



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>(51) Classification internationale des brevets <sup>5</sup> :</b><br><b>A61K 49/00</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>A1</b> | <b>(11) Numéro de publication internationale:</b> <b>WO 91/07191</b><br><b>(43) Date de publication internationale:</b> 30 mai 1991 (30.05.91)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR90/00818<br><b>(22) Date de dépôt international:</b> 15 novembre 1990 (15.11.90)<br><b>(30) Données relatives à la priorité:</b><br>89/15035 16 novembre 1989 (16.11.89) FR<br><b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> CIS BIO INTERNATIONAL S.A. [FR/FR]; RN 306, F-Saclay (Essone) (FR).<br><b>(72) Inventeurs; et</b><br><b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement) :</b> BOURGOIN, Corinne [FR/FR]; 88, avenue Ledru-Rollin, F-75012 Paris (FR). DESPLANCHES, Gérard [FR/FR]; 95, rue de Sévres, F-92100 Boulogne (FR). LECAYON, Michèle [FR/FR]; 20, résidence Les Aulnettes, F-91640 Briis-sur-Forge (FR).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |           | <b>(74) Mandataire:</b> BREVATOME; 25, rue de Ponthieu, F-75008 Paris (FR).<br><b>(81) Etats désignés:</b> AT (brevet européen), BE (brevet européen), CA, CH (brevet européen), DE (brevet européen), DK (brevet européen), ES (brevet européen), FR (brevet européen), GB (brevet européen), GR (brevet européen), IT (brevet européen), JP, LU (brevet européen), NL (brevet européen), SE (brevet européen), US.<br><b>Publiée</b><br><i>Avec rapport de recherche internationale.</i><br><i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i> |
| <b>(54) Title:</b> DIAGNOSTIC COMPOSITION COMPRISING A BINUCLEAR COMPLEX, A METHOD FOR PREPARING SAME, AND ITS USE IN MAGNETIC RESONANCE IMAGING<br><b>(54) Titre:</b> COMPOSITION DE DIAGNOSTIC COMPRENANT UN COMPLEXE BINUCLEAIRE, SON PROCEDE DE PREPARATION ET SON UTILISATION EN IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE<br><b>(57) Abstract</b><br><p>A diagnostic composition comprising a binuclear complex between a polyaminopolycarboxylic ligand, such as diethylene triamine pentacetic acid, a paramagnetic metal such as Gd and an endogenous metal such as Ca, optionally mixed with the mononuclear complex of the same paramagnetic metal and the same ligand. This composition can be used as a contrasting agent in magnetic resonance imaging.</p> <b>(57) Abrégé</b><br><p>L'invention concerne une composition de diagnostic comprenant un complexe binucléaire entre un ligand polyaminopolycarboxylique, par exemple l'acide diéthylène triamine pentacétique, un métal paramagnétique tel que Gd et un métal endogène tel que Ca, éventuellement en mélange avec le complexe mononucléaire du même métal paramagnétique et du même ligand. Cette composition peut être utilisée comme agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique.</p> |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

|    |                           |    |                                            |    |                       |
|----|---------------------------|----|--------------------------------------------|----|-----------------------|
| AT | Autriche                  | FI | Finlande                                   | ML | Mali                  |
| AU | Australie                 | FR | France                                     | MN | Mongolie              |
| BB | Barbade                   | GA | Gabon                                      | MR | Mauritanie            |
| BE | Belgique                  | GB | Royaume-Uni                                | MW | Malawi                |
| BF | Burkina Faso              | GN | Guinée                                     | NL | Pays-Bas              |
| BG | Bulgarie                  | GR | Grèce                                      | NO | Norvège               |
| BJ | Bénin                     | HU | Hongrie                                    | PL | Pologne               |
| BR | Brésil                    | IT | Italie                                     | RO | Roumanie              |
| CA | Canada                    | JP | Japon                                      | SD | Soudan                |
| CF | République Centrafricaine | KP | République populaire démocratique de Corée | SE | Suède                 |
| CG | Congo                     | KR | République de Corée                        | SN | Sénégal               |
| CH | Suisse                    | LI | Liechtenstein                              | SU | Union soviétique      |
| CI | Côte d'Ivoire             | LK | Sri Lanka                                  | TD | Tchad                 |
| CM | Cameroun                  | LU | Luxembourg                                 | TG | Togo                  |
| DE | Allemagne                 | MC | Monaco                                     | US | Etats-Unis d'Amérique |
| DK | Danemark                  | MG | Madagascar                                 |    |                       |
| ES | Espagne                   |    |                                            |    |                       |

Composition de diagnostic comprenant un complexe binucléaire, son procédé de préparation et son utilisation en imagerie par résonance magnétique.

5                   La présente invention concerne une composition comprenant un complexe paramagnétique binucléaire, utilisable pour le diagnostic, en particulier comme agent de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) ou comme agent de déplacement chimique ou de susceptibilité magnétique.

