

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 541 580

②1 N° d'enregistrement national : **84 02827**

⑤1 Int Cl³ : A 61 K 49/04.

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 24 février 1984.

③0 Priorité : US, 28 février 1983, n° 470 343.

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 35 du 31 août 1984.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦1 Demandeur(s) : Société dite : SUN TECH, INC. et CHIL-
DREN'S HOSPITAL MEDICAL CENTER. — US.

⑦2 Inventeur(s) : Christ Tamborski et Leland C. Clark Jr.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : Armand Kohn.

⑤4 Nouveau produit de contraste pour radiologie, à base de composés organiques fluoro-bromés.

⑤7 Nouveau produit de contraste, constitué par un ou plu-
sieurs éthers de composés aliphatiques perfluorés, bromés,
dont chaque groupe relié à l'oxygène est en C₂ à C₆. Le
produit est tel quel ou en dispersion aqueuse.

FR 2 541 580 - A1

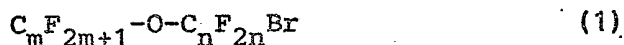
La présente invention concerne un nouveau produit de contraste pour la radiologie, notamment un composé organique perfluoré, bromé. Elle comprend également des compositions renfermant ce produit. Le produit et la composition suivant l'invention conviennent à divers emplois radiologiques, et en particulier à l'examen des artères coronaires dans le cas de l'infarctus, de l'ictus ou dans d'autres maladies occlusives.

L'utilisation, comme substances radioopacifiantes, de fluorocarbures bromés, comme le bromure de perfluorooctyle, a été mentionnée par D.M. Long et coll. dans un article intitulé "Applications radioopacifiantes de composés de fluorocarbure bromé chez l'homme et les animaux d'expérimentation", paru dans Biochemistry Involving Carbon-fluorine Bonds, édité par Robert Filler, ACS Symposium Series N° 28, 1976, pages 171-189. Cependant un tel produit de contraste laisse à désirer et ses propriétés biologiques ne sont pas assez satisfaisantes. On connaît d'autre part les dangers des produits de contraste iodés, notamment les troubles digestifs ou rénaux, et les réactions d'intolérance qu'ils peuvent provoquer. Il existait donc un besoin de bon produit de contraste pouvant être introduit dans différentes parties de l'organisme sans inconvénient, en vue de l'obtention de radiographies nettes et précises. Cette solution est apportée par la présente invention.

La présente invention est basée sur la constatation que certains éthers perfluorobromoalkyliques sont d'excellentes substances radioopacifiantes. Ces éthers sont stables à la lumière et à la chaleur, et sont opaques aux rayons-X. Ils peuvent être utilisés tels quels ou en dispersions aqueuses, sont suffisamment non toxiques, et leur élimination chez les souris s'effectue avec une bonne vitesse. En général, les produits chimiques perfluorés, ayant une liaison éther, ont tendance à être retenus longtemps

dans le système réticuloendothélial (SRE) des animaux. Cependant, de façon inattendue, les éthers selon l'invention transitent rapidement à travers les poumons, ce qui indique qu'ils ne sont pas retenus dans les tissus comme
 5 les autres éthers.

Les éthers perfluorobromoalkyliques, formant les produits de contraste, selon l'invention, sont caractérisés par la formule (1) :



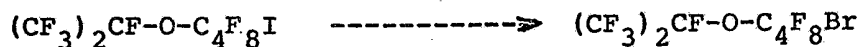
10 dans laquelle m et n, indépendamment, sont des nombres entiers de 2 à 6. Ainsi, ces éthers peuvent-ils renfermer de 4 à 12 atomes de carbone, sous forme de groupes alkyle à chaîne linéaire ou ramifiée. Ces éthers sont SRE-phobes, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas retenus par le système
 15 réticuloendothélial du corps ou sont rapidement éliminés par ce système.

