

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0904754-9 A2**

(22) Data de Depósito: 20/11/2009
(43) Data da Publicação: 12/07/2011
(RPI 2114)



(51) *Int.Cl.:*

A61K 51/04 2006.01
A61K 103/10 2006.01
A61K 103/20 2006.01
A61K 101/02 2006.01

(54) Título: **RADIOFÁRMACO E SUAS COMPOSIÇÕES PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**

(73) Titular(es): Universidade Federal de Minas Gerais

(72) Inventor(es): Claudia Borges Brasileiro, Marcelo José Oliveira Maia, Tarcisio Passos Ribeiro

(57) Resumo: RADIOFÁRMACO E SUAS COMPOSIÇÕES PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS. A presente invenção refere-se a um radiofármaco constituído de um radionuclídeo complexado a uma molécula análoga da glicose para a cintilografia de processos inflamatórios e infecciosos. A invenção compreende os compostos de tio-açúcares e seus derivados, e um radionuclídeo emissor de raios gama ou raios-X, tais como Tc-99m ou In-111, bem como suas composições radiofarmacêuticas compreendendo veículo fisiologicamente aceitável selecionados do grupo compreendendo água para injetáveis, solução salina estéril, solução tampão. Possibilitando assim a cintilografia de inflamações de luxação, necrose vascular, abscessos, necroses teciduais, edemas, infecções em próteses, identificação de sepsias, inflamações induzidas por neoplasias, inflamações imuno-relacionadas, infecções sépticas e assépticas associadas, inflamações radio induzidas, infecções e inflamações induzidas em implantes e transplantes, doenças reumatóides, artrites, e disfunções nas pequenas e grandes articulações, bem como infecções variadas.





"RADIOFÁRMACO E SUAS COMPOSIÇÕES PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a um radiofármaco constituído de um radionuclídeo complexado a uma molécula análoga da glicose para a cintilografia de processos inflamatórios e infecciosos.

5 A invenção compreende os compostos de tio-açúcares e seus derivados, e um radionuclídeo emissor de raios gama ou raios-X, tais como Tc-99m ou In-111, bem como suas composições radiofarmacêuticas compreendendo veículo fisiologicamente aceitável selecionados do grupo compreendendo água para injetáveis, solução salina estéril, solução tampão. Possibilitando assim a
10 cintilografia de inflamações de luxação, necrose vascular, abscessos, necroses teciduais, edemas, infecções em próteses, identificação de sepsias, inflamações induzidas por neoplasias, inflamações imuno-relacionadas, infecções sépticas e assépticas associadas, inflamações radio induzidas, infecções e inflamações induzidas em implantes e transplantes, doenças reumatóides, artrites, e
15 disfunções nas pequenas e grandes articulações, bem como infecções variadas.

ESTADO DA TÉCNICA

O processo inflamatório faz parte do mecanismo natural de defesa do organismo humano contra agentes externos, acompanhando os processos de reparo dos tecidos acometidos. Fazem parte deste processo: mecanismos
20 complexos tais como quimiotaxia, adesão e rolagem de leucócitos, bem como migração, produção de interleucinas envolvidas em interações celulares, além da ativação de diversos tipos células do sistema de defesa acompanhado de interações moleculares de alta especificidade.

A detecção de processos inflamatórios envolve cintilografia, pela medicina
25 nuclear, bem como, tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética nuclear (RMN), pela radiologia. Na cintilografia, utiliza-se a técnica de marcação de leucócitos com Tc-99m ou com citrato de Galio-67 (⁶⁷Ga-citrato), tendo este último sido aplicado por mais de três décadas.

O complexo 99Tc-hexametilpropilenoamina oxima (HMPAO), identificado
30 por Tc-99m – HMPAO, consegue marcar seletivamente os leucócitos ex-vivo.

Atualmente, In-111 oxima e Tc-99m HMPAO têm sido usados como padrão ouro para marcação de inflamações. A técnica de cintilografia com leucócitos marcados com Tc-99m HMPAO auxilia a avaliação da evolução da inflamação visto que a RMN e a TC não têm precisão suficiente para identificar alterações teciduais já instaladas. A sensibilidade desta técnica está associada à capacidade de acompanhar alterações fisiológicas e bioquímicas, aumento da permeabilidade vascular, aumento do fluxo sanguíneo local, o extravasamento celular, em estágio precoce, antes de alterações anatômicas possam ser identificadas. (Brasilerio, Claudia Borges (dissertação); Campos, T.P.R. (orientador) Avaliação de Processos Inflamatórios na Articulação Temporomandibular Empregando Técnicas Nucleares em Modelo Animal, Dissertação de Mestrado, Programa de Ciências e Técnicas Nucleares, Universidade Federal de Minas Gerais, 2004)

Como outros monossacarídeos, os açúcares, carbaçúcares (com átomo de nitrogênio e carbono, respectivamente, substituindo o átomo de oxigênio no anel piranosídico) e os tioaçúcares (com átomo de enxofre em vez do átomo de oxigênio no anel) ganharam importância em glicobiologia e como drogas potenciais. Quarenta anos da química destes compostos têm produzido um número grande de monotiossacarídeos e de análogos de interesse biológico.

Devido aos açúcares de enxofre poderem participar mais prontamente que os correspondentes de oxigênio em processos heterolíticos, a química dos tioaçúcares e os seus análogos é mais tênue e às vezes mais delicada que a dos aldoses e alditóis correspondentes. Tioaçúcares com um átomo de enxofre no anel possuem propriedades biológicas interessantes. A síntese de 5-tio- α -D-xilopiranosose demonstra o primeiro exemplo de um tioaldose. Em 1984, o primeiro exemplo de um tioaçúcar natural foi identificado, o ácido 5-amino-5-deoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturônico. Este faz parte dos açúcares dos antibióticos de albomicina. Em 1987, 5-tio-D-manose foi isolado da esponja marinha *Clathria pyramida* (Lendenfeld) . Salacinol e Kotalanol foram isolados da *Salacia Reticulata*, a erva usada em medicina indiana tradicional para diabetes e mostrado ser um inibidor potencial de α -glucosidases intestinal.

A substituição do átomo de oxigênio do anel de piranosídeos (cadeia cíclica com 6 átomos) e furanosídeos (cadeia cíclica com 5 átomos) por um átomo de enxofre é suficiente para modificar a reatividade anomérica (conformações α ou β)

dos monossacarídeos correspondentes, para afetar seu estado conformacional fundamental e, além de tudo, sua flexibilidade. A substituição do átomo de oxigênio no anel do D-glicopirranose pelo átomo de enxofre produz o 5-tio-D-glicopirranose (5α , 5β)

5 Comparando os espectros de RMN- ^1H que acoplam constantes de pares de prótons vicinais de tioaçúcares com esses dos açúcares de oxigênio correspondentes, distorções de contração significativas foram achadas nos α -anômeros do 5-tio-D-glucopirranose e 5-deoxi-5-tio-D-xilopirranose. Distorções menores foram descobertas dentre os β -anômeros. As distorções de contração
10 são acompanhadas por um movimento dos grupos hidroxila vicinal. Quando ambos ocupam posições equatoriais, eles se põem mais próximos uns para com os outros, considerando que quando eles ocupam posições axiais e equatoriais (HO-C1, HO-C2 em 1, 5), a separação entre eles aumenta.

