



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-068011- -00000-0000

Fecha: 2012-04-25 14:59:20
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 99

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE

**PATENTE DE INVENCION
PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL**

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO: COMPOSICION DE DIAGNOSTICO QUE COMPRENDE
CACIONES EN PLASMA CON UN PERFIL DE SEGURIDAD
SUPERIOR

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL: A61K 49/04

71. SOLICITANTE: GE HEALTHCARE AS

DOMICILIO: Nycoveien 2, Postboks 4220, Nydalen, N-0401
Oslo, NORUEGA

74. APODERADO: DRA. MARGARITA CASTELLANOS A.

22. BOGOTA, D.C., _____



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-068011- -00000-0000

Fecha: 2012-04-25 14:59:20
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 99

radicación

00001

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I		☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II	
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)				
Solicitud Internacional No.		PCT/EP2010/066351		Fecha	28/10/2010
Publicación Internacional No.		WO 2011/051387 A1		Fecha	05/05/2011
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)				
COMPOSICION DE DIAGNOSTICO QUE COMPRENDE CATIONES EN PLASMA CON UN PERFIL DE SEGURIDAD SUPERIOR					
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP				
A61K 49/04					
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE		IDENTIFICACIÓN	TIPO
GE HEALTHCARE AS					
6	DATOS DEL SOLICITANTE				
DIRECCIÓN		Nycoveien 2, Postboks 4220, Nydalen		No. TELÉFONO	
CIUDAD		N-0401 Oslo		E-MAIL	
DEPARTAMENTO/ESTADO				NACIONALIDAD O NORUEGA	
PAÍS DE RESIDENCIA		NORUEGA		LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS		NOMBRES		NACIONALIDAD	
1. WISTRAND		LARSGÖRAN		SUECA	
2. THANING		MIKKEL		SUECA	
3. NEWTON		BEN		BRITANICA	
4.					
5.					
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:					
8	DATOS INVENTOR (ES)				
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO		CIUDAD	
1. NORUEGA				N-0401 Oslo	
2. NORUEGA				N-0401 Oslo	
3. GRAN BRETAÑA				Amersham Buckinghamshire HP7 9LL	
				DIRECCIÓN	
				GE Healthcare AS, Nycoveien 1-2, P.O. Box 4220 Nydalen	
				GE Healthcare AS, Nycoveien 1-2, P.O. Box 4220 Nydalen	
				GE Healthcare Limited, The Grove Centre, White Lion Road	
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)					
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.					
9	(74) ☐ REPRESENTANTE ☒ APODERADO				
APELLIDOS		NOMBRES		IDENTIFICACIÓN	
CASTELLANOS ABONDANO		MARGARITA		C.C. 39.779.654 T.P. 70.819	
DIRECCIÓN		CALLE 94 A No. 7 A-09		No. TELÉFONO 7560770	
CIUDAD		BOGOTA		E-MAIL info@castellanosyco.co	
PAÍS		COLOMBIA		No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN 1. OFICINA EUROPEA DE PATENTES 2. 3.		CÓDIGO PAÍS EP	(31) NÚMERO 09174413.6	(32) FECHA (AAAA/MM/DD) 2009/10/29
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas		Entidades sin ánimo de lucro
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☒ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 12-0025945, 12-0025947		Fecha: Marzo 13 de 2012
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL <i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>			
 MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO - APODERADO				
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica		
1. ☒ Descripción N° de folios: 39 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 16 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 4 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☐ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital.		9. ☒ Poderes, si fuera el caso. 10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica. 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.		

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0025945	
				Bogotá D.C., Marzo 13 de 2012 - 15:25:49	
RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO				NI 800.174.641	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	387642931	13/03/2012	5.960.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN		590.000.00	590.000.00
					\$590.000.00
=====					
SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-068011- -00000-0000 Fecha: 2012-04-25 14:59:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 99					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
, Marzo 13 de 2012 - 15:36:45					

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0025947	
				Bogotá D.C., Marzo 13 de 2012 - 15:25:49	
RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO				NI 800.174.641	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	387642931	13/03/2012	5.960.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
6 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	30.000.00	180.000.00	
				\$180.000.00	
			=====		
SON: **CIENTO OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-068011- -00000-0000 Fecha: 2012-04-25 14:59:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 99					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
, Marzo 13 de 2012 - 15:36:45					

COLOMBIA

P1877

8/8

PODER

El (los)

De GE HEALTHCARE AS

Domiciliados en Nycoveien 2, Postboks 4220
Nydalén, N-0401 OSLO, NORUEGANombran por el presente a XIMENA CASTELLANOS A. y/o
MARGARITA CASTELLANOS A. abogadas con oficinas en la
Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia para

y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso -administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

- a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fábrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
- b) Para la obtención de registros sanitarios;
- c) Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 9 Marzo de 2010

en Oslo

por Marianne W. Wulff

(El notario debe suscribir el documento en la pagina siguiente)

(Se requiere legalización consular o mediante apostilla)

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned

Of GE HEALTHCARE AS

Nycoveien 2, Postboks 4220, Nydalén
N-0401, OSLO, NORWAYhereby grant(s) Power of Attorney to XIMENA
CASTELLANOS A. and for MARGARITA CASTELLANOS a.
attorneys residing at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá- Colombia,
to

and to obtain the protection of my (our) Industrial Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

- a) Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
- b) For the obtainment of Sanitary registrations;
- c) Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney, compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact, in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this 9 March 2010

in Oslo

by Marianne W. Wulff

(Notary shall execute on the other side)

(Consular legalization or apostille is required)

CASTELLANOS & CO

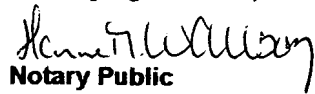
ABOGADOS COLOMBIA

Calle 94A No. 7A-09- P.O.Box 6349 - Bogotá, Colombia

Tels.: (571) 610 74 20 / - Fax (571) 610 07 06 - e-mail info@castellanosyco.com

The undersigned Notary Public hereby certifies that Marianne Weiby Wulff signed this document in my presence.

Please note that the confirmation applies to the signature only, not to the contents of the document.
Oslo byfogdembete, 9 March 2010


Notary Public
Hanne Merethe Wallborg
førstekonsulent



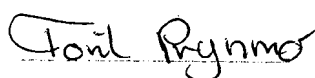
APOSTILLE

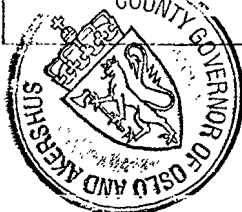
(Convention de La Haye du octobre 1961)

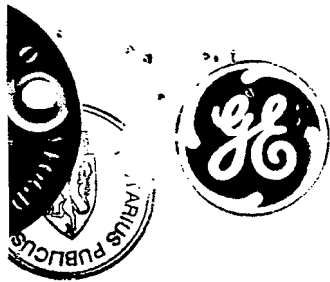
1. Country: Norway
2. This public document has been signed by:
Hanne Merethe Wallborg
3. Acting in the capacity of:
Notary Public
4. bears the seal/stamp of:
The Notary Public in Oslo

Certified

5. at Oslo
6. the 09.03.2010
7. by the Governor of the counties of
Oslo og Akershus
8. No 59407
10. Signature
9. Seal/stamp







GE Healthcare

Nycoveien 1-2
Postboks 4220 Nydalen
0401 Oslo
Norge

Tel 23 18 50 50
Fax 23 18 60 00

Oslo, 20 January 2010
30303

POWER OF ATTORNEY

BY THIS POWER OF ATTORNEY given the twentieth day of January two thousand and nine **GE HEALTHCARE AS** a company duly incorporated in Norway and having its registered office at Nycoveien 2, 0401 Oslo (hereinafter called "The Company") HEREBY appoints **Marianne Weiby Wulff** of Gunnar Schjeldrups vei 11K, 0485 Oslo (hereinafter called "the Attorney") to be the true and lawful agent and attorney of the Company on behalf and in the name of the Company or otherwise to do, perform, exercise or execute or concur with any other person or persons in doing, performing or exercising in any country or countries or jurisdiction in any part of the world all or any of the following powers, acts, deeds and things, that is to say:

1. To make application or cause application to be made in the name of the Company for any Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs of Trademarks and the proper registration thereof and to take all steps necessary for the same to be prosecuted and maintained.
2. As the act and deed of the Company to sign, seal, deliver and execute all or any assignments or assurances to the Company of any Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks or any application therefore for the purpose of fully and effectually vesting and transferring the same into the name of the Company.
3. To sign and execute all documents relating to the application for Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks or the renewal thereof.
4. To act in regard to all official communication which may now or hereafter be addressed to the Attorney relating to Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks or the renewal thereof in such manner that the Attorney may be recognized as the authorized agent of the Company in all proceedings relating thereto.



5. In connection with any Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks or application therefore to sign, seal, deliver and execute any power of attorney or other deed or document.
 - a) authorizing any firm of Patent Agents in Norway to act on behalf of the Company, or
 - b) authorizing any person, persons, firm or company practising as Patent Agents or otherwise entitled to act as agent for all matters relating to Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks outside Norway to act on behalf of the Company.
6. To initiate or cause to be initiated in any Patent Office or other official intellectual property agency or governmental department or otherwise responsible for the registration or protection of Letters Patent, brevets d'invention, certificate of invention, Gebrauchsmuster, petty patents, utility models, designs or Trademarks, any proceeding or applications whatsoever relating thereto whether in the name of the Company or not and to cause such proceedings or applications to be maintained.

AND THE COMPANY HEREBY RATIFIES and confirms and agrees to ratify and confirm all and whatsoever the Attorney or any person, persons, firm or company appointed by him shall lawfully do or have done by virtue of the authorities herein contained.

GE HEALTHCARE AS:

Jan Fikkan
President

**The undersigned Notary Public hereby certifies that Jan Fikkan has signed this document.
The signature is certified on the basis of the signature deposited in our register of signatories.
Oslo byfogdembete, 25 March 2010**

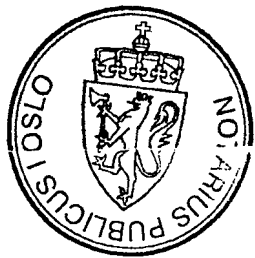
Notary Public
Mette Gran
konsulent





True copy certified.
Oslo byfogdembete, 25 March 2010

Mette Gran
Notary Public
Mette Gran
konsulent



APOSTILLE

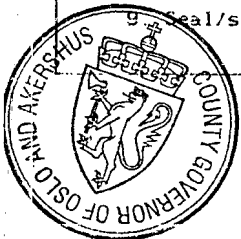
(Convention de La Haye du octobre 1961)

1. Country: Norway
2. This public document has been signed by:
Mette Gran
3. Acting in the capacity of:
Notary Public
4. bears the seal/stamp of:
The Notary Public in Oslo

Certified

5. at Oslo
6. the 25.03.2010
- 7 by the Governor of the counties of
Oslo og Akershus
8. No 60512
10. Signature

Edvard Hauw Røhlin





CERTIFICATE OF REGISTRATION

THE BRØNNØYSUND REGISTER CENTRE

Organization number: 914 829 674

Limited Company

Date of incorporation: 1981-09-07

Transferred to the Register of
Business Enterprises: 1988-11-16

Name: GE HEALTHCARE AS

Business address: Nycoveien 2
0485 OSLO

Municipality: 0301 OSLO

Country: Norway

Postal address: P.O. Box 4220 Nydalen
v/ HR COMPENSATION AND BENEFITS
0401 OSLO

Share capital NOK: 1,000,000,000.00
The capital is fully paid-up

General manager/Managing director:
Åse Aulie Michelet

Board of Directors:
Chairman of the Board:
Odd Kåre Strandli
Jernbaneveien 43
1369 STABEKK

Board member(s):
Jan Fikkan
Åse Aulie Michelet
Sean Ciaran Elder
Trond Ivar Kjernli
Peter Haaland
Jan Øyvind Åvik

Employees' representative
Employees' representative
Employees' representative

Deputy board member(s):
Kristin Eivindvik
Carl Einar Sjøgren
Trond Haider
Morten Weibye
Astrid Hilde Myrset

Employees' representative
Employees' representative
Employees' representative
Employees' representative
Employees' representative

Signature:
Åse Aulie Michelet or two board members jointly.

Power of procuration:
The general manager alone.

Brønnøysundregistrene
CERTIFICATE OF REGISTRATION

THE BRØNNØYSUND REGISTER CENTRE

Auditor:

Auditor number: 935 174 627
 KPMG AS
 Sørkedalsveien 6
 0369 OSLO

Certified auditing company

BRØNNØYSUNDREGISTRENE
 The Brønnøysund Register Centre

Foretaksregisteret, 2006-07-11
 The Register of Business Enterprises

Ingvill Nilsen
 Ingvill Nilsen
 Adviser

**APOSTILLE**

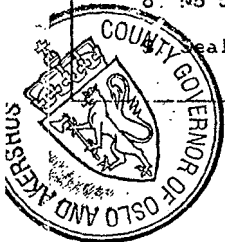
(Convention de La Haye du octobre 1961)

1. Country: Norway
2. This public document has been signed by:
Ingvill Nilsen
3. Acting in the capacity of:
Adviser
4. bears the seal/stamp of:
The Brønnøysund Register Centre-Norway

Certified

5. at Oslo
6. the 09.03.2010
7. by the Governor of the counties of
Oslo og Akershus
8. No 59409
10. Signature

Seal/stamp

TRADUCCION OFICIAL No. 093-10, DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, SELLADO CON EL SELLO DEL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL, HOY ABRIL 9 DEL 2010, EN LA CIUDAD DE BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA.

Poder escrito en inglés y español de GE HEALTHCARE AS

ADJUNTO SE ENCUENTRA LO SIGUIENTE:

El suscrito Notario Público, por medio del presente certifica que Marianne Weiby Wulff firmó este documento ante mi.

Por favor notar que la confirmación aplica únicamente a la firma, no al contenido del documento.

Oslo byfogdembete, Marzo 9, 2010

Firma y sello de

Notario Público

Hanne Merethe Wallborg

Førstekonsulent

EN LA PARTE INFERIOR DEL DOCUMENTO SE ENCUENTRA LO SIGUIENTE

APOSTILLA

Sergio Eleuterio Latorre Mendoza
Traductor e Interprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2010 ABR 18 A 8:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

014895

Sergio J. J. J.
Cuya firma aparece en el
documento desempeña
las funciones indicadas

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1.- País: Noruega

Este documento publico

2. Fue firmado por: HANNE MERETHE WALLBORG

3. Actuando en capacidad de. NOTARIO PUBLICO

4. Lleva el sello/estampilla del: Notario Público en Oslo

CERTIFICADO

5. En Oslo

6. El 09.03.2010

7. Por el Gobernador de los condados de:

Oslo y Akershus

8. No. 59407

9. Sello/ Estampilla

10 Firma

Sello

FONT PRYNMO

GOBERNADOR DE OLSO Y AKERSHUS

Sergio Eleuterio Latorre Mendoza
Traductor e Interprete Oficial
Resol. No. 283/ Minjusticia 1991

TRADUCCION OFICIAL No. 093-10, DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, SELLADO CON EL SELLO DEL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL, HOY ABRIL 9 DEL 2010, EN LA CIUDAD DE BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA.