A titre d'exemples non limitatifs, font partie de l'invention, les oxydes perfluorés de formule (1) suivants :

20 oxyde de bromo-1 éthyle et d'éthyle (ou pentafluoroéthoxy bromo-1 tétrafluoroéthane), oxyde de bromo-1 éthyle et d'isopropyle (ou heptafluoroisopropoxy bromo-1 tétrafluoroéthane), oxyde de bromo-1 propyle et d'isopropyle (ou heptafluoroisopropoxy bromo-1 hexafluoropropane), oxyde de
 25 bromo-1 butyle et d'isopropyle (ou heptafluoroisopropoxy bromo-1 octafluorobutane), oxyde d'éthyle et de bromo-1 butyle (ou pentafluoroéthoxy bromo-1 octafluorobutane), oxyde de bromo-1 butyle et de pentyle (ou undécafluoropentoxy bromo-1 octafluorobutane), oxyde de bromo-1 hexyle et
 30 d'isopropyle (ou heptafluoroisopropoxy bromo-1 dodécafluorohexane).

Généralement, l'éther peut être préparé à partir d'un iodure précurseur. Par exemple, l'heptafluoroisopropoxy bromo-1 octafluorobutane est facilement préparé à partir
 35 de l'heptafluoroisopropoxy iodo-1 octafluorobutane, par é-

change d'un radical libre d'halogène avec du brome, en présence de lumière ultraviolette (actinique), comme suit:



5 Cette réaction donne lieu à une conversion pratiquement quantitative, du composé iodé en bromure voulu. La préparation de différents précurseurs iodure d'éther et d'autres procédés de conversion en bromures sont décrits par exemple dans les brevets américains N° 3 453 333,

10 3 470 256 et 3 547 861, et dans "Formation d'éthers fluorés par réaction d'halogénhydrine modifiée", Journal of Organic Chemistry, Vol. 33, N°5, Mai 1968, pages 1839-1844. L'utilisation de $(\text{CF}_3)_2\text{CF-O-C}_4\text{F}_8\text{I}$, pour la préparation d'autres éthers, est décrite dans les brevets U.S.

15 N° 3 790 607 et 3 637 868.

D'autre part, les brevets américains N° 3778381 de Rosano et coll. et N° 3 453 333 de Litt et coll. décrivent des éthers perfluorohalogénoalkyliques, apparentés aux éthers selon l'invention.

20 La radioopacité varie quelque peu selon les éthers ; ceux qui présentent un rapport pondéral brome/carbone, supérieur, donnent un contraste plus marqué. Les éthers ayant une teneur brome supérieure et peu d'atomes de carbone, notamment m et n de 2 à 4, sont moins coûteux
25 à synthétiser. D'autre part, les éthers à teneur inférieure en carbone, comme par exemple heptafluoroisopropoxy bromo-1 tétrafluoroéthane, ^{ont} également des pressions de vapeur supérieures, raison pour laquelle ils s'éliminent plus rapidement chez l'animal. En conséquence, le choix
30 d'un éther en vue de son utilisation pour une application particulière comme produit de contraste, dépend du contraste souhaité, de la rapidité avec laquelle il doit être éliminé du corps et, naturellement, de sa toxicité. En ce qui concerne cette dernière, elle ne doit pas dépasser celle
35 qui peut être tolérée par l'organisme donné : par suite,

bien qu'une substance non toxique soit préférable, on peut accepter un faible niveau de toxicité selon l'espèce de l'animal, son état de santé, et d'autres considérations de nature pharmacologique.

5 Comme ces éthers perfluorobromoalkyliques sont également de bons véhicules de l'oxygène et du dioxyde de carbone, ils peuvent - lorsqu'ils sont convenablement émulsionnés ou dispersés dans un milieu aqueux - servir de substituant du sang, ou bien être mélangés avec d'autres
10 substituants du sang perfluorocarbonés, de la manière décrite dans les brevets U.S. n° 3 911 138 et 4 105 798 et dans d'autres publications. De plus, les produits suivant l'invention sont très miscibles avec ces substituants perfluorocarbonés du sang et constituent de bons solvants
15 pour ces composés, ils peuvent donc être utilisés comme diluants, ou comme solvants pour de tels composés qui sont normalement solides.

