

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

(21) PI 0715783-5 A2



★ B R P I 0 7 1 5 7 8 3 A 2 ★

(22) Data de Depósito: 14/08/2007

(43) Data da Publicação: 16/07/2013
(RPI 2219)

(51) Int.Cl.:

A61K 51/04

A61B 8/12

A61P 43/00

(54) Título: FLUORESCÊNCIA PRÓXIMA DO
INFRAVERMELHO USANDO CORANTES ANÁLOGOS
DE ÉTER FOSFOLIPÍDICO EM APLICAÇÕES
ENDOSCÓPICAS

(30) Prioridade Unionista: 15/08/2006 US 60/822,448

(73) Titular(es): Collectar, Inc.

(72) Inventor(es): Anatoly Pinchuk, Andreas Muehler, Jamy
Weichert, Marc Longino

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007017885 de
14/08/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2009/005509de
08/01/2009

(57) Resumo: FLUORESCÊNCIA PRÓXIMA DO
INFRAVERMELHO USANDO CORANTES ANÁLOGOS DE ÉTER
FOSFOLIPÍDICO EM APLICAÇÕES ENDOSCÓPICAS. A presente
invenção refere-se a uma composição e métodos de uso de corantes
fosfolipídeos para uso na detecção de tecido neoplásico, tipicamente
usando o procedimento de roteamento de endoscopia e métodos de
otimização de tratamento de terapia em um indivíduo.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"FLUORESCÊNCIA PRÓXIMA DO INFRAVERMELHO USANDO CORANTES ANÁLOGOS DE ÉTER FOSFOLIPÍDICO EM APLICAÇÕES ENDOSCÓPICAS"**.

Campo Correlato

5 A presente invenção refere-se a análogos de éter fosfolipídico para diagnose de neoplasia, em particular, a invenção refere-se a uso de corantes de éter fosfolipídico em aplicação endoscópica usando fluorescência próxima do infravermelho.

Fundamento

10 Endoscopia, em particular colonoscopia e broncoscopia, é utilizada para encontrar crescimento anormal e tumores projetando-se para o lúmen. Um dispositivo, chamado endoscópio, é inserido em uma cavidade corpórea. Tradicionalmente, endoscópios usam um canal de luz natural, isto é, o observador vê todo o achado no comprimento de onda de luz que ocorre
15 naturalmente.

 Recentemente, endoscópios mais novos apresentam a capacidade de utilizar diversos canais, isto é, usando um canal de luz natural e um ou mais canais adicionais em outros comprimentos de onda de luz. Esses canais adicionais são usados para monitorar fluorescência que ocorre naturalmente ou fluorescência de um corante que foi injetado no corpo ou pulverizado sobre a superfície da cavidade corpórea. Um dos canais possíveis é na área NIR (*near infrared*) PIV (próxima do infravermelho). A vantagem da área NIR é que a absorção da luz na área NIR (usualmente 600 – 800 nm) é mínima, e fluorescência pode ser detectada sob uma profundidade de alguns
20 milímetros a quase um centímetro abaixo da superfície da cavidade corpórea. Acredita-se que isso apresenta vantagens de detectar tumores e metástase de nódulo linfático em órgãos tais como cólon e pulmão.

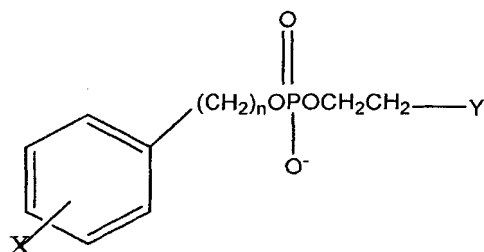
 Conseqüentemente, existe uma necessidade de adicionalmente explorar o uso de fluorescência próxima do infravermelho em detectar neoplasia durante o processo endoscópico.
30

Sumário da Invenção

 A presente invenção refere-se a análogos de éter fosfolipídico

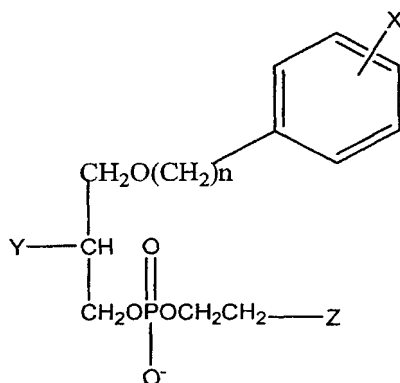
(PLE) para diagnose de neoplasia, em particular, a invenção refere-se a uso de corantes de éter fosfolipídico na aplicação endoscópica usando fluorescência próxima do infravermelho. Em uma modalidade exemplar, a presente invenção proporciona um corante fosfolipídeo fluorescente, compreendendo

- 5 (a) um composto fosfolipídeo de fórmula I ou II



Fórmula I

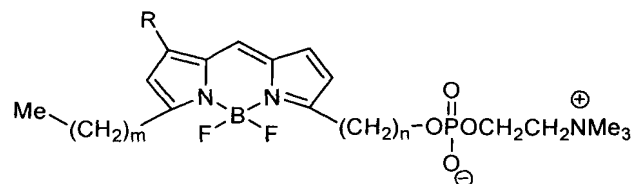
em que X é um halogênio; n é um número inteiro entre 8 e 30; e Y é selecionado do grupo que compreende NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou arilalquila ou



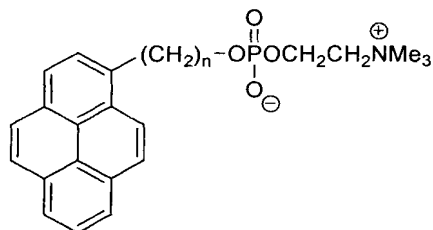
Fórmula II

- em que X é um halogênio; n é um número inteiro entre 8 e 30; Y é selecionado do grupo que consistem em H, OH, COOH, COOR e OR e Z é selecionado do grupo que consistem em NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou arilaquila; e (b) uma molécula fluorescente. Nessa modalidade, X é selecionado do grupo de isótopos de halogênio radioativo que consistem em ^{18}F , ^{36}Cl , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{82}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I e ^{211}At . Preferencialmente, o composto fosfolipídeo é 18-(p-iodofenil)octadecil fosfocolina, 1-O-[(18-(p-iodofenil)octadecil)-1,3-propanodiol-3-fosfocolina ou 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-2-O-metil-rac-glicero-3-fosfocolina, em que iodo é na forma de um isótopo radioativo. Em ainda uma outra modalidade exemplar, o
- 10
- 15

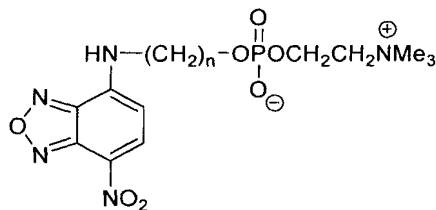
corante fosfolipídeo é selecionado do grupo que consistem em:



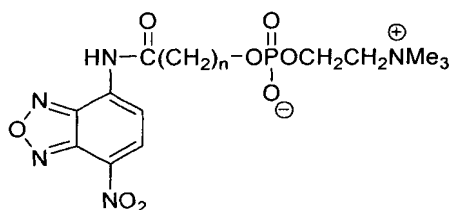
em que n é um número inteiro 4 a 21 e m é um número inteiro 0 a 17;



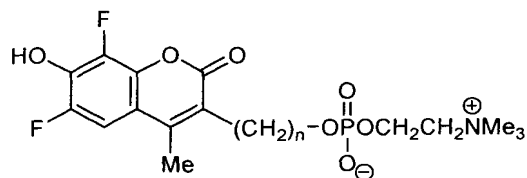
em que n é um número inteiro 4 a 22;



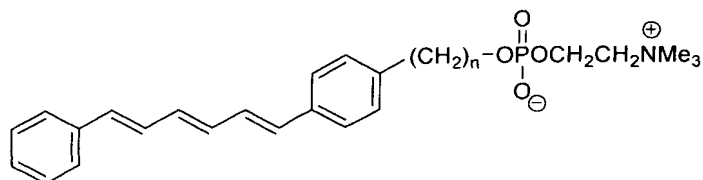
em que n é um número inteiro 4 a 22;



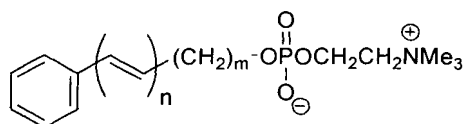
5 em que n é um número inteiro 4 a 21;



em que n é um número inteiro 4 a 22;



em que n é um número inteiro 3 a 8; e



em que n é um número inteiro 4 ou 5 e m é um número inteiro 4 a 14;

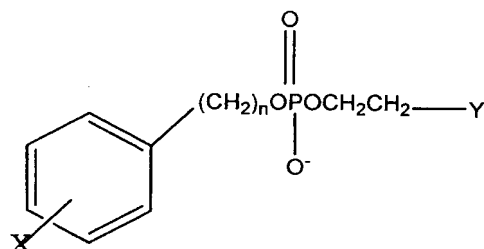
Adicionalmente, nessa modalidade, a molécula fluorescente exibe fluorescência sob um comprimento de onda de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 1.000 nm.