10                   La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) a été mise au point en 1946 par Bloch et Purcell, et cette technique a été largement utilisée depuis dans les domaines de la physique,  
15                   de la chimie organique et de la biochimie, pour étudier la structure chimique des molécules et des groupements moléculaires "in vitro". Le principe de la RMN utilise la conjonction de champs magnétiques et d'ondes de radiofréquence pour mettre en résonance  
20                   les noyaux de certains atomes. L'un des atomes les plus intéressants étant l'hydrogène, qui est présent dans l'eau constituant la majorité des tissus biologiques (75 à 80% des tissus mous), il a été possible d'envisager l'utilisation de la technique RMN dans  
25                   le domaine médical, et le développement de l'imagerie par résonance magnétique nucléaire dans ce domaine a connu un essor considérable.

30                   L'image de la distribution des protons est obtenue à partir du signal émis, après mise en résonance des noyaux, et la reconstruction par ordinateur conduit à la visualisation des coupes transverses, sagittales et frontales du corps humain.

35                   Pour obtenir de meilleurs résultats en IRM, on a développé récemment des agents de contraste

permettant d'accentuer artificiellement le contraste par introduction dans l'organisme à examiner d'éléments modifiant notamment le champ magnétique, par exemple les composés paramagnétiques, afin de perturber les temps de relaxation des noyaux déjà présents dans l'organisme, en ajoutant à la relaxation nucléaire une composante liée à des perturbations par un moment magnétique électronique.

L'utilisation d'agents de contraste de ce type est en particulier décrite dans les documents EP-A- 0 071 564 (Schering A.G.), FR-A- 2 596 992 (Guerbet S.A.) et WO-87/02893 (Board of Regents, the University of Texas System) mais seuls les complexes constitués par le sel de di-N-méthyl-glucamine (diméglumine) du complexe Gd(III)-acide diéthylène triamine pentacétique (DTPA) et le sel de lysine du complexe GdIII-acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-N,N',N'',N'''tétracétique (DOTA) ont été développés respectivement par Schering et Guerbet, et sont utilisés dans les services hospitaliers.

En effet, l'injection "in vivo" de complexes paramagnétiques pose certains problèmes de tolérance biologique.

Ces problèmes qui sont dus notamment aux possibilités d'échange entre l'élément paramagnétique du complexe et les métaux endogènes du sujet auquel le complexe a été injecté, se traduisent, d'une part, par la libération "in vivo" de l'élément paramagnétique, plus ou moins toxique, du complexe injecté et, d'autre part, par un appauvrissement en métal endogène, par exemple en calcium ou en zinc, du sujet.

Pour éviter ces problèmes, deux solutions

ont été proposées qui consistent :

- soit à ajouter un sel de calcium, c'est-à-dire un sel de métal endogène, à la solution de complexe injecté pour éviter l'appauvrissement en métal endogène, comme il est décrit dans WO-89/00052,

- soit à ajouter à la solution de complexe paramagnétique, un complexe formé entre le même ligand et le calcium pour éviter le relargage de l'élément paramagnétique comme il est décrit dans WO-9003804.

Ces deux solutions ne sont toutefois pas entièrement satisfaisantes car l'osmolalité des compositions reste élevée, ces deux additifs n'apportant aucune amélioration sur l'osmolalité du complexe.

Or, comme il est indiqué dans Radiology 1988, 166, 897-899, l'osmolalité du complexe est un facteur déterminant dans la toxicité des complexes paramagnétiques.

Ainsi, le complexe constitué par le sel de di-N-méthyl-glucamine du DTPA-Gd(III) présente une pression osmotique élevée (1940mosm/kg selon les indications de Berlex Lab. qui commercialise ce produit sous la référence Magnevist®); de plus, sa viscosité est importante et on doit l'utiliser en concentrations élevées, généralement sous la forme d'une solution à 0,5mol/l de complexe. Aussi, sa toxicité reste élevée.

La présente invention a précisément pour objet une composition de diagnostic utilisable en IRM qui pallie les inconvénients des compositions décrites ci-dessus.

La composition de diagnostic selon l'invention se caractérise en ce qu'elle comprend un complexe

binucléaire entre un ligand polyaminopolycarboxylique cyclique ou acyclique comportant au moins 6 atomes donneurs d'électrons, un métal paramagnétique choisi parmi les lanthanides et les métaux de transition, et un métal endogène choisi parmi Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Cr, Fe, Mn, V et Mo.

Dans l'invention, on entend par complexe binucléaire, bimétallique ou hétéronucléaire, un complexe dans lequel l'élément central du complexe est formé de deux métaux différents qui sont l'élément paramagnétique (lanthanide ou métal de transition) et le métal endogène.

Un tel complexe binucléaire se comporte comme une particule unique et présente de ce fait une osmolalité plus faible que celle d'un complexe mononucléaire formé entre un élément paramagnétique et un ligand comportant au moins 6 atomes donneurs d'électrons.

De plus, avec ce complexe binucléaire, on limite lors de l'injection "in vivo", la captation par le complexe des métaux endogènes ainsi que la libération "in vivo" de l'élément paramagnétique toxique.

En effet, l'échange d'un métal endogène provenant du sujet se produit "en priorité" avec le métal endogène présent dans l'élément central du complexe binucléaire.

Ainsi, l'utilisation d'un tel complexe binucléaire dans la composition de diagnostic de l'invention permet de surmonter les inconvénients des solutions connues et de réduire également l'osmolalité de la solution injectée.

Selon un mode préféré de réalisation de

l'invention, la composition de diagnostic comprend un mélange dudit complexe binucléaire et d'un complexe mononucléaire entre le même ligand et le même métal paramagnétique.

