

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-068011- -00005-0000

Fecha: 2014-03-26 16:36:06 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 41

Señor

Director de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **12 068011**

Solicitud de Patente PCT Entrada en Fase Nacional, para:

“UNA COMPOSICION DE CONTRASTE QUE COMPRENDE UN DIMERO DERIVADO DE TRICARBOXAMIDA COMBINADO CON SALES DE SODIO Y DE CALCIO” (nuevo título).

Solicitante: **GE HEALTHCARE AS**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito dar respuesta a su oficio No. 23662 notificado el 31 de diciembre de 2013 de la siguiente manera:

Excepciones a la patentabilidad

El examinador objeta las reivindicaciones 13 – 15, argumentando que los métodos de diagnóstico no son patentables. Con el fin de subsanar esta objeción, el solicitante presenta un nuevo capítulo reivindicatorio del cual se han eliminado las reivindicaciones objetadas.

Reivindicaciones relativas a un uso

El examinador objeta la reivindicación 16, argumentando que los usos no son patentables. Con el fin de subsanar esta objeción, el solicitante presenta un nuevo capítulo reivindicatorio en el cual se ha eliminado la reivindicación objetada.

Título de la Solicitud

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

Con el fin de superar la objeción sobre el título, presento en su reemplazo el sugerido por el examinador así:

“UNA COMPOSICION DE CONTRASTE QUE COMPRENDE UN DIMERO DERIVADO DE TRICARBOXAMIDA COMBINADO CON SALES DE SODIO Y DE CALCIO”

Claridad de la Solicitud

El examinador objeta la claridad del capítulo reivindicatorio, con el fin de subsanar las objeciones presentadas por el examinador el solicitante presenta un nuevo capítulo reivindicatorio en el cual se hacen las siguientes modificaciones:

- Se eliminan las reivindicaciones 2 – 4 y 8 – 10.
- Se combina la reivindicación 1 con la reivindicación 10.
- Respecto a la objeción presentada por el examinador a la reivindicación 12,

nueva reivindicación 6, el solicitante respetuosamente le recuerda al examinador que la decisión 486 no obliga a presentar resultados experimentales que sustenten todas y cada una de las modalidades de la invención. Una reivindicación se encuentra debidamente sustentada por la descripción siempre y cuando la materia reclamada en la misma aparezca descrita, independiente de si se presentan o no ejemplos experimentales. Por lo tanto, la reivindicación 12, nueva reivindicación 6, cumple con el requisito de suficiencia de acuerdo a lo establecido en el artículo 28 de la Decisión 486.

En vista de lo anterior, el solicitante considera que el nuevo capítulo reivindicatorio adjunto cumple con los requisitos de claridad y suficiencia establecidos en la Decisión 486.

Nivel inventivo

El examinador objeta la altura inventiva de la presente solicitud a la luz de las enseñanzas del documento WO 2009/008734 (en adelante D1) y el documento WO 91/13636 (en adelante D2). El examinador argumenta lo siguiente:

“La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y la composición diagnóstica divulgada en el documento D1 consiste en que la composición diagnóstica reclamada incluye una concentración para el ion sodio de 40-50mM y para el calcio de 0,1-0,7mM, mientras que la composición diagnóstica divulgada en el documento D1

incluye iones sodio y calcio pero no determinar la concentración a la cual se encuentran cada uno de ellos.

El efecto que logra incluir en una composición diagnóstica iones de sodio y calcio consiste en que se reduce el riesgo cardiaco por una fibrosis ventricular."

Así mismo, el examinador establece que:

"Sin embargo, la inclusión de iones sodio y calcio en una concentración entre 40- 50mM y de 0.1-0.7mM respectivamente para reducir el riesgo cardiaco, está divulgado en el documento D2 que enseña medios de contraste que comprenden sales de sodio en un rango de concentración entre 15 a 75mM y sales de calcio en un rango y 0,07 a 0.7mM en donde dichos iones reducen la toxicidad del ingrediente activo (Resumen, Pág. 4, líneas 1 a 35 y Pág. 27, reivindicaciones 1 a 3)."

Por último, el examinador concluye que:

"... la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría la concentración del ion sodio de entre 40-50mM y la del ion calcio entre 0.1-0.7mM de acuerdo con lo divulgado en el documento D2 en la composición diagnóstica divulgada en el documento D1 para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia."

Al respecto, el solicitante quisiera hacer las siguientes observaciones:

La invención reivindicada está dirigida a una composición de contraste que comprende un dímero derivado de triiodobencen tricarboxamida, de Fórmula I



Fórmula I

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

un portador farmacéuticamente aceptable, y disuelta en la misma una sal de sodio (compuesto de sodio) y una sal de calcio (compuesto de calcio) que proporcionan una concentración de iones sodio de 40 a 50 mM y una concentración de iones calcio de 0,1 a 0,7 mM, donde la sal de sodio y la sal de calcio son sales que comprenden contraiones seleccionados del grupo de cloruro, sulfato, fosfato y carbonato de hidrógeno.

Como se menciona en la memoria descriptiva: *"El solicitante ha ahora sorprendentemente identificado una nueva composición de diagnóstico por rayos X que muestra un perfil de seguridad cardíaco superior en comparación con VisipaqueTM, según se muestra en estudios in vivo similares tal como se indicó anteriormente."* página 6, párrafo 2.

"Sorpresivamente, el nuevo agente de contraste por rayos X, el Compuesto I, cuando se formuló en una composición de diagnóstico con como mucho 40-50 mM y 0,1-0,7 mM de CaCl_2 no mostró evidencias de fibrilación ventricular (ver la figura 3 y la Tabla 3 para obtener detalles)." Página 8, líneas 10-13.

Además, *"Al comparar los resultados de los dos estudios diferentes, un incremento en la frecuencia de la fibrilación ventricular desde 0% a 100% se observó con Visipaque. Sin embargo, incluso a una dosis alta, el agente de contraste por rayos X dimérico, el Compuesto I, no mostró fibrilación ventricular"* Página 8, líneas 14-17.

D2 reivindica concentraciones de sodio de 15 a 75 mM en una formulación, preferiblemente concentraciones de 25 a 35 mM, y más preferiblemente concentraciones de 65 a 75 mM.

Se ha demostrado en la presente invención que la composición de contraste de sodio y calcio con una concentración de sodio de 40 a 50 mM, tal como de 45 mM, reduce la fibrilación cardíaca de 100% a 0%.

Así la concentración de sodio de 15-75 mM no sugiere de modo alguno la concentración "mágica" de la presente solicitud y las concentraciones de sodio preferidas de 25 a 35 mM o de 65 a 75 mM, son sin duda de menos ayuda.

La mejora espectacular en fibrilación con la composición de contraste con una concentración de sodio justo entre las concentraciones sugeridas es de hecho sorprendente.

En otras palabras, la materia objeto de la presente solicitud constituye una invención de selección donde el solicitante encontró un rango óptimo de concentración de iones de sodio en

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

el medio de contraste que reduce la incidencia de fibrilación cardiaca en un 100%. El experto con habilidad en la materia no podría derivar de manera obvia esta concentración específica partiendo de las enseñanzas de los documentos D1 y D2 citados por el examinador.

Al respecto, el solicitante le recuerda respetuosamente al examinador lo establecido en el INSTRUCTIVO EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTES DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD respecto a las invenciones de selección. Dicho Instructivo en la página 104 establece lo siguiente respecto a la selección de subrangos:

"La selección de un subrango que no había sido mencionado explícitamente en el grupo o rango extenso conocido se considera nuevo, si se cumplen las tres condiciones siguientes:

- El subrango seleccionado es más estrecho que el rango conocido*
- El subrango seleccionado está suficientemente alejado del rango divulgado, definido por los ejemplos y por los extremos*
- El subrango seleccionado no es un ejemplo arbitrario del estado de la técnica, sino una nueva invención."*

Puesto que el rango de concentración de sodio reclamado en la presente solicitud constituye un subrango de los reclamados en el estado del arte citado por el examinador y cumple con las tres condiciones arriba establecidas, el solicitante considera que la materia objeto del nuevo capítulo reivindicatorio adjunto se considera una invención de selección y posee altura inventiva por sobre las enseñanzas de los documentos D1 y D2.

