



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 079 176**

51 Int. Cl.:
A61K 49/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA

T5

86 Número de solicitud europea: **92901804 .2**

86 Fecha de presentación : **04.01.1992**

87 Número de publicación de la solicitud: **0566601**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **27.10.1993**

54 Título: **Agente de contraste para ecografía.**

30 Prioridad: **09.01.1991 DE 4100470**

45 Fecha de publicación de la mención y de la traducción de patente europea: **01.01.1996**

45 Fecha de la publicación de la mención de la patente europea modificada BOPI: **16.10.2007**

45 Fecha de publicación de la traducción de patente europea modificada: **16.10.2007**

73 Titular/es: **ALTANA Pharma AG.**
Byk-Gulden-Strasse 2
78467 Konstanz, DE

72 Inventor/es: **Beller, Klaus-Dieter y**
Linder, Rudolf

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 079 176 T5

DESCRIPCIÓN

Agente de contraste para ecografía.

5 Sector técnico

El invento se refiere a un preparado acuoso destinado a la recepción y la estabilización de microburbujas gaseosas, para su utilización como agente de contraste para ecografía.

10 Estado de la técnica

Puesto que los ultrasonidos son intensamente reflejados por las burbujitas gaseosas suspendidas en líquidos, ya en época temprana se propusieron, como agentes de contraste para el diagnóstico por ultrasonidos, unos preparados que contenían microburbujitas gaseosas estabilizadas. Las microburbujitas gaseosas se pueden estabilizar en preparados acuosos mediante disminución de la tensión superficial, es decir por adición de agentes tensioactivos apropiados.

En el documento de patente europea EP-B-0.077.752 se indica que las soluciones acuosas, que contienen un agente tensioactivo, o una mezcla de agentes tensioactivos y adicionalmente una sustancia acrecentadora de la viscosidad, poseen ventajosas propiedades generadoras de contraste. Como agentes tensioactivos que entran en cuestión se indican, entre otros, lecitinas y fracciones de lecitinas no ionógenas así como polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno). En los seis Ejemplos de preparación del mencionado documento EP-B-0.077.752 se presentan unos preparados que, como agente tensioactivo, contienen en cada caso un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) y, como sustancia acrecentadora de la viscosidad, glucosa o dextrano o el propio polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno). Un repaso de los Ejemplos de preparación ha puesto de manifiesto que el efecto de contraste no es satisfactorio. Así, los preparados del ya señalado documento EP-B-0.077.752 no son apropiados para representaciones de la parte izquierda del corazón. En el documento EP-A-0.318.081 se propone estabilizar soluciones acuosas de anticuerpos mediante adición de polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) y fosfolípidos.

Se ha descubierto ahora, con sorpresa, que los preparados acuosos que, además de polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno), contienen fosfolípidos cargados negativamente, se adecuan de manera sobresaliente para la recepción y la estabilización de microburbujitas gaseosas.

Descripción del invento

Son objeto del invento, por lo tanto, preparados destinados a la recepción y la estabilización de microburbujitas gaseosas para su utilización como agentes de contraste de ecografía, que contienen unos polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) y unos fosfolípidos cargados negativamente, con excepción de unas soluciones acuosas de anticuerpos que contienen polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) y fosfolípidos, y con excepción de unas soluciones acuosas que contienen 0,23% (peso/volumen) de polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno).

Otros objetos se ponen de manifiesto a partir de las reivindicaciones.

Como polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) se prefieren los que tienen un peso molecular medio de 8.350 a 14.000. Los polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) se designan también como "poloxámeros" y son obtenibles en el comercio, p.ej. bajo la marca registrada Pluronic® (de Wyandotte Chemicals Corp.). Los preparados conformes al invento contienen de 0,1 a 10%, preferiblemente de 1 a 5%, de un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno). Los fosfolípidos cargados negativamente están contenidos en una proporción de 0,01 a 5%, preferiblemente de 0,5 a 2%. Los datos porcentuales se refieren en cada caso a peso/volumen.

Como fosfolípidos cargados negativamente entran en cuestión fosfatidil-glicerol, fosfatidil-inositol, fosfatidil-etanolaminas y fosfatidil-serinas y lisoformas. Como lisoformas de los fosfolípidos cargados negativamente se entienden los fosfolípidos cargados negativamente, que sólo contienen un radical acilo. Son preferidas las lisoformas de los fosfolípidos cargados negativamente, en las cuales el grupo acilo está unido al oxígeno del átomo de carbono 1 de la molécula de glicerol. Los fosfolípidos cargados negativamente, que se manifiestan especialmente preferidos, son dipalmitoil-fosfatidil-glicerol (DPPG) y diestearoil-fosfatidil-glicerol (DSPG), siendo muy especialmente preferido el diestearoil-fosfatidil-glicerol (DSPG).