Comparado com um furanosídeo natural, a flexibilidade conformacional de
15 4-tiohexofuranosídeo é afetada pela maior ligação C-S, pelo menor ângulo de C-S-C e pelos efeitos diferenciais anoméricos entre o S-C-O e O-C-O.

As diferenças das atividades biológicas entre tioaçúcares e os análogos de oxigênio dependem do arranjo geométrico, conformacional e das diferenças de flexibilidade. Elas também dependem das diferenças eletrônicas destes
20 compostos uma vez que o enxofre é menos eletronegativo e mais polarizável que o etéreo correspondente. Em uma tentativa para entender a maior doçura de 5-tio-D-glicose comparado com o D-glicose, cálculos de mecânica quântica mostraram as diferenças em distribuição de carga que poderia fazer um papel
significante nas interações entre o açúcar e o receptor.

25 Em água, o 5-tio-D-glicose existe em uma razão de 85:15 em equilíbrio de α -piranose e seu β -anômero quando comparado com D-glicose para qual a razão é 32:68 da mistura de α -piranose e β -piranose. 5-tio- α -D-glicopirranose passa por mutarrotações mais rápido que α -D-glicopirranose em etanol aquoso. Em contraste, 4-tio-D-glicose em água prefere a forma de furanose.

30 Por causa do interesse crescente na bioquímica pelo 5-tio-D-glicose, uma rota alternativa para sua síntese foi altamente desejada. Desde que açúcares de cloro têm provado ser valiosos intermediários na preparação de deoxi e amino açúcares, eles poderiam ser usados para prover uma síntese

mais curta de 5-tio-D-glicose. As rotas de síntese improvisadas para o 5-tio-D-glicose usa 5,6-anidro-3-O-benzil-1,2-O-isopropilideno- β -L-idofranose e 5,6-anidro-1,2-O-isopropilideno- β -L-idofuranose.

Ozker et. al,(Ozker K, Collier BD, Lindner DJ, Kabasakal L, Liu Y, Krasnow
 5 AZ, Hellman RS, Edwards SD, Bourque CR, Crane PD. Biodistribution of ^{99}Tc -labelled 5-thio-D-glucose Nucl Med Commun. 1999 Nov;20(11):1055-8.), estudou a biodistribuição e localização tumoral com Tc-99m marcado com 5-tio-D-glicose (Tc-99m-TDG). 5-tio-D-glicose foi marcado com Tc-99m reduzido diretamente com íons estanoso. A biodistribuição foi investigada em coelhos normais e ratos
 10 com tumor experimental. Em coelhos, no plasma e a eliminação do (Tc-99m)-tio-D-glicose foi de 14.5 e 11.3 mL/min. Excreção urinária às 1h foi de 53 mL/min. O composto foi injetado intravenoso em ratos com carcinoma de colo MC26, e amostras de tecidos foram analisados por cintilografia gama em vários períodos. A captação de TDG no tumor a 1 e 3 h foram 1.6 e 1.2%, a razão tumor/músculo
 15 foi de 2.7:1 e 4:1 nos respectivos tempos. A biodistribuição por autoradiografia em rato com MX-1 mama humano xenógrafo mostrou persistente captação maior do que ^{14}C -deoxyglicose (DG). O radiofármaco de Tc-99m acumula no centro do tumor, ^{14}C -DG glicose foi decrescendo na região central. Há discordância entre a captação da TDG com a ^{14}C -DG, sendo que TDG não age como um análogo de
 20 glicose, sugerindo que TDG é ávido para zonas de infarto e necrose, ou zonas tumorais isquêmicas.

Atualmente, encontramos disponíveis algumas patentes relacionadas ao uso de radiofármacos para detecção de sítios de inflamação:

A patente US 5792444, intitulada "*Labeled chemotactic peptides to image*
 25 *focal sites of infection or inflammation*" relata um método de detecção de sítios de infecção ou inflamação, e um método de tratamento de tais infecções ou inflamações em um indivíduo pela administração de um peptídeo com capacidade terapêutica e de diagnóstico junto com um marcador conjugado. Este peptídeo é um quimiotático que acumula substancialmente no sítio de infecção ou
 30 inflamação. O peptídeo quimiotático possui em sua estrutura um grupo amino, um resíduo aminoácido, uma sequência espaçadora e um radionuclídeo marcador.

A patente US 5376356, intitulada "*Imaging tissue sites of inflammation*", descreve um método de cintilografia de sítios teciduais de inflamação apresentando um marcador de antígeno com regulação própria na superfície dos leucócitos sob ativação. O agente de reconhecimento é selecionado do grupo de

5 peptídeos quimiotáticos, ou peptídeos eosinófilos e agentes que são capazes de interagirem seletivamente com um receptor quimiotático associado com leucócitos ativados. O agente de reconhecimento radiomarcado é aplicado por infusão no paciente e a região do tecido do paciente é submetida a métodos de imagem a fim de se obter monitoramento do tecido inflamado.

10 A patente US 4926869, intitulada "*Method for the diagnosis and treatment of inflammation*" relata um método de detecção de inflamação de um indivíduo pela administração de uma quantidade detectável de imunoglobulina radiomarcada ou fragmentos da mesma, onde a imunoglobulina acumula substancialmente no sítio onde ocorre a inflamação.

15 A patente US4360509 intitulada "*vivo radioassay process*", descreve um teste *in vivo* em que um quelante radioativo de índio-111 e uma molécula de 8-hidroxiquinolina são introduzidos no sangue do animal onde o quelante acumula junto às regiões inflamadas. Desta forma, o quelante é concentrado na inflamação e serve para varredura por cintilografia do corpo, por alguma técnica de imagem

20 externa.

Por sua vez, as patentes que investigaram a síntese e aplicação de compostos de tio-D-glicose, podem ser citadas:

A patente US 6,099,822, intitulada "*Imaging methods and compositions*", relata uma composição útil para cintilografia de tecidos isquêmicos, em especial

25 tumores e infarto do miocárdio, sendo que a composição se resume no complexo formado pelo Tc-99m e 5-tio-D-glicose. Descreve adicionalmente um método de gerar imagem *in vivo* de tecidos isquêmicos e tumor em cobaias através da captação de uma quantidade efetiva de (Tc-99m)-5-tio-D-glicose, e apresenta a varredura do sujeito de estudo para determinar a biodistribuição do complexo.