Uma outra modalidade exemplar da invenção proporciona um método de distinguir uma estrutura benigna de um tecido neoplásico em uma região selecionada usando um endoscópio que apresenta dois comprimentos de onda em um indivíduo, método este que compreende as etapas de:

(a) administrar um agente específico a tumor fluorescentemente marcado ao indivíduo; (b) usar uma primeira técnica para produzir uma visualização da anatomia da região selecionada usando o primeiro comprimento de onda de um endoscópio; (c) usar uma segunda técnica para produzir uma visualização da distribuição de fluorescência produzida pelo agente específico a tumor fluorescentemente marcado; e (d) comparar a visualização da anatomia da região selecionada pelo primeiro comprimento de onda com a visualização da distribuição de fluorescência pelo segundo comprimento de onda produzido pelo agente específico a tumor fluorescentemente marcado, distinguindo desse modo uma estrutura benigna de tecido neoplásico. Nessa modalidade, preferencialmente, a região selecionada é o trato gastrointestinal e o trato respiratório.

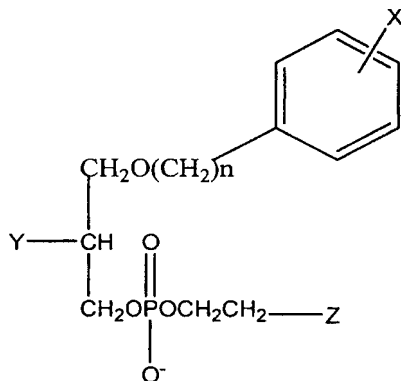
Nessa modalidade, o primeiro comprimento de onda é de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 800 nm. Também, o segundo comprimento de onda é de aproximadamente 300 nm a 1.000 nm.

Preferencialmente, o composto seletivo a tumor fluorescentemente marcado é um corante fosfolípideo, compreendendo de (a) um composto fosfolípideo de fórmula I ou II



Fórmula I

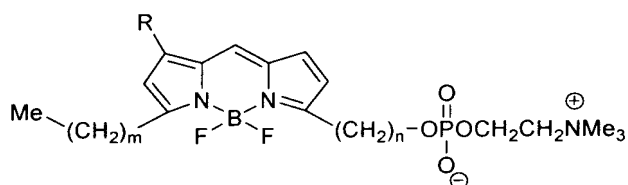
em que X é um halogênio; n é um número inteiro entre 8 e 30; e Y é selecionado do grupo que compreende NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou arilalquila ou



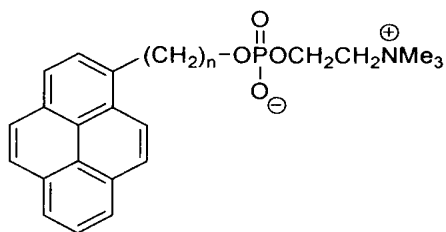
Fórmula II

em que X é um halogênio; n é um número inteiro entre 8 e 30; Y é selecionado do grupo que consistem em H, OH, COOH, COOR e OR, e Z é selecionado do grupo que consistem em NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou arilalquila; e (b) uma molécula fluorescente. Adicionalmente, X é selecionado do grupo de isótopos de halogênio radioativo que consistem em ^{18}F , ^{36}Cl , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{82}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I e ^{211}At .

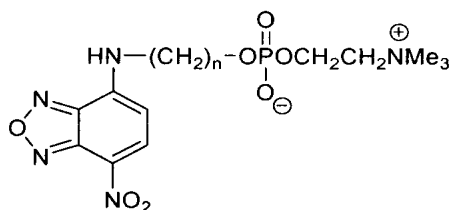
10 Mais preferencialmente, o composto fosfolípideo é 18-(p-iodofenil)octadecil fosfocolina, 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-2-O-metil-rac-glicero-3-fosfocolina, em que iodo é na forma de um isótopo radioativo. Também, preferencialmente, o corante é selecionado do grupo que consistem em:



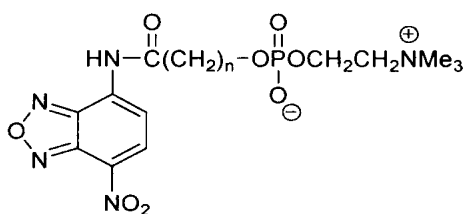
em que n é um número inteiro 4 a 21 e m é um número inteiro de 0 a 17;



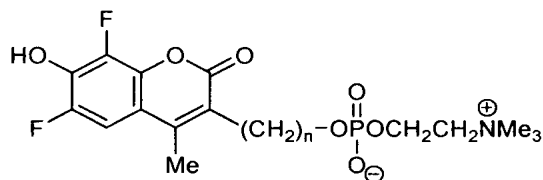
em que n é um número inteiro 4 a 22;



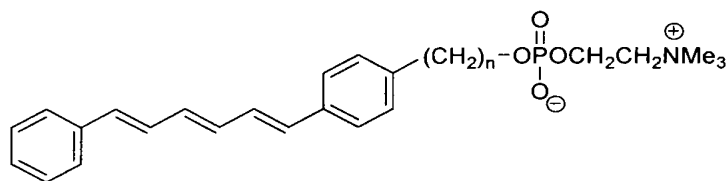
em que n é um número inteiro 4 a 22;



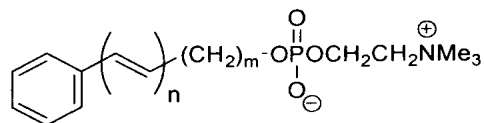
em que n é um número inteiro 4 a 21;



5 em que n é um número inteiro 4 a 22;



em que n é um número inteiro 3 a 8; e



em que n é um número inteiro 4 ou 5 e m é um número inteiro 4 a 14.

Adicionalmente, nesse método, a molécula fluorescente exibe fluorescência sob um comprimento de onda de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 1.000 nm.

Em ainda uma outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de otimização de tratamento com terapia em um indivíduo, método este que compreende as etapas de: (a) proporcionar um composto fosfolípideo radiomarcado em que o composto é 18-(p-iodofenil)octadecil fosfocolina, 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-1,3-propanodiol-3-fosfocolina, ou 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-2-O-metil-rac-glicero-3-fosfocolina, em que iodo é na forma de um isótopo radioativo, em uma quantidade de aproximadamente 1 milicurie a aproximadamente 100 milicurie; (b) visualizar tecido neoplásico via imagem SPECT ou PET; (c) avaliar dosagem de terapia para o indivíduo quantificando a distribuição do tecido neoplásico.

Uma outra modalidade da invenção proporciona um método de monitoração da resposta de terapia do tumor em um indivíduo ou eficácia de uma metodologia de tratamento em um indivíduo que recebe o tratamento para neoplasia, método este que compreende as etapas de: (a) proporcionar um composto fosfolípideo radiomarcado ao indivíduo antes de tratamento de neoplasia em que o composto é 18-(p-iodofenil)octadecil fosfocolina, 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-1,3-propanodiol-3-fosfocolina, ou 1-O-[18-(p-iodofenil)octadecil]-2-O-metil-rac-glicero-3-fosfocolina, em que iodo é na forma de um isótopo radioativo, em uma quantidade de aproximadamente 1 milicurie a aproximadamente 100 milicurie; (b) proporcionar o composto fosfolípideo radiomarcado ao indivíduo de etapa (a), após o tratamento de neoplasia em uma quantidade de aproximadamente 1 milicurie a aproximadamente 100 milicurie; e (c) avaliar diferença na acumulação do composto fosfolípideo do pré-tratamento de etapa (a) e do pós-tratamento de etapa (b) para determinar a resposta em um indivíduo ou eficácia da metodologia de tratamento, em que uma acumulação maior do composto fosfolípideo na etapa (a) versus acumulação menor de composto fosfolípideo na etapa (b) indica uma resposta positiva para o tratamento em um indivíduo ou uma metodologia de tratamento eficaz.

Figuras

Figura 1 proporciona uma projeção 2D microCT de um cólon excisado de rato PIRC enchido com bário a 2% (A) e imagem de ^{124}I -NM404 microPET em um Rato PIRC (B) e a imagem fundida microPET/microCT (C).

5 Marcador fiducial (M), Tumor (seta).

Descrição Detalhada de Modalidades Preferidas

Os análogos de éter fosfolipídicos que podem ser usados para imagem de vários tumores são definidos por fórmula I e II: em que na fórmula I, X é um isótopo radioativo de um halogênio, n é um número inteiro 8 e 30, Y é selecionado do grupo que consistem em H, OH, COOH, O(CO)R e OR e Z é selecionado do grupo que consistem em NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou aralquila; e em que na fórmula II, X é um isótopo radioativo de um halogênio, n é um número inteiro entre 8 e 30, e Y é selecionado do grupo que compreende NH_2 , NR_2 e NR_3 , em que R é um substituinte alquila ou aralquila.

