

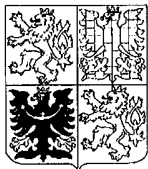
PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 987

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **16.09.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **18.09.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/283301**

(33) Země priority: **JP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **11.07.2001**
(Věstník č. 7/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/EP99/07088**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/16810**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 49/00

(71) Přihlašovatel:

FUJI PHOTO FILM CO., LTD., Minamiashigara-shi,
JP;
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, Berlin, DE;

(72) Původce:

Miwa Naoto, Takatsuki-shi, JP;
Inagaki Michihito, Minoh-shi, JP;
Eguchi Hiroaki, Kawanishi-shi, JP;
Okumura Masafumi, Otsu-shi, JP;
Inagaki Yoshio, Minamiashigara-shi, JP;
Harada Toru, Minamiashigara-shi, JP;

(74) Zástupce:

Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření
v blízké infračervené oblasti a použití tohoto
činidla při fluorescenčním zobrazování**

(57) Anotace:

Předmětem tohoto řešení je fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké oblasti infračerveného záření zahrnující sloučeninu obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin a způsob fluorescenčního zobrazování, který zahrnuje zavedení fluorescenčního kontrastního činidla vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle tohoto řešení do živého těla, ozáření tohoto těla excitačním zářením a detekci fluorescenčního záření v blízké infračervené oblasti vyzařovaného uvedeným kontrastním činidlem. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného řešení je excitováno excitačním zářením a vyzařuje fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti, které velice snadno prochází skrz biologické tkáně, čímž byla umožněna detekce lézí v hlubokých částech živého těla. Dále je kontrastní činidlo podle předmětného řešení velice dobře rozpustné ve vodě a je velice málo toxické, takže je možno jej použít bez nebezpečí pro zkoumaný objekt.

15.03.01

STÁTNÍ ÚSTAV PRO VÝZKUM
ONKOLOGIE
PRAHA 2, HÁVNANÍ

2001-987

Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti a použití tohoto činidla při fluorescenčním zobrazování

Oblast techniky

Předmětný vynález se týká fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti a použití tohoto činidla při fluorescenčním zobrazování.

Dosavadní stav techniky

Při léčení nemocí je životně důležité detekovat morfologické a funkcionální změny, způsobené danou nemocí v živém organismu, v raném stádiu nemoci. Zejména při léčení rakoviny jsou místo a velikost nádoru důležitými určujícími faktory pro zvolení účinného léčebného postupu. Skupina známých metod používaných pro tento účel zahrnuje biopsii napíchnutím bioptickou jehlou apod. a zobrazovací diagnózy, jako je rentgenové zobrazování, MRI, ultrazvukové zobrazování apod. Biopsie je metoda účinná pro stanovení konečné diagnózy, avšak velice zatěžuje testovaný objekt a není vhodná pro sledování změn lézí v čase. Při rentgenovém zobrazování a MRI jsou testované objekty nevyhnutelně vystaveny působení radioaktivního záření a magnetických vln. Dále shora uvedené běžně používané zobrazovací diagnostické metody vyžadují složité postupy a dlouhou dobu pro měření a stanovení diagnózy. Velké přístroje, které se při těchto diagnostických postupech používají, rovněž znesnadňují použití těchto postupů během probíhající operace.

Jednou ze zobrazovacích diagnostických metod je fluorescenční zobrazování (Lipsbn R. L. a spolupracovníci *J. Natl. Cancer Inst.*, 26, 1-11 (1961)). Při této metodě se jako kontrastní činidlo používá sloučenina, která po vystavení excitačnímu záření o určité vlnové délce, vyzařuje fluorescenční záření. Tělo je tedy vystaveno excitačnímu záření ze zdroje mimo tělo a následně je detekováno fluorescenční záření vyzařované uvedeným kontrastním činidlem.

Takovýmto fluorescenčním činidlem může být například derivát porfyrinu, který se shromažďuje v nádoru a používá se při fotodynamické terapii (PDT), jako je například hematoporfyrin. Jako další příklady je možné uvést fotofrin a benzoporfyrin (viz. publikace Lipsbn R. L. a spolupracovníci *J. Natl. Cancer Inst.*, 26, 1-11 (1961); publikace Meng T. S. a spolupracovníci, *SPIE*, 1641, 90-98 (1992), zveřejněná mezinárodní přihláška číslo WO 84/04665 apod.). Tyto sloučeniny se používají při fotodynamické terapii (PDT) a jsou fototoxické, což je vlastnost, kterou musí mít látky používané při fotodynamické terapii (PDT). Díky této vlastnosti není vhodné použití těchto činidel pro diagnostické účely.

Současně je známa metoda tzv. retinální cirkulační mikroangiografie, při které se používá fluorescenční barvivo, jako je fluorescein, fluorescamin a riboflavin (viz. patent Spojených států amerických číslo US 4 945 239). Tato fluorescenční barviva vyzařují fluorescenční záření ve viditelné oblasti světla o vlnové délce 400 až 600 nanometrů. Propustnost světla v této oblasti vlnových délek skrz živou

tkáň je velmi malá, takže detekce lézí v hluboké části těla je tímto způsobem téměř nemožná.

Dále bylo popsáno použití fluorescenčních činidel na bázi kyaninových sloučenin, jejichž skupina zahrnuje indokyaninovou zeleň (která se v dalším textu označuje také zkratkou ICG), které se používají pro stanovení funkcí jater a srdečního výkonu (viz. publikace Haglund M. M. a spolupracovníci, *Neurosurgery*, 35, 930 (1994); publikace Li X. a spolupracovníci, *SPIE*, 2389, 789-797 (1995)). Kyaninové sloučeniny vykazují absorpenci v blízké infračervené oblasti světla (tj. v rozsahu vlnových délek 700 až 1300 nanometrů).

Záření v blízké infračervené oblasti vykazuje vysokou propustnost skrz živé tkáně a může procházet skrz materiál o tloušťce přibližně 10 centimetrů. Díky této vlastnosti je využití tohoto záření v klinické medicíně věnována stále větší pozornost. Tak například metoda optické CT, která využívá optické propustnosti média, vzbuzuje zájem jakožto nová technologie používaná v klinické oblasti. Tento zájem je způsoben tím, že záření v blízké infračervené oblasti může procházet skrz živé tělo a je možné jej použít pro sledování koncentrace a oběhu kyslíku v živém těle.

Kyaninové sloučeniny vyzařují fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti, které může procházet skrz živé tkáně, a jsou tak potenciálními fluorescenčními kontrastními činidly. V posledních několika letech byly vyvinuty různé kyaninové sloučeniny, které byly zkoušeny z hlediska jejich případného využití jakožto fluorescenčních kontrastních činidel (viz. například zveřejněné mezinárodní přihlášky číslo

WO 96/17628 a WO 97/13490 apod.). Avšak dosud nebylo popsáno takové činidlo, které by bylo dostatečně rozpustné ve vodě, dostatečně bezpečné pro živý organismus a zároveň schopné rozlišit normální tkáně od nemocných tkání (tj. které by mělo schopnost selektivně zobrazovat cílové místo).

Podstata vynálezu

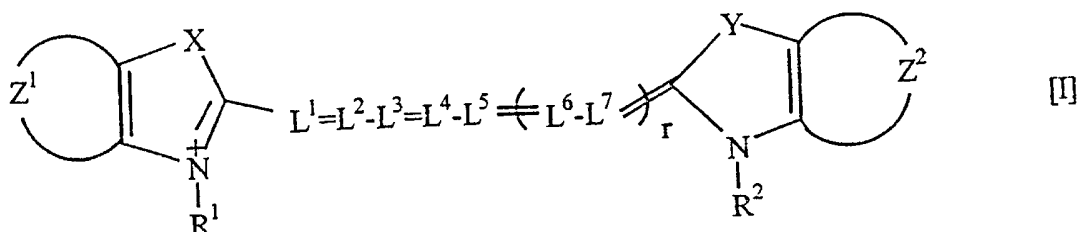
Předmětem tohoto vynálezu je fluorescenční kontrastní činidlo. Činidlo podle tohoto vynálezu má nízkou toxicitu a má vynikající rozpustnost ve vodě. Dále činidlo podle předmětného vynálezu vyzařuje fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti, které může procházet skrz živé tkáně, a které umožňuje specifické zobrazení nádoru a/nebo krevních cév.

Dalším předmětem tohoto vynálezu je způsob fluorescenčního zobrazování, při kterém se používá uvedené fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti.

Předmětný vynález je založen na zjištění, že zavedením tří nebo více sulfonových skupin do struktury kyaninové sloučeniny vede ke vzniku fluorescenčního kontrastního činidla, které je vysoce rozpustné ve vodě. Bylo rovněž zjištěno, že je možné vyvinout způsob fluorescenčního zobrazování založený na použití tohoto kontrastního činidla.

Předmětem tohoto vynálezu tedy je:

(1) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké oblasti infračerveného záření zahrnující sloučeninu obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin, kterou lze znázornit obecným vzorcem [I]



kde

R^1 a R^2 jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny;

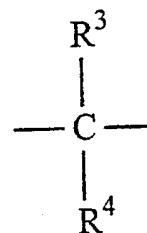
Z^1 a Z^2 jsou nekovové atomy nezbytné pro vytvoření substituované nebo nesubstituované kondenzované benzoskupiny nebo kondenzované naftoskupiny;

r je číslo 0, 1 nebo 2;

$L^1 - L^7$ jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované methinové skupiny, přičemž pokud r je 2, skupiny L^6 a L^7 mohou být přítomny dvakrát a jsou stejné nebo se liší; a

X a Y jsou nezávisle na sobě vybrané ze skupiny zahrnující skupinu $-O-$, skupinu $-S-$,

skupinu $-CH=CH-$ nebo skupinu



kde

R^3 a R^4 jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny,

nebo z farmaceutického hlediska přijatelnou sůl uvedené sloučeniny.

(2) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle shora uvedeného bodu (1), které ve své struktuře neobsahuje karboxylovou skupinu.