Anexos

- Nueva descripción y capítulo reivindicatorio conformado por 6 reivindicaciones.

Señor Director,


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39.779.654 de Bogotá
T.P.A. No. 70.819 del C.S.J.
Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.
Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C. **26 MAR. 2014**
MCA/Ch
12449
RESPUESTA EXAMEN DE FONDO

COMPOSICIÓN DE DIAGNÓSTICO QUE COMPRENDE CATIONES EN PLASMA CON UN PERFIL DE SEGURIDAD SUPERIOR

La presente invención hace referencia a una nueva composición de diagnóstico por rayos X que exhibe un perfil de seguridad cardíaco superior. La composición comprende un dímero yodado no iónico en un portador aceptable farmacéuticamente. La invención también hace referencia a métodos de toma de imágenes que utilizan dicha composición de diagnóstico.

El diagnóstico por imágenes se basa en la consecución de diferentes niveles de señal a partir de diferentes estructuras dentro del cuerpo. De este modo, en las imágenes por rayos X por ejemplo, para que una estructura de cuerpo dada sea visible en la imagen, la atenuación de los rayos X mediante esa estructura debe diferir de aquella de los tejidos circundantes. La diferencia en la señal entre la estructura del cuerpo y sus alrededores frecuentemente se denomina contraste y se ha dedicado mucho esfuerzo a los medios para mejorar el contraste en las imágenes de diagnóstico debido a que cuanto mayor es el contraste entre una estructura corporal y sus alrededores, mayor es la calidad de las imágenes y mayor su valor para que los médicos realicen el diagnóstico. Además, cuanto mayor es el contraste, son menores las estructuras del cuerpo que se pueden visualizar en los procedimientos por imágenes, es decir, el mayor contraste puede dar lugar a mayores resoluciones espaciales. La calidad del diagnóstico de las imágenes depende fuertemente del nivel de ruido inherente en el procedimiento por imágenes, y la relación del nivel de contraste con el nivel de ruido puede de este modo verse como que representa un factor de calidad de diagnóstico eficaz para las imágenes de diagnóstico. Alcanzar una mejora en

dicho factor de calidad de diagnóstico ha sido por mucho tiempo, y sigue siendo, una meta importante.

En técnicas tales como los rayos X, un enfoque para mejorar el factor de calidad de diagnóstico ha sido introducir materiales que mejoran el contraste, formulados como un medio de contraste en la región del cuerpo de la que se toma la imagen. De este modo, los primeros ejemplos de agentes de contraste fueron las sales de bario inorgánicas e insolubles que mejoraban la atenuación de los rayos X de las zonas del cuerpo donde se distribuían. Durante los últimos 50 años, el campo de los agentes de contraste para rayos X ha sido dominado por los compuestos que contenían yodo soluble. Los medio de contraste (CM, según siglas en inglés) disponibles en el mercado que contenían agentes de contraste yodados por lo general se clasifican como monómeros iónicos tales como diatrizoato (comercializado por ejemplo bajo la marca Gastrofren™), dímeros iónicos tales como ioxaglato (comercializado por ejemplo bajo la marca Hexabrix™), monómeros no iónicos tales como iohexol (comercializado por ejemplo bajo la marca Omnipaque™), iopamidol (comercializado por ejemplo bajo la marca Isovue™), iomeprol (comercializado por ejemplo bajo la marca Iomeron™), y el dímero iodixanol no iónico (comercializado por ejemplo bajo la marca Visipaque™). La seguridad clínica del medio de contraste para rayos X yodado se ha mejorado con continuidad en las últimas décadas a través del desarrollo de nuevos agentes; desde monómeros iónicos (Isopaque™) a monómeros no iónicos (p. ej. Omnipaque™) y dímeros no iónicos (p. ej., Visipaque™). Sin embargo, incluso el medio de contraste para rayos X altamente refinado actualmente en el mercado exhibe un grado bajo de efectos secundarios clínicos no deseados, tales como la nefropatía inducida por contraste (CIN, según

siglas en inglés), eventos cardíacos adversos, y reacciones adversas demoradas (DAR, según siglas en inglés). Consecuentemente, existe una necesidad clínica de que haya un medio de contraste para rayos X nuevo y más seguro, especialmente con respecto a las investigaciones de diagnóstico que involucran pacientes en donde hay un alto riesgo de que presenten efectos secundarios.

La utilidad del medio de contraste está gobernada ampliamente por su toxicidad, por su eficacia de diagnóstico, por los efectos adversos que puede tener en el sujeto al cual se administra el medio de contraste, y por la facilidad de producción, almacenamiento y administración. La toxicidad y los efectos biológicos adversos del medio de contraste son aportados por los componentes del medio de la formulación, es decir, de la composición de diagnóstico, p. ej., el solvente o el portador como también el agente de contraste en sí y sus componentes tales como los iones para los agentes de contraste iónicos y también por sus metabolitos.

La cantidad de procedimientos de arteriografías coronarias sigue aumentando de manera consistente con las capacidades en expansión de las intervenciones coronarias, que incluyen la angioplastia coronaria transluminal, el implante de stents y la administración intracoronaria de sustancias terapéuticas. Más de 70 millones de procedimientos, una mayoría de ellos relacionados con los procedimientos cardíacos, se llevan a cabo en todo el mundo anualmente. Los efectos laterales agudos provocados por los medios de contraste radiográficos yodados son raros, pero pueden tener lugar en pacientes con alto riesgo y durante la intervención coronaria percutánea.

En la arteriografía coronaria la sangre en las arterias coronarias debería idealmente reemplazarse por completo por un bolo de medio de contraste

radiográfico yodado para maximizar la atenuación de las radiografías y de este modo optimizar las imágenes de diagnóstico. Cuando el medio de contraste reemplaza la sangre, las moléculas del medio de contraste provocan efectos quimiotóxicos y osmóticos en los vasos coronarios y también alteraciones en las concentraciones de electrolitos, la viscosidad y la tensión del oxígeno. Estas alteraciones pueden también influenciar la fuerza contráctil y el ritmo cardíaco y provocar fibrilación ventricular (VF, según siglas en inglés). La inyección selectiva del medio de contraste en las arterias coronarias induce efectos electrofisiológicos y hemodinámicos regionales. Las arritmias ventriculares graves, como también la cardiodepresión, son complicaciones conocidas de la arteriografía coronaria que pueden estar relacionada con el medio de contraste.

WO91/13636 y WO90/11094, ambas de Nycomed AS (ahora GE Healthcare AS), están dirigidas a los medios de contraste para rayos X y a sus formulaciones que incluyen diferentes sales. Existen también numerosos estudios sobre las ventajas de las formulaciones de los agentes de contraste para rayos X con la inclusión de sales, principalmente NaCl, en la literatura. Se han realizado estudios en corazones aislados de ratas (Jynge et al., *Investigative Radiology* 1993, 28, 20-25) y conejos (Bååth et al., *Investigative Radiology* 1993, 28, 223-227), en perros (Pedersen et al., *Acad. Radiol.* 1994, 1, 136-144) y en cerdos. De particular relevancia es el estudio de Chai et al. (*Acad. Radiol.* 2004, 11, 583-593) en donde se muestra que una formulación de iodixanol que contienen 19 mM de NaCl y 0.3 mM de CaCl₂ exhibe una frecuencia menor de fibrilación ventricular en comparación con iodixanol solo.

Jacobsen et al. *Investigative Radiology* 1993, 28, 917-924 muestra que inyecciones repetidas con rapidez del medio de contraste en perros resulta en

efectos aditivos sobre la inotropía y el potencial de acción monofásico mientras que la solución de Ringer no presentó efectos. Esto se investigó para entender cómo la angiografía en la práctica clínica, en donde las inyecciones repetidas son comunes para llenar el árbol coronario completo, puede inducir a cambios en los parámetros cardíacos y dar lugar a complicaciones.

