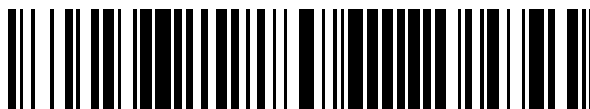


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 887**

51 Int. Cl.:

**A61K 49/04**

(2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.09.2014** **PCT/EP2014/070569**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2015** **WO15044312**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2014** **E 14780805 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018** **EP 3052139**

54 Título: **Presaturación del hígado y administración posterior del agente de contraste**

30 Prioridad:

**30.09.2013 EP 13186703**

**22.05.2014 EP 14169433**

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

**22.04.2019**

73 Titular/es:

**B. BRAUN MELSUNGEN AG (100.0%)**

**Carl-Braun-Strasse 1**

**34212 Melsungen, DE**

72 Inventor/es:

**DIETRICH, THORE;**

**BOURAYOU, RIAD;**

**FLECK, ECKART;**

**KELLER, THORSTEN;**

**SCHMITT, JÜRGEN y**

**RÖTHLEIN, DORIS**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 709 887 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

Presaturación del hígado y administración posterior del agente de contraste

La presente invención se refiere a una formulación acuosa para su uso en la detección diagnóstica en la que la formulación acuosa se administra antes de la administración de un agente o composición de contraste fluorado que comprende un agente de contraste fluorado, así como a un método de administración. La invención se refiere además al uso de dicha formulación acuosa para la detección diagnóstica de afecciones patológicas inflamatorias usando imágenes de RM. Además, la invención se refiere a un kit, así como a un kit de diagnóstico adecuado para su uso en la detección diagnóstica.

Las enfermedades inflamatorias son, con mucho, las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Si bien existen métodos diagnósticos y terapéuticos efectivos para las enfermedades inflamatorias agudas, predominantemente causadas por patógenos, en muchos casos, el diagnóstico de las enfermedades inflamatorias crónicas es difícil y el tratamiento de las mismas se limita a medidas sintomáticas. Los métodos de imagen no invasivos, como la ecocardiografía, la tomografía computarizada y la espectroscopia por resonancia magnética nuclear, proporcionan información anatómica detallada y, por lo tanto, son herramientas valiosas para evaluar la función de los órganos. Sin embargo, con ninguno de los métodos mencionados ha sido posible, hasta la fecha, detectar de manera inequívoca los procesos inflamatorios con alta resolución espacial.

El documento EP 0670159 A1 divulga emulsiones acuosas de aceites que incluyen un compuesto que lleva un grupo alquilo altamente fluorado que, a su vez, está conectado a una cadena de alcano o a un átomo de hidrógeno.

El documento WO 97/33563 divulga el uso de fluorocarbonos para el diagnóstico y tratamiento de trastornos articulares. Los fluorocarbonos, que pueden ser líquidos, geles o emulsiones, proporcionan lubricación y amortiguación articular que es eficaz en el tratamiento de, por ejemplo, la artrosis. Además, los fluorocarbonos se pueden usar para proporcionar imágenes articulares de alta resolución.

El documento US 2009/0280055 A1 describe el uso de fluorocarbonos tales como bromuro de perfluorooctilo, perfluorooctano, perfluorodecalina o perfluoro-15-corona-5-éter para fines de diagnóstico utilizando métodos de imagen.

El documento WO 2008/153928 A2 describe métodos y composiciones que disminuyen la captación de la FDG radiofarmacéutica, un análogo de la glucosa, por el tejido adiposo marrón y el miocardio en las exploraciones FDG-PET/CT mediante la administración oral de un nutriente graso varias horas antes de la FGD. La FGD está presente en forma de una solución acuosa.

El documento DE 10 2007 015 598 divulga el uso de compuestos de flúor, tales como perfluorooctilbromuro, perfluorodecalina, perfluoro-15-corona-5-éter, en procedimientos de obtención de imágenes mediante los cuales el compuesto de flúor se une a un vehículo.

La mayoría de los agentes de diagnóstico utilizados hasta la fecha, por ejemplo, los complejos de gadolinio utilizados en la visualización a través de técnicas de RM, causan efectos secundarios graves que pueden provocar daños graves en los órganos, especialmente en el hígado. Los expertos en la materia conocen casos en los que los complejos de gadolinio administrados para el diagnóstico por imágenes condujeron al desarrollo de tumores hepáticos.

Otros agentes de diagnóstico descritos en la técnica anterior adolecen del inconveniente de que están marcados radiactivamente y, por tanto, no son adecuados para diagnósticos de rutina. Además, el manejo y la preparación de dichos agentes de diagnóstico son bastante molestos, ya que las limitaciones y restricciones severas deben seguirse cuando se usan dichos agentes de diagnóstico, además de ser bastante costosos. Además, su uso está restringido a clínicas especiales que cuentan con equipos de PET. Además de los inconvenientes mencionados, algunos de los agentes de diagnóstico que utilizan marcadores radiactivos también muestran un contraste deficiente cuando se aplican en las tomografías PET/CT. Este es especialmente el caso de los análogos de azúcar como la <sup>18</sup>F-2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (FDG), que están diseñados para acumularse en el tejido que se caracteriza patológicamente por una mayor tasa de actividad metabólica en comparación con el tejido sano. Sin embargo, ciertos tipos de células como el tejido adiposo marrón y el miocardio ya muestran una alta tasa de actividad, incluso en un estado saludable. En consecuencia, la FDG, que es reconocida por el organismo como una fuente de azúcar, se acumulará principalmente en aquellas regiones de mayor actividad con la consecuencia de que no se puede hacer una diferenciación entre tejido sano e inflamado. Para evitar la acumulación natural es necesario influir directamente en el lipometabolismo del paciente. Esto se puede hacer administrando un nutriente graso por vía enteral antes de la administración del azúcar marcado radiactivo. Debido al hecho de que se abordan dos vías metabólicas diferentes, es decir, el metabolismo de las grasas para el nutriente y el metabolismo del azúcar para el agente de diagnóstico, la formulación, la administración y la dosis deben ajustarse y controlarse cuidadosamente, lo que hace que el procedimiento de diagnóstico sea muy complicado y costoso, además de suponer una tensión indebida al paciente.

Aunque se dispone de varios agentes de contraste fluorados para su uso en la detección diagnóstica mediante imágenes por resonancia magnética, y los cuales no están asociados a tales efectos secundarios graves, estos agentes de contraste conocidos en la técnica anterior también presentan varios inconvenientes, uno de los cuales es la dosis bastante alta del agente de contraste o del agente potenciador del contraste que debe administrarse para lograr una imagen satisfactoria del tejido inflamado.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un agente de diagnóstico que, aunque solo se administra en dosis bajas, proporciona imágenes de alto contraste cuando se emplea en la detección diagnóstica, por ejemplo, en la detección diagnóstica mediante imágenes por resonancia magnética (RM).

Un objeto adicional de la presente invención es la provisión de un agente de diagnóstico que provoca menos efectos secundarios que los agentes de diagnóstico utilizados actualmente.

Una primera realización de la presente invención se refleja en la reivindicación independiente 1. Las realizaciones preferidas se describen en las reivindicaciones dependientes 2 a 10. Otras realizaciones se definen en las reivindicaciones 11 a 14.

Sin pretender imponer ninguna teoría, se cree que los agentes de contraste descritos en la presente solicitud son principalmente fagocitados por células asociadas con el sistema inmunitario, como los monocitos y los macrófagos. Sin embargo, se encontró sorprendentemente que el agente de contraste también se acumula en el hígado y en el bazo debido a la fagocitación de las células de Kupffer que también forman parte del sistema inmunitario. Sin embargo, la captación del agente de contraste por parte de las células de Kupffer del torrente sanguíneo conduce a un contraste deficiente en las imágenes de diagnóstico, ya que solo una pequeña cantidad del agente de contraste se acumula en el tejido inflamado. Se ha encontrado sorprendentemente que la captación puede minimizarse saturando el hígado y el bazo administrando una emulsión de aceite en agua antes de la administración del agente de contraste. Esto a su vez hace que se acumule más agente de contraste en el tejido inflamado, lo que mejora el contraste y la calidad de las imágenes de diagnóstico.

Además, al contrario de lo que sucede con los agentes de contraste y las formulaciones descritas en la técnica anterior, tales como la FDG u otros derivados de glucosa fluorados, el agente de contraste fluorado de acuerdo con la invención generalmente no es metabolizado por el organismo, evitando así posibles productos de descomposición dañinos.

Preferiblemente, la formulación acuosa (F) de acuerdo con la invención se refiere a una formulación líquida, por ejemplo en forma de una emulsión o una suspensión. La formulación acuosa (F) es líquida a 20 °C. La formulación acuosa (F) es farmacéuticamente aceptable. Más preferiblemente, la formulación acuosa (F) se administra por vía intravenosa, preferiblemente a un mamífero, especialmente a un ser humano.

Preferiblemente, el componente fagocitable de la formulación acuosa (F) de acuerdo con la invención se refiere a un componente que puede ser engullido por macrófagos. La formulación acuosa (F) generalmente está esencialmente exenta de agentes de contraste, en particular agentes de contraste que pueden detectarse mediante técnicas de RM, especialmente agentes de contraste fluorados. En el sentido de la presente invención, esencialmente exenta de agentes de contraste significa que la cantidad total de agente o agentes de contraste es menor de 5 % en peso, preferiblemente menor de 1,0 % en peso, más preferiblemente menor de 0,1 % en peso o menos de 0,01 % en peso o menos de 0,001 % en peso, especialmente preferido es 0 % en peso, basado en el peso total de la formulación acuosa (F).

En un aspecto alternativo de la invención, la relación en peso entre el agente de contraste fluorado y los agentes de contraste no fluorados, especialmente los agentes de contraste no fluorados posiblemente presentes en la formulación acuosa (F) es más de 0,1, preferiblemente más de 1, más preferiblemente más de 5, más preferiblemente más de 10, más preferiblemente más de 100 o más de 1.000, especialmente más de 10.000 o más de 1.000.000.

Es bien sabido para los expertos en la materia que la visualización de los procesos inflamatorios, especialmente del sistema cardiovascular, es bastante difícil. La mayoría de los agentes de contraste o composiciones de agentes de contraste que se emplean para la detección diagnóstica de procesos inflamatorios están diseñados para acumularse en las áreas inflamadas que se distinguen por una alta concentración de macrófagos. Debido al aumento natural de la concentración de macrófagos en el hígado, en relación con su función como órgano desintoxicante, la mayoría del agente de contraste administrado se acumula en el hígado. Debido a la proximidad del hígado al sistema cardiovascular, la visualización y detección de los procesos inflamatorios en o en el corazón a menudo es ambigua debido a la interferencia de la señal y al bajo contraste, respectivamente.

Se ha encontrado sorprendentemente que la saturación del hígado antes de la administración de un agente de contraste o composición de agente de contraste mejora el contraste de las imágenes de los procesos inflamatorios del sistema cardiovascular.

Por lo tanto, la formulación acuosa (F) que se administra primero es una formulación acuosa que contiene componentes fagocitables. El componente fagocitable satura el hígado de manera que posteriormente se detectan en el hígado agentes de contraste fluorados en una cantidad significativamente menor. Los componentes fagocitables de la formulación acuosa (F) de la presente invención son componentes que son engullidos por los macrófagos del hígado. Los compuestos fagocitables se administran por vía parenteral. Preferiblemente, el compuesto fagocitario es farmacéuticamente inyectable.

La formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables es generalmente un sistema dispersable, preferiblemente un sistema coloidal, especialmente una emulsión o suspensión.

Preferiblemente, el componente fagocitable de la presente invención puede seleccionarse entre agentes de contraste no fluorados, tales como sulfato de bario u óxido de hierro, y otros componentes, tales como partículas de dextrano, partículas de polímero o partículas de látex. En una realización especialmente preferida, el componente fagocitable de la invención es en particular fagocitable por células de Kupffer. Además, el componente fagocitable también puede seleccionarse de gotitas que comprenden/consisten en aceites, especialmente aceites vegetales o aceite de pescado.

En una realización preferida, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables es una emulsión acuosa (A), preferiblemente una emulsión de aceite en agua (A).

Por lo tanto, una realización preferida de la presente invención es una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso en la detección diagnóstica, en la que la formulación acuosa (F) es una emulsión de aceite en agua (A) que se administra en una primera etapa y en una etapa posterior se administra un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado.

La emulsión acuosa (A) se describe a continuación con más detalle.

#### *1) Emulsión (A)*

Se supone que el aceite de emulsión (A) es absorbido por el hígado y bloquea los macrófagos en el mismo. Por lo tanto, puede acumularse menos agente de contraste en el hígado y en el bazo. Por lo tanto, la concentración del agente de contraste en el torrente sanguíneo aumenta y la mayor parte del agente de contraste está disponible para los macrófagos derivados de procesos inflamatorios y/o tejidos inflamados, lo que a su vez mejora el contraste de la detección diagnóstica.

El aceite utilizado en la emulsión (A) de acuerdo con la presente invención debe ser biocompatible y presentar un bajo riesgo para la salud para el paciente al que se administra. En una realización especialmente preferida, el aceite es farmacéuticamente aceptable.

Por consiguiente, se prefiere una realización de la presente invención en la que la emulsión acuosa (A) comprende un triglicérido. En un aspecto adicional de la invención, la emulsión (A) comprende un aceite vegetal y/o un aceite marino.

“Aceite vegetal” se refiere al aceite derivado de semillas o nueces de plantas. Los aceites vegetales son generalmente “triglicéridos de cadena larga” (LCT), que se forman cuando tres ácidos grasos (generalmente de 14 a 22 carbonos de longitud, con enlaces insaturados en número y ubicaciones variables, dependiendo de la fuente del aceite) forman enlaces éster con los tres grupos hidroxilo del glicerol. En ejemplos de realizaciones, se pueden usar aceites vegetales de grado altamente purificado (también llamados “súper refinados”) para garantizar la seguridad y la estabilidad en la emulsión (A). En realizaciones preferidas, se pueden usar aceites vegetales hidrogenados, que se producen por hidrogenación controlada del aceite vegetal.