(3) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle shora uvedeného bodu (1) nebo (2), kde v obecném vzorci [I] je $r = 1$.

(4) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli ze shora uvedených bodů (1) až (3), které ve své struktuře obsahuje čtyři nebo více sulfonových skupin.

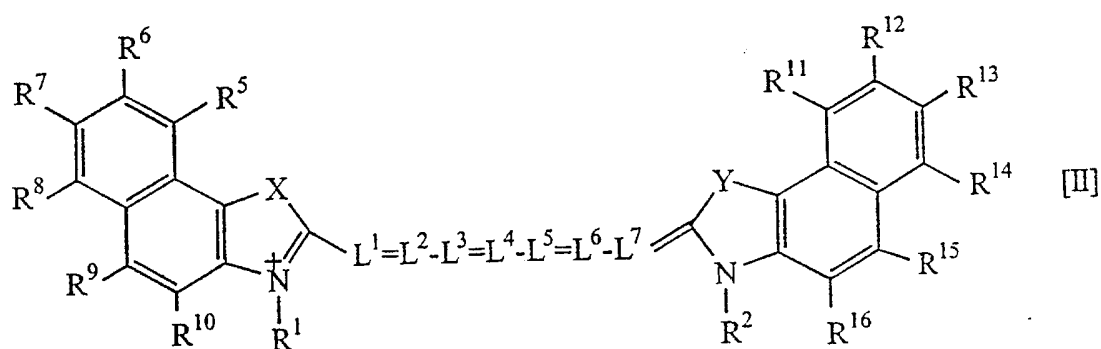
(5) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli ze shora uvedených bodů (1) až (4), které ve své struktuře obsahuje deset nebo méně sulfonových skupin.

(6) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli ze shora uvedených bodů (1) až (4), které ve své struktuře obsahuje osm nebo méně sulfonových skupin.

(7) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli ze shora uvedených bodů (1) až (6), kde uvedenou z farmaceutického hlediska přijatelnou solí je sodná sůl.

(8) Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli ze shora uvedených bodů (1) až (7) pro zobrazování nádoru a/nebo pro angiografii.

(9) Sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [II] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin

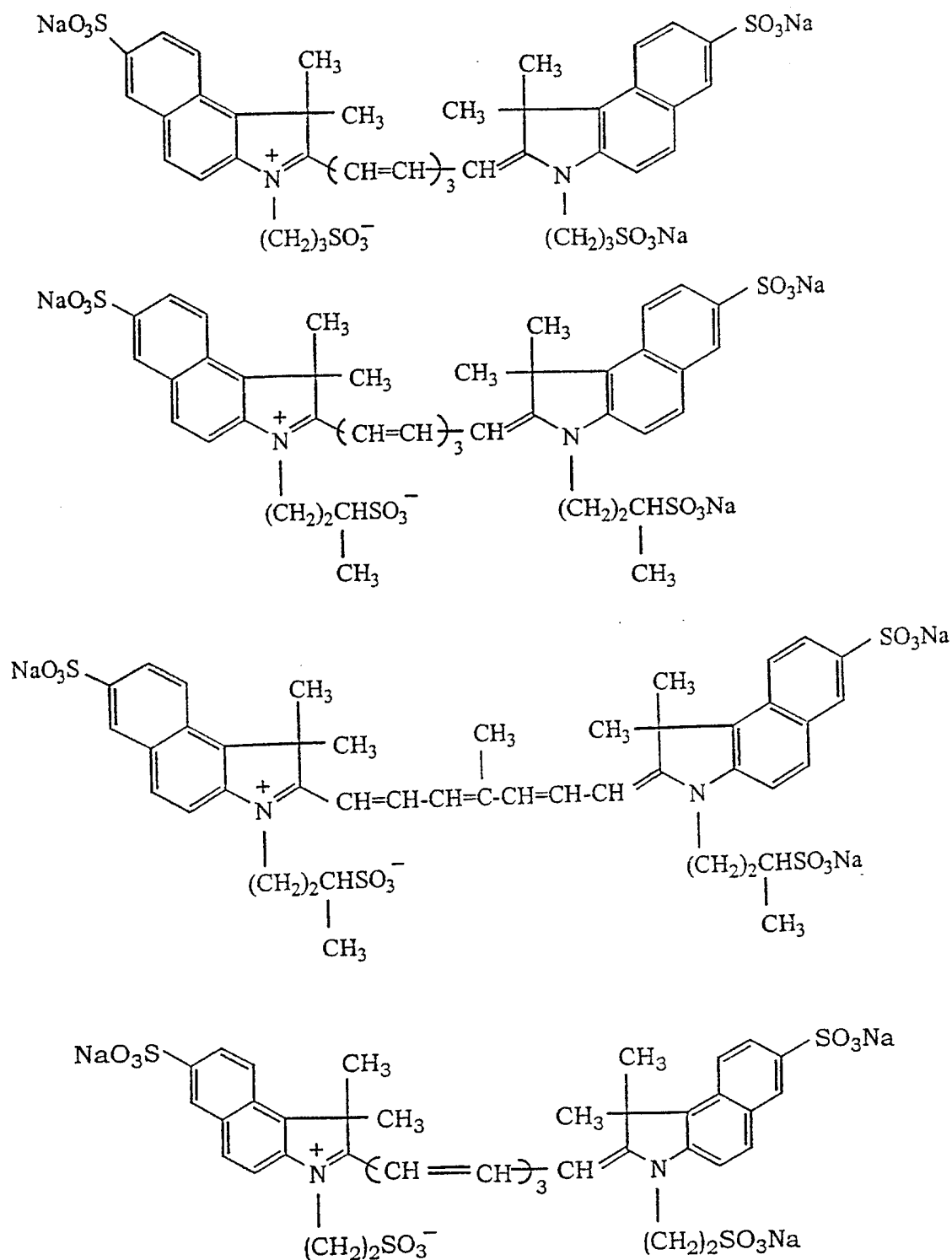


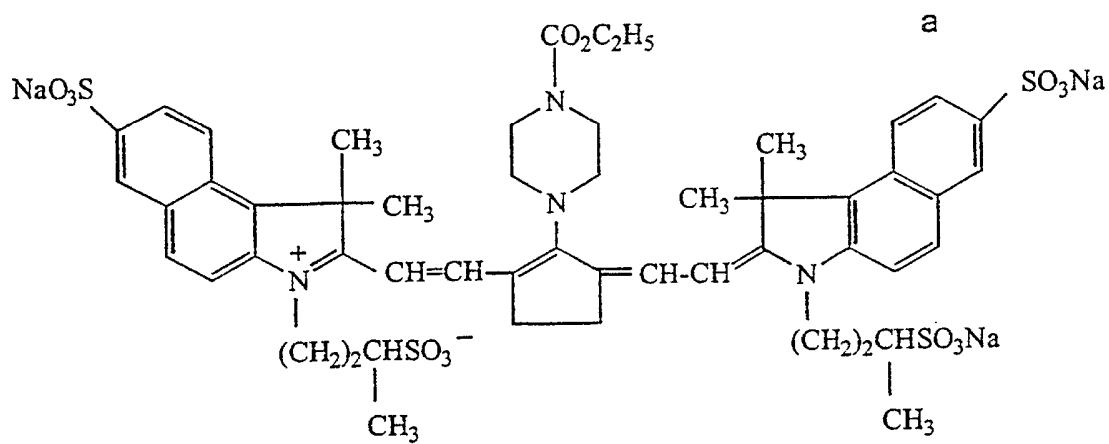
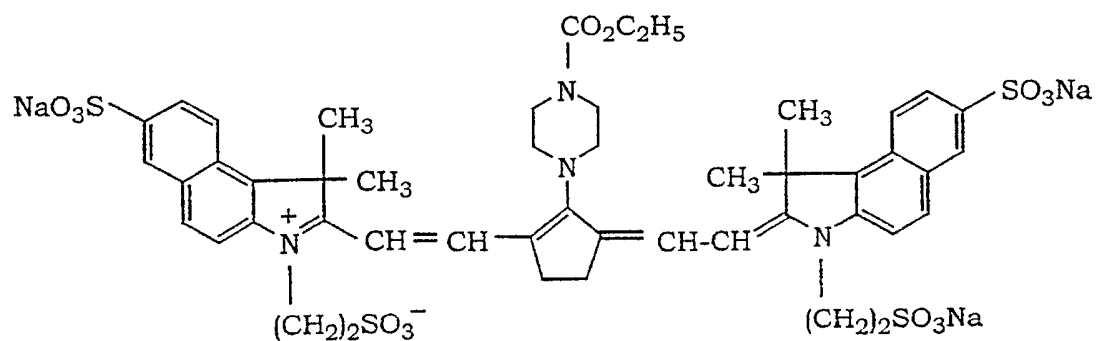
kde

skupiny R^1 , R^2 , $L^1 - L^7$, X a Y mají shora uvedený význam;
a

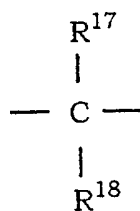
R^5 až R^{16} jsou nezávisle na sobě atomy vodíku, sulfonové skupiny, karboxylové skupiny, hydroxylové skupiny, alkyl(sulfoalkyl)aminoskupiny, bis(sulfoalkyl)aminoskupiny, sulfoalkoxylové skupiny, (sulfoalkyl)sulfonylové skupiny nebo (sulfoalkyl)aminosulfonylové skupiny,

s výjimkou těchto sloučenin





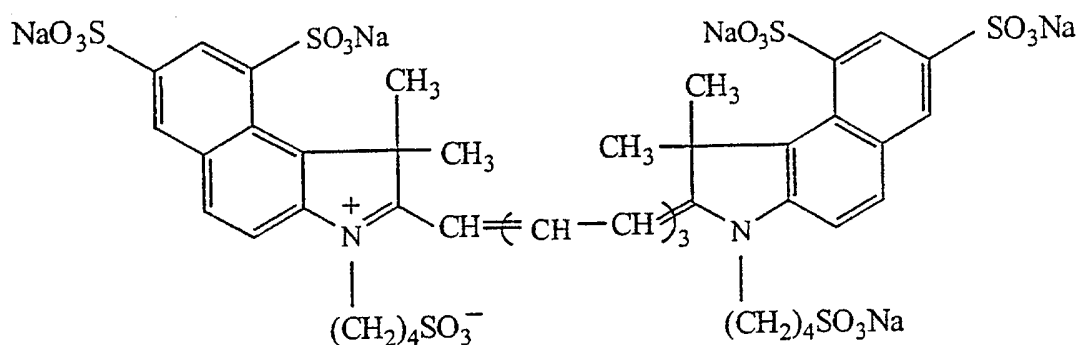
(10) Sodná sůl sloučeniny podle shora uvedeného bodu (9), kde skupiny R^1 a R^2 v obecném vzorci [II] jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou a skupiny X a Y jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce



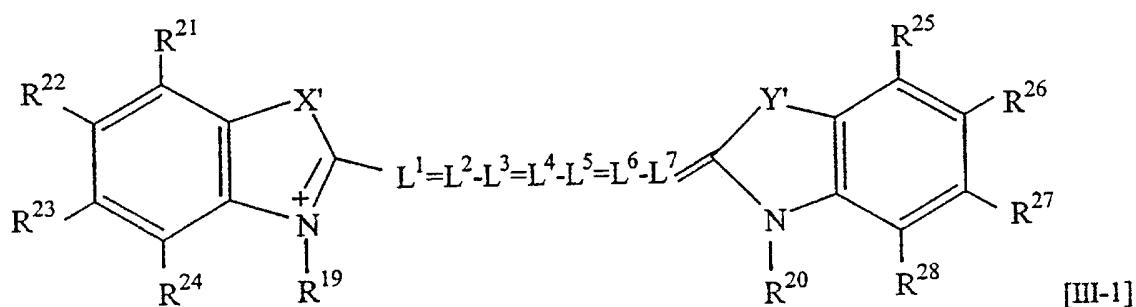
kde

R^{17} a R^{18} jsou nesubstituované nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku.

(11) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (10) vzorce



(12) Sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-1] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin



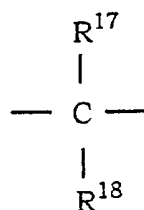
kde

skupiny $L^1 - L^7$ mají shora uvedený význam;

R^{19} a R^{20} jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou;

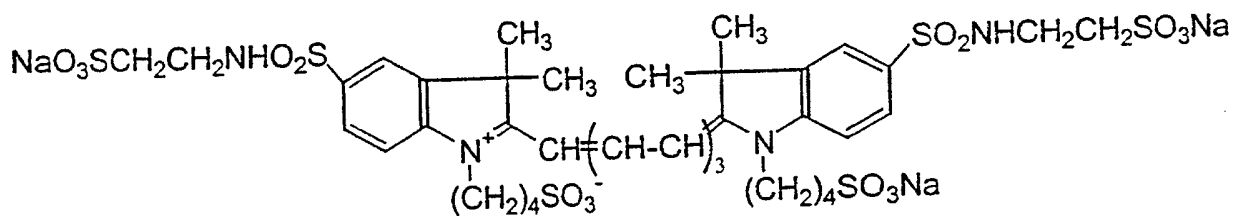
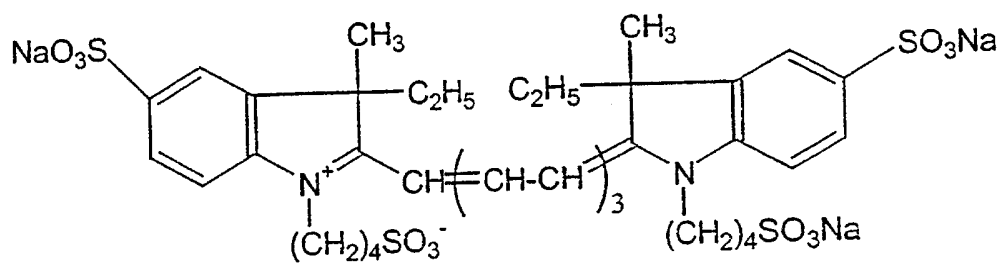
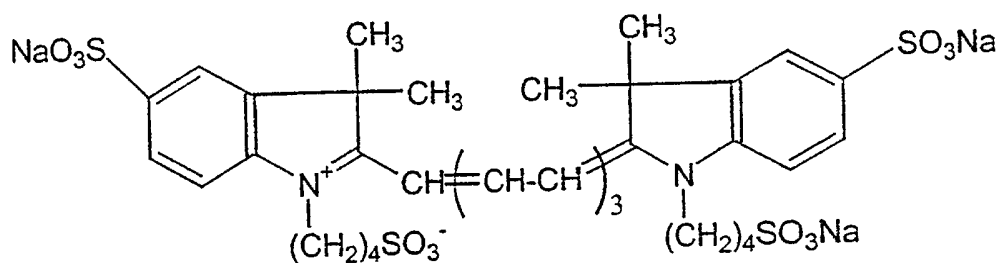
R^{21} až R^{28} jsou nezávisle na sobě atomy vodíku, sulfonové skupiny, karboxylové skupiny, hydroxylové skupiny, alkyl(sulfoalkyl)aminoskupiny, bis(sulfoalkyl)aminoskupiny, sulfoalkoxylové skupiny, (sulfoalkyl)sulfonylové skupiny nebo (sulfoalkyl)aminosulfonylové skupiny; a

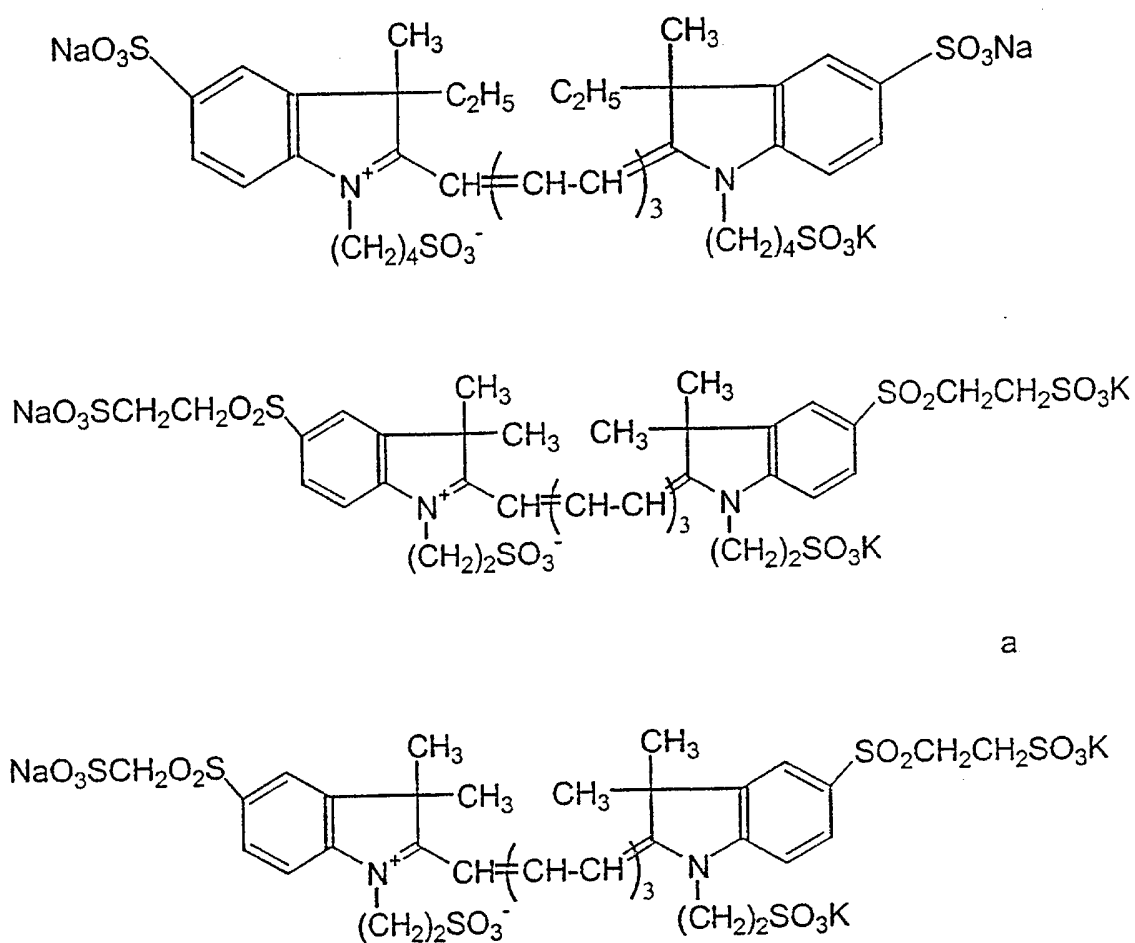
X' a Y' jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce



kde R¹⁷ a R¹⁸ mají shora uvedený význam,

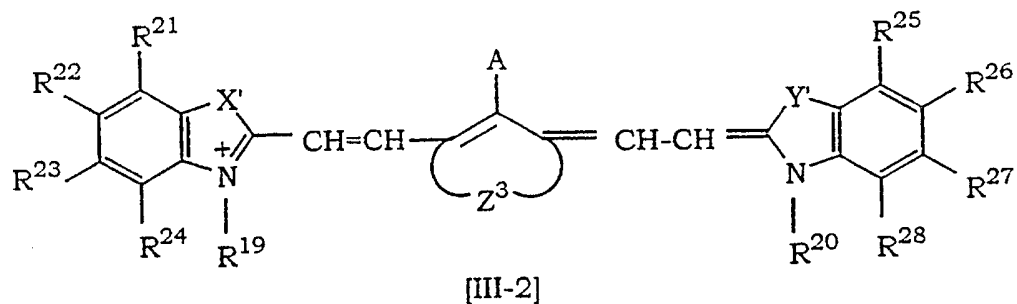
s výjimkou těchto sloučenin:





(13) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (12), kde skupinou L^4 v obecném vzorci [III-1] je methinová skupina substituovaná alkylovou skupinou obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku.