Compostos à base de NM404 e outros PLE sabe-se a partir de estudos de versões radiomarcadas que esses compostos acumulam-se em tumores malignos, mas não em tumores benignos tais como pólipos. Dá-se um exemplo abaixo que a acumulação de NM404 pode ser usada para diferenciar tumores benignos e malignos. Vários compostos à base de PLE, tais como aqueles descritos abaixo são também descritos em várias outras patentes e pedidos de patentes. Ver, pedidos provisórios dos Estados Unidos 60/521.166 expedido em 2 de março de 2005, 60/521.831 expedido em 8 de julho de 2005, 60/593.190 expedido em 20 de dezembro de 2004 e 60/743.232 expedido em 3 de fevereiro de 2006; pedidos não-provisórios dos Estados Unidos 10/906.687 expedido em 2 de março de 2005, 11/177.749 expedido em 8 de julho de 2005 e 11/316.620, expedido em 20 de dezembro de 2005, Pedidos PCT/US05/006681 expedido em 2 de março de 2005, PCT/US05/024259 expedido em 8 de julho de 2005 e PCT/US05/047657 expedido em 20 de dezembro de 2005; Patente dos Estados Unidos Nos. 4.925.649; 4.965.391; 5.087.721; 5.347.030; 5.795.561; 6.255.519 e 6.417.384; Publicações de Patentes WO

1998/024480 e WO1998/024480; e Pedido Canadense 2.276.284, das quais todas são incorporadas como referência, como se totalmente apresentada neste relatório.

Conforme representada na Fig. 1, a imagem esquerda mostra
5 uma imagem microCT *ex-vivo* de um modelo de tumor de cólon em ratos. Tumores múltiplos foram detectados estendendo-se para o lúmen do cólon. A imagem mediana mostra uma imagem microPET usando I-124-NM404 do mesmo cólon mostrando uma área de acumulação apenas. A imagem direita mostra uma imagem de fusão de MicroCT/microPET que confirma que a a-
10 cumulação de NM404 foi observada apenas em um tumor que posteriormente provou ser um adenocarcinoma. Todos os outros tumores de cólon apresentaram ser pólipos benignos e esses não mostraram acumulação de MN404.

Mostrou-se também anteriormente que compostos PLE tal como
15 NM404 podem ser marcados com porções de sinalização volumosas tais como corantes fluorescentes. Ver, por exemplo, Delgado e outros, análogos de fenilpolieno fluorescente do edelfosina éter fosfolipídico para a marcação seletiva de células cancerosas, J. Med. Chem. 2004, 47(22):5333-5.

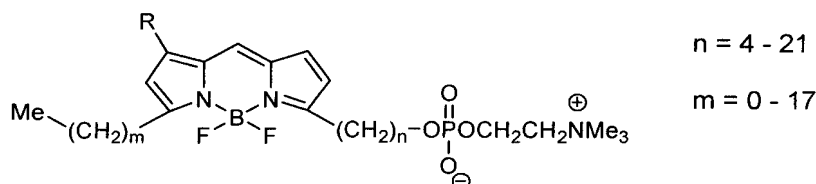
Numerosas identificações (*tags*) fluorescentes são conhecidas
20 daquele versado no estado da técnica. Metodologias para identificação com marcas (*tagging*) de compostos PLE tal como NM404 com corantes fluorescentes são também conhecidas no estado da técnica. Uma vez que o composto PLE marcado (*tagged*) com um corante fluorescente é preparado por metodologias conhecidas, em uma modalidade exemplar, a invenção des-
25 creve o uso de tais compostos PLE tal como NM404 marcado com porções fluorescentes NIR (chamadas corantes NIR-PLE). Tal corante NIR-PLE é injetado por via intravenosa algumas horas antes de efetuar exames endoscópicos. Um endoscópio com pelo menos uma luz natural e canal de NIR é usado para examinar a cavidade corporal. Na operação, o clínico poderá
30 desviar entre tanto luz natural quanto canais de NIR. Usa-se o canal de luz natural para detectar qualquer crescimento anormal ou tumores. Quando estes são encontrados, o clínico poderá desviar-se do canal de NIR para

determinar se tal crescimento ou tumores é maligno ou benigno. Essa informação pode ser usada para três indicações: 1) diagnosticar o crescimento ou tumor, 2) identificar a melhor e mais ótima área para uma biopsia, ou c) imediatamente remover (ressecar) tal crescimento ou tumor via métodos cirúrgicos mínimos. Cavidades corporais que as invenções podem ser usadas incluem, mas não se limitam a cólon, reto, brônquios, pulmões, seios (sinos), ducto pancreático ou biliar, esôfago, estômago, duodeno, útero e cavidade intra-abdominal.

Análogos fluorescentes de NM404

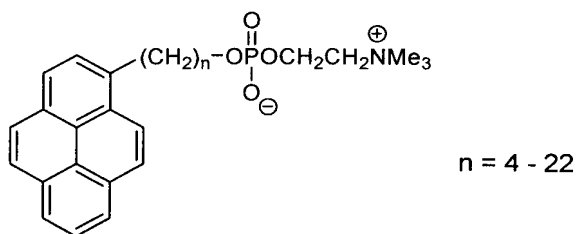
Em uma modalidade exemplar, são proporcionados diversos análogos fluorescentes de NM404 que poderão ser usados como sondas conforme descritos acima. Essas sondas transportam semelhança estrutural a NM404. Os fluoróforos nessas sondas são incorporados na cadeia hidrofóbica alquila de NM404.

Em uma modalidade exemplar, poderão ser usados análogos de *BODIPY*[®] (500 nm/510 nm) em que os fluoróforos fluorescentes verdes são localizados dentro da cadeia alquila de NM404:



análogos de *BODIPY*[®].

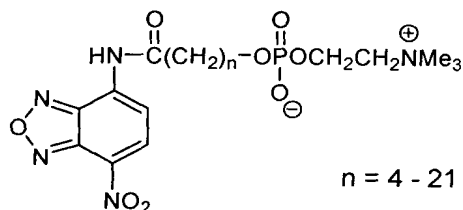
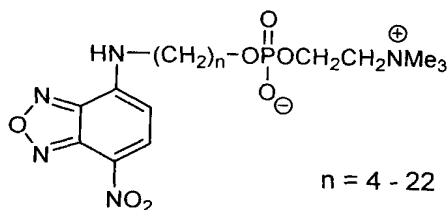
Em uma outra modalidade exemplar, poderão ser usados análogos de pireno (344 nm/378 nm) apresentando 4 a 22 carbonos na cadeia alquila:



Análogos de pireno.

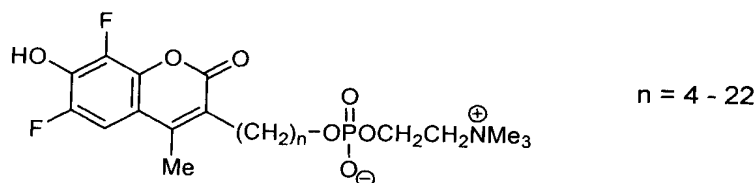
Em ainda uma outra modalidade exemplar, poderão ser usados análogos de NBD (nitrobenzoxadiazol) (463 nm/536 nm) em que fluoróforo é

ligado via ligação amina ou amida



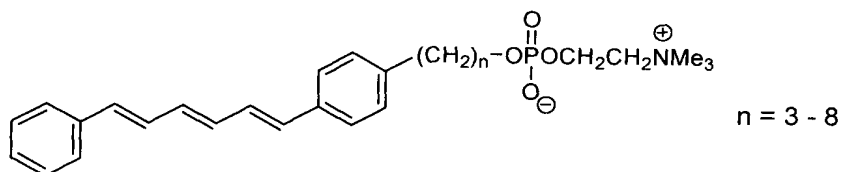
análogos de NBD.

- Em uma outra modalidade exemplar, poderão ser usados análogos de cumarina. Um exemplo mostrado abaixo apresenta fluoróforo *Marina Blue*[®] (6,8-difluor-7-hidroxicumarina) (365 nm/460 nm) com 4 a 22 grupos metileno:



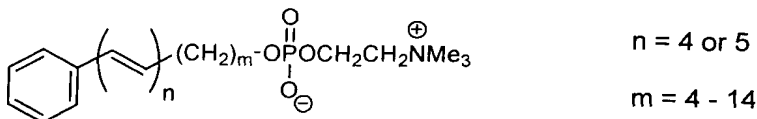
Análogos de cumarina

- Ainda outros análogos contendo fluoróforo DPH (difenilexatrieno) (350 nm/452 nm) poderão ser usados:



Análogos de DPH

- Em uma outra modalidade exemplar, grupo de análogos transportando fluorophore de polieno poderão ser usados. Fluoróforo com $n = 4$ e $m = 7$ foi descrito in *J. Med. Chem.* 2004; 47 (22): 5333-5 sendo incorporado no análogo ET-18-OCH₃.



em que: *or* = ou

Análogo de polieno

Outros exemplos e metodologias para sintetização de sondas fluo-

centes são proporcionados *in* O. Maier e outros. Sondas de lipídeos fluorescentes: algumas propriedades e aplicações (uma análise), *Chem. Phys. Lipídeos*, 2002; 116(1):3-18.