Los preparados de acuerdo con el invento se distinguen con respecto de los del estado de la técnica porque se pueden producir, con pequeño gasto o consumo mecánico, agentes de contraste para ecografía que contienen microburbujitas gaseosas, los cuales, a causa de su gran estabilidad, generan un contraste largamente persistente y se adecuan excelentemente también para la representación de la parte izquierda del corazón. Hay que resaltar especialmente que los preparados conformes al invento se adecuan excelentemente para la representación de estructuras superficiales interiores, ya que aparentemente las microburbujitas gaseosas se adhieren bien a las superficies y de este modo, incluso después de haber separado por lavado o barrido las microburbujitas gaseosas que se encuentran en el ánima o lumen de los recipientes, generan un contraste rico en resolución. Con ello es por ejemplo posible representar con mayor claridad la dinámica del corazón, incluso después de haber eliminado por lavado el agente de contraste.

ES 2 079 176 T5

La producción de los preparados conformes al invento carece de problemas y puede efectuarse incorporando en agua los componentes individuales, en común o consecutivamente, y en caso necesario disolviéndolos mediante calentamiento y agitación. En caso deseado, se puede además esterilizar, por ejemplo por esterilización en caliente.

5 Se han manifestado como especialmente bien adecuados para el ajuste de la isotonía de los preparados conformes al invento, glicerol, manita y sales de amonio de aminoácidos, preferiblemente glicina.

La generación de las microburbujitas gaseosas se efectúa convenientemente tan sólo poco antes de la administración a los pacientes que han de ser investigados, y se lleva a cabo de un modo en sí conocido. Sí p.ej. el preparado de acuerdo al invento se pone a disposición en un frasco con punción a través del tapón, la solución, conjuntamente con la cantidad deseada de aire, se puede introducir en una jeringa usual e inyectar nuevamente con la presión más alta que sea posible, a través de una estrecha cánula, en el frasco con punción a través del tapón. En caso necesario, se repiten varias veces las operaciones de introducción y de retirada con la jeringa. Alternativamente, los preparados conformes al invento se pueden comprimir en vaivén entre dos jeringas a través de una pieza de comunicación con estrecha sección transversal o de una cámara mezcladora conectada entre ambas jeringas. El procedimiento mencionado en último conduce a imágenes de ultrasonidos especialmente informativas, aumentándose al mismo tiempo la productividad.

Como gases para la generación de las microburbujitas gaseosas entran en cuestión todos los gases fisiológicamente compatibles. Los preparados conformes al invento son espumados, por cada porción de 1 ml, con 0,01 a 0,1 ml, preferiblemente con 0,04 hasta 0,06 ml de gas. Éstos, después de haberse generado las microburbujitas gaseosas, se administran preferiblemente por vía intravenosa. Dependiendo de la finalidad de utilización se administran de 1 a 20 ml, preferiblemente de 2 a 8 ml, y de modo especialmente preferido 5 ml de los preparados conformes al invento.

Hay que resaltar especialmente que los preparados conformes al invento, a causa de su productividad, aumentada con respecto a la del estado de la técnica, se pueden dosificar en proporciones más bajas.

Ejemplos

1. Se incorporan 3,0 g de un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) con un peso molecular medio de 8.400 (Pluronic® F68), 1,0 g de dipalmitoil-fosfatidil-glicerol (DPPG) y 3,6 g de glicerol en 80 ml de agua. Se calienta aproximadamente a 80°C y se agita hasta que haya tenido lugar una disolución completa. Después del enfriamiento, se completa hasta 100 ml con agua destilada.

2. Se procede igual que en el Ejemplo 1, con la diferencia de que, en lugar de DPPG, se utiliza 1,0 g de fosfatidil-glicerol de soja (entidad Lucas Meyer, Hamburg).

3. En 80 ml de agua se incorporan 1,1 g de glicina. Con amoníaco diluido se ajusta un pH de 6 a 7. En la solución se introducen 3,0 g de un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) con un peso molecular medio de 8.400 (Pluronic® F68) y 1,0 g de DPPG. Se calienta a aproximadamente 80°C y se agita hasta que haya tenido lugar una disolución completa. Después del enfriamiento, se completa con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

4. Se procede igual que en el Ejemplo 3, con la diferencia de que, en lugar de DPPG, se utiliza 1,0 g de fosfatidil-glicerol de soja (entidad Lucas Meyer).