30 Vários análogos de glicose (glucoheptonato, gluconato, glucarato) marcados com Tc-99m podem ser úteis na detecção de tumores e injúrias agudas nos tecidos. Tc-99m glucarato, um açúcar dicaroxilato com seis carbonos, acumula em tumores e regiões infartadas do miocárdio. Tc-99m-glucarato

também concentra em tecidos necróticos. Assim, este composto pode ser útil na detecção de necrose em miocárdio e diferenciação de isquemia do miocárdio com dor aguda no peito. O mecanismo exato de localização do Tc99m-glucarato não é conhecido. A presença de frutose *in vitro* inibe a captação de glucorato em células hipóxicas, mas não tem efeito em células aeradas. A captação de glucarato em tumores de mama humano é superior do que Tc-99m-MIBI e Tc-99m-DTPA. Apesar dos resultados encorajadores deste agente de imagem, este é instável *in vivo*. Um processo de transferência entre outros ligantes pode estar presente *in vivo*, e conseqüentemente inibe o uso deste composto. Existe uma necessidade de investigação da isquemia aguda de tecidos em especial presentes após ataque do coração, que devem ser distinguidos de tecidos normais, bem como imagem de tumores.

A patente WO00154734 intitulada "¹⁸⁸Re-labelled 5-tio-D-glicose for radionucleotide tumor therapy", relata um novo radiofarmaco útil para terapia medica, consistindo de uma molécula de tio-D-glicose marcada com um isótopo rênio. Esta invenção aborda o emprego da molécula de 5-tio-D-glicose marcada com Re-188 para fins terapêuticos, em especial para tratamento de tumores sólidos. Esta patente apresenta um método de preparo do radiofármaco, envolvendo 5-tio-D-glicose, íons estanoso, e uma solução de Re-188 em um solvente. Ele sugere que este radiofármaco pode ser aplicado a uma diversa variedade de tumores, que podem ser eliminados por uso deste radiofármaco.

A patente US 4,208,398 descreve compostos mercaptanos radioativos para avaliação da função dos rins, através da mensuração da capacidade de filtração do rim pela perda da atividade.

A patente US3932625 aborda a aplicação de 5-tio-D-glicose em supressão de energia para células infectadas de parasitas; e, conseqüente eliminação de parasitoses.

PROBLEMAS DO ESTADO DA TÉCNICA

O diagnóstico de processos inflamatórios através dos métodos radiológicos como tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética nuclear (RMN), apresentam boa sensibilidade, mas baixa especificidade.

Através de métodos cintilográficos utiliza-se o complexo ^{99m}Tc -hexametilpropilenoamina oxima (HMPAO), que consegue marcar seletivamente os leucócitos *ex-vivo*. Porém, o complexo processo de marcação dos leucócitos prévio ao processo de cintilografia representa uma grande limitação para esta técnica, uma vez que há necessidade de direto contato com sangue, através de sua remoção e manipulação química, para posterior reaplicação. Esta manipulação química de sangue humano para marcação *ex-vivo* representa uma fonte de contaminação de alto risco tanto para o paciente como para o corpo clínico.

Desta forma, há a necessidade de substituir o Tc99m-HMPAO por novos radiofármacos de fácil marcação e rápida cintilografia, com alta especificidade e sensibilidade para inflamação-infecção.

Nenhuma das técnicas descritas nas patentes supracitadas é atualmente utilizada comercialmente. Além disso, o uso de peptídeos ou imunoglobulinas é atrativo, mas a definição e produção de tais moléculas são ainda de extrema complexidade.

VANTAGENS DA TECNOLOGIA

Com o intuito de solucionar tais limitações existentes tanto no uso do Tc99m-HMPAO, bem como das patentes relacionadas, e solucionar o problema de cintilografia de inflamações a presente invenção descreve o processo de marcação, e o processo cintilográfico de inflamação-infecção dos compostos tioglicose e seus derivados.

Em outro aspecto, foi possível observar que na literatura e nos bancos de patentes, os compostos de tioglicose não foram investigados para diagnóstico de inflamações. Também se observou que o único composto investigado para imageamento e terapia de tumores, cujas patentes foram descritas, foi o 5-tio-D-glicose. Da mesma forma, há indicações de uso do 5-tio-D-glicose para imageamento de isquemia do coração e mesmo a investigação das funções renais. Porém, em nenhum momento este composto foi investigado para uso em inflamações ou infecções.

Por sua vez, o composto 1-tio-beta-D-glicose, também análogo da glicose, não foi mencionado nas patentes, e mesmo, não há investigação do emprego do 1-tio-D-glicose como radiofármaco no diagnóstico por imagem sítios inflamatórios.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1: Espectrograma de UV-visível do 5-tio-D-glicose

Figura 2: Espectrograma de UV-visível do 5-tio-D-glicose

Figura 3: Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose, o padrão tecnécio e suas marcações

Figura 4: Cromatograma de 5-tio-D-glicose obtido por CLAE

Figura 5: Sobreposição dos cromatogramas de 5-TDG, Tc-99 e marcações Tc1, Tc2 e Tc3

Figura 6: Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose e do complexo Tc-99-5-tio-D-glicose

Figura 7(a): Resposta de cromatografia em camada delgada de Tc-99

Figura 7(b): Resposta de cromatografia em camada delgada de do complexo Tc-99-5-tio-D-glicose

Figura 8: Resposta cintilográfica de modelo em rato

15 DESCRIÇÃO DETALHADA DA TECNOLOGIA

A presente invenção descreve um composto a base de tioglicose, tais como 1-tio- β -D-glicose e 5-tio-glicose, marcado com radiossótopo Tc-99m para cintilografia de inflamações agudas e crônicas.

A invenção compreende os compostos de tio-açúcares e seus derivados, e um radionuclídeo emissor de raios gama ou raios-X, tais como Tc-99m ou In-111, bem como suas composições radiofarmacêuticas compreendendo veículo fisiologicamente aceitável selecionados do grupo compreendendo água para injetáveis, solução salina estéril, solução tampão. As mesmas podem ser administradas pelas vias intramuscular, intravenosa, subcutânea, transdérmica ou como dispositivos que possam ser implantados ou injetados.

Possibilitando assim a cintilografia de inflamações de luxação, necrose vascular, abscessos, necroses teciduais, edemas, infecções em próteses, identificação de sepsias, inflamações induzidas por neoplasias, inflamações

imuno-relacionadas, infecções sépticas e assépticas associadas, inflamações radio induzidas, infecções e inflamações induzidas em implantes e transplantes, doenças reumatóides, artrites, e disfunções nas pequenas e grandes articulações, bem como infecções variadas.

- 5 A presente invenção pode ser mais bem entendida através dos seguintes exemplos, não limitantes de tecnologia:

Exemplo 1: Marcação do 5-tio-D-glicose com tecnécio

- Foram feitas três tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com tecnécio, referidas como Tc1, Tc2 e Tc3, dissolvendo-se o monossacarídeo para 1 mL de soro fisiológico (NaCl 0,9 %) num béquer de 10 mL. Adicionou-se cloreto estanoso biidratado e, em seguida, 1 mL de solução de pertecnetato de sódio. A atividade medida do ^{99m}Tc , como NaTcO_4 , 6 horas antes de sua manipulação, era 9,62 Gbq (26 mCi). No entanto, as marcações foram realizadas com o nuclídeo em seu estado estável, ^{99}Tc . A estequiometria destas marcações está expressa na tabela 1.