5 Dans ce mélange, le rapport molaire du complexe mononucléaire au complexe binucléaire peut être de 0,1 à 1.

10 Un tel mélange même avec un rapport 1:1 permet de diminuer suffisamment l'osmolalité et la toxicité de la composition de diagnostic pour la rendre plus adaptée à l'injection "in vivo" et permettre son utilisation comme agent de contraste ou comme agent de déplacement chimique ou de suscepti-

15 Dans l'invention, le métal paramagnétique peut être choisi parmi les lanthanides et les métaux de transition. On peut utiliser par exemple le gadolinium, le manganèse, le fer ou le cuivre, dans les compositions destinées à servir d'agent de contraste.

20 Dans le cas où la composition est destinée à servir d'agent de déplacement chimique ou de susceptibilité magnétique, on préfère utiliser comme métal paramagnétique Tm, Tb, Gd, Eu, Dy, Ho ou Er.

25 Les métaux endogènes utilisés sont ceux qui sont généralement présents à l'état de traces mais constituent des éléments essentiels du corps humain. De préférence, on utilise Ca, Zn ou Cu.

30 Les ligands polyaminopolycarboxyliques utilisés dans l'invention doivent comporter au moins 6 atomes donneurs d'électrons et peuvent être des ligands cycliques ou acycliques.

Parmi ces ligands, on peut citer en particulier les acides aminopolycarboxyliques tels que ceux décrits dans EP-A- 0071564 par exemple l'acide

diéthylène triamine pentacétique (DTPA), l'acide triéthylène tétramine hexacétique (TTHA), l'acide trans 1,2-diaminohexane tétracétique (CYDTA) et les composés tétraaza ou diazamacrocycliques comme l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane N,N',N'',N''' tétracétique (DOTA). Le ligand peut aussi être couplé à une molécule biologique telle qu'un anticorps monoclonal.

La composition de diagnostic de l'invention peut être en particulier sous la forme d'une solution aqueuse contenant le complexe binucléaire, éventuellement mélangé au complexe mononucléaire.

La solution aqueuse est une solution physiologiquement acceptable qui peut comprendre d'autres additifs pharmaceutiquement acceptables tels que des stabilisants, si nécessaire.

Généralement, la solution comprend de 0,2mol/l à 1,2mol/l au total de complexe(s) du métal paramagnétique.

Les compositions de l'invention peuvent être préparées facilement à partir d'un composé du métal paramagnétique, par exemple un oxyde ou un chlorure, du ligand approprié, d'un sel du métal endogène et éventuellement d'une base organique telle que les aminoacides basiques et la N-méthylglucamine.

Aussi, l'invention a également pour objet un procédé de préparation d'une telle composition, qui comprend les étapes suivantes :

a) préparation d'un complexe mononucléaire entre un ligand polyaminopolycarboxylique comportant au moins 6 atomes donneurs d'électrons et un métal paramagnétique par réaction d'un composé du métal paramagnétique avec le ligand polyaminopolycarboxylique,

b) préparation d'un complexe binucléaire du même métal paramagnétique, d'un métal endogène et du même ligand polyaminopolycarboxylique par réaction d'un composé du métal paramagnétique avec le ligand et un sel du métal endogène, et

c) préparation d'une solution aqueuse du complexe mononucléaire obtenu dans l'étape a) et du complexe binucléaire obtenu dans l'étape b).

Dans certains cas, notamment lorsque les complexes formés possèdent des charges négatives, on réalise une étape complémentaire de neutralisation par addition à la solution aqueuse obtenue dans l'étape c) d'une base organique choisie parmi les aminoacides basiques et la N-méthylglucamine.

A titre d'exemple d'acide aminé utilisable, on peut citer la lysine et l'arginine.

De préférence, dans l'étape c), le rapport molaire du complexe mononucléaire / complexe binucléaire est de 0,1 à 1.

Pour la mise en oeuvre de ce procédé, on peut utiliser des sels ou des oxydes des métaux paramagnétiques dans les étapes a) et b). Dans l'étape b) le sel de métal endogène utilisé peut être par exemple un carbonate.

Les compositions de diagnostic de l'invention qui sont administrables à l'homme, peuvent être utilisées en particulier comme agent de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM).

Elles peuvent aussi être utilisées comme agent de déplacement chimique ou de susceptibilité magnétique en imagerie par résonance magnétique, comme il est décrit dans Mag Res in Med. 6, 164-174, 1988. Dans ce cas le métal paramagnétique est de préférence Tm, Tb, Gd, Eu, Dy Ho ou Er.

Les compositions de diagnostic de l'invention peuvent être administrées à l'homme par voie parentérale (notamment vasculaire ou lymphatique), sous arachnoïdienne, orale ou intrabronchique.

5 Pour l'administration par voie parentérale, ou orale, la composition est de préférence constituée par une solution du complexe binucléaire ou du mélange de complexes mono et binucléaires dans un solvant aqueux physiologiquement acceptable qui contient  
10 de préférence de 0,2 à 1,2mol/l de complexe(s) paramagnétique(s), par exemple 0,5mol/l.

La solution contient notamment 0,8mol/l des complexes et la dose administrable est généralement de 0,05 à 5mmol/kg de poids corporel, par exemple  
15 0,1mmol/kg.

