellF (policlorotrifluoroetileno) o PEEK (polietereetercetona), y puede estar diseñado de manera que puede contener más de una sonda.

La sonda se inserta en el recipiente de retención de la sonda, sumergida en helio líquido e irradiada con microondas, preferentemente a una frecuencia de aproximadamente 94 GHz a 200 mW. Se puede controlar el nivel de polarización como se divulga en la página 3 de la presente solicitud.

En una realización preferida, el ácido carboxílico hiperpolarizado sólido producido mediante el procedimiento de la invención se licua en una etapa posterior.

Así pues, en una realización preferida, el procedimiento de la invención es un procedimiento para producir una composición líquida que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo, comprendiendo dicho procedimiento la preparación de una composición que comprende el ácido carboxílico, un radical tritilo y un quelato de Gd de fórmula (1); llevándose a cabo la polarización nuclear dinámica de la composición y la licuación de la composición.

Opcionalmente, la composición anterior comprende un quelante y/o un quelato de Ca.

En el contexto de la invención, la expresión "ácido carboxílico hiperpolarizado" denota el ácido carboxílico que se ha usado para preparar la composición anteriormente mencionada y que está (tras llevar a cabo el procedimiento como se ha descrito anteriormente) hiperpolarizado. La expresión "derivado de un ácido carboxílico hiperpolarizado" denota una entidad química hiperpolarizada que se obtiene del ácido carboxílico hiperpolarizado mediante la licuación de la composición disolviendo el ácido carboxílico hiperpolarizado en un medio de disolución que lo convierte en una entidad química hiperpolarizada diferente. Un ejemplo sería la disolución del ácido carboxílico hiperpolarizado en una base, convirtiendo de este modo el grupo carboxilo en un grupo carboxilato, por ejemplo, la conversión de ácido pirúvico hiperpolarizado en piruvato hiperpolarizado o ácido acético hiperpolarizado en acetato hiperpolarizado.

La licuación se lleva a cabo bien mediante la disolución de la composición sólida tras el procedimiento de PND en un disolvente o mezcla de disolventes apropiados, por ejemplo, un vehículo acuoso como una solución tampón, o fundiéndola, opcionalmente con una posterior etapa de disolución o una etapa de dilución en un disolvente o mezcla de disolventes adecuados. Los procedimientos y dispositivos adecuados para la disolución de una composición sólida hiperpolarizada se describen, por ejemplo, en el documento WO-A-02/37132. Los procedimientos y dispositivos adecuados para la fusión de una composición sólida hiperpolarizada se describen, por ejemplo, en el documento WO-A-02/36005. Si el ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo está destinado a su uso como un agente de formación de imágenes de RM, la composición sólida que contiene el ácido carboxílico hiperpolarizado se disuelve, preferentemente en un vehículo acuoso o disolvente adecuado, dando lugar a una solución fisiológicamente tolerable.

Como se ha explicado anteriormente, el medio de disolución usado para la disolución de la composición sólida que contiene el ácido carboxílico hiperpolarizado también puede ser de una naturaleza tal que permita la conversión del ácido carboxílico hiperpolarizado en una entidad química hiperpolarizada diferente (derivado). En este caso, el ácido carboxílico hiperpolarizado se denomina precursor. Si, por ejemplo, se usa un medio de disolución que contiene una base para disolver una composición sólida que comprende el ácido carboxílico hiperpolarizado, dicho ácido carboxílico hiperpolarizado se neutraliza y se convierte en un carboxilato hiperpolarizado. Por lo tanto, el compuesto hiperpolarizado de la composición líquida sería una sal del ácido carboxílico y ya no sería el propio ácido carboxílico.

En una etapa posterior opcional, el radical tritilo y/o el quelato de Gd de fórmula (1) y/o el quelante opcionalmente presente y/o quelato de Ca y/o quelato de Gd, es decir, quelato de Gd que es un producto de reacción del quelante o quelato de Ca con iones Gd^{3+} libres se eliminan de la composición licuada. Si el ácido carboxílico hiperpolarizado o derivado del mismo está destinado a su uso como un agente de formación de imágenes de RM en un ser humano o animal vivo, el radical tritilo, el quelato de Gd de fórmula (1) y el quelante opcionalmente presente y/o quelato de Ca y/o quelato de Gd del mismo (también denominados de aquí en adelante "compuestos anteriormente mencionados") se eliminan preferentemente de la composición licuada.

En la técnica, se conocen procedimientos útiles para eliminar el radical tritilo, el quelato de Gd de fórmula (1), el quelante y/o el quelato de Ca y/o el quelato de Gd. En general, los procedimientos aplicables dependen de la naturaleza exacta y de las propiedades químicas de los compuestos anteriormente mencionados que se han usado para preparar la composición usada en el procedimiento de la invención. Tras la disolución o la fusión de la composición sólida que contiene el ácido carboxílico hiperpolarizado, el radical tritilo y/o el quelato de Gd de fórmula (1) y/o el quelante y/o el quelato de Ca y/o el quelato de Gd podrían precipitar, pudiéndose separar de esta manera fácilmente de la composición líquida mediante filtración. El hecho de que se produzca o no la precipitación depende, por supuesto, de la naturaleza del solvente y de los compuestos anteriormente mencionados.