La formulación actualmente comercializada de iodixanol, 1,2113 L/ml contiene 19 mM de iones de sodio y 0.3 mM de iones de calcio (Visipaque™). Esta formulación ha experimentalmente demostrado no exhibir un perfil de seguridad cardíaco superior en comparación con iodixanol sin sales agregadas, principalmente a través de estudios in vivo en un modelo cardíaco en cerdos, pero también a través de estudios en corazones de animales aislados. En estudios similares, se ha demostrado que iohexol también muestra una tolerabilidad cardíaca mayor cuando se formula con sales agregadas, principalmente NaCl.

WO 2009/008734 de GE Healthcare AS divulga una nueva clase de compuestos y su uso como agentes de contraste para rayos X. Los compuestos son dímeros que contienen dos grupos fenilo, yodados y unidos. El puente que une los dos grupos fenilo yodados es una cadena de alquileo C3 a C8 recta opcionalmente sustituida con uno a seis grupos -OH o OCH₃. Un rango de compuestos se ve abarcado por la fórmula general (I) de la solicitud y se sugieren muchos compuestos específicos.

El compuesto I, que se un agente de contraste para rayos X dimérico específico, que cae dentro de la fórmula I de WO2009/008734, ha sido descubierto por el solicitante como presentar propiedades favorables:



Compuesto 1: 5-[formil-[3-[formil-[3,5-bis(2,3-dihidroxiopropilcarbamoyl)-2,4,6-triiodofenil]amino]-2-hidroxiopropil]amino]-N,N'-bis(2,3-dihidroxiopropil)-2,4,6-triiodobeneno-1,3-dicarboxamida.

5

El solicitante ha ahora sorprendentemente identificado una nueva composición de diagnóstico por rayos X que muestra un perfil de seguridad cardíaco superior en comparación con VisipaqueTM, según se muestra en estudios in vivo similares tal como se indicó anteriormente.

10

De este modo, un primer aspecto de la invención provee una composición de diagnóstico que comprende un compuesto I



15

Compuesto I

un portador farmacéuticamente aceptable;

y disuelto allí un compuesto de sodio y un compuesto de calcio que proveen una concentración del ión de sodio de 40-50 mM y una concentración del ión de calcio de 0,1-0,7 mM.

Las propiedades fisicoquímicas del Compuesto I se encuentran a continuación. Se provee información adicional acerca de los métodos utilizados, además de la información sobre la biodistribución y la toxicidad aguda en el Ejemplo 1.

5 Unión a proteínas: la unión del Compuesto I a la albúmina de suero humana (HSA) se determinó utilizando un método de diálisis de equilibrio. La unión del Compuesto I a la albúmina de suero humana se determinó como muy baja, $3.1 \pm 1.3 \%$, que confirma la interacción insignificante de la sustancia con proteínas endógenas.

10 Coeficiente de partición: la hidrofiliidad del Compuesto I, según se determinó a través de la partición entre octanol y agua, mostró que el Compuesto I es muy hidrofílico con un logP de -4,28.

Viscosidad: la viscosidad del compuesto I se determinó a 20 °C y 37 °C a tres concentraciones diferentes. Los resultados se ilustran en la Fig. 4. La
15 viscosidad a 1,2113 L/ml y 20 °C es de alrededor de 24 mPas.

Osmolalidad: la osmolalidad del Compuesto I se determinó en cuatro concentraciones diferentes, 204, 254, 310 y 324 mg/ml. La osmolalidad del Compuesto I a 320 mg(I)/ml es 136 mOsm/kg.

 Se identificó una nueva composición de diagnóstico por rayos X que exhibe
20 un perfil de seguridad cardíaco superior en comparación con Visipaque™. Además de la seguridad del compuesto en sí, es decir, el compuesto que provee el contraste, los componentes adicionales de la composición de diagnóstico son cruciales.

 El estudio por Chai et al. muestra que una formulación de iodixanol que
25 contiene 19 mM de NaCl y 0,3 mM de CaCl₂ exhibe una frecuencia inferior de

fibrilación ventricular (VF) en comparación con iodixanol solo. Este estudio se llevó a cabo en cerdos donde el medio se inyectó directamente en la arteria coronaria izquierda (LCA, según siglas en inglés) que había sido ocluida previamente. No se observó que haya tenido lugar una fibrilación ventricular tras la inyección de Visipaque™. Como parte de la prueba de seguridad del Compuesto I, una identificación de una formulación para esto, las formulaciones del Compuesto I se probaron y compararon con Visipaque™. Debido a que en el estudio publicado previamente (arriba) se llevó a cabo una inyección intracoronaria de 20 ml de iodixanol durante un tiempo de inyección de 40 segundos y no tuvo lugar VF, el volumen de la inyección se incrementó a 25 ml durante un período de tiempo de 62,5 segundos para incrementar los casos de VF a fines comparativos. Además, las soluciones de prueba y referencia se inyectaron selectivamente en la arteria coronaria descendente (LAD) anterior izquierda para incrementar aún más la sensibilidad del modelo. A este volumen alto, incluso Visipaque mostró una frecuencia significativa de fibrilación ventricular, 100%. Los experimentos se detallan en el Ejemplo 2.

Sorpresivamente, el nuevo agente de contraste por rayos X, el Compuesto I, cuando se formuló en una composición de diagnóstico con como mucho 40-50 mM y 0,1-0,7 mM de CaCl_2 no mostró evidencias de fibrilación ventricular (ver la figura 3 y la Tabla 3 para obtener detalles).

Al comparar los resultados de los dos estudios diferentes, un incremento en la frecuencia de la fibrilación ventricular desde 0% a 100% se observó con Visipaque. Sin embargo, incluso a una dosis alta, el agente de contraste por rayos X dimérico, el Compuesto I, no mostró fibrilación ventricular. La diferencia principal es que el Compuesto I se formuló con 45 mM de NaCl en este estudio, lo que es

significativamente mayor en comparación con aquel de Visipaque (19 mM). A pesar de que no se vio un efecto significativo en la fibrilación ventricular (VF) con una concentración de iones de calcio entre 0,1 y 0,7 mM, hubo una reducción significativa en la presión arterial sistólica (SAP) y la presión sistólica del ventrículo izquierdo (LVP) cuando había menos calcio presente (Tabla 2). Estos datos indican que el factor principal que influencia la frecuencia de la fibrilación ventricular es la concentración de cloruro de sodio, a pesar de que el calcio tiene un efecto significativo en la presión arterial sistólica y la presión sistólica del ventrículo izquierdo (LVSP). De hecho, un estudio en los cerdos normales mostró que mientras la inyección en la LAD de una composición del compuesto I con 45 mM de NaCl sin CaCl₂ agregado resultó en una reducción de la LVSP 45 a 70 segundos después de la inyección (promedio de - 759.9375 Pa normalizado con Lactato de Ringer), la inyección de una composición del compuesto I con 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl₂ mantuvo la LVSP de manera similar que Visipaque (- 0,3 y + 13.332 Pa normalizado con Lactato de Ringer respectivamente) (Ejemplo 2b). Además, la inyección de lopamidol a la misma velocidad y volumen indujo VF en cada ocasión (total de 9 inyecciones en 3 cerdos) entre aproximadamente 27 a 50 segundos después del comienzo de la inyección (esto limitó todo análisis de la respuesta de la LVSP). Estos resultados indican además que la presencia de 0,5 mM de CaCl₂ en la composición del Compuesto I es beneficiosa y limita todo efecto negativo en la LVSP de manera similar a Visipaque. Además, los electrolitos agregados presentes en la composición de diagnóstico del Compuesto I y Visipaque pueden disminuir la propensión para inducir VF en comparación con lopamidol que no tiene electrolitos agregados. Las cantidades y relaciones de los electrolitos estudiados se proveen en la tabla 4 del Ejemplo 2b.