Tabela 1. Estequiometria das marcações com Tc.

Soluções	5-tio-D-glicose 196 g/mol	NaTcO_4 186 g/mol	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 118,7 g/mol
Tc padrão	-	$5,25 \times 10^{-8} \text{ M}$	-
Tc1	$4,08 \times 10^{-2} \text{ M}$	$8,90 \times 10^{-8} \text{ M}$	$7,0 \times 10^{-2} \text{ M}$
Tc2	$2,55 \times 10^{-2} \text{ M}$	$5,25 \times 10^{-8} \text{ M}$	$2,1 \times 10^{-2} \text{ M}$
Tc3	$1,28 \times 10^{-2} \text{ M}$	$5,25 \times 10^{-8} \text{ M}$	$6,5 \times 10^{-2} \text{ M}$

Exemplo 2: Análise do 5-tio-D-glicose por espectroscopia

- Foi realizada análise do 5-tio-D-glicose puro em espectrofotômetro UVPC, o mesmo apresentou comprimento de onda máximo em 209 nm, conforme apresentado na figura 1.

- Adicionalmente a figura 2 apresenta o espectrograma de UV-vis do 5-tio-D-glicose puro, segundo o detector UV-vis do cromatógrafo Shimadzu LC 10 AD. O comprimento de onda máximo do 5-tio-D-glicose, segundo este detector, corresponde a 197 nm. Os valores obtidos de comprimento de onda máximo do açúcar puro serão utilizados para determinar os canais utilizados nas análises dos produtos de marcação dos nuclídeos com o monossacarídeo por CLAE.

Exemplo 3: Análise da sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose, o padrão tecnécio e suas marcações

A figura 3 apresenta a sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose, o padrão tecnécio e suas marcações. Os valores de comprimento de onda máximos que foram extraídos do gráfico da figura 3 estão dispostos na tabela 2 para serem analisados. Percebe-se, pela análise dos dados da tabela 3, o deslocamento do comprimento de onda do padrão ^{99}Tc (198,5 nm). As marcações Tc1, Tc2 e Tc3 apresentaram, individualmente, três comprimentos de onda máximo em 220, 270 e 300 nm aproximadamente. Destas observações, pressupõe-se que as aproximações dos orbitais atômicos dos átomos de enxofre no ligante 5-tio-D-glicose não ocorram orientadas pelos eixos cartesianos (o que levaria a um aumento da energia de repulsão e, conseqüentemente, a uma diminuição do comprimento de onda), mas sim pelas bissetrizes dos eixos, onde esta energia repulsiva é menor, acarretando num deslocamento do comprimento de onda mais alto, o denominado deslocamento Batocrômico.

Tabela 2. Valores de comprimento de onda e absorvância do 5-TDG, ^{99}Tc e marcações.

Padrões e produtos marcados									
5-TDG		Padrão ^{99}Tc		Marcações					
				Tc1		Tc2		Tc3	
[5-TDG] = $2,55 \times 10^{-2}$		[^{99}Tc] = $5,25 \times 10^{-8}$		[^{99}Tc] = $8,90 \times 10^{-8}$ [5-TDG] = $4,08 \times 10^{-2}$		[^{99}Tc] = $5,25 \times 10^{-8}$ [5-TDG] = $2,55 \times 10^{-2}$		[^{99}Tc] = $5,25 \times 10^{-8}$ [5-TDG] = $1,28 \times 10^{-2}$	
$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A
209,0	2,8983	198,5	2,4623	222,5	3,1639	218,5	3,1356	220,0	3,1639
				271,0	3,4188	269,0	2,8983	268,5	3,4188
				306,5	3,5166	295,0	2,7520	293,0	3,5166

Exemplo 4: Análise por CLAE de 5-tio-D-glicose puro

Conforme observado no cromatograma da figura 4, o 5-tio-D-glicose puro apresentou três picos de tempo de retenção. Seus valores são mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Valores de tempo de retenção (Tr), no canal 197 nm, para os picos presentes no cromatograma do 5-TDG não marcado.

Eluente	Canal (nm)	Pico	Tr (min)	Contribuição dos picos (%)
Acetonitrila/	197	Tr1	3,274	27,5
água		Tr2	6,319	41,7
3:1		Tr3	7,888	30,8

Quando marcado, o 5-tio-D-glicose possibilita o aparecimento de novo pico que não estes correspondentes ao monossacarídeo puro, certamente aumentando seu tempo de retenção devido à formação da ligação coordenada do átomo de enxofre ao metal.

Exemplo 5: Análise da a sobreposição dos cromatogramas de CLAE do 5-TDG, ^{99}Tc e marcações Tc1, Tc2 e Tc3

A Figura 5 apresenta a sobreposição dos cromatogramas do 5-TDG, ^{99}Tc e marcações Tc1, Tc2 e Tc3 a 197 nm. As Análises por CLAE das marcações do 5-tio-D-glicose com ^{99}Tc , pode ser vista a seguir. Eluiu-se, inicialmente, apenas o padrão contendo ^{99}Tc a fim de conhecer seu tempo de retenção (TR) para, posteriormente, compará-lo aos valores de TR das marcações Tc1, Tc2 e Tc3. Todos os valores de TR são apresentados na tabela 4 juntamente com as interpretações de seus valores.

Tabela 4. Valores de tempo de retenção (Tr) para os picos presentes nos cromatogramas do padrão ^{99}Tc e suas marcações nos canais 197 e 210 nm. Eluente acetonitrila/água 3:1.

Canal	197 nm			210 nm		
Solução	Pico	Tr (min)	%	Pico	Tr (min)	%
5-TDG	Tr1	3,274	27,5	Tr1	3,271	32,5
	Tr2	6,319	41,7	Tr2	6,331	40,7
	Tr3	7,888	30,8	Tr3	7,892	26,8
Tc	Tr1	3,295	55,4	Tr1	3,286	50,4
	Tr2	4,126	44,6	Tr2	4,163	49,6
Tc1	Tr1	3,320	29,2	Tr1	3,337	29,5
	Tr2	4,006	18,1	Tr2	4,043	5,7
	Tr3	6,022	52,7	Tr3	6,035	64,8
Tc2	Tr1	3,214	29,3	Tr1	3,209	2,5
	Tr3	6,095	70,7	Tr3	6,147	97,5
Tc3	Tr1	3,396	37,9	Tr1	3,390	8,6
	Tr2	3,935	11,3	Tr2	4,017	3,7
	Tr3	6,273	50,8	Tr3	6,189	87,7