Si no se produce ninguna precipitación, el radical tritilo, el quelato de Gd de fórmula (1), el quelante, el quelato de Ca y el quelato de Gd se pueden eliminar mediante técnicas de separación cromatográficas, por ejemplo, cromatografía en fase líquida como la cromatografía en fase inversa, extracción (fase sólida) u otros procedimientos cromatográficos de separación conocidos en la técnica. En general, se prefiere el uso de un procedimiento que sea capaz de eliminar todos los compuestos anteriormente mencionados en una etapa, ya que la polarización en el ácido carboxílico hiperpolarizado o el derivado del mismo en la composición líquida decae debido a la relajación T_1 . Cuanto más rápidamente se eliminan los compuestos anteriormente mencionados de la composición líquida, mayor será el nivel de polarización mantenido. Por lo tanto, no sólo desde el punto de vista de tener un contacto íntimo entre el ácido carboxílico que se va a polarizar, el radical tritilo y el quelato de Gd de fórmula (1), sino también desde el punto de vista de una eliminación rápida y eficaz, es beneficioso seleccionar un radical tritilo y un quelato de Gd de fórmula (1) que tengan propiedades químicas similares. Por supuesto, esto también se aplica a la selección de del quelato y/o quelato de Ca, si esos compuestos se usan en la composición para su uso en el procedimiento de la invención. Si, por ejemplo, se usan un radical tritilo bastante lipófilo y un quelato de Gd bastante lipófilo de fórmula

(1), y opcionalmente un quelante y/o quelato de Ca bastante lipófilos, todos se podrían eliminar en una etapa mediante cromatografía en fase líquida de fase inversa en una sola columna cromatográfica.

Tras eliminar los compuestos mencionados anteriormente, se puede comprobar el radical tritilo y/o quelato de Gd de fórmula (1) residuales de la composición líquida y las cantidades residuales del quelante presente opcionalmente, quelato de Ca y quelato de Gd.

Como los radicales tritilo tienen un espectro de absorción UV/visible característico, es posible usar la medición de la absorción UV/visible como un procedimiento para comprobar su presencia en la composición líquida después de su eliminación. Con el fin de obtener resultados cuantitativos, es decir, la concentración del radical tritilo presente en la composición líquida, se puede calibrar el espectrómetro óptico de manera que la absorción a una longitud de onda específica de una parte alícuota de la composición líquida proporcione la correspondiente concentración de radical tritilo en la composición líquida.

Debido a la presencia del grupo aromático en el quelato de Gd de fórmula (1), la medición de la absorción UV/visible también se puede usar como un procedimiento para comprobar la presencia de quelato de Gd de fórmula (1). Una vez más, se pueden obtener resultados cuantitativos a través de la calibración del espectrómetro tal como se describe en el párrafo anterior. Si se ha usado un quelante de fórmula (1b) y/o un quelato de Ca de fórmula (1b) en la composición para su uso en el procedimiento de la invención, también se puede usar la misma medición de absorción UV/visible como procedimiento para comprobar la presencia de estos compuestos, pues todos ellos comprenden un grupo aromático.

En una realización preferida, el procedimiento de la invención se usa para la producción de un agente de formación de imágenes de RM líquido, y la composición usada en el procedimiento de la invención se licua por disolución, preferentemente por disolución en un vehículo acuoso fisiológicamente tolerable como una solución tampón.

En una realización preferida adicional del procedimiento de acuerdo con la invención, la composición comprende ^{13}C -ácido pirúvico, preferentemente $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico, un radical tritilo de fórmula (2) y un quelato de Gd de fórmula (1). Como el ^{13}C -ácido pirúvico es un compuesto bastante lipófilo, se seleccionan preferentemente un radical de tritilo de fórmula (2) bastante lipófilo y un quelato de Gd de fórmula (1) bastante lipófilo.

En una realización más preferida, se usa un radical tritilo de fórmula (2) en la que M representa hidrógeno o sodio, y R1 es el mismo y representa $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, y se usa un quelato de Gd de fórmula (1) en la que Q es H, n es 1 a 3, x es 0 o 1 y el grupo R, si está presente, está unido en la posición *para*. En una realización muy preferida, Q es H, n es 1 a 3, x es 1 y R, que está unido en la posición *para*, es metilo, isopropilo, isobutilo y *terc*-butilo, lo más preferentemente, metilo y *terc*-butilo. Estos quelatos de Gd de fórmula (1) no sólo son especialmente útiles en la polarización PND de ácido pirúvico, ya que son estables en presencia de ácido pirúvico, sino que se pueden eliminar junto con el radical tritilo de fórmula (2) en una sola etapa. Opcionalmente, se añaden a la composición un quelante de fórmula (1a) y/o un quelato de Ca de fórmula (1b).