(14) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (12), kterou je sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-2] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin.



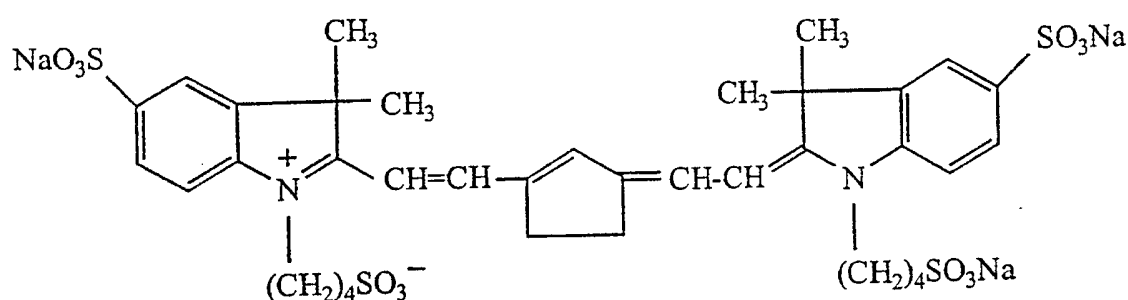
kde

skupiny R^{19} až R^{28} , X' a Y' mají shora uvedený význam;

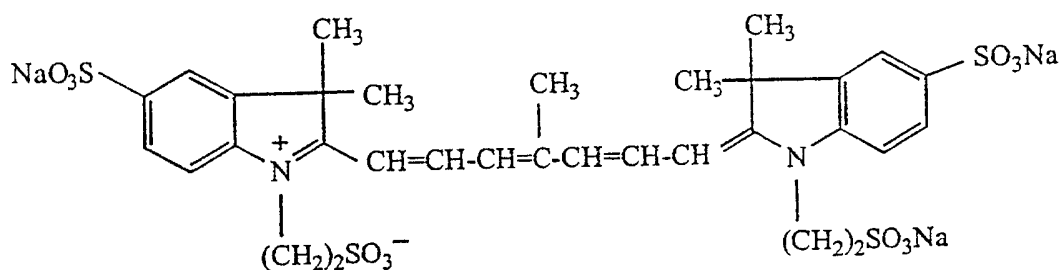
Z^3 je nekovový atom nezbytný pro vytvoření pěti- nebo šestičlenného kruhu; a

A je atom vodíku nebo jakákoli jednovazná skupina.

(15) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (14) vzorce



(16) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (12) vzorce



(17) Sodná sůl podle kteréhokoli z výše uvedených bodů (9), (10), (12), (13) a (14) obsahující ve své struktuře čtyři nebo více sulfonových skupin.

(18) Sodná sůl podle kteréhokoli z výše uvedených bodů (9), (10), (12), (13), (14) a (17) obsahující ve své struktuře deset nebo méně sulfonových skupin.

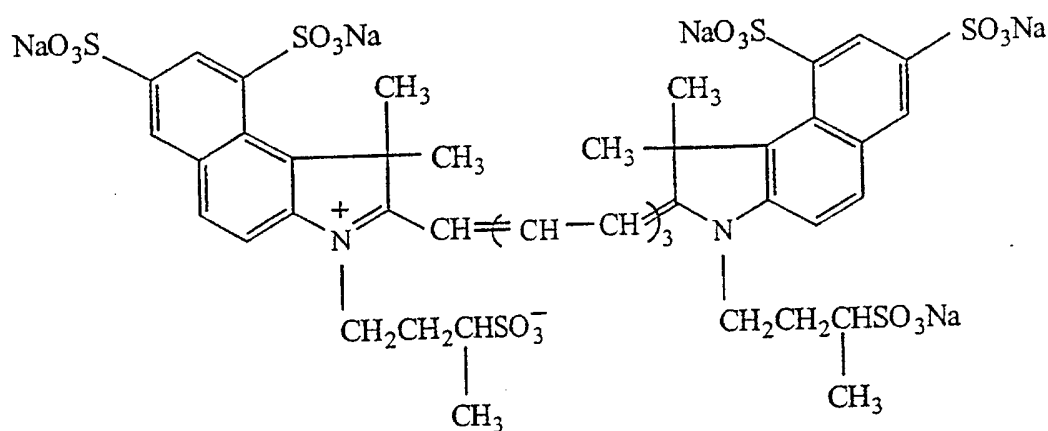
(19) Sodná sůl podle kteréhokolli z výše uvedených bodů (9), (10), (12), (13), (14) a (17) obsahující ve své struktuře osm nebo méně sulfonových skupin.

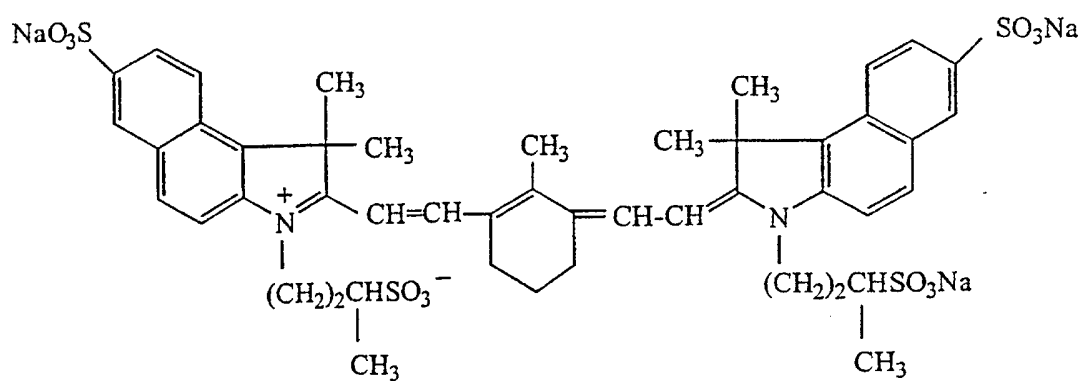
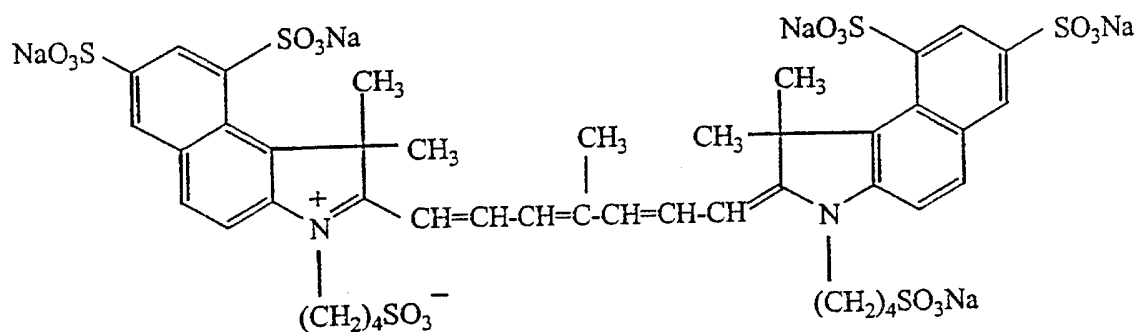
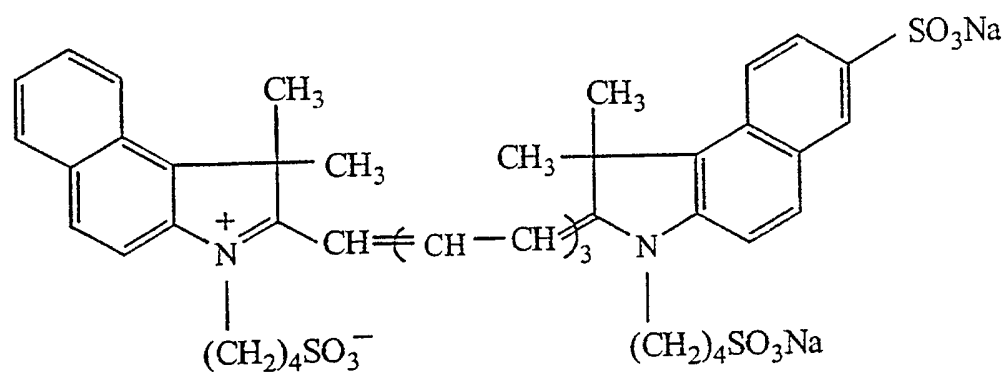
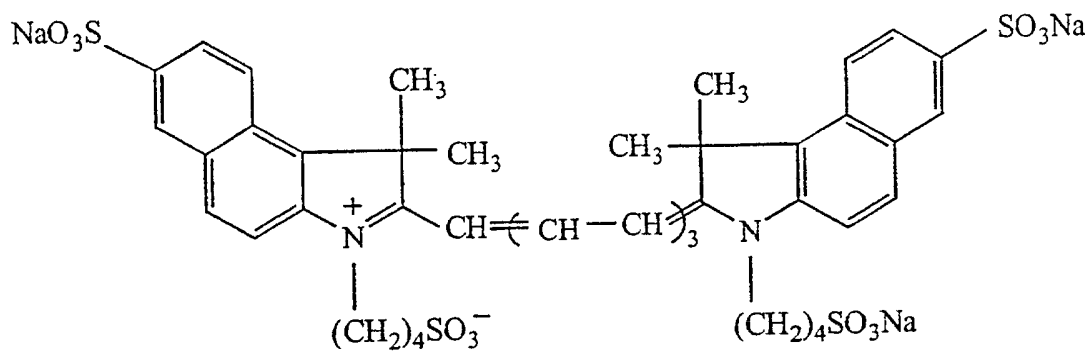
(20) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti zahrnující sodnou sůl podle kteréhokoli z výše uvedených bodů (9) až (19).