El aceite presente en la emulsión (A) se elige preferiblemente por sus propiedades farmacocinéticas ventajosas, además de una cuidadosa consideración del riesgo para la salud que puede presentar. Por lo tanto, se prefiere una realización de la presente invención en la que la emulsión acuosa (A) comprende uno o más aceites seleccionados del grupo que consiste en aceite de almendra, aceite de babasú, aceite de semillas de grosella negra, aceite de borraja, aceite de canola, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de palma, aceite de palmiste, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de sésamo, triglicéridos de cadena media (MCT), triglicéridos de cadena larga (LCT) y aceite de pescado.

Los “triglicéridos de cadena media” (MCT) son una clase de aceite de triglicéridos que puede ser natural o sintético. Los MCT se forman a partir de ácidos grasos (FA) de 6 a 14 carbonos, preferiblemente de 6 a 12 carbonos, especialmente de 8 a 10 carbonos, de longitud. El MCT puede contener ácido caprílico (por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 50 % a aproximadamente 80 % en peso del MCT), un FA saturado de 8 carbonos (8:0). El MCT puede contener ácido cáprico (por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 20 % a aproximadamente 50 % en peso del MCT), un FA saturado de 10 carbonos (10:0). Por ejemplo, los triglicéridos de

cadena media pueden contener triglicéridos de ácido caprílico y ácido cáprico en una cantidad de al menos el 90 % en peso de los triglicéridos de cadena media. La descripción del MCT para su uso en esta divulgación puede, por ejemplo, cumplir con los requisitos de la monografía 0868 de la EP, titulada "Triglicéridos, cadena media" (medios saturados de triglicéridos) (EP 0868, 2008).

Aparte de su biocompatibilidad, la emulsión acuosa (A) debe tener una forma que posea propiedades que permitan una administración tan fácil como sea posible para el paciente. La emulsión acuosa (A) también debe mostrar propiedades farmacocinéticas que permitan una rápida administración del aceite al hígado y una rápida absorción en el mismo. Los mejores resultados se han logrado cuando la cantidad de aceite presente en la emulsión acuosa (A) no excedió la cantidad de agua. Se prefiere una realización de la presente invención en la que la emulsión acuosa (A) comprende un aceite en una cantidad que varía de 5 a 40 % en peso, preferiblemente de 8 a 30 % en peso, basado en el peso total de la emulsión acuosa (A).

Como el paciente ya tiene problemas de salud graves, es importante mantener al mínimo la imposición que presenta el proceso de diagnóstico. Por lo tanto, se prefiere que la captación del agente de saturación, es decir, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, sea lo más rápida posible. Para que la formulación (F) alcance su destino rápidamente y sin descomposición, es ventajoso que la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables se transporte a través del torrente sanguíneo.

Por lo tanto, se prefiere una realización de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la invención en la que la formulación acuosa (F) se administra por vía intravenosa.

#### *II) Agente de contraste fluorado o composición que comprende un agente de contraste fluorado*

La detección y localización de procesos inflamatorios, especialmente del sistema cardiovascular, mediante técnicas no invasivas son de suma importancia para el éxito del tratamiento terapéutico y la cura del paciente afectado. Los agentes de contraste que se administran al paciente ayudan a proporcionar imágenes detalladas del tejido inflamado. Se ha encontrado que los mejores resultados se pueden lograr cuando el agente de contraste está fluorado. Los agentes de contraste fluorados poseen una biodisponibilidad y especificidad de diana mejoradas cuando se emplean, por ejemplo, en imágenes por resonancia magnética (RM). Los agentes de contraste fluorados son captados por monocitos/macrófagos de tal manera que las células quedan marcadas específicamente.

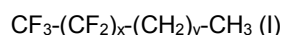
Preferiblemente, el agente de contraste fluorado no es metabolizado por el organismo del cuerpo humano o animal.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, el agente de contraste fluorado no es un derivado de glucosa fluorada, especialmente no es FDG.

Preferiblemente, el agente de contraste fluorado se elige para conseguir la mejor imagen posible. Al mismo tiempo, el agente de contraste fluorado, así como la composición que comprende el agente de contraste fluorado, deben ser biocompatibles y presentar un riesgo para la salud tan bajo como sea posible. En una realización preferida de la presente invención, el agente de contraste es un compuesto fluorado seleccionado del grupo que consiste en compuestos de carbono parcialmente fluorados, compuestos de carbono perfluorados, alcanos fluorados lineales, cíclicos o policíclicos, bis(perfluoroalquil)alcanos, perfluoroéteres, perfluoroaminas, bromuro de perfluoroalquilo y cloruro de perfluoroalquilo.

Una realización preferida adicional es una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la presente invención en la que el agente de contraste fluorado se selecciona del grupo que consiste en

a) Compuesto semifluorado de fórmula I:

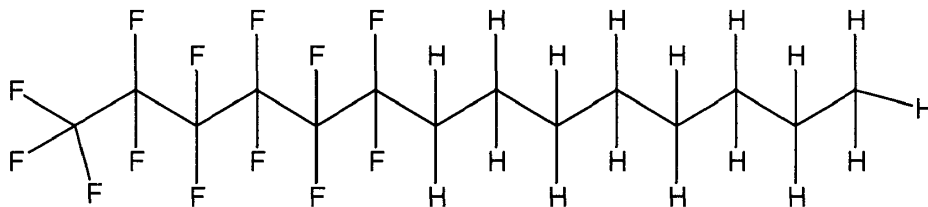


en la que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10;

- b) bromuro de perfluorooctilo,
- c) bromuro de perfluorodecilo,
- d) perfluorooctano,
- e) perfluorodecano y
- f) perfluorodecalina.

Los compuestos semifluorados dentro del significado de la presente invención son alcanos semifluorados. Los alcanos semifluorados comprenden un fluorocarbono y un resto hidrocarburo. Comúnmente, los alcanos semifluorados siguen las siguientes nomenclaturas: FXHY, en la que X representa el número de átomos de carbono que están sustituidos con átomos de flúor e Y representa el número de átomos de carbono que están sustituidos con

átomos de hidrógeno. Por ejemplo, el perfluorohexiloctano está representado por la fórmula: F<sub>6</sub>H<sub>8</sub>. El F<sub>6</sub>H<sub>8</sub> se muestra en la siguiente fórmula:



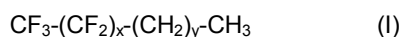
Preferiblemente, el agente de contraste fluorado está comprendido en una composición de agente de contraste. De esta manera, es posible mejorar y mejorar aún más las propiedades necesarias para lograr los mejores resultados con respecto al contraste de la imagen de diagnóstico y la biocompatibilidad y la biocinética del agente de contraste fluorado y, además, asegurar un marcado satisfactorio de los macrófagos mediante el agente de contraste al mismo tiempo que asegura una alta tolerabilidad de la composición por parte del paciente. Con respecto a la tolerabilidad del paciente, el transporte del agente de contraste en el cuerpo y la biocompatibilidad de la composición, una emulsión acuosa, en adelante denominada emulsión (B), parece ser la más adecuada.

En una realización preferida de la invención, la composición que comprende el agente de contraste fluorado es una emulsión o una dispersión.

Además, se prefiere que la composición que comprende el agente de contraste fluorado sea una composición líquida acuosa en la que el agente de contraste fluorado no esté disuelto o no esté completamente disuelto en la fase acuosa. Preferiblemente, la solubilidad del agente de contraste fluorado en 1 litro de agua a 20 °C es menor que 10 g, más preferiblemente menor que 2 g, especialmente menor que 0,5 g, más especialmente menor que 0,01 g, por ejemplo, menos de 0,001 g.

Por lo tanto, se prefiere una formulación acuosa (F) que contenga componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la presente invención en la que la composición que comprende un agente de contraste fluorado es una emulsión acuosa (B) que comprende

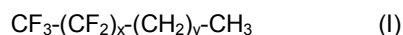
a) un agente de contraste fluorado, preferiblemente un agente de contraste fluorado líquido, en particular un compuesto semifluorado de fórmula I:



en la que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10,

b) un triglicérido de cadena media (MCT) que es miscible con el compuesto semifluorado a 20 °C; y  
c) un emulsionante.

Los compuestos semifluorados que son adecuados para la emulsión acuosa (B) de la presente invención se reflejan en la fórmula (I):



en la que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10.

En una realización, x en la fórmula I varía de 2 a 6, preferiblemente de 3 a 6, más preferiblemente de 4 a 6 y especialmente x es 5.

En una realización preferida adicional, y en la Fórmula (I) varía de 2 a 9, preferiblemente de 3 a 8, más preferiblemente de 5 a 8, más preferiblemente de 6 a 8 y especialmente y es 7.

Se pueden lograr buenos resultados en términos de imágenes y estabilidad de la emulsión (B) con compuestos semifluorados de fórmula (I) en la que y es mayor que x.

Compuestos de carbono semifluorados especialmente preferidos para su uso como agentes de contraste fluorados en la presente invención son perfluorohexiloctano (F<sub>6</sub>H<sub>8</sub>) y/o perfluorobutilpentano (F<sub>4</sub>H<sub>5</sub>).

La emulsión (B) comprende además preferiblemente el compuesto semifluorado junto con un triglicérido de cadena media (MCT).

En una realización preferida, el triglicérido, preferiblemente el MCT, es miscible con el compuesto semifluorado a 20 °C.

5 En el sentido de la invención, el triglicérido es miscible con el compuesto semifluorado si, a una temperatura de 20 °C y después de mezclar y almacenar posteriormente a 20 °C durante 24 horas, el triglicérido y el compuesto semifluorado no forman fases continuas separadas.

10 En una realización preferida, el triglicérido, especialmente el MCT, es miscible con el compuesto semifluorado en cualquier proporción. En particular, el compuesto semifluorado y el triglicérido, especialmente el MCT, son miscibles en una relación en peso entre el compuesto semifluorado y el MCT de 1:20 a 1:0,7, preferiblemente de 1:15 a 1:0,8, más preferiblemente de 1:10 a 1:0,9, aún más preferiblemente de 1:4 a 1:1, especialmente de 1:2 a 1:1.

15 En una realización preferida de la invención, el triglicérido de cadena media (MCT) es glicerol que está esterificado con ácidos carboxílicos como se especifica a continuación: ácido caproico en una cantidad de 2 % en peso o menos; ácido caprílico en una cantidad que varía de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 % en peso; ácido cáprico en una cantidad que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 % en peso; ácido láurico en una cantidad de 3 % en peso o menos; ácido mirístico en una cantidad de 1 % en peso o menos, en la que el porcentaje en peso (% en peso) se basa en el peso total de los ácidos grasos.

20 Los triglicéridos de cadena media (MCT) son excelentes disolventes para los compuestos semifluorados. En una realización preferida de la invención, se pueden usar uno o más MCT. Los MCT están comercializados como, por ejemplo, Miglyol 812 (SASOL GmbH Alemania), o CRODAMOL GTCC-PN (Croda Inc, New Jersey).

25 De acuerdo con una realización especialmente preferida de la presente invención, la emulsión acuosa (B) que comprende el compuesto semifluorado también comprende un MCT que consiste en glicerol que está esterificado con ácidos grasos que comprenden al menos 50 % en peso de ácidos grasos seleccionados del grupo de ácidos grasos que tienen 7, 9 y 11 átomos de carbono. Los preferidos pueden ser triheptanoína.

### 30 III) Emulsionantes

Para una administración óptima, con una alta especificidad frente a la diana y una rápida captación, es importante que la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la invención sea homogénea y no un sistema de dos fases que tenga dos o más fases continuas. La misma consideración se aplica a la composición que comprende un agente de contraste fluorado en el caso de que la composición esté en forma de una emulsión.

40 Por lo tanto, se prefiere una realización de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la invención en la que la formulación acuosa (F) está en forma de una emulsión acuosa (A) que comprende además un emulsionante, preferiblemente seleccionado de fosfolípidos.

45 Preferiblemente, la composición que comprende un agente de contraste fluorado también comprende un emulsionante, en el caso de que la composición esté en forma de una emulsión.

El emulsionante que puede estar presente en la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, preferiblemente en la emulsión acuosa (A), así como el emulsionante que puede estar comprendido en la composición del agente de contraste, pueden ser compuestos idénticos o diferentes.

50 Los emulsionantes adecuados se describen en detalle a continuación.

Preferiblemente, los emulsionantes se seleccionan de fosfolípidos. Preferiblemente, los emulsionantes son un fosfolípido o una mezcla de fosfolípidos.

55 En un aspecto, los emulsionantes pueden comprender lecitinas, preferiblemente lecitinas naturales tales como lecitina de soja, lecitina de huevo, lecitina de aceite de girasol, esfingosina, gangliósidos, fitoesfingosina y combinaciones de los mismos. La lecitina hidrogenada, es decir, el producto de hidrogenación controlada de la lecitina, también se puede usar adicionalmente en los emulsionantes.

60 Los ejemplos de fosfolípidos útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan, a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, liso-fosfatidilcolina y mezclas de los mismos. El componente de fosfolípido de las composiciones puede ser un fosfolípido único o una mezcla de varios fosfolípidos. Los fosfolípidos empleados pueden ser naturales o sintéticos, pero deben ser aceptables para la aplicación médica.

65 A continuación se incluye una lista no exhaustiva de fosfolípidos adecuados que pueden estar presentes en los emulsionantes:

Ácidos fosfatídicos, incluido el ácido 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DMPA, Na), ácido 1,2-dipalmitil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DPPA, Na), ácido 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DSPA, Na); fosfocolinas, que incluyen 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1, 2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC); fosfoetanolaminas, incluyendo 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-dipalmitil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE); fosfoglicerol, incluyendo 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DLPG, Na), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DMPG, Na), 1,2 -dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de amonio (DMP-sn-1-G, NH<sub>4</sub>), 1,2-dipalmitil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DPPG, Na), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DSPG, Na), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de sodio (DSP-sn-1G, Na); fosfoserinas, incluyendo 1,2-dipalmitil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina, sal de sodio (DPPS, Na); fosfolípidos de cadena mixta, que incluyen 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (POPG, Na), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de amonio (POPG, NH<sub>4</sub>); lisofosfolípidos, que incluyen 1-palmitoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (P-liso-PC), 1-estearoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (S-liso-PC); fosfolípidos pegilados, incluidos N-(carbonilmetoxipoli(etilenglicol 2000)-MPEG-2000-DPPE, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipoli(etilenglicol 5000)-MPEG-5000-DSPE, sal de sodio, N-(carbonilmetoxipoli(etilenglicol 5000)-MPEG-5000-DPPE, sal de sodio, N-(carbonilmetoxipoli(etilenglicol 750)-MPEG-750-DSPE, sal de sodio, N-(carbonilmetoxipoli(etilenglicol 2000)-MPEG-2000-DSPE, sal de sodio.