L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description suivante donnée bien entendu à titre illustratif et non limitatif, qui concerne la préparation et les propriétés d'une composition  
20 de diagnostic conforme à l'invention comprenant un mélange d'un complexe mononucléaire (Gd) et d'un complexe binucléaire (Gd-Ca).

25

30

35

I. Préparation de la composition de diagnostic.a) Préparation du complexe mononucléaire Gd-DTPA.

On dissout 100g (0,275mol) d'oxyde de gadolinium  $Gd_2O_3$  et 217g (0,55 mol) d'acide diéthylène triamine pentacétique (DTPA) dans 2l d'eau pour préparations injectables (ppi). On chauffe au reflux jusqu'à dissolution complète des produits, on filtre la solution et on mesure exactement le volume de solution recueilli pour calculer la concentration en complexe  $H_2Gd.DTPA$ . Cette concentration est de 0,44mol/l.

b) Préparation du complexe binucléaire Ca-Gd(III)-DTPA.

On dissout 100g (0,275mol) d'oxyde de gadolinium  $Gd_2O_3$  et 217g (0,55mol) d'acide diéthylène triamine pentacétique (DTPA) dans 2l d'eau (ppi), on chauffe à reflux jusqu'à dissolution complète des produits, on filtre la solution, puis on chauffe en ajoutant 55,23g (0,55mol) de carbonate de calcium  $CaCO_3$ . On réduit le volume de la solution de 1/4 en chauffant. On recueille le précipité que l'on sèche sous vide, puis on le redissout dans 2l d'eau (ppi), on réduit le volume de la solution de 1/4 par chauffage, on recueille le précipité et on le sèche sous vide.

On obtient ainsi 279,6g (0,477mol) de Ca-Gd-DTPA.

c) Préparation de la solution aqueuse des complexes Gd-DTPA et Ca-Gd-DTPA.

On mélange 1074ml de la solution de  $H_2Gd-DTPA$  obtenue en a) avec 1311ml d'eau, puis on dissout dans la solution obtenue 279,6g du complexe Ca-Gd-DTPA obtenu dans l'étape b) et on mélange la solution jusqu'à dissolution complète du produit.

d) Neutralisation.

On ajuste le pH de la solution obtenu  
dans l'étape c) à 7 en ajoutant 150g de N-méthyl  
5 glucamine.

On obtient ainsi une solution de Gd-DTPA  
et Gd-Ca-DTPA.

On stérilise alors la solution par filtra-  
10 tion et on la distribue dans des flacons, à raison  
de 20ml par flacon, en réalisant cette opération  
dans une enceinte stérile.

II. Formulation de la solution de complexes.

15

- Complexes

teneur par flacon de 20ml : 6,08g

teneur par ml : 0,304g

- gadolinium

teneur par flacon de 20ml : 1,26g

20

teneur par ml : 0,063g

- calcium

teneur par flacon de 20ml : 0,16g

teneur par ml : 0,008g

- acide diéthylène triamine pentacétique

25

(DTPA)

teneur par flacon de 20ml : 3,10g

teneur par ml : 0,155g

- N-méthylglucamine

teneur par flacon de 20ml : 1,56g

30

teneur par ml : 0,078g.

Les caractéristiques physicochimiques  
de la solution, sa stabilité, sa toxicité  
aigüe, sa capacité de liaison aux protéines  
plasmatiques et les temps de relaxation T<sub>1</sub> et T<sub>2</sub>  
35 dans différents organes sont donnés ci-dessous.

**1. Caractéristiques physicochimiques.**

- Osmolalité déterminée au moyen d'un osmomètre par la technique propharmacopoea 360, Ordre National des Pharmaciens n° 293, juin 1986 :

5                   osmolalité = 812 mosm/kg à 37°C.

- Viscosité déterminée au moyen d'un tube capillaire selon les normes de la pharmacopée française :

                  viscosité = 0,096 cPas.

10   **2. Stabilité de la composition.**

                  On a étudié cette stabilité en milieu sanguin en suivant l'évolution de la concentration en gadolinium libre et en calcium libre par chromatographie sur papier avec des complexes de l'invention  
15                   marqués au gadolinium 153 et au Ca 47.

                  Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 1 qui suit.

20

25

30

35

TABLEAU 1  
Stabilité du complexe DTPA-Gd-Ca (mégumine)

| SOLUTION DE COMPLEXE       | SANG   |                                                   | SOLUTION DE GLUCOSE | URINE                     |
|----------------------------|--------|---------------------------------------------------|---------------------|---------------------------|
|                            | Plasma | Hématies                                          |                     |                           |
| <sup>153</sup> Gd complexé | 99,05% | <sup>153</sup> Gd fixé par les hématies<br>0,001% |                     | <2,5.10 <sup>-8</sup> g/l |
| <sup>153</sup> Gd libre    | 0,95%  |                                                   | 0,85%               |                           |
| <sup>47</sup> Ca complexé  | 98,9%  | <sup>47</sup> Ca fixé par les hématies<br>0,7%    |                     |                           |
| <sup>47</sup> Ca libre     | 0,4%   |                                                   | 6,4%                |                           |

Gd et Ca restent complexés en solution dans le plasma en présence d'hématies.

