

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 520**

51 Int. Cl.:

**A61K 49/10** (2006.01)

**A61B 5/07** (2006.01)

**A61B 5/055** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.10.2006 PCT/US2006/039974**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2007 WO07044867**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2006 E 06836284 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 1933884**

54 Título: **Agentes de formación de imágenes y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

**11.10.2005 US 725439 P**

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

**14.02.2018**

73 Titular/es:

**HUNTINGTON MEDICAL RESEARCH INSTITUTES  
(100.0%)  
734 FAIRMONT AVENUE  
PASADENA, CA 91105, US**

72 Inventor/es:

**ROSS, BRIAN D. y  
BHATTACHARYA, PRATIP**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 654 520 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

Agentes de formación de imágenes y métodos de uso de los mismos

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a composiciones y métodos útiles en relación con imágenes por resonancia magnética.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10

La imagen por resonancia magnética ("RM") se ha convertido en una técnica bien aceptada y comúnmente utilizada para estudiar una amplia gama de procesos fisiológicos. Esta tecnología es útil en relación con el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad, y en el estudio más amplio de los sistemas biológicos. De hecho, muchos hospitales e instalaciones médicas cuentan con equipos de imágenes de RM in situ, y rutinariamente los utilizan para ayudar en

15

el diagnóstico y la monitorización de una diversidad de enfermedades y condiciones fisiológicas. Los agentes de contraste o las moléculas indicadoras se usan en relación con la imagen por RM, y una amplia gama de productos está disponible comercialmente para obtener imágenes de diversos sistemas.

20

La distribución de Boltzmann conduce a una baja relación señal/ruido ("SNR") en la espectroscopía de RM nuclear. Esto no ha limitado la aplicación de la espectroscopía de RM nuclear en química, donde el tiempo y las condiciones para adquirir un espectro es un problema menor. Sin embargo, en biología y particularmente en medicina, la espectroscopía de RM nuclear aún no ha alcanzado su máximo potencial, al menos en parte, debido a la limitación de tiempo asociada con el elevado número de transitorios requeridos para obtener un espectro bien resuelto del material biológico poco magnetizado a temperatura ambiente. Además, la imagen por RM y la espectroscopía de RM

25

siguen siendo costosas (solamente aproximadamente 15-20 pacientes por día, por instrumento) y están limitadas por la tolerancia del paciente. El alto coste de esta técnica también ha limitado su uso principalmente a las naciones desarrolladas; restringiendo de este modo su impacto social y humanitario.

30

El parahidrógeno se puede usar para crear núcleos altamente polarizados, que exceden la polarización de equilibrio térmico determinada por la distribución de Boltzmann en varios órdenes de magnitud. El fenómeno PASADENA (el parahidrógeno y la síntesis permite una alineación nuclear notablemente mejorada) descubierto en 1986 por Bowers y Weitekamp [C.R. Bowers y D.P. Weitekamp, Transformation of symmetrization order to nuclear-spin magnetization by chemical reaction and nuclear magnetic resonance, *Phys. Rev. Lett.*, 57(21):2645-2648 (1986); C.R. Bowers y D.P. Weitekamp, Parahydrogen and Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment, *J. Am. Chem. Soc.*, 109:5541-5542 (1987)] crea un orden de espín no equilibrado que puede transformarse en polarización. La primera aplicación biomédica de la técnica se informó en 2001 [K. Golman et al., Parahydrogen-induced polarization in imaging: subsecond (<sup>13</sup>C) angiography, *Magn. Reson. Med.*, 46:1-5 (2001)]. La transferencia de este orden de espín a la polarización de un heteronúcleo adecuado puede lograrse mediante un esquema de ciclado de campo diabático [*Id.*; J.H. Ardenkjaer-Larsen et al., Increase in signal-to-noise ratio of > 10,000 times in liquid-state NMR, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(18):10158-63 (2003); H. Johannesson et al., Transfer of para-hydrogen spin order into polarization by diabatic field cycling, *C. R. Physique*, 5:315-324 (2004)], o por pulsos RF, antes de la administración del agente de contraste a los sujetos.

35

40

El fenómeno PASADENA crea un orden de espín no equilibrado en segundos a temperaturas en estado líquido que pueden transformarse en polarización (P) cerca de la unidad. Es bien sabido [S. Forsen y R.A. Hoffman, Study of moderately rapid exchange reaction by means of nuclear magnetic double resonance, *J. Chem. Phys.*, 39: 2892-2901 (1963)] que P para un núcleo dado se conserva a través de reacciones químicas, relajándose hacia el valor de equilibrio con un tiempo característico  $T_1$  de hasta varias decenas de segundos para <sup>13</sup>C [R.R. Ernst et al., Principles of Magnetic Resonance in One and Two Dimensions, Oxford University Press (Oxford, Reino Unido; 1990)]. Por lo tanto, el establecimiento por cualquier método de alto valor de P permite que la mejora de sensibilidad correspondiente sea transportada a cualquier ubicación y especie química que se pueda alcanzar en esta escala de tiempo. Un trabajo reciente [K. Golman, et al., Molecular imaging using hyperpolarized <sup>13</sup>C, *British J. of Radiol.*, 76: S118-S127 (2003); P. Bhattacharya et al., Ultra fast Steady State Free Precession Imaging of Hyperpolarized <sup>13</sup>C In Vivo". *MAGMA*, 18.5, 245-256 (2005).] ha demostrado polarizaciones <sup>13</sup>C superiores al 20 % (P >0,2) para los productos emergentes de la adición molecular de dihidrógeno y la subsecunda imagen por RM de estos productos

45

50

55

60

después de la inyección arterial. Incluso después de tres veces  $T_1$ , tiempo suficiente para que una especie inyectada sea absorbida de la sangre y metabolizada, la polarización ha disminuido a  $P = 10^{-2}$ . Una espectroscopía de RM o secuencia de pulso en imagen iniciada en este momento proporciona una sensibilidad que es más de 10.000 veces mayor que la señal de la misma población de moléculas en equilibrio [J.H. Ardenkjaer-Larsen *et al.* en 10158]. Esto corresponde a una relación SNR útil para una única repetición de este experimento que de otra manera requerirá  $10^8$  repeticiones (al menos  $10^8$ s = 3 años).

Los estados de espín nuclear del hidrógeno se obtienen de los autoestados del hamiltoniano que describe un sistema de dos espines. Debido a su diferencia de desplazamiento químico en desvanecimiento, los protones están fuertemente acoplados, lo que da como resultado un sistema de espín A2 con tres estados de espín simétrico y un estado de espín antisimétrico. Debido a las propiedades mecánicas estadísticas cuánticas, los estados simétricos (ortohidrógeno) se correlacionan con estados rotacionales de valores impares, y los estados antisimétricos (parahidrógeno) con estados rotacionales con valores pares. Para tal conjunto de estados, el sistema se describe mejor utilizando el formalismo del operador de densidad. En el límite de temperatura alta hay una población igual de los cuatro estados de espín. A temperaturas suficientemente bajas domina la población del estado de rotación más bajo, y está presente un exceso de parahidrógeno.

Algunas tecnologías de imagen por RM se refieren al uso de agentes de contraste enriquecidos con el isótopo estable  $^{13}\text{C}$  (así como  $^{15}\text{N}$  y otros núcleos de imágenes) junto con la polarización PASADENA. A modo de ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 6.574.495, y patentes relacionadas con la misma, describen diversos aspectos de esta tecnología. Sin embargo, el potencial completo de la polarización PASADENA no se ha realizado hasta ahora en la imagen por RM. Solamente un pequeño puñado de moléculas indicadoras se han descrito completamente en la técnica, y las propiedades reactivas de estas moléculas in vivo no se han aprovechado.

En un ejemplo de un campo en el que la imagen por RM puede encontrar aplicación, entre los crecientes problemas de salud en nuestra sociedad está la muerte súbita debido a la oclusión de la arteria coronaria y al infarto de miocardio. Si bien esta fue predominantemente una enfermedad masculina de la cuarta y la quinta década, se ve cada vez más en mujeres y a menudo es "silenciosa"; es decir, las investigaciones cardíacas invasivas y no invasivas actuales no identifican el problema antes de una oclusión coronaria catastrófica. La creciente evidencia de enfermedad inflamatoria subyacente a los eventos clásicos de la aterosclerosis ha llevado al concepto de "placa vulnerable". La calcificación, que durante mucho tiempo se pensó que precedía la oclusión de la arteria coronaria, y la base de la tomografía por haz de electrones (EBT) como un "examen" de salud, ya no se considera el elemento importante en la oclusión coronaria. En cambio, la rápida acumulación de lípidos, células inflamatorias [Z.A. Fayad et al., Serial, noninvasive, in vivo magnetic resonance microscopy detects the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice and its progression by arterial wall remodeling, *J. Magn. Reson. Imag.*, 17(2):184-189 (2003)] y material friable en la superficie de la placa se demuestra genera trombos, que ocluyen elementos más pequeños del sistema de la arteria coronaria, aguas abajo. Los estudios de autopsia muestran que el ateroma se desarrolla desde una edad muy temprana. La identificación de la placa vulnerable in vivo proporcionaría un medio de identificación temprana de los sujetos en riesgo y un medio no invasivo para controlar las terapias preventivas. Las tecnologías actuales (por ejemplo, angiografía coronaria) observan el lumen del vaso, no la pared, y por lo tanto ofrecen poca orientación sobre la naturaleza de la placa. La oclusión, detectada en TC en espiral, EBT y otros métodos no invasivos es engañosa. A.P. Lin et al. 'Reduced glutamate neurotransmission in patients with Alzheimer's disease - an in vivo  $^{13}\text{C}$  magnetic resonance spectroscopy study *MAGMA*, 16:29-42 (2003), describen la IRM de pacientes con enfermedad de Alzheimer utilizando glucosa  $^{13}\text{C}$ . Por lo tanto, existe la necesidad de una tecnología rápida y eficiente para detectar la placa vulnerable in vivo. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica, por ejemplo, de una molécula precursora de PASADENA que se una a la placa aterosclerótica y permita la rápida detección de placa vulnerable en vasos coronarios del calibre más pequeño, in vivo.

En este sentido, sigue existiendo una gran necesidad en la técnica de moléculas indicadoras mejoradas para su uso en relación con la imagen por RM para una amplia gama de enfermedades y condiciones fisiológicas.

