



⑫ A **Terinzagelegging** ⑪ **8400542**

Nederland

⑲ NL

-
- ⑤4 **Röntgencontrastmiddel, voor zodanige toepassing geschikte verbindingen en methode voor het diagnose-stellen onder toepassing van voornoemd middel.**
- ⑤1 Int.Cl.³: A61K 49/04.
- ⑦1 Aanvragers: Sun Tech, Inc. te Philadelphia, Pennsylvanië en Children's Hospital Medical Center te Cincinnati, Ohio, Ver. St. v. Am.
- ⑦4 Gem.: Ir. L.W. Kooy c.s.
Octrooibureau Vriesendorp & Gaade
Dr. Kuiperstraat 6
2514 BB 's-Gravenhage.

-
- ②1 Aanvraag Nr. 8400542.
- ②2 Ingediend 21 februari 1984.
- ③2 Voorrang vanaf 28 februari 1983.
- ③3 Land van voorrang: Ver. St. v. Am. (US).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 470343 .
- ⑥2 - -

-
- ④3 Ter inzage gelegd 17 september 1984.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Röntgencontrastmiddel, voor zodanige toepassing geschikte verbindingen en methode voor het diagnose-stellen onder toepassing van voornoemd middel.

De uitvinding heeft betrekking op perfluorbroomalkyl-ethers die als radioopake materialen geschikt zijn als röntgencontrastmiddel voor radiodiagnostiek bij mens en dier. Radioopake materialen zijn bijvoorbeeld geschikt voor het
5 diagnostiseren van kransslagaderafsluiting, beroerte en andere door afsluiting veroorzaakte stoornissen.

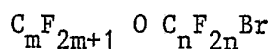
De toepassing van gebromeerde fluorkoolwaterstoffen zoals perfluorooctylbromide als radioopake materialen is beschreven in een artikel van D.M.Long, getiteld "Radiopaque
10 Application of Brominated Fluorocarbon Compounds in Experimental Animals and Human Subjects" en gepubliceerd in Biochemistry Involving Carbon-Fluorine Bonds, uitgegeven door Robert Filler, ACS Symposium Series No. 28, 1976 blz. 171-189.

In de Amerikaanse octrooischriften 3.778.381 en
15 3.453,333 zijn perfluorhalogeenalkylethers beschreven die verwant zijn met de etherverbindingen volgens de uitvinding.

Gevonden is dat perfluorbroomalkylethers bijvoorbeeld perfluor-1-broombutylisopropylether uitstekende radioopake materialen zijn. De ethers zijn bestendig tegen licht en
20 warmte en zijn ondoordringbaar voor röntgenstralen. Als röntgencontrastmiddel kunnen zij als zodanig worden toegepast of als waterige dispersies. Zij zijn betrekkelijk niet-toxisch en worden snel uitgewasemd zoals is aangetoond bij muizen. Perfluorverbindingen met een etherbinding worden
25 in het algemeen betrekkelijk lang in het reticuloendothelium-systeem (RES) vastgehouden. De perfluorbroomalkylethers volgens de uitvinding blijven niet achter in weefsels maar worden daarentegen snel door de huid en longen uitgewasemd.

8400542

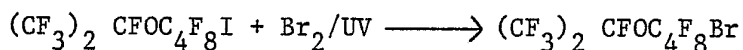
De perfluorbroomalkylethers volgens de uitvinding hebben de formule



5 waarin n en m elk onafhankelijk gehele getallen van 2 - 6 zijn. De ethers met dus 4 - 12 koolstofatomen kunnen recht of vertakt zijn. Zoals vermeld zijn zij RES-foob dat wil zeggen dat zij niet door het reticuloendotheliumstelsel worden vastgehouden maar het lichaam verlaten. Voorbeelden van ethers met de boven aangegeven formule omvatten:

- 10 F-1-broomethylether
- F-1-broomethylisopropylether
- F-1-broompropylisopropylether
- F-1-broombutylisopropylether
- F-1-broombutylether
- 15 F-1-broombutylpentylether
- F-1-broomhexylisopropylether.