En un estudio de inyecciones más rápidas (40ml. a 5 ml/seg) la presión sistólica del ventrículo izquierdo se mantuvo y fue similar a lo observado después de la administración de Lactato de Ringer y Visipaque cuando el Compuesto I en una composición con 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl₂ se inyectó selectivamente a la LAD de los cerdos normales. En contraste con la inyección de lopamidol, que no contiene electrolitos agregados, indujo una reducción significativa en la LVSP (Ejemplo 2c).

Además, lopamidol indujo un incremento sustancial en dP/dt (69%) mientras que el Compuesto I fue similar a Lactato de Ringer y Visipaque en este aspecto (un incremento modesto de hasta 30%). Se considera que la presencia y relación de los electrolitos Sodio (Na) y Calcio (Ca) en las formulaciones del Compuesto I y Visipaque del estudio, que se parecen más a la composición de Na/Ca equilibrada de Lactato de Ringer y fluido intersticial, contribuyeron a un mantenimiento superior de la función cardíaca en comparación con aquella posterior a la inyección de lopamidol, que no contenía electrolitos agregados. Las cantidades y relaciones de los electrolitos se proveen en la tabla 5 del Ejemplo 2b.

En una realización adicional de la invención la composición de la invención comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 42-47 mM, e incluso más preferentemente una concentración de iones de sodio de 44-46 mM, y más preferentemente una concentración de iones de sodio de 45 mM.

En incluso otra realización de la invención la composición de la invención comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,3-0,6 mM, e incluso más preferentemente una concentración de calcio

de 0,4-0,5 mM y más preferentemente una concentración de iones de calcio de 0,5 mM.

En este aspecto, la relación entre la concentración de iones de sodio y la concentración de iones de calcio debería estar entre 57 y 500, tal como entre 63 y 117, más preferentemente entre 70 y 156, más preferentemente entre 85 y 115 y más preferentemente entre 88 y 95.

En un segundo aspecto, la invención provee una composición de diagnóstico que comprende un compuesto I



Compuesto I

un portador farmacéuticamente aceptable;

y disuelto allí un compuesto de sodio y un compuesto de calcio en donde la relación entre la concentración de iones de sodio y la concentración de iones de calcio está entre 40 y 45, y es preferentemente 43. Esto es para reflejar las concentraciones de electrolitos de una composición de Lactato de Ringer.

El compuesto de sodio y el compuesto de calcio de la composición pueden proveerse en la forma de sales, es decir, los compuestos incluyen contraiones fisiológicamente tolerables, p. ej., seleccionados a partir del grupo de cloruro, sulfato, fosfato y carbonato de hidrógeno. Preferentemente, el compuesto de sodio es cloruro de sodio y el compuesto de calcio es cloruro de calcio.

El portador farmacéuticamente aceptable es una solución acuosa, preferentemente agua pura.

El sodio es esencial para la despolarización miocárdica, que depende de una corriente interna de Na^+ . Consideramos que la adición de 40-50 mM de iones de sodio, y preferentemente 45 mM de NaCl , al Compuesto I lo asemeja a la concentración intersticial de Na normal en comparación con iodixanol + 19 mM Na^+ /L. Por lo tanto, el Compuesto I puede ser más fisiológico y más capaz de mantener la potencial acción de los canales rápidos de sodio, contrarrestando de este modo la potencial acción de "respuesta lenta" provocada por muy poco sodio o por la ausencia de sodio.

Las investigaciones anteriores han demostrado que agregar pequeñas cantidades de sodio (10-30 mmol/L) al medio de contraste no iónico puede disminuir el riesgo de fibrilación ventricular (VF) de estos medios de contraste. Sin embargo, los estudios también muestran que la adición de más sodio al medio de contraste puede también incrementar la inotropía negativa, según lo indica la presión arterial sistólica reducida/la presión sistólica del ventrículo izquierdo (SAP/LVP). Para mantener las relaciones normales extracelulares e intracelulares de sodio-calcio (Na-Ca), la adición de calcio a un medio de contraste no iónico reduce los efectos inotrópicos negativos. La pregunta clave, sin embargo, es cuánto calcio debería agregarse para evitar el incremento de la inotropía negativa. La adición de 19 mM de NaCl y 0.3 mM de CaCl_2 a iodixanol 320 mg I/mL en la formulación de Visipaque se consideró óptima para minimizar las molestias fisiológicas tales como VF y la mayor inotropía negativa durante la angiografía coronaria.

En nuestros estudios, se confirmó el beneficio de CaCl_2 para el Compuesto I con 45 mM de NaCl (Tabla 3). Una formulación (F1) con 0,1 mM de CaCl_2 indujo significativamente a una menor SAP y LVP en comparación con la formulación con 0,3 mM de CaCl_2 (F3) o 0,7 mM de CaCl_2 (F5) respectivamente. La formulación del Compuesto I con 0,3 mM de CaCl_2 provocó una menor SAP en comparación con la formulación con 0,7 mM de CaCl_2 . Por consiguiente, la adición de iones de calcio al medio de contraste puede contrarrestar la isotropia negativa provocada mediante la adición de sodio.

Sin embargo, existe un equilibrio crítico entre los iones de sodio y calcio. La adición de concentraciones adecuadas de sodio y calcio al medio de contraste no iónico disminuye el riesgo de VF y reduce los efectos adversos en la fuerza contráctil. La adición de mucho sodio disminuye la fuerza contráctil del miocardio. Este último esfuerzo está contrarrestado por la adición de iones de Ca. La formulación del Compuesto I, con 45 mM de NaCl y 0,7 mM de CaCl_2 (F7) parece ser la mejor formulación debido a que no causó ningún VF y mantuvo mejor inotropía que las formulaciones F1 y F3. Sin embargo los efectos hemodinámicos de la formulación F5 del Compuesto I, sin embargo, fueron iguales a aquellos de Visipaque, por ello se prefiere una concentración de calcio entre F3 y F5. De este modo, en una realización preferida particular la composición de la invención comprende 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl_2 .

La seguridad intravenosa e intraarterial de esta composición del Compuesto I se ilustró en un estudio por separado. En este estudio, los efectos cardiovasculares del Compuesto I en una composición de 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl_2 se evaluaron a tres niveles de dosis in vivo en un modelo porcino agudo. En síntesis, no hubo cambios generales respecto al rendimiento del

miocardio cuando se administró la composición mediante la vía intravenosa e intraarterial. El estudio se describió aún más en el Ejemplo 3.

Generalmente, el medio de contraste yodado puede provocar reacciones de hipersensibilidad demoradas en pacientes susceptibles a partir de 1 hora hasta
5 varios días después de la exposición. Estas reacciones son principalmente erupciones cutáneas no serias tales como erupciones maculares, erupciones maculopapulares y erupciones tipo urticaria. Las reacciones adversas demoradas (DAR, según sus siglas en inglés) inducidas por el medio de contraste tales como las erupciones cutáneas parecen ser provocadas por las células T reactivas al
10 medio de contraste, que tras el reconocimiento del medio de contraste, se proliferan y posteriormente producen una reacción inflamatoria en la piel. El solicitante ha evaluado un modelo de proliferación de células T in vitro diseñado para predecir la frecuencia relativa con la que el medio de contraste, tal como el Compuesto I, provocará reacciones cutáneas demoradas en la administración
15 postintravascular en pacientes. Dos medios de contraste, iodixanol e iohexol, con velocidades de reacciones cutáneas demoradas conocidas, y el nuevo medio de contraste, Compuesto I, se analizaron (2 y 5 mg I/mL) en cuanto a la proliferación de células T in vitro en células mononucleares de sangre periférica reducidas en CD25+ de 100 donantes que representaban las frecuencias de HLA-DR de la
20 población mundial. Las respuestas de las células T positivas se evaluaron conforme con los protocolos publicados y a los valores del índice de estimulación (respuesta positiva $\geq 1,9$). La toxicidad in vitro se probó midiendo la viabilidad de las células de las primeras 10 muestras de donantes incubadas con el medio de contraste de prueba (5 mg I/mL). Los resultados fueron que todos los alotipos de
25 HLA-DR principales fueron representados con una frecuencia equivalente a la

población mundial. No hubo un medio de contraste evaluado que tuviera un efecto significativo en la viabilidad de las células. El Compuesto I tuvo menos muestras de donantes con proliferación de células T positivas en comparación con iodixanol e iohexol en ambas concentraciones. Para iodixanol y iohexol, las respuestas de proliferación de células T para la mayoría de los donantes tuvo lugar a los días 7 y 8; la significancia estadística favoreció a una respuesta de proliferación reducida para el Compuesto I el día 8. En conclusiones, el modelo estableció exitosamente la frecuencia relativa con la que el medio de contraste provocó la activación de las células T in vitro. Los resultados se correlacionaron con las frecuencias informadas de reacciones cutáneas demoradas con dos medios de contraste comercializados, e identificaron una frecuencia más baja para el Compuesto I.