GE HEALTHCARE

Oslo, Enero 20, 2010

30303

PODER

POR MEDIO DE ESTE PODER, concedido el día veinte de Enero del dos mil nueve, GE HEALTHCARE AS una compañía establecida en Noruega con oficina registrada en Nycoveien 2, 0401 Oslo (de aquí en adelante llamada "La Compañía"), POR MEDIO DEL PRESENTE nombra a Marrianne Weiby Wulff de Hunnar Schjeldrups vei 11 K, 0485 Oslo (de aquí en adelante llamada la Apoderada") a ser el agente y abogado auténtico y legal de la Compañía a nombre y favor de la Compañía o de otra forma hacer, realizar, ejercer o firmar o concurrir con cualquier otra persona o personas para hacerlo, realizar o ejercer en cualquier país o jurisdicción en cualquier parte del mundo todo y cualquiera de los siguientes poderes, actos, acciones y cosas, es decir:

1. Hacer solicitudes o ocasionar que se hagan solicitudes a nombre de la Compañía por cualquier patente de Invenciones, brevets d'invention,

Sergio Eleuterio Salazar Mendoza
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseño de marcas y el registro relevante de las mismas y tomar todas las medidas necesarias para que sea obtenido y conservado el mismo.

2. Como acto y acción de la Compañía para firmar, sellar, entregar y ejecutar cualquier cesión o garantía a la Compañía de cualquier Patente de invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o marcas o cualquier solicitud de los mismos con el fin de invertir y transferir completa y efectivamente el mismo en nombre de la Compañía.
3. Firma y ejecutar todos los documentos con relación con la solicitud de Patente de Invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o marcas o la renovación de los mismos.
4. Actuar con respecto a todas las comunicaciones oficiales que ahora o posteriormente puedan ser dirigidas al Abogado con relación a la Patente de Invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o Marcas o las renovaciones de los mismos de tal forma que el Abogado pueda ser reconocido como el Agente autorizado de la Compañía en todos los procedimientos relacionados ahí.
5. En conexión con cualquier Patente de Invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o Marcas o las aplicaciones de ahí para firmar, sellar, entregar y ejecutar cualquier poder o cualquier otro instrumento o documento.

Sergio Eleuterio Latorre Mendoza
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 283/Minjusticia 1991

- a. Autorizando cualquier firma de Agentes de Patentes en Noruega para actuar a nombre de la compañía o
 - b. Autorizando a cualquier persona, personas, firma o compañía ejerciendo como Agente de patentes o de otra forma con derecho para actuar como agente para todos los asuntos relacionados con la Patente de Invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o Marcas fuera de Noruega para actuar a nombre de la Compañía.
6. Iniciar o ocasionar que se inicie en cualquier Oficina de Patentes o cualquier otra agencia oficial de propiedad intelectual o departamento gubernamental o de otra forma ser responsable por el registro o protección de la Patente de Invenciones, certificado de invenciones, patentes menores, modelos de utilidad, diseños o Marcas o cualquier procedimiento o solicitud relacionada con los mismo sea o no a nombre de la Compañía y ocasionar que estos procedimientos o solicitudes se conserven.

Y LA COMPAÑÍA POR MEDIO DEL PRESENTE RATIFICA y conforma y acuerda ratificar y confirmar todo y lo que el Abogado o cualquier persona, firma o compañía designada por el Abogado haga o haya hecho legalmente en virtud de las autoridades contenidas en el presente.

Firmado

GE HEALTHCARE AS:

JAN FIKKAN

Sergio Eleuterio Latorre Mondou
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2439 Minjusticia 1991

PRESIDENTE

El suscrito Notary Público por medio del presente certifica que Jan Fikkan firmó este documento.

La firma se certificada basada en la firma inscrita en el registro de firmantes.

Oslo byfogdembete, Marzo 25, 2010

Firma y sello

Notario Público

Mette Gran

Konsulent

Adjunto se encuentra lo siguiente:

Copia auténtica certificada

Oslo byfogdembete, Marzo 25, 2010

Firma y sello

Notario Público

Mette Gran

Konsulent

Adjunto se encuentra lo siguiente:

Sergio Estanislao Labrador Mendoza
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

200 ABR 13 8:51

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

014896

Sergio J. J. J.
CUYA FIRMA SE CE EN EL
DOCUMENTO REEMPLAZA
AS FUNCIONES INDICADAS

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1.- País: Noruega

Este documento publico

2. Fue firmado por: METTE GRAN

3. Actuando en capacidad de: NOTARIO PUBLICO

4. Lleva el sello/estampilla del: Notario Público en Oslo

CERTIFICADO

5. En Oslo

6. El 25.03.2010

7. Por el Gobernador de los condados de:

Oslo y Akershus

8. No. 60512

9. Sello/ Estampilla

10 Firma

Sello

GOBERNADOR DE OLSO Y AKERSHUS

Sergio Eleuterio Latorre Mendoza
Traductor e Interprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

TRADUCCION OFICIAL No. 093-10, DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, SELLADO CON EL SELLO DEL SUSCRITO TRADUCTOR OFICIAL, HOY ABRIL 9 DEL 2010, EN LA CIUDAD DE BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA.

Certificado de Registro

Organización Numero: 914 829 674

Compañía Limitada

Fecha de establecimiento: 1981- 09- 07

Transferido al Registro de

Compañías Comerciales: 1988-II-16

Razón Social: GE HEALTHCARE AS

Dirección comercial: Nycoveien 2

0485 OSLO

Municipio: 0301 OSLO

País: Noruega

Dirección Postal: P.O.Box 4220 Nydalen

v/HR COMPENSACION Y BENEFICIOS

0401 OSLO

Capital Social: NOK. 1.000.000.000.00

El capital fue pagado por completo

Gerente General/Director Ejecutivo

Ase Aulie Michelet

Sergio Euterio Zatorre Mendoza
Traductor e Interpreté Oficial
Resol. No. 2879 Minjusticia 1991

Junta de Directores

Presidente de la Junta

Odd Kare Strandli

Jernbaneveien 43

1369 STABEK K

Miembros de la Junta

Jan Fikkan

Ase Aulie Michelet

Sean Ciaran Elder

Trond Ivar Kjernli

Representante de Empleados

Peter Haaland

Representante de Empleados

Jan Oyvind Avik

Representante de Empleados

Miembros suplentes de la Junta:

Kristin Eivindvik

Representante de Empleados

Carlo Einar Sjogren

Representante de Empleados

Trond Haider

Representante de Empleados

Morten Weibye

Representante de Empleados

Astrid Hilde Myrset

Representante de Empleados

Firma:

Ase Aulie Michelet o dos socios de la junta conjuntamente

Sergio Eleuterio Gatorre Mendoza
Traductor e Interprete Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

Poder de Procuración:

El gerente general únicamente

Auditor:

Auditor Numero: 935 174 627

Compañía de auditoría Certificada

KPMG AS

Sorkedalsveien 6

0369 OSLO

BRONNOYSUNDREGISTRENE

Foretaksregisteret, 2006-07-11

El centro de Registro de Bronnoysund

El Registro de Empresas Comerciales

Firma y sello de

Ingvill Nilsen

Consultante

Adjunto al documento se encuentra lo siguiente:

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1.- País: Noruega

Este documento publico

Sergio Enrique Salazar Mendoza
Traductor e Interpretado Oficial
Resol. No. 2839 Minjusticia 1991

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2010 ABR 31 A 8:51

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

014897

Sergio Lotone
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
AS FUNCIONES INDICADAS

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
5 May 2011 (05.05.2011)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2011/051387 A1(51) International Patent Classification:
A61K 49/04 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/EP2010/066351(22) International Filing Date:
28 October 2010 (28.10.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
09174413.6 29 October 2009 (29.10.2009) EP(71) Applicant (for all designated States except US): **GE HEALTHCARE AS** [NO/NO]; P.O. Box 4220 N, Nycoveien 1-2, N-0401 Oslo (NO).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **WISTRAND, Lars-Göran** [SE/NO]; GE Healthcare AS, Nycoveien 1-2, P.O. Box 4220 Nydalen, N-0401 Oslo (NO). **THANING, Mikkel** [SE/NO]; GE Healthcare AS, Nycoveien 1-2, P.O. Box 4220 Nydalen, N-0401 Oslo (NO). **NEWTON, Ben** [GB/GB]; GE Healthcare Limited, The Grove Centre, White Lion Road, Amersham Buckinghamshire HP7 9LL (GB).(74) Agent: **WULFF, Marianne, W.**; GE Healthcare AS, P.O. Box 4220 Nydalen, Nycoveien 1-2, N-0401 Oslo (NO).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

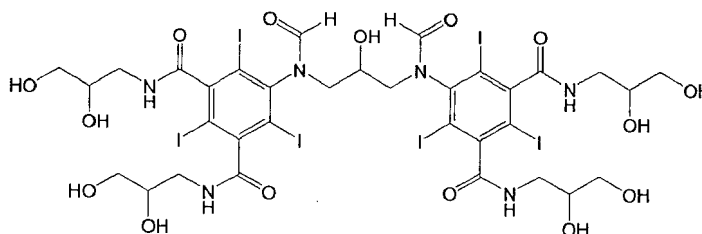
Declarations under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: DIAGNOSTIC COMPOSITION COMPRISING PLASMA CATIONS HAVING SUPERIOR SAFETY PROFILE



Compound I

(57) Abstract: The present invention relates to a new diagnostic X-ray composition which exhibits a superior cardiac safety profile. The composition comprises a non-ionic iodinated dimer in a pharmaceutically acceptable carrier. More particularly, the invention provides a diagnostic composition comprising a Compound I, a pharmaceutically acceptable carrier, and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound providing a sodium ion concentration of 40-50 mM and a calcium ion concentration of 0.1-0.7 mM. The invention also relates to methods of imaging using such diagnostic compositions.

**DIAGNOSTIC COMPOSITION COMPRISING PLASMA CATIONS
HAVING SUPERIOR SAFETY PROFILE**

The present invention relates to a new diagnostic X-ray composition which exhibits a superior cardiac safety profile. The composition comprises a non-ionic iodinated dimer in a
5 pharmaceutically acceptable carrier. The invention also relates to methods of imaging using such diagnostic composition.

All diagnostic imaging is based on the achievement of different signal levels from different structures within the body. Thus in X-ray imaging for example, for a given body structure to
10 be visible in the image, the X-ray attenuation by that structure must differ from that of the surrounding tissues. The difference in signal between the body structure and its surroundings is frequently termed contrast and much effort has been devoted to means of enhancing contrast in diagnostic imaging since the greater the contrast between a body structure and its surroundings the higher the quality of the images and the greater their value to the physician
15 performing the diagnosis. Moreover, the greater the contrast the smaller the body structures that may be visualized in the imaging procedures, i.e. increased contrast can lead to increased spatial resolution. The diagnostic quality of images is strongly dependent on the inherent noise level in the imaging procedure, and the ratio of the contrast level to the noise level can thus be seen to represent an effective diagnostic quality factor for diagnostic images.
20 Achieving improvement in such a diagnostic quality factor has long been and still remains an important goal.

In techniques such as X-ray, one approach for improving the diagnostic quality factor has been to introduce contrast enhancing materials formulated as contrast media into the body
25 region being imaged. Thus for X-ray, early examples of contrast agents were insoluble inorganic barium salts which enhanced X-ray attenuation in the body zones into which they distributed. For the last 50 years the field of X-ray contrast agents has been dominated by soluble iodine containing compounds. Commercial available contrast media (CM) containing iodinated contrast agents are usually classified as ionic monomers such as diatrizoate
30 (marketed e.g. under the trade mark Gastrografen™), ionic dimers such as ioxaglate (marketed e.g. under the trade mark Hexabrix™), nonionic monomers such as iohexol (marketed e.g. under the trade mark Omnipaque™), iopamidol (marketed e.g. under the trade mark Isovue™), iomeprol (marketed e.g. under the trade mark Iomeron™) and the non-ionic dimer iodixanol (marketed under the trade mark Visipaque™). The clinical safety of iodinated

X-ray contrast media has continuously been improved over the recent decades through development of new agents; from ionic monomers (IsopaqueTM) to non-ionic monomers (e.g. OmnipaqueTM) and non-ionic dimers (e.g. VisipaqueTM). However, even the highly refined X-ray contrast media currently on the market exhibit a low degree of undesirable clinical side effects, such as Contrast Induced Nephropathy (CIN), adverse cardiac events, and delayed adverse reactions (DARs). Consequently, there is a clinical need for a new and safer X-ray contrast medium, especially with regards to diagnostic investigations involving patients where there is a high risk of these side effects.

The utility of the contrast media is governed largely by its toxicity, by its diagnostic efficacy, by adverse effects it may have on the subject to which the contrast medium is administered, and by the ease of production, storage and administration. The toxicity and adverse biological effects of a contrast medium are contributed to by the components of the formulation medium, i.e. of the diagnostic composition, e.g. the solvent or carrier as well as the contrast agent itself and its components such as ions for the ionic contrast agents and also by its metabolites.

The number of coronary arteriography procedures continues to increase consistent with the expanding capabilities of coronary interventions, including percutaneous transluminal coronary angioplasty, implantation of stents, and intracoronary administration of therapeutics.

Over 70 million procedures, a majority of them cardiac related, are performed worldwide annually. Severe side effects caused by iodinated radiographic contrast media are rare, but can occur in high risk patients and during percutaneous coronary intervention.

In coronary arteriography the blood in the coronary arteries should ideally be completely replaced by a bolus of iodinated radiographic contrast media to maximize the attenuation of radiographs and thereby optimize diagnostic imaging. When contrast media replaces blood, the contrast media molecules cause chemotoxic and osmotic effects in the coronary vessels and also alterations in electrolyte concentrations, viscosity, and oxygen tension. These alterations may influence contractile force and cardiac rhythm and cause ventricular fibrillation (VF). Selective injection of contrast media into the coronary arteries induces regional electrophysiologic and hemodynamic effects. Serious ventricular arrhythmias, as well as cardiodepression, are known complications of coronary arteriography that may be related to the contrast media.

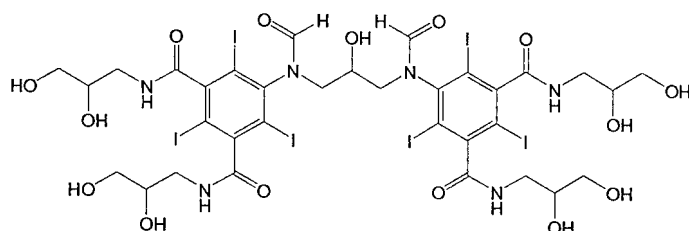
WO91/13636 and WO90/11094, both of Nycomed AS (now GE Healthcare AS), are directed to X-ray contrast media and to their formulations including different salts. There are also numerous studies on the advantages of formulations of X-ray contrast agents with the inclusion of salts, mainly NaCl, in the literature. Studies have been performed on isolated
5 hearts from rats (Jynge et al., Investigative Radiology 1993, 28, 20-25) and rabbits (Bååth et al., Investigative Radiology 1993, 28, 223-227), in dogs (Pedersen et al., Acad. Radiol. 1994, 1, 136-144) and in pigs. Of particular relevance is the study by Chai et al. (Acad. Radiol. 2004, 11, 583-593) where it is shown that a formulation of iodixanol containing 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl₂ exhibits a lower frequency of ventricular fibrillation than iodixanol alone.

10 Jacobsen et al., Investigative Radiology 1993; 28, 917-924 show that rapidly repeated injections of contrast media in dogs result in additive effects on inotropy and monophasic action potential whereas Ringer's solution had no effect. This was investigated to understand how angiography in clinical practice, where repeated injections are not uncommon to fill the
15 whole coronary tree, can induce changes in cardiac parameters and lead to complications.