Les éthers selon l'invention peuvent être utilisés tels quels ou en mélange avec de l'eau, sous forme de
20 dispersions aqueuses, notamment des émulsions. Il peut s'agir d'émulsions aqueuses du type huile-dans-l'eau ou du type eau-dans-l'huile. Plus est forte la quantité d'éther perfluorobromoalkylique, plus l'opacité est grande. Les émulsions peuvent renfermer de l'eau à raison de 10%
25 à 90% en volume, de préférence de 50 à 90%, et l'éther perfluorobromoalkylique peut représenter jusqu'à 95% en volume, mais pas moins de 5%, du volume de l'émulsion, la préférence allant pour l'intervalle de 5 à 20% en volume. Il est souvent avantageux de se servir de mélanges de plu-
30 sieurs éthers différents.

Normalement, l'émulsion renferme environ 0,5-10% en poids, de préférence 1 à 5% en poids, d'un émulsifiant, rapporté à la teneur en eau de l'émulsion. Le choix du tensioactif n'est pas critique, mais il doit être en soi
35 non toxique, ou sa toxicité doit pouvoir être tolérée, et

il doit former une émulsion assez stable. Les émulsifiants préférés sont de types non ioniques, comme les phospholipides du jaune d'oeuf, un produit tensio-actif connu pour être sans danger pour l'homme. Conviennent également des
5 polyoxyéthylènes, polyoxypropylènes, ainsi que leurs copolymères, disponibles dans le commerce, par exemple sous le nom de "Pluronic", et des tensio-actifs fluorés, décrits dans les brevets U.S. N° 3 828 085 et 3 547 995, en particulier en vue de la mise de la composition sous la
10 forme d'une microémulsion.

Les agents de contraste éthers perfluorobromo-alkyliques, selon l'invention, peuvent être utilisés dans de nombreuses applications de radiographie, dans un but de diagnostic médical et vétérinaire. Ils s'avèrent
15 utiles, par exemple, pour les gastroentérographies, alvéolographies, bronchographies, lymphographies, ventriculomyélographies, splénographies, cholécystographies, pancréatographies, angiographies rénales et urographies rétrogrades. En ce qui concerne en particulier l'angiogra-
20 phie rénale, les bromoéthers selon l'invention, utilisés par exemple sous forme d'émulsions, sont remarquables car ils ne sont pas excrétés dans l'urine. En outre, toutes les artères, artérioles, veinules et veines du rein ressortent très nettement. Par contre, une radiographie réa-
25 lisée avec un agent de contraste iodé, hydrosoluble, classique, donne une silhouette en forme de rein d'un noir massif, car l'agent est excrété trop rapidement. Dans le cas de la lymphangiographie, les agents de contraste hydrosolubles, connus, sont sirupeux, d'où grande difficulté
30 pour les administrer à l'aide d'une aiguille ténue de calibre 30. Par contre, le produit de contraste selon l'invention passe très facilement par une telle aiguille, ce qui facilite le mode opératoire pour le diagnostic.

L'éther selon l'invention, ou sa dispersion,
35 doit être rendu isotonique, ou autrement physiologiquement

acceptable par le sang, avant son introduction dans le courant sanguin ; cela est réalisé par les compositions suivant l'invention qui contiennent des sels, par exemple solution de Ringer, d'agents tampon, comme NaHCO_3 , ou
 5 d'autres additifs communément utilisés dans ce but. Ainsi peut-il y avoir intérêt à incorporer aux produits de contraste suivant l'invention des modificateurs de viscosité, des stabilisants, des antigels, diluants, etc.; de tels additifs sont, par exemple, la glycérine, le diméthyl-
 10 sulfoxyde, diverses gélatines, des polyols, en particulier sorbitol, et autres.

Les exemples suivants donnent une illustration non limitative de la présente invention.