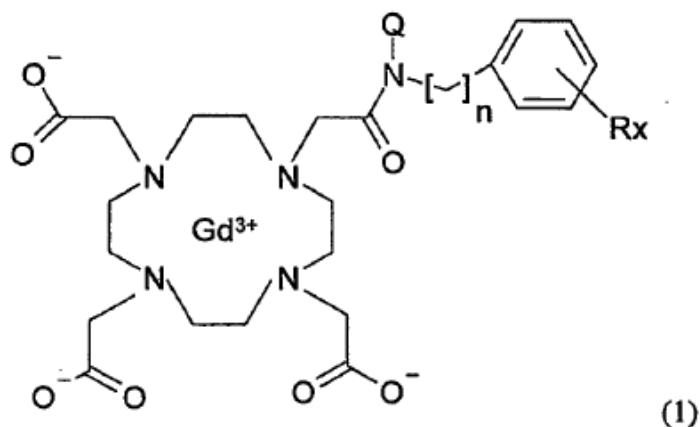
En esta realización preferida, la composición se prepara mediante la disolución del radical tritilo, quelato de Gd de fórmula (1) y el quelante opcional (1a) y o quelato de Ca (1b) anteriormente mencionados en ^{13}C -ácido pirúvico. Los componentes de la composición se mezclan a fondo y la composición se enfría y/o congela. Tras la polarización nuclear dinámica, la composición sólida que comprende el ácido ^{13}C -pirúvico hiperpolarizado se disuelve o se funde y luego se convierte en ^{13}C -piruvato hiperpolarizado, o se disuelve y se convierte simultáneamente.

En una realización, la composición sólida que contiene ^{13}C -ácido pirúvico hiperpolarizado se hace reaccionar con una base líquida para disolverla simultáneamente y convertirla en ^{13}C -piruvato y, posteriormente, se añade una solución tampón, preferentemente una solución tampón fisiológicamente tolerable, para finalizar la disolución y, opcionalmente, convertir el ^{13}C -ácido pirúvico residual en ^{13}C -piruvato. En una realización preferida, la base es una solución acuosa de NaOH, Na_2CO_3 o NaHCO_3 , más preferentemente de NaOH. Lo adecuado es que la solución tampón sea una solución tampón fisiológicamente tolerable que contenga tampones que tamponen en el intervalo de aproximadamente pH 7 a 8 como, por ejemplo, tampón de fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$), ACES, PIPES, imidazol/HCl, BES, MOPS, HEPES, TES, TRIS, HEPPS o TRICIN. Preferentemente, se usa una solución tampón de TRIS, una solución tampón de citrato o una solución tampón de fosfato. La solución tampón puede comprender además quelantes como EDTA, DTPA-BMA o DOTA-BOM para formar complejos con cualquier ión de Gd^{3+} que pueda estar presente. En otra realización preferida, la solución tampón y la base se combinan en una solución alcalina y esta solución se añade a la composición sólida que contiene el ^{13}C -ácido pirúvico hiperpolarizado, disolviendo y convirtiendo el ^{13}C -ácido pirúvico en ^{13}C -piruvato al mismo tiempo.

El quelato de Gd de fórmula (1), el radical tritilo de fórmula (2) y el quelante opcional de fórmula (1a) y/o quelato de Ca de fórmula (1b) mencionados anteriormente se eliminan preferentemente de forma adecuada mediante el uso de cromatografía en fase líquida de fase inversa, ya que esto permite la eliminación simultánea de todos los compuestos mencionados anteriormente.

Opcionalmente, se comprueba la presencia de los compuestos residuales anteriormente mencionados en la composición líquida que comprende ^{13}C -piruvato hiperpolarizado, por ejemplo, usando los procedimientos descritos anteriormente en la presente solicitud.