- 5 Considera-se aqui, primariamente, que o chamado padrão ^{99}Tc é na verdade uma mistura da eluição oriunda da coluna do gerador de tecnécio. Esta, por sua vez, apresenta impureza química, que podem ser permolibdenato MoO_4^- , metais livres como Mo e Tc e ainda seus óxidos, nos quais seus estados de oxidação podem variar de 1^+ a 7^+ . Para o pico Tr1, a 197 nm, nota-se pouca
- 10 alteração do tempo de retenção do padrão ^{99}Tc (3,295 min) para as tentativas de marcação Tc1 (3,320 min), Tc2 (3,214) e Tc3 (3,396 min). O mesmo pico Tr1, no canal 210 nm, apresentou comportamento similar ao do canal 197 nm com Tc (3,286 min) e as marcações Tc1 (3,337 min), Tc2 (3,209 min) e Tc3 (3,390 min). Logo, o pico Tr1 pode ser o nuclídeo livre tanto na solução do padrão quanto nas
- 15 soluções das tentativas de marcação. O pico Tr2 (4,126 min), em 197 nm, identificado no padrão Tc parece sofrer um deslocamento com ganho de tempo nos produtos de marcação, originando o pico Tr3 nas marcações como Tc1 (6,022 min), Tc2 (6,095 min) e Tc3 (6,273 min). Em Tc2 não houve a percepção do pico de retenção indicado por Tr2 em ambos os comprimentos de onda. Em
- 20 210 nm, observa-se que Tr2 apresenta-se em 4,163 min e nas marcações como Tc1 (6,035 min), Tc2 (6,147 min) e Tc3 (6,189 min). Sugere-se que Tr3 então seja ao nuclídeo tecnécio marcando 5-tio-D-glicose.

Exemplo 7: Análise do espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose

A Figura 6 apresenta o espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose (linha fina) e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose (linha com marcador) em seus principais picos de absorção. É importante ressaltar a ocorrência de dois picos no espectrograma do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose, a saber, 1396 e 1240 cm^{-1} , que não são encontrados no espectrograma do açúcar puro. Logo, credita-se que tais picos correspondam à ligação tão esperada entre os dois compostos.

Pela sobreposição dos espectrogramas do açúcar 5-tio-D-glicose e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose, observa-se: i) as frequências comuns entre os dois compostos em que são nítidas as ligações OH e CH; ii) as frequências que apareceram apenas no espectrograma do produto complexado ^{99}Tc -5-tio-D-glicose podem corresponder à ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o íon ^{99}Tc . Porém, não se pode confirmar claramente tal ligação, pois não há menção na literatura no que se refere à análise por infravermelho envolvendo metais de transição interna como o tecnécio. iii) a intensidade de transmitância dos picos g e h referem-se à baixa concentração do tecnécio nas amostras.

Tabela 6. Principais frequências de absorção de radiação infravermelha para o complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose. Os valores de frequência entre parênteses são de referência encontrados na literatura, os valores anteriores são experimentais.

Pico	Grupo	Frequência (cm^{-1})	Modo vibracional	Observações
A	$R\text{-CH}_2\text{-OH}$	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
A	$(R)_2\text{CH-OH}$	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
B	$R'\text{-CH}_2\text{-R}''$	2394 (2843-2863)	Estiramento simétrico	
B	$(R)_3\text{CH}$	2394 (2880-2900)	Estiramento	
C		2166		
D	CH	1656	Deformação	
E	$R\text{-CH}_2\text{-OH}$	1090 (1000-1075)	Estiramento	Álcool primário
E	$(R)_2\text{CH-OH}$	1090 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
E	C-S-C	1090-1110	Estiramento assimétrico	Éter no anel de 6 átomos
F	C-S-C	850-820	Estiramento simétrico	
G	$\text{S} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$	1396		
H	$\text{S} \rightarrow ^{99}\text{Tc}$	1240		

Exemplo 8: resposta de cromatografia em camada delgada

5 A figura 7 (a) apresenta medidas de cromatografia de camada delgada em sílica gel, obtidas da corrida do eluente retirado do gerador de Tc-99m, em acetona, através de equipamento radiodetector. Observou-se que o tecnécio livre corre na cromatografia atingindo a distância máxima do papel, a integral do gráfico TLC fornece Rf de 0.942, em um total de 92.41%. Na figura 7(b) pode-se observar o gráfico de cromatografia de camada delgada em sílica gel do composto de açúcar 1-thio-d-glucose marcado com Tc-99m eluído do gerador, com pH corrigido para 6.0, corrido após marcação, em acetona. Observou-se que
10 o composto marcado não corre da mesma forma que o Tc-99m livre, demonstrando claramente a marcação do açúcar. A integral do gráfico TLC para o açúcar marcado fornece Rf de 0,021 e o rendimento de marcação foi de 95.38%, obtido da área sob a curva.

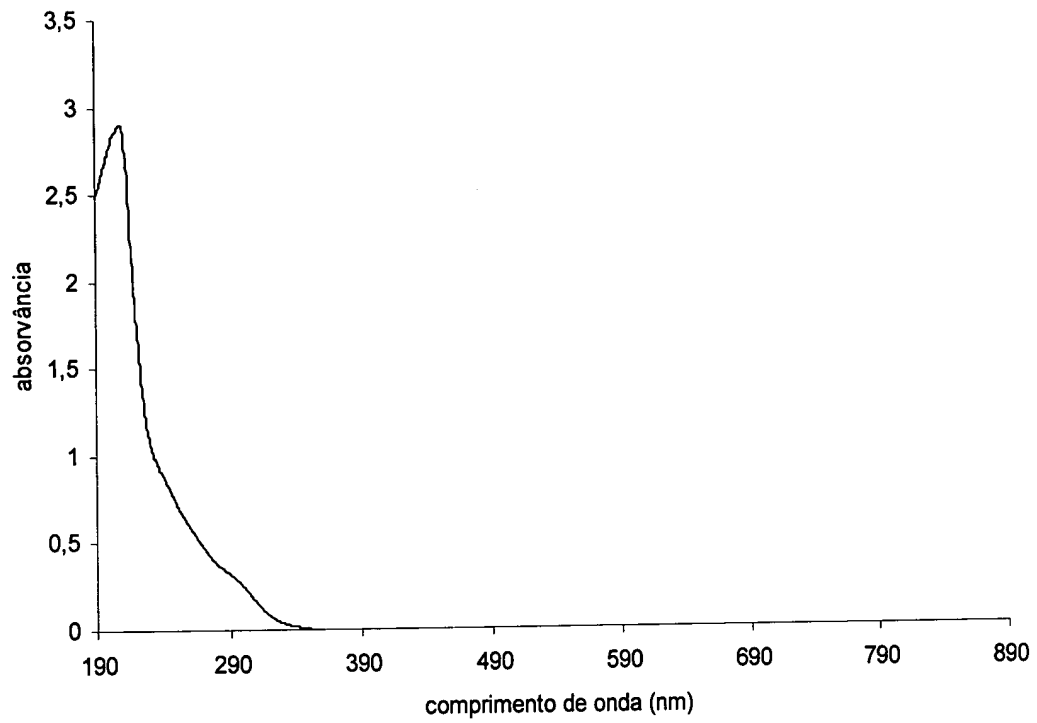
15 Exemplo 9: resposta cintilográfica de modelo em rato