The current marketed formulation of iodixanol, 320 mgI/ml contains 19 mM sodium ions and 0.3 mM calcium ions (VisipaqueTM). This formulation has experimentally been shown to exhibit a superior cardiac safety profile as compared to iodixanol without added salts, mainly
20 through in vivo studies in a cardiac pig model, but also through studies on isolated animal hearts. In similar studies it has been shown that iohexol also shows an increased cardiac tolerability when formulated with added salts, mainly NaCl.

WO 2009/008734 of GE Healthcare AS discloses a new class of compounds and their use as
25 X-ray contrast agents. The compounds are dimers containing two linked iodinated phenyl groups. The bridge linking the two iodinated phenyl groups is a straight C₃ to C₈ alkylene chain optionally substituted by one to six -OH or OCH₃ groups. A range of compounds are covered by the general formula (I) of the application and many specific compounds are suggested.

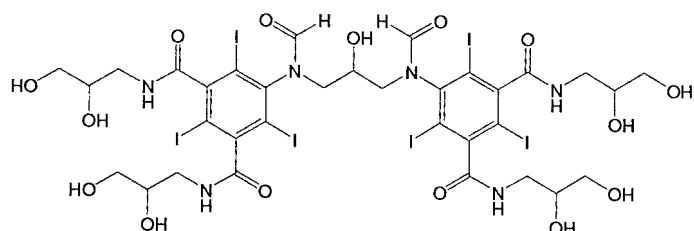
30 Compound I, which is one specific dimeric X-ray contrast agent, falling within the formula I of WO2009/008734, has been found by the applicant to have favourable properties:



Compound I: 5-[formyl-[3-[formyl-[3,5-bis(2,3-dihydroxypropylcarbamoyl)-2,4,6-triiodophenyl]amino]-2-hydroxypropyl]amino]-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-triiodobenzene-1,3-dicarboxamide.

The applicant has now surprisingly identified a new diagnostic X-ray composition which exhibits a superior cardiac safety profile as compared to VisipaqueTM, as shown in similar *in vivo* studies as indicated above.

Thus, in a first aspect the invention provides a diagnostic composition comprising a compound I



Compound I

a pharmaceutically acceptable carrier;
and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound providing a sodium ion concentration of 40-50 mM and a calcium ion concentration of 0.1-0.7 mM.

The physiochemical properties of Compound I are found below. Further information about the methods used, in addition to biodistribution and acute toxicity information, is provided in Example 1.

Protein binding: The binding of Compound I to human serum albumin (HSA) was determined using an equilibrium dialysis method. The binding of Compound I to human serum albumin was determined to be very low, 3.1 ± 1.3 %, confirming the negligible interaction of the substance with endogenous proteins.

Partition coefficient: The hydrophilicity of Compound I, as determined through the partition between octanol and water, showed that Compound I is very hydrophilic with a logP of -4.28.

- 5 Viscosity: The viscosity of compound I was determined at 20 °C and 37 °C at three different concentrations. The results are shown in Fig. 4. The viscosity at 320 mgI/ml and 20 °C is around 24 mPas.

- 10 Osmolality: The osmolality of Compound I was determined at four different concentrations, 204, 254, 310 and 324 mgI/ml. The osmolality of Compound I at 320 mgI/ml is 136 mOsm/kg.

- 15 A new diagnostic X-ray composition which exhibits a superior cardiac safety profile as compared to Visipaque™, has been identified. In addition to the safety of the compound itself, i.e. the compound providing the contrast, the additional components of the diagnostic composition are crucial.

- The study by Chai et al. shows that a formulation of iodixanol containing 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl₂ exhibits a lower frequency of ventricular fibrillation (VF) than iodixanol alone.
- 20 This study was carried out in pigs where the medium was injected directly into the left coronary artery (LCA) which had been previously occluded. No occurrence of ventricular fibrillation was observed on injection of Visipaque™. As part of the safety testing of Compound I, and identification of a formulation for this, formulations of Compound I were tested and compared with Visipaque™. Since in the previously published study (above)
- 25 intracoronary injection of 20 ml iodixanol was carried out over a 40-s injection time and no instances of VF occurred, the injection volume was increased to 25 ml over a period of 62.5 s to increase the instances of VF for comparison purposes. In addition, the test and reference solutions were selectively injected into the left anterior descending coronary artery (LAD) in order to further increase the sensitivity of the model. At this high volume, even Visipaque
- 30 exhibited a significant frequency of ventricular fibrillation, 100 %. (Figure 3). The experiments are outlined in Example 2.

To our surprise, the new X-ray contrast agent Compound I, when formulated in a diagnostic composition with as much as 40-50 mM NaCl and 0.1-0.7 mM CaCl₂, showed no occurrences of ventricular fibrillation (See Figure 3 and Table 3 for details).

- 5 When comparing the results from the two different studies, an increase in the frequency of ventricular fibrillation from 0% to 100% was observed with Visipaque. However, even at the high dose, the dimeric X-ray contrast agent Compound I exhibited no ventricular fibrillation. The major difference is that Compound I was formulated with 45 mM NaCl in this study, which is significantly higher than that of Visipaque (19 mM). Although no significant effect
- 10 was seen in ventricular fibrillation (VF) with calcium ion concentration between 0.1 and 0.7 mM, there was a significant reduction in systolic arterial pressure (SAP) and left ventricular systolic pressure (LVP) when less calcium was present (Table 2). These data indicate that the major factor influencing the frequency of ventricular fibrillation is the concentration of sodium chloride, while calcium has a significant effect on systolic arterial pressure and left
- 15 ventricular systolic pressure (LVSP). Indeed, a study in normal pigs showed that whilst LAD injection of a composition of compound I containing 45 mM NaCl with no added CaCl₂ resulted in a reduction in LVSP 45 to 70 seconds after injection (mean of -5.7 mm Hg normalised to Ringer Lactate), injection of a composition of compound I containing 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl₂ maintained LVSP in a manner similar to Visipaque (-0.3 and +0.1
- 20 mm Hg normalised to Ringer Lactate respectively) (Example 2b). In addition, injection of Iopamidol at the same rate and volume induced VF on every occasion (total of 9 injections in 3 pigs) between approximately 27 to 50 seconds after the start of injection (this limited any analysis of the LVSP response). These results further indicate that the presence of 0.5 mM CaCl₂ in the composition of Compound I is beneficial and limits any negative effects on
- 25 LVSP in a manner similar to Visipaque. Furthermore, the added electrolytes present in the diagnostic composition of Compound I and Visipaque may lower the propensity to induce VF compared with Iopamidol which has no added electrolytes. The amounts and ratios of the electrolytes studied are provided in table 4 of Example 2b.
- 30 In a study of more rapid injections (40ml, at 5 ml/sec) left ventricular systolic pressure was maintained and similar to that observed following Ringer Lactate and Visipaque administration when Compound I in a composition with 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl₂ was injected selectively to the LAD of normal pigs. In contrast Iopamidol injection, which contains no added electrolytes, induced a significant reduction in LVSP (Example 2c).

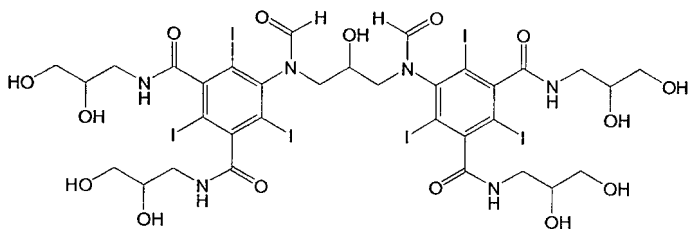
Furthermore, Iopamidol induced a substantial increase in dP/dt (69%) whereas Compound I was similar to Ringer Lactate and Visipaque in this respect (a modest increase of up to 30%). It is considered that the presence and ratio of the electrolytes Sodium (Na) and Calcium (Ca) in the formulations of Compound I and Visipaque studied, which are closer to the Na/Ca balanced composition of Ringer Lactate and the interstitial fluid, contributed to a superior maintenance of cardiac function compared with that following Iopamidol injection, which contains no added electrolytes. The amounts and ratios of the electrolytes are provided in table 5 of Example 2b.

In a further embodiment of the invention the composition of the invention comprises a sodium compound providing a sodium ion concentration of 42-47 mM, and even more preferably a sodium ion concentration of 44-46 mM, and most preferably a sodium ion concentration of 45 mM.

In yet another embodiment of the invention the composition of the invention comprises a calcium compound providing calcium ion concentration of 0.3-0.6 mM, and even more preferably a calcium concentration of 0.4-0.5 mM and most preferably a calcium ion concentration of 0.5 mM.

In this aspect, the ratio between sodium ion concentration and calcium ion concentration should be between 57 and 500, such as between 63 and 117, more preferably between 70 and 156, more preferably between 85 and 115 and most preferably between 88 and 95.

In a second aspect, the invention provides a diagnostic composition comprising a compound I



Compound I

a pharmaceutically acceptable carrier;

and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound wherein the ratio between sodium ion concentration and calcium ion concentration is between 40 and 45, and is preferably 43. This is to mirror the electrolyte concentrations of a Ringer lactate composition.

5 The sodium compound and the calcium compound of the composition may be provided in the form of salts, i.e. the compounds include physiologically tolerable counter ions, e.g. selected from the group of chloride, sulphate, phosphate and hydrogen carbonate. Preferably, the sodium compound is sodium chloride and the calcium compound is calcium chloride.

10 The pharmaceutically acceptable carrier is an aqueous solution, preferably pure water.

Sodium is essential for myocardial depolarization, which depends on an inward Na^+ current. We believe that adding 40-50 mM sodium ions, and preferably 45 mM NaCl, to Compound I brings it closer to the normal Na^+ interstitial concentration than iodixanol + 19 mM Na^+ /L.

15 Thereby, Compound I might be more physiologic and better able to maintain the action potential of fast sodium channels, thus counteracting the “slow response” action potential caused by too little or no sodium.

Previous investigations have shown that adding small amounts of sodium (10-30 mmol/L) to
20 nonionic contrast media may decrease the risk of ventricular fibrillation (VF) from these contrast media. However studies also show that the addition of more sodium to contrast media can also increase the negative inotropy, as indicted by reduced systolic arterial pressure/left ventricular systolic pressure (SAP/LVP). To maintain normal extracellular and intracellular sodium-calcium (Na-Ca) relationships, the addition of calcium to non-ionic
25 contrast media reduces the negative inotropic effects. The key question though is how much calcium should be added to prevent the increase of the negative inotropy. The addition of 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl_2 to iodixanol 320 mg I/mL in the Visipaque formulation was considered optimal in order to minimize the physiological disturbances such as VF and increased negative inotropy during coronary angiography.

30

In our studies, the benefit of CaCl_2 to Compound I containing 45 mM NaCl was confirmed (Table 3). A formulation (F1) with 0.1 mM CaCl_2 induced significantly lower SAP and LVP than the formulation with 0.3 mM CaCl_2 (F3) or 0.7 mM CaCl_2 (F5) respectively. The formulation of Compound I with 0.3 mM CaCl_2 caused lower SAP than the formulation with

0.7 mM CaCl_2 . It follows that adding calcium ions to the contrast media may counteract the negative inotropy caused by adding sodium.

However, there is a critical balance between sodium and calcium ions. Adding proper concentrations of sodium and calcium to nonionic contrast media decreases the risk of VF and reduces adverse effects on contractile force. Adding too much sodium decreases myocardial contractile force. This latter effect is counteracted by addition of Ca-ions. The formulation of Compound I, containing 45 mM NaCl and 0.7 mM CaCl_2 (F7), appears to be the best formulation because it did not cause any VF and maintained better inotropy than the F1 and F3 formulations. However the hemodynamic effects of the F5 formulation of Compound I, however, were equal to those of Visipaque, so a calcium concentration between F3 and F5 is preferred. Thus, in a particularly preferred embodiment the composition of the invention comprises 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl_2 .

The intravenous and intra-arterial safety of this composition of Compound I was shown in a separate study. In this study the cardiovascular effects of Compound I in a composition of 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl_2 was assessed at three dose levels in vivo in an acute porcine model. In summary there were no overall changes to myocardial performance when the composition was administered via the intravenous and intra-arterial route. The study is further described in Example 3.

Generally, iodinated contrast media may cause late hypersensitivity reactions in susceptible patients from 1 hour to several days after exposure. These reactions are mainly non-serious skin eruptions such as macular, maculopapular and urticaria-like eruptions. Contrast media-induced delayed adverse reactions (DARs) such as skin eruptions appear to be caused by contrast media-reactive T cells that, upon recognizing the contrast media, proliferate and subsequently orchestrate an inflammatory reaction in the skin. The applicant has evaluated an *in vitro* T cell proliferation model designed to predict the relative frequency with which contrast media, such as Compound I, will cause late skin reactions in patients post-intravascular administration. Two contrast media, iodixanol and iohexol, with known rates of delayed skin reactions, and the new contrast medium, Compound I, was screened (2 and 5 mg I/mL) for *in vitro* T cell proliferation in CD25^+ -depleted peripheral blood mononuclear cells from 100 donors representing world population HLA-DR frequencies. Positive T cell

responses were evaluated according to published protocols and stimulation index values (positive response ≥ 1.9). *In vitro* toxicity was tested by measuring cell viability of the first 10 donor samples incubated with test contrast media (5 mg I/mL). The results were that all major HLA -DR allotypes were represented with a frequency equivalent to the world population. No contrast media tested appeared to have a meaningful effect on cell viability. Compound I had fewer positive T cell proliferation donor samples compared with iodixanol and iohexol at both concentrations. For iodixanol and iohexol, T cell proliferation responses for most donors occurred on days 7 and 8; statistical significance favored a reduced proliferation response to Compound I on day 8. In conclusions the model successfully established the relative frequency with which contrast media caused *in vitro* T cell activation. The results correlated with reported frequency of late skin reactions with two marketed contrast media and identified a lower frequency for Compound I.

The results hence indicate that Compound I has the lowest capacity for stimulating *in vitro* T cell proliferation compared with iodixanol and iohexol. Given the more frequent association of DAR with dimeric contrast media, our finding that a non-ionic dimer closely related to iodixanol does not stimulate T-cell proliferation *in vitro* to the same extent as iodixanol, or indeed the same extent as the monomer iohexol, is of considerable interest. Because it is now known that T-cell proliferation underlies DAR, our data suggest that a dimeric structure *per se* may not in itself cause a greater frequency of T cell proliferation. The key structural difference between Compound I and iodixanol is that 2 acetyl groups in iodixanol have been replaced by 2 formyl groups in Compound I. This modification has an effect on the molecule's linker structure, conformation, and physicochemical behaviour, and surprisingly Compound I as a lower capacity for stimulating *in vitro* T cell proliferation than iodixanol and iohexol. Hence, a diagnostic composition according to the first aspects of the invention is expected to cause fewer late hypersensitivity reactions than commercialised contrast media such as OmnipaqueTM (Iohexol) and VisipaqueTM (Iodixanol).

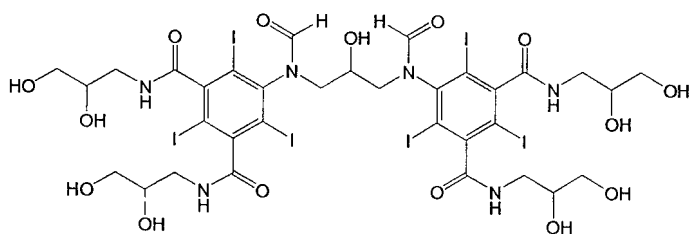
Compound I can be prepared as outlined in WO 2009/008734. A general procedure is outlined on pages 16-20, and a specific method for preparation is provided in Example 1 of WO 2009/008734. The WO 2009/008734 application, with its description of a process for preparation is hereby incorporated by reference.