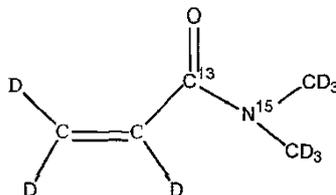
45

## RESUMEN DE LA INVENCION

En una realización, la invención incluye un método de imagen por resonancia magnética de un sujeto, que comprende: exponer un sujeto al que se ha administrado un agente de contraste preparado haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia complementaria en el sujeto, a la radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear del núcleo de espín nuclear distinto de cero en el agente de contraste; y detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero del sujeto. El núcleo de espín nuclear distinto de cero puede ser  $^{13}\text{C}$ . El sujeto puede ser un mamífero. Después de la administración, el agente de contraste puede interactuar bioquímicamente con la sustancia complementaria. El agente de contraste puede comprender  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina. La sustancia complementaria se puede seleccionar del grupo que consiste en una placa amiloide, una placa  $\beta$ -amiloide, acetilcolinesterasa, y combinaciones de las mismas. El precursor o sustrato puede seleccionarse del grupo que consiste en succinato hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbino hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa hiperpolarizada,

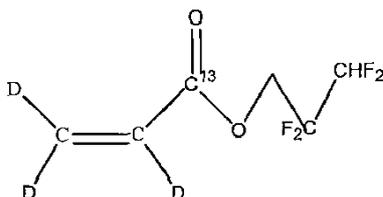
60

piruvato de fosfoenol, fumarato hiperpolarizado, succinato hiperpolarizado, glutamato hiperpolarizado, precursor hiperpolarizado de colina, precursor hiperpolarizado de curcumina, el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I:

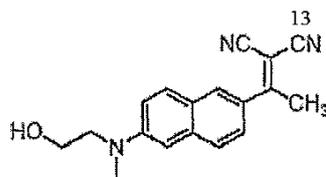


5

el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):

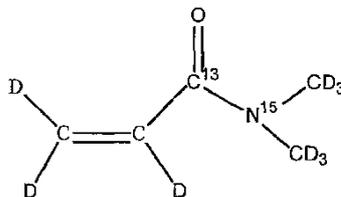


10 el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:

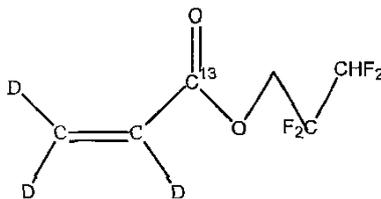


y combinaciones de los mismos. El precursor o sustrato puede ser deshidroglucosa hiperpolarizada y la sustancia  
 15 complementaria pueden ser neuronas. El precursor o sustrato puede ser piruvato de fosfoenol y la sustancia  
 complementaria pueden ser leucocitos. El precursor o sustrato puede ser fumarato hiperpolarizado, succinato  
 hiperpolarizado o una combinación de los mismos, y la sustancia complementaria pueden ser neuronas. El precursor  
 o sustrato puede ser glutamato hiperpolarizado y la sustancia complementaria pueden ser células inmunes. El  
 precursor o sustrato puede ser el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I y la sustancia complementaria pueden ser  
 20 células inmunes. El precursor o sustrato puede ser el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II y la sustancia  
 complementaria puede ser placa aterosclerótica y/o células madre.

En otra realización, la invención incluye un kit para imagen por resonancia magnética, que comprende: un agente de  
 contraste preparado haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido con parahidrógeno con un precursor de agente de  
 25 imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de  
 hidrógeno y distinto de cero, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia  
 complementaria en un sujeto; e instrucciones para administrar el agente de contraste al sujeto, exponer al sujeto a  
 radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear del núcleo de espín nuclear  
 distinto de cero en el agente de contraste, y detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear  
 30 distinto de cero del sujeto. El núcleo de espín nuclear distinto de cero puede ser <sup>13</sup>C. El sujeto puede ser un  
 mamífero. Después de la administración, el agente de contraste puede interactuar bioquímicamente con la sustancia  
 complementaria. El agente de contraste puede comprender <sup>15</sup>C-estilbamidina. La sustancia complementaria se  
 puede seleccionar del grupo que consiste en una placa amiloide, una placa β-amiloide, acetilcolinesterasa, y  
 35 hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbena hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa  
 hiperpolarizada, piruvato de fosfoenol, fumarato hiperpolarizado, succinato hiperpolarizado, glutamato  
 hiperpolarizado, precursor hiperpolarizado de colina, precursor hiperpolarizado de curcumina, el compuesto  
 hiperpolarizado de Fórmula I:

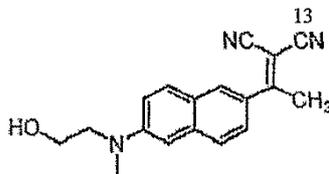


el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):



5

el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:

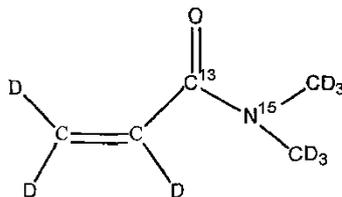


10

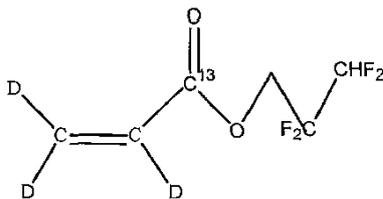
y combinaciones de los mismos.

En otra realización, la invención incluye un agente de contraste que comprende  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina para su uso en un método de diagnóstico y/o pronóstico de la enfermedad de Alzheimer en un mamífero, que comprende: administrar al mamífero un agente de contraste que comprende  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina preparado reaccionando hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con difenilacetileno, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a acetilcolinesterasa, placa amiloide y/o placa  $\beta$ -amiloide en el mamífero; exponer al mamífero a la radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear de un núcleo de espín nuclear distinto de cero en el agente de contraste; detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero del mamífero; y diagnosticar y/o pronosticar la enfermedad de Alzheimer en el mamífero basándose en las señales de resonancia magnética.

En otra realización, la invención incluye un dispositivo médico para su uso en relación con imágenes por resonancia magnética, que comprende: un dispositivo médico; y una cantidad de un agente de contraste impregnado o recubierto sobre el dispositivo médico, donde el agente de contraste se prepara haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, y el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia complementaria en un mamífero. El núcleo de espín nuclear distinto de cero puede ser  $^{13}\text{C}$ . El precursor o sustrato puede ser difenilacetileno, el agente de contraste puede comprender  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina, y la sustancia complementaria puede seleccionarse del grupo que consiste en una placa amiloide, una placa  $\beta$ -amiloide, acetilcolinesterasa, y combinaciones de las mismas. El precursor o sustrato puede seleccionarse del grupo que consiste en succinato hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbano hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa hiperpolarizada, piruvato de fosfoenol, fumarato hiperpolarizado, succinato hiperpolarizado, glutamato hiperpolarizado, precursor hiperpolarizado de colina, precursor hiperpolarizado de curcumina, el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I:

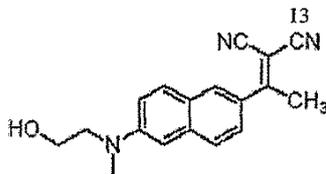


el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):



5

el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:



10

y combinaciones de los mismos.

Otras características y ventajas de la invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, tomada junto con las figuras adjuntas, que ilustran, a modo de ejemplo, diversas características de las realizaciones de la invención.

15

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las realizaciones ejemplares se ilustran en las figuras a las que se hace referencia.

20

La Figura 1 representa una subsegunda imagen  $^{13}\text{C}$  de una jeringa de 3 ml de sustrato  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizado, de acuerdo con una realización de la presente invención. Deterioro de la señal hiperpolarizada  $^{13}\text{C}$  a lo largo del tiempo. Los transcurros de tiempo de disminución de señal  $^{13}\text{C}$  medidos en  $^{13}\text{C}$  propionato de hidroxietilo y succinato sódico en unidades arbitrarias (a.u.) fueron similares.

25

La Figura 2 representa la valoración de la concentración de reactivo hiperpolarizado, de acuerdo con una realización de la presente invención. Se obtuvieron imágenes de jeringas de 3 ml de concentraciones tituladas de sustrato  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizado en la bobina de superficie con un espectro de 4,25 M de acetato marcado con  $1\text{-}^{13}\text{C}$  para servir como señal y espectro espacial de referencia. Se detectó una señal tan baja como 0,1 mM. A una concentración de 0,64 mM, la señal absoluta del reactivo PASADENA fue equivalente a 4,25 M de la señal  $^{13}\text{C}$  del espectro de referencia, confirmando así la mejora de la señal de más de 6.000 veces.

30

La Figura 3 representa la imagen tridimensional de roedores in vivo  $^{13}\text{C}$  en tiempo real con PASADENA, de acuerdo con una realización de la presente invención. Se administraron reactivos de formación de imágenes  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizados a través de la vena yugular, y las imágenes de RM  $^{13}\text{C}$  ultrarrápidas resultantes se visualizaron como superposición en imágenes de protones del mismo animal. La ventaja de las imágenes tridimensionales

35

FIESTA es la capacidad de reconstruir imágenes tridimensionales como se muestra en A) imágenes del catéter, así como varias porciones en el mismo experimento, demostrando así la mejora de B) los pulmones y C) el corazón.

La Figura 4 representa el transcurso temporal de  $^{13}\text{C}$  CSI del reactivo  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizado, de acuerdo con una realización de la presente invención.  $^{13}\text{C}$  CSI demuestra fácilmente la adquisición de la señal hiperpolarizada con el desplazamiento químico correcto (izquierda) y el aumento demostrable de SNR (derecha).

40

La Figura 5 representa, de acuerdo con una realización de la presente invención, a la izquierda:  $^{13}\text{C}$  IRM del reactivo  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizado inyectado en una cánula colocada en la entrada de la arteria femoral. La vena cava de la rata se puede ver mejorada en las imágenes  $^{13}\text{C}$ . Centro:  $^{13}\text{C}$  CSI del mismo experimento. La cuadrícula CSI se

superpone sobre una imagen  $^1\text{H}$  que demuestra la localización precisa de los datos CSI. CSI proporciona la información adicional del cambio químico. Derecha:  $^{13}\text{C}$  CSI adquirida con la primera inyección (arriba) y la segunda inyección tres minutos más tarde (abajo). Estos resultados demuestran que no solo se puede capturar información morfológica y química en diversas realizaciones de la presente invención, sino que también se puede capturar

5 información de series temporales dinámicas.