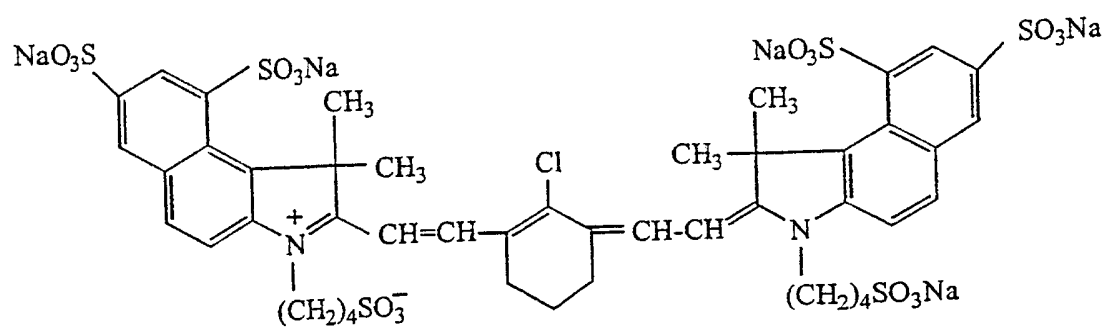
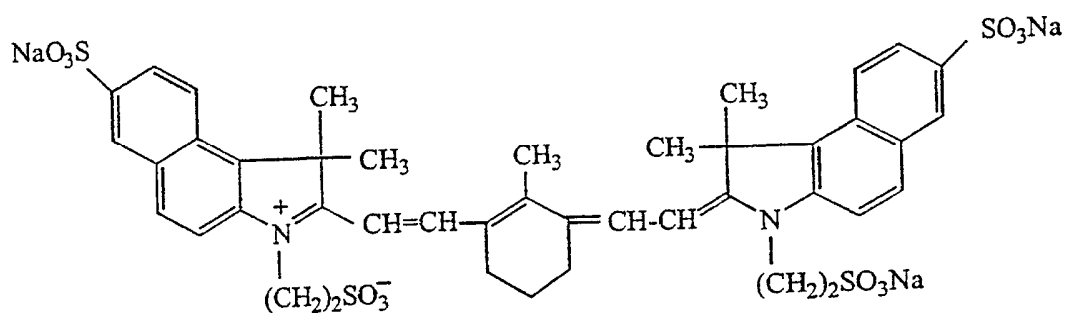
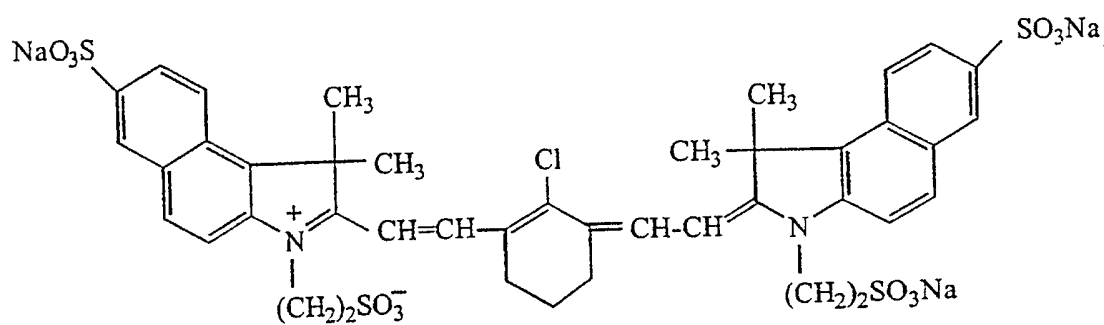
(21) Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle shora uvedeného bodu (20) pro zobrazování nádoru a/nebo pro angiografii.

(22) Způsob fluorescenčního zobrazování zahrnující zavedení fluorescenčního kontrastního činidla vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle shora uvedeného bodu (1) do živého těla, ozáření tohoto těla excitačním zářením a detekci fluorescenčního záření v blízké infračervené oblasti vyzařovaného uvedeným kontrastním činidlem.

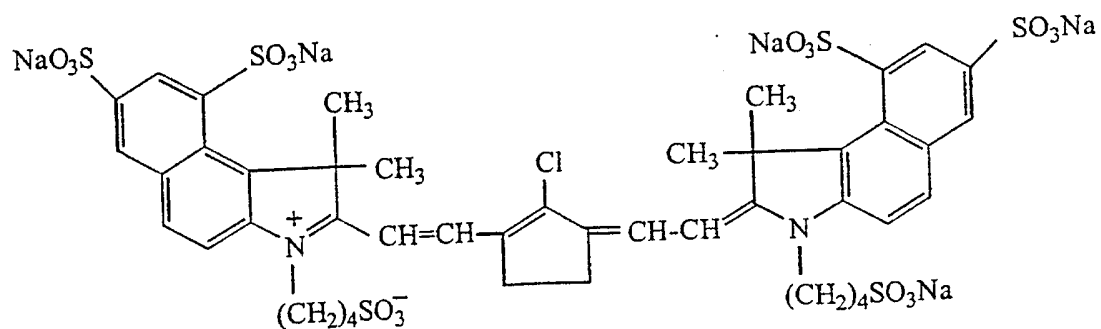
(23) Sodná súl podľa shora uvedeného bodu (9), ktorou je
alespoň jedna sloučenina vybraná ze skupiny zahrnujúcej
sloučeniny nasledujúcich vzorců:



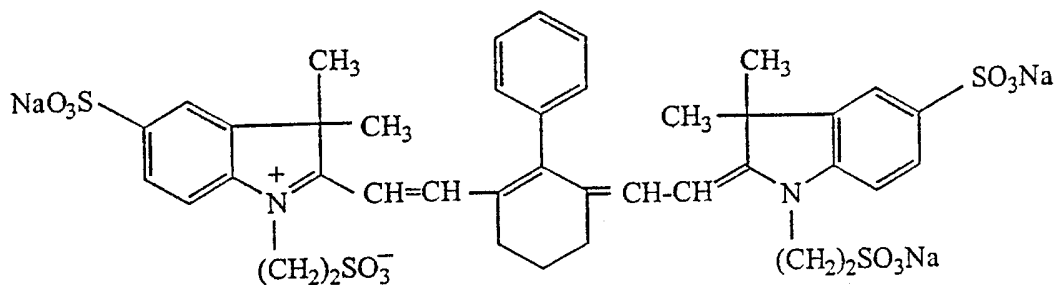
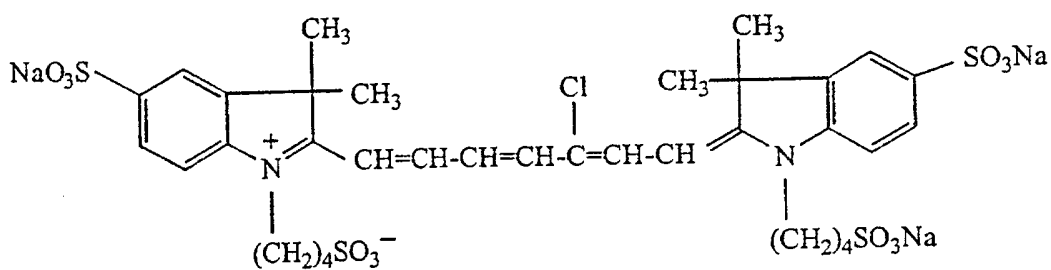
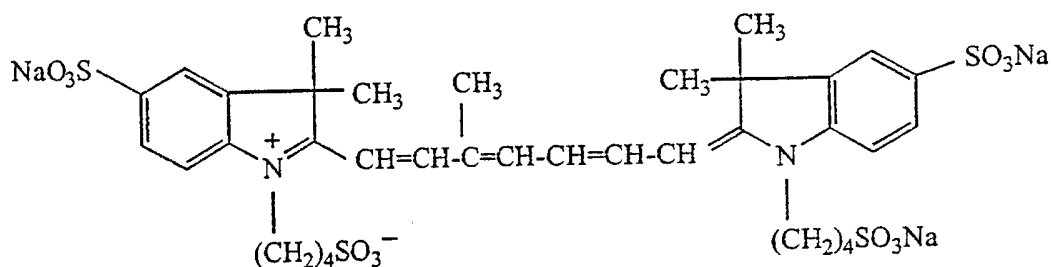
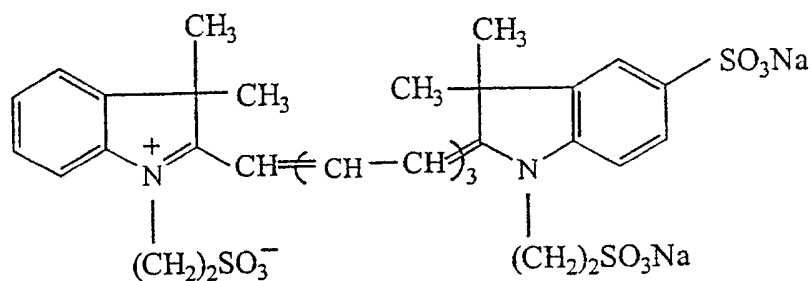