Compound I may exist in several isomeric forms due to chiral carbon atoms. In addition, the compound exhibits exo/endo isomerism due to the restricted rotation of the N-CO bond in the formyl function caused by the proximity of the bulk iodine atom. Both enantiomerically pure
 5 products as well as mixtures of optical isomers are included.

The diagnostic composition of the invention is in a ready to use concentration. Generally compositions in a ready to use form will have iodine concentrations of at least 100 mg I/ml, preferably at least 150 mg I/ml, with concentrations of at least 300 mg I/ml, e.g. 320 mg I/ml
 10 being preferred. The diagnostic composition preferably further includes pharmaceutically acceptable carriers or excipients. Examples of such are Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and tris(hydroxymethyl)amino methane (TRIS).

The diagnostic composition of the invention is preferably for use as an X-ray contrast media
 15 in X-ray diagnoses or X-ray imaging. The composition may be administered as a bolus injection or by infusion. Further, the composition may be administered by intravascular, intravenous or intra-arterial administration. Alternatively, the composition may also be administered orally.

20 In a third aspect, the invention provides the use of a Compound I



Compound I

for the manufacture of a diagnostic composition for use in x-ray diagnosis, wherein the
 25 composition comprises

a pharmaceutically acceptable carrier;

and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound providing a sodium ion concentration of 40-50 mM and a calcium ion concentration of 0.1-0.7 mM.

In yet another aspect, the invention provides a method of diagnosis comprising administering a diagnostic composition of the invention to a human or animal body, examining the body with a diagnostic device and compiling data from the examination. In the method of diagnosis the body may also be preadministered with the diagnostic composition.

5

In yet another aspect, the invention provides a method of *in vivo* imaging detection comprising the following steps;

- i) administering a detectable quantity of the diagnostic composition of the invention;
- ii) allowing the administered composition to distribute;
- 10 iii) detecting signals emitted by the compound I of the distributed composition,
- iv) generating an image representative of the location and/or amount of said signal.

The method of imaging is a method of X-ray imaging and in a preferred embodiment of this aspect, the method of detection is a method of coronary arteriography, and more preferably
15 the diagnostic composition is administered as a bolus injection to the coronary arteries.

In yet another aspect, the invention provides a composition of the invention for use in x-ray imaging or diagnosis, such as in coronary arteriography.

20 Brief description of the drawings:

Figure 1 depicts a comparison of the distribution of radioactivity in male and female Wistar rats at 48 hours post-administration of [^{123} I] labeled Compound I.

Figure 2 depicts the frequency of ventricular fibrillation caused by injection of Mannitol,
25 Mannitol + added sodium and calcium, Iodixanol + Mannitol, VisipaqueTM and Ringer solution. Data taken from Chai et al.

Figure 3 depicts the frequency of ventricular fibrillation caused by injection of compositions of Compound I, comprising different concentrations of calcium chloride, compared with
30 injections of Visipaque. The injection volume was 25ml over a period of 62.5 s and the solutions were selectively injected into the LAD.

Figure 4 depicts the viscosity of Compound I at 20°C and 37 °C versus concentration.

WO 2011/051387

PCT/EP2010/066351

Figure 5 depicts the effect of Compound I (with and without added Ca) and Visipaque on LVSP 45 to 70 seconds from the start of injection to the LAD of normal pigs normalised to Ringer Lacate (LR) injection.

- 5 Figure 6 depicts the effect on cardiovascular parameters following injection of 40 ml (5ml/sec) of Ringer Lactate, Compound I, Visipaque or Iopamidol to the LAD of normal pigs.

Examples:**Example 1. Physiochemical properties, acute toxicity and biodistribution data for Compound I.**

5

Protein binding:

The binding of Compound I to human serum albumin (HSA) was determined using an equilibrium dialysis method. A stock solution of Compound I (5.0 mg/ml in phosphate buffered saline (PBS)) was mixed with citrate:human plasma in a ratio of 1:9. Equilibration was carried out in a Diachem Dianorm Dialyser against an aqueous phosphate buffered saline using a Diachem 10.17 MW cutoff 10000 membrane and was carried out for 25 hours.

Analysis of the solutions was performed using an ICP-AES instrument. In addition, spiked PBS solutions were also equilibrated against citrated human plasma solutions to ensure that the equilibrium had been obtained. The binding of Compound I to human serum albumin was determined to be very low, $3.1 \pm 1.3 \%$, confirming the negligible interaction of the substance with endogenous proteins. As a reference, the binding of iodixanol to HSA was determined to $0.4 \pm 0.9 \%$.

Partition coefficient.

As a measure of the hydrophilicity of Compound I, the partition coefficient between octanol and water was determined. Water (5 ml) containing the test substance (0.3 mg/ml) was shaken with 15 ml n-octanol until equilibrium had been obtained. The aqueous phase was separated by centrifugation and analyzed by HPLC (HP1100 equipped with a Discovery C18 column, 100 x 2.1 mm) using UV detection at 244 nm and a flow of 0.3 ml/min. Isocratic HPLC conditions were used, 8% acetonitrile in water (v/v). The octanol phase (12.5 ml) was extracted with water (0.75 ml) until equilibrium had been obtained and the phases were separated by centrifugation. The aqueous phase was analyzed by HPLC using the conditions detailed above. Both octanol and water were pre-saturated with water and octanol, respectively, before the partition coefficient experiments. The hydrophilicity of Compound I, as determined through the partition between octanol and water, showed that Compound I is very hydrophilic with a logP of -4.28. As a comparison, the corresponding logP of iodixanol was determined to -4.02. The reported literature value is -4.05. The increased hydrophilicity of Compound I compared to iodixanol is confirmed by its HPLC behavior.

Viscosity.

The viscosity of Compound I was determined at two different temperatures, 20 °C and 37 °C and three different concentrations, 246, 295 and 313 mgI/ml. The test solutions were isotonic through adjustment of the osmolality with NaCl and had been sterilized by autoclavation. The density of the solutions was determined using a Density meter, DMA58 (Anton Paar). A calibrated U-tube technique was used, where the time of fall was used as a measure of dynamic viscosity. The viscosity of compound I was determined at 20 °C and 37 °C at three different concentrations. The results are shown in Fig. 4. In comparison with Visipaque, the viscosity at 320 mgI/ml and 20 °C is similar, around 24 mPas.

Osmolality:

The osmolality of Compound I was determined at four different concentrations, 204, 254, 310 and 324 mgI/ml. A Vapro 5520 vapour pressure osmometer from Vapro Inc. was used. The osmolality of Compound I shows a relationship with the concentration which is close to linear. The osmolality of Compound I at 320 mgI/ml is lower than that of iodixanol, 136 mOsm/kg vs 210 mOsm/kg at 320 mgI/ml.

Acute toxicity:

Young adult male Sca:SD rats (Scanbur, Sweden), weighing 200 ± 20 g, were injected intravenously at a rate of 1.2 ml/min with either Compound I (340 mgI/mL, 286 mosmol/kg), iodixanol (321 mgI/mL, 284 mosmol/kg), osmotic control mannitol (283 mosmol/kg), or saline (290 mosmol/kg), administered as 2 separate doses 4 hours apart. For the interim kill animals (day 2 post-treatment), Compound I and iodixanol were dosed at 8, 10 and 12.8 gI/kg, corresponding to total dose volumes of 23.7, 29.7 and 38.0 ml/kg, and 25, 31.3 and 40 ml/kg, respectively, whereas for mannitol and saline, the dose volume was 40 ml/kg. For the 7 day terminal kill animals, there were 4 dose groups; Compound I and iodixanol (12.8 gI/kg), and saline and mannitol (40 mL/kg). In all cases, each group included 8 animals.

The following evaluations were made during the study; clinical signs, body weights and blood for haematology and clinical chemistry on days 0, 2 and 7, and gross observations, organ weight and histomorphological examination of tissues from the animals killed by excess intravenous thiopental injection on days 2 or 7. The day of dosing was defined as Day 0. Clinical biochemistry parameters (Na, K, Cl, PO₄, Ca, AST, ALT, ALP, cholesterol,

creatinine, CK, GGT, TG (triglyceride), total bilirubin, total protein, urea, albumin, LDH and GLDH were measured on a Beckman Synchron CX5 at 37 °C. Haematology parameters (WBC, differential WBC, RBC, WBC/RBC ratio, Hgb, PLT, HCT, MCH, MCHC, MCV, MPV and RDW) were analyzed with an Abbott Cell-Dyn 3500 CS automated haematology analyzer. Kidneys from saline control and the 12.8 gI/kg Compound I and iodixanol groups were immersed fixed in 10% neutral buffered formalin, processed into paraffin wax, sectioned at a nominal thickness of 5 µm, stained with haematoxylin and eosin and examined by light microscopy.

The data were analysed by parametric one-way ANOVA, followed by Dunnett's post procedure test, using the 2 days and 7 days saline groups for comparison with the 2 days and 7 days iodixanol and Compound I groups. The statistical analysis was applied on day -1 (baseline), day 2 and day 7.

Biodistribution:

For each time point (2, 20 mins, 1, 2, 4, 24, 48 hours) 3 animals of each sex were anaesthetized with isoflurane. Each study animal received 2 injections within approximately 20 seconds. The first injection was a formulation of Compound I (non-radioactive) at ~320 mgI/ml, administered to give a total chemical dose of ~1.6 gI/kg via a specific tail vein (left or right). As soon as possible afterwards (within approximately 20 seconds) the radioactive [¹²³I] Compound I Test Item (~1 to ~8 MBq, up to 350 µg) was injected as an intravenous bolus to the opposite tail vein. This approach allowed the amount of radioactivity administered to be adjusted according to the dissection timepoint (study day 1, 2 or 3) without significantly altering the total chemical dose of Compound I. Animals were then placed in metabolism cages for the collection of urine and faeces until the appropriate time post-injection of labeled Compound I. At this time, animals were again anaesthetized with isoflurane and sacrificed by cervical dislocation. Selected organs and tissues (blood, kidneys, bladder and urine, lung, liver, stomach, small and large intestine, heart, testes, ovaries, uterus and faeces) were removed, along with the tail, which was assayed as the injection site. The amount of radioactivity in selected organs, tissues and excreta was then assayed using an automatic twin crystal gamma counter and analysis system.

Acute toxicity results:

There were no adverse clinical signs in rats treated with saline or mannitol, whereas in those treated with Compound I and iodixanol, mild to moderate depression and uncoordinated movements and weakness/inactivity was seen, as well as oedema and erythema of the extremities. These effects began 10-20 min after the first administration and lasted 2-3 h, but without a clear dose-response. Analyses of the haematology and clinical chemistry data indicated that there were no toxicologically significant adverse effects in any of the groups.

In the kidneys, the main treatment-related findings were cytoplasmic vacuolation of the proximal tubules, and in the glomeruli, dilatation of the Bowman's space containing proteinaceous material. On day 2, the severity of vacuolation was greater in those given iodixanol compared to Compound I. By Day 7, the severity of vacuolation was somewhat less compared to Day 2 in both groups, as was the Bowman's space dilatation and the presence of proteinaceous material.

Table 1 – Summary of the major histomorphological findings in the kidneys:

Group	No rats	Day of Necropsy	Test Item	Dose (gI/kg)	Proximal Tubule Vacuolation		Glomerulus: Bowman's Space Dilatation		Glomerulus: Bowman's Space Proteinaceous Material	
					Left Kidney	Right Kidney	Left Kidney	Right Kidney	Left Kidney	Right Kidney
1	8	2	Saline	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
5	8	2	Compound I	12,8	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					3,3,3,3	3,4,3,3	P,P,0,P	0,0,0,0	P,P,0,P	0,0,0,0
					4,4,4,4	4,4,4,4	P,P,0,0	P,P,P,P	P,P,0,0	P,P,P,P
8	8	2	Iodixanol	12,8	4,4,4,4	4,4,4,4	P,0,P,P	P,P,P,P	P,0,P,P	P,P,P,0
9	8	7	Saline	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,P,P	0,P,0,0	0,0,P,P	0,P,0,0
10	8	7	Compound I	12,8	2,2,3,3	3,2,3,3	0,0,P,0	0,0,0,P	0,0,P,0	0,0,0,P
					3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					3,3,3,3	3,3,3,3	P,0,0,0	0,0,P,0	P,0,0,0	0,0,P,0

Key to findings: 0 = Not present; P = Present; 1 = minimal; 2 = mild; 3 = moderate; 4 = marked; 5 = severe.

Biodistribution results:

Following intravenous administration [¹²³I] labeled Compound I was rapidly excreted with >80% of injected dose (id) present in the bladder and urine 2 hours post-injection. Levels in blood decreased from 21% id at 2 minutes post-injection to 0.6% id 2 hours post-injection.

There was a small but significant amount of excretion via the faecal route, which appeared slightly higher in female animals (14.3% id in the faeces) compared with male animals (8.2%

id in the faeces) at 48 hours post-injection, although this difference was not statistically significant. Less than 2% id was retained in the body 48 hours post-injection of labeled Compound I, with approximately 0.5% retained in the kidneys, 0.1% retained in the liver and less than 1% in the remaining carcass (Figure 1), all of which had further decreased from the 24-hour timepoint. This likely reflects the continued, slow excretion of the Compound I retained in the body following the initial, rapid excretion phase. There was no retention of radioactivity in the reproductive organs. Overall, the biodistribution profile of labeled Compound I was similar to other dimeric iodinated contrast agents.

Example 2. Comparison studies

2a) Comparison of cardiotoxicity of VisipaqueTM and diagnostic compositions of Compound I in a pig LAD occlusion model

Reference is made to the study by Chai et al. (Acad. Radiol. 2004, 11, 583-593) where it was shown that a formulation of Iodixanol containing 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl₂ exhibits a lower frequency of ventricular fibrillation than Iodixanol alone. The study was carried out in pigs where the medium was injected directly into the left coronary artery (LCA) which had been previously occluded. It is clear from Figure 2 that a formulation of Iodixanol containing 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl₂ exhibits a lower frequency of ventricular fibrillation than Iodixanol alone (P<0.01). In this case, no occurrence of ventricular fibrillation was observed on injection of VisipaqueTM. The dose given in these experiments was 20 ml at an injection rate of 2.0 ml/minute.

Since in the study by Chai et al. intracoronary injection of 20ml iodixanol (formulated as Visipaque) was carried out over a 40-s injection time and no instances of VF occurred, we performed a study in which the injection volume was increased to 25ml over a period of 62.5 s to increase the instances of VF for comparison purposes. In addition, the test and reference solutions were selectively injected into the left anterior descending coronary artery (LAD) in order to further increase the sensitivity of the model. The physical and chemical properties of the test solutions are provided in table 2 and results are presented in Figure 3.

Table 2. Physical and chemical properties of test solutions

Test agent	Iodine	Electrolytes	
	concentration (mg I/mL)	(mM)	
		Na	Ca
F1: Compound I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.1
F3: Compound I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.3
F5: Compound I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.7
Iodixanol + NaCl + CaCl ₂ (Visipaque)	320	19	0.3

At this high injection volume, even VisipaqueTM exhibited a significant frequency of ventricular fibrillation, 100 % (Figure 3).