La Figura 6 representa, de acuerdo con una realización de la presente invención, (A) un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de 1- $^{13}\text{C}$ -succinato hiperpolarizado a partir de dicarboxilato de acetileno adquirido a 4.7T. Se usan 2,8 ml de una solución de 1- $^{13}\text{C}$ -acetato 4,4 M como referencia a  $\sim 182$  ppm. Un único espectro  $^{13}\text{C}$  RMN transitorio reveló una mejora de señal de  $\sim 4.400$  veces con respecto a la polarización de Boltzman. (B) Espectro  $^{13}\text{C}$  de la mezcla de reacción post-

10 hiperpolarizada en la polarización Boltzman, 128 transitorios.

La Figura 7 representa la imagen tridimensional in vivo  $^{13}\text{C}$  FIESTA de cerebro de rata con PASADENA a 1.5T, de acuerdo con una realización de la presente invención. Inyección de arteria carótida de 25 mM, 1,5 ml de succinato  $^{13}\text{C}$  hiperpolarizado en una rata.

La Figura 8 representa espectros de MAS  $^{13}\text{C}$  ex vivo de tejidos de cerebro (inferior) y de tumor cerebral (superior),  
15 de acuerdo con una realización de la presente invención. Se usaron 80 mg de tejido en cada experimento. Se muestra la imagen ponderada en T2 in vivo representativa del cerebro portador del tumor 9L. Los precursores  $^{13}\text{C}$ , succinato y maleato, así como los productos putativos del metabolismo tumoral, glutamina (Gln) y glutamato (Glu), se asignan en base a soluciones modelo. Ha de observarse la ausencia de enriquecimiento  $^{13}\text{C}$  en el tejido cerebral normal del mismo animal.

20 La Figura 9 representa un diagrama de un diseño experimental, de acuerdo con una realización de la presente invención. Una solución acuosa 25 mM de dicarboxilato de acetileno se hidrogena en el polarizador para producir 3 ml de productos de maleato y succinato, que luego se inyecta en la arteria carótida de la rata portadora del tumor 9L. Se cree que los productos hidrogenados llegan al cerebro y entran en el ciclo de TCA glial y neuronal para producir glutamina y glutamato como producto final in vivo.

25 La Figura 11 representa un precursor PASADENA, de acuerdo con una realización de la presente invención.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A menos que se defina lo contrario, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el  
30 mismo significado que entienden normalmente los expertos en la materia a los que se dirige la presente invención. Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2<sup>a</sup> ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 1994); March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4<sup>a</sup> ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 1992); y Sambrook y Russel, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3<sup>a</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2001), proporcionan a un experto en la técnica una guía general de  
35 muchos de los términos usados en la presente solicitud.

Un experto en la técnica reconocerá muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, que podrían usarse en la práctica de la presente invención. Para los fines de la presente invención, los siguientes términos se definen a continuación.

40

"Mamífero", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier miembro de la clase Mammalia, incluyendo seres humanos y primates no humanos tales como chimpancés y otros simios y especies de monos; animales de granja tales como ganado, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos como perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores tales como ratones, ratas y cobayas. El término no denota una  
45 edad o sexo en particular. Por lo tanto, los sujetos adultos y recién nacidos, así como los fetos, ya sean varones o mujeres, están destinados a ser incluidos dentro del alcance de este término.

La invención se basa en el uso de imágenes por resonancia magnética ("RM") junto con sustancias hiperpolarizadas para presentar una señal de RM solo desde el núcleo hiperpolarizado y desde el tejido o vaso al que puede entrar el  
50 núcleo. A modo de ejemplo, los tiempos y concentraciones calculados cuando un agente de contraste particular, desarrollado de acuerdo con una realización de la presente invención, alcanza diferentes partes del cuerpo humano se ilustra en la Figura 6. Más generalmente, la invención se refiere al uso de la técnica de polarización PASADENA para preparar agentes de contraste o moléculas indicadoras para la RM. Existen al menos dos aspectos funcionales de la tecnología de agente de contraste de la invención que se cree que representan mejoras sobre los agentes  
55 convencionales: (1) direccionamiento a moléculas complementarias en el cuerpo, y (2) procesamiento a través de rutas metabólicas naturales predeterminadas para producir moléculas indicadoras. Se cree que la polarización PASADENA no se ha empleado previamente en la técnica en relación con estos enfoques bioquímicamente funcionales.

60 En una realización, una molécula indicadora de la invención se dirige al menos a una molécula complementaria en el

cuerpo. Las moléculas indicadoras convencionales simplemente se dispersan dentro del cuerpo (por ejemplo, a lo largo de la circulación cardiovascular). Sin embargo, en una realización, las moléculas indicadoras de la presente invención están configuradas para interactuar bioquímicamente con, y por lo tanto, dirigirse (por ejemplo, unirse) a moléculas específicas in vivo. Un experto en la técnica puede emplear fácilmente una técnica de polarización PASADENA en relación con una molécula de interés para preparar un agente de contraste que se comporte de esta manera, y que esté dirigido a una molécula específica o grupo de moléculas.

A modo de ejemplo, en una realización particular de la invención, los inventores han identificado un precursor de estilbeno (difetilacetileno) que, cuando está enriquecido apropiadamente con el isótopo estable  $^{13}\text{C}$  junto con polarización PASADENA, produce una molécula indicadora ( $^{13}\text{C}$ -etilbamidina) adecuada para su uso como una molécula indicadora en relación con diversas realizaciones de la presente invención. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, se cree que la molécula  $^{13}\text{C}$ -etilbamidina posee varias características importantes para la RM, especialmente en relación con el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, y en otras condiciones fisiológicas en las que la naturaleza y extensión de la placa en el cerebro es relevante. Se cree que esta molécula cruza la barrera hematoencefálica con relativa facilidad; algo que no es posible con muchas moléculas indicadoras disponibles comercialmente de mayor tamaño molecular. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, se cree además que la molécula  $^{13}\text{C}$ -etilbamidina se dirige a dos elementos relevantes para la patología de Alzheimer: (1) el receptor de acetilcolina, acetilcolinesterasa (la acetilcolina es un neurotransmisor que se sabe que es deficiente en ciertas áreas del cerebro en pacientes con Alzheimer), y (2) placa  $\beta$ -amiloide (los individuos con enfermedad de Alzheimer producen péptidos amiloidogénicos en el cerebro, lo que da como resultado la formación de placas amiloides que se cree que son uno de los problemas fundamentales de la enfermedad). Se cree que la molécula  $^{13}\text{C}$ -etilbamidina imparte una mejora de imagen de  $^{13}\text{C}$  RM drástica; logrando un aumento de hasta 10.000 veces en la sensibilidad en comparación con los productos disponibles.

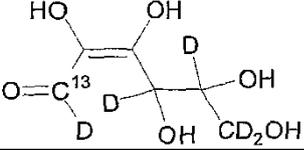
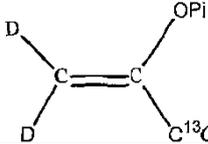
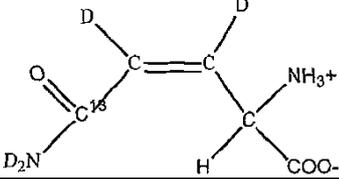
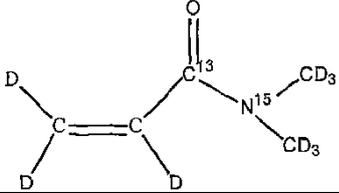
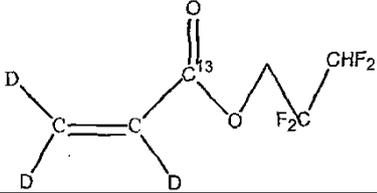
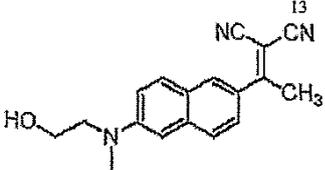
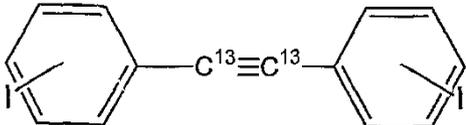
En otra realización, la presente invención se refiere a moléculas indicadoras que, una vez administradas a un sujeto (por ejemplo, un mamífero), se procesan a través de una ruta metabólica natural predeterminada para producir una o más moléculas que se convierten en el agente de contraste para imagen por RM. Este aspecto de la invención se basa en el hecho de que dicho procesamiento metabólico no interrumpe la polarización de la molécula indicadora; más bien, la polarización puede conservarse a través del proceso metabólico, y las moléculas indicadoras aguas abajo siguen siendo de ese modo adecuadas para su uso en relación con las imágenes por RM. Un experto en la técnica puede identificar fácilmente moléculas adecuadas que pueden usarse en relación con este aspecto de la presente invención; dichas moléculas pueden seleccionarse basándose, entre otras cosas, en la ruta metabólica de interés y la capacidad de la molécula para preservar su polarización a través del proceso metabólico.

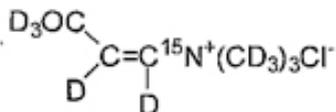
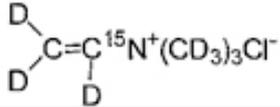
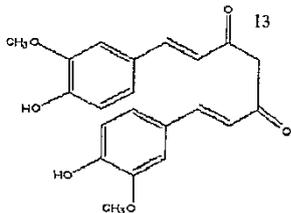
Una amplia gama de moléculas indicadoras producidas con la técnica PASADENA mencionada anteriormente son útiles en relación con realizaciones alternativas de la presente invención, como reconocerán fácilmente los expertos en la técnica. Algunas de estas moléculas se describen en la Patente de Estados Unidos N.º 6.574.495, y, en relación con la presente invención, pueden seleccionarse o modificarse adicionalmente para implementar o incorporar las características funcionales descritas anteriormente.