On teste également la présence de gadolinium libre dans les urines "in vivo". On obtient pour tous les échantillons d'urine une coloration verte et la méthode colorimétrique ne met pas en évidence de gadolinium libre, la teneur en gadolinium libre étant inférieure à  $2,5 \cdot 10^{-8} \text{g/l}$ .

### 3. Toxicité aiguë de la composition de l'invention.

On teste la toxicité aiguë de la composition chez la souris mâle par injection intraveineuse unique en 1 min, en utilisant la méthode de Bliss. Les résultats obtenus sont les suivants :

- DL50 = 3760,6 mg/kg ( $5,02 \text{mmol/kg}$ ).

Cette valeur est supérieure à celle que l'on obtient avec le complexe DTPA-Gd diméglumine du document FR-A-2 596 992 ( $4,45 \text{mmol/kg}$ ). Ainsi, la composition de l'invention est moins toxique.

### 4. Capacité de liaison aux protéines plasmatiques.

On n'observe pas de liaison protéique dans le plasma pour les complexes de l'invention testés en utilisant le chlorure de gadolinium 153 comme témoin.

### 5. Evaluation des temps de relaxation T1 et T2 dans les organes.

Pour cette détermination, on utilise des rats mâles de souche Wistar pesant environ 250g et l'on injecte à la moitié des rats une solution d'urée à 3 mol/l dans la carotide droite pour rompre la barrière hématoencéphalique (BHE), puis la composition de l'invention correspondant à la formulation décrite en II à une dose de 2 ml/kg par voie intraveineuse.

1 minute après, on tue les rats, on prélève leur cerveau et on détermine les temps de relaxation T1 et T2 dans l'hémisphère gauche, l'hémisphère droit et le cervelet.

Le temps de relaxation longitudinale T1 (Spin-réseau) est lié à la création de l'aimantation longitudinale axée sur le champ magnétique Bo et il est déterminé par les relations énergétiques entre les noyaux et le réseau.

Le temps de relaxation transversale T2 (Spin-spin) est défini par le retour à l'équilibre en grandeur et en orientation de l'aimantation longitudinale (parallèle à Bo) qui a été annulée ou modifiée par l'impulsion de radiofréquence. On l'exprime aussi par le retour à zéro de l'aimantation transversale qui a été créée par l'impulsion de radiofréquence.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 2 annexé.

Ces résultats montrent que de 1min à 30min après l'injection, les temps de relaxation T1 et T2 sont raccourcis, ce qui prouve que l'agent de contraste est efficace.

Ainsi, par rapport au complexe Gd-DTPA diméglumine, les avantages de la composition de l'invention sont les suivants :

- une pression osmotique plus faible,
- une viscosité plus faible,
- une toxicité plus faible, et
- la possibilité d'être utilisé à une concentration plus faible.

Par ailleurs, elle possède une très grande stabilité due à la complexation du calcium.

En effet, la composition de l'invention comprend moins de DTPA libre que le complexe de Shering Gd-DTPA-diméglumine, qui peut capter du calcium dans le sang donc produire une déminéralisation due au DTPA libre.

Dans le cas de l'invention, le complexe binucléaire qui contient déjà du calcium complexé, ne complexera pas le calcium de l'organe.

5 De la même façon, on peut obtenir le complexe binucléaire DTPA-Gd-Zn.

10

15

20

25

30

35

TABLEAU 2

| TEMPS DE RELAXATION DANS LE CERVEAU |                                                             |                                                                                        |                    |      |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------|
|                                     | Animal sain<br>sans injection<br>de produit de<br>contraste | Animal BHE rompue, sacrifice<br>1 minute, après injection de<br>DTPA-Gd-Ca (mégлумine) |                    |      |
|                                     | Millisecondes                                               | Millisecondes                                                                          | % de<br>diminution |      |
|                                     |                                                             |                                                                                        |                    |      |
| T1                                  | Hémisphère gauche                                           | 629,32 ms                                                                              | 344,42 ms          | 45,2 |
|                                     | Hémisphère droit                                            | 689,72 ms                                                                              | 302,32 ms          | 56,2 |
|                                     | Cervelet                                                    | 655,78 ms                                                                              | 291,04 ms          | 55,6 |
| T2                                  | Hémisphère gauche                                           | 81,75 ms                                                                               | 70,05 ms           | 14,4 |
|                                     | Hémisphère droit                                            | 81,63 ms                                                                               | 65,72 ms           | 19,5 |
|                                     | Cervelet                                                    | 88,60 ms                                                                               | 69,70 ms           | 21,6 |

### REVENDEICATIONS

1. Composition de diagnostic comprenant un complexe binucléaire entre un ligand polyaminopolycarboxylique cyclique ou acyclique comportant au moins 6 atomes donneurs d'électrons, un métal paramagnétique choisi parmi les lanthanides et les métaux de transition, et un métal endogène choisi parmi Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Cr, Fe, Mn, V et Mo.

2. Composition de diagnostic selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un mélange dudit complexe binucléaire et d'un complexe mononucléaire entre le même ligand et le même métal paramagnétique.

3. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que dans le mélange, le rapport molaire du complexe mononucléaire au complexe binucléaire peut être de 0,1 à 1.