De ethers volgens de uitvinding kunnen worden bereid uit overeenkomstige joodverbindingen. Perfluor-1-broombutylisopropylether bijvoorbeeld wordt gemakkelijk bereid uit
 20 perfluor-1-joodbutylisopropylether door uitwisseling van vrije halogeenradicalen met broom in UV (actinisch) licht volgens de reactievergelijking:



Bij deze reactie wordt de joodverbinding praktisch
 25 kwantitatief omgezet tot het gewenste bromide. Voor de bereiding van verschillende uitgangsjoodethers en andere methoden van omzetting tot de bromiden kan worden verwezen naar Amerikaanse octrooischriften 3.453.333, 3,470,256 en 3.547.861 en het artikel "Formation of Fluorinated Ethers in a Modified Halohydrin Reaction" in Journal of Organic
 30 Chemistry, Vol. 33, No. 5, mei 1968, blz. 1839-1844. De toepassing van $(CF_3)_2 CFOC_4 F_8 I$ voor het bereiden van andere ethers is beschreven in de Amerikaanse octrooischriften 3.790.607, 3.781.370 en 3.637.868.

8400542

De ethers verschillen enigszins in hun radio-
opaciteit; ethers met een hoge gewichtsverhouding broom en
koolstof vertonen een groter contrast. Ethers met een hoog
broomgehalte en minder koolstofatomen zijn minder kostbaar
5 om te bereiden. Maar de ethers met een laag koolstofgehalte
zoals perfluor-1-broomethylisopropylether, $(\text{CF}_3)_2\text{CFOC}_2\text{F}_4\text{Br}$,
hebben ook een hoge dampdruk en worden daarom sneller uitge-
wasemd. De keuze van een ether als radioopaak materiaal
voor een bepaalde toepassing is daarom afhankelijk van de
10 mate van contrast die vereist is, de verlangde snelheid waar-
mee de ether door het lichaam wordt afgegeven en, vanzelf-
sprekend, de toxiciteit van de ether voor het betreffende dier
(met inbegrip van de mens). Voor wat de toxiciteit betreft,
enige toxiciteit kan voor het dier verdraagbaar zijn; daarom
15 kan, hoewel een geheel niet-toxisch materiaal de voorkeur
heeft, een geringe mate van toxiciteit aanvaardbaar zijn
afhankelijk van de diersoort, de gezondheidstoestand van het
dier en andere overwegingen van farmacologische aard.

Omdat de perfluorbroomalkylethers ook goede zuurstof en
20 kooldioxydedragers zijn, kunnen zij als vervangingsmateriaal
voor bloed dienen in de vorm van waterige emulsies of dis-
persies, of kunnen zij met andere perfluorkoolstof bloed-
vervangingsmaterialen worden gemengd zoals beschreven in de
Amerikaanse octrooischriften 3.911.138 en 4.105.798 alsook
25 andere literatuur over bloedvervangingsmaterialen. Bovendien
zijn de ethers zeer mengbaar met of goede oplosmiddelen voor
perfluorkoolstof bloedvervangingsmaterialen (zoals die welke
zijn beschreven in voornoemde octrooischriften) zodat zij
als verdunningsmiddel of oplosmiddel voor andere perfluor-
30 koolstofbloedvervangingsmaterialen die normaal vast zijn,
kunnen worden gebruikt.

De ethers kunnen als zodanig of als waterige disper-
sies of emulsies worden toegepast. Waterige emulsies kunnen
van het olie-in-water of water-in-olie type zijn. Naarmate
35 het gehalte perfluorbroomalkylether hoger is, is de opaciteit

8400542

groter. Het gehalte water in de emulsies bedraagt in het algemeen ongeveer 10-90 vol.% en bij voorkeur 50-90 vol.%. Het gehalte perfluorbroomalkylether in waterige emulsies bedraagt in het algemeen ongeveer 5-95 vol.% en bij voorkeur 5-20 vol.%. Mengsels van verschillende ethers kunnen ook worden gebruikt. Verder bevatten waterige emulsies gewoonlijk ongeveer 0,5-10 gew.% en bij voorkeur 1-5 gew.% emulgator berekend op het watergehalte van de emulsie. De aard van de gebruikte emulgator is niet kritisch maar de emulgator dient op zich niet-toxisch te zijn althans de toxiciteit dient verdraagbaar te zijn; en verder dient er een betrekkelijk stabiele emulsie mee te kunnen worden gevormd. Voorkeursemulgatoren zijn die van het niet-ionogene type zoals dooierfosfolipide, een oppervlakteactieve stof waarvan bekend is dat deze onschadelijk is voor mensen. Verder zijn geschikt polyoxyethenen, polyoxypropenen en copolymeren daarvan, in de handel verkrijgbaar onder het merk Pluronic, alsook de gefluoreerde oppervlakteactieve stoffen welke zijn beschreven in de Amerikaanse octrooischriften 3.828.085 en 3,547.995.