De acuerdo con una realización de la presente invención, se identifican moléculas para introducir parahidrógeno en sistemas biológicos. Las cualidades deseables de los precursores de estos agentes de contraste pueden incluir una o más de las siguientes: (1) un enlace insaturado adecuado para la hidrogenación por adición molecular; (2) la escala de tiempo de la reacción de hidrogenación es más corta que los tiempos de relajación de la estructura reticulada de espín de los intermedios y productos; (3) núcleo  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  enriquecido con acoplamiento escalar a los protones añadidos; (4) solubilidad en agua y no toxicidad para mamíferos (por ejemplo, seres humanos); (5) se puede introducir en un sistema biológico específico de forma segura y rápida antes de la relajación apreciable de la estructura reticulada de espín; (6) es fácilmente obtenible o puede sintetizarse de una manera rentable. A modo de ejemplo, la Tabla 1 ilustra varias moléculas precursoras junto con sus moléculas de sustrato (y objetivos biomoleculares anticipados) de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención.

Tabla 1

| Precusores PASADENA | Moléculas de sustrato (Objetivo biomolecular) |
|---------------------|---|
|                     | Succinato hiperpolarizado (Neurona)           |
|                     | Glucosa hiperpolarizada (Neurona)             |

|   |   |
|---|---|
|    |   |
|    | <p>Fosfoenol piruvato (Leucocitos)</p>  |
|    | <p>Fumarato hiperpolarizado, Succinato (Neurona)</p>  |
|    | <p>Glutamato hiperpolarizado (células inmunes)</p>  |
|   | <p>Precursor N<sup>15</sup> hiperpolarizado (células inmunes)</p>   |
|  | <p>Reactivo hiperpolarizado (placa aterosclerótica, células madre)</p>  |
|  | <p>Precursor hiperpolarizado (marcador químico para enfermedad de Alzheimer)</p>  |
|  | <p>Familia de análogo de estilbeno hiperpolarizado y funcionalizado (marcador químico de placas amiloides, enfermedad de Alzheimer)</p> |
|   | <p>Precursor hiperpolarizado de colina (marcador de cáncer)</p>   |

|  |   |
|--|---|
| <br> |   |
|   | <p>Precursor hiperpolarizado de curry en polvo (curcumina) (marcador químico para la enfermedad de Alzheimer)</p> |

La presente invención también se dirige a métodos de formación de imágenes de diversas sustancias en el cuerpo proporcionando una cantidad de una molécula indicadora o un precursor de molécula indicadora, introduciendo una cantidad suficiente de la misma en un sujeto y, a continuación, formación de imágenes de una sustancia diana. En diversas realizaciones de la presente invención; los métodos de formación de imágenes mencionados anteriormente se pueden usar en relación con una gama de aplicaciones, incluyendo el diagnóstico/pronóstico de la enfermedad u otras condiciones fisiológicas y el estudio de sistemas biológicos. En diversas realizaciones, las composiciones de agente de contraste utilizadas por los presentes métodos de la invención pueden incluir un excipiente farmacéuticamente aceptable. "Excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y deseable, e incluye excipientes que son aceptables para uso veterinario, así como para uso farmacéutico humano. Dichos excipientes pueden ser sólidos, líquidos, semisólidos o, en el caso de una composición en aerosol, gaseosos.

En diversas realizaciones, las composiciones de agente de contraste de acuerdo con la invención pueden formularse para su administración a través de cualquier ruta de administración. "Ruta de administración" puede referirse a cualquier vía de administración conocida en la técnica, incluyendo aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica o parenteral. "Parenteral" se refiere a una vía de administración generalmente asociada a la inyección, incluyendo intraorbital, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardiaca, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar, intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterina, intravenosa, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, transmucosa o transtraqueal. A través de la ruta parenteral, las composiciones del agente de contraste pueden estar en forma de soluciones o suspensiones para infusión o para inyección, o como polvos liofilizados.

Las composiciones de acuerdo con la invención también pueden contener cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable. "Vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento, se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable que está involucrado en el transporte de un compuesto de interés de un tejido, órgano, o porción del cuerpo a otro tejido, órgano, o porción del cuerpo. Por ejemplo, el vehículo puede ser una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente, o material de encapsulación, o una combinación de los mismos. Cada componente del vehículo debe ser "farmacéuticamente aceptable" ya que debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación. También debe ser adecuado para su uso en contacto con cualquier tejido u órgano con el que pueda entrar en contacto, lo que significa que no debe conllevar riesgo de toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad, o cualquier otra complicación que supere con creces sus beneficios terapéuticos.

Las composiciones de agente de contraste de acuerdo con la invención también se pueden encapsular, comprimir o preparar en una emulsión o jarabe para administración oral. Pueden añadirse vehículos sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables para potenciar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, glicerina, solución salina, alcoholes y agua. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio, dihidrato, terra alba, estearato

de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, goma arábiga, agar o gelatina. El vehículo también puede incluir un material de liberación sostenida tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, en solitario o con una cera.

5 Además de la técnica PASADENA, las composiciones de agente de contraste se preparan siguiendo las técnicas convencionales de farmacia que implican molienda, mezcla, granulación y compresión, cuando es necesario, para formas de comprimido; o molienda, mezcla y carga para formas de cápsula de gelatina dura. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará en forma de un jarabe, elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. Tal formulación líquida se puede administrar directamente p.o. o cargarse en una cápsula de gelatina blanda.

10

Las composiciones de agente de contraste de acuerdo con la invención pueden administrarse en una cantidad suficiente para realizar su propósito. La cantidad terapéuticamente efectiva precisa es la cantidad de la composición que producirá los resultados más eficaces en términos de eficacia de formación de imágenes en un sujeto dado.

Esta cantidad variará dependiendo de una diversidad de factores, incluyendo las características de la molécula

15 indicadora (incluyendo actividad, farmacocinética, farmacodinámica y biodisponibilidad), la condición fisiológica del sujeto (incluyendo edad, sexo, tipo de enfermedad y fase, estado físico general), capacidad de respuesta a una dosificación dada, y tipo de molécula indicadora, la naturaleza del vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables en la formulación, y la vía de administración. Un experto en las técnicas clínicas y farmacológicas podrá determinar una cantidad eficaz a través de la experimentación de rutina, por ejemplo, controlando la respuesta de un

20 sujeto a la administración de un compuesto y ajustando la dosis en consecuencia. Para una orientación adicional, véase Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20ª edición, Williams & Wilkins PA, Estados Unidos) (2000).

La presente invención también se refiere a un kit para su uso en relación con la formación de imágenes por RM. El  
25 kit es un conjunto de materiales o componentes, incluyendo al menos una de las composiciones de agente de contraste de la invención; más específicamente, una composición que comprende una cantidad de al menos una de las moléculas indicadoras de la invención, como se ha descrito anteriormente.

La naturaleza exacta de los componentes configurados en el kit de la invención depende del propósito previsto del  
30 kit. Por ejemplo, algunas realizaciones se configuran con el fin de diagnosticar enfermedades específicas, mientras que otras son útiles en relación con el estudio de procesos biológicos no relacionados con las necesidades de atención médica (por ejemplo, estudiar rutas metabólicas). En una realización, el kit está configurado particularmente con el propósito de diagnosticar o pronosticar una afección médica en un sujeto mamífero. En otra realización, el kit está configurado particularmente con el propósito de diagnosticar o pronosticar sujetos humanos.

35

Las instrucciones de uso se pueden incluir en el kit. Las "instrucciones de uso" típicamente incluyen una expresión tangible que describe la técnica a emplear en el uso de los componentes del kit para realizar un resultado deseado, tal como para diagnosticar o pronosticar una condición fisiológica. En relación con diversas realizaciones de la presente invención, las instrucciones de uso pueden incluir instrucciones para administrar una cantidad de una  
40 molécula indicadora inventiva a un sujeto mamífero, y luego implementar una técnica de imágenes por RM para obtener información de diagnóstico o pronóstico sobre el sujeto.

Opcionalmente, el kit también contiene otros componentes útiles, tales como, diluyentes, tampones, vehículos farmacéuticamente aceptables, jeringas, catéteres, aplicadores, herramientas de pipeteo o medición, materiales de  
45 vendaje u otra parafernalia útil, como se reconocerá fácilmente por los expertos en la técnica.

Los materiales o componentes ensamblados en el kit se pueden proporcionar al especialista almacenados de cualquier manera conveniente y adecuada que preserve su operabilidad y utilidad. Por ejemplo, los componentes pueden estar en forma disuelta, deshidratada o liofilizada; se pueden proporcionar a temperatura ambiente,  
50 refrigerada o congelada. Los componentes están típicamente contenidos en el material o materiales de envasado adecuados. Como se emplea en el presente documento, la expresión "material de envasado" se refiere a una o más estructuras físicas usadas para alojar el contenido del kit, tales como composiciones de la invención. El material de envasado se construye por métodos bien conocidos, preferiblemente para proporcionar un entorno estéril, libre de contaminantes. Como se usa en el presente documento, el término "envase" se refiere a una matriz sólida o material  
55 adecuado tal como vidrio, plástico, papel, papel de aluminio, capaz de contener los componentes del kit individual. Por lo tanto, por ejemplo, un envase puede ser un vial de vidrio usado para contener cantidades adecuadas de una composición de la invención que incluye una cantidad de una o más moléculas indicadoras. El material de envasado generalmente tiene una etiqueta externa que indica el contenido y/o el propósito del kit y/o sus componentes.

60 Todavía otras realizaciones de la presente invención se dirigen a la tecnología de descubrimiento de fármacos

usando las composiciones de agente de contraste de la invención. Las composiciones de agente de contraste de la invención se pueden usar, por ejemplo, en relación con ensayos en animales de nuevos compuestos terapéuticos para estudiar la eficacia de los compuestos u otras propiedades fisiológicas de interés en la selección de candidatos farmacológicos o en la acumulación de otro modo de información valiosa sobre un compuesto terapéutico particular.

- 5 Los expertos en la técnica podrán determinar fácilmente las técnicas y los protocolos para hacerlo, y pueden implementarse sin excesiva experimentación.