- Para usarlo como agente de formación de imágenes de RM *in vivo*, la composición líquida que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo obtenida mediante el procedimiento de la invención se proporciona como una composición, es decir, un medio formador de imágenes, que es adecuada para la administración a un cuerpo humano o no humano vivo. El medio de formación de imágenes comprende
- 5 preferentemente vehículos acuosos fisiológicamente tolerables como una solución tampón, agua o solución salina como se ha descrito anteriormente. El medio de formación de imágenes puede comprender además vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales, excipientes y coadyuvantes de formulación. Por lo tanto, el medio de formación de imágenes puede incluir, por ejemplo, estabilizadores, agentes de ajuste de la osmolalidad, agentes solubilizantes y similares.
- 10 Un medio de formación de imágenes que comprende la composición líquida que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo obtenida mediante el procedimiento de la invención que se usa para la formación de imágenes mediante RM *in vivo*, es decir, en un cuerpo humano o no-humano vivo, se administra preferentemente a dicho cuerpo parenteralmente, preferentemente, por vía intravenosa.
- En general, el cuerpo humano o no humano vivo objeto de estudio se coloca en un imán de RM. Se colocan bobinas de RM-RF específicas para cubrir la superficie de interés. La dosis y la concentración del medio de formación de imágenes dependerán de una variedad de factores tales como la toxicidad y la vía de administración. En menos de 400 s después de la administración, preferentemente menos de 120 s, más preferentemente menos de 60 s después de la administración, especialmente preferentemente de 20 a 50 s se aplica una secuencia de formación de imágenes de RM que codifica el volumen de interés.
- 15 En general, el cuerpo humano o no humano vivo objeto de estudio se coloca en un imán de RM. Se colocan bobinas de RM-RF específicas para cubrir la superficie de interés. La dosis y la concentración del medio de formación de imágenes dependerán de una variedad de factores tales como la toxicidad y la vía de administración. En menos de 400 s después de la administración, preferentemente menos de 120 s, más preferentemente menos de 60 s después de la administración, especialmente preferentemente de 20 a 50 s se aplica una secuencia de formación de imágenes de RM que codifica el volumen de interés.
- 20 Para usarlo como agente para ensayos de RMN *in vitro* o para formación de imágenes por RM o para espectroscopia de RM de tejido *ex vivo* u órganos aislados, la composición líquida que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo obtenida mediante el procedimiento de la invención se proporciona como una composición, es decir, un medio de formación de imágenes que es adecuado para su adición a, por ejemplo, proteínas aisladas tales como receptores, enzimas, cultivos celulares, muestras obtenidas de un
- 25 cuerpo humano o no humano (por ejemplo, sangre, orina o saliva), tejidos *ex vivo* como tejidos de biopsias u órganos aislados. Como es evidente para el experto, los vehículos farmacéuticamente aceptables, excipientes y coadyuvantes de formulación pueden estar presentes en el medio formador de imágenes, pero no es necesario que estén presentes para dicho propósito, y el medio de formación de imágenes, por lo tanto, comprende preferentemente un vehículo acuoso como una solución tampón o una mezcla de soluciones tampón como se ha descrito anteriormente y (especialmente para la RMN *in vitro*) uno o más disolventes no acuosos como DMSO o metanol.
- 30 Un medio de formación de imágenes que comprende una composición líquida que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo se puede usar como un medio "convencional" de formación de imágenes de RM, es decir, que proporcione realce de contraste para imágenes anatómicas. Si el ácido carboxílico hiperpolarizado o el derivado del mismo es un compuesto que participa en una ruta metabólica del cuerpo humano o no humano, dicho medio de formación de imágenes se puede usar para la formación de imágenes metabólicas mediante RM *in vivo*, proporcionando así información sobre el estado metabólico del tejido sometido a examen.
- 35 Como se ha indicado anteriormente, el piruvato es un compuesto del ciclo del ácido cítrico y, por lo tanto, el ^{13}C -piruvato hiperpolarizado se puede usar como un agente de formación de imágenes de tumores como se divulga en detalle en el documento WO-A-2006/011810.
- 40 Además, el uso de ^{13}C -piruvato hiperpolarizado como agente de formación de imágenes para evaluar la viabilidad del tejido miocárdico se ha descrito en detalle en el documento WO-A-2006/054903.
- Otro aspecto de la invención es una composición que comprende un ácido carboxílico, un radical tritilo, un quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca. Preferentemente, dicha composición es
- 45 para su uso en la polarización nuclear dinámica. Las realizaciones preferidas de dicha composición, es decir, los ácidos carboxílicos, radicales tritilo y quelatos de Gd de fórmula (1) preferidos se han divulgado anteriormente en la presente solicitud.
- Otro aspecto más de la invención es una composición que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o derivado del mismo, preferentemente una sal de un ácido carboxílico, un radical tritilo, un quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca, en el que la composición se obtiene mediante polarización nuclear dinámica. En una realización preferida adicional, dicha composición es una composición líquida que se obtiene mediante polarización nuclear dinámica y la posterior disolución o fusión de la composición sólida obtenida mediante dicha polarización nuclear dinámica.
- 50 Otro aspecto más de la invención es un agente de polarización que comprende un radical tritilo y quelato de Gd de fórmula (1). Preferentemente, dicho agente de polarización se usa para polarizar ácidos carboxílicos mediante polarización nuclear dinámica.
- 55 Otro aspecto más de la invención son nuevos quelatos de Gd de fórmula (1):



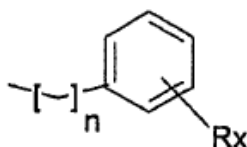
en la que:

n es 1 a 10;

x es 0 a 3;

5 R es igual o diferente, y representa fluoro, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono, y

Q es H, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono o



10 en la que n, x y R son como se han definido anteriormente.

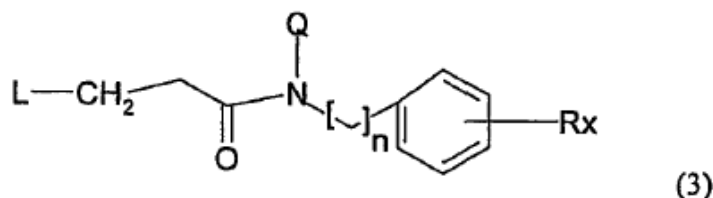
Las realizaciones preferidas del quelato de Gd de fórmula (1) se han descrito anteriormente en la solicitud.

Los nuevos quelatos de Gd de acuerdo con la invención se pueden usar en la polarización nuclear dinámica de ácidos carboxílicos como se ha descrito en la presente solicitud. Sin embargo también se pueden usar como compuestos activos de RM, es decir, agentes de formación de imágenes en un medio de contraste usado en la

15 formación de imágenes de RM.