En una realización preferida, los emulsionantes comprenden lecitina de huevo que comprende 60-80 % peso/peso, tal como 67 % peso/peso de fosfatidilcolina; 10-20 % peso/peso, tal como 15 % peso/peso, fosfatidilietanolamina; ≤ 3 % peso/peso, tal como 2 % peso/peso, esfingomielina; y ≤ 3 % peso/peso, tal como 1 % peso/peso, lisofosfatidilcolina.

La "lecitina de huevo PL90" (Fresenius Kabi AB) es un ejemplo de una lecitina de huevo que tiene un contenido de fosfolípidos de este tipo.

En particular, se pueden lograr buenos resultados con emulsionantes que comprenden una lecitina que comprende de aproximadamente 80 a aproximadamente 85 % en peso de fosfatidilcolina; de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,5 % en peso de fosfatidiletanolamina; menos del 3 % en peso de lisofosfatidilcolina; menos del 0,5 % en peso de lisofosfatidiletanolamina; y aproximadamente 2 a aproximadamente 3 % en peso de esfingomielina.

En una realización preferida, la emulsión acuosa (A) comprende un emulsionante en una cantidad que varía de 0,5 % en peso a 5,0 % en peso, en la que el % en peso se basa en el peso total de la emulsión (A). Los mejores resultados se han logrado cuando el emulsionante estaba presente en una cantidad que variaba de 0,5 % en peso a 2 % en peso, preferiblemente de 1,0 % en peso a 1,5 % en peso, en el que el % en peso se basa en el peso total de la emulsión (A).

En caso de que la composición que comprende un agente de contraste fluorado esté presente en forma de una emulsión y contenga un emulsionante, se prefiere que el emulsionante comprenda una mezcla de fosfolípidos y glicolípidos.

Los glicolípidos son lípidos con un carbohidrato unido. Los glicolípidos son lípidos de membrana sin fósforo de las membranas celulares en los que uno o más mono- u oligosacáridos están conectados a un lípido. Los lípidos son ácidos grasos que se conectan a través de enlaces éster a glicerol o a través de enlaces amida a esfingosina.

En una realización preferida, la composición que comprende un agente de contraste fluorado comprende además glicolípidos, que se seleccionan preferiblemente de gliceroglicolípidos, tales como mono galactosildiglicérido o glicosfingolípidos o cerebrósidos.

En una realización preferida, la cantidad de glicolípidos es de 5 a 30 % en peso, preferiblemente de 10 a 28 % en peso basado en el peso total de la suma de glicolípido y fosfolípido. Las mezclas de fosfolípidos y glicolípidos están comercializadas como Lipoid S 75 de Lipoid GmbH, Alemania.

En una realización especialmente preferida, el emulsionante comprende de aproximadamente 68 a aproximadamente 73 % en peso de fosfatidilcolina; de aproximadamente 7 a 10 % en peso de fosfatidiletanolamina; menos de aproximadamente 3 % en peso de lisofosfatidilcolina; y de aproximadamente 14 a aproximadamente 25 % en peso de glicolípidos, en el que todo el peso se basa en la cantidad total de la suma de glicolípidos y fosfolípidos.

La emulsión (B) comprende preferiblemente de 0,5 al 5 % en peso, más preferiblemente de 1,0 al 4,0 % en peso de un emulsionante en el que la cantidad se basa en el peso total de la emulsión (B).

En una realización preferida, el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado se administra posteriormente a la administración de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables. Preferiblemente, el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado se administra de una manera que mantiene el proceso de administración tan simple y fácil para el paciente como sea posible. Por lo tanto, se prefiere una realización en la que el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado se administre por vía parenteral.

La formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables de la invención habitualmente no comprende ninguna forma de agente de contraste. Preferiblemente, la relación en peso entre la cantidad de agente de contraste presente en la formulación (F), si está presente, y la cantidad de agente de contraste presente en la composición que comprende el agente de contraste es menos de 1:4, preferiblemente menos de 1:10, más preferiblemente menos de 1:100 o menos de 1:500 o menos de 1:1.000.

En una realización preferida, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables está esencialmente exenta de agentes de contraste. Esencialmente exenta dentro de este significado significa que la formulación (F) comprende menos de 5 % en peso, preferiblemente menos de 1 % en peso, más preferiblemente menos de 0,1 % en peso, especialmente menos de 0,001 % en peso o 0 % en peso de agente de contraste, en el que la cantidad se basa en el peso total de la formulación (F).

Una realización adicional de la invención es un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado para su uso en la detección diagnóstica, en el que, antes de la administración de dicho agente de contraste fluorado o dicha composición que comprende un agente de contraste fluorado, se administra por separado una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables.

*IV) Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y el agente de contraste fluorado para su uso en el diagnóstico por imagen*

Las técnicas de diagnóstico no invasivas son de suma importancia para la detección y el tratamiento diagnóstico de los procesos inflamatorios del cuerpo, ya que proporcionan una forma de diagnóstico rápida y eficiente que se distingue por su baja imposición al paciente y su rápida recuperación en caso de que el paciente sufra efectos secundarios.

Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la presente invención se usa en la detección diagnóstica de procesos inflamatorios por medio de un procedimiento de obtención de imágenes.

El procedimiento de obtención de imágenes no invasivo es un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética (RM).

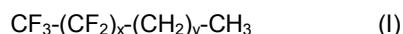
Como se describió anteriormente, la obtención de imágenes adecuadas para la detección diagnóstica de procesos inflamatorios, especialmente las del sistema cardiovascular, a menudo es bastante difícil ya que la mayor parte del agente de contraste se acumula en el hígado y el bazo. Por lo tanto, la cantidad de agente de contraste disponible para el marcado de los macrófagos en el tejido inflamado se reduce significativamente. Además, debido a las altas concentraciones de agente de contraste en el hígado y la proximidad física del hígado al corazón, las imágenes tomadas del sistema cardiovascular a menudo son de poco contraste, lo que hace que el análisis de las imágenes y el diagnóstico sean más complicados.

Se ha encontrado sorprendentemente que la administración de una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, especialmente una emulsión de aceite en agua (A), antes de la administración de un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado, conduce a un mayor contraste de las imágenes generadas, lo que mejora significativamente no solo la calidad de los métodos de diagnóstico sino también el desarrollo de un tratamiento óptimo.

Por lo tanto, una realización adicional de la invención es una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la invención para su uso en la detección diagnóstica de procesos inflamatorios por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética en la que la formulación (F) es una emulsión de aceite en agua (A) que comprende

- i) de 5 a 40 % en peso de un aceite seleccionado de triglicéridos,
- ii) de 0,5 a 5 % en peso de un emulsionante, preferiblemente un fosfolípido,
- iii) opcionalmente de 0,1 a 5 % en peso de un agente de tonicidad, y
- iv) de 55 a 93 % en peso de agua, en el que el % en peso se basa en el peso total de la emulsión de aceite en agua (A), que se administra en una primera etapa y en una etapa posterior, se administra preferiblemente una composición que comprende un agente de contraste fluorado, en forma de una emulsión acuosa (B) que comprende

i) de 1 a 20 % en peso de un compuesto semifluorado de fórmula I:



en la que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10,  
 ii) de 1 a 20 % en peso de un triglicérido que es miscible con el compuesto semifluorado, preferiblemente un triglicérido de cadena media (MCT); y  
 iii) de 0,1 a 5 % en peso de un emulsionante, en el que el % en peso se basa en el peso total de emulsión (B).

En una realización preferida de la invención, la emulsión acuosa (B) también comprende agua en una cantidad que varía de 70 a 98 % en peso, preferiblemente de 70 a 90 % en peso, basado en el peso total de emulsión (B).

#### V) Componentes adicionales

En una realización preferida de la presente invención, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, preferiblemente la emulsión de aceite en agua (A), puede comprender además componentes adicionales, por ejemplo para ajustar la farmacocinética y la biocompatibilidad, especialmente si la formulación (F) es una emulsión de aceite en agua (A). Lo mismo se aplica a la composición que comprende un agente de contraste fluorado, especialmente si la composición está en forma de una emulsión (B).

Debe entenderse que la expresión "emulsiones" se refiere tanto a la emulsión (A) como a la emulsión (B), si no se indica lo contrario.

Los componentes adicionales, así como su cantidad, pueden diferir según la emulsión respectiva.

En algunas realizaciones, las emulsiones acuosas pueden comprender opcionalmente un co-tensioactivo. Los ejemplos de co-tensioactivos incluyen, pero no se limitan a, colesterol, ácido oleico, oleato, Tween80 (monooleato de PEG-sorbitán), HCO-60, Solutol H15 (polioxietileno-660-hidroxiestearato), PEG-400 (polietilenglicol), Pluronic F68 (BASF), Cremophor EL (polioxietileno-35-ricinoleato), o la sal de un ácido biliar, como el ácido desoxicólico. En otras realizaciones, el co-tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en ácidos grasos  $C_{12-22}$ , sales de estos y/o mezclas de los mismos, tales como ácidos grasos  $C_{16-20}$ , sales de estos y/o mezclas de los mismos, o de ácidos grasos  $C_{18}$ , sales de estos y/o mezclas de los mismos. En realizaciones específicas, el ácido graso es monoinsaturado.

En algunas realizaciones, el co-tensioactivo puede estar presente en las emulsiones en una cantidad (% en peso) mayor o igual al 0,005 %, mayor o igual al 0,01 %, o mayor o igual al 0,02 %. De acuerdo con cualquiera de estas realizaciones, el co-tensioactivo puede estar presente en una cantidad (% en peso) menor o igual al 4 %, menor o igual al 1 %, o menor o igual al 0,04 %, basado en el peso total de la emulsión respectiva.

En realizaciones específicas, el co-tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en ácidos grasos de cadena larga, tales como ácido palmítico, ácido oleico o ácido esteárico, o las sales alcalinas de los mismos. El oleato y/o el ácido oleico, particularmente el oleato de sodio, son co-tensioactivos particularmente adecuados.

En ciertas realizaciones donde el co-tensioactivo es oleato y/o ácido oleico, el co-tensioactivo puede estar presente en una cantidad (% en peso) igual o mayor que 0,005 % en peso, igual o mayor que 0,01 % en peso o igual o mayor que 0,02 % en peso. De acuerdo con cualquiera de estas realizaciones, el co-tensioactivo puede estar presente en una cantidad (% en peso) menor o igual al 0,5 % en peso, menor o igual al 0,2 % en peso, menor o igual al 0,1 % en peso, o menor o igual al 0,05 % en peso. En realizaciones específicas, el co-tensioactivo es oleato de sodio y está presente en una cantidad de 0,03 % en peso (0,3 g/l). Las emulsiones descritas en la presente memoria pueden ser adecuadas para perfusión parenteral, como la perfusión intravenosa. En realizaciones específicas, la concentración de ciertos co-tensioactivos por lo tanto se mantiene a un mínimo para prevenir efectos secundarios como irritación, inhibición del citocromo P450, etc. En realizaciones específicas, Pluronic F68 (poli(etilenglicol)-13-poli(propilenglicol co-propilenglicol) está presente en una cantidad inferior al 0,7 % en peso, o inferior al 0,5 % en peso. En otras realizaciones específicas, Solutol-HS (macrogol-15-hidroxiestearato) está presente en una cantidad inferior a 1,2 % en peso o menos de 1 % en peso.

Debe entenderse que las cantidades (% en peso) dadas se basan en el peso total de la emulsión respectiva en la que está presente el componente respectivo.

Los co-tensioactivos utilizados pueden diferir entre sí, dependiendo de la emulsión respectiva.

Las emulsiones de acuerdo con la invención pueden comprender además un agente de tonicidad. Dichas composiciones pueden tener una osmolalidad en el intervalo de 200-1.000 mOsm/kg, preferiblemente de 220 a 800 mOsm/kg, especialmente de 250 a 600 mOsm/kg.

De acuerdo con realizaciones específicas de la invención, las emulsiones pueden ser isotónicas e isoosmóticas. Las emulsiones pueden tener una osmolalidad de 220-600 mOsm/kg, o 230-360 mOsm/kg.

5 Los agentes de tonicidad adecuados incluyen cloruro de potasio o sodio, trehalosa, sacarosa, sorbitol, glicerol, glucosa, xilitol, manitol, polietilenglicol, propilenglicol, albúmina, aminoácidos y mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, se logra una osmolalidad de 270 a 330 mOsm/kg, como 280 a 300 mOsm/kg, con un agente que también aumenta la presión osmótica, como glicerol, dextrosa, lactosa, sorbitol o sacarosa.

10 En una realización, el agente de tonicidad es un poliol fisiológicamente tolerado, tal como glicerol, sorbitol o xilitol. En una realización específica, el agente de tonicidad es glicerol.

El agente de tonicidad puede estar presente en una cantidad que varía de 0,1 a 10 % en peso, preferiblemente de 0,5 a 8 % en peso, más preferiblemente de 1 a 5 % en peso, basado en el peso total de la emulsión respectiva.

15 El agente de tonicidad se usa generalmente en una cantidad que no tiene efectos biológicos adversos, pero es suficiente para proporcionar composiciones isoosmóticas y/o isotónicas. Cuando el agente osmótico es el glicerol, el glicerol puede estar presente en el rango de 2 a 5 % (% en peso), como de 2,1 % a 2,9 % (% en peso), incluyendo de 2,3 % a 2,7 %. En realizaciones específicas, las emulsiones de la presente invención comprenden glicerol al 2,5 % (25 g/l). En una realización adicional, el agente de tonicidad está presente en una cantidad de 2,5 % en peso o más, basado en el peso total de la emulsión respectiva.