4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le ligand polyaminopolycarboxylique est choisi parmi l'acide diéthylène triamine pentacétique (DTPA), l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane N,N',N'',N''' tétracétique (DOTA), l'acide triéthylène tétramine hexacétique (TTHA), et l'acide trans 1,2-diaminohexane tétracétique (CYDTA).

5. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que le complexe binucléaire est le DTPA-Gd-Ca, le complexe mononucléaire est le DTPA-Gd neutralisé par la N-méthylglucamine et le rapport molaire DTPA-Gd / DTPA-Gd-Ca est de 0,1 à 1.

6. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle

est sous la forme d'une solution aqueuse contenant de 0,2mol/l à 1,2mol/l au total de complexe(s) de métal paramagnétique.

5 7. Procédé de préparation d'une composition selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

10 a) préparation d'un complexe mononucléaire entre un ligand polyaminopolycarboxylique comportant au moins 6 atomes donneurs d'électrons et un métal paramagnétique par réaction d'un composé du métal paramagnétique avec le ligand polyaminopolycarboxylique,

15 b) préparation d'un complexe binucléaire du même métal paramagnétique, d'un métal endogène et du même ligand polyaminopolycarboxylique par réaction d'un composé du métal paramagnétique avec le ligand et un sel du métal endogène, et

20 c) préparation d'une solution aqueuse du complexe mononucléaire obtenu dans l'étape a) et du complexe binucléaire obtenu dans l'étape b).

25 8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'il comprend une étape complémentaire de neutralisation par addition à la solution aqueuse obtenue dans l'étape c) d'une base organique choisie parmi les aminoacides basiques et la N-méthyl glucamine.

30 9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 et 8, caractérisé en ce que le rapport molaire du complexe mononucléaire / complexe binucléaire est de 0,1 à 1.

35 10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que le composé du métal paramagnétique est l'oxyde de gadolinium, le ligand polyaminopolycarboxylique est l'acide

diéthylène triamine pentacétique et le sel du métal endogène est du carbonate de calcium.

11. Procédé selon les revendications 8 et 10, caractérisé en ce que la base organique est la N-méthylglucamine.

12. Composition de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 destinée à améliorer le contraste de l'image en imagerie par résonance magnétique.

13. Composition de diagnostic selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 destinée à servir d'agent de déplacement chimique ou de susceptibilité magnétique en imagerie par résonance magnétique.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/FR90/00818

## I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int. Cl. <sup>5</sup> : A61K 49/00

## II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>

Classification System

Classification Symbols

Int. Cl. <sup>5</sup>

A61K

Documentation Searched other than Minimum Documentation  
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>

## III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup>

| Category <sup>9</sup> | Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>                         | Relevant to Claim No. <sup>13</sup> |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Y                     | EP, A, 0258616 (SALUTAR) 9 March 1988,<br>see page 13, lines 30-40<br>----                                                             | 1-13                                |
| Y                     | WO, A, 8900052 (MALLINCKRODT) 12 January 1989,<br>see the whole document<br>(cited in the application)<br>----                         | 1-13                                |
| Y                     | FR, A, 2539996 (SCHERING) 3 August 1984,<br>see pages 7-8; page 46, lignes 11-27;<br>page 47, lines 7-9; page 47, lines 12-13<br>----  | 1-13                                |
| Y                     | FR, A, 2596992 (GUERBET) 16 October 1987,<br>see the whole document<br>(cited in the application)<br>----                              | 1-13                                |
| Y                     | EP, A, 0071564 (SCHERING) 9 February 1983,<br>see pages 20-21 (cited in the application)<br>----                                       | 1-13                                |
| Y                     | EP, A, 0133603 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE)<br>27 February 1985, see pages 22-23; claim 6<br>(cited in the application)<br>---- | 1-13                                |

\* Special categories of cited documents: <sup>10</sup>

"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 or 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

"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.

"Δ" document member of the same patent family

## IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search

4 March 1991(04.03.91)

Date of Mailing of this International Search Report

8 April 1991(08.04.91)

International Searching Authority

European Patent Office

Signature of Authorized Officer

## III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

| Category * | Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                              | Relevant to Claim No |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| A          | EP, A, 0263059 (SCHERING) 6 April 1988,<br>see the whole document<br>-----                                                                      | 1-13                 |
| A,P        | WO, A, 9003804 (COCKBAIN J. R. et al.) 19 April 1990,<br>see page 26; page 12 (cited in the application)<br>-----                               | 1-13                 |
| A          | WO, A, 8702893 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY<br>OF TEXAS SYSTEM) 21 May 1987,<br>see the whole document (cited in the application)<br>----- | 1-13                 |