- En una realización alternativa adicional de la invención, se puede incorporar una molécula indicadora  $^{13}\text{C}$ -PASADENA de la presente invención en un catéter u otro dispositivo o instrumento médico, dando como resultado  
 10 una señal del catéter, dispositivo o instrumento (como se usa en el presente documento, cada uno de estos términos está dentro del alcance del "dispositivo médico"). Esto puede proporcionar un método de visualización in vivo del dispositivo médico que contiene la molécula indicadora hiperpolarizada. Existe una amplia diversidad de aplicaciones de tal realización de la presente invención, incluyendo la colocación y/o el posicionamiento de dichos dispositivos médicos en un mamífero (por ejemplo, durante un procedimiento quirúrgico). La molécula indicadora de  
 15 la invención puede incorporarse en un dispositivo médico mediante técnicas conocidas, tal como impregnando y/o recubriendo al menos una parte del material usado para construir el dispositivo médico con una cantidad de la molécula indicadora.

### EJEMPLO

20

*Preparación de molécula indicadora para la formación de imágenes de placas vulnerables*

- En una realización de la presente invención, se sintetiza un precursor PASADENA con materiales de partida comercialmente disponibles: acrilato de hidroxietilo, glicerol y fluoro-alcoholes. La síntesis inicial se realiza mediante  
 25 materiales de partida no enriquecidos para, por ejemplo, reducir el coste de la síntesis global. El precursor puede ser particularmente eficaz en la formación de imágenes de placas vulnerables, basándose en su interacción biomolecular con el mismo, y puede tener la fórmula química ilustrada en la Figura 11.

- Para alcanzar las bajas temperaturas requeridas para obtener una gran fracción de parahidrógeno, se puede usar un  
 30 criofriador de helio de 3 kW de circuito cerrado. El parahidrógeno puede producirse haciendo pasar gas hidrógeno normal a través de un catalizador a una temperatura de aproximadamente 14 K. La velocidad de producción puede ser de aproximadamente un cilindro de siete litros lleno a una presión de aproximadamente 30 bar en una hora. El gas resultante puede consistir en más de aproximadamente el 95 % de parahidrógeno, y después puede usarse en una reacción de hidrogenación para producir un agente de formación de imágenes.

35

- El gas parahidrógeno se puede usar en una reacción química (hidrogenación) para producir un agente de contraste en relación con una realización de la presente invención. Para preservar la correlación de espín entre los protones inmediatamente después de la hidrogenación (Figura 3), se puede usar un catalizador, tal como un catalizador de rodio, para transferir los protones como una unidad sobre el sustrato, sin mezclar. La eliminación de rodio tóxico  
 40 puede ser deseable para hacer que la técnica de la invención sea adecuada para aplicaciones biomédicas. Las resinas de intercambio catiónico y aniónico se pueden usar para eliminar por filtración los complejos de rodio de la solución inmediatamente antes de la inyección en los sistemas biológicos (es decir, por debajo del límite de exposición permisible de OSHA de  $0,1 \text{ mg/m}^3$ ). La química puede tener lugar a una temperatura de aproximadamente  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  en un reactor en el que se inyecta una solución que contiene sustrato y catalizador, durante  
 45 aproximadamente dos segundos, en una atmósfera de gas parahidrógeno.

- Como apreciará por un experto en la técnica, si un sustrato que está hidrogenado contiene N núcleos con espín distinto de cero, el operador de densidad resultante para el sistema de espín total después de la hidrogenación con parahidrógeno puede ser bastante diferente de aquel que se obtiene para el mismo sistema en equilibrio térmico. El  
 50 operador de densidad del sustrato se puede aproximar por el operador de unidad, y el operador de densidad total puede darse por el producto directo (tensor) con el operador de densidad de parahidrógeno. Debido a que el operador de densidad total puede no ser diagonal en la base de autoestado del hamiltoniano, los elementos fuera de diagonal pueden oscilar en función del tiempo. Esto puede dar como resultado en la mayoría de los casos en la desaparición de los elementos fuera de diagonal y, por lo tanto, una modificación del operador de densidad.

55

- Sin tratamiento adicional, el sistema de espín no es adecuado para la formación de imágenes ya que el espectro de RM nuclear muestra picos que tienen una relación antifase. El orden de espín de los protones primero debe convertirse en polarización de los núcleos de carbono. Un reactor puede colocarse dentro de una bobina de solenoide con una intensidad de campo magnético cercana a aproximadamente 1,76 mT. Se puede colocar una  
 60 bobina de desviación no sintonizada para transmitir pulsos de RF polarizados linealmente entre la bobina de

solenoides y el reactor. La intensidad B1 puede corresponder a un pulso de protones de 90 grados (cuadrado) de 0,0879 ms y un pulso de carbono correspondiente de 0,1724 ms. Los pulsos se pueden generar en MATLAB, y se pueden muestrear a una frecuencia de 300 kHz. Las frecuencias de Larmor de carbono y protón son 19 kHz y 75 kHz respectivamente en este campo.

5

La secuencia de pulsos puede iniciarse tan pronto como comience el proceso de hidrogenación, con un desacoplamiento de protones que dura aproximadamente 4 segundos. El propósito del desacoplamiento de protones es preservar la correlación de espín entre los protones, evitando así la cancelación de los términos fuera de diagonal en el operador de densidad. La ganancia es doble. En primer lugar, los protones se ven obligados a permanecer en el estado singlete por lo que su relajación dipolar mutua se reduce. En segundo lugar, este estado tiene una entropía más baja, lo que permite obtener una mayor polarización para los núcleos de carbono.

Los tiempos de retardo (por ejemplo, tres) usados en la secuencia de impulsos dependen de los acoplamientos escalares mutuos entre los protones y el carbono. La secuencia de pulsos, después del desacoplamiento de protones, se puede dividir, por ejemplo, en dos partes. La primera parte puede incluir dos períodos de evolución divididos por un pulso de 180 grados sobre el carbono que transforma el operador de densidad en una forma intermedia. La segunda parte puede transformar esta forma intermedia, usando un pulso inicial de 90 grados en cuadratura y un período de evolución posterior, en una magnetización de carbono transversal a lo largo del eje y. Un pulso final de 90 grados a lo largo del eje x produce la magnetización longitudinal deseada. La polarización de carbono teórica, asumiendo la hidrogenación con para-hidrógeno puro y despreciando la relajación, es del 98,6 % usando esta secuencia de pulsos.

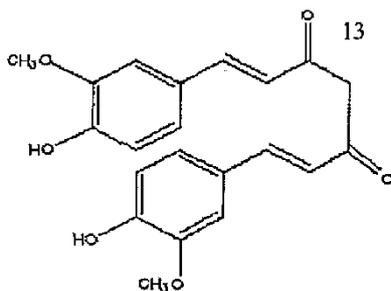
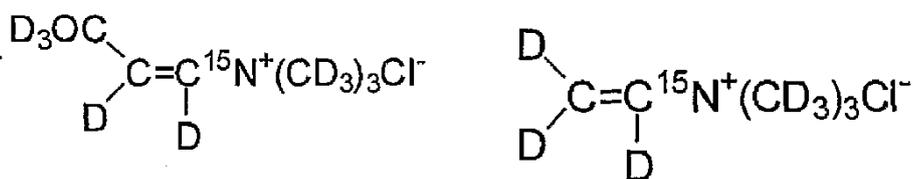
Los pulsos de reenfoque, simultáneos tanto en protón como en carbono para permitir la evolución de acoplamientos escalares, pueden ser pulsos cuadrados simples, mientras que los pulsos de desacoplamiento de protones y los pulsos de carbono restantes pueden ser pulsos de banda ancha con, por ejemplo, una excitación homogénea y buen control de fase. Todos los equipos pueden estar integrados en un único gabinete con control de temperatura, divididos en compartimentos donde tienen lugar las diferentes etapas del proceso (Figura 4). Las válvulas y los pulsos de RF pueden controlarse por ordenador, usando un software (por ejemplo, escrito en LabView). Se puede obtener una polarización  $^{13}\text{C}$  igual al 44 %, que es aproximadamente la mitad de la polarización predicha por la teoría (Figura 5). Esta discrepancia se debe tanto a la relajación como a la falta de control de fase completo de los pulsos de RF.

REIVINDICACIONES

1. Un método de imágenes por resonancia magnética de un sujeto, que comprende:

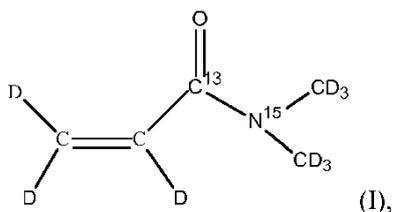
- 5 exponer un sujeto, al que se ha administrado un agente de contraste preparado haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia complementaria en el sujeto, a la radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear del núcleo de espín
- 10 nuclear distinto de cero en el agente de contraste; y  
 detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero del sujeto, donde el precursor o sustrato se selecciona del grupo que consiste en succinato hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbena hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa hiperpolarizada, piruvato de fosfoenol, fumarato hiperpolarizado, glutamato hiperpolarizado,

15



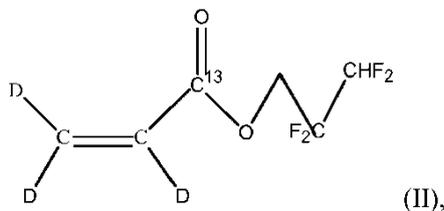
el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I:

20

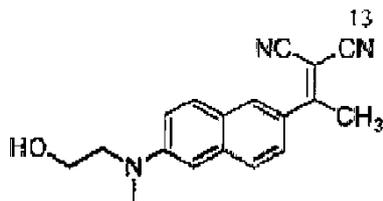


el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):

25



el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:



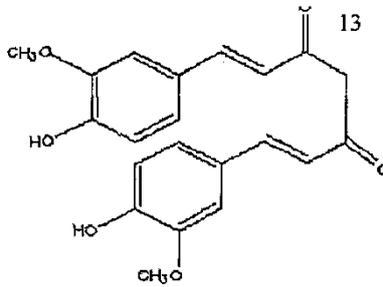
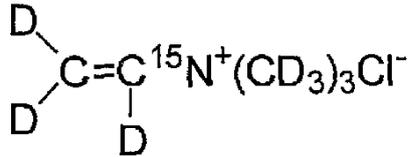
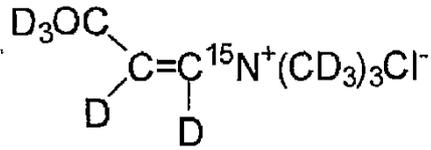
(III),

y combinaciones de los mismos.