Em ainda uma outra modalidade exemplar, poderão ser usados
5 compostos de PLE para monitoração de resposta de terapia de tumor. Anteriormente, NM404 e outros compostos à base de PLE foram mostrados entrar e ser seletivamente retidos em células malignas viáveis. Contudo, células com *status* prejudicado tais como aquelas que sofrem necrose mostraram faltar acumulação significativa de NM404 ou outros compostos à base
10 de PLE. Em uma modalidade exemplar, a invenção que proporciona essa propriedade diferencial de acumulação em células malignas viáveis e prejudicadas pode ser usada para monitorar resposta de terapia. Tratamentos de tumores visam a prejudicar a viabilidade de células malignas de muitas maneiras. Se um exame com NM404 (ou outros compostos à base de PLE) é
15 realizado antes e após terapia, a diferença potencial na acumulação do composto é devido à deficiência de metabolismo de células cancerosas. Se nenhuma diferença é encontrada, a terapia tem de ser considerada não-eficaz. Se uma queda significativa de acumulação entre pré e pós-terapia é encontrada, então a terapia alcançou sua meta. A monitoração deve ideal-
20 mente ser realizada com um composto de PLE radioativamente marcado para ser monitorado por meio de imagem SPECT ou PET, contudo também métodos fluorescentes ou NIR podem ser usados. Essa metodologia poderá ser útil para medir não apenas a resposta de terapia de tumor em um indivíduo, mas poderá também ser útil para medir eficácia de qualquer metodolo-
25 gia de tratamento no indivíduo, tal como radiação ou quimioterapia usando PLE ou outros agentes terapêuticos para câncer.

Em ainda uma outra modalidade exemplar, poderão ser usados compostos de PLE no planejamento de tratamento para pacientes que receberam o tratamento de NM404. NM404 e outros compostos à base de PLE
30 mostraram ser terapias eficazes a tumor após injeção intravenosa. Contudo, sabe-se que a eficácia e nível eficaz de dose depender de características de absorção do tumor, localização do tumor, perfusão do tumor, viabilidade do

tumor e tamanho de tumores. É difícil individualizar o tratamento e injetar a dose mais ótima com tais fatores desconhecidos. Métodos nucleares de medicina tal como PET ou SPECT permitem avaliação quantitativa ou pelo menos semiquantitativa de concentração de traçadores radioativos. Essa informação pode ser usada para calcular a acumulação de um composto radioativo injetado. A invenção proporciona que uma dose traçadora de composto radioativo tal como NM404 ou outro composto à base de PLE poderá ser dado a um indivíduo. Tal dose traçadora (por exemplo, menos de 10 mCi por paciente, marcas podem ser I-124 para PET ou I-131 para SPECT) determina as características de acumulação individual para o tumor a ser tratado posteriormente com uma dose terapêutica de NM404 ou um outro composto à base de PLE. Baseado nesses achados quantitativos usando a "dose traço", a "dose de tratamento" pode ser individualizada para cada paciente e tratamento.

15 Tipicamente, terapia de radionuclídeos estende a utilidade de radiação a partir de doença localizada para doença multifocal combinando radionuclídeos com fármacos visando doenças, tais como anticorpos ou agentes sintéticos projetados sob medida. DeNardo e outros, *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 2002, 17(1): 107-118. Tal como radioterapia

20 convencional, a eficácia de radionuclídeos direcionados é essencialmente limitada pela quantidade de radiação indesejada dada um tecido normal crítico, limitante de dose, mais freqüentemente a medula óssea. Porque terapia de radionuclídeo conta com transferência biológica de radiação, sua otimização e caracterização são necessariamente diferentes da terapia de radiação

25 convencional. Contudo, os princípios de radiobiologia e de dose de radiação absorvida permanecem importante para predizer efeitos de radiação. Felizmente, a maioria de radionuclídeos emite raios gama que permitem a medição de concentrações de isótopos tanto em tecidos tumorais quanto normais no corpo. Administrando uma pequena "dose de teste" do fármaco terapêutico

30 pretendido, o clínico pode predizer a distribuição de dose de radiação no paciente. Isso pode funcionar como uma base para predizer eficácia de terapia, otimizar seleção de fármaco, e selecionar a dose de fármaco apropriada,

a fim de proporcionar o tratamento mais seguro, mais eficaz para cada paciente. Embora planejamento de tratamento de pacientes individuais, baseado em dosimetria por radiação traçadora seja um conceito e oportunidade atrativos, considerações práticas poderão ditar soluções mais simples sob algumas circunstâncias. Há concordância que dosimetria por radiação (distribuição de dose absorvida por radiação, cGy) deve ser utilizada para estabelecer a segurança de um fármaco radionuclídeo específico durante desenvolvimento do fármaco, mas é menos geralmente aceita que dose de radiação absorvida que deve ser usada para determinar a dose de radionuclídeo (radioatividade, GBq) a ser administrada a um paciente específico (isto é, terapia baseada em dose de radiação). Contudo, dosimetria por radiação pode sempre ser utilizada como uma ferramenta para desenvolver fármacos, avaliando resultados clínicos, e estabelecendo a segurança de um fármaco radionuclídeo específico. Dosimetria de medula óssea continua a ser um "trabalho em progresso." Dosimetria da medula derivada do sangue e/ou derivada do corpo poderá ser aceitável sob condições específicas mas claramente não responsável por direcionamento de radionuclídeo medular e esquelético. Pode-se esperar que dosimetria da medula melhore significativamente, mas nenhum método para dosimetria da medula parece provavelmente ser responsável por reserva da medula óssea diminuída.

Várias determinações de dosimetria poderão permitir que um clínico injete uma dose ou encontre a individualização de regime de tratamento que proporcionará o regime de tratamento mais eficaz (por exemplo, dosagem fracionada) com um efeito de tratamento ótimo que produz os efeitos menos colaterais. Tal avaliação provavelmente envolverá um *software* dedicado a ser usado para individualizar planejamento de tratamento.

Radioiodação de NM404 na Preparação para Uso Clínico (Profético)

Um frasco de vidro de 2 ml é carregado com 10 mg de sulfato de amônio dissolvido em 50 µl de água desionizada. Seis contas de vidro de 2 mm são adicionadas, em seguida um septo forrado com Teflon e tampa com rosca são adicionados e o frasco brandamente girado. Uma solução de 20 µg (em 20 µl de etanol) de NM404 de estoque é adicionada seguido por io-

deto de sódio aquoso (por exemplo, 125, 131, ou 124, 1-5 mCi) em menos de 30 µl de hidróxido de sódio aquoso 0,01 N. A seringa de isótopo é enxaguada com três 20 µl de porções e etanol. O frasco de reação resultante é girado brandamente. Uma seringa de 5 ml disponível contendo lã de vidro em tandem com uma outra seringa de 5 ml, cheia com pepita de carvão vegetal com saída de agulha, são ligadas. A seringa de lã de vidro age como uma câmara de condensação para capturar solventes de evaporação e a seringa com carvão apanha iodeto/iodo livre. O recipiente de reação resultante é aquecido em um aparelho de aquecimento em blocos por 45 minutos a 150°C. Quatro volumes de ar de 20 ml são injetados para o frasco de reação com uma seringa de 25 ml disponível e deixados ventilar através da ligação dupla de captura (*trap*). A temperatura é aumentada em 160°C, e o frasco de reação aquecido 30 minutos adicionais. Após resfriamento a temperatura ambiente, etanol (200 µl) é adicionado e o frasco girado. A solução etanólica é em seguida passada através de uma coluna de resina *Amberlite IRA 400* pré-equilibrada para remover iodeto não reagido. O volume de eluente é reduzido em 50 µl via uma corrente de nitrogênio (uso de captura com seringa de carvão) e o volume restante injetado sobre uma coluna de sílica-gel (*Perkin Elmer*, coluna de cartucho disponível de 3 µm X 3 cm eluída em 1 ml/min. com hexano/isopropanol/água (52:40:8)) para purificação. Pureza final é determinada por TLC (*Thin Liquid Chromatography*) (sílica-gel 60 apoiada em plástico eluída com clorofórmio-metanol-água (65:35:4, $R_f = 0,1$). Os solvente de HPLC são removidos por meio de evaporação rotativa e o NM404 radioiodado resultante solubilizado em Polissorbato-20 aquoso a 2% e passado através de um filtro de 0,22 µm para um frasco estéril.

Imagem de ^{124}I -NM404-PET em Pacientes (Profética)

Dose máxima de ^{124}I -NM404 para administração humana é calculada como segue: Dados de biodistribuição animal são gerados para determinar a porcentagem de dose injetada/órgão em pontos de tempo variáveis. Esses dados de animal são extrapolados para homem por meios de formalismo MIRD (MIRDose PC v3.1) usando fatores de conversão padrões para diferenças em massa e anatomia de órgão entre rato e homem padrão,

proporcionando doses para órgão humano preditas. Com base nessas doses preditas, a dose permissível mCi a ser injetada em humanos é determinada usando as doses máximas legalmente permitidas por regulamentos RDRC para tecido humano específico conforme definido no Registro Federal (21CFR Parte 361.1). Por exemplo, baseado nos dados de ^{131}I -NM404 espera-se que a dosagem máxima de partida em relação à ^{124}I -NM404 deve ser abaixo de 2,0 mCi para imagem de tumor pancreático.