EXEMPLE 1

15 L'heptafluoroisopropoxy bromo-1 octafluorobutane, $(\text{CF}_3)_2\text{CF}-\text{O}-\text{C}_4\text{F}_8\text{Br}$ est préparé avec un rendement de 85%, par réaction du brome avec $(\text{CF}_3)_2\text{CF}-\text{O}-\text{C}_4\text{F}_8\text{I}$, en présence de lumière ultraviolette. Ce produit est purifié dans un alambic annulaire de Perkin-Elmer et par chroma-
 20 tographie gazeuse ; il est caractérisé par spectrométrie de masse et spectroscopie infrarouge. Son point d'ébullition est de $113^\circ\text{--}115^\circ\text{C}$ à 760 torr, et sa densité à 24°C est de 1,861. Poids moléculaire : 446 (calculé et trouvé). La DL_{50} de cet éther est supérieure à 100 ml/kg, sous
 25 forme d'émulsion renfermant 10% en volume d'éther et 90% en volume d'eau renfermant en poids 5% de tensio-actif Pluronic F68 ; il est donc relativement non toxique. Le Pluronic F68 est un copolymère de polyoxyéthylène et de polyoxypropylène, ayant un poids moléculaire de l'ordre de
 30 8200. Les limites de données de toxicité sont comme suit :

TABLEAU 1

Emulsion Dose (ml/kg)	Nombre de vivants au temps indiqué		
	10 mn	1 heure	7 jours
100	3/4	3/4	3/4
75	4/4	4/4	4/4
35 50	4/4	4/4	4/4

Afin de déterminer la stabilité de l'émulsion, l'émulsion d'éther décrite ci-dessus, préparée au moyen d'ultrasons, est conservée à 2°C dans un tube de Pyrex scellé, dans un réfrigérateur. La stabilité de l'émulsion est déterminée par mesure de la densité optique, au départ et après plusieurs jours de conservation des échantillons, à l'aide d'un appareil Spectronic 20 et d'une cellule de dimension convenable. Une étude comparative avec des émulsions dans lesquelles l'éther selon l'invention est remplacé par de la perfluorodécaline ou de la perfluorotributyl amine, indique que l'émulsion d'éther selon l'invention est sensiblement stable.

L'élimination est mesurée par injection à une souris de l'émulsion d'essai décrite plus haut, et placement de cette souris dans une chambre en verre, au travers de laquelle l'oxygène s'écoule à raison de 20 ml/mn. Au bout de 20 minutes, des échantillons d'oxygène sont prélevés à l'aide d'une micro-seringue, et sont analysés par chromatographie gazeuse avec une colonne SE-30 et un détecteur à capteur d'électrons. Par calibrage de ce détecteur avec un étalon préparé à partir du composé perfluoro de l'émulsion, on peut calculer la vitesse avec laquelle ce composé est éliminé à travers la peau et les poumons de la souris intacte, éveillée. Connaissant la quantité de produit injecté à la souris, et la vitesse avec laquelle il s'élimine sur une certaine durée, on peut calculer le moment où il aura totalement disparu.

Les résultats du mode opératoire précédent, exprimés en terme de vitesse ($\mu\text{g}/\text{mn}$) avec laquelle le composé perfluoro s'élimine de la souris à des temps écoulés de 5, 10, 20, 30 et 40 semaines, indiquent que si l'on compare des émulsions pratiquement identiques, sauf en ce qui concerne l'emploi de différents composés perfluoro (perfluorodécaline et bromure de perfluorooctyle), l'éther selon l'invention, heptafluoroisopropoxy bromo-1 octafluoro-

robutane, s'élimine à une vitesse presque'identique à celle de la perfluorodécaline (connue pour s'éliminer rapidement), et présente donc une vitesse d'élimination souhaitable.

L'accumulation de l'heptafluoroisopropoxy bromo-
 5 1 octafluorobutane dans le foie et la rate des souris l'a-
 yant reçu en injection intra-veineuse sous forme d'émul-
 sion, est déterminée par combustion directe d'homogénats
 de ces organes avec du biphényl sodique, suivie d'une me-
 sure de l'ion fluorure avec une électrode. Les résultats
 10 sont comme suit pour une dose d'injection de 100% ml/kg.