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9000818

SA 42193

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 27/03/91  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Publication<br>date                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EP-A- 0258616                             | 09-03-88            | AU-A- 7573587<br>JP-A- 63119446                                                                                                                                                                                                                                                                                | 11-02-88<br>24-05-88                                                                                                                                                                                                 |
| WO-A- 8900052                             | 12-01-89            | AU-A- 1986788<br>EP-A- 0367787                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 30-01-89<br>16-05-90                                                                                                                                                                                                 |
| FR-A- 2539996                             | 03-08-84            | AU-A- 1018488<br>AU-B- 574658<br>AU-A- 2355984<br>BE-A- 898708<br>CA-A- 1256249<br>CH-A- 660183<br>DE-A- 3401052<br>FR-A- 2590484<br>GB-A- 2137612<br>GB-A, B 2169598<br>GB-A, B 2169599<br>JP-A- 59139390<br>LU-A- 85177<br>NL-A- 8400079<br>SE-A- 8400254<br>US-A- 4963344<br>US-A- 4647447<br>US-A- 4957939 | 28-04-88<br>14-07-88<br>26-07-84<br>16-05-84<br>20-06-89<br>31-03-87<br>26-07-84<br>29-05-87<br>10-10-84<br>16-07-86<br>16-07-86<br>10-08-84<br>24-05-84<br>16-08-84<br>22-07-84<br>16-10-90<br>03-03-87<br>18-09-90 |
| FR-A- 2596992                             | 16-10-87            | AU-B- 591774<br>AU-A- 7235087<br>EP-A, B 0263861<br>WO-A- 8706229<br>JP-T- 63503062<br>US-A- 4877600                                                                                                                                                                                                           | 14-12-89<br>09-11-87<br>20-04-88<br>22-10-87<br>10-11-88<br>31-10-89                                                                                                                                                 |
| EP-A- 0071564                             | 09-02-83            | DE-A- 3129906<br>AU-B- 601916<br>AU-A- 1018688<br>AU-B- 566007<br>AU-A- 8633082<br>CA-A- 1218597<br>EP-A, B 0169299                                                                                                                                                                                            | 10-02-83<br>20-09-90<br>28-04-88<br>08-10-87<br>27-01-83<br>03-03-87<br>29-01-86                                                                                                                                     |

# ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

FR 9000818  
SA 42193

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 27/03/91. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| EP-A- 0071564                             |                     | JP-A- 62123159             | 04-06-87            |
|                                           |                     | JP-A- 58029718             | 22-02-83            |
|                                           |                     | US-A- 4963344              | 16-10-90            |
|                                           |                     | US-A- 4647447              | 03-03-87            |
|                                           |                     | US-A- 4957939              | 18-09-90            |
| EP-A- 0133603                             | 27-02-85            | FR-A- 2550449              | 15-02-85            |
|                                           |                     | JP-A- 60100526             | 04-06-85            |
|                                           |                     | US-A- 4804529              | 14-02-89            |
| EP-A- 0263059                             | 06-04-88            | DE-A- 3633245              | 31-03-88            |
|                                           |                     | DE-A- 3633246              | 31-03-88            |
|                                           |                     | AU-A- 7899587              | 31-03-88            |
|                                           |                     | JP-A- 63093758             | 25-04-88            |
|                                           |                     | ZA-A- 8707246              | 28-03-88            |
| WO-A- 9003804                             | 19-04-90            | AU-A- 4317889              | 01-05-90            |
| WO-A- 8702893                             | 21-05-87            | AU-A- 6621586              | 02-06-87            |
|                                           |                     | EP-A- 0247156              | 02-12-87            |
|                                           |                     | JP-T- 63501798             | 21-07-88            |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 90/00818

| <b>I. CLASSEMENT DE L'INVENTION</b> (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>7</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                        |                                            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                        |                                            |
| CIB <sup>5</sup> : A 61 K 49/00                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                        |                                            |
| <b>II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                        |                                            |
| Documentation minimale consultée <sup>8</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                        |                                            |
| Système de classification                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Symboles de classification                                                                                                             |                                            |
| CIB <sup>5</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | A 61 K                                                                                                                                 |                                            |
| Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté <sup>9</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                        |                                            |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                        |                                            |
| <b>III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b> <sup>10</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                        |                                            |
| Catégorie *                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Identification des documents cités, <sup>11</sup> avec indication, si nécessaire, des passages pertinents <sup>12</sup>                | N° des revendications visées <sup>13</sup> |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | EP, A, 0258616 (SALUTAR)<br>9 mars 1988<br>voir page 13, lignes 30-40<br>--                                                            | 1-13                                       |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | WO, A, 8900052 (MALLINCKRODT)<br>12 janvier 1989<br>voir le document en entier<br>(cité dans la demande)<br>--                         | 1-13                                       |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | FR, A, 2539996 (SCHERING)<br>3 août 1984<br>voir pages 7-8; page 46, lignes 11-27;<br>page 47, lignes 7-9; page 47, lignes 12-13<br>-- | 1-13                                       |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | FR, A, 2596992 (GUERBET)<br>16 octobre 1987<br>voir le document en entier<br>(cité dans la demande)<br>./.                             | 1-13                                       |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités: <sup>11</sup> --</p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="width: 48%;"> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« &amp; » document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div> |                                                                                                                                        |                                            |
| <b>IV. CERTIFICATION</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                        |                                            |
| Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale                                                                       |                                            |
| 4 mars 1991                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 08.04.91                                                                                                                               |                                            |
| Administration chargée de la recherche internationale                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Signature du fonctionnaire autorisé                                                                                                    |                                            |
| OFFICE EUROPEEN DES BREVETS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | miss T. MORTENSEN                                 |                                            |

| III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS |                                                                                                                                                   | (SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE) |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Catégorie *                                | Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, des passages pertinents                                                       | N° des revendications visées                                |
| Y                                          | EP, A, 0071564 (SCHERING)<br>9 février 1983<br>voir pages 20-21<br>(cité dans la demande)<br>--                                                   | 1-13                                                        |
| Y                                          | EP, A, 0133603 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE)<br>27 février 1985<br>voir pages 22-23; revendication 6<br>(cité dans la demande)<br>--        | 1-13                                                        |
| A                                          | EP, A, 0263059 (SCHERING)<br>6 avril 1988<br>voir le document en entier<br>--                                                                     | 1-13                                                        |
| A,P                                        | WO, A, 9003804 (COCKBAIN J.R. et al.)<br>19 avril 1990<br>voir page 26; page 12<br>(cité dans la demande)<br>--                                   | 1-13                                                        |
| A                                          | WO, A, 8702893 (BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM)<br>21 mai 1987<br>voir le document en entier<br>(cité dans la demande)<br>----- | 1-13                                                        |