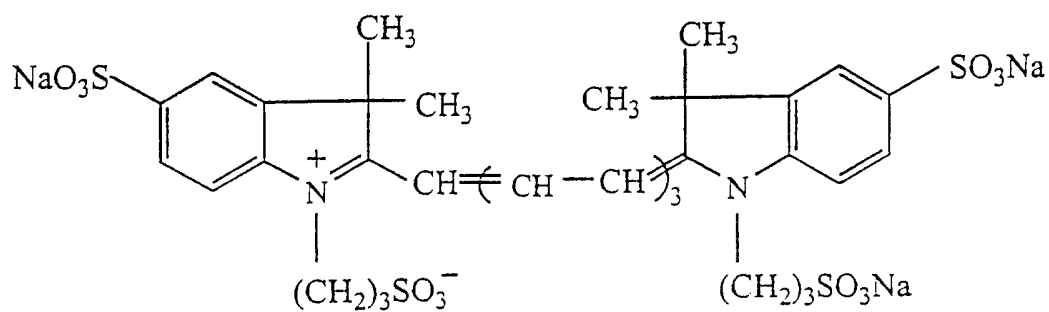
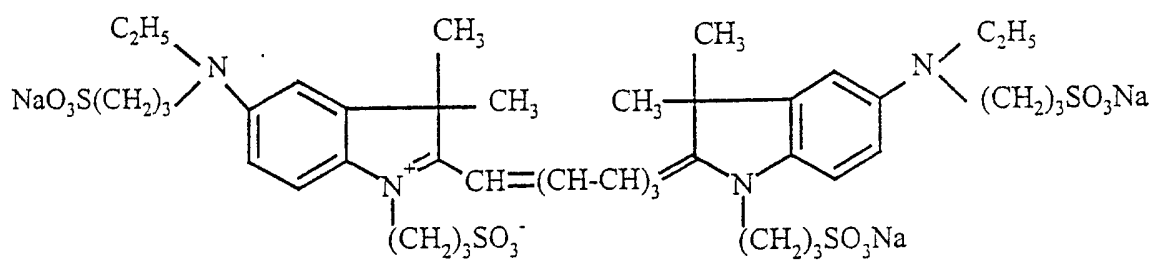
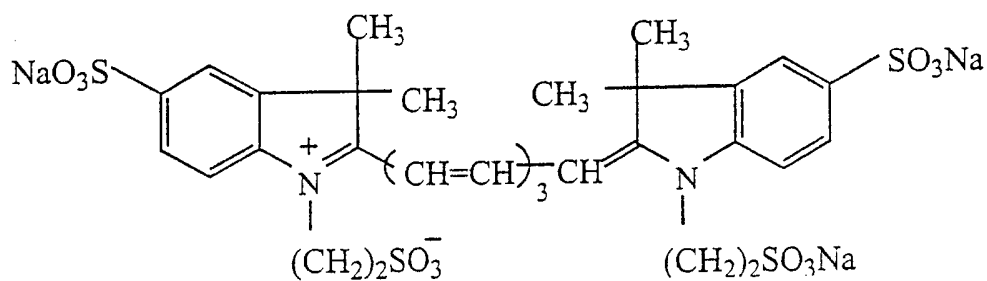
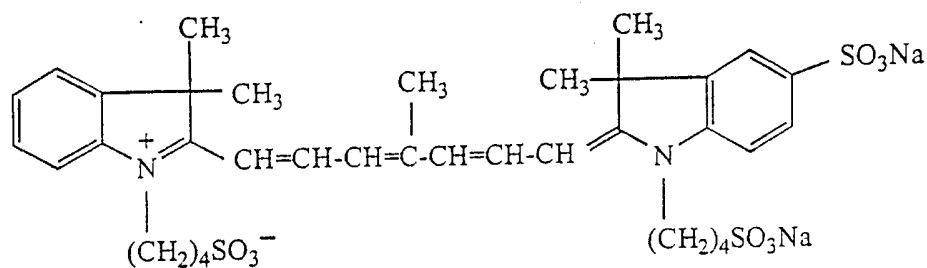


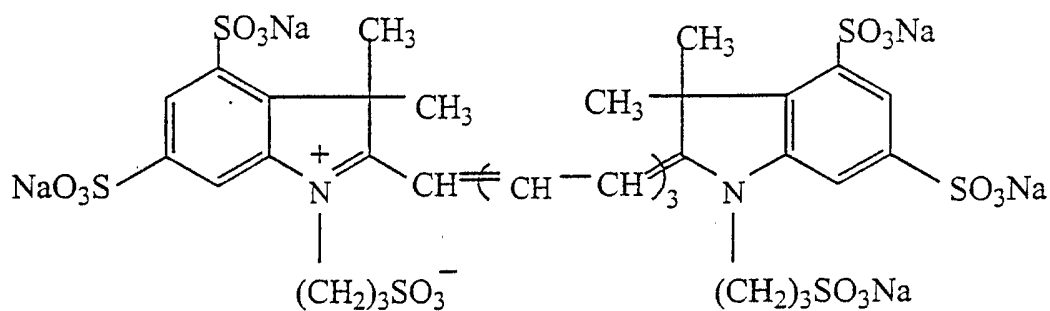
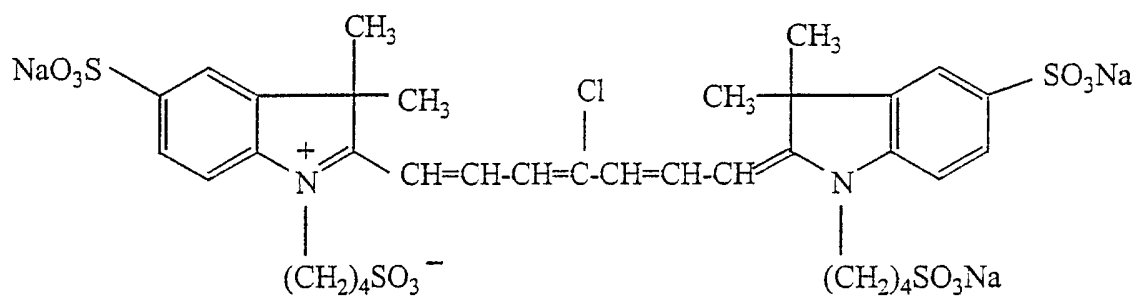
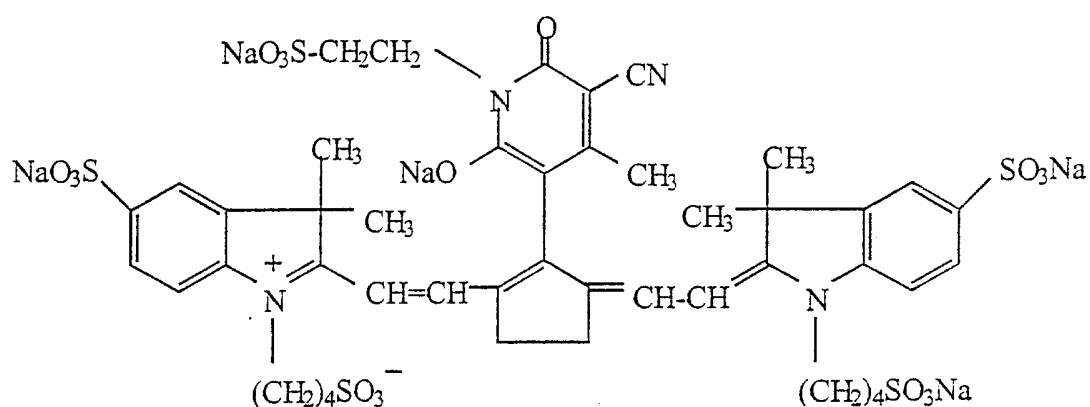
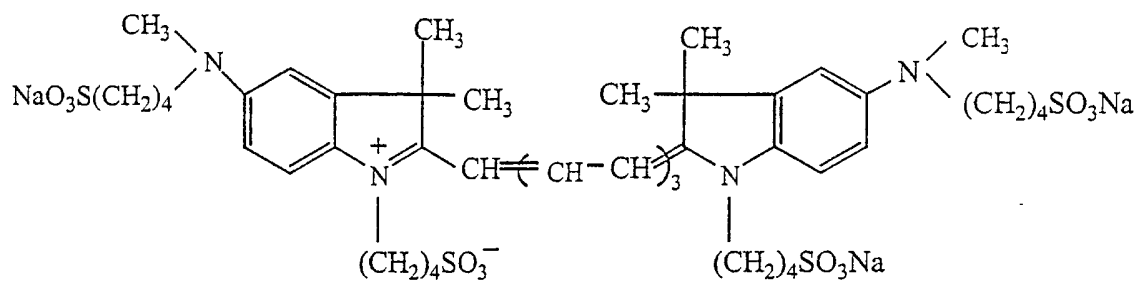
a

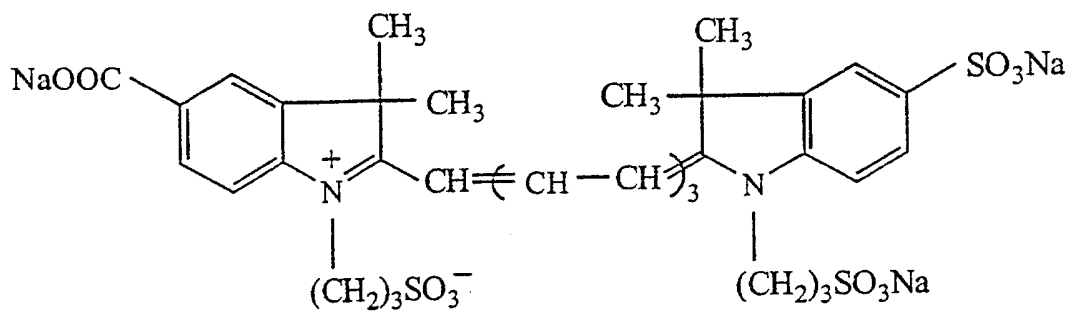
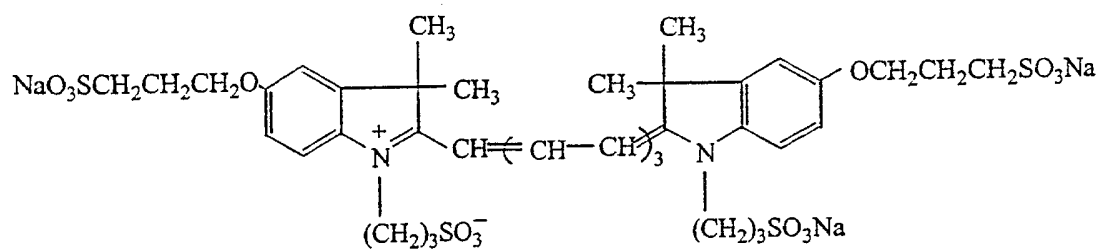
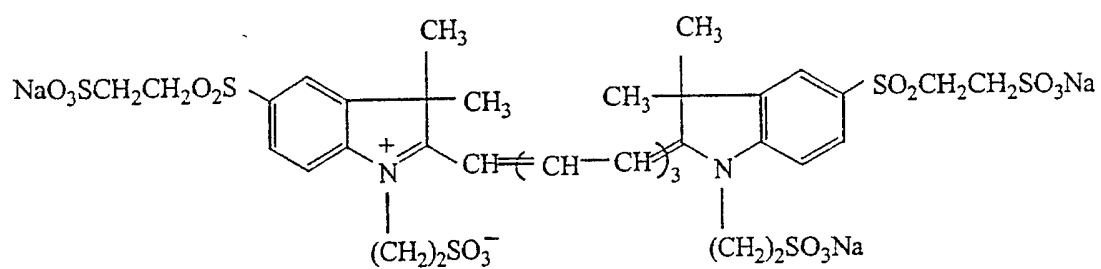
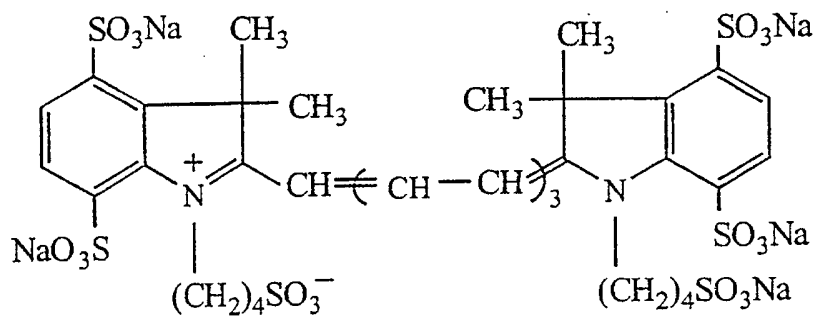