Los resultados indican que el Compuesto I tiene menor capacidad para estimular la proliferación de células T in vitro en comparación con iodixanol y iohexol. Dada la asociación más frecuente de DAR con un medio de contraste dimérico, nuestra observación de que un dímero no iónico muy parecido a iodixanol no estimula la proliferación de las células T in vitro en la misma medida que iodixanol, o de hecho en la misma medida que el monómero iohexol, es de considerable interés. Debido a que ahora se sabe que la proliferación de las células T subyace a la DAR, nuestros datos sugieren que una estructura dimérica per se no puede en sí provocar una mayor frecuencia de proliferación de células T. La diferencia clave estructural entre el Compuesto 1 e iodixanol es que los 2 grupos acetilo en iodixanol se han reemplazado por 2 grupos formilo en el Compuesto I. Esta modificación tiene un efecto en la estructura, la conformación y el comportamiento fisicoquímico del enlazador de la molécula, y sorprendentemente en el Compuesto I como una capacidad menor para estimular

la proliferación de células T in vitro en comparación con iodixanol y iohexol. Por lo tanto, se espera que una composición de diagnóstico conforme con los primeros aspectos de la invención provoque menores reacciones de hipersensibilidad demoradas en comparación con el medio de contraste comercializado como
5 Omnipaque™ (Iohexol) y Visipaque™ (Iodixanol).

El compuesto I puede prepararse tal como se detalló en WO 2009/008734. Un procedimiento general se detalla en las páginas 16-20, y se provee un método específico para la preparación se provee en el Ejemplo 1 de WO 2009/008734. La solicitud WO 2009/008734, con su descripción de un proceso de preparación es
10 incorpora a la presente a modo de referencia.

El compuesto I puede existir en diferentes formas isoméricas debido a los átomos de carbono quirales. Además, el compuesto muestra isomeria exo/endo debido a la rotación limitada del enlace N-CO en la función formilo provocada por la proximidad del átomo de yodo. Se incluyen ambos productos
15 enantioméricamente puros como también las mezclas de los isómeros ópticos.

La composición de diagnóstico de la invención se encuentra en una concentración lista para ser utilizada. Generalmente las composiciones que se encuentran en una forma lista para ser utilizada tendrán concentraciones de yodo de al menos 100 mg I/ml, preferentemente al menos 150 mg I/ml, con
20 concentraciones de al menos 300 mg I/ml, p. ej., se prefiere 320 mg I/ml. La composición de diagnóstico preferentemente incluye además portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de tales son ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y tris(hidroximetil)aminometano (TRIS).

La composición de diagnóstico de la invención es preferiblemente para ser
25 utilizada como un medio de contraste para rayos X en el diagnóstico por rayos X o

en las imágenes por rayos X. La composición puede administrarse como una inyección en bolo o por infusión. Además, la composición puede administrarse mediante administración intravascular, intravenosa o intraarterial. Alternativamente, la composición puede también administrarse de manera oral.

En un tercer aspecto, la invención provee el uso de un Compuesto I



Compuesto I

para la fabricación de una composición de diagnóstico para utilizar en un diagnóstico por rayos x, en donde la composición comprende

un portador farmacéuticamente aceptable;

y disuelto allí un compuesto de sodio y un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de sodio de 40-50 mM y una concentración de iones de calcio de 0,1-0,7 mM.

En incluso otro aspecto, la invención provee un método de diagnóstico que comprende administrar la composición de diagnóstico de la invención a un cuerpo de animal o de ser humano, examinando el cuerpo con un dispositivo de diagnóstico y compilando datos del examen. En el método de diagnóstico, el cuerpo puede también administrarse previamente con la composición de diagnóstico.

En incluso otro aspecto, la invención provee un método de detección de imágenes in vivo que comprende los siguientes pasos:

- i) administrar una cantidad detectable de la composición de diagnóstico de la invención;
- ii) permitir que se distribuya la composición administrada;
- iii) detectar las señales emitidas por el compuesto I de la composición distribuida,
- iv) generar una imagen representativa de la ubicación y/o la cantidad de dicha señal.

El método de toma de imágenes es un método de toma de imágenes por rayos X y en una realización preferida de este aspecto, el método de detección es una arteriografía coronaria, y más preferentemente la composición de diagnóstico se administra como una inyección en bolo a las arterias coronarias.

En incluso otro aspecto, la invención provee una composición de la invención para utilizar en la toma de imágenes o diagnóstico por rayos X, tal como en una arteriografía coronaria.

Breve descripción de los dibujos:

La figura 1 muestra una comparación de la distribución de la radioactividad en ratas Wistar macho o hembra 48 después de la administración del Compuesto rotulado [123I].

La figura 2 muestra la frecuencia de fibrilación ventricular provocada por la inyección de Manitol, Manitol + sodio y calcio agregados, Iodixanol + Manitol, VisipaqueTM y solución de Ringer. Datos fueron tomados de Chai et al.

La figura 3 muestra la frecuencia de la fibrilación ventricular provocada por la inyección de composiciones del Compuesto I, que comprende diferentes

concentraciones de cloruro de calcio, en comparación con las inyecciones de Visipaque. El volumen de la inyección fue 25 ml durante un período de 62,5 segundos y la solución se inyectó selectivamente en la LAD.

La figura 4 muestra la viscosidad del Compuesto I a 20 °C y 37 °C contra la
5 concentración.

La figura 5 muestra el efecto del Compuesto I (con o sin Ca agregado) y Visipaque en la LVSP 45 a 70 segundos desde el inicio de la inyección en la LAD de los cerdos normales normalizados con la inyección de Lactato de Ringer (LR).

La figura 6 muestra el efecto en los parámetros cardiovasculares después
10 de la inyección de 40 ml (5 ml/seg) de Lactato de Ringer, compuesto I, Visipaque o lopamidol en la LAD de cerdos normales.

Ejemplos:

Ejemplo 1: propiedades fisicoquímicas, toxicidad aguda y datos de biodistribución del Compuesto I.

15 Unión a proteínas:

Se determinó la unión del Compuesto I a la albúmina de suero humana (HSA) utilizando un método de diálisis de equilibrio. Se mezcló una solución madre del Compuesto I (5,0 mg/ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS)) con citrato:plasma humano en una relación 1:9. El equilibrado se llevó a cabo en un
20 dializador Diachem Dianorm contra una solución salina tamponada con fosfato acuoso utilizando una membrana con corte de PM de 10000 Diachem 10.17 y se llevó a cabo por 25 horas.

Se realizó el análisis de las soluciones utilizando un instrumento ICP-AES. Además, se equilibraron soluciones de PBS reforzadas contra soluciones de
25 plasma humano citratado para asegurar que se hubiera obtenido el equilibrio. Se

determinó que la unión del Compuesto I a la albúmina de suero humana fue muy baja, $3,1 \pm 1,3\%$, confirmando la interacción insignificante de la sustancia con las proteínas endógenas. Como referencia, se determinó la unión de iodixanol a HSA en $0,4 \pm 0,9\%$.