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 9000818  
SA 42193

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 27/03/91  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s) | Date de<br>publication |
|-------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------|------------------------|
| EP-A- 0258616                                   | 09-03-88               | AU-A- 7573587                           | 11-02-88               |
|                                                 |                        | JP-A- 63119446                          | 24-05-88               |
| WO-A- 8900052                                   | 12-01-89               | AU-A- 1986788                           | 30-01-89               |
|                                                 |                        | EP-A- 0367787                           | 16-05-90               |
| FR-A- 2539996                                   | 03-08-84               | AU-A- 1018488                           | 28-04-88               |
|                                                 |                        | AU-B- 574658                            | 14-07-88               |
|                                                 |                        | AU-A- 2355984                           | 26-07-84               |
|                                                 |                        | BE-A- 898708                            | 16-05-84               |
|                                                 |                        | CA-A- 1256249                           | 20-06-89               |
|                                                 |                        | CH-A- 660183                            | 31-03-87               |
|                                                 |                        | DE-A- 3401052                           | 26-07-84               |
|                                                 |                        | FR-A- 2590484                           | 29-05-87               |
|                                                 |                        | GB-A- 2137612                           | 10-10-84               |
|                                                 |                        | GB-A,B 2169598                          | 16-07-86               |
|                                                 |                        | GB-A,B 2169599                          | 16-07-86               |
|                                                 |                        | JP-A- 59139390                          | 10-08-84               |
|                                                 |                        | LU-A- 85177                             | 24-05-84               |
|                                                 |                        | NL-A- 8400079                           | 16-08-84               |
|                                                 |                        | SE-A- 8400254                           | 22-07-84               |
|                                                 |                        | US-A- 4963344                           | 16-10-90               |
|                                                 |                        | US-A- 4647447                           | 03-03-87               |
|                                                 |                        | US-A- 4957939                           | 18-09-90               |
| FR-A- 2596992                                   | 16-10-87               | AU-B- 591774                            | 14-12-89               |
|                                                 |                        | AU-A- 7235087                           | 09-11-87               |
|                                                 |                        | EP-A,B 0263861                          | 20-04-88               |
|                                                 |                        | WO-A- 8706229                           | 22-10-87               |
|                                                 |                        | JP-T- 63503062                          | 10-11-88               |
|                                                 |                        | US-A- 4877600                           | 31-10-89               |
| EP-A- 0071564                                   | 09-02-83               | DE-A- 3129906                           | 10-02-83               |
|                                                 |                        | AU-B- 601916                            | 20-09-90               |
|                                                 |                        | AU-A- 1018688                           | 28-04-88               |
|                                                 |                        | AU-B- 566007                            | 08-10-87               |
|                                                 |                        | AU-A- 8633082                           | 27-01-83               |
|                                                 |                        | CA-A- 1218597                           | 03-03-87               |
|                                                 |                        | EP-A,B 0169299                          | 29-01-86               |

EPO FORM P0472

# ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.

FR 9000818  
SA 42193

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 27/03/91  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s) | Date de<br>publication |
|-------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------|------------------------|
| EP-A- 0071564                                   |                        | JP-A- 62123159                          | 04-06-87               |
|                                                 |                        | JP-A- 58029718                          | 22-02-83               |
|                                                 |                        | US-A- 4963344                           | 16-10-90               |
|                                                 |                        | US-A- 4647447                           | 03-03-87               |
|                                                 |                        | US-A- 4957939                           | 18-09-90               |
| EP-A- 0133603                                   | 27-02-85               | FR-A- 2550449                           | 15-02-85               |
|                                                 |                        | JP-A- 60100526                          | 04-06-85               |
|                                                 |                        | US-A- 4804529                           | 14-02-89               |
| EP-A- 0263059                                   | 06-04-88               | DE-A- 3633245                           | 31-03-88               |
|                                                 |                        | DE-A- 3633246                           | 31-03-88               |
|                                                 |                        | AU-A- 7899587                           | 31-03-88               |
|                                                 |                        | JP-A- 63093758                          | 25-04-88               |
|                                                 |                        | ZA-A- 8707246                           | 28-03-88               |
| WO-A- 9003804                                   | 19-04-90               | AU-A- 4317889                           | 01-05-90               |
| WO-A- 8702893                                   | 21-05-87               | AU-A- 6621586                           | 02-06-87               |
|                                                 |                        | EP-A- 0247156                           | 02-12-87               |
|                                                 |                        | JP-T- 63501798                          | 21-07-88               |

EPO FORM P0472