Otro aspecto más de la invención es un procedimiento para preparar quelatos de Gd de fórmula (1) mediante la reacción de:

a) un derivado de DO3A con grupos carboxílicos protegidos, preferentemente 1,4,7-tris(*terc*-butoxicarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano en un disolvente y en presencia de una base con un compuesto de fórmula (3):



20 en la que L es un grupo saliente tal como halógeno, preferentemente cloruro, y Q, n, x y R son como se han definido anteriormente para la fórmula (1);

b) la eliminación de los grupos de protección; y

25 c) la reacción del producto de reacción de la etapa b) con un compuesto de Gd³⁺, preferentemente, GdCl₃ en un disolvente, preferentemente, agua.

Otro aspecto más de la invención es un kit que comprende instrucciones de uso y uno o más viales que contienen una composición que comprende un ácido carboxílico, un radical tritilo y un quelato de Gd de fórmula (1) y, además, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca para su uso en la polarización nuclear dinámica. En una realización, dicho kit comprende un único vial que contiene una composición que comprende el ácido carboxílico, el

radical tritilo y el quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca. En otra realización, dicho kit comprende un primer vial que contiene una composición que comprende el ácido carboxílico y el radical tritilo y un segundo vial que contiene el quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca. El contenido de dicho primer vial y dicho segundo vial se combinan antes de dicha polarización nuclear dinámica. La composición de dicho/s vial/es puede ser una composición de materia seca, es decir, todos los compuestos pueden ser sólidos. Como alternativa, la composición puede ser una composición líquida, es decir, los compuestos pueden estar disueltos en un disolvente o, si uno de los compuestos es un líquido, dichos compuestos se pueden disolver en dicho compuesto líquido.

En una realización preferida, el kit de acuerdo con la invención comprende instrucciones de uso y un vial que contiene una composición que contiene ^{13}C -ácido pirúvico, preferentemente $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico, un radical tritilo de fórmula (2), un quelato de Gd de fórmula (1) y, opcionalmente, un quelante y/o un quelato de Ca para su uso en la polarización nuclear dinámica.

Ejemplos

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

Se suspendieron 10 g (70 mmol) de sal de sodio de tris(8-carboxi-2,2,6,6-(tetra(hidroxietil)-benzo[1,2-4,5']bis-(1,3)-ditiol-4-il)metilo que se había sintetizado de acuerdo con el Ejemplo 7 del documento WO-A1-98/39277 en 280 ml de dimetilacetamida bajo una atmósfera de argón. Se añadió hidruro sódico (2,75 g) seguido de yoduro de metilo (5,2 ml) y la reacción, que era ligeramente exotérmica, se dejó proceder durante 1 hora en un baño de agua a 34 °C durante 60 min. Se repitió dos veces la adición de hidruro de sodio y yoduro de metilo con las mismas cantidades de cada uno de los compuestos y, después de la adición final, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 68 horas y después se vertió en 500 ml de agua. Se ajustó el pH a pH > 13 usando 40 ml de NaOH 1 M (ac) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 horas para hidrolizar los ésteres metílicos formados. A continuación, se acidificó la mezcla usando 50 ml de HCl 2 M (acuoso) a un pH de aproximadamente 2 y se extrajo 3 veces el acetato de etilo (500 ml y 2 x 200 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na_2SO_4 y luego se evaporó a sequedad. Se purificó el producto bruto (24 g) mediante HPLC preparativa usando acetonitrilo/agua como eluyentes. Se evaporaron las fracciones recogidas para eliminar el acetonitrilo. Se extrajo la fase acuosa restante con acetato de etilo, y se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 y luego se evaporó a sequedad. Se añadió agua (200 ml) al residuo y se ajustó el pH cuidadosamente con NaOH 0,1 M (ac.) a 7, disolviendo lentamente el residuo durante este procedimiento. Después de la neutralización, la solución acuosa se criodesecó.

Ejemplo 2. Síntesis de 1,4,7-tris(carbonilmetil)-10-((4-terc-butil)-bencilaminocarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano, un quelante de fórmula (1a)

Todos los productos químicos se adquirieron de Sigma-Aldrich o Fluka. El 1,4,7-tris(terc-butoxicarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano se preparó como se describe en el documento WO-A-96/28433.

2a. Preparación de 2-cloro-N-(4-terc-butilfenilmetil)-acetamida

A una suspensión de 4-terc-butilbencilamina disponible en el mercado (8,16 g, 50 mmol) y carbonato de potasio (7,95 g, 57,5 mmol) en diclorometano (100 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2-cloroacetilo (6,21 g, 55 mmol) en diclorometano (25 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 min, se sometió la mezcla de reacción a reflujo durante 4 h. Se enfrió la mezcla de reacción y se añadió agua (100 ml). Se separaron las fases, y se secó la fase orgánica sobre MgSO_4 y se evaporó al vacío. El compuesto del título se obtuvo en forma de un material cristalino de color blanco que se usó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

2b. Preparación de 1,4,7-Tris(terc-butoxicarbonilmetil)-10-((4-terc-butil)-bencilaminocarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano

Se calentó una mezcla de reacción de 1,4,7-tris(terc-butoxicarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano (7,57 g, 12,7 mmol), 2-cloro-N-(4-terc-butilfenilmetil)-acetamida (3,60 g, 15 mmol) obtenida en el Ejemplo 2a y carbonato de potasio (5,53 g, 40 mmol) en acetonitrilo (100 ml) hasta 75 °C, y se agitó en atmósfera de nitrógeno durante una noche. Se enfrió la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se filtró. Se evaporó el filtrado al vacío y se sometió el residuo a cromatografía ultrarrápida (sílice, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$). Se combinaron las fracciones que contenían el producto y se evaporaron al vacío, generando el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo que cristalizó tras su almacenamiento.