Pacientes recebem SSKI (2 gotas três vezes diariamente começando 1 dia antes e continuando por sete dias) a fim de minimizar absorção de radioiodeto livre pela tiróide. Pacientes alérgicos a iodo poderão ser dados perclorato de potássio (200 mg a cada 8 horas) iniciando um dia antes de injeção e continuando por 3 dias pós-injeção. ^{124}I -NM404 é administrado por via intravenosa durante 5 minutos. Um *scan* de transmissão usando uma fonte de pinos emissores de pósitron giratórios Ga-68/Ge-68 é realizada para medir a atenuação. Esses dados são usados para correção de atenuação de dados de emissão.

Os pacientes são explorados em um ou mais dos seguintes pontos de tempo múltiplos após infusão do ^{124}I -NM-404: aquisição dinâmica de 90 minutos, 6 horas, 24 horas, 48 horas e 96 horas.

As imagens PET são adquiridas em modo 2D com um *scanner* GE ADVANCE PET baseado em BGO com um campo axial de visão de 152 mm. As imagens são adquiridas em matriz de 256 X 256 e reconstrução é realizada usando um filtro de Hanning. Todas as imagens são corrigidas por atenuação usando os dados de transmissão.

Antes de infusão, uma linha intravenosa é estabelecida na extremidade superior. A dose de ^{124}I -NM404 é medida em um calibrador de dose antes de injeção. Uma dose traçadora de < 2 mCi de ^{124}I -NM04 é infundida por 2-5 minutos. A preparação é estéril, sem pirogênio, e contém < 5% de iodo livre por meio de cromatografia de camada delgada (sínteses usuais produzem radioiodo livre de aproximadamente 1%).

Estudos fantasmas (*phantom*) usando ^{124}I são realizados para determinar o fator de calibração para o *scanner* PET e contador dotado de

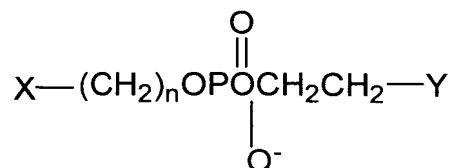
poços (receptáculo cilíndrico) (*well counter*). Estudos fantasmas são realizados em relação aos mesmos tempos de imagem e mesma duração de aquisição.

- 5 A constante de influxo da região-alvo de absorção em relação a qualquer paciente dado é comparada com uma região base no mesmo paciente e as lesões são classificadas como regiões de tumor ou não-tumor baseadas nessa comparação. Classificação similar de região de tumor e não-tumor pode também ser feita por análise visual.

- 10 A presente invenção não é pretendida ser limitada aos exemplos precedentes, mas abrange todas tais modificações e variações que se enquadram dentro do escopo das reivindicações anexas.

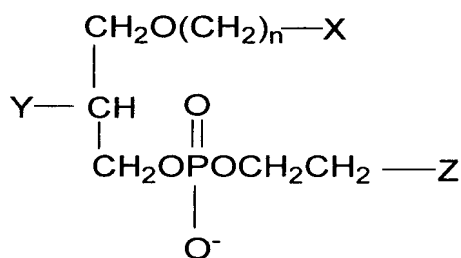
REIVINDICAÇÕES

1. Corante de fosfolipídeo fluorescente, o qual compreende:
um fosfolipídeo de fórmula I ou II



Fórmula I

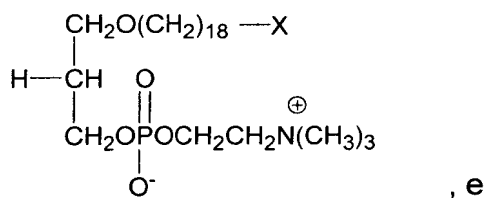
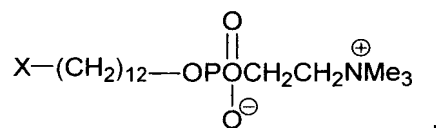
- 5 em que X é um fluoróforo; n é um número inteiro entre 8 e 30; e Y é selecionado do grupo que compreende NH₂, N(R)₂, e N(R)₃, em que R é um substituinte alquila ou arilalquila ou

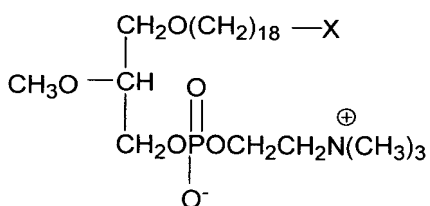


Fórmula II

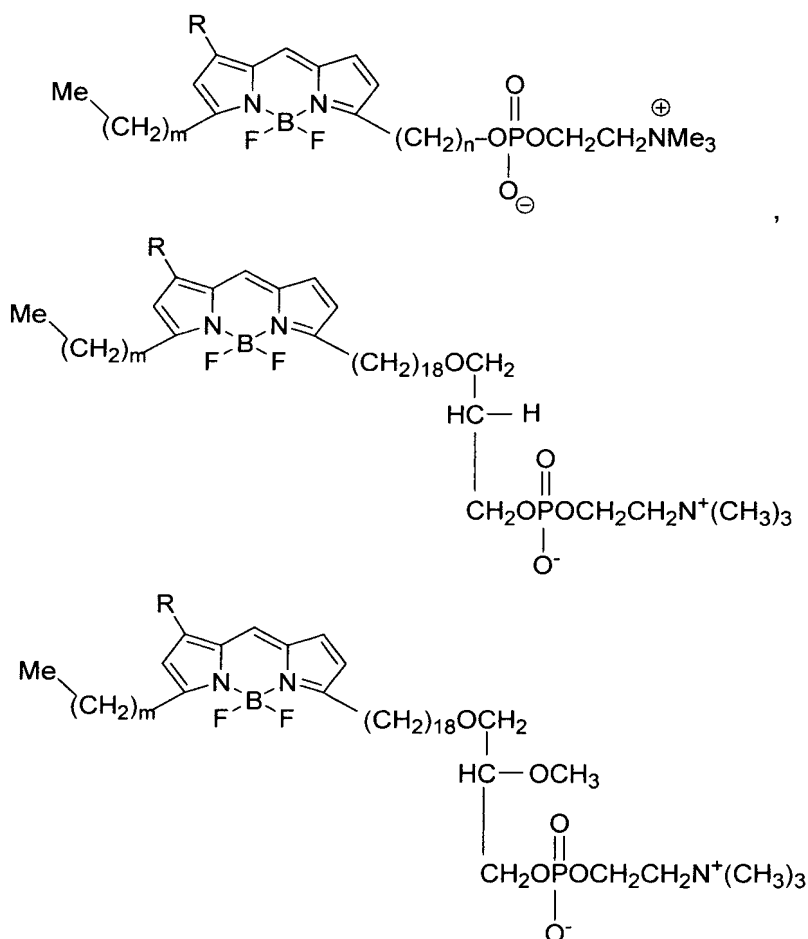
- em que X é um fluoróforo; n é um número inteiro entre 8 e 30; Y é selecionado do grupo que consistem em H, OH, COOH, COOR e OR, e Z é selecionado do grupo que consistem em NH₂, N(R)₂, e N(R)₃, em que R é um substituinte alquila ou arilalquila.
- 10