However, to our surprise, the new X-ray contrast agent Compound I, when formulated with 45 mM NaCl and 0.1-0.7 mM CaCl₂, showed no occurrences of ventricular fibrillation (See Figure 3 and Table 3 for details).

When comparing the results from the two different studies, an increase in the frequency of ventricular fibrillation from 0% to 100% is observed with VisipaqueTM. However, even at the high dose, the dimeric X-ray contrast Compound I in a diagnostic composition exhibits no ventricular fibrillation. The major difference is that Compound I has been formulated with 45 mM NaCl, which is significantly higher than that of Visipaque (19 mM). Although no significant effect was seen in VF, with calcium ion concentration between 0.1 and 0.7 mM on VF, there was a significant reduction in SAP and LVP when less calcium was present (Table 3).

Table 3. Hemodynamic changes at 50 s after start of injection, % of pre-injection value

	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 max	+10% ± 27	+31% ± 38	+34% ± 29	+21% ± 10.8
HR	-1% ± 1.0	0% ± 0.8	-2% ± 3.0	0% ± 3.5

- 5 SAP: systolic arterial pressure (mm Hg)
 LVP: left ventricular systolic pressure (mm Hg)
 dP/dt max: maximum rate of LV pressure generation (mm Hg/s)
 HR: heart rate (beats/min)
 *P<0.05 vs F1.
10 †P<0.01 vs F1.
 ‡P<0.05 vs F3.
 §P<0.01 vs F3.

15 These data indicate that the major factor influencing the frequency of ventricular fibrillation is
 the concentration of sodium chloride, while calcium has a significant effect on systolic arterial
 pressure and left ventricular systolic pressure.

**2b: Comparison of Compound I in compositions with and without added CaCl₂ with
Visipaque and Iopamidol**

20 The haemodynamic effects of compositions of Compound I with and without added CaCl₂
 were compared to Visipaque and Iopamidol following selective administration to the LAD in
 normal pigs without balloon occlusion. The effects of each contrast media were normalised
 to any effects seen with an equivalent injection of Ringer Lactate solution, which acted as a
 volume and electrolyte – “ratio” control. There were a total of 12 pigs in this study, and each
25 pig received a single CM injected 3 times at volumes of 10 ml (4 ml/sec), 20 ml (1 ml/sec)
 and 25 ml (0.4 ml/sec) (total of 9 CM injections in each pig). Each CM was either preceded
 or followed by a control injection of Ringer Lactate, and the order of each injection (volume)

was randomised in each pig. Table 4 provides the amounts and ratios of sodium and calcium electrolytes used.

Table 4:

Electrolytes	Visipaque mM	Compound I mM	Compound I +CaCl ₂ mM	Ringer Lactate mM or (Ratio)	Human Interstitial Fluid mM or (Ratio)
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

At an injection volume of 25 ml Compound I in a composition without added CaCl₂ was associated with a reduction in LVSP between 45 and 70 seconds after injection (mean of -5.7 mm Hg normalised to Ringer Lactate) whereas Compound I in a composition with added CaCl₂ and Visipaque had little or no effect (-0.3 and +0.1 mm Hg normalised to Ringer Lactate respectively) (Figure 5). The decrease in LVSP observed with the composition of Compound I without added CaCl₂ was significantly different to that with added CaCl₂, which was not significantly different to Visipaque. In addition, a corresponding response to Iopamidol injection could not be analysed since VF was observed in each case between approximately 27 and 50 seconds after the start of the 25 ml injection. These results indicate that the presence of 0.5 mM CaCl₂ in the composition of Compound I is beneficial and limits any negative effects on LVSP in a manner similar to Visipaque. In addition, the additional electrolytes present in the diagnostic composition of Compound I and Visipaque may lower the propensity for induction of VF compared with Iopamidol which has no added electrolytes.

2c: Comparison of a composition of Compound I with Visipaque, Iopamidol and Ringer Lactate in normal pigs with a fast injection rate

In a further study the haemodynamic effects of Compound I in a composition with 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl₂ was compared to Visipaque and Iopamidol following selective administration to the LAD of normal pigs with a fast injection rate (5 ml/sec). Ringer Lactate was also studied as a volume and electrolyte "ratio" control. In total 3 pigs were studied, and each CM was administered twice to each pig in random order. The injection rate used was 5 ml/sec with a total injection volume of 40 ml. Table 5 provides the amounts and ratios of sodium and calcium electrolytes used.

Table 5:

Electrolytes	Visipaque mM	Compound I mM	Ringer Lactate mM or (Ratio)	Human Interstitial Fluid mM or (Ratio)
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

5 Whilst Compound I and Visipaque injection did not induce changes in LVSP or dP/dt from baseline that were significantly different from Ringer Lactate administration, Iopamidol induced a significant decrease and increase in LVSP and dP/dt values respectively (Figure 6). LVSP was reduced by $9\% \pm 6$ and dP/dt increased by $69\% \pm 16$ following Iopamidol administration. This was in contrast to Ringer Lactate, Compound I and Visipaque injection, 10 which were associated with a slight increase in LVSP (~5%) and a modest increase in dP/dt (up to ~30%). These results indicate that following fast injection into the LAD of normal pigs Compound I in a composition with 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl₂ had minimal effects on haemodynamic parameters similar to Visipaque or physiological Ringers solution. It is considered that the presence of electrolytes in the formulations of Compound I and Visipaque 15 studied, which are more similar to the balanced composition of Ringer Lactate and the interstitial fluid, contributed to a superior maintenance of cardiac function compared with that following Iopamidol injection, which contains no added electrolytes.

20 **Example 3. Intravenous and intra-arterial safety of diagnostic composition of Compound I**

The intravenous (i.v) and intra-arterial (i.a.) safety of a composition of Compound I was shown in a separate study (ref. B145095). In this study the cardiovascular effects of Compound I in a composition with 45 mM NaCl and 0.5 mM CaCl₂ was assessed at three dose levels in vivo in an acute porcine model.

25 **Methods:** The composition was administered either intra-arterially or intravenously into groups of three animals at one of three dose levels (1-fold, 2-fold or 3-fold the standard volume of 2ml/kg). Each animal also received an equivalent volume of Ringer-Lactate solution as a volume control. CV effects: heart rate (HR), pulse oximetry, electrocardiogram 30 (ECG), aortic pressure (systolic, diastolic and mean), left ventricular end diastolic pressure

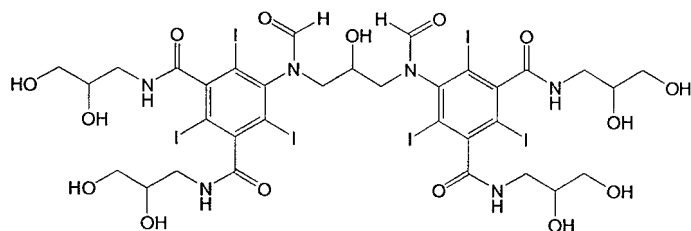
(LVEDP) were assessed. Ultrasound / echocardiography to assess stroke volume, ejection fraction and cardiac contractility were also evaluated.

Results: Evaluation of the preliminary data summary suggests that there were no important dose or route-related effects of Compound I on HR, pulse oximetry and ECG in the porcine heart. Pulse oximetry analysis showed oxygen saturation remained at approximately 98% throughout dosing. HR also remained within normal ranges. There were no Compound I-related rhythm disturbances: QT interval was within the normal range regardless of i.a. or i.v. dosing of Compound I. Similarly, little or no effect of Compound I was observed on aortic pressure (systolic, diastolic and mean) over the entire dose range. The changes in aortic pressure appeared similar whether Compound I was administered by the i.v. or i.a. route. There were slight increases in LVEDP with increasing doses of Compound I, the effect was similar whether Compound I was administered via i.v. or i.a. routes. In addition, increases in LVEDP were similar in magnitude to those seen following the administration of increasing volumes of Ringer-Lactate. Analysis of stroke volume, ejection fraction and cardiac contractility by echocardiography showed only a slight change in end diastolic volume (EDV), confirming any effects were volume related and not specific to Compound I administration.

Hence, there were no overall changes to myocardial performance when Compound I was administered via the i.a. or i.v. route. The minor changes in CV function parameters were attributed to the volume administered and not the test item Compound I, because similar effects were seen upon injection with Ringer Lactate solution. All myocardial parameters were within the normal ranges after intravenous or intraarterial administration of Compound I up to 3-fold the standard dose volume of 2ml/kg.

Claims:

1. A diagnostic composition comprising a Compound I



5 Compound I

a pharmaceutically acceptable carrier;

and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound providing a sodium ion concentration of 40-50 mM and a calcium ion concentration of 0.1-0.7 mM.

10

2. A diagnostic composition as claimed in claim 1 comprising a sodium compound providing a sodium ion concentration of 42-47 mM.

3. A diagnostic composition as claimed in claim 1 comprising a sodium compound providing a sodium ion concentration of 44-46 mM.

15

4. A diagnostic composition as claimed in claim 1 comprising a sodium compound providing sodium ion concentration of 45 mM.

5. A diagnostic composition as claimed in any of claim 1 to 4 comprising a calcium compound providing a calcium ion concentration of 0.3-0.6 mM.

20

6. A diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 4 comprising a calcium compound providing a calcium concentration of 0.4-0.5 mM.

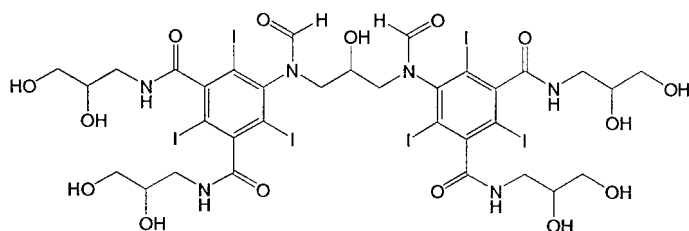
25

7. A diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 4 comprising a calcium compound providing a calcium concentration of 0.5 mM.

8. A diagnostic composition as claimed in claim 1 wherein the ratio between sodium ion concentration and calcium ion concentration is between 63 and 117.

30

9. A diagnostic composition comprising
a compound I



Compound I

- a pharmaceutically acceptable carrier;
and dissolved therein a sodium compound and a calcium compound wherein the ratio
between sodium ion concentration and calcium ion concentration is between 40 and 45.

10. A diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 9 wherein the sodium compound and calcium compound are salts comprising counter ions selected from the group of chloride, sulphate, phosphate and hydrogen carbonate.

11. A diagnostic composition as claimed in claim 10 wherein the sodium compound is sodium chloride and the calcium compound is calcium chloride.

12. A diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 11 further comprising
EDTA and/or TRIS.

13. A method of diagnosis comprising administering a diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 12 to a human or animal body, examining the body with a diagnostic device and compiling data from the examination.

14. A method of in vivo imaging detection comprising the following steps;
i) administering a detectable quantity of the diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 12;
ii) allowing the administered composition to distribute;
iii) detecting signals emitted by the Compound I of the distributed composition,

iv) generating an image representative of the location and/or amount of said signal.

15. A method as claimed in claim 14 wherein the method is a method of coronary arteriography.

5

16. A diagnostic composition as claimed in any of claims 1 to 12 for use as an X-ray contrast media in X-ray diagnoses or X-ray imaging.

10

Figures:

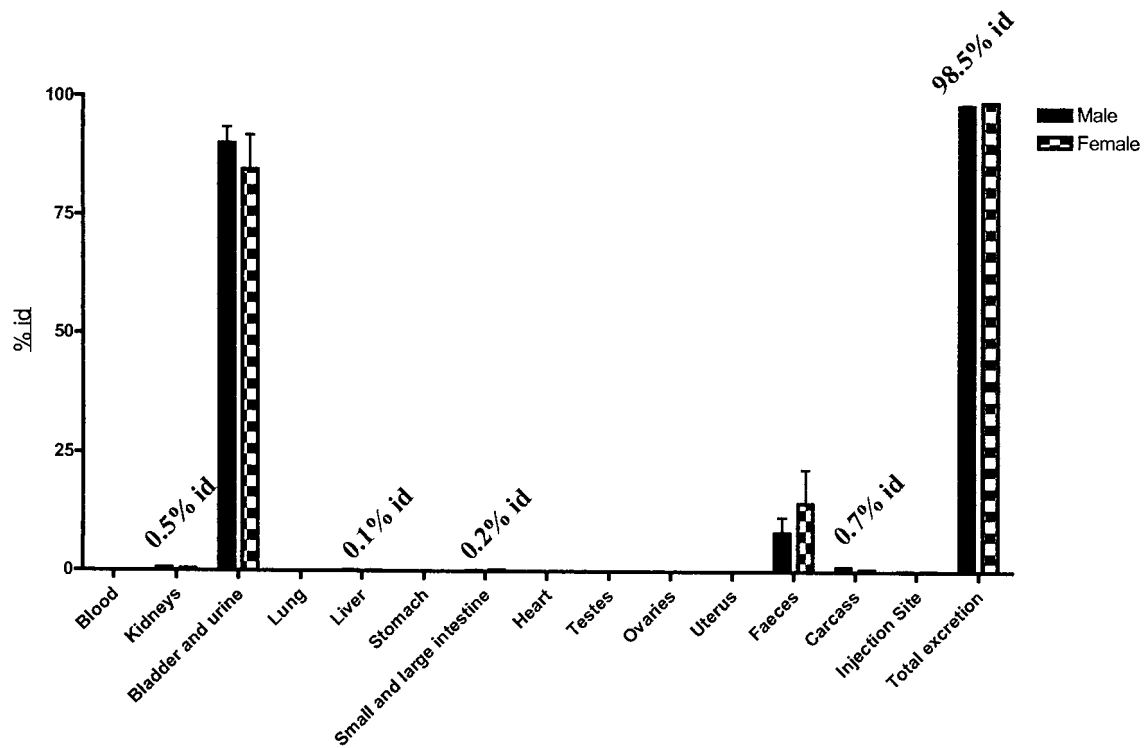


Figure 1. Comparison of the distribution of radioactivity in male and female Wistar rats at 48 hours post-administration of [^{123} I] labeled Compound I. Total excretion = sum of radioactivity in the bladder and urine plus faeces.