2c. 1,4,7-Tris(carbonilmetil)-10-((4-terc-butil)bencilamino-carbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano

Se disolvió 1,4,7-tris(terc-butoxicarbonilmetil)-10-((4-terc-butil)bencilaminocarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano (3,59 g, 5 mmol) del Ejemplo 2b en ácido trifluoroacético (25 ml) en atmósfera de nitrógeno. Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante una noche y después se evaporó al vacío. Se disolvió el residuo en agua (10 ml) y se evaporó al vacío. Se volvió a disolver el residuo en agua (10 ml), se añadió una poli-4-vinilpiridina

reticulada (Reillex™ 425, 5,2 g) y se agitó la mezcla durante 20 min antes de filtrarla. Se sometió el filtrado a criodeseccación, dando el compuesto del título en forma de un material higroscópico de color blanco.

De una manera similar, se prepararon otros quelantes de fórmula (1a) a partir de las siguientes aminas y aminas sustituidas con Rx:

- 5 • 4-metilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es metilo;
- 4-etilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es etilo;
- 4-isopropilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es isopropilo;
- 2,4,6-trimetilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 3 y todos los R son metilo unidos en las posiciones *orto* y *para*;
- 10 • 3,5-dimetilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 2 y todos los R son metilo en las posiciones *meta*;
- 4-fenilbencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es fenilo;
- 4-fluorobencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es F;
- fenilpropilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 3 y x es 0;
- 15 • bencilamina, produciendo un quelante de fórmula (1a), en la que n es 1 y x es 0.

Ejemplo 3. Preparación de 1,4,7-tris(carbonilmetil)-10-((4-*terc*-butil)bencilaminocarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano de gadolinio, un quelato de Gd de fórmula (1)

Se disolvieron 1,4,7-tris(carbonilmetil)-10-((4-*terc*-butil)bencilaminocarbonilmetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano (1,10 g, 2 mmol) y hexahidrato de GdCl₃ (0,74 g, 2 mmol) en agua (10 ml) a temperatura ambiente. Se calentó la mezcla de reacción hasta 90 °C, y se agitó durante 2 h y se ajustó el pH a 7 de manera continua mediante la adición de una solución acuosa de NaOH 1 M. Se enfrió la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se ajustó el pH a 9 (NaOH ac. 1 M). Se filtró la mezcla opaca resultante y se ajustó el pH a 7 mediante la adición de HCl ac (1 M). Se sometió la mezcla a criodeseccación y el compuesto del título se obtuvo en forma de un material cristalino de color blanco.

De una manera similar, se prepararon otros quelatos de Gd de fórmula (1) a partir de los siguientes quelatos de fórmula (1a):

- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es metilo;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es etilo;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es isopropilo;
- 30 • el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 3 y todos los R son metilo unidos en las posiciones *orto* y *para* ;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 2 y todos los R son metilo unidos en la posición *meta*;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es fenilo;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es F;
- el quelato de fórmula (1a), en la que n es 3 y x es 0;
- 35 • el quelato de fórmula (1a), en la que n es 1 y x es 0.

Ejemplo 4. Producción de una solución de ¹³C₁-piruvato hiperpolarizado sin la presencia de un quelato de Gd de fórmula (1) (Ejemplo comparativo)

Se preparó una composición que era 15 mM en radical tritilo del Ejemplo 1 disolviendo el radical tritilo en ¹³C₁-ácido pirúvico (164 μl). Se mezcló la composición hasta volverla homogénea, se colocó en un recipiente de retención de la sonda y se insertó en el polarizador de PND.

Se polarizó la composición en condiciones de PND a 1,2 K en un campo magnético de 3,35 T bajo irradiación con microondas (93,950 GHz). Se controló la polarización en estado sólido mediante RMN de ¹³C y se prosiguió la polarización hasta que se obtuvo un máximo de polarización del 22 %, es decir, se obtuvo una curva de saturación en una gráfica que mostraba la señal de RMN frente al tiempo.

Se disolvió la composición sólida que comprendía el ¹³C₁-ácido pirúvico hiperpolarizado usando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa de hidróxido de sodio, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) y EDTA (0,3 mM), dando lugar a una solución neutra de ¹³C₁-piruvato de sodio hiperpolarizado. En serie con el dispositivo de disolución, se conectó una columna cromatográfica. La columna consistía en un cartucho (D = 38 mm; h = 10 mm) que contenía material de empaquetamiento hidrófobo (Bondesil-C18, 40UM pieza N° 12213012) suministrado por Varian. Se hizo pasar la solución a través de la columna, que absorbió selectivamente el radical tritilo. Se analizó la solución tras la filtración con un espectrofotómetro UV a 469 nm y se determinó la concentración de radical tritilo residual por debajo del límite de detección de 0,1 μM.

