



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112015022129-7 B1



(22) Data do Depósito: 10/03/2014

(45) Data de Concessão: 19/04/2022

(54) Título: SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO

(51) Int.Cl.: A61K 41/00; A61K 49/18; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 11/03/2013 US 61/775,780.

(73) Titular(es): ENDOMAGNETICS LTD.

(72) Inventor(es): ANDREW P. SHAWCROSS; JOHN GONZALEZ-CARVAJAL; MARC BROWN; ROB TURNER.

(86) Pedido PCT: PCT GB2014050698 de 10/03/2014

(87) Publicação PCT: WO 2014/140543 de 18/09/2014

(85) Data do Início da Fase Nacional: 09/09/2015

(57) Resumo: SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO Trata-se de composições para a detecção rápida de linfonodos, no campo de diagnósticos médicos. As composições incluem partículas magnéticas, tais como óxido de ferro, e um soluto presente em uma quantidade que resulta em uma solução hiposmótica. Também são fornecidos métodos para detectar linfonodos.

RELATÓRIO DESCRITIVO

SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO

PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica a prioridade do pedido de patente provisório no 61/775.780 depositado em 11 de março de 2013, cujo conteúdo completo encontra-se incorporado ao presente documento a título de referência.

CAMPO DA INVENÇÃO:

[002] A invenção refere-se ao campo de diagnósticos médicos em geral e dispositivos e métodos para diagnóstico para localização de tecido para excisão cirúrgica.

ANTECEDENTES

[003] Aproximadamente 1,25 milhão de novos casos de câncer de mama são diagnosticados a cada ano. Na maioria desses casos, há uma necessidade urgente de cirurgia para remover o tumor e submeter à excisão os linfonodos sentinelas e inspecioná-los histologicamente para determinar se o câncer tem se espalhado para outros locais no corpo. Os linfonodos sentinelas são os primeiros nodos a receberem drenagem linfática a partir do tumor. São assim chamados devido ao fato de que alertam o clínico de qualquer difusão de câncer. Uma biópsia de linfonodo sentinela é um padrão de tratamento em operações de câncer de mama atualmente.

[004] A localização de nodos sentinelas durante a cirurgia é difícil. Um método para localizar o nodo sentinela é injetar um corante azul escuro no sistema linfático na mama. O corante, então, se dispersa por todo o sistema linfático da mama e o cirurgião remove quaisquer nodos coloridos. Esse método é reconhecido como sendo propenso a erros.

[005] Um método aprimorado envolve injetar um corante radioativo nos linfonodos. De uma maneira similar, o corante flui através do sistema linfático e o cirurgião, então, usa um detector de radiação para ajudar a localizar os nodos sentinelas. Contudo, o uso de radioisótopos apresenta um fardo logístico

dispendioso e significativo devido à necessidade de alocar o tempo e recursos de um radiologista de medicina nuclear além do cirurgião para o qual é de outro modo uma operação de rotina. Adicionalmente, muitos pacientes são relutantes a receber uma injeção radioativa. Esses fatores podem ser tornar uma barreira significativa para o uso de radioisótopos para localizar os nodos sentinelas.

[006] Um método aprimorado adicional envolveu injetar suspensões de partículas magnéticas nos linfonodos e aguardar que as partículas magnéticas escoem através do sistema linfático. As partículas são, então, detectadas com o uso de um magnetômetro, o qual revela o local dos linfonodos. Consulte o documento sob o no. US2011/0133730. As soluções de técnica anterior, tais como Sienna+®, têm uma osmolalidade muito baixa de cerca de 30 mOsm/kg. Sienna+® é uma solução aquosa de nanopartículas de maghemita revestidas em carboxidextrano, que tem uma concentração de ferro de cerca de 25,5 a 29,5 mg/ml. Leva-se cerca de 30 minutos para as partículas magnéticas em uma injeção de Sienna+® escoarem de maneira suficiente através do sistema linfático para assegurar a detecção de linfonodo precisa, o qual pode potencialmente causar tempo de inatividade significativo e dispendioso durante os procedimentos cirúrgicos. Consequentemente, os médicos impacientes podem tentar detectar os linfonodos cedo demais — isto é, antes de as partículas magnéticas tiveram escoados de maneira suficiente através do sistema linfático — o qual poderia resultar na detecção incompleta de linfonodo.

[007] Portanto, existe a necessidade de composições que possibilitam procedimentos mais eficazes.

[008] A presente invenção se dirige a essa necessidade.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[009] A invenção se refere a uma suspensão hiposmótica para injeção médica. Em uma modalidade, a composição inclui cerca de 13 mg/ml a cerca de 200 mg/ml de partículas magnéticas, e um osmólito a partir de cerca de 0,01% em peso por volume a cerca de 0,6% em peso por volume de um sal inorgânico (por

exemplo, cloreto de sódio) ou cerca de 0,5% em peso por volume a cerca de 1,5% em peso por volume de um glicol.