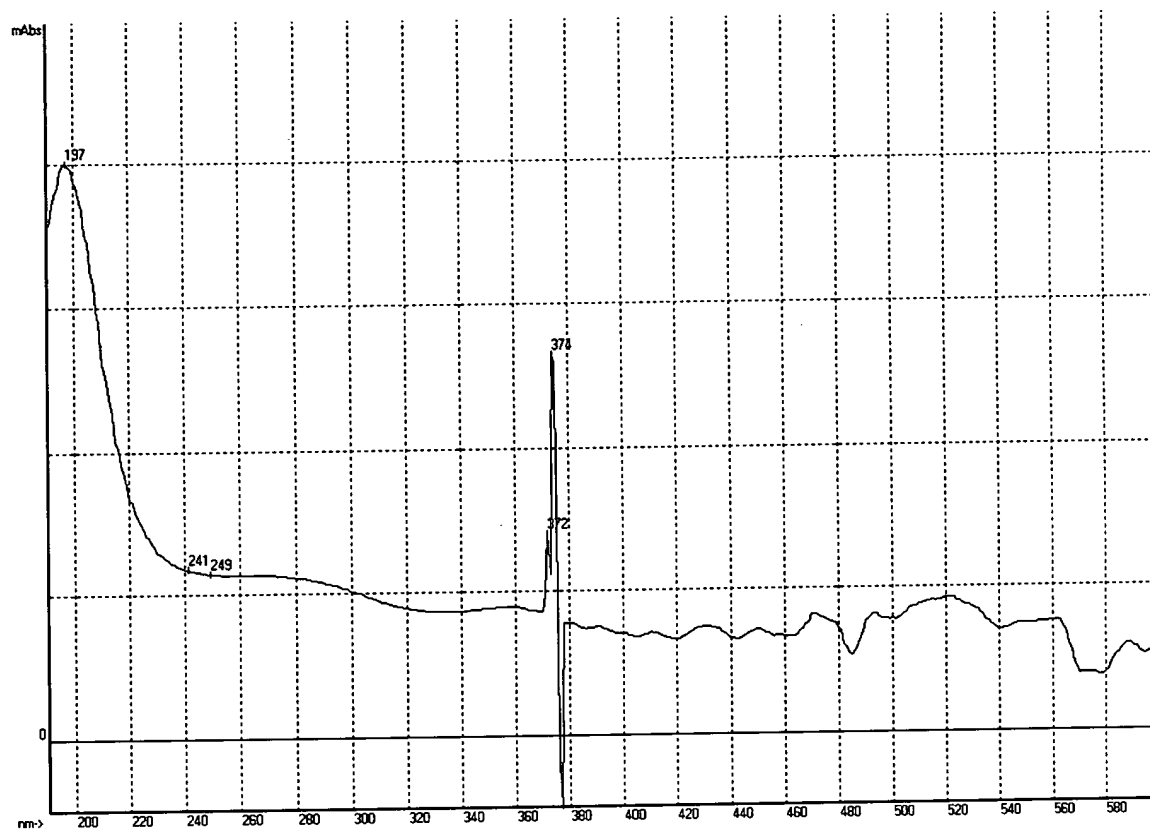
A Figura 8 ilustra uma resposta cintilográfica de modelo em rato obtido após indução da inflamação na articulação temporomandibular esquerda, tomada 30 minutos após injeção do composto marcado com Tc-99m por via intravenosa. Observa-se na cabeça pequena captação cerebral e abaixo elevada captação na
20 ATM (articulação temporomandibular) esquerda inflamada.