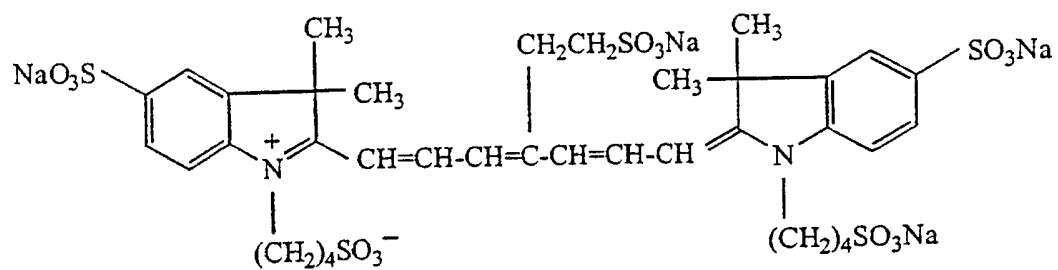
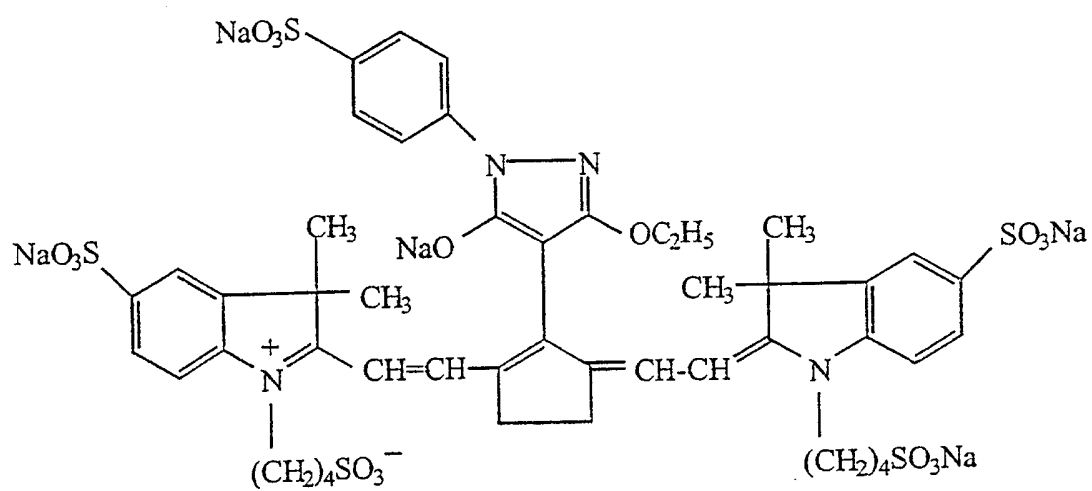
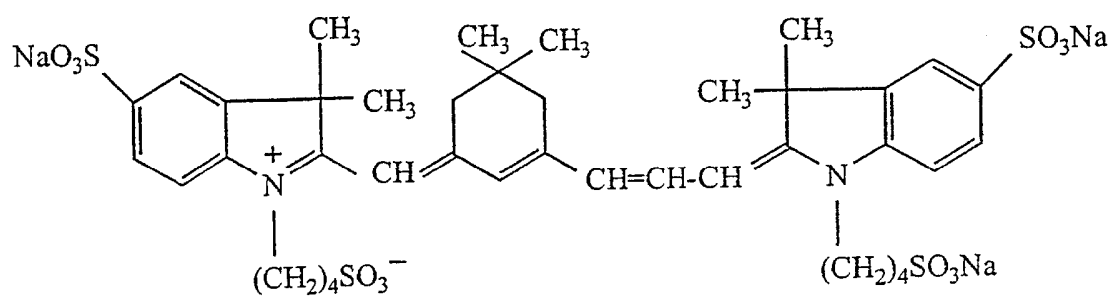
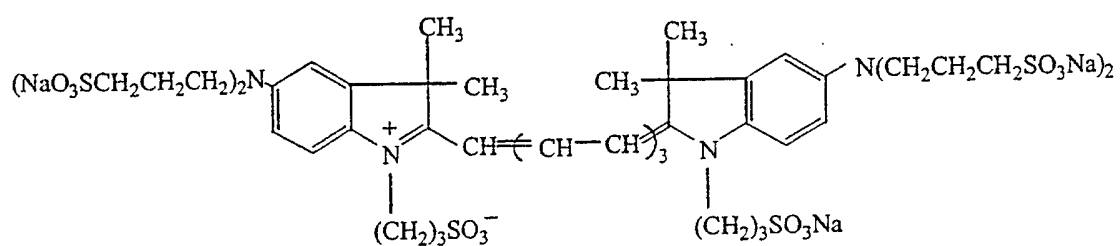
(24) Sodná sůl podle shora uvedeného bodu (12), kterou je alespoň jedna sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující sloučeniny následujících vzorců:

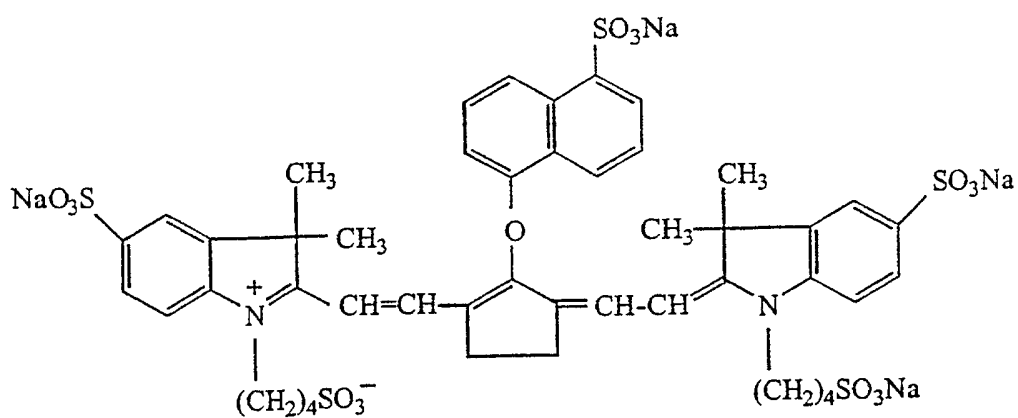
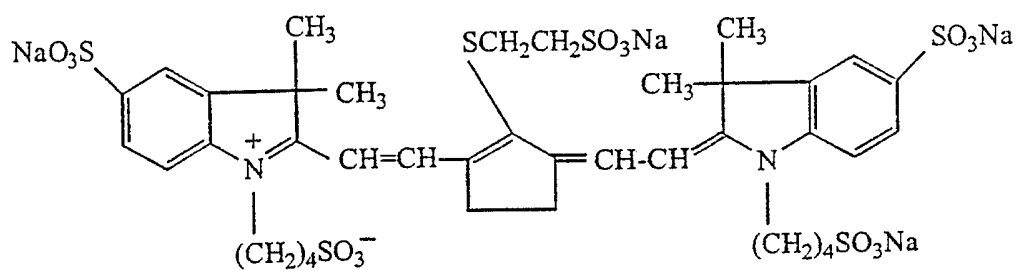
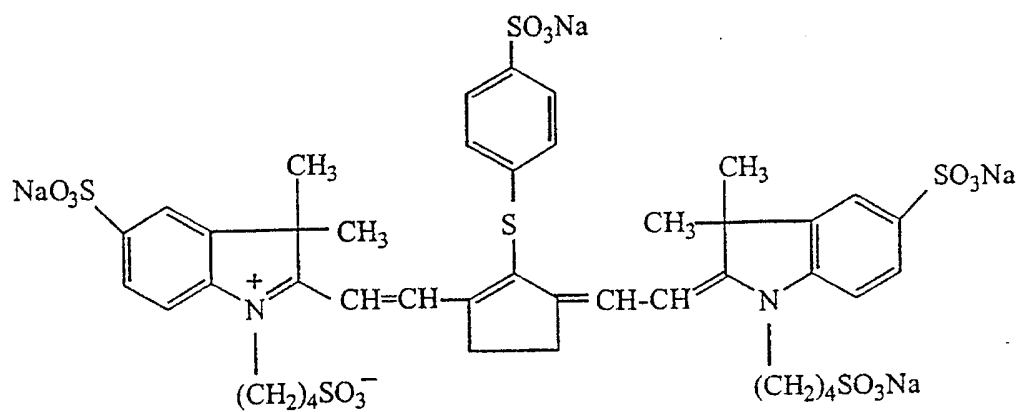