Coeficiente de partición

Como medida de la hidrofiliidad del Compuesto I, se determinó el coeficiente de partición entre octanol y agua. Se agitó el agua (5 ml) que contenía la sustancia de prueba (0.3 mg/ml) con 15 ml de n-octanol hasta obtener el equilibrio. La fase acuosa se separó por centrifugación y se analizó por HPLC (HP1100 equipado con una columna C18 Discovery, 100 x 2,1 mm) utilizando detección de UV a 244 nm y un flujo de 0.3 ml/min. Se utilizaron condiciones isocráticas de HPLC, 8% de acetonitrilo en agua (v/v). La fase de octanol (12,5 ml) se extrajo con agua (0.75 ml) hasta obtener el equilibrio y las fases se separaron por centrifugación. La fase acuosa se analizó por HPLC utilizando las condiciones detalladas anteriormente. Tanto el octanol como el agua se saturaron previamente con agua y octanol, respectivamente, antes de los experimentos de coeficiente de partición. La hidrofiliidad del Compuesto I, según se determinó a través de la partición entre octanol y agua, demostró que el Compuesto I es muy hidrofílico con un logP de -4,28. Como comparación, se determinó el correspondiente logP de iodixanol en -4,02. El valor de la literatura publicada es -4,05. La mayor hidrofiliidad del Compuesto I en comparación con iodixanol se confirma con su comportamiento por HPLC.

Viscosidad

Se determinó la viscosidad del Compuesto I en dos temperaturas diferentes, 20 °C y 37 °C a tres concentraciones diferentes 246, 295 y 313 mg/ml. Las soluciones de prueba fueron isotónicas a través del ajuste de la osmolalidad con NaCl y habían sido esterilizadas por autoclavado. Se determinó la densidad de las soluciones utilizando un medidor de densidad, DMA58 (Antón Paar). Se utilizó una técnica calibrada de tubo en U, en donde el tiempo de la caída se utilizó como medida de la viscosidad dinámica. Se determinó la viscosidad del compuesto I en 20 °C y 37 °C a tres concentraciones diferentes. Los resultados se muestran en la Fig. 4. En comparación con Visipaque, la viscosidad a 320 mg/ml y 20 °C es similar, alrededor de 24 mPas.

Osmolalidad:

Se determinó la osmolalidad del Compuesto I a cuatro concentraciones diferentes, 204, 254, 310 y 324 mg/ml. Se utilizó un osmómetro de presión de vapor Vapro 5520 de Vapro Inc. La osmolalidad del Compuesto I muestra una relación con la concentración que es cercana a lineal. La osmolalidad del Compuesto I a 320 mg/ml es más baja que la de iodoxanol, 136 mOsm/kg vs 210 mOsm/kg a 320 mg/ml.

Toxicidad aguda:

Ratas macho jóvenes Sca:SD (Scanbur, Suecia) con un peso de 200 ± 20 g fueron inyectadas via intravenosa a una velocidad de 1,2 ml/min con ya sea el Compuesto I (340 mg/ml, 286 mosmo/kg), iodoxanol (321 mg/ml, 284 mosmol/kg), manitol de control osmótico (283 mosmol/kg) o solución salina (290 mosmol/kg), administrados como 2 dosis por separado con una diferencia de 4 horas. A los

animales sacrificados en un punto de tiempo intermedio (día 2 postratamiento) se les administró el Compuesto I e iodixanol a 8, 10 y 12,8 g/kg, lo que correspondía a volúmenes totales de dosis de 23,7, 29,7 y 38,0 ml/kg y 25, 31,3 y 40 ml/kg, respectivamente, mientras que en el caso de manitol y solución salina, el volumen de dosis fue de 40 ml/kg. Para los animales sacrificados en el punto de tiempo final del estudio del día 7, hubo 4 grupos de dosificación: Compuesto I e iodixanol (12,8 g/kg) y solución salina y manitol (40 ml/kg). En todos los casos, cada grupo incluía 8 animales.

Se realizaron las siguientes evaluaciones durante el estudio: síntomas clínicos, pesos corporales y sangre para hematología y química clínica en los días 0, 2 y 7, y observaciones macroscópicas, peso de los órganos y examen histomorfológico de los tejidos de los animales sacrificados por inyección intravenosa excesiva de tiopental en los días 2 ó 7. El día de la dosificación fue definido como el Día 0. Los parámetros de bioquímica clínica (Na, K, Cl, PO₄, Ca, AST, ALT, ALP, colesterol, creatinina, CK, GGT, TG (triglicérido), bilirrubina total, proteínas totales, urea, albúmina, LDH y GDLH se midieron en un analizador Beckman Synchron CX5 a 37 °C. Los parámetros hematológicos, (WBC, WBC diferencial, RBC, relación WBC/RBC, Hgb, PLT, HCT, MCH, MCHC, MCV, MPV y RDW) se analizaron con un analizador para hematología automático Abbott Cell-Dyn 3500 CS. Los riñones del grupo de control de solución salina y el grupo de 12,8 g/kg del Compuesto I e iodixanol se sumergieron fijos en formol tamponado neutro al 10%, se procesaron en cera de parafina, se seccionaron a un espesor nominal de 5 µm, se tiñeron con hematoxilina y eosina y se examinaron por microscopía óptica.

Los datos se analizaron por ANOVA paramétrico de una vía, seguido por la prueba post procedimiento de Dunnett, utilizando los grupos de 2 días y 7 días de solución salina para realizar una comparación con el grupo de 2 días y de 7 días de iodixanol y del Compuesto I. El análisis estadístico se aplicó el día -1 (inicio del estudio), el día 2 y el día 7.

Biodistribución:

Para cada punto de tiempo (2, 20 min, 1, 2, 4, 24, 48 horas), 3 animales de cada sexo fueron anestesiados con isoflurano. Cada animal del estudio recibió 2 inyecciones dentro de aproximadamente 20 segundos. La primera inyección fue una formulación del Compuesto I (no radioactiva) a ~320 mg/ml, administrada para proporcionar una dosis química total de ~1,6 g/kg via una vena de la cola específica (izquierda o derecha). Tan pronto como fuera posible, luego, (dentro de aproximadamente 20 minutos), se inyectó el Elemento de prueba del Compuesto I radioactivo [¹²³I] (~1 a ~8 MBq, hasta 350 ug) como bolo intravenoso en la vena de la cola opuesta. Este enfoque permitió que se ajustara la cantidad de radioactividad administrada de acuerdo con el punto de tiempo de la disección (día del estudio, 1, 2 ó 3) sin alterar significativamente la dosis química total del Compuesto I. Los animales luego se colocaron en jaulas metabólicas para la obtención de orina y heces hasta la postinyección en el momento adecuado del Compuesto I rotulado. En este momento, los animales se volvieron a anestesiarse con isoflurano y se sacrificaron mediante dislocación cervical. Se extirparon órganos y tejidos seleccionados (sangre, riñones, vejiga y orina, pulmón, hígado, estómago, intestino grueso y delgado, corazón, testículos, ovarios, útero y heces) junto con la cola, que se evaluó como el sitio de inyección. La cantidad de radioactividad en órganos, tejidos y excreciones seleccionados se evaluó

posteriormente utilizando un contador gamma automático de doble cristal y un sistema de análisis.

Resultados de toxicidad aguda:

No hubo signos clínicos adversos en las ratas tratadas con solución salina o manitol, mientras que en el caso de las ratas tratadas con el Compuesto I e iodixanol, se observó depresión leve a moderada, movimientos no coordinados y debilidad/inactividad, así como también edema y eritema de las extremidades. Estos efectos comenzaron 10-20 min después de la primera administración y duraron 2-3 horas, pero sin una clara respuesta a la dosis. Los análisis de hematología y los datos de química clínica indicaron que no hubo efectos adversos toxicológicamente significativos en ninguno de los grupos.

En los riñones, los hallazgos principales relacionados con el tratamiento fueron vacuolación citoplásmica de los túbulos proximales, y en los glomérulos, dilatación del espacio de Bowman con contenido de material proteináceo. En el día 2, la gravedad de la vacuolación era mayor en las ratas a las que se administró iodixanol en comparación con el Compuesto I. Para el día 7, la gravedad de la vacuolación era de algún modo menor en comparación con ambos grupos en el día 2, así como lo era también la dilatación del espacio de Bowman y la presencia de material proteináceo.