5. En 80 ml de agua se incorporan 4,0 g de un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) (Poloxamer 188, Pluronic 768), 1,0 g de diestearoil-fosfatidil-glicerol y 5,4 g de manita. Se calienta a aproximadamente 80°C y se agita hasta la disolución total. Después del enfriamiento, se completa con agua destilada hasta un volumen de 100 ml.

Experimentos comparativos

Las investigaciones se llevaron a cabo en perros Beagle (sabuesos pequeños) machos despiertos (con un peso corporal de 18,2-30,5 kg). A los perros se les aplicaron en cada caso 5 ml por vía i. v. (intravenosa) de los preparados de agentes de contraste seguidamente descritos:

A: Una solución de infusión que por cada 1.000 ml contiene 35 g de polipéptidos reticulados para reemplazar al plasma (Haemaccel® de la entidad Behringwerke).

B: Echovist® (agente de contraste para ecografía de la entidad Schering).

C: Una solución acuosa que contiene 4% en peso del Poloxamer 188 (Pluronic® F68) y 4% en peso de glucosa (Ejemplo 1 en el documento EP-0.077.752).

D: Una solución acuosa que contiene 2% en peso de un poloxámero y 4% en peso de glucosa (Ejemplo 2 en el documento EP-0.077.752).

ES 2 079 176 T5

E: Una solución acuosa que contiene 1% en peso de un poloxámero y 4% en peso de glucosa (Ejemplo 3 en el documento EP-0.077.752).

F: Preparado conforme al invento según el Ejemplo 5.

5 Las soluciones A, C, D, E y F se introducen, libres de aire, dentro de una primera jeringa. Esta jeringa es luego conectada con el extremo libre de una cámara mezcladora, que contiene 0,18 ml de aire, fijamente unida con una segunda jeringa. Inmediatamente antes de la aplicación, las soluciones son bombeadas cinco veces desde la primera jeringa, pasando a través de la cámara mezcladora, dentro de la segunda jeringa, y luego de nuevo en la dirección
10 inversa.

El agente de contraste B usual en el comercio es preparado según las instrucciones que aparecen en el suplemento del envase.

15 Las fotografías ecocardiográficas por ultrasonidos se llevaron a cabo con un aparato de ultrasonidos Sonoscope 4 con cabeza mecánica a 3,5 MHz. Las videoimpresiones de las imágenes de ultrasonidos obtenidas se evaluaron densitométricamente en lo referente a la intensidad del contraste. El densitómetro utilizado (Gretag D182) determina las modificaciones de luminosidad (brighness) en 100 graduaciones en un margen de 0,00 hasta 2,50 unidades de densidad (density units). La calibración se efectúa con ayuda de la tarjeta de calibración puesta a disposición por el
20 fabricante según la norma DIN 16536 (calibration reference), asociándose con el blanco más luminoso el valor 1,64 y con el negro más oscuro el valor 0,00. El promedio de cuatro determinaciones individuales sobre una superficie de 1 cm x 1 cm proporciona el valor para cada animal correspondiente al preparado aplicado.

Los resultados obtenidos se reproducen en la siguiente tabla:

25

5 ml	Ventrículo derecho			Ventrículo izquierdo		
	Contraste	Intensidad		Contraste	Intensidad	
		max	10 s		max	10 s
A	si	1,18	0,86	no	0,00	0,00
B	si	1,09	0,65	no	0,00	0,00
C	si	1,20	0,78	no	0,00	0,00
D	si	1,23	0,87	no	0,00	0,00
E	si	1,22	0,93	no	0,00	0,00
F	si	1,19	0,82	si	0,78	0,72
Intensidad en unidades de densidad (DU)						

50

A partir de los resultados se pone de manifiesto que los agentes de contraste para ecografía conformes al invento pueden pasar por los pulmones, en contraposición con los agentes de contraste de ecografía según el estado de la técnica, y por lo tanto son excelentemente apropiados para el diagnóstico de la parte izquierda del corazón. La aplicabilidad de la formación de imágenes de ultrasonidos en el diagnóstico del corazón se amplía considerablemente mediante los agentes de contraste para ecografía conformes al invento.

55

Además de ello, se descubrió que las microburbujitas de los agentes de contraste conformes al invento tienen aparentemente una considerable afinidad con las superficies interiores de vasos y cavidades vacías del cuerpo. Esto tiene como consecuencia que los contornos de vasos y cavidades vacías se representan muchísimo mejor y por lo tanto más informativamente que lo que era posible con los agentes de contraste de acuerdo con el estado de la técnica. Resulta especialmente ventajoso en el presente caso que esta representación muy mejorada de las superficies de los vasos y de las cavidades vacías se conserva también todavía cuando el lumen del vaso o de la cavidad vacía ya está exento del agente de contraste para ecografía. Esta sorprendente formación de contraste de superficies se puede aprovechar por ejemplo para la observación del endocardio.