De perfluorbroomalkylethercontrastmiddelen volgens de uitvinding kunnen voor verschillende radiodiagnostische doeleinden bij mens en dier worden toegepast. Onderwerpen van radiografische toepassing omvatten bijvoorbeeld gastroenterografie, alveolografie, bronchografie, lymfografie, ventriculomyelografie, splenografie, cholecystografie, pancreatografie, renale angiografie en retrograde urografie. Voor wat de toepassing voor renale angiografie betreft, de perfluorbroomalkylesters volgens de uitvinding, wanneer gebruikt als bijvoorbeeld emulsies, zijn uniek omdat zij niet in de urine worden uitgescheiden. Bovendien worden alle arteriae, arteriolae, venulae en venae van de nier zeer scherp gecontrasteerd. Men een gebruikelijk gejodeerd, in water oplosbaar contrastmiddel daarentegen vertoont het

8400542

röntgenogram een zware, zwarte, niervormige schaduw omdat het middel zo snel wordt uitgescheiden. En de bekende in water oplosbare contrastmiddelen voor lymphangiografie verkeren in de vorm van siropen die zeer moeilijk zijn te verdunnen
5 voor injectie met een dunne naald van 30 gauge (ongeveer 3 mm doorsnede). De perfluoralkylbroomalkylethercontrastmiddelen volgens de uitvinding gaan echter zeer vlot door een dergelijke naald hetgeen de diagnostiek vergemakkelijkt.

Als radioopaak materiaal kunnen de perfluorbroomalkyl-
10 ethers volgens de uitvinding hetzij als zodanig hetzij als waterige dispersies op verschillende manieren worden toege- diend. Geschikte methoden omvatten inslikken, injecteren en catheterisme. De gebruikte hoeveelheid kan aanzienlijk variëren afhankelijk van onder meer het gewicht van de mens of het dier
15 en het betreffende gebied waarvan een radiografie wordt gemaakt. Ook de intensiteit (of hoeveelheid) van de röntgenstralen kan de hoeveelheid te gebruiken ether beïnvloeden. Deze factoren worden normaal routinematig in overweging genomen bij het vaststellen van een doeltreffende hoeveelheid om een
20 bepaald gebied te onderzoeken.

De ether of etherdispersie dient isotoon of op andere wijze voor het bloed fysiologisch verdraagbaar gemaakt te worden alvorens in de bloedstroom te worden opgenomen, bij-
voorbeeld met zouten (zoals Ringeroplossing), buffermiddelen
25 (zoals natriumwaterstofcarbonaat) of andere gebruikelijke toevoegingen.

Voorbeeld

Perfluor-1-broombutylisopropylether, $(\text{CF}_3)_2\text{CFO C}_4\text{F}_8\text{Br}$, wordt in een opbrengst van 85% bereid door reactie van broom
30 met $(\text{CF}_3)_2\text{CFO C}_4\text{F}_8\text{I}$ in ultraviolet licht. Het produkt wordt ge- zuiverd met een Perkin-Elmer ringdestilleerapparaat en door preperatieve gaschromatografie, en wordt gekarakteriseerd door massaspectrometrie en infraroodspectroscopie. De ether heeft een kookpunt van 113-115°C/760 mm kwik en een dichtheid van
35 $1,861\text{g/cm}^3$ bij 24°C. Het gevonden molecuulairgewicht van 446

8400542

is gelijk aan het berekende molecuulgewicht.

De ether heeft een LD₅₀ van meer dan 100 ml/kg als een waterige emulsie die 10 vol.% ether en 90 vol.% 5 gew.% -ig Pluronic F68 bevat, en is derhalve betrekkelijk niet-giftig. Pluronic F68 is een oppervlakteactieve stof bestaande uit een polyoxyetheen-polyoxypropeencopolymeer met een molecuulgewicht van ongeveer 8200. De grenzen voor de toxiciteit zijn in onderstaande tabel A aangegeven.