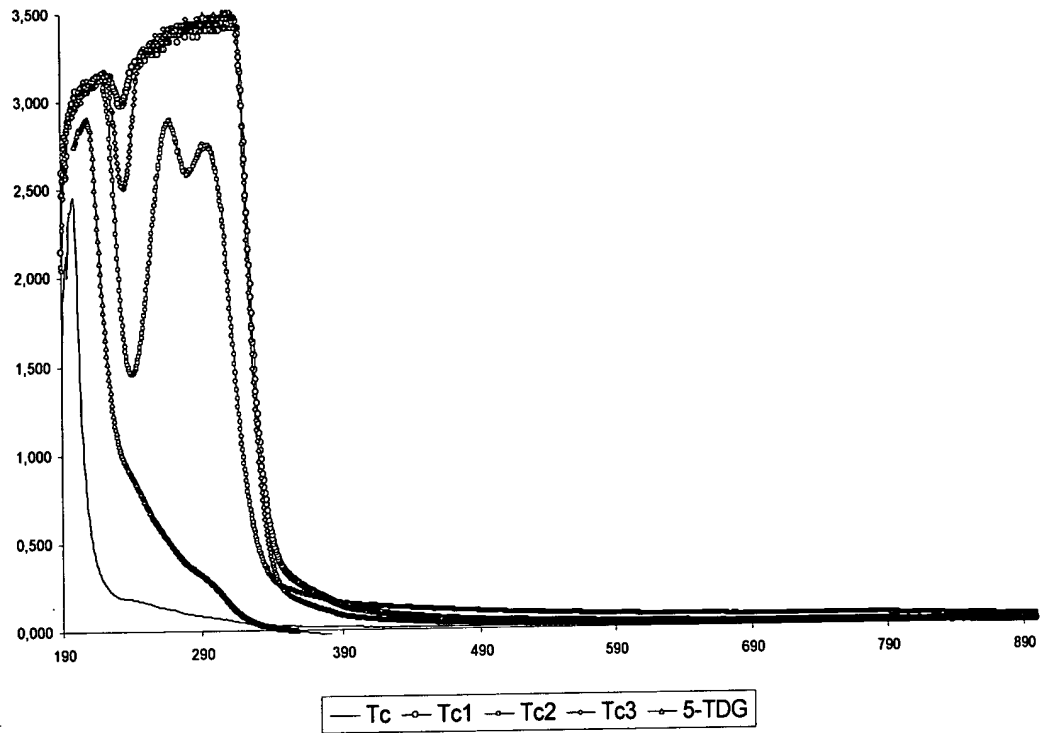
REINVINDICAÇÕES

1. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, caracterizado por compreender uma molécula de análogo de açúcar complexada a um radionuclídeo emissor de raios-gama ou raios-X.
- 5 2. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, de acordo reivindicação 1, caracterizado por o análogo do açúcar ser selecionado do grupo compreendendo: tioglicose, tiopirranose ou tiofuranose.
- 10 3. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, de acordo reivindicação 2, caracterizado por o análogo do açúcar apresentar um grupo S para ligação com o radionuclídeo, independente de sua posição no anel e ocorrência de radicais orgânicos R em outras posições.
- 15 4. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, de acordo com as reivindicações 2 e 3 caracterizado por o análogo do açúcar ser preferencialmente os compostos: 1-beta-d-tio-glicose e 5-tio-glicose.
- 20 5. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, de acordo reivindicação 1 caracterizado pelo radionuclídeo ser metaestável ou emissor por captura eletrônica, selecionados do grupo compreendendo Tc-99m, In-111, I-123, Ga-67 ou Tl-201.
6. **RADIOFÁRMACO PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS**, de acordo com as reivindicações 1 a 6, caracterizado por manter as mesmas propriedades químicas da molécula marcada .
- 25 7. **COMPOSIÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS**, caracterizadas por compreenderem o radiofármaco descrito na reivindicação 1, e pelo menos um veículo farmacêutico e fisiologicamente aceitável.
8. **COMPOSIÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS**, de acordo com a reivindicação 8, caracterizadas pelo veículo ser selecionado do grupo compreendendo água para injetáveis, solução salina estéril, solução tampão.

9. **COMPOSIÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS**, de acordo com as reivindicações 1 a 9, caracterizadas por serem administradas pelas vias intramuscular, intravenosa, subcutânea, transdérmica ou como dispositivos que
5 possam ser implantados ou injetados.
10. **COMPOSIÇÕES RADIOFARMACÊUTICAS**, de acordo com as reivindicações 8 a 10, caracterizadas por ser na preparação de medicamentos para diagnóstico de processos inflamatórios ou infecciosos
11. **MÉTODO PARA DIAGNÓSTICO DE PROCESSOS INFLAMATÓRIOS E**
10 **INFECCIOSOS**, caracterizado pela administração da composição descrita nas reivindicação 8 a 10.

FIGURAS**Figura 1**

**Figura 2**

**Figura 3**

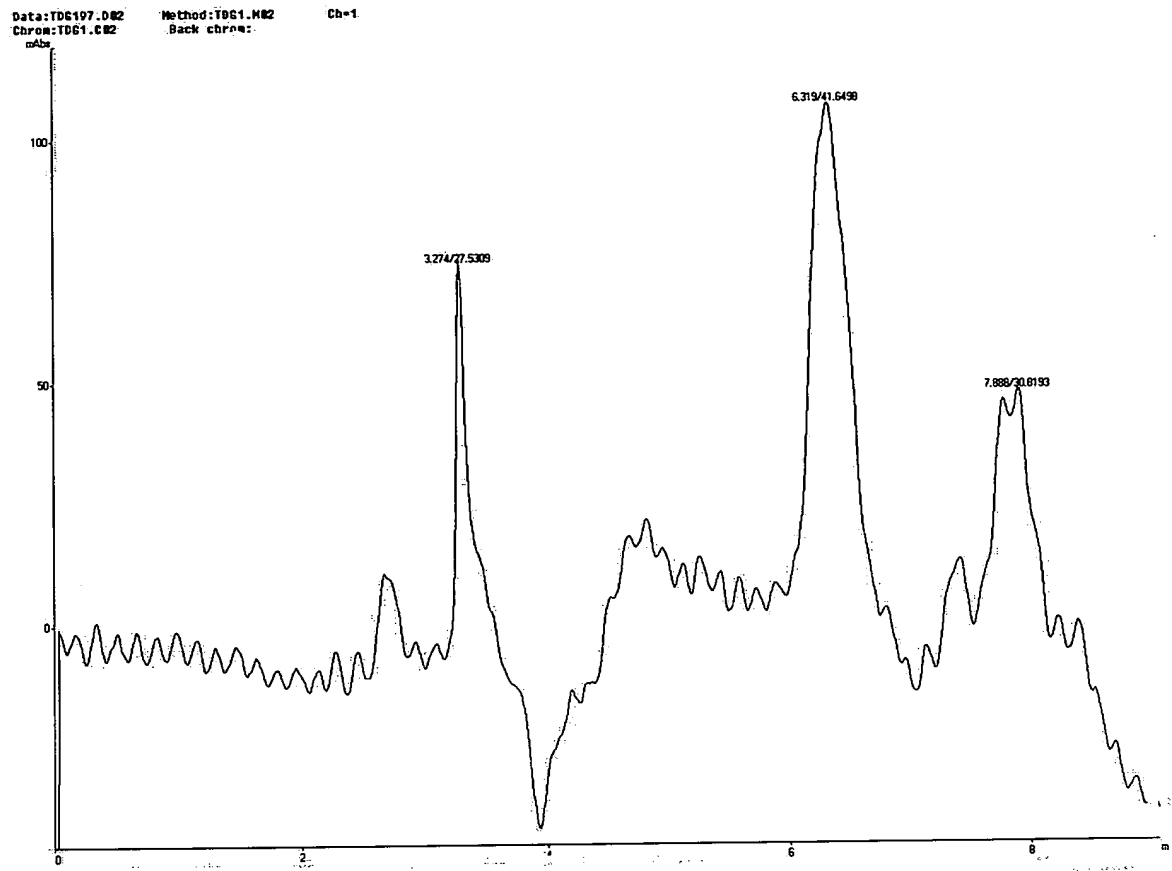
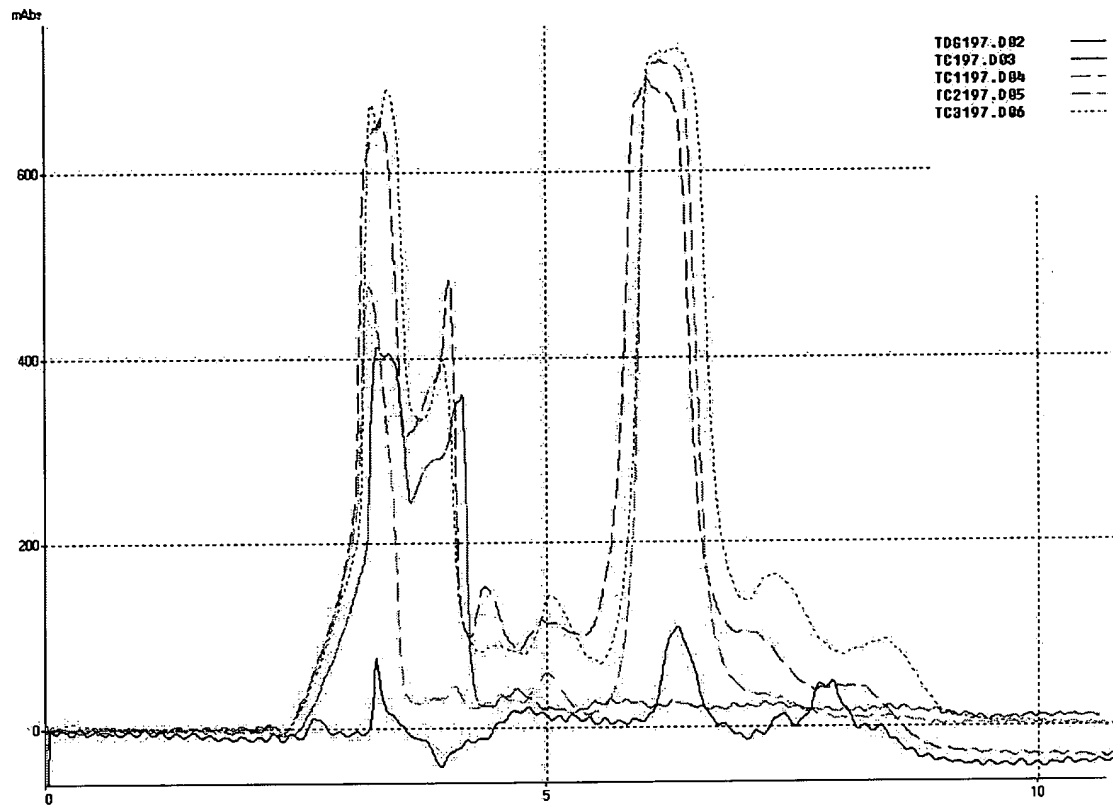
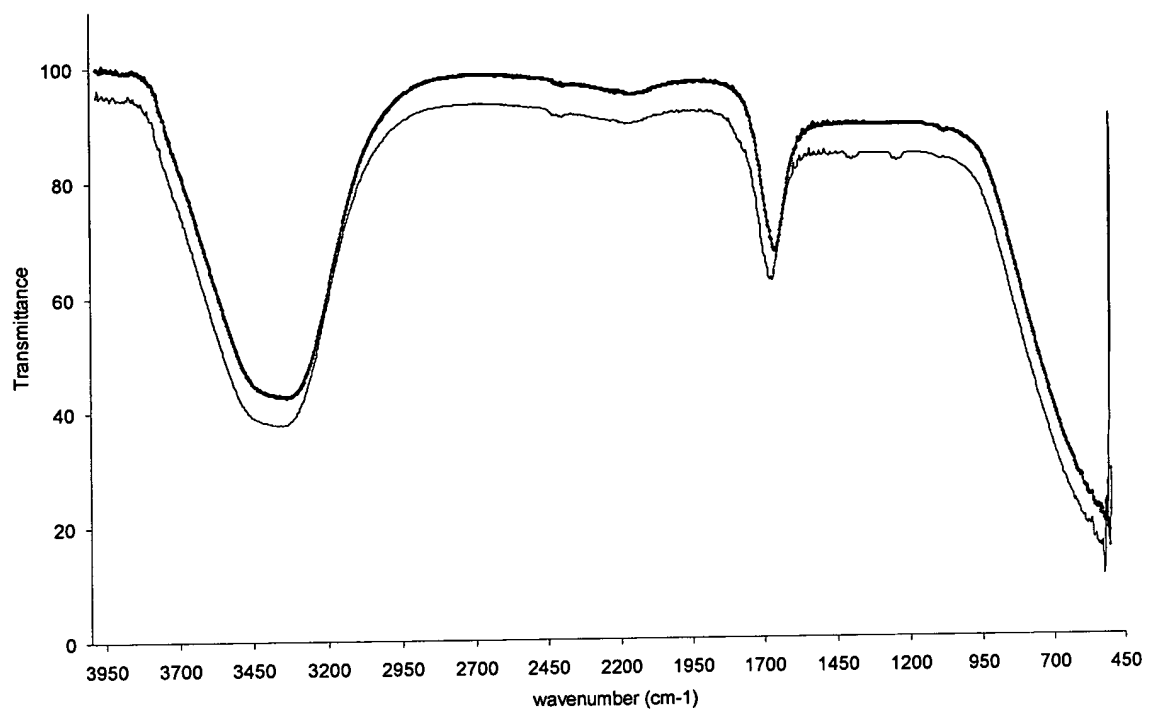