25 En algunas realizaciones, las emulsiones de acuerdo con la presente invención tienen un pH dentro del intervalo de pH 6,0 a pH 10,0, tal como pH 6,5 a pH 9,0, incluyendo de pH 7,5 a 8,5. El pH puede ajustarse mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de una base apropiada que neutraliza la carga negativa en los ácidos grasos, mediante el uso de un tampón apropiado, o una combinación de los mismos. Una variedad de bases y tampones son adecuados para usar con las emulsiones de la presente invención. Un experto en la materia apreciará que la adición de tampón a las emulsiones afectará no solo al pH final, sino también a la fuerza iónica de las emulsiones. Los tampones de alta fuerza iónica pueden afectar negativamente al potencial zeta de las emulsiones y, por lo tanto, no son deseables.

En una realización preferida, la emulsión acuosa (A) y la emulsión acuosa (B) pueden tener valores de pH iguales o diferentes.

35 En una realización preferida, se usan hidróxido de sodio y ácido clorhídrico para ajustar el valor de pH de las emulsiones, respectivamente.

Para estabilizar adicionalmente las emulsiones de la invención, es decir, la emulsión acuosa (A) y la emulsión acuosa (B), frente a procesos oxidativos, puede estar presente un antioxidante. En una realización preferida, las emulsiones comprenden adicionalmente un antioxidante, preferiblemente alfa-tocoferol.

45 Las emulsiones de acuerdo con la presente invención comprenden opcionalmente uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes acidificantes, alcalinizantes, aglutinantes, quelantes, complejantes o solubilizantes, antisépticos, conservantes (incluyendo antimicrobianos y antioxidantes), agentes suspensores, agentes estabilizantes, humectantes, agentes modificadores de la viscosidad, disolventes, crioprotectores, diluyentes, lubricantes y otros materiales biocompatibles o agentes terapéuticos. En ciertas realizaciones, tales aditivos ayudan a estabilizar adicionalmente las emulsiones o a hacer que las emulsiones de la presente invención sean biocompatibles.

50 De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, los aditivos presentes en la emulsión acuosa (A) y la emulsión acuosa (B) pueden diferir en su estructura así como en la cantidad presente en la emulsión respectiva.

Se ha encontrado que se pueden lograr buenos resultados de diagnóstico con emulsiones que tengan un tamaño de gota de aceite en el rango nano. De acuerdo con un aspecto preferido de la invención, las partículas de la fase discontinua, es decir, la fase oleosa, tienen un diámetro de partícula promedio que varía preferiblemente de 1 a 500 nm, más preferiblemente que varía de 50 a 450 nm y más preferiblemente de 100 a 400 nm, medida a través de espectroscopia de correlación de fotones (PCS) a 25 °C.

#### VI) Estudios de imagen diagnósticos

60 Se ha observado que la administración de una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, preferiblemente una emulsión de aceite en agua (A) de acuerdo con la presente invención, antes de la administración del agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado conduce a una saturación del hígado. Esto, a su vez, mejora el contraste de las imágenes de los órganos circundantes, especialmente el sistema cardiovascular, ya que la mayor parte del agente de contraste está presente en el torrente sanguíneo para unirse a los macrófagos que están presentes en el tejido inflamado. Además, debido a

la mayor cantidad de agente de contraste disponible en el torrente sanguíneo, no solo se reduce significativamente el tiempo requerido para lograr una imagen satisfactoria del área inflamada, sino también la extensión del proceso inflamatorio, p. ej., después de un infarto cardíaco, se puede determinar con mucho más detalle.

Preferiblemente, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la presente invención es para usar como agente para mejorar el contraste para la detección diagnóstica por medio de un procedimiento de obtención de imágenes, en particular cuando el proceso de obtención de imágenes se basa en medir la resonancia magnética nuclear del isótopo  $^{19}\text{F}$  del agente de contraste fluorado, preferiblemente un compuesto semifluorado.

La evaluación de las medidas correspondientes y la conversión de las mismas en una imagen es conocida por el experto, como puede verse, por ejemplo, en:

Haacke M E, Brown W R, Thompson M R, Venkasetan R: Magnetic Resonance Imaging-Physical Principles and Sequence Design, Wiley, New York, 1999;

Yu J X, Kodibagkar V D, Cui W, Mason R P.  $^{19}\text{F}$ : a versatile reporter for non-invasive physiology and pharmacology using magnetic resonance; Curr Med Chem. 12: 819-48, 2005;

Wernick M N, Aarsvold J N Emission Tomography: The Fundamentals of PET and SPECT, Academic Press, London, 2004.

La formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y/o el compuesto fluorado de la invención o la composición que comprende el compuesto fluorado de la invención es particularmente adecuada para detectar procesos inflamatorios. Por lo tanto, de acuerdo con una realización preferida de la invención, la formulación acuosa (F) y/o el compuesto fluorado de la invención o la composición que comprende el compuesto fluorado están destinados a la detección diagnóstica, por medio de un procedimiento de obtención de imágenes, de procesos inflamatorios seleccionados del grupo que consiste en reacciones inflamatorias periféricas a infartos como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular; inflamación de órganos, como miocarditis, encefalitis, meningitis; esclerosis múltiple; inflamación del tracto gastrointestinal, como la enfermedad de Crohn; inflamación de los vasos, como la arteriosclerosis, en particular con placas vulnerables; detección de abscesos y también artritis, en el que el proceso de obtención de imágenes se basa en la medición de la resonancia magnética nuclear de isótopo  $^{19}\text{F}$

En una realización preferida adicional de la invención, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y/o el compuesto fluorado de la invención o la composición que comprende el compuesto fluorado están destinados a la detección diagnóstica, basada en procedimientos de obtención de imágenes no invasivos del sistema cardiovascular, que incluye el miocardio, las arterias y las venas; reacciones inflamatorias que ocurren en procesos patológicos como infarto de miocardio, miocarditis, aterosclerosis y trombosis que conducen a procesos inflamatorios y degenerativos de la vasculatura que se producen en neurología como un accidente cerebrovascular o un tumor; neumología como trombosis, inflamación, sarcoidosis; gastroenterología como tumor, enfermedades inflamatorias del intestino como la enfermedad de Crohn; y reumatología, como las enfermedades autoinmunitarias de los vasos, como la arteritis de Takayasu.

Una realización adicional de la invención se refiere a un método que comprende procedimientos para adquirir imágenes no invasivas de un paciente a quien, en una primera etapa, se administra una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y, en una etapa posterior, un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado.

Preferiblemente, la diferencia de tiempo entre la administración de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y la administración del agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado se elige de una manera que permita la concentración del agente de saturación, por ejemplo, el aceite en una emulsión de aceite en agua (A), para alcanzar un nivel tal que la mayoría de los macrófagos en el hígado estén bloqueados y el hígado esté saturado. Como es obvio para el experto en la materia, la diferencia de tiempo depende de las propiedades biocinéticas de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, es decir, el método de transporte y la absorción en el hígado. Por lo tanto, la diferencia de tiempo no debe ser demasiado corta ya que el agente de saturación debe poder llegar a su destino. Por otro lado, el período de tiempo en el que se administra el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado no debe ser demasiado largo para evitar la descomposición del agente de saturación por el hígado antes de que el agente de contraste fluorado se haya acumulado en el tejido inflamado.

Se prefiere una realización del método de la invención en el que la diferencia de tiempo entre la primera etapa y la etapa subsiguiente sea de al menos 15 segundos, preferiblemente de al menos 30 segundos, especialmente de 1 minuto a 10 horas, por ejemplo de 5 minutos a 1 hora. Normalmente, el tiempo entre la primera administración con la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y la segunda administración con el agente de contraste fluorado o la composición que comprende el agente de contraste fluorado debe ser suficiente para saturar los macrófagos del hígado, en particular en al menos aproximadamente 20 %, más preferiblemente al menos aproximadamente 40 % o al menos aproximadamente 60 %, especialmente al menos aproximadamente 80 % o al menos aproximadamente 90 % de los macrófagos del hígado deberían estar saturados. En particular, la saturación

del hígado debe ser tal que se pueda lograr una imagen clara y no ambigua de los órganos circundantes, especialmente el sistema cardiovascular.

Se pueden emplear varios métodos de visualización, por ejemplo, la técnica por resonancia magnética (MRT), tomografía computarizada (CT), imagen óptica, ecografía, tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) o tomografía de coherencia óptica (OCT). Preferiblemente el método de visualización es no invasivo.

De acuerdo con la invención, el procedimiento de obtención de imágenes no invasivo es un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética (RM).

En una realización preferida adicional del método de la invención, el proceso de obtención de imágenes se basa en la medición de la resonancia magnética nuclear del isótopo  $^{19}\text{F}$  o del isótopo  $^{19}\text{F}$  y del isótopo  $^1\text{H}$ .

La presencia de los isótopos  $^{19}\text{F}$  y/o  $^{18}\text{F}$  en los agentes de contraste fluorados permiten la ventaja de utilizar dispositivos conocidos en la técnica anterior, a saber, espectroscopia por resonancia magnética nuclear con isótopos  $^{19}\text{F}$  y/o el uso de espectroscopia de emisión de positrones de isótopos  $^{18}\text{F}$ . Además, se puede tomar una imagen nativa, es decir, una imagen sin agente de contraste, del tejido inflamado, por ejemplo, midiendo la resonancia magnética nuclear del isótopo  $^1\text{H}$ , incluso después de que se haya administrado el agente de contraste fluorado, sin interferencia del agente de contraste fluorado, lo que lleva a un sistema de diagnóstico más eficiente en un período de tiempo más corto.

Mediante el uso de la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables de acuerdo con la invención, se pueden detectar especialmente las siguientes condiciones patológicas:

1) Visualización de ganglios linfáticos y su agrandamiento patológico.

- a) cánceres que afectan directamente los ganglios linfáticos: enfermedad de Hodgkin, linfomas no Hodgkin;
- b) metástasis tumorales, por ejemplo, de cáncer de mama;
- c) infecciones virales y bacterianas, por ejemplo, sífilis, tuberculosis;

2) Reacciones de inflamación en la zona fronteriza de

- a) infartos, por ejemplo, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular;
- b) tumores;

3) Inflamación de los órganos: miocarditis, encefalitis, meningitis (meninges cerebral y espinal);

4) esclerosis múltiple;

5) inflamaciones del tracto gastrointestinal, por ejemplo, enfermedad de Crohn;

6) inflamación de los vasos, por ejemplo, arteriosclerosis, especialmente las denominadas "placas vulnerables";

7) detección de abscesos;

8) detección de artritis.

#### VII) Kit

El tratamiento de diagnóstico de un paciente que padece afecciones inflamatorias debe ser un proceso suave que presente la menor tensión posible para el paciente ya debilitado. Además de usar técnicas de detección no invasivas y proporcionar agentes de contraste y composiciones de agentes de contraste que preferiblemente no causen efectos secundarios negativos, otro aspecto de un tratamiento respetuoso para el paciente es el tiempo que se necesita para los procedimientos de diagnóstico. El diagnóstico debe alcanzarse lo más rápido posible para minimizar tanto la tensión psicológica como la fisiológica. Preferiblemente, debe evitarse la tediosa mezcla de los componentes, por un lado, para ahorrar tiempo y, por otro lado, para evitar peligros potenciales tanto para el paciente como para el personal que pueden ser causados por un manejo falso de los componentes.

Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención es un kit que comprende

- a) un envase que comprende una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables que se puede administrar por vía parenteral como se define anteriormente y
- b) un envase que comprende un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado detectable por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética como se define anteriormente.

El material del envase es preferiblemente inerte y no reacciona con el contenido. Además, se prefiere un material que protege adicionalmente el contenido de los envases contra la exposición que puede dar como resultado la descomposición de los contenidos, por ejemplo, calor y/o luz. Preferiblemente, el material se selecciona del grupo que consiste en vidrio y polímeros orgánicos y mezclas de los mismos. Los polímeros orgánicos preferidos son polietileno y/o polipropileno.

Preferiblemente, el envase puede sellarse para evitar la contaminación del contenido, por ejemplo, por bacterias.

En una realización preferida del kit, los envases están dispuestos de tal manera que se evita la mezcla involuntaria de los contenidos.

En una realización preferida, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables es una emulsión acuosa de aceite en agua (A) como se describe anteriormente.

Más preferida es una realización, en la que la formulación acuosa (F) es una emulsión de aceite en agua (A) y el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado es una emulsión (B).

Por lo tanto, en una realización preferida, el kit comprende

- a) un envase que comprende emulsión acuosa (A) y
- b) un envase que comprende emulsión acuosa (B).

Preferiblemente, el kit consiste en un envase que se divide en dos compartimentos que están, por ejemplo, separados por una capa de vidrio o polímero orgánico. Preferiblemente, un envase comprende la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y el otro envase comprende el agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado.

En una realización preferida alternativa, el kit consiste en dos envases que están separados o los envases pueden separarse sin romperse para permitir el almacenamiento separado de los envases que se ajusta a los requisitos del contenido.

Una realización preferida es un kit de acuerdo con la invención para su uso en la detección diagnóstica de procesos inflamatorios.

Un objeto adicional de la presente invención es un kit de diagnóstico que comprende

- a) un envase que comprende una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables que es administrable por vía parenteral y
- b) un envase que comprende un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado detectable por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética.

En una realización preferida, la formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables comprendida en el kit de diagnóstico de acuerdo con la invención es una emulsión de aceite en agua (A), como se describe en la invención. El agente de contraste fluorado o la composición que comprende un agente de contraste fluorado es preferiblemente una emulsión (B) como se describe en la invención. Preferiblemente, el kit de diagnóstico de acuerdo con la invención se usa en la visualización de diagnóstico de procesos inflamatorios.

[0136] A continuación, la invención se ilustra adicionalmente a modo de ejemplos.