60

65

ES 2 079 176 T5

En las Figuras 1 y 2 se representa el resultado de un experimento para la demostración documental de este nuevo modo de formación de contraste de estructuras superficiales.

5 La Figura 1 muestra el cuadro ecocardiográfico del endocardio de un perro Beagle despierto en la denominada vía con cuatro cámaras, inmediatamente antes de aparecer el primer contraste después de la administración de 1 ml de agente de contraste para ecografía según el Ejemplo 1.

10 La Figura 2 muestra en endocardio del animal después de que el agente de contraste de ecografía ya hubiera sido de nuevo separado por lavado desde el corazón.

15 A partir de la comparación de ambas figuras se pone de manifiesto que con los agentes de contraste para ecografía conforme al invento es posible una inesperada representación en dibujo del endocardio, que significa una elevada ganancia de información para finalidades de diagnóstico.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para la producción de preparados acuosos para la recepción y la estabilización de microburbujitas gaseosas destinadas a utilizarse como agentes de contraste de ecografía, con excepción de unas soluciones acuosas de anticuerpos o de fisostigmina, que contienen polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) y fosfolípidos, **carac-**
terizado porque se disuelven en agua polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) en una cantidad diferente de 0,23% (peso/volumen) y fosfolípidos cargados negativamente.

10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque se utilizan unos polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) con un peso molecular medio de 8.350 hasta 14.000.

15 3. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque los polímeros de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) se disuelven en una proporción de 1 a 5% (peso/volumen).

20 4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque como fosfolípidos cargados negativamente se utilizan fosfatidil-gliceroles, fosfatidil-inositoles, fosfatidil-etanolaminas y/o fosfatidil-serinas.

25 5. Procedimiento según la reivindicación 4, **caracterizado** porque como fosfolípido cargado negativamente se utiliza diestearoil-fosfatidil-glicerol.

30 6. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el fosfolípido cargado negativamente se disuelve en una proporción de 0,01 a 5% (peso/volumen).

35 7. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque se disuelven 3% (peso/volumen) de un polímero de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno) con un peso molecular medio de 8.400 y 1% (peso/volumen) de diestearoil-fosfatidil-glicerol.

40 8. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el o los fosfolípido(s) cargado(s) negativamente se utilizan como una lisoforma.

45 9. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado** porque adicionalmente se disuelven en agua las sustancias coadyuvantes usuales para conseguir la isotonía.

50

55

60

65

Fig. 1

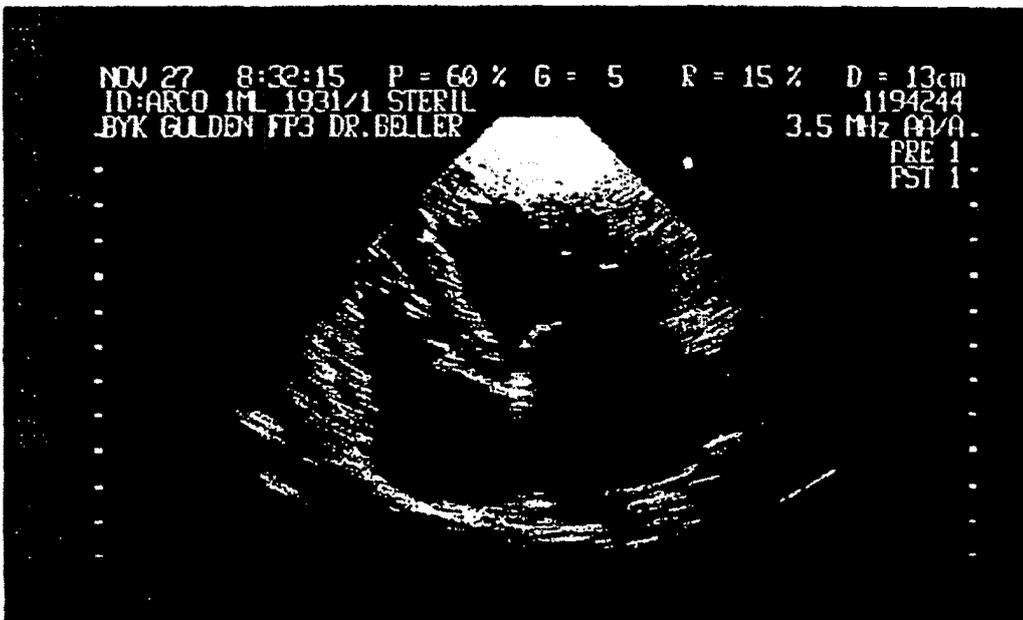


Fig. 2