2. Corante de fosfolipídeo, de acordo com a reivindicação 1, o qual é selecionado do grupo que consistem em:

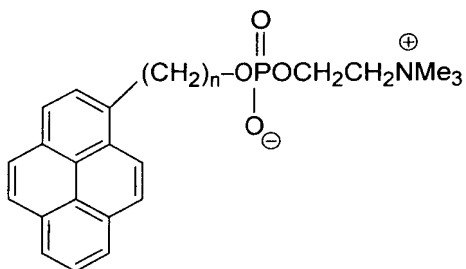


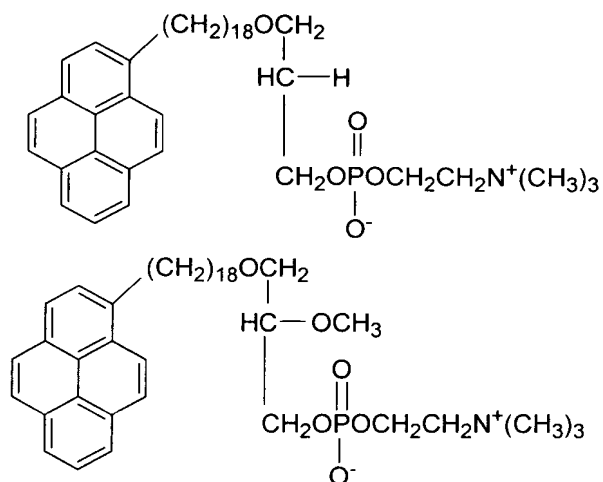


3. Corante de fosfolípido, de acordo com a reivindicação 1, o qual é selecionado do grupo que consistem em:

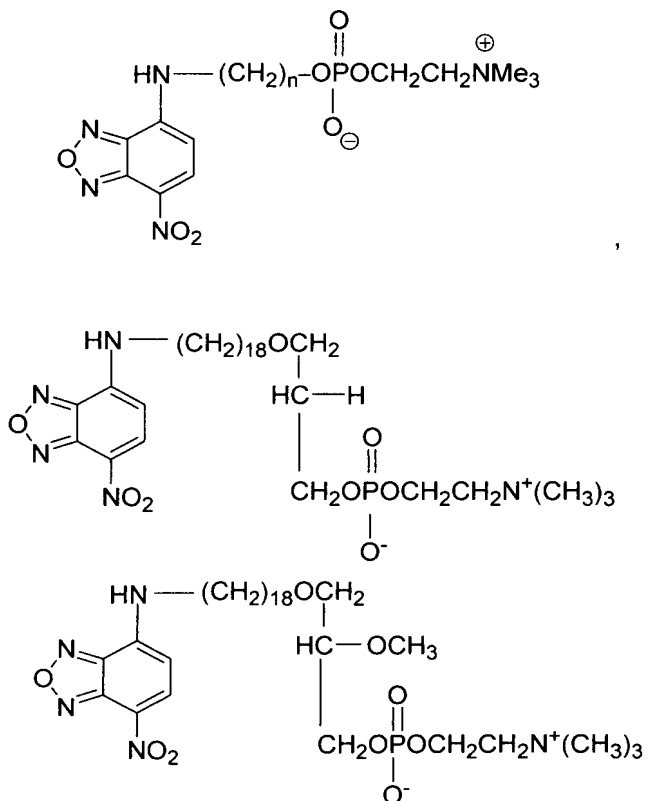


em que m é um número inteiro 0 a 17; e em que n é um número inteiro 4 a 21;

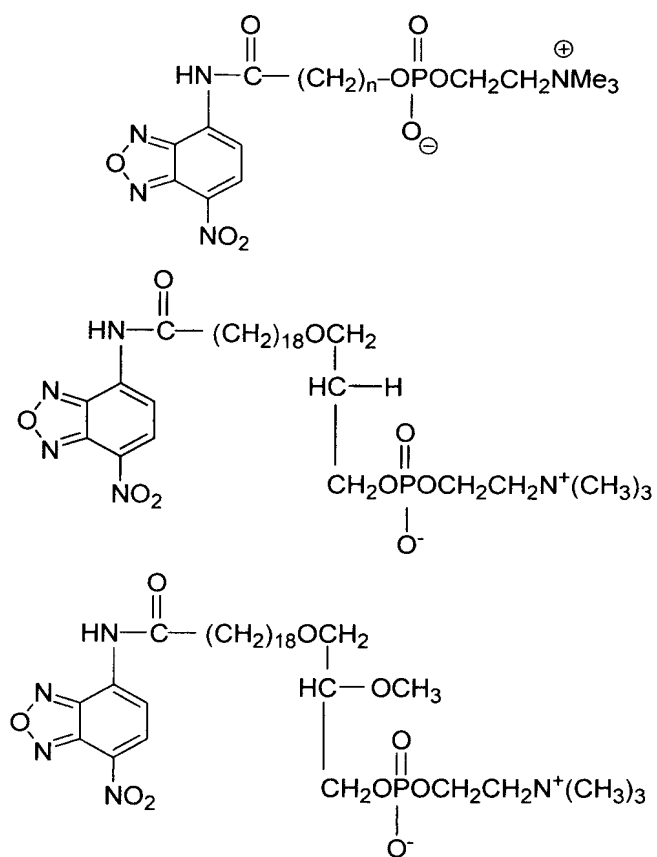




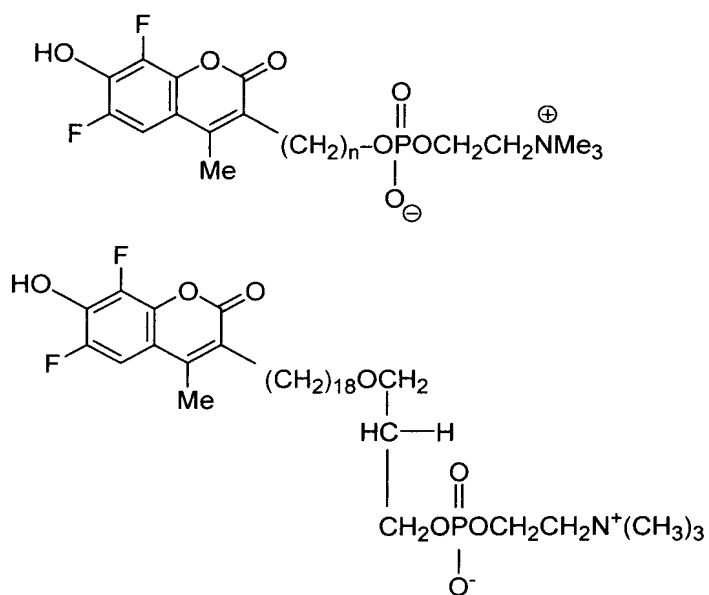
em que n é um número inteiro 4 a 22;

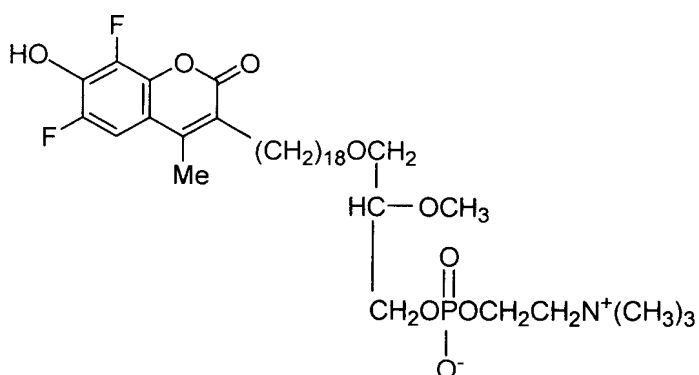


em que n é um número inteiro 4 a 22;

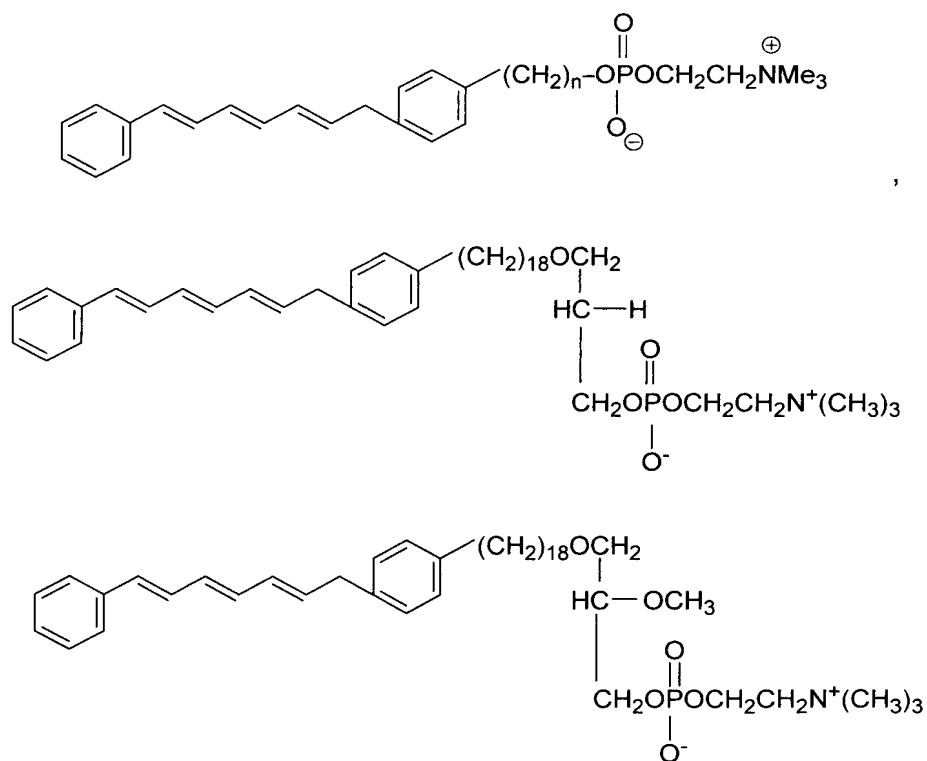


em que n é um número inteiro 4 a 21;

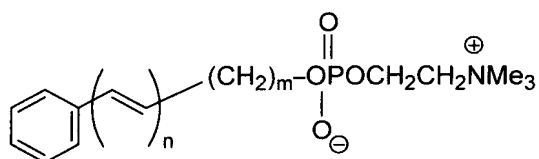


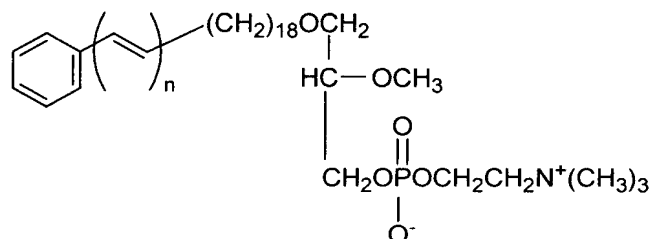
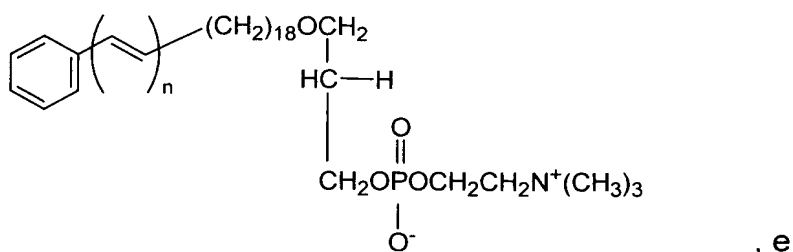


em que n é um número inteiro 4 a 22;



em que n é um número inteiro 3 a 8;





em que n é um número inteiro 4 ou 5 e m é um número inteiro 4 a 14.