El animal de ensayo, una rata, se anestesió con una mezcla de Domitor® y Dormicum®V 5 g/5 ml. Domitor® pertenece a la clase de agonistas adrenérgicos alfa-2 y está disponible en Pfizer. Dormicum®V 5 g/5 ml pertenece a la clase de las benzodiazepinas y está disponible en Roche Pharma AG. Después de que la rata fue narcotizada, se colocó un catéter venoso de larga estancia en la vena de la cola de la rata. Se administraron 2 ml de emulsión acuosa (A) a través del catéter venoso. El contenido de la emulsión acuosa (A) se muestra en la Tabla 1. Después de seis minutos, se inyectaron 1,5 ml de una emulsión acuosa (B) como agente de contraste, cuya composición se refleja en la Tabla 2. Luego se tomaron imágenes del animal de ensayo utilizando la técnica por resonancia magnética.

Tabla 1: Emulsión aceite en agua (A)

| Componente                     | Cantidad (% p/v) |
|--------------------------------|------------------|
| aceite de soja <sup>1</sup>    | 10               |
| MCT                            | 10               |
| lecitina de huevo <sup>2</sup> | 1,2              |

|                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| glicerol                      | 2,5               |
| todo rac- $\alpha$ -tocoferol | 0,017 $\pm$ 0,004 |
| oleato de sodio               | 0,03              |
| agua para inyectables (WFI)   | Hasta 100         |

<sup>1</sup> = LCT = triglicérido de cadena larga

<sup>2</sup> = Lipoid E 80, de Lipoid GmbH, Alemania

Tabla 2: Emulsión acuosa (B) que contiene el agente de contraste fluorado

| Componente                  | Cantidad (% p/v) |
|-----------------------------|------------------|
| F6H8                        | 8                |
| MCT                         | 12               |
| Lipoid S 75 <sup>3</sup>    | 2                |
| $\alpha$ -tocoferol         | 0,02             |
| glicerol                    | 2,5              |
| oleato de sodio             | 0,03             |
| NaOH                        | Hasta pH 8,2     |
| agua para inyectables (WFI) | Hasta 100        |

5 <sup>3</sup> Fosfolípido de Lipoid GmbH, Alemania (fosfolípido de soja con 14 a 25 % en peso de glicolípido).

El MCT utilizado en la Tabla 1 y la Tabla 2 tiene una composición de ácidos grasos como se muestra en la Tabla 3, en la que el % en peso se basa en la cantidad total de ácido graso.

Tabla 3: Composiciones MCT adecuadas

| Ácido graso     | Fórmula química   | Cantidad (% en peso) |
|-----------------|-------------------|----------------------|
| ácido caproico  | $C_6H_{12}O_2$    | $\leq 2,0\%$         |
| ácido caprílico | $C_8H_{16}O_2$    | 50,0 - 80,0%         |
| ácido cáprico   | $C_{10}H_{20}O_2$ | 20,0 - 50,0%         |
| ácido láurico   | $C_{12}H_{24}O_2$ | $\leq 3,0\%$         |
| ácido mirístico | $C_{14}H_{28}O_2$ | $\leq 1,0\%$         |

Con el fin de comprobar si las emulsiones de acuerdo con la invención pueden visualizarse in vivo mediante RMN y detectarse en el tejido diana, primero se realizaron exámenes farmacocinéticos.

La Figura 1 muestra las reconstrucciones de las señales de imágenes por resonancia magnética en el tórax de una rata. La obtención se realizó después de administrar una emulsión acuosa (B) (como se describe en la Tabla 2). Se muestra la acumulación de la emulsión en la acumulación de sangre del corazón (el tejido objetivo). Reconstrucciones 3D a modo de ejemplo de secuencias anatómicas en TSE T2 y de  $^{19}F$  coloreadas se han fusionado en un único conjunto de datos (imagen A). La imagen B muestra el mismo conjunto de datos en el que el hígado se ha eliminado mediante procesamiento posterior. En la fila de abajo, se muestra una vista diferente del conjunto de datos 3D fusionado (imagen C) y una vista ampliada del corazón (imagen D).

Por lo tanto, se puede mostrar que el agente de contraste descrito en la invención se puede visualizar in vivo en el miocardio. Además, se examinó la representación de un infarto en resonancia magnética. Los resultados se muestran en la siguiente Figura 2.

La Figura 2 muestra: (Imagen A) Tórax de rata en sección transversal en el área del miocardio in vivo en una imagen de MRI ponderada en T2 (1,5 Tesla, Philips), que se superpone con la imagen de  $^{19}F$  coloreada ( $^1H/^{19}F$ ), con la misma geometría 24 h después de la aplicación de la emulsión acuosa (B) que comprende el agente de contraste fluorado de acuerdo con la Tabla 2. (Imagen B) El miocardio como detalle de la imagen de  $^1H/^{19}F$  coloreada, que muestra el enriquecimiento del agente de contraste fluorado en el área del infarto de miocardio y del sitio de adhesión entre el pericardio y las costillas causado por la cirugía. (Imagen C) Registro in situ del corazón de rata, que muestra una inflamación fuertemente pronunciada del pericardio (contorno gris) al lado del área infartada.

Por lo tanto, se pudo demostrar que el agente de contraste fluorado se enriquece en el área infartada.

La Figura 3 ilustra el proceso de aplicación de una emulsión acuosa (A) de acuerdo con la invención, así como un ejemplo comparativo. Se administraron 2 ml de emulsión acuosa (A) como se describe en la Tabla 1 a un animal de prueba 1 en un momento  $t_0$ . En el mismo tiempo ( $t_0$ ) se administraron 2 ml de una solución de cloruro de sodio a un animal de prueba 2, utilizado como ejemplo comparativo. Después de 6 minutos ( $t_1$ ) ambos animales de ensayo recibieron 1,5 ml de emulsión acuosa (B) como se describe en la Tabla 2. Después de 20 minutos ( $t_2$ ) ambos animales de prueba fueron sometidos a un proceso de RM.

La Figura 4 muestra reconstrucciones 3D a modo de ejemplo de las imágenes de RM anatómicas ponderadas en T2 que se superponen con una imagen de  $^{19}F$  coloreada en la que el hígado está rodeado de blanco. Como puede

verse claramente en comparación con la imagen (A) y la imagen (B), la acumulación del agente de contraste en el hígado del animal de prueba 1 se reduce significativamente (imagen (A)). Por lo tanto, se podría demostrar que la farmacocinética de la emulsión (B) se puede modificar mediante la administración previa de la emulsión acuosa (A) de tal manera que se acumule menos agente de contraste en el hígado y el bazo del animal de prueba.

La Figura 5 muestra imágenes de fluorescencia in situ de dos animales de ensayo que se trataron de acuerdo con el procedimiento de administración anterior. Ambos animales recibieron 2 ml de emulsión (B) como se describe en la Tabla 2, que además contenía un tinte fluorescente. El animal 1 también recibió una emulsión acuosa (A) antes de la administración del agente de contraste, mientras que el animal de prueba 2 solo recibió una inyección de cloruro de sodio. Como puede verse claramente, la intensidad de la señal fluorescente en el animal 1 (imagen A) se reduce significativamente en comparación con el animal 2 (imagen B). Por lo tanto, se demuestra que una saturación previa del hígado como se describe en la presente invención dificulta significativamente la acumulación del agente de contraste fluorado en el hígado, dejando así más del agente de contraste disponible para los macrófagos relevantes para la visualización de tejido inflamado. Con el fin de ilustrar mejor las diferentes cantidades de agente de contraste en el hígado de los dos animales, se extrajeron ambos hígados y se tomaron imágenes ex vivo. La intensidad de fluorescencia, codificada en colores falsos, se muestra en la figura 6.

El hígado que se muestra en el lado izquierdo de la figura 6 se escindió del animal de ensayo 1 cuyas células fagocíticas del hígado estaban pre-saturadas mediante la administración de una emulsión acuosa (A). Como puede verse, la intensidad de la señal de fluorescencia es bastante baja en comparación con el hígado en el lado derecho que se tomó del animal de prueba 2 que no se inyectó con una emulsión acuosa (A). La concentración del agente de contraste es mucho mayor, como lo revela la mayor intensidad de la señal fluorescente.

Además, se ha probado la estabilidad de la composición que comprende un agente de contraste fluorado como se describe en la invención, es decir, como una emulsión. Las emulsiones probadas se muestran en la Tabla 4, así como un ejemplo comparativo. Las cantidades dadas se refieren al % en peso, basado en el peso total de la emulsión.

Tabla 4:

| Componente                | Ejemplo 1 | Ejemplo 2 | Ejemplo 3 | Ejemplo 9 |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| F6H8 <sup>1)</sup>        | 4         | 6         | 8         | 20        |
| MCT <sup>2)</sup>         | 16        | 14        | 12        | -         |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2         | 2         | 2         | 2         |
| Agua                      | Hasta 100 | Hasta 100 | Hasta 100 | Hasta 100 |

<sup>1)</sup> Perfluorohexiloctano de Novaliq, Alemania

<sup>2)</sup> Triglicéridos de cadena media (ácido graso C<sub>8</sub> 50 – 80 % en peso; ácido graso C<sub>10</sub> 20 – 50 % en peso)

<sup>3)</sup> Fosfolípido de huevo de Lipoid GmbH, Alemania

Los resultados de las pruebas de estabilidad se muestran en la Tabla 5. El diámetro promedio de las partículas (ZPromedio) y el índice de polidispersidad (I.P.) se determinaron mediante espectroscopia de correlación de fotones (PCS).

Tabla 5: Datos de estabilidad de almacenamiento de las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 1 a 3 de la Tabla 4.

| Ejemplo | Tiempo de conservación<br>[días] | ZPromedio<br>[nm] | I.P.  | pH   |
|---------|----------------------------------|-------------------|-------|------|
| 1       | 0                                | 148,3             | 0,073 | 8,09 |
|         | 7                                | 158,1             | 0,093 | 6,61 |
|         | 14                               | 169,2             | 0,098 | 6,12 |
|         | 28                               | 173,9             | 0,098 | 5,83 |
| 2       | 0                                | 166,1             | 0,054 | 8,10 |
|         | 7                                | 173,6             | 0,075 | 6,59 |
|         | 14                               | 184,2             | 0,061 | 6,19 |
|         | 28                               | 185,0             | 0,069 | 5,96 |
| 3       | 0                                | 155,7             | 0,075 | 8,11 |
|         | 7                                | 167,7             | 0,065 | 6,62 |
|         | 14                               | 176,7             | 0,068 | 6,08 |
|         | 28                               | 178,5             | 0,090 | 5,98 |

La Figura 7 muestra los datos de las pruebas de estabilidad de almacenamiento reflejados en la Tabla 5, así como los datos relativos al ejemplo comparativo dado.

La Figura 7A muestra el crecimiento de las partículas de las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 1 a 3, así como el ejemplo comparativo dado en la Tabla 4. La medición de los crecimientos de partículas comenzó inmediatamente después de la fabricación de la emulsión.

5 La Figura 7A muestra además que el diámetro promedio de las partículas de las gotitas de aceite en 28 días aumenta en aproximadamente un 11 % para el ejemplo 1, en aproximadamente un 15 % para el ejemplo 2 en aproximadamente un 17 % para el ejemplo 3 y en aproximadamente un 23 % para el ejemplo comparativo. Cuanto mayor sea la concentración del compuesto semifluorado, mayor será el aumento en el crecimiento de las partículas.

10 La Fig. 7B muestra la dependencia del aumento del crecimiento de las partículas en la concentración del compuesto semifluorado F6H8.

La Tabla 5A refleja los datos que se muestran en las Figuras 7, 7A y 7B. Las pruebas de almacenamiento se han realizado a 20 °C.

15

Tabla 5A

| Ejemplo   | Tiempo de conservación<br>[días] | ZPromedio<br>[nm] | I.P.  | Absoluto<br>Aumento del crecimiento<br>tamaño de las partículas<br>[nm] | Relativo<br>Aumento del crecimiento de<br>las partículas<br>[%] |
|-----------|----------------------------------|-------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| 1         | 0                                | 148,3             | 0,073 | 0,0                                                                     | 0,0                                                             |
|           | 7                                | 158,1             | 0,093 | 7,5                                                                     | 4,5                                                             |
|           | 14                               | 169,2             | 0,098 | 18,1                                                                    | 10,9                                                            |
|           | 28                               | 173,9             | 0,098 | 18,9                                                                    | 11,4                                                            |
| 2         | 0                                | 166,1             | 0,054 | 0,0                                                                     | 0,0                                                             |
|           | 7                                | 173,6             | 0,075 | 12,0                                                                    | 7,7                                                             |
|           | 14                               | 184,2             | 0,061 | 21,0                                                                    | 13,5                                                            |
|           | 28                               | 185,0             | 0,069 | 22,8                                                                    | 14,6                                                            |
| 3         | 0                                | 155,7             | 0,075 | 0,0                                                                     | 0,0                                                             |
|           | 7                                | 167,7             | 0,065 | 9,8                                                                     | 6,6                                                             |
|           | 14                               | 176,7             | 0,068 | 10,9                                                                    | 14,1                                                            |
|           | 28                               | 178,5             | 0,090 | 25,6                                                                    | 17,3                                                            |
| Ejemplo 9 | 0                                | 132,4             | 0,181 | 0,0                                                                     | 0,0                                                             |
|           | 7                                | 154,1             | 0,183 | 21,7                                                                    | 16,4                                                            |
|           | 14                               | 156,2             | 0,187 | 23,8                                                                    | 18,0                                                            |
|           | 28                               | 163,4             | 0,177 | 31,0                                                                    | 23,4                                                            |

20 Se ha observado que se puede lograr un equilibrio optimizado entre una alta concentración del compuesto semifluorado (que es necesario para lograr un buen contraste en la medición de MR) y una emulsión estable al almacenamiento si la densidad de las gotitas de aceite (MCT y compuesto semifluorado) es aproximadamente la misma que la densidad de la fase acuosa. Adaptando la densidad de la fase oleosa a la densidad de la fase acuosa, se pueden reducir los fenómenos de coalescencia de las gotitas, así como los fenómenos de sedimentación, que desestabilizan la emulsión.

25 La Figura 7C muestra los resultados de la medición de densidad de diferentes mezclas de MCT y F6H8.

A aproximadamente 38,5 % en peso de F6H8 y aproximadamente 61,5 % en peso de MCT, (peso basado en el peso total de la fase oleosa), la densidad de la mezcla de aceite corresponde a la densidad de la fase acuosa.