[0010] As modalidades das suspensões hiposmóticas podem incluir um ou mais dos recursos apresentados a seguir:

[0011] As partículas magnéticas podem ser partículas de óxido de ferro, tais como partículas de óxido de ferro superparamagnéticas (por exemplo, maghemita).

[0012] As partículas magnéticas podem ser revestidas, tal como com dextrano (por exemplo, carboxidextrano).

[0013] As suspensões podem ter cerca de 13 mg/ml de partículas magnéticas, cerca de 28 mg/ml de partículas magnéticas, 56 mg/ml de partículas magnéticas, 100 mg/ml de partículas magnéticas, 140 mg/ml de partículas magnéticas ou cerca de 200 mg/ml de partículas magnéticas.

[0014] A suspensão pode ter uma osmolalidade de cerca de 80 mOsm/kg a cerca de 160 mOsm/kg.

[0015] A suspensão pode incluir um excipiente.

[0016] O sal inorgânico pode estar presente na quantidade de cerca de 0,01% em peso por volume a 0,6% em peso por volume, cerca de 0,05% em peso por volume a 0,3% em peso por volume, cerca de 0,1% em peso por volume a 0,3% em peso por volume, menos que cerca de 0,6% em peso por volume ou cerca de menos que cerca de 0,3% em peso por volume.

[0017] A invenção também fornece um método para localizar um linfonodo em um paciente (por exemplo, um ser humano). O método inclui as etapas de: fornecer uma suspensão hiposmótica; injetar a suspensão hiposmótica no paciente; aguardar até que as partículas magnéticas fiquem capturadas em um linfonodo; e detectar o local do linfonodo mediante a detecção do local das partículas magnéticas.

[0018] O método pode incluir um ou mais dentre os recursos a seguir:

[0019] O método pode incluir injetar 0,2 ml de suspensão hiposmótica, 0,4 ml de suspensão hiposmótica ou 0,8 ml de suspensão hiposmótica no paciente.

[0020] A detecção pode ser realizada com o uso de um magnetômetro.

[0021] A invenção também fornece um método para localizar rapidamente um linfonodo em um paciente (por exemplo, um ser humano). O método pode incluir as etapas de: fornecer uma suspensão hiposmótica que compreende partículas magnéticas; injetar a suspensão hiposmótica no paciente; e detectar um linfonodo dentro de 10 minutos, ou dentro de apenas 5 minutos, de injeção mediante a detecção do local das partículas magnéticas, sendo que a detecção é suficiente para começar imediatamente um procedimento médico no linfonodo com base na detecção.

[0022] A invenção também fornece um método para tratar um paciente com o uso de hipertermia magnética, sendo que o método compreende as etapas de: fornecer a suspensão hiposmótica; injetar a suspensão hiposmótica no paciente; e expor o paciente a um campo magnético alternante.

Breve Descrição dos Desenhos

[0023] As figuras não são necessariamente em escala, em vez disso, são enfatizadas geralmente sob princípios ilustrativos. As figuras devem ser consideradas ilustrativas em todos os aspectos e não se destinam a limitar a invenção, cujo escopo é definido apenas pelas reivindicações.

[0024] A Figura 1. Medições de magnetômetro SentiMag® (Abs Unit) na glândula linfática para diversas soluções hiposmóticas à base de sal. Os resultados são apresentados como média $\pm$ SEM a partir de 0 a 2 h, n=3.

[0025] A Figura 2. Medições de magnetômetro SentiMag® (Abs Unit) no linfonodo para diversas soluções hiposmóticas à base de sal e com base diferente de sal. Os resultados são apresentados como média $\pm$ SEM a partir de 0 a 120 min., n=3.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0026] A invenção refere-se em parte à descoberta de composições úteis para a detecção rápida de linfonodos em pacientes. Essas composições incluem suspensões de partículas magnéticas em uma solução hiposmótica. A osmolalidade das soluções hiposmóticas facilita o transporte ou drenagem rápida das partículas magnéticas através do sistema linfático após a injeção, reduzindo, assim, o tempo de inatividade entre a injeção inicial e a detecção de linfonodo. Os linfonodos adjacentes ao sítio de injeção podem ser detectados vigorosamente em apenas 5 a 15 minutos após a injeção inicial, o qual é pelo menos 50% mais rápido que os métodos atuais, permitindo, assim, o exame pré-operatório mais eficaz. Além disso, as soluções hiposmóticas da invenção são solventes versáteis e podem ser usadas com uma faixa mais ampla de excipientes que as soluções isotônicas ou hipertônicas. Adicionalmente, o movimento rápido para os linfonodos pode reduzir a marcação residual, ou tatuagem, no sítio de injeção.