10	Emulsie dosis, ml/kg	Tabel A Aantal levenden na		
		10 min.	1 uur	7 dagen
	100	3/4	3/4	3/4
	75	4/4	4/4	4/4
	50	4/4	4/4	4/4

15 Om de emulsiestabiliteit te bepalen wordt de boven beschreven ultrasoon bereide emulsie van de ether in een gesloten Pyrexbuis bewaard in een koelkast bij 2°C. De emulsiestabiliteit wordt bepaald door meting van de optische dichtheid vóór en enkele dagen na bewaren van de monsters met een Spectronic 20 apparaat in een cel van geschikte grootte. Uit vergelijking met emulsies die in plaats van perfluor-1-broombutylisopropylether, perfluordecaline of perfluortributylamine bevatten, blijkt dat de etheremulsie redelijk stabiel is. Van andere gebromeerde perfluorether-emulsies zou worden verwacht dat de stabiliteit varieert.

25 De uitwaseming wordt bepaald door een muis met de boven beschreven emulsie te injecteren en de muis in een geheel glazen kamer te brengen waar zuurstof met een snelheid van ongeveer 20 cm³/min. doorheen stroomt. Na 20 minuten worden zuurstofmonsters genomen met een micronaald en geanalyseerd door gaschromatografie over een SE-30 kolom en een elektroncapture detector. Door de detector te ijken met een standaard die is bereid uit de perfluorverbinding van de emulsie, kan de snelheid worden berekend waarmee de perfluor-35 verbinding door de huid en longen van de intacte, niet-ver-

8400542

doofde muis wordt afgegeven. Uit de bekende hoeveelheid waarmee de muis is geïnjecteerd en de snelheid waarmee deze in een bepaalde tijdsduur wordt afgegeven, kan de tijd worden berekend waarin de perfluorverbinding in zijn geheel zou zijn verdwenen.

Uit vergelijking van de resultaten met die van emulsies van bekende perfluorverbindingen (perfluordecaline en perfluorooctylbromide), uitgedrukt in de snelheid ($\mu\text{g}/\text{min.}$) waarmee de perfluorverbindingen door de muis worden afgegeven in 5, 10, 20, 30 en 40 weken, blijkt dat de perfluor-1-broombutylisopropylether met bijna dezelfde snelheid wordt afgegeven als perfluordecaline (waarvan bekend is dat het snel wordt afgegeven) hetgeen gewenst is.

De ophoping van de perfluor-1-broombutylisopropylether in lever en gal van muizen die met de boven beschreven ether-emulsie zijn geïnfundeed, wordt bepaald door rechtstreekse verbranding van lever- en galhomogenaten met natriumbifenyl, gevolgd door meting van het fluoride-ion met een elektrode. De resultaten voor een geïnfundeerde dosis van $100 \text{ cm}^3/\text{kg}$ zijn in onderstaande tabel B vermeld.

Tabel B
Natte verbrandingsanalyse van lever en gal

	Aantal dagen na infusie	Achtergebleven hoeveelheid, %		
		lever	gemiddeld	gal
25	7	15,85	16,3	4,77
		16,72		
	13	2,59 2,59	2,59	2,30
30	24	1,4	1,3	0,4
		1,2		

Uit de resultaten in tabel B blijkt dat de ether naar de lever en gal gaat maar na verloop van tijd daaruit verdwijnt.

Bij andere proeven worden weefselmonsters genomen van muizen waaraan de boven beschreven perfluor-1-broombutyliso-