- 5 2. El método de la reivindicación 1, donde el núcleo de espín nuclear distinto de cero es  $^{13}\text{C}$ .
3. El método de la reivindicación 1, donde el sujeto es un mamífero.
4. El método de la reivindicación 1, donde, después de la administración, el agente de contraste  
10 interactúa bioquímicamente con la sustancia complementaria en el sujeto.
5. Un método de imágenes por resonancia magnética de un sujeto, que comprende:
  - 15 exponer un sujeto, al que se ha administrado un agente de contraste preparado haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia complementaria en el sujeto, a la radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear del núcleo de espín nuclear distinto de cero en el agente de contraste; y
  - 20 detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero del sujeto, donde el agente de contraste es  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina y el precursor o sustrato es un precursor hidrogenable que comprende  $^{13}\text{C}$ .
  6. El método de la reivindicación 1, donde la sustancia complementaria se selecciona del grupo que  
25 consiste en una placa amiloide, una placa  $\beta$ -amiloide, acetilcolinesterasa, y combinaciones de las mismas.
  7. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es deshidroglucosa hiperpolarizada y la sustancia complementaria son neuronas.
  - 30 8. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es fosfoenol piruvato y la sustancia complementaria son leucocitos.
  9. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es fumarato hiperpolarizado, succinato hiperpolarizado, o una combinación de los mismos, y la sustancia complementaria son neuronas.
  - 35 10. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es glutamato hiperpolarizado y la sustancia complementaria son células inmunes.
  11. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es el compuesto hiperpolarizado de  
40 Fórmula I y la sustancia complementaria son células inmunes.
  12. El método de la reivindicación 1, donde el precursor o sustrato es el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II y la sustancia complementaria es la placa aterosclerótica y/o células madre.
  - 45 13. Un kit para imágenes por resonancia magnética, que comprende:
    - un agente de contraste preparado haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia  
50 complementaria en un sujeto; e
    - instrucciones para administrar el agente de contraste al sujeto, exponer al sujeto a radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear del núcleo de espín nuclear distinto de cero en el agente de contraste, y detectar señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero del sujeto;

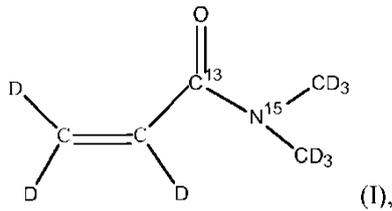
donde el precursor o sustrato se selecciona del grupo que consiste en succinato hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbeno hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa hiperpolarizada, piruvato de fosfoenol, fumarato hiperpolarizado, glutamato hiperpolarizado,

5

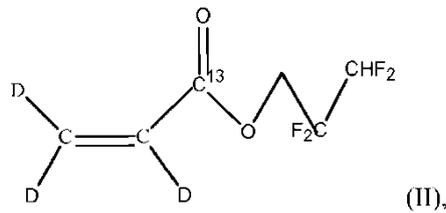


10

el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I:

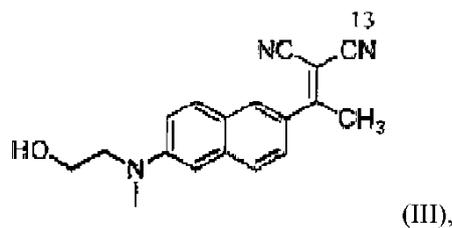


15 el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):



el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:

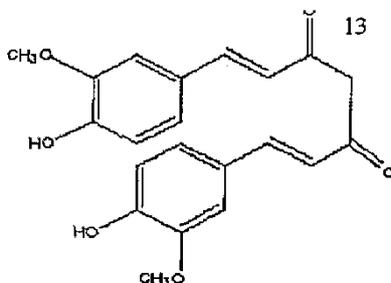
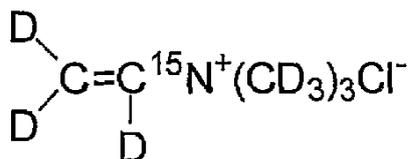
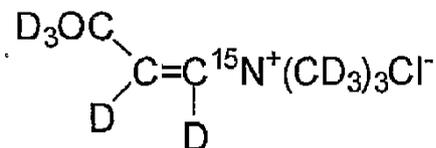
20



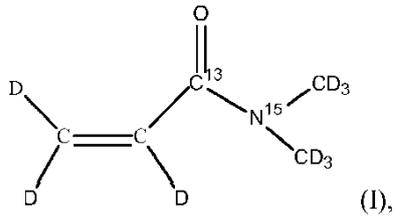
y combinaciones de los mismos.

14. El kit de la reivindicación 13, donde los agentes de contraste son como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-6.
15. El kit de la reivindicación 13, donde el sujeto es un mamífero.
16. Un agente de contraste que comprende  $^{13}\text{C}$ -estilbamidina para su uso en el diagnóstico y/o pronóstico de la enfermedad de Alzheimer en un mamífero, donde el agente de contraste está adaptado para su administración al mamífero; donde el agente de contraste se prepara haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con difenilacetileno; donde el agente de contraste está adaptado para dirigirse a acetilcolinesterasa, placa amiloide y/o placa  $\beta$ -amiloide en el mamífero; donde el mamífero está adaptado para exponerse a la radiación de una frecuencia seleccionada para excitar las transiciones de espín nuclear de un núcleo de espín nuclear distinto de cero en el agente de contraste; donde las señales de resonancia magnética del núcleo de espín nuclear distinto de cero se detectan del mamífero; y donde la enfermedad de Alzheimer en el mamífero se diagnostica y/o se diagnostica en base a las señales de resonancia magnética.
17. Un dispositivo médico para su uso en relación con imágenes por resonancia magnética, que comprende:  
un dispositivo médico; y  
25 una cantidad de un agente de contraste impregnado o recubierto sobre el dispositivo médico, donde el agente de contraste se prepara haciendo reaccionar hidrógeno enriquecido en parahidrógeno con un precursor de agente de imagen por resonancia magnética hidrogenable o sustrato que comprende un núcleo de espín nuclear distinto de hidrógeno y distinto de cero, y el agente de contraste está adaptado para dirigirse a una sustancia complementaria en un mamífero;  
30 donde el precursor o sustrato se selecciona del grupo que consiste en succinato hiperpolarizado, difenilacetileno hiperpolarizado, estilbena hiperpolarizado, glucosa hiperpolarizada, deshidroglucosa hiperpolarizada, fosfoenol piruvato, fumarato hiperpolarizado, glutamato hiperpolarizado,

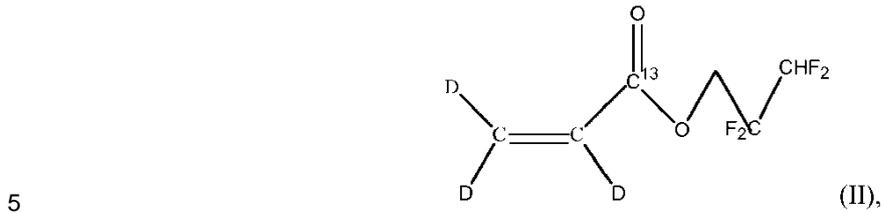
35



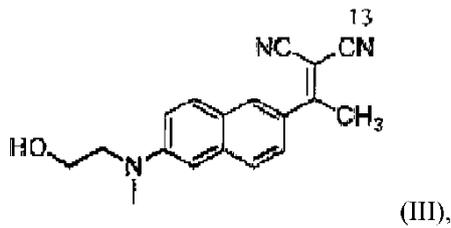
40 el compuesto hiperpolarizado de Fórmula I:



el compuesto hiperpolarizado de Fórmula II (acrilato de 2,2,3,3-tetrafluoro-propilo ("TFPA")):



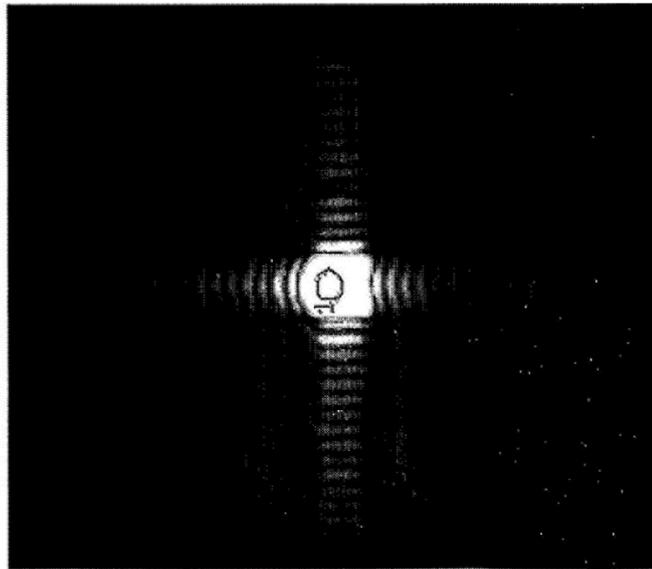
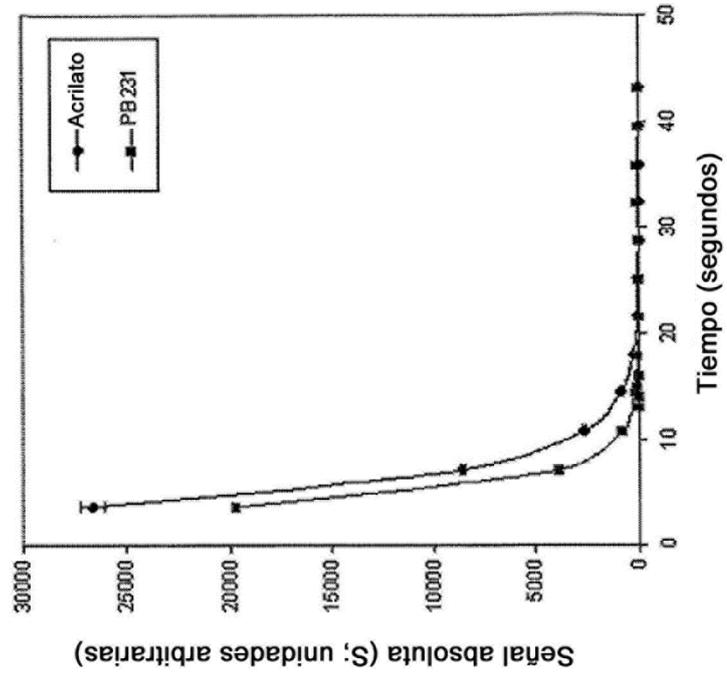
el compuesto hiperpolarizado de Fórmula III:



10 y combinaciones de los mismos.