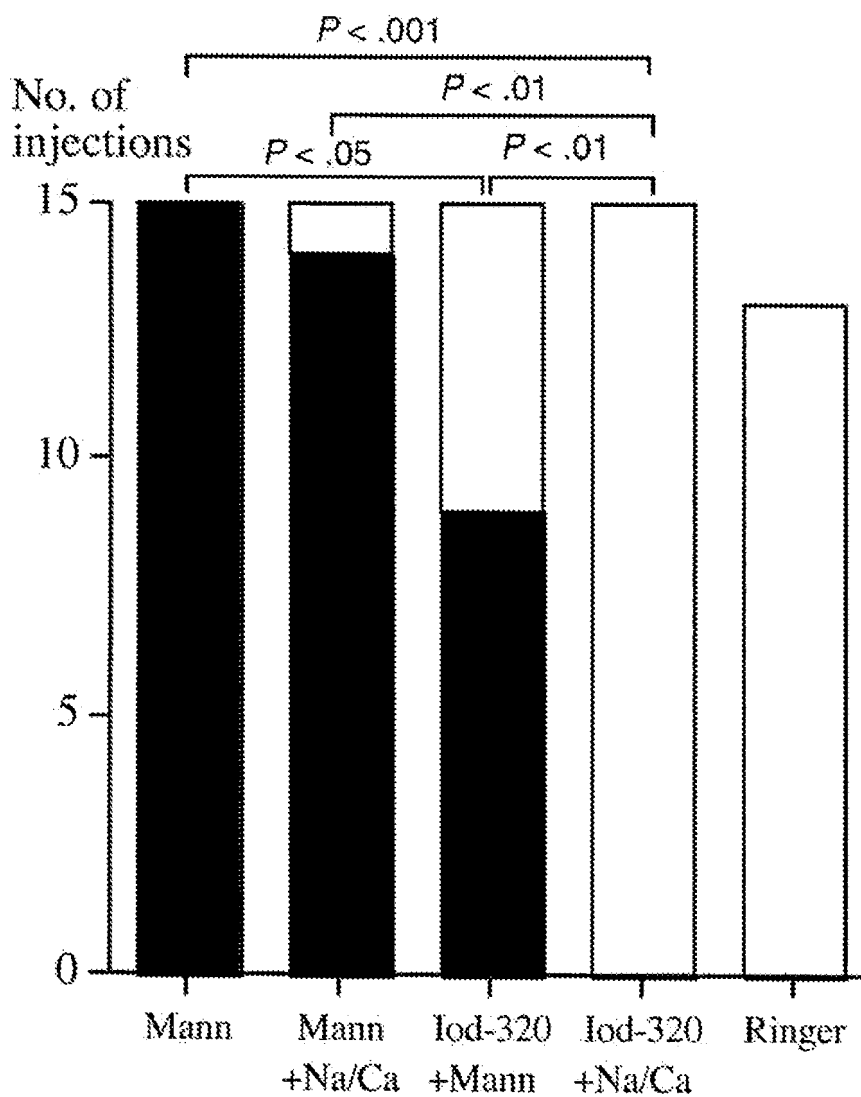


Figure 2. Frequency of ventricular fibrillation caused by injection of Mannitol (Mann; 275 mM), Mannitol + added sodium and calcium (Mann+Na/Ca; 240 mM mannitol, 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl_2), Iodixanol + Mannitol (Iod-320 + Mann; 320 mgI/ml Iodixanol and 50 mM Mannitol), VisipaqueTM (Iod-320; 320 mgI/ml Iodixanol, 19 mM NaCl and 0.3 mM CaCl_2) and Ringer solution (Ringer, Ringer acetate, KabiVitrum AB, Sweden). Black filling denotes VF, white filling denotes no VF. Data is taken from Chai et al.

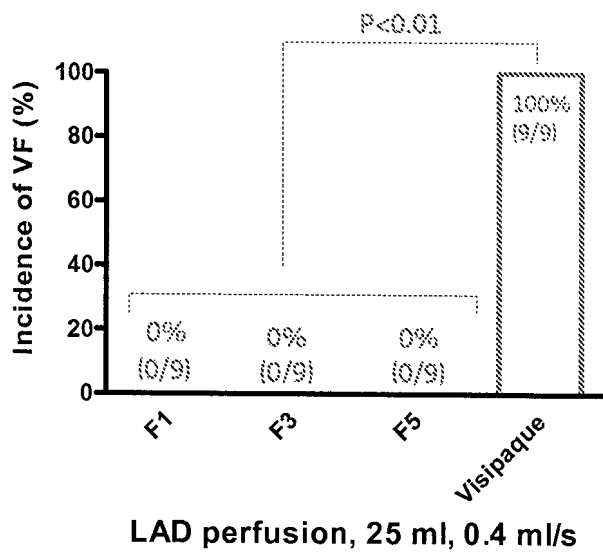


Figure 3. Frequency of ventricular fibrillation caused by injection of: Compound I, 0.1 mM CaCl₂ (F1, 320 mgI/ml Compound I, 45 mM NaCl and 0.1 mM CaCl₂); Compound I, 0.3 mM CaCl₂ (F3, 320 mgI/ml Compound I, 45 mM NaCl and 0.3 mM CaCl₂); Compound I, 0.7 mM CaCl₂ (F5, 320 mgI/ml Compound I, 45 mM NaCl and 0.7 mM CaCl₂), Visipaque

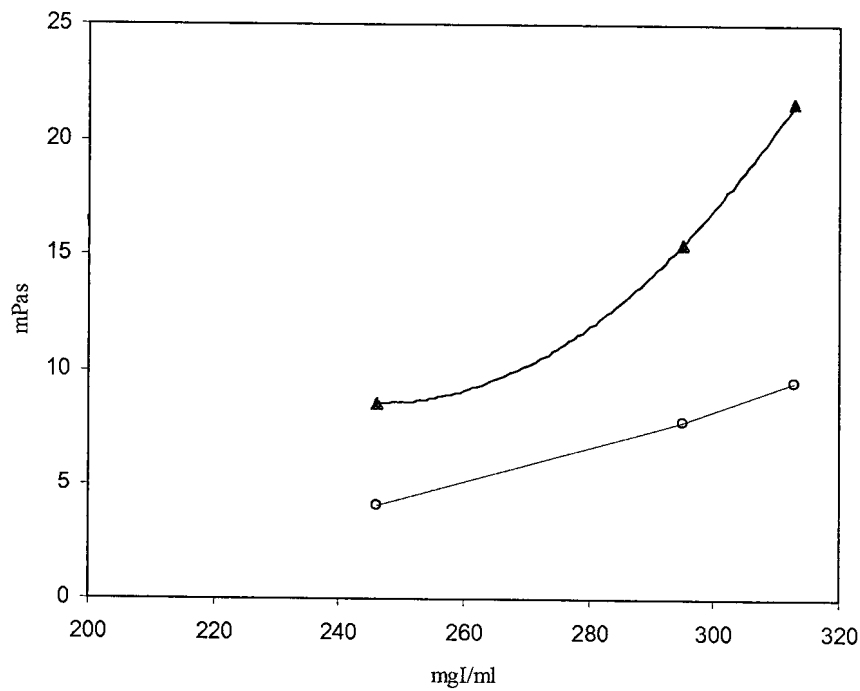


Figure 4. The viscosity of Compound I at 20°C (▲) and 37 °C (○) vs concentration.

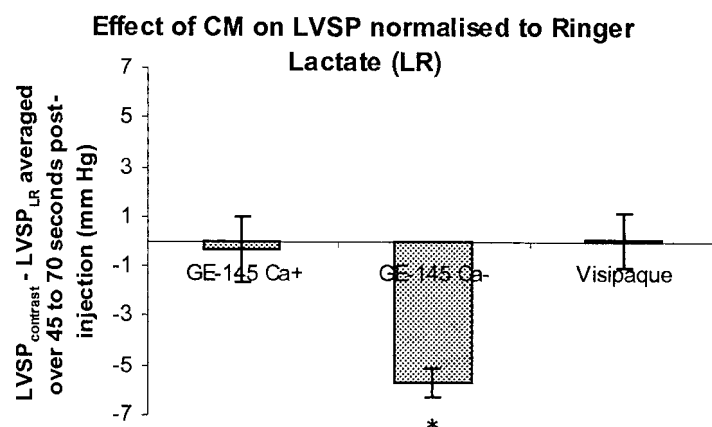
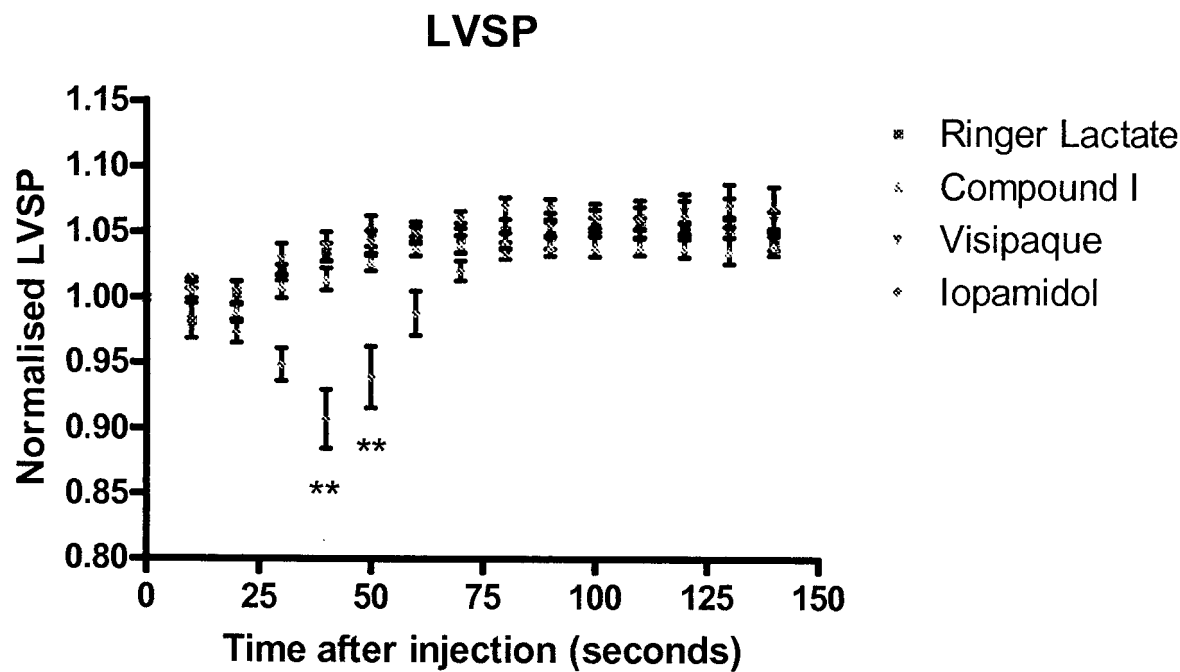


Figure 5. Effect of Compound I (with and without added Ca) and Visipaque on LVSP 45 to 70 seconds from the start of injection to the LAD of normal pigs normalised to Ringer Lactate (LR) injection. Injection volume was 25ml (0.4 ml/sec). “GE-145 Ca+” is a composition of Compound I containing 45 mM Na, 0.5 mM Ca, and “GE-145 Ca-” is a composition of Compound I containing 45 mM Na, and no added Ca.. Mean $\pm$ SEM. *= $p < 0.05$ significant difference to GE-145 Ca+ using two-tailed Dunnett’s test.

a)



b)

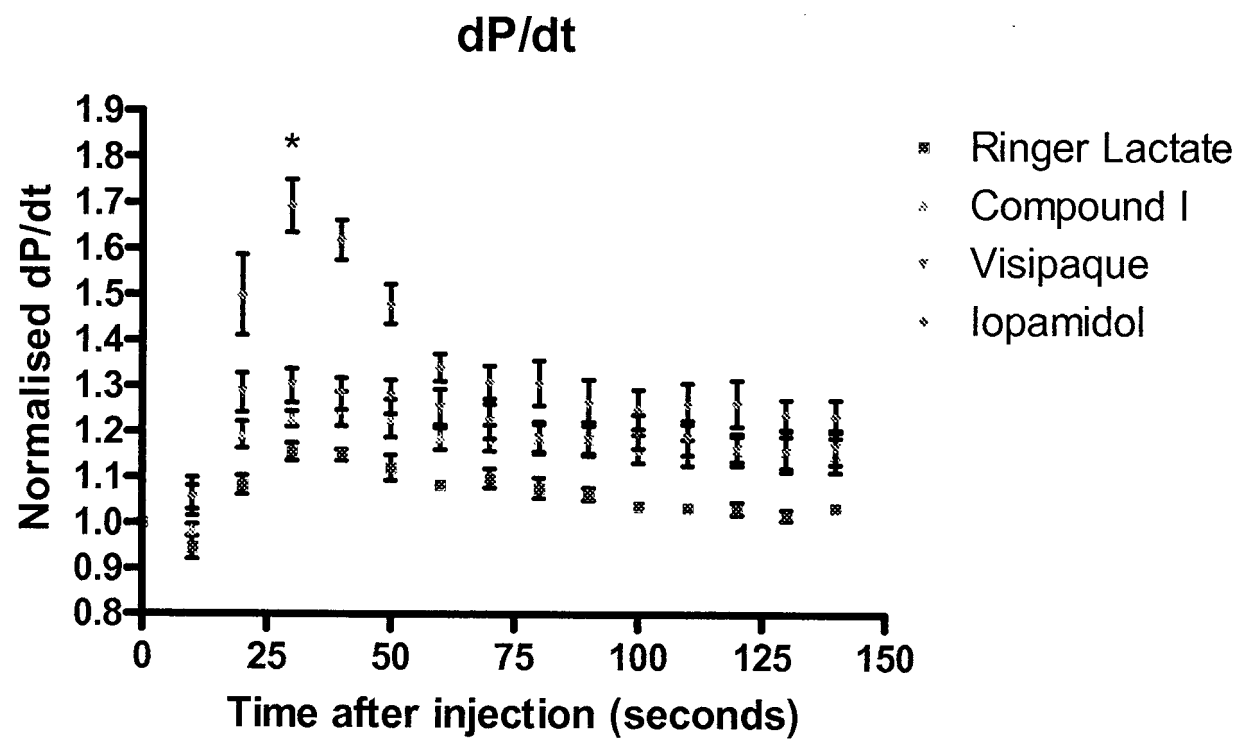


Figure 6. Effect on cardiovascular parameters following injection of 40 ml (5ml/sec) of Ringer Lactate, Compound I, Visipaque or Iopamidol to the LAD of normal pigs. a) Change in LVSP normalised to baseline. b) Change in dP/dt normalised to baseline. Mean $\pm$ SD. * = significant difference to Ringer Lactate, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ using 2-way ANOVA with Bonferroni post-test.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/066351

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K49/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EP0-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009/008734 A2 (GE HEALTHCARE AS) 15 January 2009 (2009-01-15) cited in the application claim 24; example 1 -----	1,9
A	WO 91/13636 A1 (NYCOMED AS) 19 September 1991 (1991-09-19) cited in the application pages 6-12; claims 1-3,8-9,14; examples 2-7 page 9, lines 24-27 page 12, lines 1-7 -----	1-16
A	EP 0 390 242 A1 (NYCOMED AS) 3 October 1990 (1990-10-03) cited in the application page 4, lines 18-25,53-55; claims 1, 2, 6, 9, 12, 13 page 3, lines 46-49 -----	1-11, 13-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 February 2011

Date of mailing of the international search report

16/02/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kanbier, Titia

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/066351

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009008734	A2	15-01-2009	
		AU 2008273037 A1	15-01-2009
		CN 101687051 A	31-03-2010
		EP 2178568 A2	28-04-2010
		JP 2010533172 T	21-10-2010
		KR 20100033405 A	29-03-2010
		US 2010322868 A1	23-12-2010
WO 9113636	A1	19-09-1991	
		AT 141519 T	15-09-1996
		AU 645544 B2	20-01-1994
		CA 2076861 A1	10-09-1991
		CN 1056058 A	13-11-1991
		CS 9100619 A2	15-09-1991
		DE 69121562 D1	26-09-1996
		DE 69121562 T2	16-01-1997
		DK 0521880 T3	09-09-1996
		DZ 1506 A1	13-09-2004
		EG 19889 A	31-03-1996
		EP 0521880 A1	13-01-1993
		ES 2090315 T3	16-10-1996
		FI 923962 A	04-09-1992
		GR 3020842 T3	30-11-1996
		GR 3033898 T3	30-11-2000
		HK 1003563 A1	30-10-1998
		HR 930773 A2	31-10-1997
		HU 62490 A2	28-05-1993
		HU 217075 B	29-11-1999
		IE 910775 A1	11-09-1991
		IL 97455 A	27-11-1995
		JP 5504953 T	29-07-1993
		JP 3215703 B2	09-10-2001
		LV 10058 A	10-05-1994
		NO 923485 A	05-11-1992
		OA 9667 A	15-05-1993
		PT 96978 A	31-10-1991
		RO 111543 B1	29-11-1996
		TR 25738 A	01-09-1993
		US 5328680 A	12-07-1994
EP 0390242	A1	03-10-1990	
		AT 123954 T	15-07-1995
		AU 638235 B2	24-06-1993
		AU 5185490 A	22-10-1990
		BG 60951 B1	31-07-1996
		CA 2046886 A1	18-09-1990
		CN 1045528 A	26-09-1990
		CZ 281381 B6	11-09-1996
		DD 295992 A5	21-11-1991
EP 0390242	A1		
		DE 69020208 D1	27-07-1995
		DE 69020208 T2	21-03-1996
		DK 0390242 T3	14-08-1995
		EG 19431 A	31-10-1995
		WO 9011094 A1	04-10-1990
		EP 0463013 A1	02-01-1992
		ES 2073505 T3	16-08-1995
		GR 3017133 T3	30-11-1995
		HU 59015 A2	28-04-1992
		IE 67885 B1	01-05-1996
		IL 93752 A	11-11-1994