[0027] As soluções hiposmóticas dentro do sentido da invenção são soluções aquosas que têm uma osmolalidade de cerca de 80 mOsm a cerca de 160 mOsm. As soluções isotônicas têm uma osmolalidade em torno de 300 mOsm, e as soluções hiperosmótica têm uma osmolalidade maior que 350 mOsm.

[0028] Em modalidades preferenciais, um sal inorgânico (por exemplo, cloreto de sódio) ou um glicol (por exemplo, propileno glicol) é usado para criar a solução hiposmótica. As soluções de sal inorgânico (por exemplo, cloreto de sódio) que têm cerca de 0,01% em peso por volume a cerca de 0,6% em peso por volume de um sal rendem soluções hiposmóticas adequadas para o uso com a invenção. As soluções de glicol (por exemplo, propileno glicol) que têm cerca de 0,5% em peso por volume a cerca de 1,5% em peso por volume de um glicol rendem soluções hiposmóticas adequadas para o uso com a invenção.

[0029] As soluções hiposmóticas podem ser produzidas com o uso de sais inorgânicos adequados incluindo, por exemplo, sais monovalentes e divalentes, tais como cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de magnésio, cloreto de

amônio, bicarbonato de sódio, bissulfato de sódio, sulfato de sódio, sulfato de amônio, fosfato de sódio, fosfato de potássio, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio, acetato de potássio e acetato de sódio.

[0030] As soluções hiposmóticas podem ser produzidas com o uso de glicóis adequados incluindo, por exemplo, alquil glicóis de cadeia curta, lineares ou ramificados, tais como propileno glicol.

[0031] As partículas magnéticas podem ser compostas de um material magnético adequado e um ou mais revestimentos. Em algumas modalidades, as partículas magnéticas contêm um óxido de ferro, tal como magnetita e/ou maghemita. O núcleo magnético pode ser circundado por um revestimento biocompatível para reduzir a toxicidade, impedir a aglomeração das partículas ou para modificar o tempo de residência no corpo. Os revestimentos adequados incluem, por exemplo, dextrano, carboxidextrano, outros açúcares, albumina, polietileno glicol (PEG), polímeros biocompatíveis, amido peguilado, álcool polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polietileno imina (PEI), poliglicose sorbitol carboxi metil éter e quitosano. Outros materiais de revestimento incluem metais, tais como ouro, nanopartículas de ouro coloidal peguilado, prata, carbono, sílica, silicones, aminossilanos e cerâmicas. Para exibir o comportamento superparamagnético, os núcleos magnéticos das partículas deveriam ter abaixo de um determinado diâmetro, tipicamente, na faixa de 3 a 25 nm, dependendo do material e estrutura.

[0032] As partículas magnéticas também podem ser funcionalizadas para permitir que as mesmas localizem em tipos particular de tecido ou célula, por exemplo, células cancerígenas, ou alvejem sistemas biológicos particulares a fim de liberar terapia para aquelas áreas. A funcionalização é alcançada mediante a fixação ou revestimento com biovetores que compreendem, por exemplo, anticorpos, enzimas ou proteínas.

[0033] Em uma modalidade, o óxido de ferro é usado como o núcleo magnético devido a sua baixa toxicidade, mas outros materiais que podem formar um

núcleo superparamagnético também são aceitáveis. O material de núcleo deveria ter capacidade de ser ordenado magneticamente. O mesmo pode ser um metal, tal como cobalto, ferro ou níquel, uma liga metálica, liga de metal de transição e terra rara, ferrita do tipo M ou espinélio contendo alumínio, bário, bismuto, cério, cromo, cobalto, cobre, disprosio, érbio, európio, gadolínio, hólmio, ferro, lantânio, lutécio, manganês, molibdênio, neodímio, níquel, nióbio, paládio, platina, praseodímio, promécio, samário, estrôncio, térbio, túlio, titânio, vanádio, itérbio e ítrio ou uma mistura dos mesmos. O núcleo também pode ser formado mediante a oxidação de uma combinação de um sal de ferro (II) e outro sal metálico. Os sais metálicos que são benéficos incluem sais de alumínio, bário, bismuto, cério, cromo, cobalto, cobre, disprosio, érbio, európio, gadolínio, hólmio, ferro, lantânio, lutécio, manganês, molibdênio, neodímio, níquel, nióbio, paládio, platina, praseodímio, promécio, samário, estrôncio, térbio, túlio, titânio, vanádio, itérbio e ítrio.