Figura 4

**Figura 5**

**Figura 6**

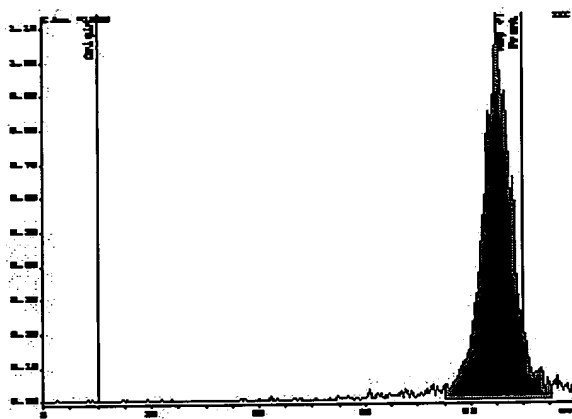


Figura 7(a)

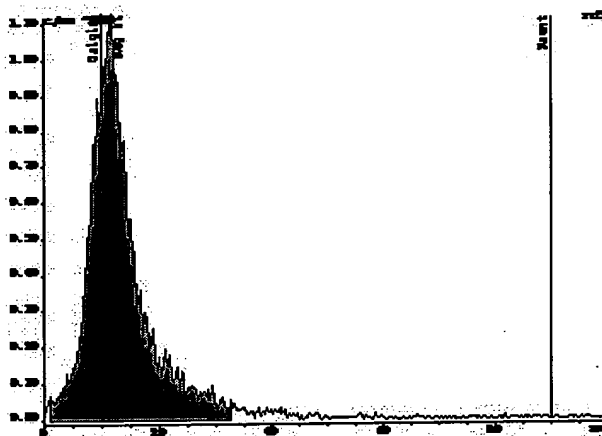


Figura 7(b)



Figura 8

RESUMO**"RADIOFÁRMACO E SUAS COMPOSIÇÕES PARA CINTILOGRAFIA DE SÍTIOS INFLAMATÓRIOS E INFECCIOSOS"**

5 A presente invenção refere-se a um radiofármaco constituído de um radionuclídeo complexado a uma molécula análoga da glicose para a cintilografia de processos inflamatórios e infecciosos.

10 A invenção compreende os compostos de tio-açúcares e seus derivados, e um radionuclídeo emissor de raios gama ou raios-X, tais como Tc-99m ou In-111, bem como suas composições radiofarmacêuticas compreendendo veículo fisiologicamente aceitável selecionados do grupo compreendendo água para injetáveis, solução salina estéril, solução tampão. Possibilitando assim a cintilografia de inflamações de luxação, necrose vascular, abscessos, necroses teciduais, edemas, infecções em próteses, identificação de sepsias, inflamações induzidas por neoplasias, inflamações imuno-relacionadas, infecções sépticas e
15 assépticas associadas, inflamações radio induzidas, infecções e inflamações induzidas em implantes e transplantes, doenças reumatóides, artrites, e disfunções nas pequenas e grandes articulações, bem como infecções variadas.