### 30 Ejemplos 1A-8A, 9A y 10-12

El bromuro de perfluorooctilo (PFOB) es un agente de contraste conocido para la espectroscopia por resonancia magnética. Se ha observado que el PFOB no se puede disolver en MCT. Por lo tanto, se han preparado emulsiones en las que el PFOB se estabiliza con bromuro de perfluorodecilo (PFDB) que se puede disolver en PFOB.

35

La Tabla 6 y la Tabla 7 muestran las composiciones de emulsión de aceite en agua de los ejemplos 1A-8A, 9A y 10-12, y la tabla 8 muestra los datos de estabilidad de almacenamiento respectivos a 20 °C. Las cantidades referidas en las Tablas 4 y 5 son % en peso (% en peso) basado en el peso total de la emulsión.

Tabla 6: Ejemplos 1A a 4A

| Componente                | Ejemplo 1A | Ejemplo 2A | Ejemplo 3A | Ejemplo 4A |
|---------------------------|------------|------------|------------|------------|
| PFOB <sup>1)</sup>        | 20         | 20         | 20         | 20         |
| PFDB <sup>2)</sup>        | 0,2        | 1          | 2          | 4          |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2          | 2          | 2          | 2          |
| Agua                      | Hasta 100  | Hasta 100  | Hasta 100  | Hasta 100  |

<sup>1)</sup> Bromuro de perfluorooctilo de ABCR GmbH & Co. KG, Alemania

<sup>2)</sup> Bromuro de perfluorodecilo de ABCR GmbH & Co. KG, Alemania

<sup>3)</sup> Fosfolípido de huevo de Lipoid GmbH, Alemania

5

Tabla 7: Ejemplos 5A a 8A

| Componente                  | Ejemplo 5A | Ejemplo 6A | Ejemplo 7A | Ejemplo 8A |
|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|
| PFOB <sup>1)</sup>          | 20         | 20         | 20         | 20         |
| PFDB <sup>2)</sup>          | 0,2        | 1          | 2          | 4          |
| Lipoid S PC-3 <sup>3)</sup> | 2          | 2          | 2          | 2          |
| Agua                        | Hasta 100  | Hasta 100  | Hasta 100  | Hasta 100  |

<sup>1)</sup> Bromuro de perfluorooctilo

<sup>2)</sup> Bromuro de perfluorodecilo

<sup>3)</sup> Fosfolípido de Lipoid GmbH, Alemania

10

Tabla 8: Ejemplos 9A y 10 a 12

| Componente                | Ejemplo 9A | Ejemplo 10A | Ejemplo 11A | Ejemplo 12A |
|---------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| PFOB <sup>1)</sup>        | 20         | 20          | 20          | 20          |
| PFDB <sup>2)</sup>        | 0,2        | 1           | 2           | 4           |
| Lipoid S 75 <sup>3)</sup> | 2          | 2           | 2           | 2           |
| Agua                      | Hasta 100  | Hasta 100   | Hasta 100   | Hasta 100   |

<sup>1)</sup> Bromuro de perfluorooctilo de ABCR GmbH & Co. KG, Alemania

<sup>2)</sup> Bromuro de perfluorodecilo de ABCR GmbH & Co. KG, Alemania

<sup>3)</sup> Fosfolípido de soja de Lipoid GmbH, Alemania

15

Tabla 9: Datos de estabilidad de almacenamiento de las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 1A a 12A

| Ejemplo | Tiempo de conservación | ZPromedio | I.P.  | pH   |
|---------|------------------------|-----------|-------|------|
|         | [días]                 | [nm]      |       |      |
| 1A      | 0                      | 168,5     | 0,128 | 6,93 |
|         | 7                      | 314,3     | 0,197 | 5,59 |
|         | 14                     | 310,0     | 0,217 | 5,14 |
|         | 28                     | 316,5     | 0,242 | 4,52 |
| 2A      | 0                      | 119,7     | 0,187 | 6,75 |
|         | 7                      | 270,8     | 0,150 | 5,55 |
|         | 14                     | 278,4     | 0,221 | 5,35 |
|         | 28                     | 267,6     | 0,187 | 5,32 |
| 3A      | 0                      | 157,7     | 0,155 | 7,11 |
|         | 7                      | 249,0     | 0,156 | 5,85 |
|         | 14                     | 263,7     | 0,153 | 5,53 |
|         | 28                     | 178,4     | 0,061 | 5,74 |
| 4A      | 0                      | 157,5     | 0,193 | 6,99 |
|         | 7                      | 244,7     | 0,121 | 6,01 |
|         | 14                     | 267,5     | 0,120 | 5,71 |
|         | 28                     | 259,2     | 0,154 | 5,55 |
| 5A      | 0                      | 141,5     | 0,222 | 7,25 |
|         | 7                      | 318,8     | 0,160 | 6,47 |
|         | 14                     | 377,9     | 0,250 | 6,40 |
|         | 28                     | 485,8     | 0,358 | 6,04 |
| 6A      | 0                      | 130,1     | 0,282 | 7,27 |
|         | 7                      | 290,5     | 0,134 | 6,98 |
|         | 14                     | 444,3     | 0,224 | 6,62 |
|         | 28                     | 365,5     | 0,257 | 6,73 |
| 7A      | 0                      | 146,7     | 0,184 | 7,75 |
|         | 7                      | 269,0     | 0,171 | 6,96 |
|         | 14                     | 289,8     | 0,160 | 5,83 |

|     |    |       |       |      |
|-----|----|-------|-------|------|
|     | 28 | 315,4 | 0,156 | 6,56 |
| 8A  | 0  | 141,9 | 0,217 | 7,58 |
|     | 7  | 230,8 | 0,129 | 6,68 |
|     | 14 | 253,0 | 0,117 | 6,69 |
|     | 28 | 346,6 | 0,133 | 5,90 |
| 9A  | 0  | 170,1 | 0,117 | 7,29 |
|     | 7  | 272,8 | 0,114 | 6,38 |
|     | 14 | 283,2 | 0,121 | 5,79 |
|     | 28 | 249,6 | 0,071 | 5,23 |
| 10A | 0  | 152,4 | 0,137 | 7,18 |
|     | 7  | 241,8 | 0,094 | 5,96 |
|     | 14 | 233,5 | 0,100 | 5,59 |
|     | 28 | 243,3 | 0,092 | 5,29 |
| 11A | 0  | 165,5 | 0,128 | 7,18 |
|     | 7  | 217,5 | 0,115 | 6,04 |
|     | 14 | 224,1 | 0,136 | 6,03 |
|     | 28 | 224,8 | 0,096 | 5,66 |
| 12A | 0  | 144,9 | 0,135 | 7,24 |
|     | 7  | 207,0 | 0,127 | 5,78 |
|     | 14 | 212,4 | 0,092 | 5,97 |
|     | 28 | 208,9 | 0,107 | 5,71 |

La Figura 8 muestra los datos para las pruebas de estabilidad de almacenamiento reflejados en la Tabla 9. En la parte izquierda de la Figura 8 se representan los datos para las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 1A a 4A y en la parte derecha los datos para las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 5A a 8A.

#### Prueba con diferentes emulsionantes.

Se ha observado sorprendentemente que las emulsiones de la presente invención pueden estabilizarse adicionalmente mediante la selección del emulsionante.

El emulsionante Lipoid S PC-3 se considera menos adecuado (Fig. 8) y no se ha probado más para las emulsiones de la invención.

La tabla 10 muestra las emulsiones de la presente invención de acuerdo con los ejemplos 4 y 5.

Tabla 10: Emulsiones de aceite en agua de acuerdo con los ejemplos 4 y 5

| Componente                | Ejemplo 4 | Ejemplo 5 |
|---------------------------|-----------|-----------|
| F6H8 <sup>1)</sup>        | 8         | 8         |
| MCT <sup>2)</sup>         | 12        | 12        |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2         | -----     |
| Lipoid S 75 <sup>4)</sup> | -----     | 2         |
| Oleato de sodio           | 0,03      | 0,03      |
| alfa-tocoferol            | 0,02      | 0,02      |
| Agua                      | Hasta 100 | Hasta 100 |

<sup>1)</sup> Perfluorhexiloctano de Novaliq, Alemania

<sup>2)</sup> Triglicéridos de cadena media (ácido graso C<sub>8</sub> 50 – 80 % en peso; ácido graso C<sub>10</sub> 20 – 50 % en peso)

<sup>3)</sup> Fosfolípido de huevo de Lipoid GmbH, Alemania

<sup>4)</sup> Fosfolípido de Lipoid GmbH, Alemania (fosfolípido de soja con 14 a 25% en peso de glicolípido)

Las emulsiones de acuerdo con el ejemplo 4 y el ejemplo 5 se analizan adicionalmente si las condiciones de esterilización afectan a la estabilidad de las emulsiones. Las emulsiones se esterilizaron en un autoclave giratorio y se compararon con las emulsiones no esterilizadas (condición de esterilización: calentamiento a 121 °C durante 15 min a 2 bar).

La Tabla 11 muestra los datos de estabilidad de las emulsiones de acuerdo con los ejemplos 4 y 5 sin esterilización y después de la esterilización.

Tabla 11: Datos de estabilidad de almacenamiento para los ejemplos 4 y 5 de la invención en condiciones esterilizadas y no esterilizadas

| Ejemplo | Esterilizada/No esterilizada | Tiempo de conservación<br>[días] | ZPromedio<br>[nm] | I.P.  | pH   |
|---------|------------------------------|----------------------------------|-------------------|-------|------|
| 4       | No esterilizada              | 0                                | 156,5             | 0,082 | 8,13 |
|         |                              | 7                                | 170,5             | 0,108 | 5,84 |
|         |                              | 14                               | 176,6             | 0,086 | 5,68 |
|         |                              | 28                               | 194,9             | 0,043 | 5,00 |
|         | No esterilizada              | 0                                | 156,5             | 0,082 | 8,13 |
|         |                              | 7                                | 263,2             | 0,028 | 7,15 |
|         |                              | 14                               | 264,9             | 0,072 | 7,12 |
|         |                              | 28                               | 260,8             | 0,040 | 7,07 |
| 5       | No esterilizada              | 0                                | 170,6             | 0,102 | 8,00 |
|         |                              | 7                                | 176,9             | 0,080 | 6,40 |
|         |                              | 14                               | 177,7             | 0,075 | 5,12 |
|         |                              | 28                               | 167,0             | 0,067 | 4,07 |
|         | No esterilizada              | 0                                | 170,6             | 0,102 | 8,00 |
|         |                              | 7                                | 177,0             | 0,059 | 8,09 |
|         |                              | 14                               | 178,9             | 0,095 | 8,00 |
|         |                              | 28                               | 175,4             | 0,086 | 7,93 |

La Figura 9 muestra los datos para las pruebas de estabilidad de almacenamiento reflejados en la Tabla 11. En la parte izquierda de la Figura 9, se muestran los datos para las emulsiones de acuerdo con el ejemplo 4 y en la parte derecha los datos para las emulsiones de acuerdo con el ejemplo 5.

La Figura 9 y la Tabla 11 muestran que la emulsión de acuerdo con el ejemplo 5 es más estable que la emulsión del ejemplo 4. La emulsión de acuerdo con el ejemplo 5 también es más estable después de que la emulsión se haya esterilizado en un autoclave giratorio.

Además, las emulsiones de los ejemplos 4 y 5 se almacenaron durante 168 días a 40 °C.

La Fig. 9A muestra los resultados de la prueba de 3 muestras de la emulsión de acuerdo con el ejemplo 4.

La figura 10 muestra los resultados de la prueba de 3 muestras de la emulsión de acuerdo con el ejemplo 5. Sorprendentemente, se encontró que la emulsión del ejemplo 5, incluso a una temperatura de almacenamiento de 40 °C, no cambió significativamente la estabilidad física (figura 10).

## REIVINDICACIONES

1. Una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, para su uso en la detección diagnóstica por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética, en el que, antes de la administración de un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado, la formulación acuosa (F) se administra por separado por vía parenteral.

2. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación acuosa (F) es una emulsión acuosa (A), preferiblemente una emulsión de aceite en agua, que se administra en una primera etapa y en una posterior etapa se administra un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado.

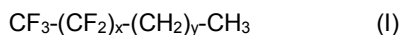
3. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la emulsión (A) acuosa comprende uno o más aceites seleccionados del grupo que consiste en aceite de almendra, aceite de babasú, aceite de semilla de grosella negra, aceite de borraja, aceite de canola, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de palma, aceite de semilla de palma, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de girasol, aceite de sésamo, triglicéridos de cadena media (MCT), triglicéridos de cadena larga (LCT) y aceite de pescado.

4. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 2 y 3, en la que la emulsión acuosa (A) comprende un aceite en una cantidad que varía de 5 a 40 % en peso, preferiblemente de 8 a 30 % en peso, basado en el peso total de la emulsión acuosa (A).

5. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que el agente de contraste fluorado se selecciona del grupo que consiste en compuestos de carbono parcialmente fluorados, compuestos de carbono perfluorados, alcanos fluorados lineales, cíclicos o policíclicos, bis(perfluoroalquil)alquenos, perfluoroéteres, perfluoroaminas, bromuro de perfluoroalquilo, cloruro de perfluoroalquilo.

6. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes, en la que la composición que comprende un agente de contraste fluorado es una emulsión acuosa (B) que comprende

a) un compuesto semifluorado de fórmula I:



en el que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10,

b) un triglicérido de cadena media (MCT) que es miscible con el compuesto semifluorado a 20 °C y

c) un emulsionante.

7. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes para su uso en la detección diagnóstica de procesos inflamatorios por medio de un procedimiento de obtención de imágenes.

8. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes para su uso en la detección diagnóstica de procesos inflamatorios por medio de un procedimiento de obtención de imágenes en la que la formulación (F) es una emulsión de aceite en agua (A) que comprende

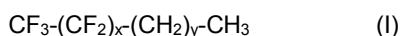
i) de 5 a 40 % en peso de un aceite seleccionado de triglicéridos,

ii) de 0,5 a 5 % en peso de un emulsionante, preferiblemente un fosfolípido,

iii) opcionalmente de 0,1 a 5 % en peso de un agente de tonicidad, y

iv) de 55 a 93 % en peso de agua, en el que el % en peso se basa en el peso total de la emulsión de aceite en agua (A), que se administra en una primera etapa y en una etapa posterior, se administra una composición que comprende un agente de contraste fluorado, en forma de una emulsión acuosa (B) que comprende

i) de 1 a 20 % en peso de un compuesto semifluorado de fórmula I:



en la que x es un número entero que varía de 1 a 8 e y es un número entero que varía de 2 a 10,

ii) de 1 a 20 % en peso de un triglicérido que es miscible con el compuesto semifluorado a 20 °C y

iii) de 0,1 a 5 % en peso de un emulsionante, en el que el % en peso se basa en el peso total de la emulsión acuosa (B).

9. Formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las

reivindicaciones anteriores para la detección diagnóstica, mediante un procedimiento de obtención de imágenes, de procesos inflamatorios seleccionados del grupo que consiste en reacciones inflamatorias periféricas a infartos como el infarto de miocardio, accidente cerebrovascular; inflamación de órganos, como miocarditis, encefalitis, meningitis; esclerosis múltiple; inflamación del tracto gastrointestinal, como la enfermedad de Crohn; inflamación de los vasos, como la arteriosclerosis, en particular con placas vulnerables; detección de abscesos y también artritis, en el que el proceso de obtención de imágenes se basa en la medición por resonancia magnética nuclear del isótopo <sup>19</sup>F

10. Fórmula acuosa (F) que contiene componentes fagocitables para su uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones anteriores para la detección diagnóstica, basada en procedimientos de obtención de imágenes no invasivos del sistema cardiovascular, incluyendo el miocardio, arterias y venas; reacciones inflamatorias que ocurren en procesos patológicos como infarto de miocardio, miocarditis, aterosclerosis y trombosis que conducen a procesos inflamatorios y degenerativos de la vasculatura que se producen en neurología como un accidente cerebrovascular o un tumor; neumología como trombosis, inflamación, sarcoidosis; gastroenterología como tumor, enfermedades inflamatorias del intestino como la enfermedad de Crohn; y reumatología, como las enfermedades autoinmunitarias de los vasos, como la arteritis de Takayasu.

11. Método que comprende adquirir procedimientos de obtención de imágenes no invasivos en un paciente al que, en una primera etapa, se administra parenteralmente una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables y, en una etapa posterior, se administra un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado y en el que dicho procedimiento de obtención de imágenes es un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética.

12. Método de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la diferencia de tiempo entre la primera etapa y la etapa posterior es de al menos 15 segundos, preferiblemente de al menos 30 segundos, especialmente en el intervalo de 1 minuto a 10 horas, por ejemplo de 5 minutos a 1 hora.

13. Kit que comprende

- a) un envase que comprende una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, que se puede administrar por vía parenteral y
- b) un envase que comprende un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado detectable por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética.

14. Kit de diagnóstico que comprende

- a) un envase que comprende una formulación acuosa (F) que contiene componentes fagocitables, que se puede administrar por vía parenteral y
- b) un envase que comprende un agente de contraste fluorado o una composición que comprende un agente de contraste fluorado detectable por medio de un procedimiento de obtención de imágenes por resonancia magnética.