TABLEAU 2

Analyse de combustion humide du foie et de la rate

Nombre de jours après injection		Pourcentage de dose rési- duelle		
		Foie	Moyenne	Rate
15	7	15,85	16,3	4,77
		16,72		
	13	2,59	2,59	2,30
		2,59		
20	24	1,4	1,3	0,4
		1,2		

Ces données montrent que l'éther selon l'invention s'accu-
 mule dans le foie et la rate et puis s'en va.

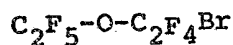
Au cours d'autres expérimentations, des échan-
 25 tillons de tissus sont prélevés chez des souris ayant reçu
 des doses intraveineuses de l'émulsion décrite plus haut,
 renfermant l'heptafluoroisopropoxy bromo-1 octafluorobu-
 tane. Les doses d'émulsion sont de 100, 75 et 50 ml/kg.
 Les souris sont sacrifiées au bout de 7, 13 et 24 jours,
 30 et des échantillons de foie, de rate et de rein sont en-
 levés, fixés et montés en coupes. Un échantillon de rate
 est également enlevé à une souris 330 jours après l'injec-
 tion. Certains de ces tissus sont pris en coupes et exami-
 nés. Pendant la période durant laquelle l'éther selon l'in-
 35 vention est présent en grandes quantités, l'examen micros-

copique révèle peu ou pas de mitose des hépatocytes, mais on observe un peu d'hypertrophie des noyaux. On observe des cellules binucléées, et dans ^{certain} cas, leur proportion atteint jusqu'à 53%. Moins de 1% du cytoplasme des hépatocytes est occupé par l'éther en question. On observe une légère infiltration des cellules mononucléaires, et on trouve dans l'espace intermédiaire des cellules blastiques, ainsi que des particules fluorocarbonées. La réémulsion des particules fluorocarbonées les plus grandes en particules plus petites, qui précède normalement leur disparition, est très proche de l'achèvement. Deux semaines après l'injection, le foie se trouve dans des limites normales, à l'exception de quelques phagocytes renfermant le composé perfluorobromé et des noyaux des hépatocytes qui sont quelque peu agrandis, mais autrement normaux.

Un échantillon sans solvant d'heptafluoropropoxy bromo-1 octafluorobutane est injecté dans la trachée d'un rat anesthésié, par un tube de matière plastique ayant une extrémité biseautée. Une série de clichés aux rayons-X sont pris, qui montrent que cet éther est un bon agent de contraste. De même, l'émulsion ci-dessus renfermant cet éther est injectée par voie intraveineuse à une souris. Deux jours plus tard un cliché aux rayons-X est pris (50 KVA appliqués). Le rayonnement X montre nettement le foie et la rate, ce qui indique que l'éther en question s'est déposé dans le système réticuloendothélial. Les résultats précédents démontrent ainsi l'efficacité de l'éther en question comme agent radioopacifiant.

EXEMPLE 2

Le produit de contraste est constitué par de l'oxyde perfluoré de bromo-1 éthyle et d'éthyle pur, c'est-à-dire le composé suivant la formule (1) dans lequel $m=2$, $n=2$, le nombre total d'atomes de F étant de 9, soit :



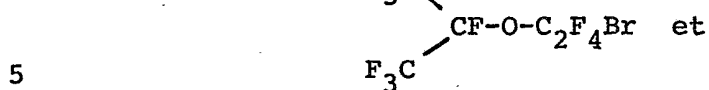
35 EXEMPLE 3

La composition de contraste est formée par le mé-

10

lange des deux oxydes perfluorés suivants :

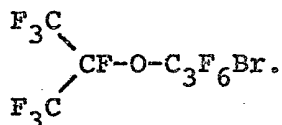
78 volumes d'oxyde perfluoré de bromo-1 éthyle et
d'isopropyle F_3C



22 volumes d'oxyde perfluoré de bromo-1 butyle et de
pentyle $\text{C}_5\text{F}_{11}\text{-O-C}_4\text{F}_8\text{Br}$.