4. Corante de fosfolípídeo, de acordo com a reivindicação 1, no qual a molécula fluorescente exibe fluorescência sob um comprimento de onda de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 1.000 nm.

5. Método de distinção de uma estrutura benigna de um tecido neoplásico em uma região selecionada usando um endoscópio que apresenta pelo menos dois comprimentos de onda em um indivíduo, método que compreende as etapas de:

(a) administrar um agente específico a tumor fluorescentemente marcado ao indivíduo;

(b) usar uma primeira técnica para produzir uma visualização da anatomia da região selecionada usando o primeiro comprimento de onda de um endoscópio;

(c) usar uma segunda técnica para produzir uma visualização da distribuição de fluorescência produzida pelo agente específico a tumor fluorescentemente marcado; e

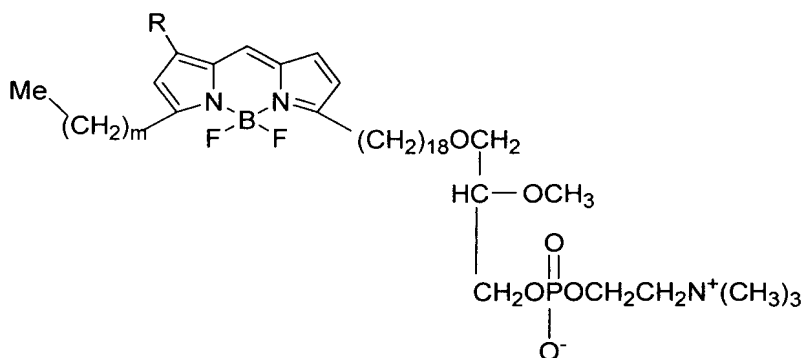
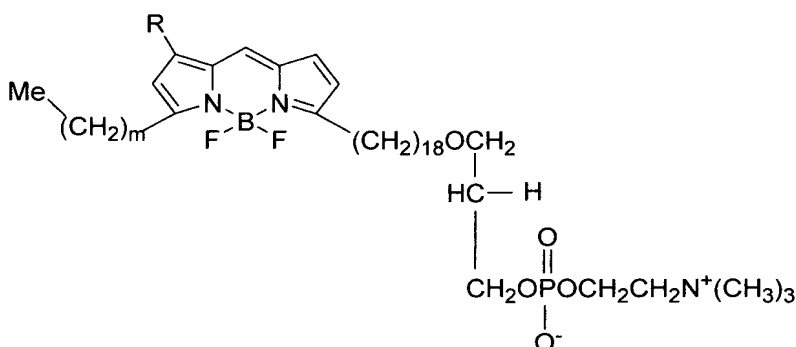
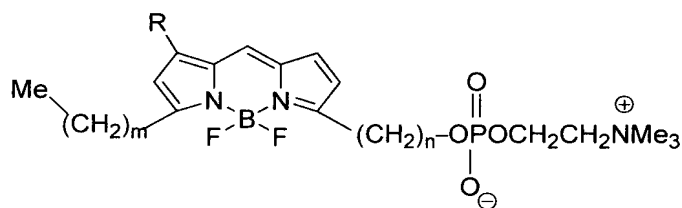
(d) comparar a visualização da anatomia da região selecionada pelo primeiro comprimento de onda com a visualização da distribuição de fluorescência através do segundo comprimento de onda produzido pelo agente específico a tumor fluorescentemente marcado distinguindo desse modo uma estrutura benigna de tecido neoplásico.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, no qual a região selecionada é o trato gastrointestinal e o trato respiratório.

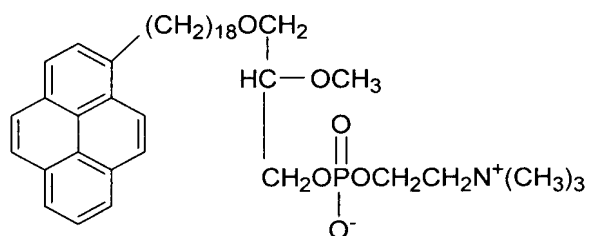
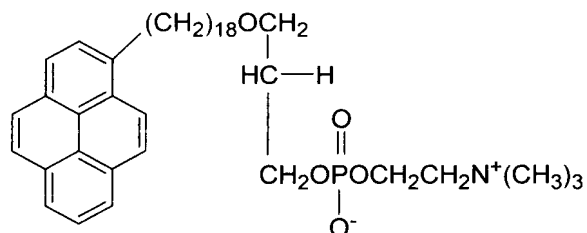
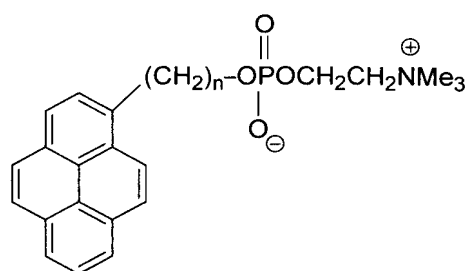
7. Método, de acordo com a reivindicação 5, no qual o primeiro comprimento de onda é de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 800 nm.

8. Método, de acordo com a reivindicação 5, no qual o segundo comprimento de onda é de aproximadamente 300 nm a 1000 nm.

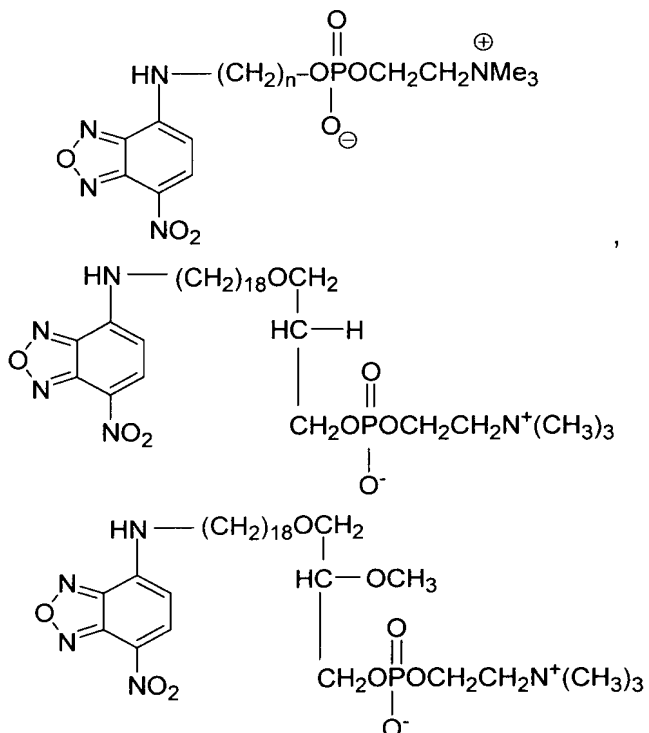
9. Método, de acordo com a reivindicação 5, no qual o composto seletivo a tumor fluorescentemente marcado é o corante fosfolipídico selecionado do grupo que consistem em:



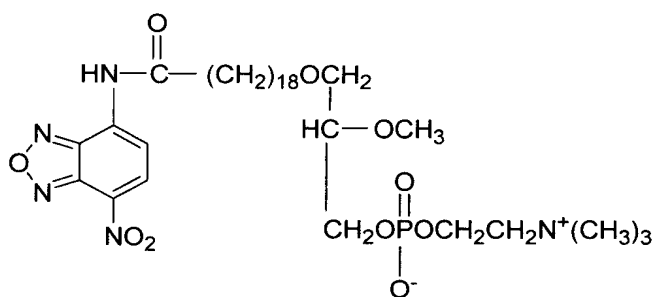
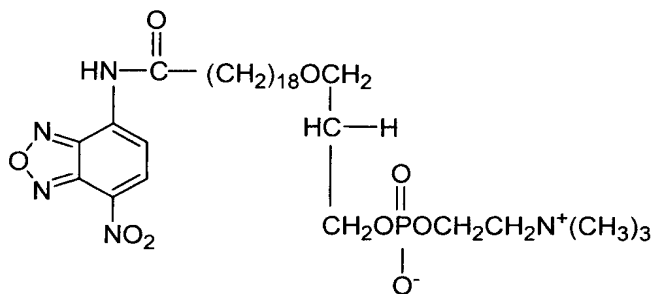
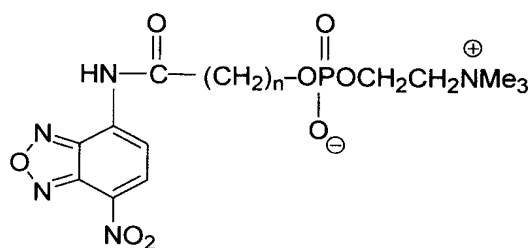
em que m é um número inteiro 0 a 17; e em que n é um número inteiro 4 a 21;