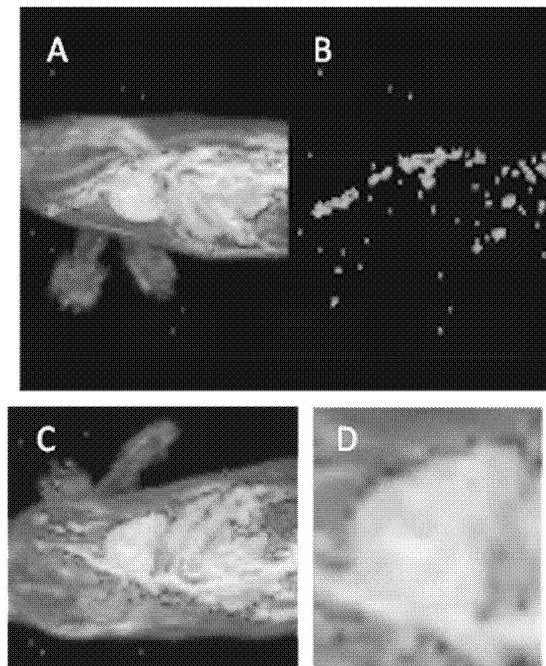


Figura 1

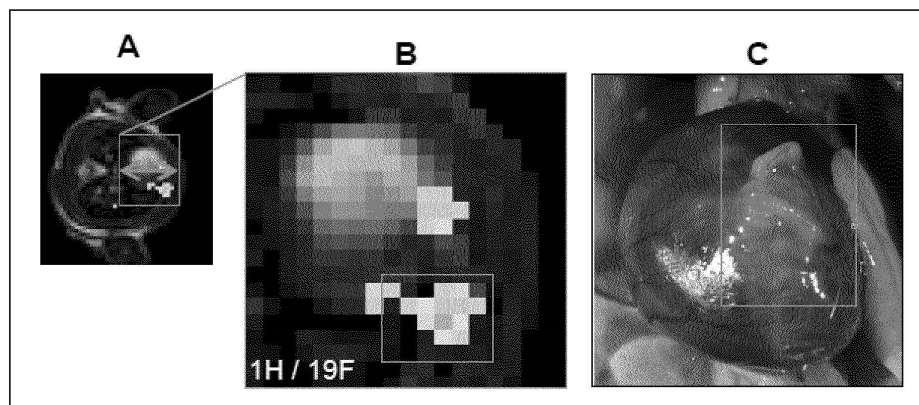


Figura 2

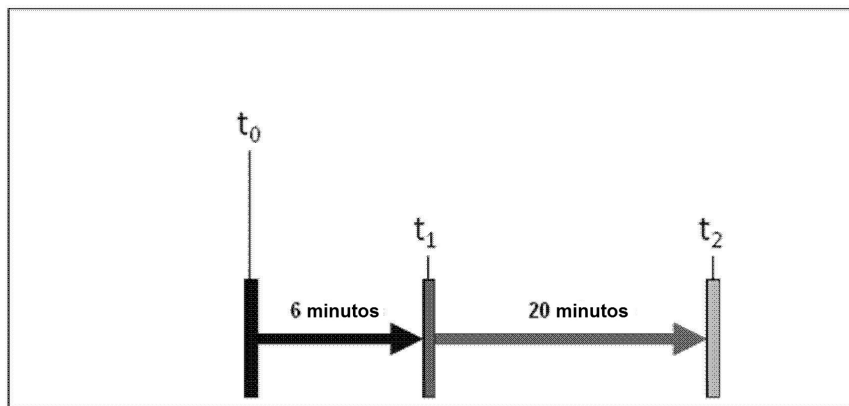


Figura 3

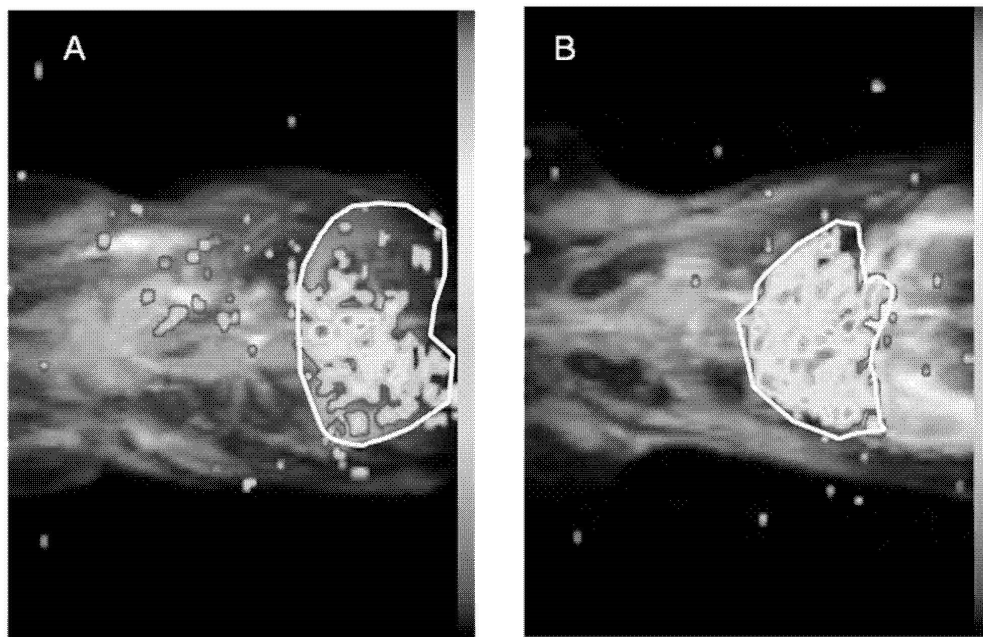


Figura 4

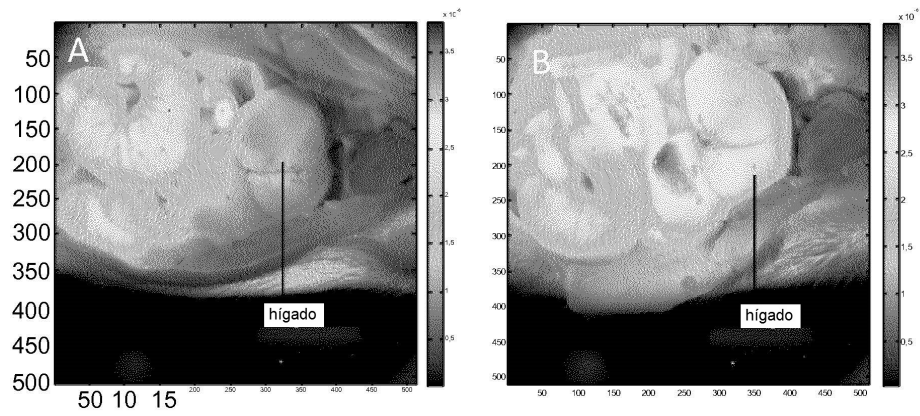


Figura 5

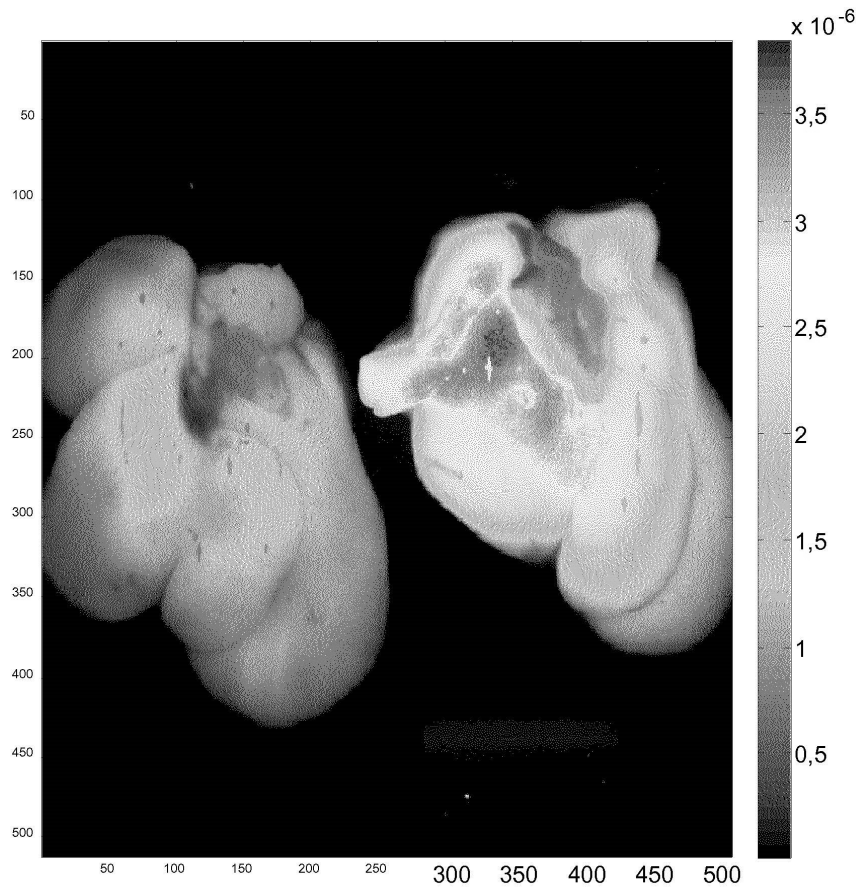


Figura 6

250

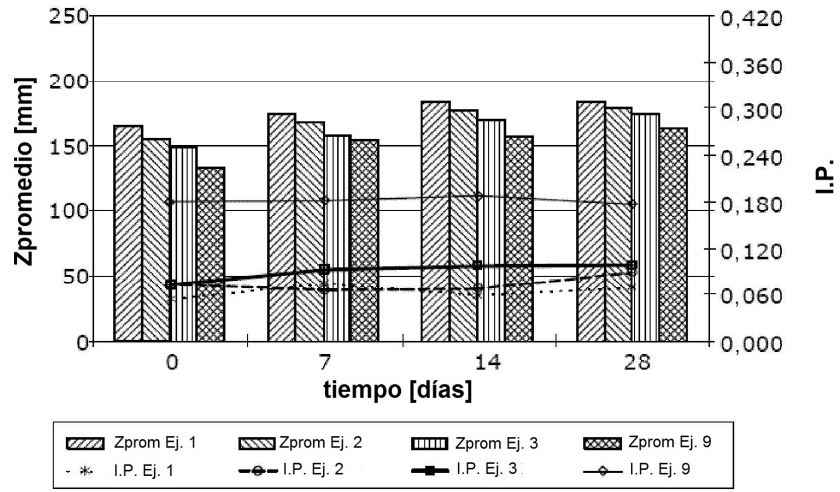


Figura 7

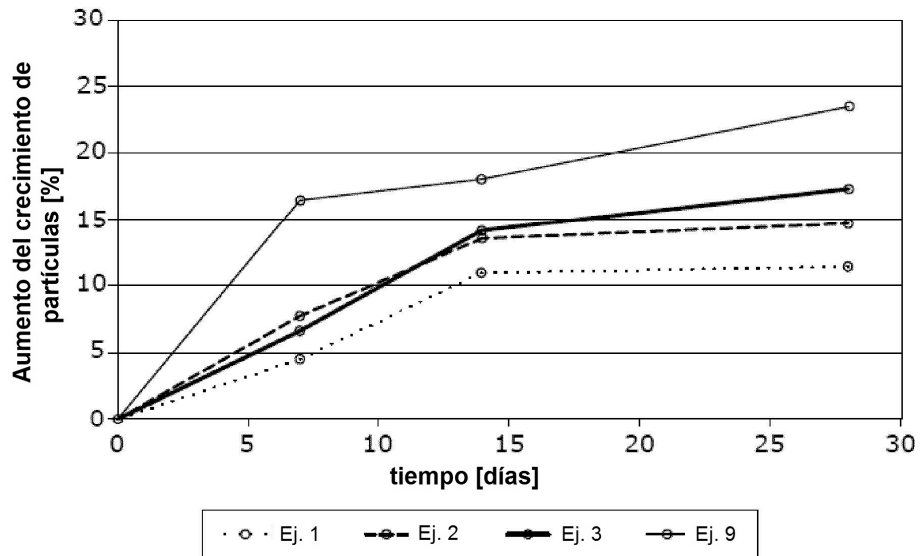


Figura 7a

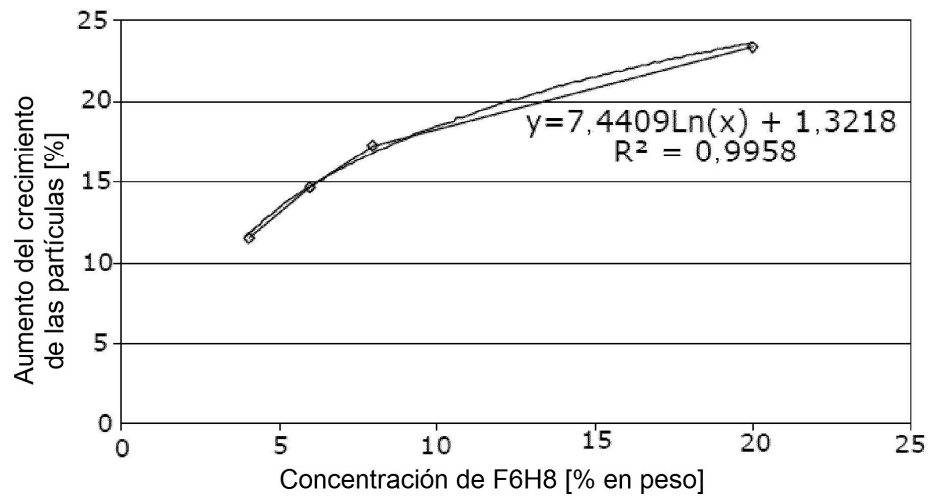


Figura 7b

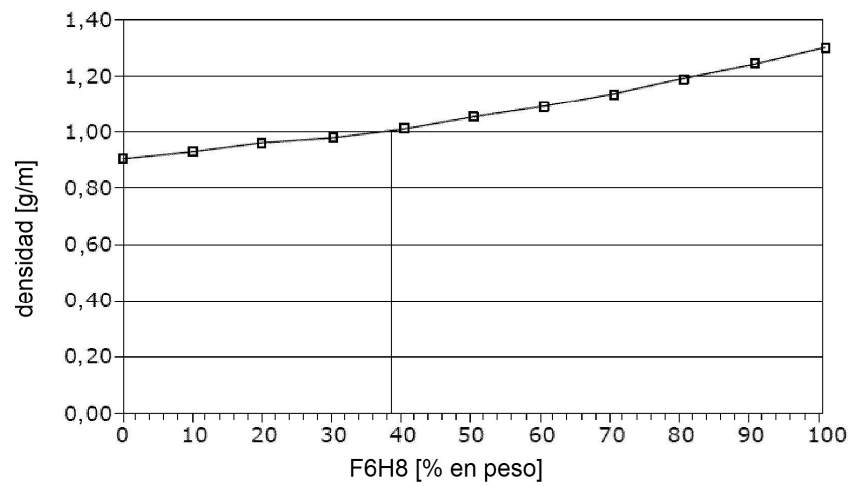


Figura 7c

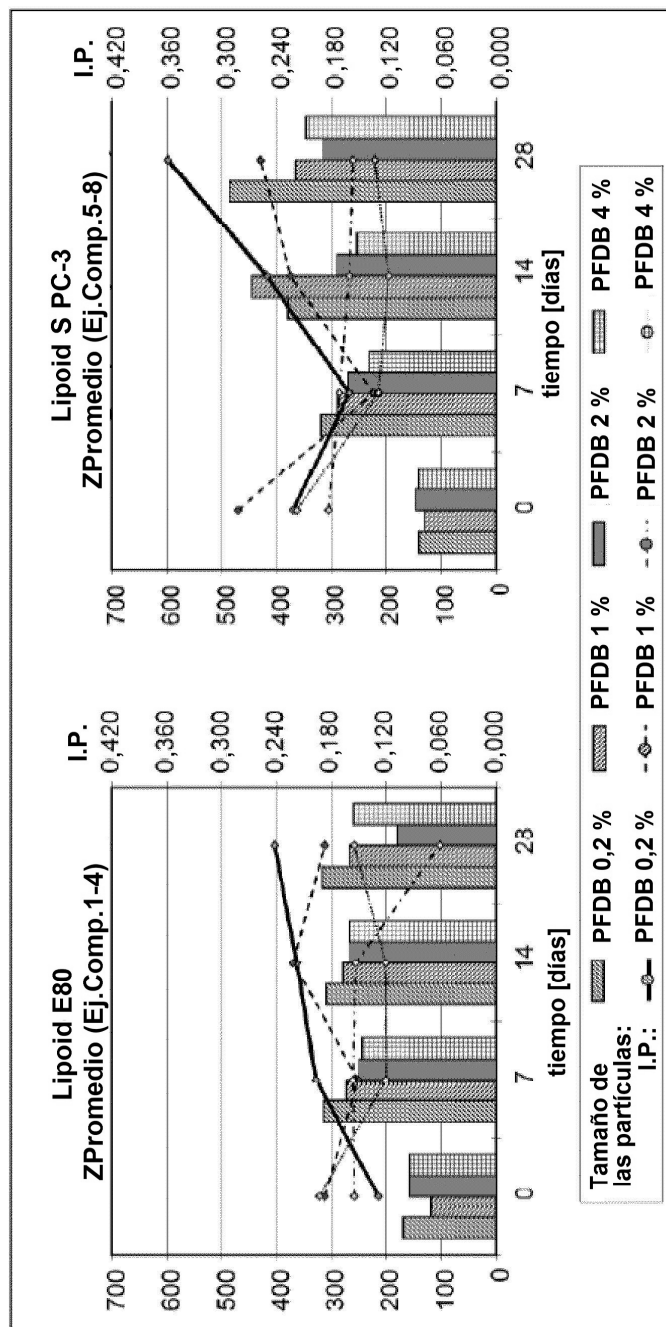


Figura 8

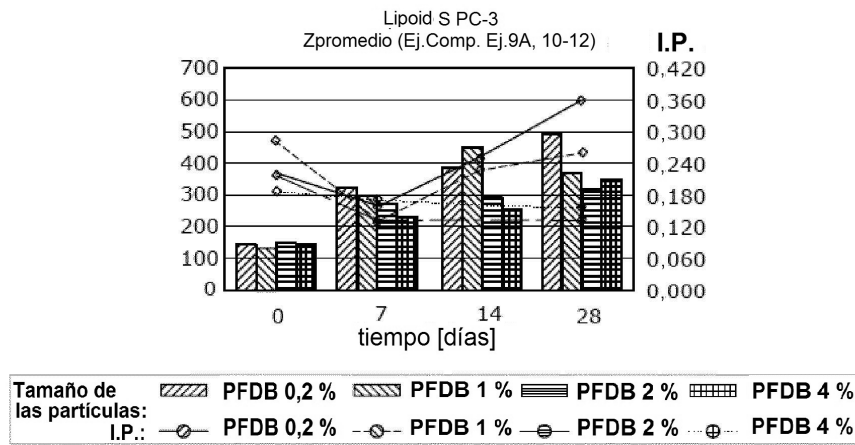


Figura 8A

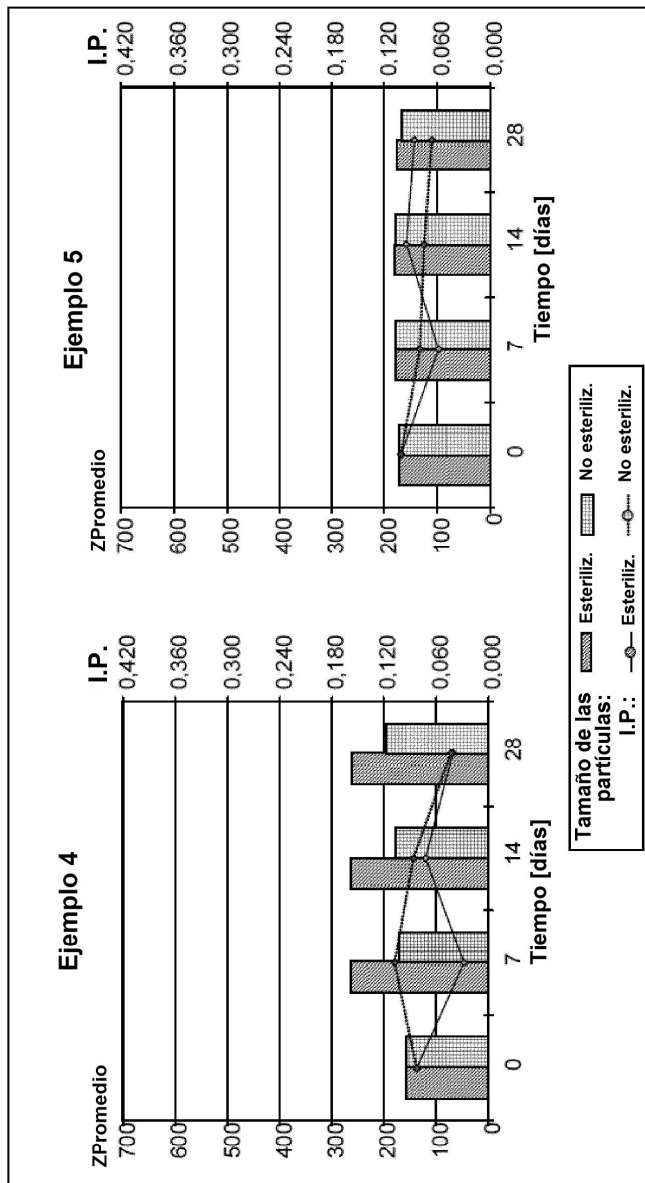


Figura 9

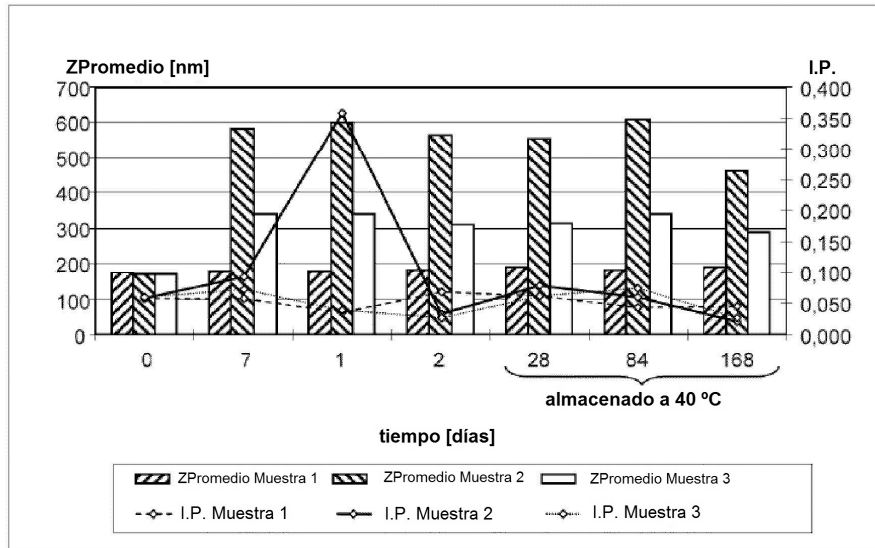


Figura 9A

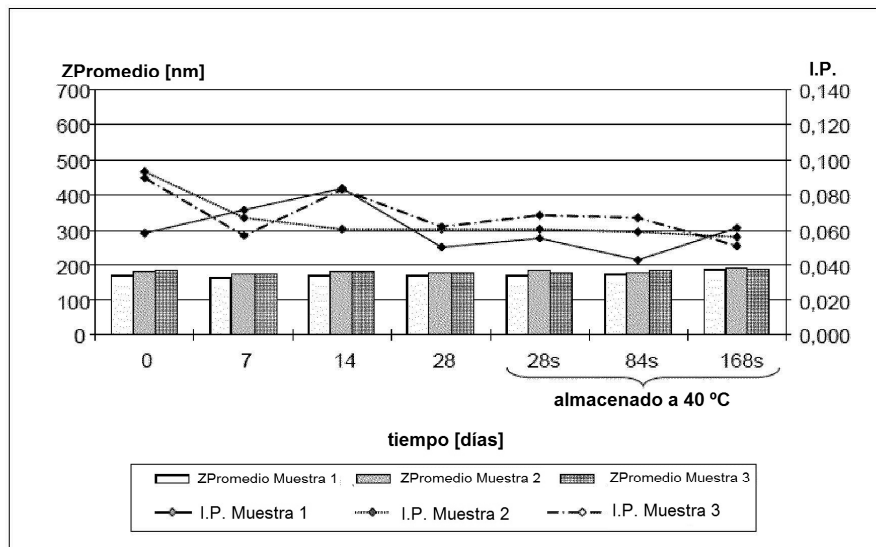


Figura 10