8400542

propylether intraveneus is toegediend in doses van 100, 75 en 50 cm³/kg. De muizen worden 7, 13 en 24 dagen na de toediening gedood en monsters lever, gal en nier worden verwijderd, gefixeerd en gereed gemaakt voor ontleding. Ook
5 wordt een monster gal genomen van een muis 330 dagen na infusie. Sommige van deze weefsels worden ontleed en onderzocht. In de periode waarin de ether in grote hoeveelheden aanwezig is, laat microscopisch onderzoek weinig of geen mitose van hepatocyten zien maar wel enige celkern hyper-
10 trofie. Zo worden cellen met twee kernen waargenomen en in één geval zelfs 53% cellen met twee kernen. Hepatocytcytoplasma wordt door de perfluorbroomalkylether voor nog geen 1% bezet. Enige infiltratie van mononucleaire cellen wordt waargenomen en in het interstitium worden blast-
15 achtige cellen alsook fluorkoolstofdeeltjes aangetroffen. Het opnieuw in emulsie gaan van de grotere fluorkoolstofdeeltjes tot kleinere deeltjes, dat normaal aan hun verdwijning voorafgaat, is nagenoeg volkomen. Twee weken na infusie is de lever weer normaal behalve dat de perfluorbroomverbinding in
20 enkele fagocyten aanwezig is en hepatocytkernen er iets vergroot uitzien, maar overigens normaal.

De röntgencontrastwerking van de perfluor-1-broombutylisopropylether wordt aangetoond door de ether als zodanig te injecteren in de luchtpijp van een verdoofde rat via een
25 plastic buis met een schuin uiteinde. Uit de röntgenfoto's blijkt dat de ether een goed contrastmiddel is. Wanneer de boven beschreven emulsie van de ether intraveneus bij de muis wordt geïnjecteerd en twee dagen later röntgencontrastopnamen (straling van 50 KVA) worden gemaakt, zijn de lever
30 en gal duidelijk op de foto's te zien waaruit blijkt dat de ether in het reticuloendotheliumsysteem wordt afgezet. Daarmee is de doeltreffendheid van de ether als radioopaak materiaal afdoende aangetoond.

8400542

C o n c l u s i e s

1. Röntgencontrastmiddel voor het radioopaak maken van de inwendige mens of dier, met het kenmerk dat, het röntgencontrastmiddel bestaat uit een perfluorbroomalkylether met de formule



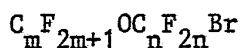
waarin m en n elk onafhankelijk gehele getallen zijn van 2 tot 6.

2. Röntgencontrastmiddel volgens conclusie 1, met het kenmerk dat, het röntgencontrastmiddel bestaat uit F-1-broombutylisopropylether.

3. Röntgencontrastmiddel volgens conclusies 1 en 2, met het kenmerk dat, de perfluorbroomalkylether in de vorm van een waterige dispersie verkeert.

4. Röntgencontrastmiddel volgens conclusie 3, met het kenmerk dat, de waterige dispersie ongeveer 5 - 20 vol.% perfluorbroomalkylether, ongeveer 50 - 90 vol.% water, en ongeveer 0,5 - 10 gew.% dispergeermiddel berekend op het watergehalte, bevat.

5. Methode voor het radiografisch doorlichten van de inwendige mens of dier onder toepassing van een radioopaak materiaal, met het kenmerk dat, als radioopaak materiaal wordt toegepast een perfluorbroomalkylether met de formule



25 waarin m en n elk onafhankelijk gehele getallen zijn van 2 tot 6.

6. Methode volgens conclusie 5, met het kenmerk dat, als radioopaak materiaal wordt toegepast een perfluorbroomalkylether met de in conclusie 5 weergegeven formule waarin m en n elk onafhankelijk gehele getallen van 2 tot 4 zijn.

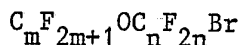
30 7. Methode volgens conclusie 6, met het kenmerk dat, als radioopaak materiaal wordt toegepast F-1-broombutylisopropylether.

8400542

8. Methode volgens conclusies 5 - 7, met het kenmerk dat, als radioopaak materiaal wordt toegepast een waterige dispersie van de perfluorbroomalkylether.

5 9. Methode volgens conclusie 8, met het kenmerk dat, de waterige dispersie ongeveer 5 - 20 vol.% perfluorbroomalkylether, ongeveer 50-90 vol.% water, en ongeveer 0,5-10 gew.% disperseermiddel berekend op het watergehalte, bevat.

10. Perfluorbroomalkylether met de formule



10 waarin m en n elk onafhankelijk gehele getallen van 2 tot 6 zijn.

11. F-1-Broombutylisopropylether.

12. Röntgencontrastmiddelen, perfluorbroomalkylethers en radiodiagnostieken zoals beschreven in de beschrijving en
15 het voorbeeld.

8400542