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/066351

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP 2977045 B2	10-11-1999
		JP 4504114 T	23-07-1992
		NO 913641 A	16-09-1991
		NZ 232954 A	28-04-1992
		OA 9392 A	15-09-1992
		PT 93471 A	07-11-1990
		RO 112246 B1	30-07-1997
		RU 2088261 C1	27-08-1997
		TR 25111 A	01-11-1992
		ZA 9002052 A	28-12-1990

**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
5 composición comprende un dímero yodado no iónico en un portador aceptable farmacéuticamente. La invención también hace referencia a métodos de toma 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
10 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
15 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
20 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 GastrofracTM), dímeros iónicos tales como ioxaglato (comercializado por ejemplo bajo la marca HexabrixTM), monómeros no iónicos tales como iohexol (comercializado por ejemplo bajo la marca OmnipaqueTM), iopamidol (comercializado por ejemplo bajo la marca IsovueTM), iomeprol (comercializado por ejemplo bajo la marca IomeronTM), y el dímero iodixanol no iónico (comercializado por ejemplo bajo la marca VisipaqueTM). 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 (IsopaqueTM) a monómeros no iónicos (p. ej. OmnipaqueTM) y dímeros no iónicos (p. ej., VisipaqueTM). 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
5 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
10 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.

15 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
20 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
25 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.

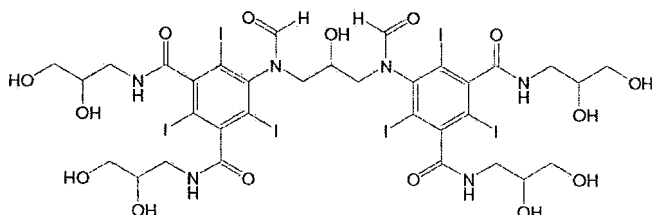
Jacobsen et al. Investigative Radiology 1993; 28, 917-924 muestra que inyecciones repetidas con rapidez del medio de contraste en perros resulta en

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
5 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,
10 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
15 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
20 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:



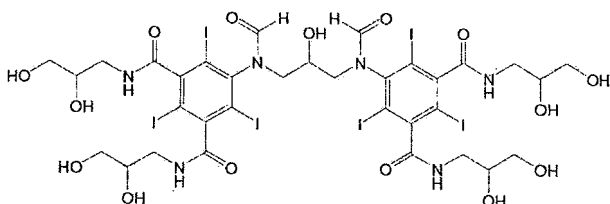
Compuesto 1: 5-[formil-[3-[formil-[3,5-bis(2,3-dihidroxiopropilcarbamoyl)-2,4,6-triiodofenil]amino]-2-hidroxiopropil]amino]-N,N'-bis(2,3-dihidroxiopropil)-2,4,6-triiodobeneno-1,3-dicarboxamida.

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(l)/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 VisipaqueTM. 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 VisipaqueTM. 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 CaCl₂ 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 CaCl_2 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 CaCl_2 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 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 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.

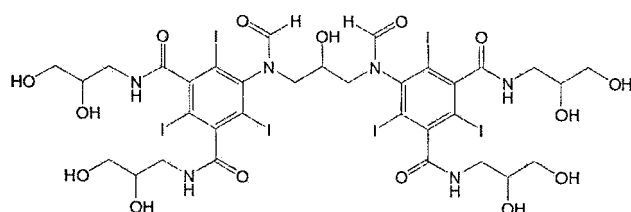
En una realización adicional de la invención la composición de la invención comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 42-47 mM, e incluso más preferentemente una concentración de iones de sodio de 44-46 mM, y más preferentemente una concentración de iones de sodio 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
5 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
10 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
15 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
20 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
5 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 isotropía negativa provocada mediante la adición de sodio.

Sin embargo, existe un equilibrio crítico entre los iones de sodio y calcio. La
10 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
15 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
20 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
25 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 OmnipaqueTM (Iohexol) y VisipaqueTM (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.

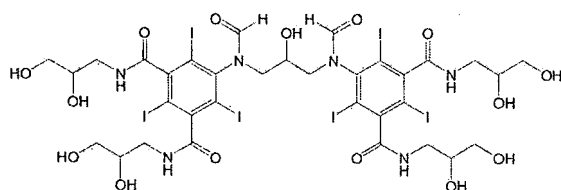
El compuesto I puede existir en diferentes formas isoméricas debido a los átomos de carbono quirales. Además, el compuesto muestra isomería exo/endo debido a la rotación limitada del enlace N-CO en la función formilo provocada por la proximidad del átomo de yodo. Se incluyen ambos productos
15 enantioméricamente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

5 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
10 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.

15 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
20 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 Iopamidol 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 $0,4 \pm 0,9\%$.

5

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.

25 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 iodixanol, 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 vía intravenosa a una velocidad de 1,2 ml/min con ya sea el Compuesto I (340 mg/ml, 286 mosmo/kg), iodixanol (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 gl/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 gl/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 gl/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 vía 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
5 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
10 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
15 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.

					Vacuolación del túbulo proximal		Glomérulos: dilatación del espacio de Bowman		Glomérulos: material proteináceo en el espacio de Bowman	
Grupo	N.º de ratas	Día de necropsia	Elemento de prueba	Dosis (g/l/kg)	Riñón izquierdo	Riñón derecho	Riñón izquierdo	Riñón derecho	Riñón izquierdo	Riñón derecho
					0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
1	8	2	Comp. Solución salina I		0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					3,3,3,3	3,4,3,3	P,P,0,P	0,0,0,0	P,P,0,P	0,0,0,0
5	8	2		12,8	3,3,3,3	3,3,3,3	0,0,0,P	P,0,P,0	0,0,0,P	P,0,P,0
					4,4,4,4	4,4,4,4	P,P,0,0	P,P,P,P	P,P,0,0	P,P,P,P
8	8	2	Iodixanol	12,8	4,4,4,4	4,4,4,4	P,0,P,P	P,P,P,P	P,0,P,P	P,P,P,0
					0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
9	8	7	Comp. Solución salina I		0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
					3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,P,P	0,P,0,0	0,0,P,P	0,P,0,0
10	8	7		12,8	2,2,3,3	3,2,3,3	0,0,P,0	0,0,0,P	0,0,P,0	0,0,0,P
					3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
11	8	7	Iodixanol	12,8	3,3,3,3	3,3,3,3	P,0,0,0	0,0,P,0	P,0,0,0	0,0,P,0

Tabla 1 – Resumen de los principales hallazgos histomorfológicos en los riñones:

Referencias clave: 0 = ausentes; P = presentes; 1 = mínimos; 2 = leves

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 CaCl_2 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
5 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 período de 62,5 segundos para
10 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 + CaCl ₂	320	45	0,1
F3: compuesto I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0,3
F5: compuesto I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0,7
Iodixanol + NaCl + CaCl ₂ (Visipaque)	320	19	0,3

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

- 5 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).

- 10 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
- 15 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.

10 Tabla 4:

Electrolitos	Visipaque en mM	Compuesto I en mM	Compuesto I + CaCl ₂ 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 (~5%) y un aumento moderado de la dP/dt (hasta ~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
15 ventricular izquierda (LVEDP). También se evaluó el ultrasonido/ecocardiografía para evaluar el volumen sistólico, la fracción de eyección y la contractilidad cardíaca.

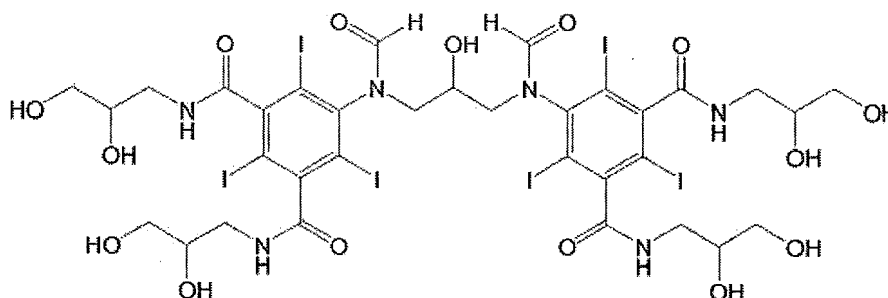
Resultados: la evaluación del resumen de los datos preliminares sugiere que no
20 hubo efectos importantes relacionados con la dosis o con la vía de administración del Compuesto I en la HR, la oximetría de pulso y el ECG del corazón porcino. El análisis de oximetría de pulso mostró que la saturación 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.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de diagnóstico que comprende un Compuesto I



5

Compuesto I

un portador farmacéuticamente aceptable,

y disuelto en el mismo un compuesto de sodio y un compuesto de calcio que

proveen una concentración de iones en sodio de 40-50 mM y una concentración

10 de iones en calcio de 0,1-0,7 mM.

2. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1

que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de

sodio de 42-47 mM.

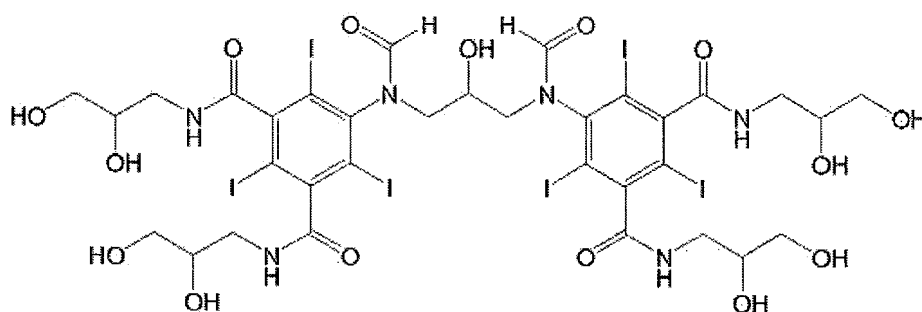
15

3. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1

que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de

sodio de 44-46 mM.

4. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 45 mM.
- 5 5. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,3-0,6 mM.
- 10 6. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,4-0,5 mM.
- 15 7. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,5 mM.
8. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 en donde la relación entre la concentración de iones de sodio y la concentración de iones de calcio está entre 63 y 117.
- 20 9. 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
5 relación entre la concentración de iones de sodio y la concentración de iones de
calcio está entre 40 y 45.

10. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 9 en donde el compuesto de sodio y el compuesto de calcio
10 son sales que comprenden contraiones seleccionados del grupo de cloruro,
sulfato, fosfato e carbonato de hidrógeno.

11. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 10
en donde el compuesto de sodio es cloruro de sodio y el compuesto de calcio es
15 cloruro de calcio.

12. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 11 que además comprende EDTA y/o TRIS.

13. Un método de diagnóstico que comprende administrar una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 a un cuerpo de un ser humano o de un animal, examinar el cuerpo con un dispositivo de diagnóstico y recolectar datos a partir del examen realizado.

5

14. Un método de detección de imágenes in vivo que comprende los siguientes pasos:

i) administrar una cantidad detectable de la composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12;

10 ii) permitir que se distribuya la composición administrada;

iii) detectar las señales emitidas por el Compuesto I de la composición distribuida,

iv) generar imágenes representativas de la ubicación y/o la cantidad de dichas señales.

15 15. Un método según se reivindica en la reivindicación 14 en donde el método es un método de arteriografía coronaria.

16. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para su uso como medio de contraste para rayos X en
20 diagnósticos por rayos X o imágenes por rayos X.

RESUMEN

La presente invención hace referencia a una nueva composición de diagnóstico por rayos X que exhibe un perfil de seguridad cardíaco superior. La
5 composición comprende un dímero no iónico yodinado en un portador farmacéuticamente aceptable. Más particularmente, la invención provee una composición de diagnóstico que comprende un Compuesto I, un portador farmacéuticamente aceptable y disuelto en el mismo un compuesto de sodio y un compuesto de calcio que proveen una concentración de iones de sodio de 40-50
10 mM y una concentración de iones de calcio de 0,1-0,7 mM. La invención también hace referencia a métodos de toma de imágenes utilizando dichas composiciones de diagnóstico.

Figura 1/5

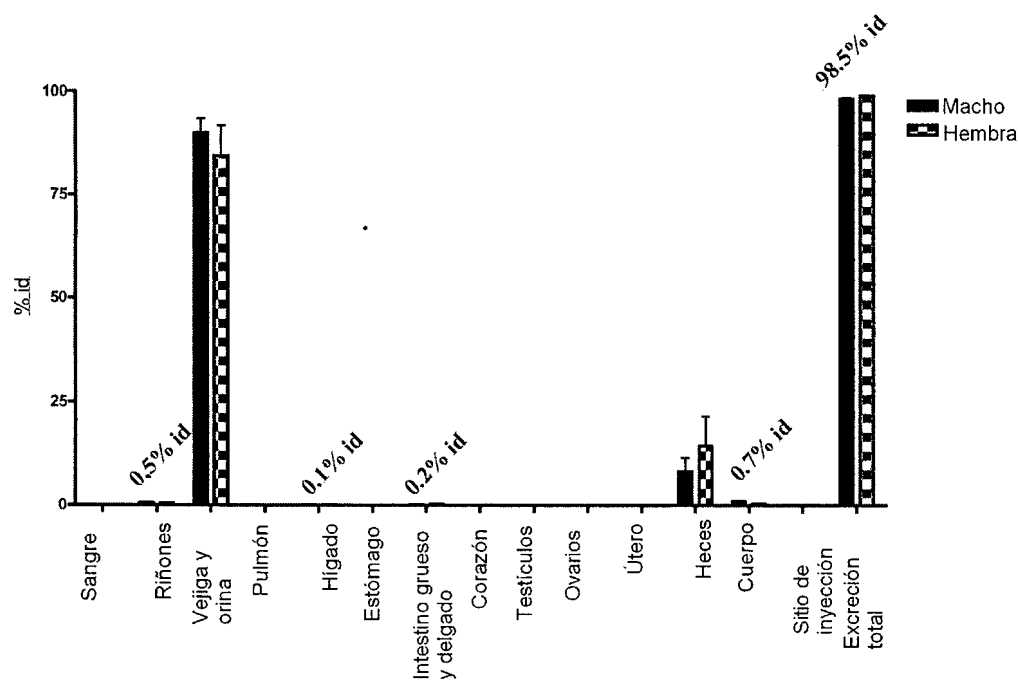


Figura 1. Comparación de la distribución de la radioactividad en ratas Wistar macho y hembra 48 horas postadministración el Compuesto rotulado [123I]. Excreción total = suma de radioactividad en la vejiga y orina más heces.