Ejemplo 5. Producción de una solución de ¹³C₁-piruvato hiperpolarizado en presencia de un quelato de Gd de fórmula (1)

Se preparó una composición que era 15 mM en radical tritilo del Ejemplo 1, 1,5 mM en quelato de Gd de fórmula (1) y 3 mM en quelante correspondiente de fórmula (1a) disolviendo los compuestos mencionados anteriormente en

$^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico (164 μl). Se mezcló la composición hasta que se volvió homogénea, se colocó en un recipiente de retención de la sonda y se insertó en el polarizador de PND.

Como quelatos de Gd de fórmula (1), se usaron los siguientes compuestos:

- 5 quelato de Gd A: el quelato de Gd de fórmula (1) en la que n es 1, x es 1 y R es metilo;
 quelato de Gd B: el quelato de Gd de fórmula (1) en la que n es 1, x es 1 y R es *terc*-butilo;
 quelato de Gd C: el quelato de Gd de fórmula (1) en la que n es 3 y x es 0; y
 quelato de Gd D: el quelato de Gd de fórmula (1) en la que n es 1 y x es 0.

Los correspondientes quelantes de fórmula (1a) fueron:

- 10 quelante A: quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es metilo;
 quelante B: quelante de fórmula (1a), en la que n es 1, x es 1 y R es *terc*-butilo;
 quelante C: quelante de fórmula (1a), en la que n es 3 y x es 0; y
 quelante D: quelante de fórmula (1a), en la que n es 1 y x es 0.

La polarización PND y la medición de la polarización en estado sólido se llevaron a cabo según lo descrito en el Ejemplo 4.

- 15 Se midieron las polarizaciones máximas en estado sólido obtenidas y resultaron ser las siguientes para las composiciones que contenían:
 quelato de Gd A: polarización del 31 %
 quelato de Gd B: polarización del 29 %
 quelato de Gd C: polarización del 34 %
 quelato de Gd D: polarización del 34 %.

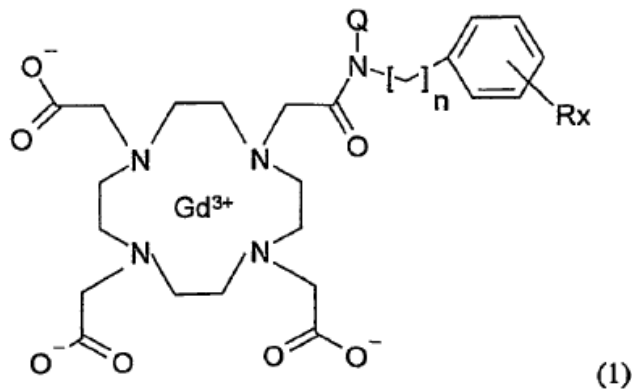
Por lo tanto, se pudo lograr una mejora de la polarización del aproximadamente 31-55 % en comparación con la polarización obtenida en el Ejemplo 4 mediante la adición de los quelatos de Gd de fórmula (1) a la composición por ser polarizada.

- 25 Se disolvieron las composiciones sólidas que comprendían el $^{13}\text{C}_1$ -ácido pirúvico hiperpolarizado usando un dispositivo de disolución de acuerdo con el documento WO-A-02/37132 en una solución acuosa de hidróxido de sodio, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) y DTPAB-MA (1,5 mM), dando lugar a una solución neutra de $^{13}\text{C}_1$ -piruvato de sodio hiperpolarizado. En serie con el dispositivo de disolución, se conectó una columna cromatográfica. La columna consistía en un cartucho (D = 38 mm; h = 10 mm) que contenía el material de empaquetamiento hidrófobo (Bondesil-C18, 40UM pieza N° 12213012) suministrado por Varian. Se hicieron pasar las soluciones a
 30 través de la columna que absorbió selectivamente el radical tritilo, los quelatos de Gd de fórmula (1) y los correspondientes quelantes. Tras la filtración, se analizaron las soluciones con un espectrofotómetro de UV a 469 nm y se determinaron las concentraciones del radical tritilo, los quelatos de Gd de fórmula (1) y los correspondientes quelantes residuales. Dichas concentraciones resultaron estar por debajo de límite de detección de 0,1 μM para el radical tritilo y de 10 μM para el quelato de Gd de fórmula (1) y los correspondientes quelantes.

35

REIVINDICACIONES

1. Quelato de Gd de fórmula (1):

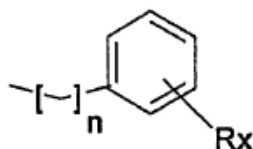


en la que

- 5 n es 1 a 10;
 x es 0 a 3;
 R es idéntico o diferente, y representa fluoro,

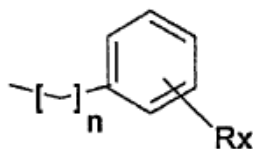
un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; y

- 10 Q es H, un grupo alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada, o un grupo cíclico aromático o no aromático que contiene de 5 a 10 átomos de carbono; o



en la que n, x y R son como se han definido anteriormente.