Resultados de la biodistribución:

Luego de la administración intravenosa [123I], el Compuesto I rotulado se excretó rápidamente con >80% de dosis inyectada (id) presente en la vejiga y la orina 2 horas post-inyección. Los niveles en sangre disminuyeron del 21% de id a los 2 minutos postinyección al 0,6% de id a las 2 horas postinyección. Hubo una cantidad pequeña pero significativa de excreción por vía fecal, que fue levemente más alta en los animales hembra (14,3% de id en las heces) en comparación con los animales macho (8,2% de id en las heces) 48 horas postinyección, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Se retuvo menos del 2% de id en el cuerpo 48 horas postinyección del Compuesto I rotulado, en donde aproximadamente el 5% se retuvo en los riñones, 0,1% se retuvo en el hígado y menos del 1% en el resto del cuerpo (Figura 1): en todos los casos también se había reducido desde el punto de tiempo de 24 horas. Esto probablemente refleje la lenta y continuada excreción del Compuesto I retenido en el cuerpo después de la fase inicial de excreción rápida. No se observó retención de la radioactividad en los órganos reproductores. En general, el perfil de biodistribución del Compuesto I rotulado fue similar a otros agentes de contraste yodinado dimérico.

Ejemplo 2. Estudios comparativos

2a) Comparación de la cardiotoxicidad de VisipaqueTM y composiciones de diagnóstico del Compuesto I en un modelo de oclusión de la LAD en cerdos

Se hace referencia al estudio realizado por Chai et al. (Acad. Radiol. 2004, 11, 583-593) en donde se demostró que una formulación de Iodixanol con 19 mM de NaCl y 0,3 mM de CaCl₂ exhibe una menor frecuencia de fibrilación ventricular que Iodixanol solo. El estudio se llevó a cabo en cerdos en los que el medio fue inyectado directamente en la arteria coronaria izquierda (LCA) que había sido

previamente ocluida. Resulta evidente a partir de la Figura 2 que una formulación de Iodixanol con 19 mM de NaCl y 0,3 mM de CaCl₂ exhibe una menor frecuencia de fibrilación ventricular que Iodixanol solo ($P < 0.01$). En este caso, no se observó fibrilación ventricular ante la inyección de VisipaqueTM. La dosis administrada en estos experimentos fue de 20 ml a una velocidad de inyección de 2,0 ml/minuto.

Dado que en el estudio de Chai et al. Se llevó a cabo la inyección intracoronaria de 20 ml de Iodixanol (formulado como Visipaque) en un tiempo de inyección de 40 segundos y no se produjo VF, realizamos un estudio en el cual el volumen de inyección se aumentó a 25 ml en un periodo de 62,5 segundos para aumentar los casos de VF con fines comparativos. Además, las soluciones de prueba y de referencia se inyectaron selectivamente en la arteria coronaria descendente (LAD) anterior izquierda con el fin de aumentar aún más la sensibilidad del modelo. Las propiedades fisicoquímicas de las soluciones de prueba se proveen en la tabla 2 y los resultados se presentan en la Figura 3.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de las soluciones de prueba

Agente de prueba	Concentración de yodo (mg (I)/ml)	Electrolitos (mM)	
		Na	Ca
F1: compuesto I + NaCl + CaCl2	320	45	0,1
F3: compuesto I + NaCl + CaCl2	320	45	0,3
F5: compuesto I + NaCl + CaCl2	320	45	0,7
Iodixanol + NaCl + CaCl2 (Visipaque)	320	19	0,3

A este alto volumen de inyección, incluso VisipaqueTM exhibió una significativa frecuencia de fibrilación ventricular, el 100% (Figura 3).

Sin embargo, sorpresivamente, el nuevo agente de contraste para Rayos X, el Compuesto I, cuando se formuló con 45 mM de NaCl y 0.1-0,7 mM de CaCl₂, no presentó fibrilación ventricular (Ver la Figura 3 y la Tabla 3 para obtener detalles).

Al comparar los resultados de los dos estudios diferentes, se observa un aumento de la frecuencia de la fibrilación ventricular del 0% al 100% con VisipaqueTM. Sin embargo, incluso con la dosis alta, el Compuesto I de contraste dimérico para rayos X en una composición de diagnóstico no exhibe fibrilación ventricular. La diferencia principal es que el Compuesto I ha sido formulado con 45 mM de NaCl, que es significativamente más elevada que la formulación de Visipaque (19 mM). Si bien no se observó un efecto significativo en la VF, con una

concentración de iones de calcio entre 0,1 y 0,7 mM en la VF, hubo una reducción significativa en la SAP y LVP cuando había una menor cantidad de calcio presente (Tabla 3).

Tabla 3. Cambios hemodinámicos a los 50 segundos posteriores al comienzo de la inyección, % del valor previo a la inyección

	F1	F3	F5	Visipaque
SAP	-18% ± 11	-9% ± 7.2*	-4% ± 6.1†‡	-5% ± 4.5†§
LVP	-16% ± 10	-7% ± 8*	-3% ± 7†	-4% ± 5†
dP/dt máx	+10% ± 27	+31% ± 38	+34% ± 29	+21% ± 10,8
HR	-1% ± 1.0	0% ± 0.8	-2% ± 3.0	0% ± 3,5

SAP: presión arterial sistólica (Pa)

LVP: presión sistólica del ventrículo izquierdo (Pa)

dP/dt max: máxima velocidad de generación de presión LV (Pa/s)

HR: frecuencia cardíaca (latidos/minuto)

*P<0,05 vs F1

Estos datos indican que el factor principal que influye en la frecuencia de la fibrilación ventricular es la concentración de cloruro de sodio, y el calcio tiene un efecto significativo en la presión arterial sistólica y en la presión sistólica del ventrículo izquierdo.

2b: comparación del Compuesto I en composiciones con y sin CaCl2 agregado con Visipaque e lopamidol

Se compararon los efectos hemodinámicos de las composiciones del Compuesto I con y sin CaCl2 agregado con Visipaque e lopamidol después de la administración selectiva en la LAD en cerdos normales sin balón de oclusión. Los

efectos de cada medio de contraste se normalizaron con todo efecto observado con una inyección equivalente de solución de Lactato de Ringer, que actuó como control de la "relación" del volumen y electrolito. Hubo un total de 12 cerdos en este estudio, y cada uno recibió una única inyección de CM 3 veces a volúmenes de 10 ml (4 ml/seg), 20 ml (1 ml/seg) y 25 ml (0.4 ml/seg) (total de 9 inyecciones de CM en cada cerdo. Cada CM era precedido o seguido por una inyección de control de Lactato de Ringer, y el orden de cada inyección (volumen) se aleatorizó en cada cerdo. La Tabla 4 provee las cantidades y relaciones de electrolitos sodio y calcio utilizados.

Tabla 4:

Electrolitos	Visipaque en mM	Compuesto I en mM	Compuesto I + CaCl2 en mM	Lactato de Ringer en mM o (relación)	Fluido intersticial humano en mM o (Relación)
Na	19	45	45	130	140 (135-145)
Ca	0.3	-	0.5	3	1.2 (1.2-1.3)
Na / Ca	63	-	90	43	117

A un volumen de inyección de 25 ml, el Compuesto I en una composición sin CaCl2 agregado se asoció con una reducción de la LVSP entre 45 y 70 segundos después de la inyección (promedio de -5,7 mm Hg normalizado con Lactato de Ringer), mientras que el Compuesto I en una composición con CaCl2

agregado y Visipaque tuvo un pequeño efecto o ningún efecto (-40 y +13,3 Pa normalizado con Lactato de Ringer, respectivamente) (Figura 5). La reducción de la LVSP observada con la composición del Compuesto I sin CaCl_2 agregado fue significativamente diferente a la composición con CaCl_2 agregado, que no fue significativamente diferente a Visipaque. Además, una respuesta correspondiente a la inyección de lopamidol no se pudo analizar ya que se observó VF en cada caso entre aproximadamente 27 y 50 segundos después del comienzo de la inyección de 25 ml. Estos resultados indican que la presencia de 0,5 mM de CaCl_2 en la composición del Compuesto I es beneficiosa y limita todo efecto negativo en la LVSP de manera similar a Visipaque. Además, los electrolitos adicionales presentes en la composición de diagnóstico del Compuesto I y Visipaque pueden disminuir la propensión para inducir VF en comparación con lopamidol, que no tiene electrolitos agregados.