[0034] A osmolalidade das soluções hiposmóticas tem a vantagem adicional de permitir a combinação com uma ampla gama de excipientes, resultando em diversas opções de formulação. Os excipientes adequados que podem ser usados com as soluções hiposmóticas da invenção incluem, por exemplo:

- cossolventes, tais como etanol, propileno glicol, polipropileno glicol, PEG 400, glicerol, álcool benzílico, e combinações dos mesmos;
- óleos, tais como lipídios, parafina líquida, óleo de gergelim, óleo vegetal de PEG, e combinações dos mesmos; tensoativos, tais como ésteres de ácido graxo de polioxileno, óleo de rícino de polioxil 40, polissorbato 20, polissorbato 80, e combinações dos mesmos;
- lipossomas, tais como lecitina, lecitina de ovo, fosfatidil glicerol, fosfolipídio, fosfolipídio de ovo, e combinações dos mesmos;
- carboidratos, tais como dextrose;
- aminoácidos ou misturas de aminoácidos, tais como Aminosyn® II, Travasol®, e HEPAT AMINE®;

- agentes estabilizantes/espessantes, tais como carboximetilcelulose; e
- tampões adequados para injeção.

Se um excipiente aumentar a osmolalidade de uma solução, a quantidade de sal inorgânico e/ou glicol pode ser ajustada de modo que a osmolalidade total da solução hiposmótica é entre cerca de 80 mOsm e cerca de 160 mOsm.

[0035] As composições da invenção podem ser usadas para detectar linfonodos em seres humanos ou qualquer outro mamífero, tal como porcos. Por exemplo, uma solução hiposmótica que compreende partículas magnéticas podem ser injetadas em um paciente de câncer de mama. As partículas magnéticas na solução são, então, detectadas com o uso de um magnetômetro, tal como SentiMag® (Endomagnetics; Cambridge, U.K.) para revelar o local dos linfonodos sentinelas no paciente.

[0036] Uma aplicação adicional da solução hiposmótica é em hipertermia magnética, em que a solução é administrada ao corpo com o propósito de aquecer o tecido. Nesse pedido, a concentração de nanopartículas é entre 20 e 200 mg/ml e com mais preferência entre 100 e 140 mg/ml.

[0037] As composições hiposmóticas da invenção podem ser supridas prontas para o uso como parte de um kit que compreende um recipiente, tal como frasco ou seringa, e instruções para a administração das composições.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1

[0038] Os testes clínicos com pacientes humanos com o uso de 2 ml de Sienna+® (Endomagnetics; Cambridge, U.K.) mostraram gerar absorção lenta nos linfonodos axilares, com um sinal externo insatisfatório após 30 minutos. Sienna+® é altamente hipotônico, com uma osmolalidade de ~30 mOsm/kg. Foi especulado que quando Sienna+® foi injetado no tecido intersticial, as células circundantes absorveram rapidamente a água a partir da injeção para manter a pressão osmótica. Isso deixaria uma massa mais concentrada de Sienna+®, enquanto que reduziria simultaneamente a pressão intersticial, reduzindo, de

maneira eficaz o transporte para o sistema linfático. Acredita-se que um aumento em volume aumenta a pressão intersticial e aumenta, assim, a velocidade de absorção pelo sistema linfático. Contudo, grandes aumentos em volume poderiam se mostrar desconfortáveis para o paciente. Além disso, algumas aplicações potenciais para a biópsia de linfonodo sentinela (por exemplo, câncer de intestino, melanoma, alguns cânceres de cabeça e pescoço) não permitirão um aumento em volume de injeção. Foi sugerido que uma solução com osmolalidade aumentada iria fornecer uma resposta mais rápida à medida que o volume de fluido e a pressão no fluido intersticial seriam mantidos (isotônicos) ou até aumentados (para injeção hipertônica, em que as células circundantes iriam expelir água), aumentando, dessa forma, o fluxo para os linfonodos.

MÉTODOS

[0039] As mamas de porco foram usadas como um modelo de linfonodo *in vivo*. Uma investigação foi realizada para avaliar os efeitos da concentração e volume de solução de nanopartícula de maghemita revestida com carboxidextrano sobre a biodistribuição de partículas de óxido de ferro superparamagnéticas em porcos, após uma injeção da solução diretamente na 3ª papila inguinal. O núcleo de maghemita tinha um diâmetro de cerca de 5 nm, e o revestimento de carboxidextrano aumentou o diâmetro da partícula a cerca de 60 a 70 nm. O objetivo desse estudo foi avaliar a biodistribuição das partículas de óxido de ferro superparamagnéticas em linfonodos de porco após as injeções da solução de nanopartícula de maghemita preparada com 0,3, 0,6 e 0,9% em peso por volume de cloreto de sódio. A influência da tonicidade sobre a biodistribuição de linfonodo das partículas foi avaliada através do uso de uma sonda magnética SentiMag®.

[0040] Antes da injeção, os porcos foram sedados com uma combinação intramuscular de azaperona e cetamina, seguida pela anestesia geral com tiopental sódico. Antes da administração, as áreas de administração foram lavadas e demarcadas.