2. El quelato de Gd de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Q es H o



- 15 y R es idéntico o diferente, y es fluoro, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *terc*-butilo, ciclopentilo, ciclohexilo, metilciclopentilo, metilciclohexilo, bencilo, fenilo o toliolo.

3. El quelato de Gd de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que x es 1 y R está unido en la posición *para*, preferentemente, en el que R está unido en la posición *para* y es fluoro, metilo, isopropilo, isobutilo y *terc*-butilo.

- 20 4. El quelato de Gd de acuerdo con la reivindicación 1, en el que x es 0 y n es 1 a 5, preferentemente 1 a 3.

5. Composición que comprende un ácido carboxílico, un radical tritilo y el quelato de Gd de fórmula (1) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4.

6. Composición de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende además un quelante y/o un quelato de Ca.

7. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 y 6 para su uso en la polarización nuclear dinámica.

- 25 8. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 7, en la que el ácido carboxílico es un compuesto endógeno o un precursor del mismo, preferentemente, un compuesto endógeno o un precursor del mismo que participa en un

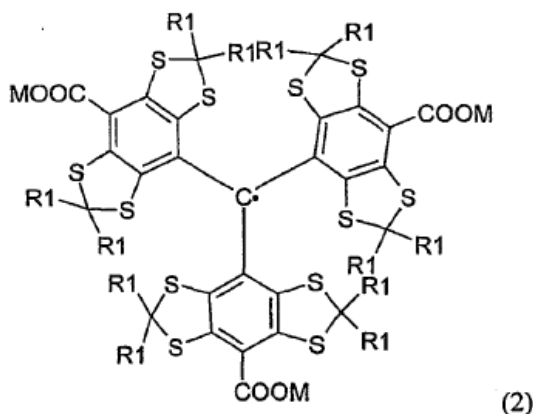
proceso metabólico del cuerpo humano o no humano.

9. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 8, en la que el ácido carboxílico es ácido maleico, ácido acético, ácido fumárico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido succínico, ácido oxaloacético, ácido láctico, ácido α -cetoglutarico, ácido nicotínico, alanina, glicina, cisteína, prolina, tirosina, sarcosina, GABA y homocisteína.

5 10. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 9, en la que el ácido carboxílico está enriquecido isotópicamente, preferentemente enriquecido con ^{15}N y/o ^{13}C , y más preferentemente enriquecido con ^{13}C .

11. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 10, en la que el radical tritilo es un radical estable en base a oxígeno, en base a azufre o en base a carbono.

12. Composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 11, en la que el radical tritilo es un radical de fórmula (2)



(2)

10

en la que

M representa hidrógeno o un equivalente de un catión; y

R1, que es el mismo o diferente, representa un grupo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, de cadena lineal o ramificada, o un grupo $-(\text{CH}_2)_n\text{-X-R}_2$,

15 en el que

n es 1, 2 o 3;

X es O o S; y

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

20 13. Composición que comprende un ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo, un radical tritilo, el quelato de Gd de fórmula (1) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4.

14. Composición de acuerdo con la reivindicación 13 que comprende además un quelante y/o un quelato de Ca.

15. Agente de polarización que comprende un radical tritilo y el quelato de Gd de fórmula (1) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4.

25 16. Agente de polarización de acuerdo con las reivindicaciones 15 para su uso en la polarización nuclear dinámica de ácidos carboxílicos.

17. Procedimiento de producción de un ácido carboxílico hiperpolarizado sólido, procedimiento que comprende preparar una composición que comprende el ácido carboxílico, un radical tritilo y el quelato de Gd de fórmula (1) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4 y llevar a cabo una polarización nuclear dinámica en la composición.

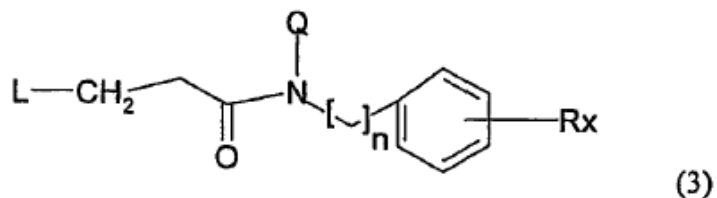
30 18. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 17, en el que el ácido carboxílico hiperpolarizado sólido obtenido es posteriormente licuado, dando lugar así a una composición líquida que comprende el ácido carboxílico hiperpolarizado o un derivado del mismo.

19. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 17 y 18, en el que dicha composición comprende además un quelante y/o un quelato de Ca.

35 20. Kit para su uso en la polarización nuclear dinámica que comprende instrucciones de uso y uno o más viales que contienen la composición de acuerdo con las reivindicaciones 5 a 12.

21. Procedimiento para producir el quelato de Gd de fórmula (1) de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4 mediante la reacción de

a) un derivado de DO3A con grupos carboxílicos protegidos en un disolvente y en presencia de una base con un compuesto de fórmula (3):



5

en la que L es un grupo saliente, y Q, n, x y R son como se define en las reivindicaciones 1 a 4;

b) la eliminación de los grupos de protección; y

c) hacer reaccionar el producto de reacción de la etapa b) con un compuesto de Gd^{3+} en un disolvente.