EXEMPLE 4

La composition suivant l'invention comprend
10 80 volumes d'eau dans laquelle sont émulsionnés 20 volumes d'oxyde perfluoré de bromo-1 propyle et d'isopropyle



15 L'eau renferme 4% en poids de tensioactif dérivé du sorbitane, vendu sous le nom de "Tween 80" et :

0,6% NaCl

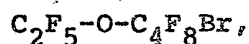
0,04% KCl

0,027% CaCl_2

20 0,41% lactate de Na

EXEMPLE 5

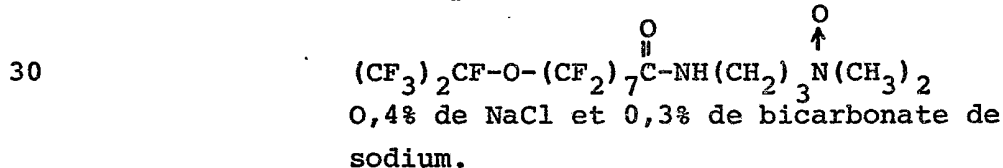
L'émulsion suivante de l'oxyde perfluoré de bromo-1 butyle et d'éthyle



25 dans l'eau, est employée comme composition de contraste :

18 volumes de cet oxyde perfluoré,

82 volumes d'eau, contenant 3% en poids
de composé tensioactif fluoré



EXEMPLE 6

Un produit de contraste est obtenu par mélange
35 de :

60 volumes de $C_2F_5-O-C_2F_4Br$
25 volumes de $(CF_3)_2CF-O-C_4F_8Br$
15 volumes de $(CF_3)_2CF-O-C_6F_2Br$.

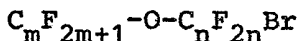
EXEMPLE 7

- 5 On prépare une émulsion en dispersant 15 volumes d'oxyde perfluoré de bromo-1 butyle et de pentyle $C_5F_{11}-O-C_4F_8Br$ dans 85 volumes d'eau renfermant 5% en poids de tensioactif "Pluronic 68" et 0,5% de $NaHCO_3$.

Revendications

1. Nouveau produit de contraste pour radiographie, qui comprend un composé organique, aliphatique, perfluoré, et bromé, caractérisé en ce que ce composé est un éther de formule

5



où chacun des coefficients m et n est un nombre entier de 2 à 6 indépendamment l'un de l'autre.

2. Produit suivant la revendication 1, constitué par un oxyde de bromo-1 alkyle perfluoré et d'alkyle perfluoré, caractérisé en ce que les coefficients m et n ont des valeurs de 2 à 4.

3. Produit de contraste suivant la revendication 2, caractérisé en ce qu'il est constitué par l'oxyde de perfluoro-bromo-butyle et de perfluoro-isopropyle.

4. Produit suivant une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'éther perfluoré est sous la forme d'une dispersion aqueuse renfermant un composé tensioactif, celui-ci étant de préférence présent à raison de 0,5 à 10% en poids par rapport à l'eau de la dispersion.

5. Produit suivant la revendication 4, caractérisé en ce que la dispersion se compose de 50 à 95 volumes d'eau et respectivement 50 à 5 volumes d'éther perfluoré, et de préférence 80 à 95 volumes d'eau pour 20 à 5 volumes d'éther perfluoré.

6. Produit suivant la revendication 4 ou 5, caractérisé en ce qu'il contient une faible quantité d'un ou de plusieurs sels minéraux, solubles dans l'eau.

7. Produit suivant une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est composé par un mélange de plusieurs éthers perfluorés, conformes à la formule selon revendication 1, le mélange contenant, de préférence, davantage d'éthers dont les m et n sont de 2 à 4.

8. Produit suivant une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il comprend une solution d'un autre

composé aliphatique perfluoré, bromé, dans un éther répondant à la formule selon la revendication 1.

9. Produit suivant une des revendications 4 à 6, caractérisé en ce que la dispersion est sous la forme d'une
5 microémulsion.