[0041] Todas as injeções foram feitas diretamente na base da 3a papila inguinal. Cada porco recebeu uma injeção diferente na papila esquerda e na papila direita. Cada uma das soluções de foi injetada em três papilas de porcos diferentes (n = 3). A Tabela 1 mostra as formulações testadas. Na Tabela 1, a coluna "Sistema" corresponde às curvas na Figura 1.

TABELA 1 FORMULAÇÕES TESTADAS.

Sistema	Tonicidade	Volume de injeção	Ferro total	Concentração de ferro
a	0,3% em peso por volume de solução salina	0,4 ml	10,4 mg	26 mg/ml
b	0,6% em peso por volume de solução salina	0,4 ml	10,4 mg	26 mg/ml
c	0,9% em peso por volume de solução salina	0,4 ml	10,4 mg	26 mg/ml
d	0,9% em peso por volume de solução salina	0,8 ml	20,8 mg	26 mg/ml
e	0	0,2 ml	10,4 mg	52 mg/ml
f	0	0,4 ml	20,8 mg	52 mg/ml
g	0	0,4 ml (Sienna+®. controle)	10,4 mg	26 mg/ml
h	0	0,8 ml	10,4 mg	13 mg/ml

[0042] As soluções de nanopartículas de maghemita revestidas com carboxidextrano foram preparadas em água. NaCl foi adicionado à solução de maghemita até a concentração adequada. Por exemplo, uma suspensão de partícula magnética salina a 0,3% foi criada adicionando-se 0,3 mg de NaCl a uma solução de nanopartícula de maghemita pré-diluída. Sienna+® (~26 mg/ml de maghemita, dose de 0,4 ml; sistema g) serviu como o controle.

[0043] Múltiplas leituras foram tomadas para cada porco com o uso de um dispositivo SentiMag®, conforme detalhado na Tabela 2. Após as leituras de 72 h, o sítio de papilas e linfonodos foram removidos a partir de todos os animais

para análise histológica. Os resultados na Figura 1 são médias (n=3) das medições tomadas nos linfonodos.

TABELA 2. PONTOS NO TEMPO E SÍTIOS DE MEDIÇÃO DE SENTIMAG®.

Local de Medição	Antes da injeção	Após a injeção									
		30 s	2 min	5 min	15 min	30 min	1 h	2 h	6 h	24 h	72 h
Diretamente na papila	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2ª papila inguinal	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Linfonodo	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

RESULTADOS

[0044] Constatou-se que Sienna+® em 0,3% em peso por volume de solução salina (Figura 1, sistema a) é tão eficaz tanto quanto a solução salina a 0,6% como a 0,9% (Figura 1, sistemas b e c, respectivamente). Isso foi surpreendente devido ao fato de que a uma solução a 0,3% em peso por volume é hipotônica (156 mOsm) em comparação com 0,6% em peso por volume (270 mOsm - aproximadamente isotônica) e 0,9% em peso por volume (384 mOsm - hipertônica). Os resultados fortes para uma solução a 0,3% em peso por volume são inesperados. Acredita-se que a baixa tonicidade irá estender a faixa de aditivos da formulação (excipientes) que podem ser usados, em comparação com as soluções a 0,6% e 0,9%.

[0045] Especificamente, o aumento da tonicidade resulta no transporte significativamente mais rápido de partículas de ferro através do sistema linfático. Em 5 minutos após a injeção, a adição de sal a 0,3%, 0,6% e 0,9% ao Sienna+® (Figura 1, sistemas a, b e c, respectivamente) resultou em um aumento de cinco vezes no sinal medido na glândula linfática, em comparação com o controle, Sienna+® (Figura 1, sistema g). Como resultado, um médico responsável precisa aguardar apenas 5 a 15 minutos antes de começar um procedimento, o qual

reduz o tempo de espera em pelo menos 50% se comparado com Sienna+® sozinho.

[0046] Adicionalmente, no ponto no tempo de 30 minutos, o impacto da adição de 0,3%, 0,6% ou 0,9% em peso por volume de cloreto de sódio a Sienna+® (Figura 1, sistemas a, b e c, respectivamente) é equivalente ao dobro da concentração de ferro (Figura 1, sistema f). Consequentemente, o aumento da tonicidade exige que menos ferro total seja usado por injeção, reduzindo, assim, os custos e efeitos colaterais.

[0047] Dessa forma, uma solução hiposmótica < 0,6% de NaCl e com mais preferência < 0,3% de NaCl fornece o mesmo transporte rápido para os linfonodos que uma solução isotônica (por exemplo, 0,6% de NaCl) ou até uma solução hipotônica (por exemplo, 0,9% de NaCl), mas sem exigir que tal grande quantidade de sal seja incluída na solução.