18. El dispositivo médico de la reivindicación 17, donde el agente de contraste es como se ha definido en la reivindicación 2.

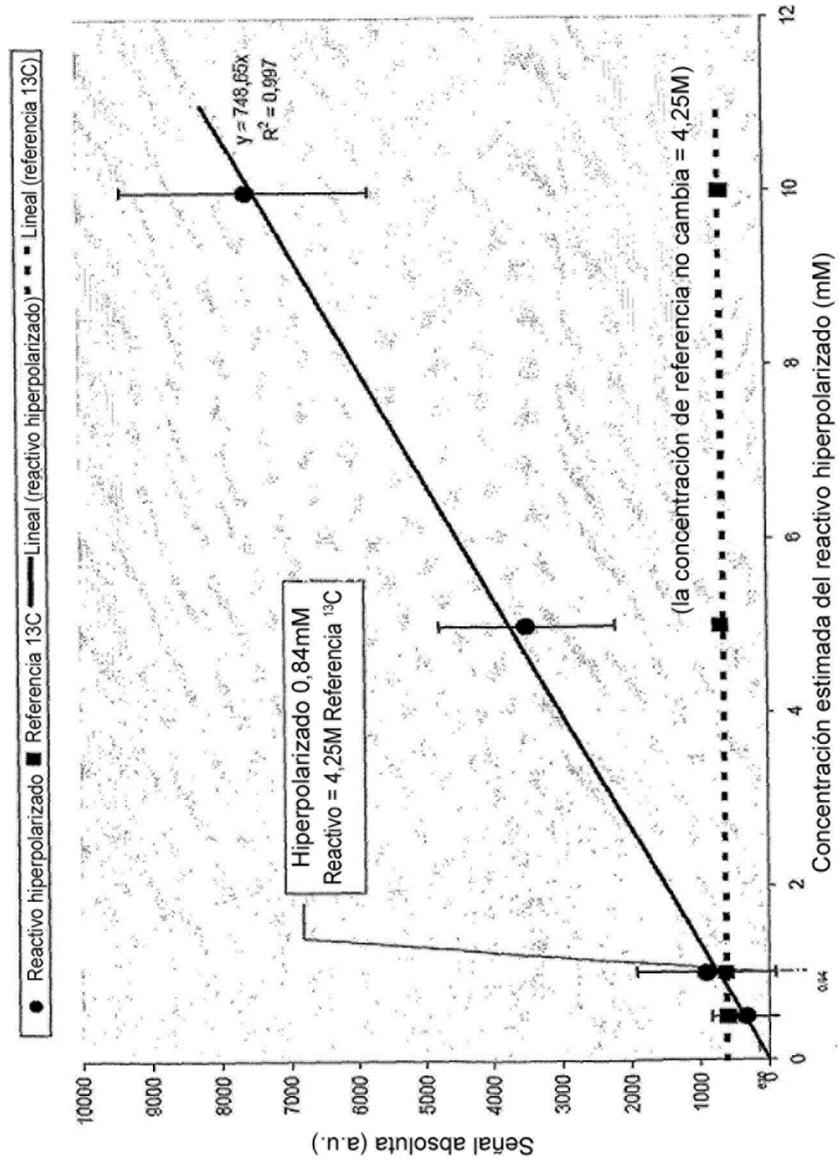
15 19. El dispositivo médico de la reivindicación 17, donde el precursor o sustrato es difenilacetileno, el agente de contraste comprende  $^{13}\text{C}$ -etilbamidina, y la sustancia complementaria se selecciona del grupo que consiste en una placa amiloide, una placa  $\beta$ -amiloide, acetilcolinesterasa, y combinaciones de las mismas.