Figura 2/5

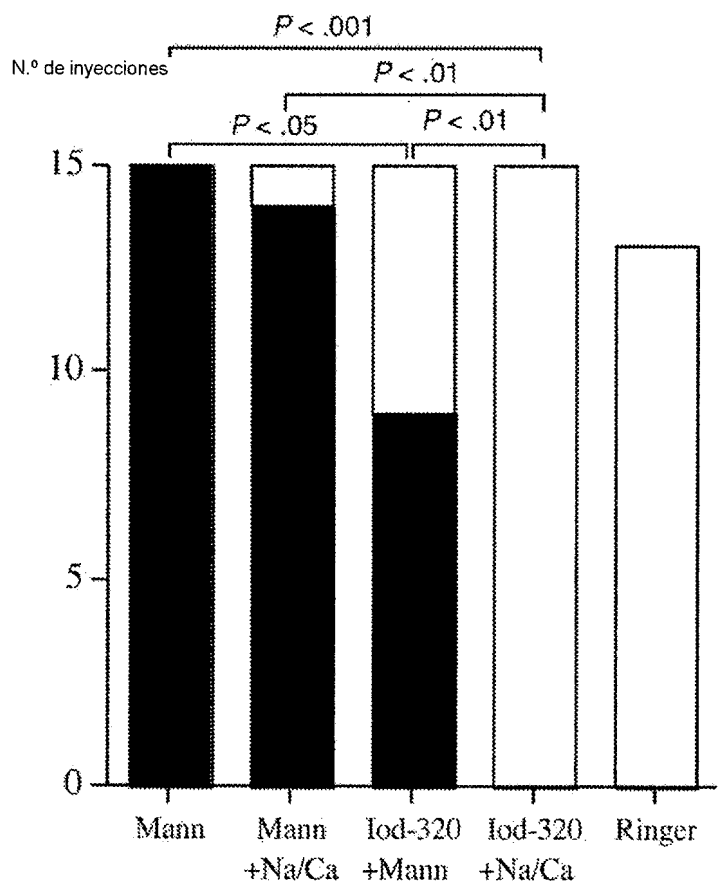


Figura 2. Frecuencia de fibrilación ventricular provocada por la inyección de Manitol, (Mann; 275 mM), Manitol + sodio y calcio agregados (Mann + Na/Ca; 240 mM Manitol, 19 mM NaCl y 0,3 mM CaCl₂), Iodixanol + Manitol (Iod-320 + Mann; 320 mg/ml Iodixanol y 50 mM Manitol), Visipaque TM (Iod-320; 320 mg/ml Iodixanol, 19 mM NaCl y 0,3 mM CaCl₂) y solución de Ringer (Ringer, acetato de Ringer, Kabi Vitrum AB, Suecia). El relleno en color negro denota la VF, mientras que el relleno en color blanco denota la ausencia de VF. Los datos se tomaron de Chai et al.

Figuras 3/5 y 4/5

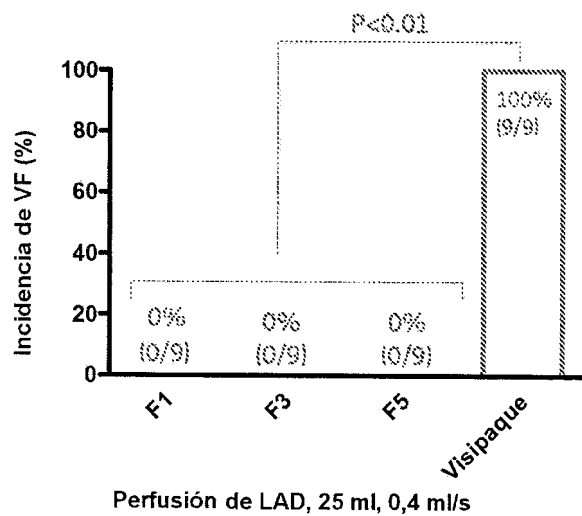


Figura 3. Frecuencia de la fibrilación ventricular provocada por la inyección de:
Compuesto I, 0,1 mM de CaCl2 (F1, 320 mgI/ml Compuesto I, 45 mM de NaCl y 0,1 mM CaCl2);
Compuesto I, 0,3 mM de CaCl2 (F3, 320 mgI/ml Compuesto I, 45 mM de NaCl y 0,3 mM CaCl2);
Compuesto I, 0,7 mM de CaCl2 (F5, 320 mgI/ml Compuesto I, 45 mM de NaCl y 0,7 mM CaCl2);
Visipaque

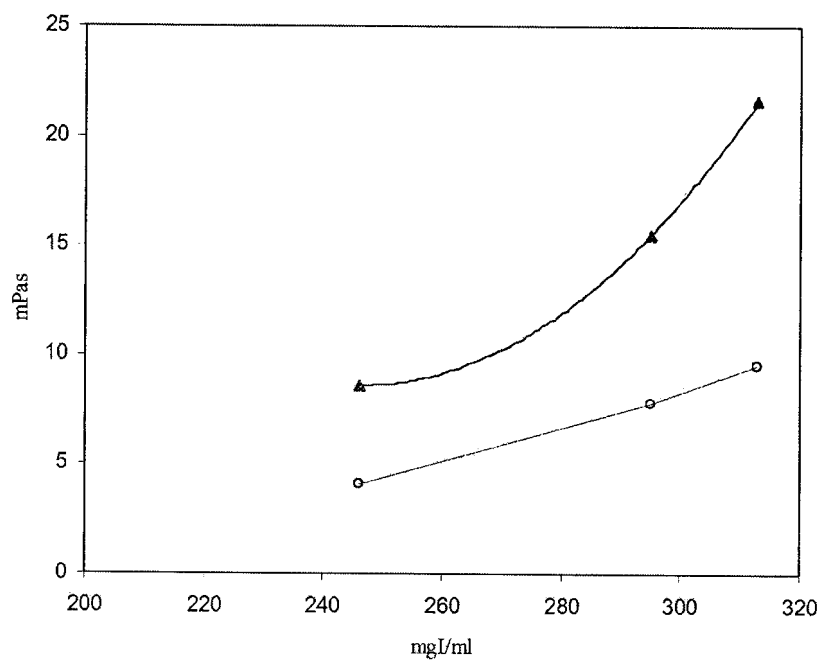


Figura 4 . La viscosidad del compuesto I a 20°C (▲) y 37 °C (○) contra la concentración.

Figura 4/5

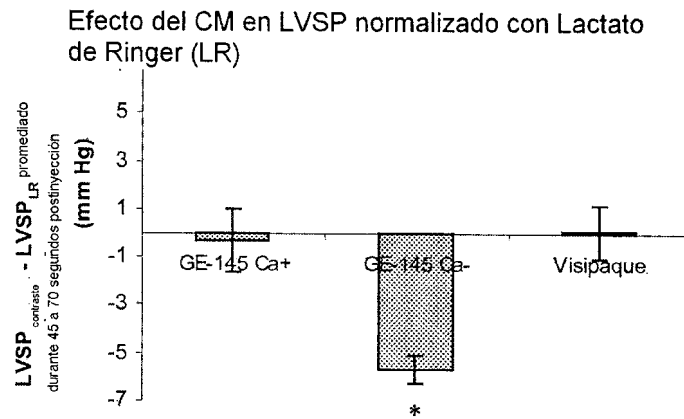
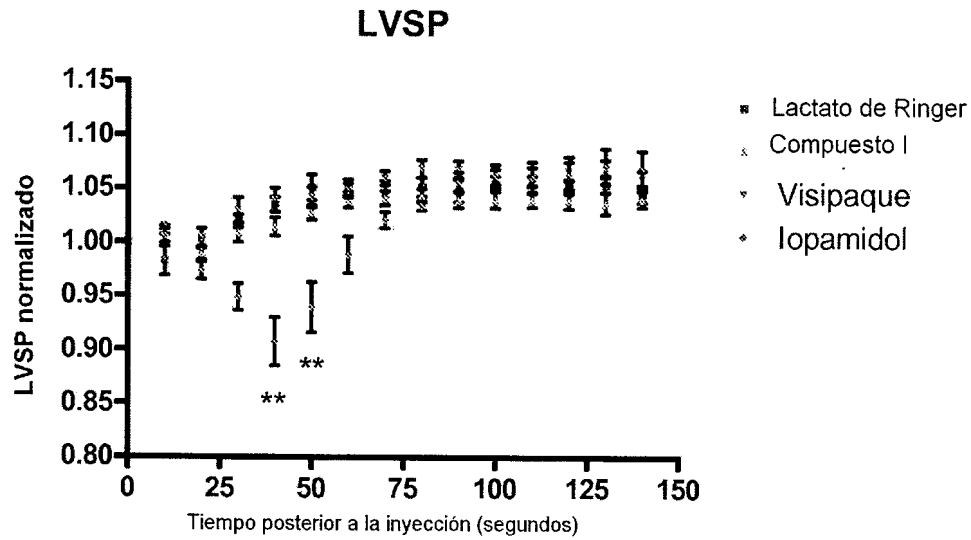


Figura 5. Efecto del Compuesto I (con o sin Ca agregado) y Visipaque en la LVSP 45 a 70 segundos desde el inicio de la inyección en la LAD de los cerdos normales normalizados con la inyección de Lactato de Ringer (LR). El volumen de inyección fue de 25 ml (0,4 ml/seg). "GE-145 Ca+" es una composición del compuesto I que contiene 45 mM de Na, 0,5 mM de Ca y "GE-145 Ca-" es una composición del compuesto I que contiene 45 mM de Na y no contiene Ca agregado. Promedio $\pm$ SEM. *Diferencia significativa de $p < 0,05$ con respecto a GE-145 Ca+ utilizando una prueba de Dunnett de dos colas.

Figura 5/5

a)



b)

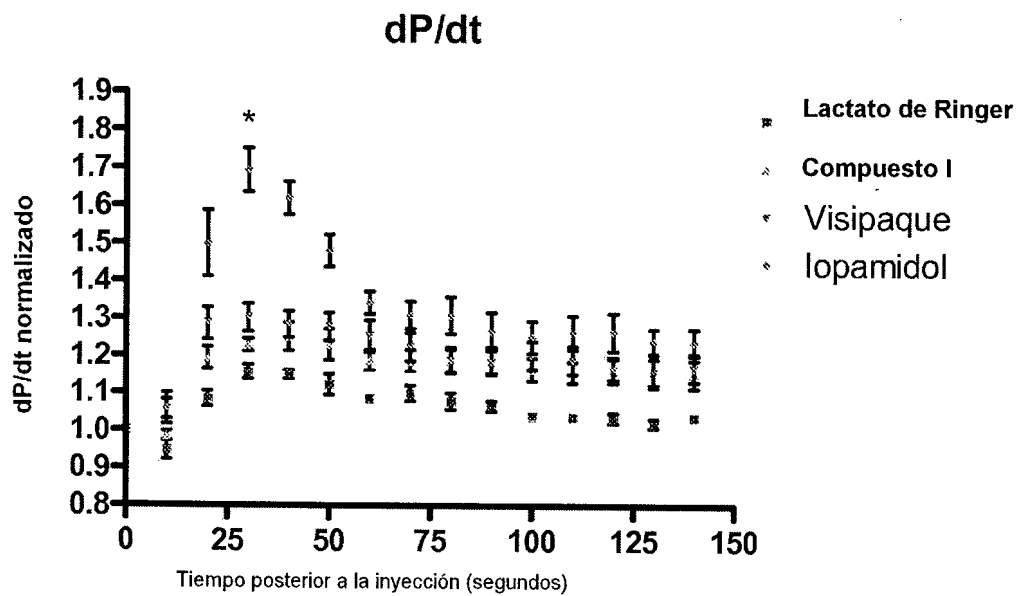


Figura 6. Efecto en los parámetros cardiovasculares después de la inyección de 40 ml (5 ml/seg) de Lactato de Ringer, Compuesto I, Visipaque o Iopamidol en la LAD de cerdos normales. a) Cambio en la LVSP normalizada con el inicio del tratamiento. b) Cambio en Dp/dt normaliza con el inicio del tratamiento. Promedio $\pm$ SD. * = diferencia significativa con respecto a Lactato de Ringer, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ utilizando ANOVA de dos vías con prueba post de Bonferroni.

000003

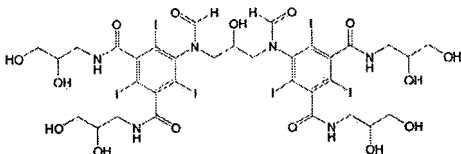
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS				
		PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____				
(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:				
(51) Clasificación Internacional:						
(71) Solicitante(s)		GE HEALTHCARE AS				
(72) Inventor(es)		WISTRAND LARSGÖRAN, THANING MIKKEL, NEWTON BEN				
(74) Apoderado:		DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO				
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33)	País
		09174413.6		29/10/2009		EP
(85) Fecha inicio fase nacional:					(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT					Fecha: 05/05/2011	
Fecha de presentación de la solicitud: 28/10/2010					N° publicación: WO 2011/051387 A1	
No. de solicitud PCT/EP2010/066351						
(54) Título: COMPOSICION DE DIAGNOSTICO QUE COMPRENDE CATIONES EN PLASMA CON UN PERFIL DE SEGURIDAD SUPERIOR						

	EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN ☐ Patente de Invención ☐ Patente modelo de utilidad ☒ PCT
---	---

(21) No. De solicitud	(51) Int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) GE HEALTHCARE AS
(30) Prioridad	(72) Interventor (es) WISTRAND LARSGÖRAN THANING MIKKEL NEWTON BEN
(31) No. Prioridad 09174413.6	
(32) Fecha 29/10/2009	
(33) País EP	(74) Apoderado (s) DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO
(54) Título COMPOSICION DE DIAGNOSTICO QUE COMPRENDE CATIONES EN PLASMA CON UN PERFIL DE SEGURIDAD SUPERIOR	
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT	
(85) Fecha limite inicio Fase Nacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud 28/10/2010 No. de solicitud PCT/EP2010/066351	(87) Publicación internacional Fecha 05/05/2011 No. Publicación WO 2011/051387 A1

Resumen reivindicación (es):

1. Una composición de diagnóstico que comprende un Compuesto I



Compuesto I

un portador farmacéuticamente aceptable,
y disuelto en el mismo un compuesto de sodio y un compuesto de calcio que proveen una concentración de iones en sodio de 40-50 mM y una concentración de iones en calcio de 0,1-0,7 mM.

2. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 42-47 mM.

3. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 44-46 mM.

4. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 que comprende un compuesto de sodio que provee una concentración de iones de sodio de 45 mM.

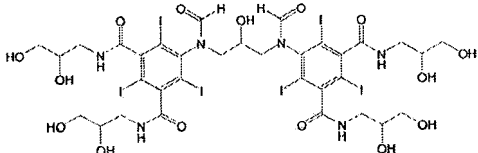
5. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,3-0,6 mM.

6. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,4-0,5 mM.

7. Una composición de diagnóstico según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que comprende un compuesto de calcio que provee una concentración de iones de calcio de 0,5 mM.

8. Una composición de diagnóstico según se reivindica en la reivindicación 1 en donde la relación entre la concentración de iones de sodio y la concentración de iones de calcio está entre 63 y 117.

9. Una composición de diagnóstico que comprende un compuesto I



Compuesto I

un portador farmacéuticamente aceptable; ...



No. 12-068011- -00000-0000

Fecha: 2012-04-25 14:59:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 99

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐
Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño.
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