[0048] Uma solução mais hipotônica contendo 0,05% em peso por volume de NaCl não mostrou aprimoramento significativo em relação a Sienna+®. O "ponto de disparo" para o benefício de tonicidade é, portanto, em algum lugar entre cerca de 80 mOsm e cerca de 156 mOsm. Dessa forma, uma solução de NaCl a 0,05% a 0,3% ou, de preferência, uma solução de NaCl a 0,1% a 0,3%, ou, com mais preferência, uma solução de NaCl a 0,2% a 0,3%, exibe tanto absorção rápida como versatilidade como excipiente.

EXEMPLO 2

[0049] Estudos de porco *in vivo* similares foram realizados para investigar soluções hiposmóticas que compreendem solutos alternativos. Todas as injeções foram feitas diretamente na base da 3a papila inguinal. Cada porco recebeu uma injeção diferente na papila esquerda e na papila direita. Cada solução de teste foi injetada nas três papilas de porcos diferentes (n = 3). A Tabela 3 mostra as formulações testadas. Na Tabela 3, a coluna "Sistema" corresponde às curvas na Figura 2.

TABELA 3. FORMULAÇÕES DE SOLUÇÃO.

Sistema	Solução	Tonicidade (mOsm/kg)
1	Sienna+ com NaCl a 0,3% e HA a 0,1%	132
3	Sienna+ com NaCl a 0,3% e polissorbato 20 a 1%	135
5	Sienna+ com propileno glicol a 0,5%	128
6	Sienna+ com NaCl a 0,3% (controle)	126
7	Sienna+ glicerol a 0,75%	136
13	Sienna+ propileno glicol a 0,5% e glicerol a 1,8%	297

[0050] Sistema 6, Sienna+® com NaCl a 0,3% serviu como o controle. Múltiplas leituras foram tomadas para cada porco com o uso de um dispositivo SentiMag®, conforme detalhado na Tabela 4. Os resultados na Figura 2 são médias (n=3) das medições tomadas nos linfonodos.

TABELA 4. PONTOS NO TEMPO E SÍTIOS DE MEDIÇÃO DE SENTIMAG®.

Local de Medição	Antes da injeção	Após a injeção							
		30 s	2 min	5 min	15 min	30 min	1 h	2 h	72 h
Sítio de injeção	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2ª papila inguinal	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Linfonodo inguinal	x	x	x	x	x	x	x	x	x

[0051] Conforme mostrado na Figura 2, o sistema 6 (Sienna + NaCl a 0,3% - CONTROLE) resultou na liberação mais rápida para a glândula linfática. O sal, portanto, parece ser o melhor potenciador para a liberação. Polietileno glicol a 0,5% (sistema 5) também parece ser eficaz, resultando na liberação rápida para a glândula linfática dentro de 5 a 15 minutos de injeção. Consequentemente, em algumas modalidades, os glicóis podem ser usados como um soluto para criar uma solução hiposmótica que compreende partículas magnéticas.

[0052] As formulações de polissorbato (sistema 3) e glicerol (sistema 7) foram as formulações de desempenho menos satisfatório durante as primeiras duas horas, apesar da tonicidade ser igual àquela do controle de NaCl (sistema 6), indicando que o polissorbato e glicerol inibem potencialmente a liberação para as glândulas linfáticas. De modo similar, a adição de ácido hialurônico (PM de 108.000 Daltons) parece retardar a liberação quando combinada com NaCl a 0,3%.

[0053] Deve-se observar que o método de administração da solução irá depender do sítio particular no corpo no qual está sendo administrado. Para a biópsia de linfonodo sentinela, a injeção pode ser intersticial, subcutânea, intradérmica ou intramuscular. Para hipertermia magnética, a solução pode ser administrada por meio de qualquer um desses métodos de injeção ou através de um cateter ou infusão em uma região do tecido, uma cavidade do corpo ou vaso.

[0054] Deve-se compreender que a ordem das etapas ou ordem para realizar determinadas ações é imaterial, desde que a invenção permaneça operacional. Ademais, duas ou mais etapas ou ações podem ser conduzidas simultaneamente.

[0055] Aonde uma faixa ou lista de valores é fornecida, cada valor interveniente entre os limites inferior e superior daquela faixa ou lista de valores é individualmente contemplado e é abrangido pela invenção, como se cada valor fosse especificamente enumerado no presente documento. Além disso, as faixas menores entre e incluindo os limites inferior e superior de uma determinada faixa são contempladas e abrangidas pela invenção. A listagem de valores ou faixas exemplificadoras não é uma ressalva de outros valores ou faixas entre e incluindo os limites inferior e superior de uma determinada faixa.

REIVINDICAÇÕES

1. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO tendo uma osmolalidade de 80 mOsm/kg a 160 mOsm/kg **caracterizada por** compreender:

13 mg/ml a 200 mg/ml de partículas superparamagnéticas; e
um osmólito selecionado a partir de

- 0,01% em peso por volume a 0,6% em peso por volume de um sal inorgânico; ou
- 0,5% em peso por volume a 1,5% em peso por volume de um glicol.

2. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** as partículas superparamagnéticas serem óxido de ferro.

3. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** compreender entre 13 mg/ml e 53 mg/ml de partículas superparamagnéticas.

4. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o sal inorgânico ser selecionado do grupo que consiste em cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de magnésio, cloreto de amônio, sulfato de sódio, fosfato de sódio, fosfato de potássio, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio, acetato de potássio e acetato de sódio.

5. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** compreender adicionalmente um excipiente.

6. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** as partículas superparamagnéticas serem revestidas.

7. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada por** o revestimento compreender dextrano.

8. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o sal inorgânico ser cloreto de sódio.

9. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a suspensão ser usada para a detecção de nodos sentinelas e compreender de 0,05% a 0,3% em peso por volume do sal inorgânico.

10. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** o glicol ser propileno glicol.

11. SOLUÇÕES HIPOSMÓTICAS PARA A DETECÇÃO DE LINFONODO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** a suspensão ser usada para o tratamento por hipertermia magnética e compreender de 20 mg/ml a 200 mg/ml das partículas superparamagnéticas.

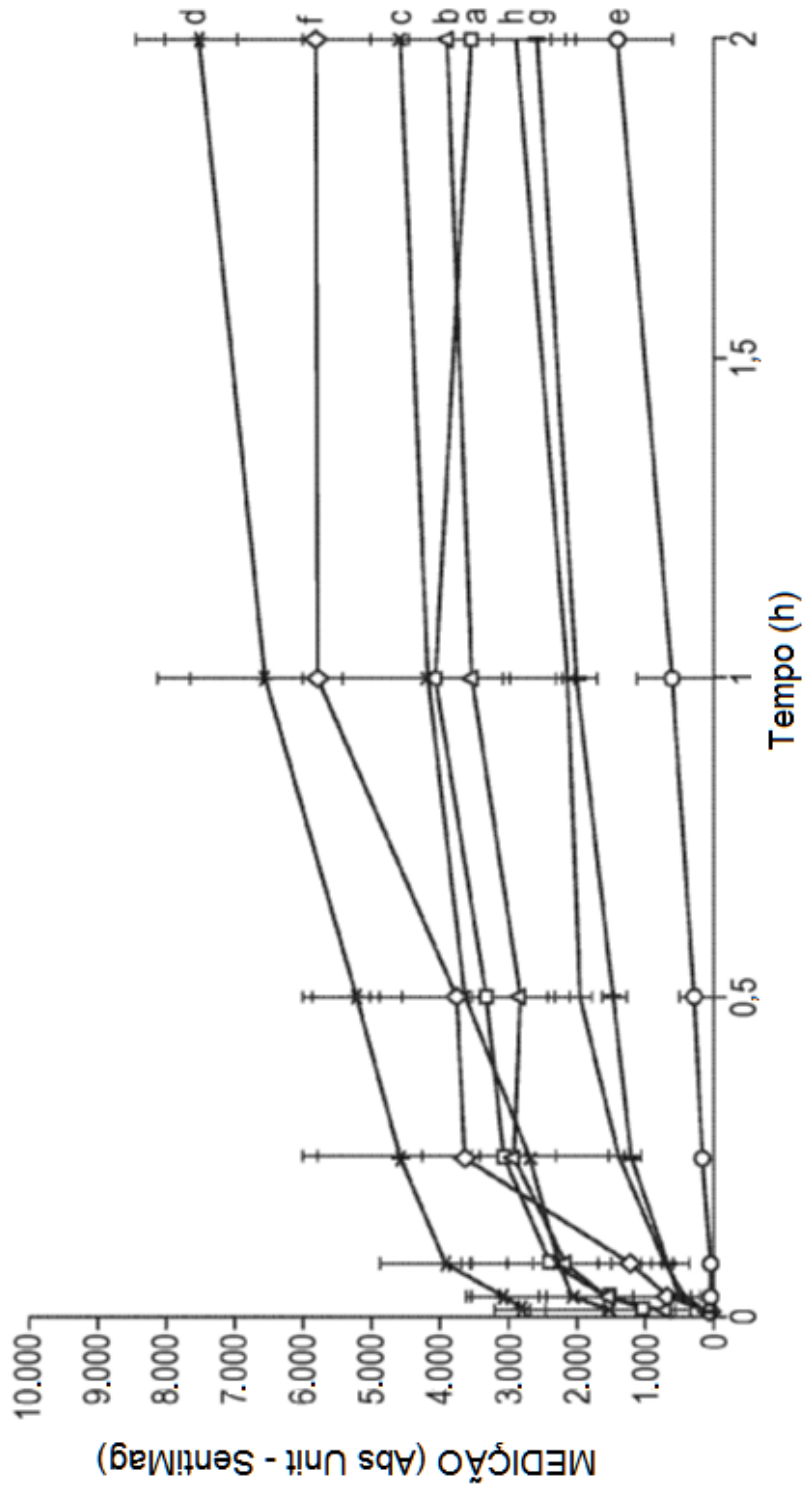


FIG. 1

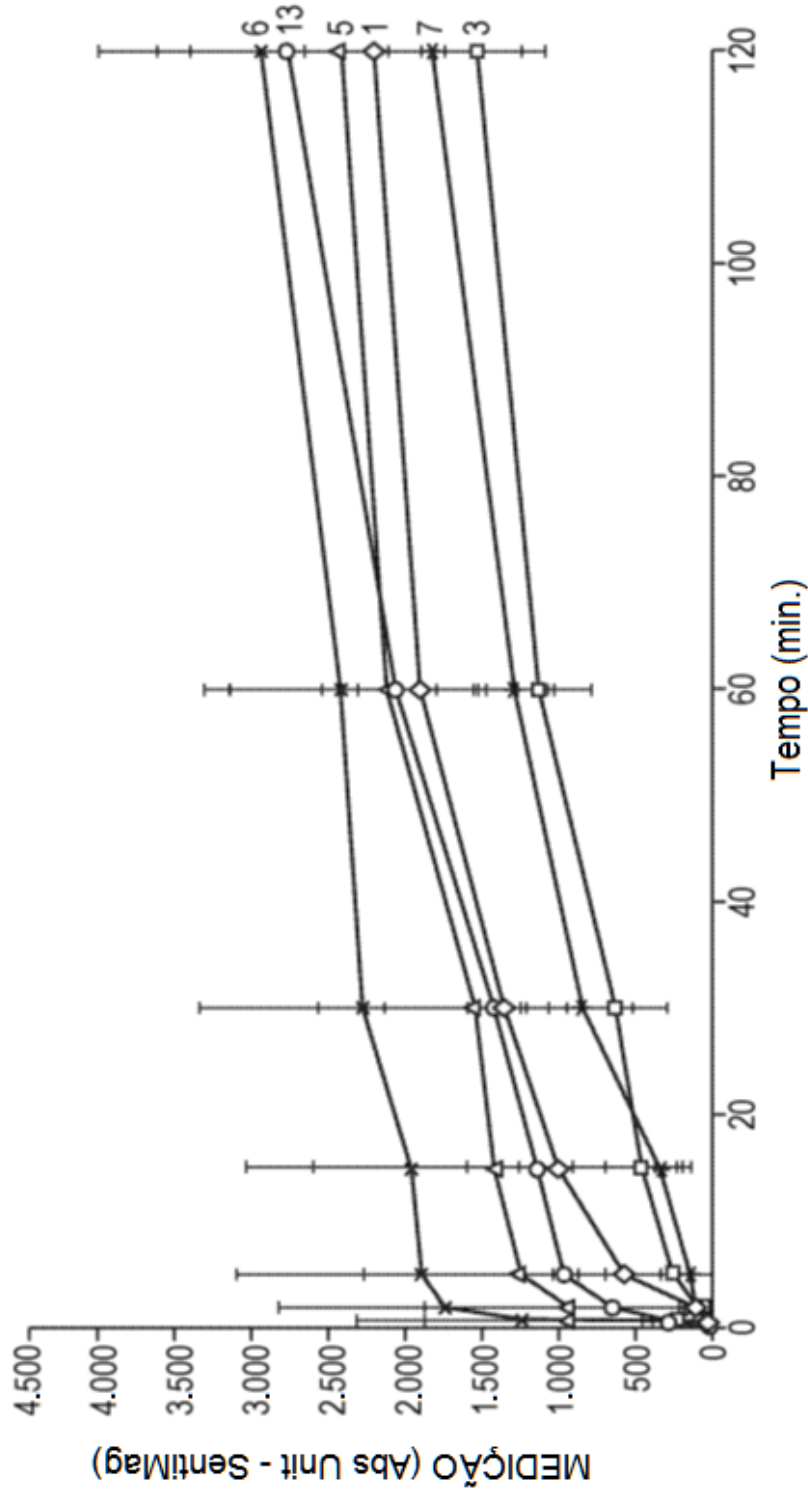


FIG. 2

SISTEMA 1 —◇— (Sienna + 0,3% NaCl + 0,1% HA)
 SISTEMA 3 —□— (Sienna + 0,3% NaCl Polissorbato 20)
 SISTEMA 5 —△— (Sienna + 0,5% propileno glicol)
 SISTEMA 6 —*— (Sienna ++ 0,3% NaCl - CONTROLE)
 SISTEMA 7 —#— (Sienna + 0,75% glicerol)
 SISTEMA 13 —○— (Sienna + 0,5% propileno glicol + glicerol - 270 - e 310 mOsm/kg)