2c. comparación de una composición del Compuesto I con Visipaque, lopamidol y Lactato de Ringer en cerdos normales con una rápida velocidad de inyección

En otro estudio se compararon los efectos hemodinámicos del Compuesto I en una composición con 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl_2 con Visipaque e lopamidol después de la administración selectiva en la LAD de cerdos normales con una rápida velocidad de inyección (5 ml/seg). También se estudió el Lactato de Ringer como control de la "relación" del volumen y los electrolitos. En total, se estudiaron 3 cerdos, y cada CM se administró dos veces a cada cerdo en orden aleatorio. La velocidad de inyección utilizada fue de 5 ml/seg con un volumen total de inyección de 40 ml. La Tabla 5 provee las cantidades y relaciones de los electrolitos sodio y calcio utilizados.

Tabla 5:

Electrolitos	Visipaque en mM	Compuesto I en mM	Lactato de Ringer en mM o (relación)	Fluido intersticial humano en mM o (relación)
Na	19	45	130	140 (135-145)
Ca	0,3	0,5	3	1,2 (1,2-1,3)
Na / Ca	63	90	43	117

Mientras que las inyecciones del Compuesto I y Visipaque no indujeron cambios en la LVSP o dP/dt del inicio del estudio que fueran significativamente diferentes a la administración de Lactato de Ringer, lopamidol indujo una reducción y un aumento significativos en los valores de LVSP y dP/dt, respectivamente (Figura 6). La LVSP se redujo en el $9\% \pm 6$ y la dP/dt aumentó en el $69\% \pm 16$ después de la administración de lopamidol. Esto fue en contraste con la inyección de Lactato de Ringer, Compuesto I y Visipaque, que se asociaron con un leve aumento de la LVSP ($\sim 5\%$) y un aumento moderado de la dP/dt (hasta $\sim 30\%$). Estos resultados indican que después de la inyección rápida en la LAD de cerdos normales, el Compuesto I en una composición con 45 mM de NaCl y 0,5 mM de CaCl₂ tuvo efectos mínimos en los parámetros hemodinámicas similares a Visipaque o la solución fisiológica de Ringer. Se considera que la presencia de electrolitos en las formulaciones del Compuesto I y Visipaque del estudio, que son más similares a la composición balanceada de Lactato de Ringer y el fluido intersticial, contribuyó a un mantenimiento superior de la función cardíaca en

comparación con la misma después de la inyección de lopamidol, que no contiene electrolitos agregados.

Ejemplo 3. Seguridad intravenosa e intraarterial de la composición de diagnóstico del Compuesto I

5 Se mostró la seguridad intravenosa (i.v) e intraarterial (i.a) de una composición del Compuesto I en un estudio por separado (ref. B145095). En este estudio se evaluaron los efectos cardiovasculares del Compuesto I en una composición con 45 mM de NaCl y 0.5 mM de CaCl₂ a tres niveles de dosis in vivo en un modelo porcino agudo.

10 Métodos: la composición se administró por vía intraarterial o intravenosa en grupos de tres animales a uno de los tres niveles de dosis (1 vez, 2 veces o 3 veces el volumen estándar de 2ml/kg). Cada animal recibió también un volumen equivalente de solución de Lactato de Ringer como control del volumen. Efectos CV: se evaluó la frecuencia cardíaca (HR), oximetría del pulso, electrocardiograma (ECG), presión aórtica (sistólica, diastólica y promedio), presión de fin de diástole ventricular izquierda (LVEDP). También se evaluó el ultrasonido/ecocardiografía para evaluar el volumen sistólico, la fracción de eyección y la contractilidad cardíaca.

Resultados: la evaluación del resumen de los datos preliminares sugiere que no
 20 hubo efectos importantes relacionados con la dosis o con la vía de administración del Compuesto I en la HR, la oximetría de pulso y el ECG del corazón porcino. El análisis de oximetría de pulso mostró que la saturación de oxígeno permaneció a aproximadamente el 98% a lo largo de la dosificación. La HR también permaneció dentro de los rangos normales. No hubo perturbaciones del ritmo relacionado con
 25 el Compuesto I: el intervalo QT estuvo dentro del rango normal

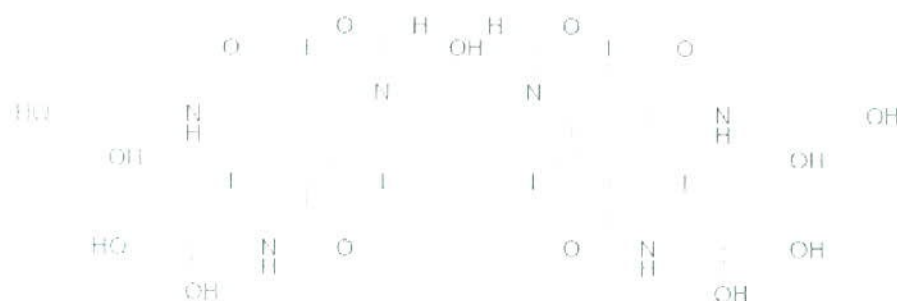
independientemente de la dosificación i.v o i.a del Compuesto I. De manera similar, se observó un pequeño o ningún efecto del Compuesto I en la presión aórtica (sistólica, diastólica y promedio) en todo el rango de dosis. Los cambios en la presión aórtica parecieron similares ya sea que el Compuesto I se administrara por vía i.v o i.a. Hubo leves aumentos de la LVEDP con dosis en aumento del Compuesto I, y el efecto fue similar si el Compuesto I se administraba por vía i.a o i.v. Además, los aumentos en la LVEDP fueron similares en magnitud a aquellos observados después de la administración de volúmenes en aumento de Lactato de Ringer. El análisis del volumen sistólico, la fracción de eyección y la contractilidad cardíaca mostró solamente un leve cambio en el volumen de fin de diástole (EDV), confirmando que cualquier efecto estaba relacionado con el volumen y no era específico de la administración del Compuesto I.

Por consiguiente, no hubo cambios generales relacionados con el rendimiento del miocardio cuando se administró el Compuesto I por la vía i.a o i.v. Los cambios menores de los parámetros de la función CV se atribuyeron al volumen administrado y no el elemento de prueba, Compuesto I, porque se observaron efectos similares ante la inyección con solución de Lactato de Ringer. Todos los parámetros del miocardio estuvieron dentro de los rangos normales después de la administración intravenosa o intraarterial del Compuesto I hasta 3 veces el volumen de dosis estándar de 2 ml/kg.

NUEVO CAPITULO REIVINDICATORIO

RESPUESTA EXAMEN DE FONDO

1. Una composición de contraste que comprende un dímero derivado de triiodobencen tricarboxamida, de fórmula I



Fórmula I

un portador farmacéuticamente aceptable, y
 disuelta en la misma una sal de sodio y una sal de calcio que proporcionan una concentración de iones sodio de 40 a 50 mM y una concentración de iones calcio de 0,1 a 0,7 mM;
 donde la sal de sodio y la sal de calcio son sales que comprenden contraiones seleccionados del grupo de cloruro, sulfato, fosfato y carbonato de hidrógeno.

2. Una composición de contraste de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una sal de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,3-0,6 mM.
3. Una composición de contraste de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una sal de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,4-0,5 mM.
4. Una composición de contraste de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una sal de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,5 mM.
5. Una composición de contraste de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la sal de sodio es cloruro de sodio y la sal de calcio es cloruro de calcio.

6. Una composición de contraste de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que además comprende EDTA y/o TRIS.