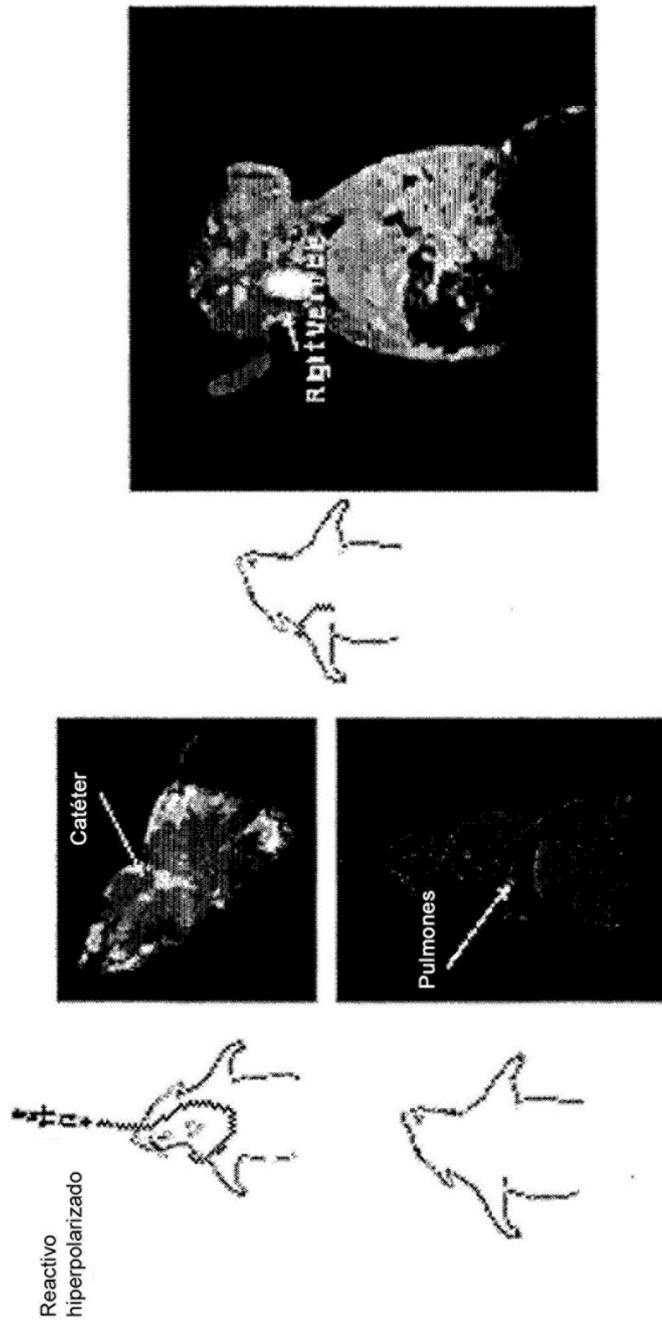


**Figura 1:**

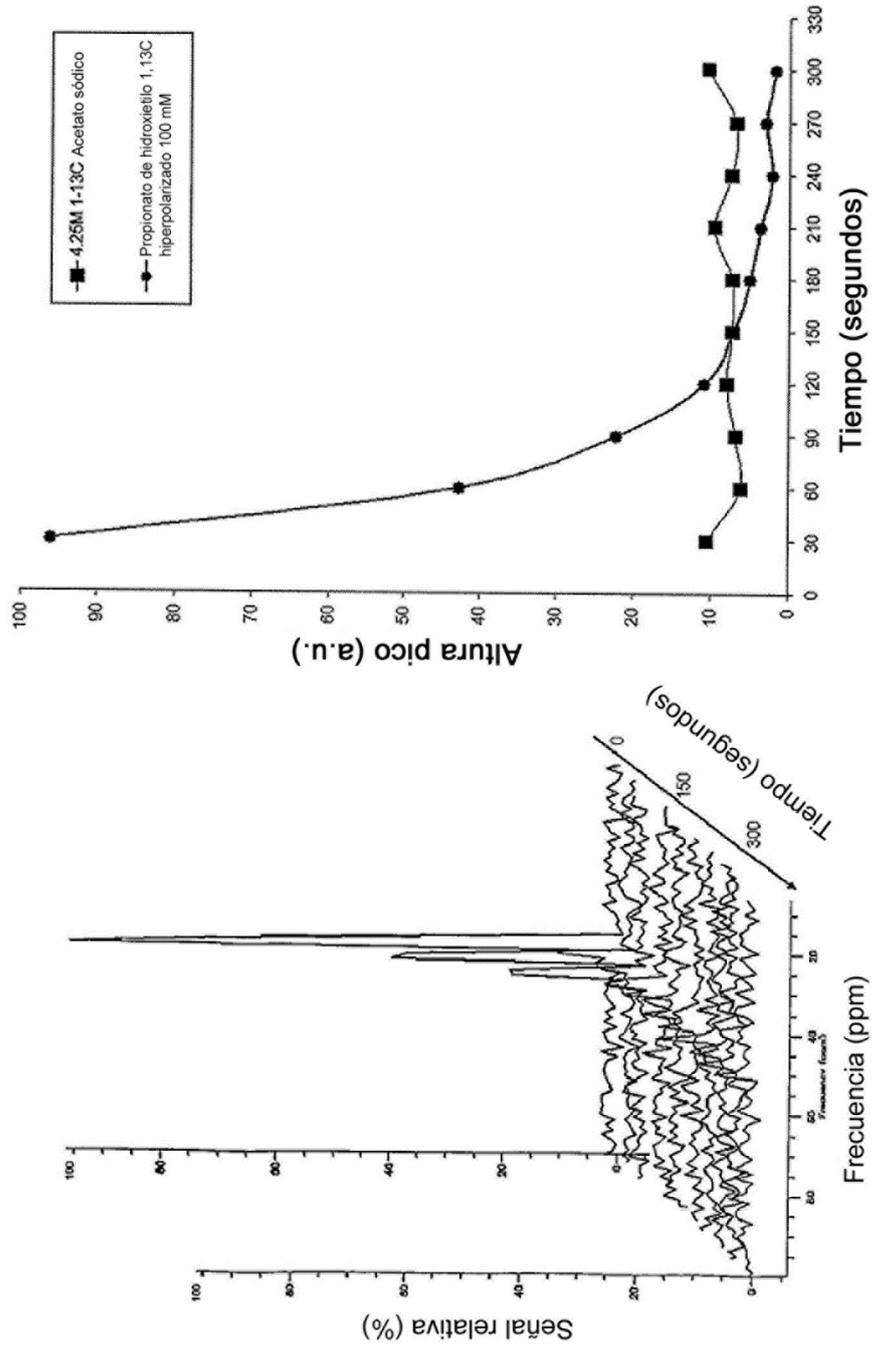
**Figura 2:**

**Valoración de concentración de reactivo hiperpolarizado**

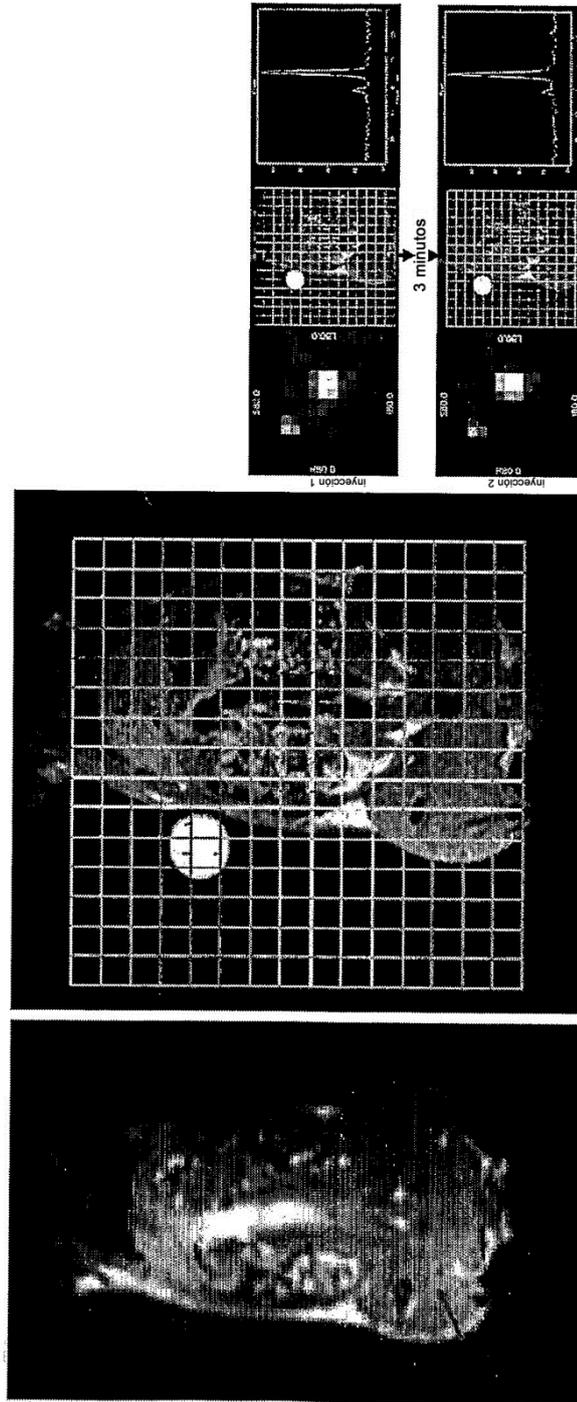




**Figura 3:**

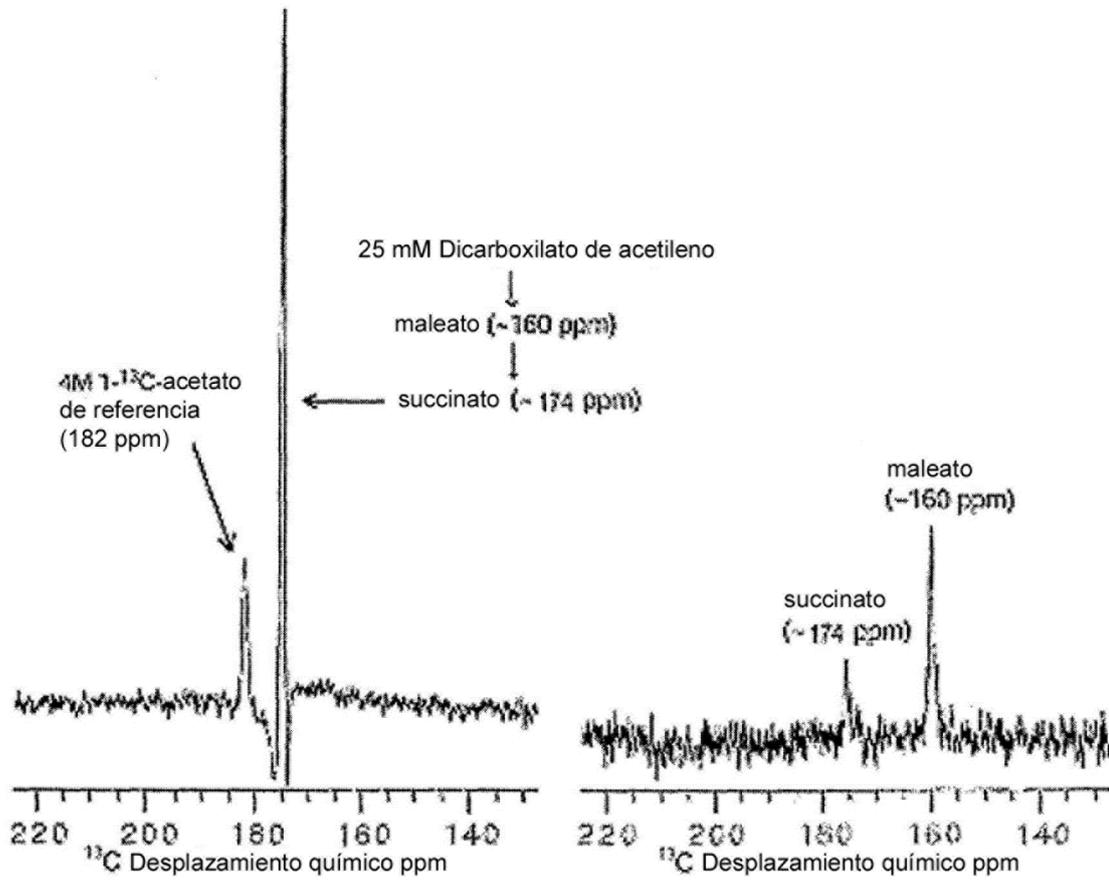


**Figura 4:**



**Figura 5:**

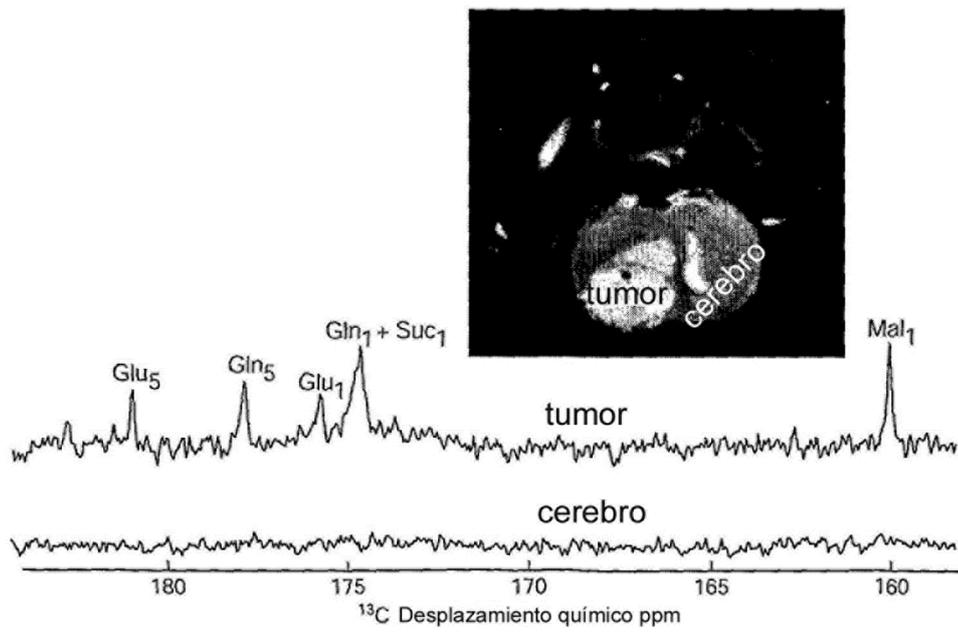
**Figura 6:**



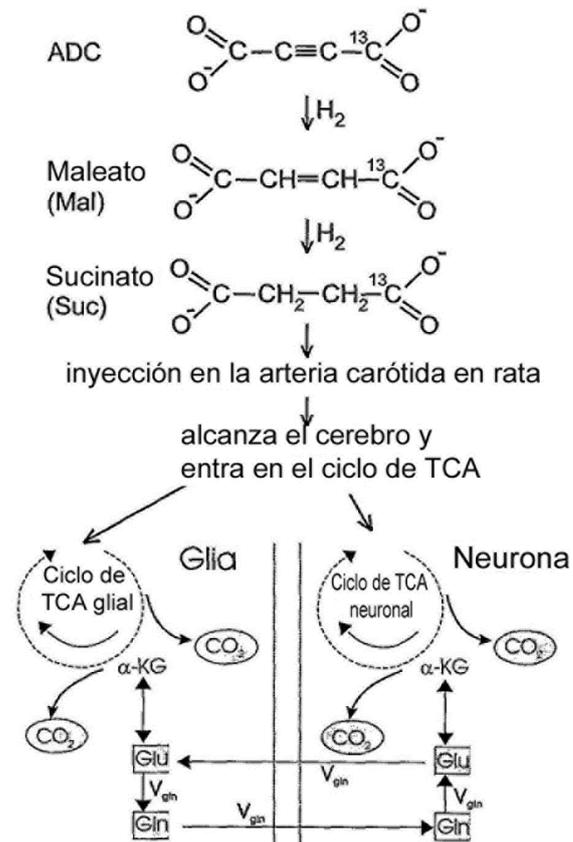
**Figura 7:**



**Figura 8:**



**Figura 9:**



**Figura 10:**