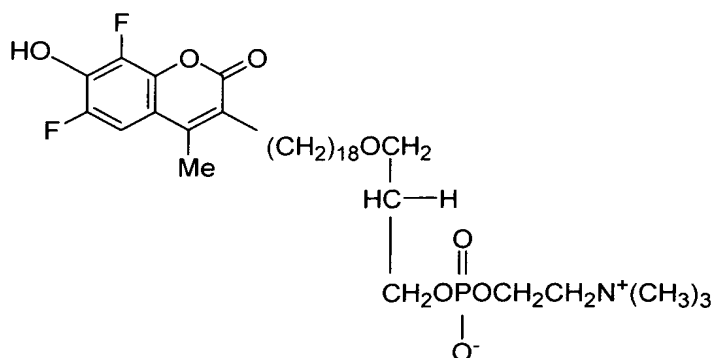
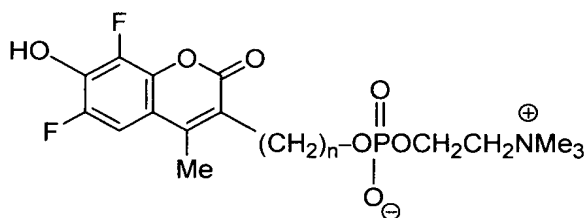
em que n é um número inteiro 4 a 22;

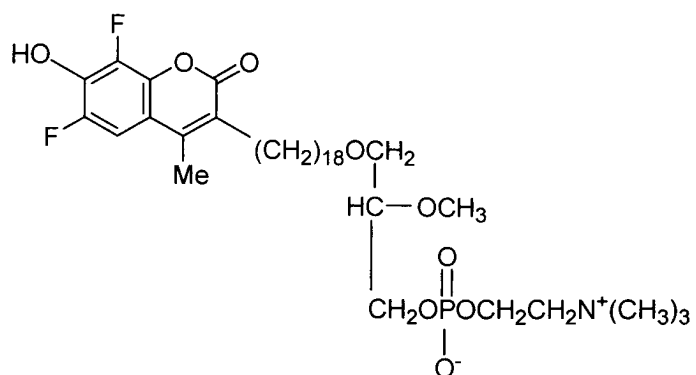


em que n é um número inteiro 4 a 22;

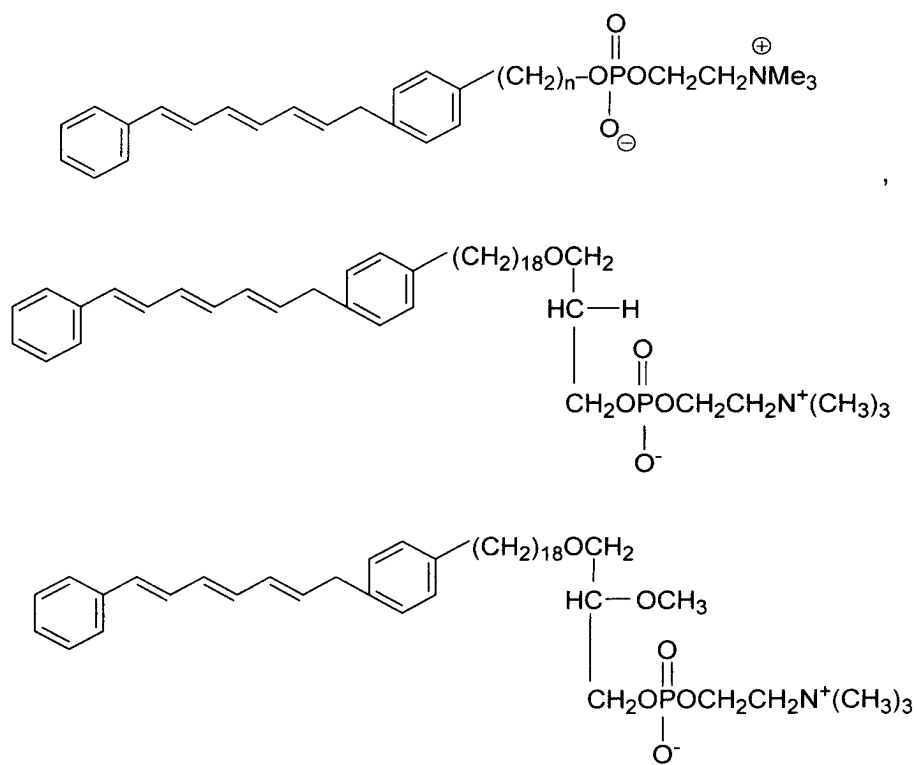


em que n é um número inteiro 4 a 21;

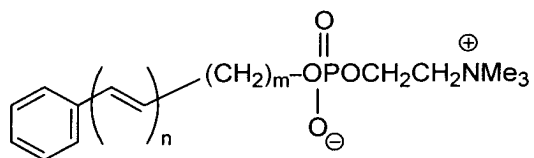


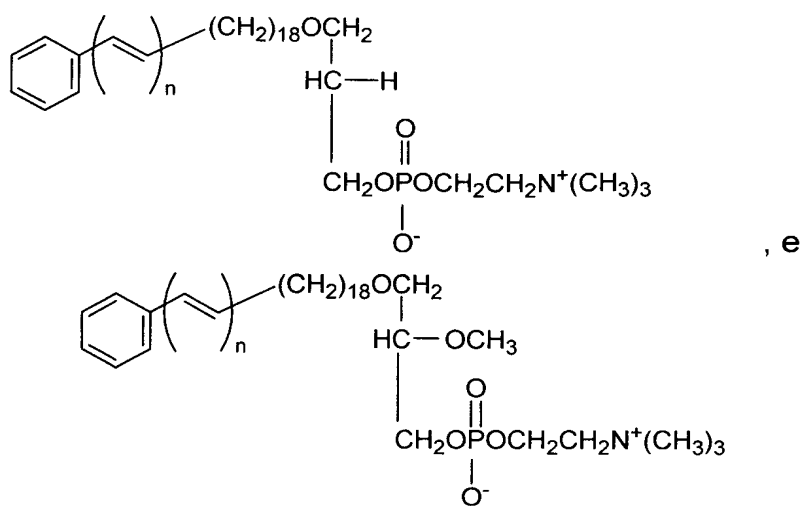


em que n é um número inteiro 4 a 22;



em que n é um número inteiro 3 a 8;





em que n é um número inteiro 4 ou 5 e m é um número inteiro 4 a 14.

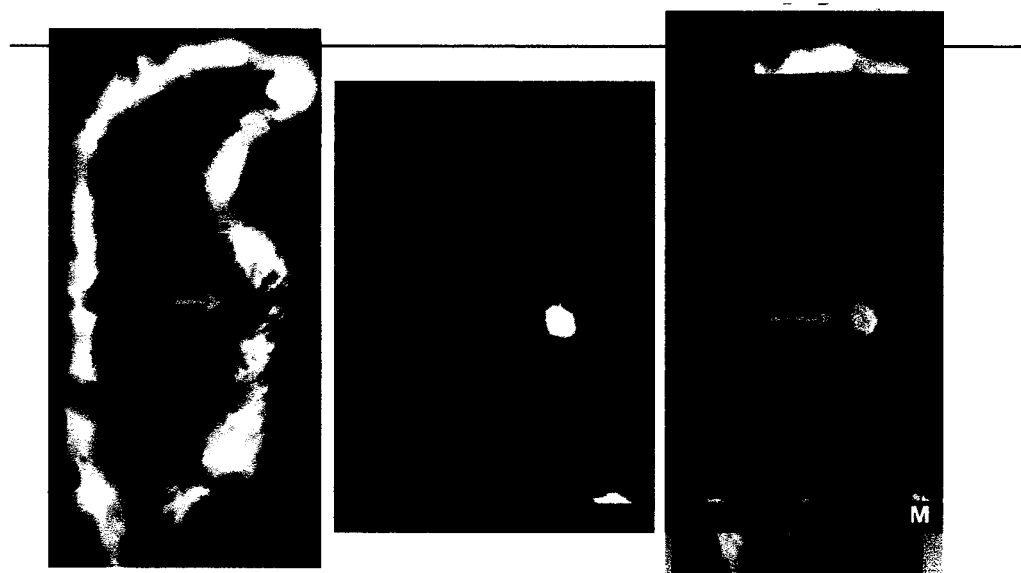


FIG. 1

RESUMO

Patente de Invenção: **"FLUORESCÊNCIA PRÓXIMA DO INFRAVERMELHO USANDO CORANTES ANÁLOGOS DE ÉTER FOSFOLIPÍDICO EM APLICAÇÕES ENDOSCÓPICAS"**.

- 5 A presente invenção refere-se a uma composição e métodos de uso de corantes fosfolipídeos para uso na detecção de tecido neoplásico, tipicamente usando o procedimento de roteamento de endoscopia e métodos de otimização de tratamento de terapia em um indivíduo.