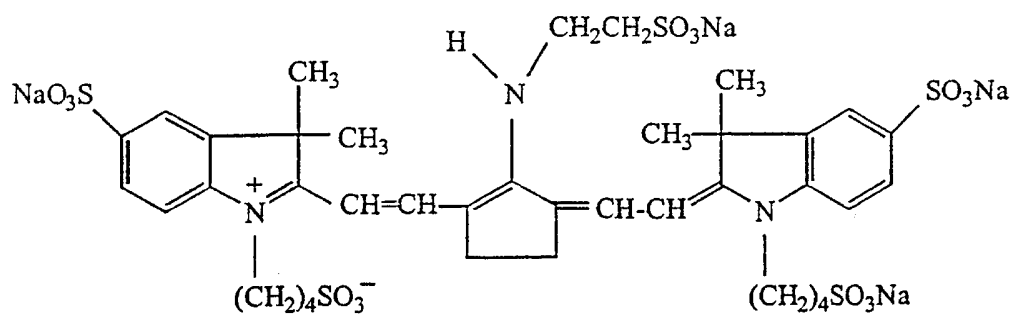
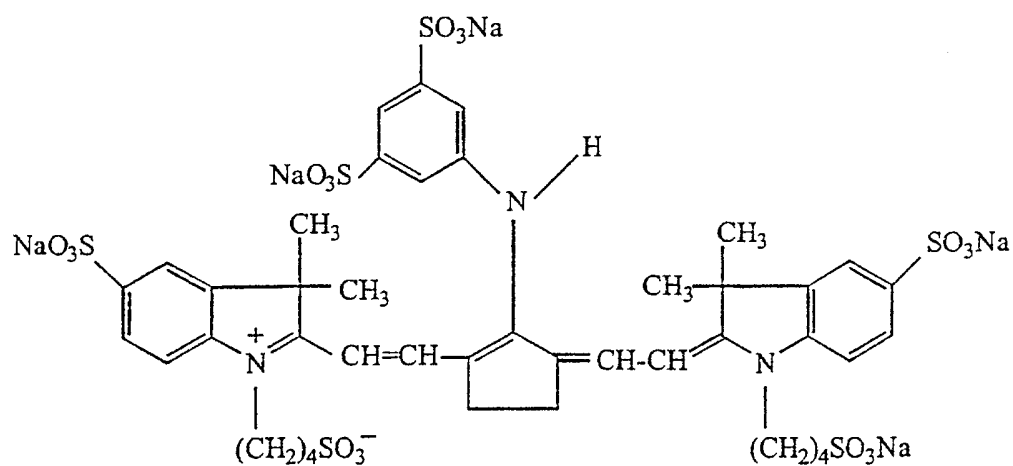
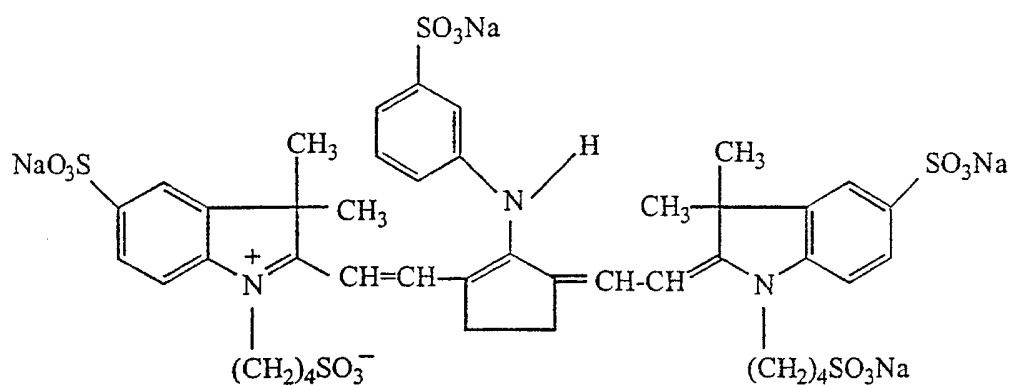
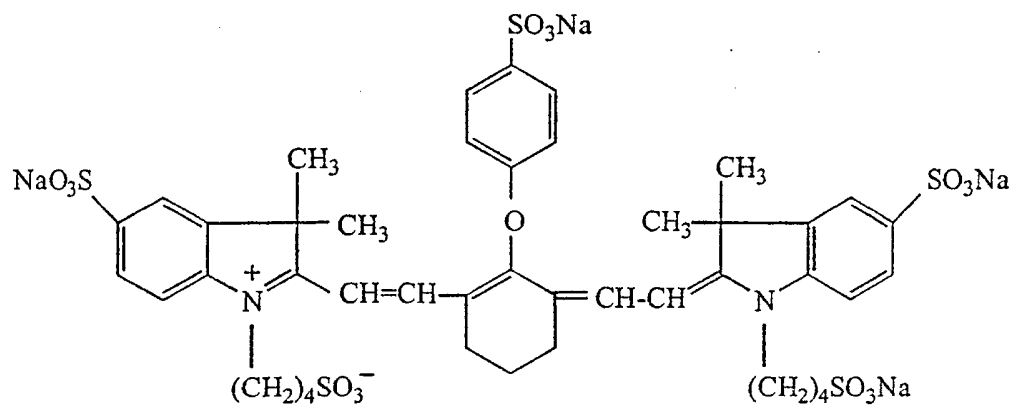


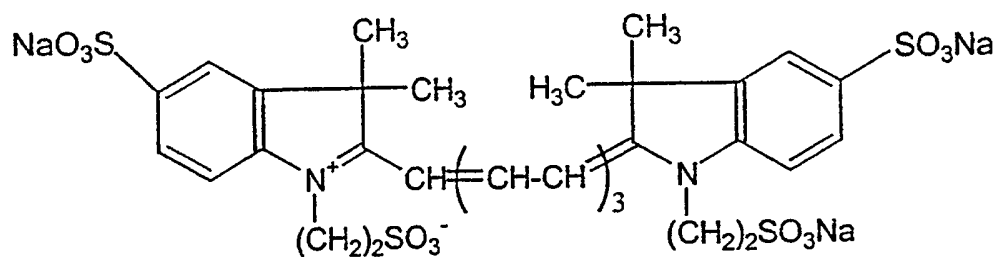
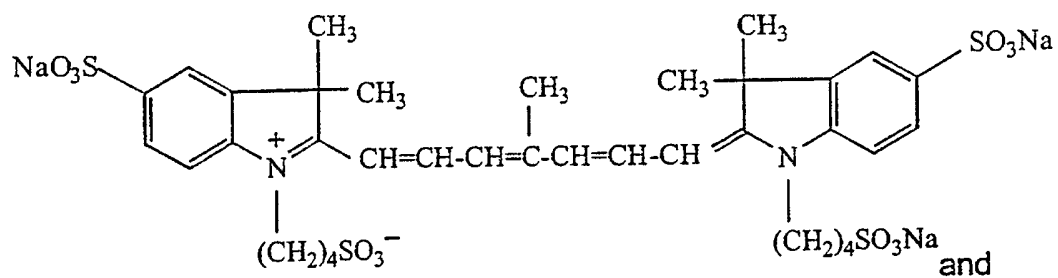
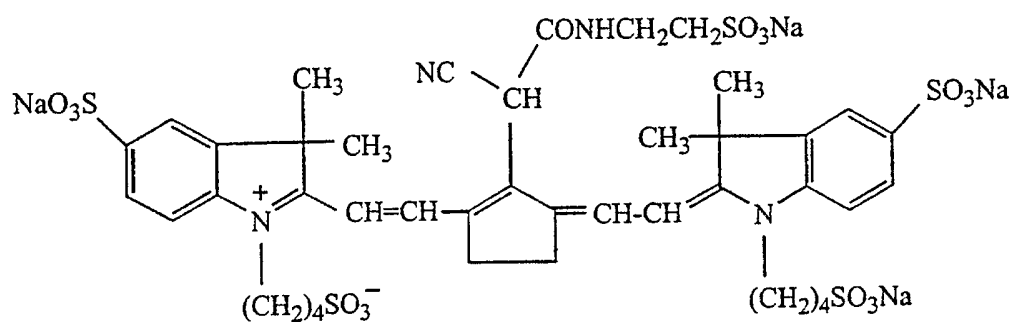
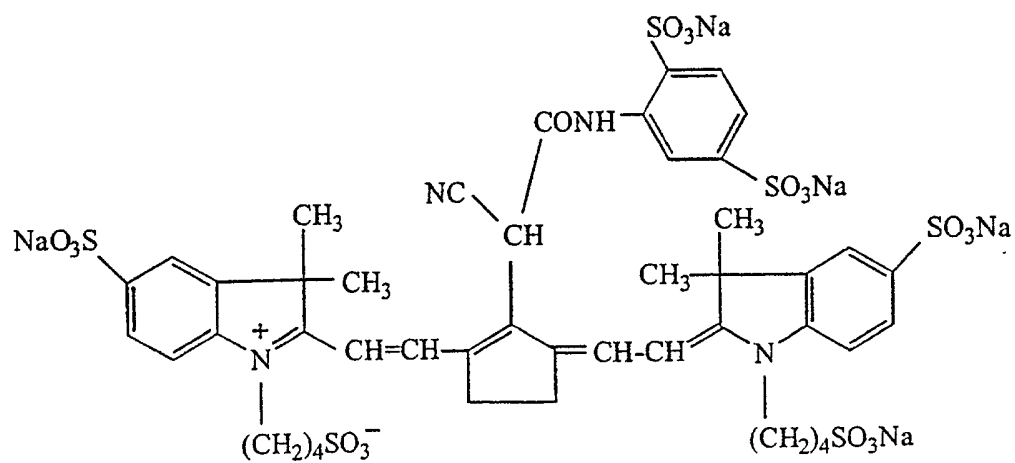




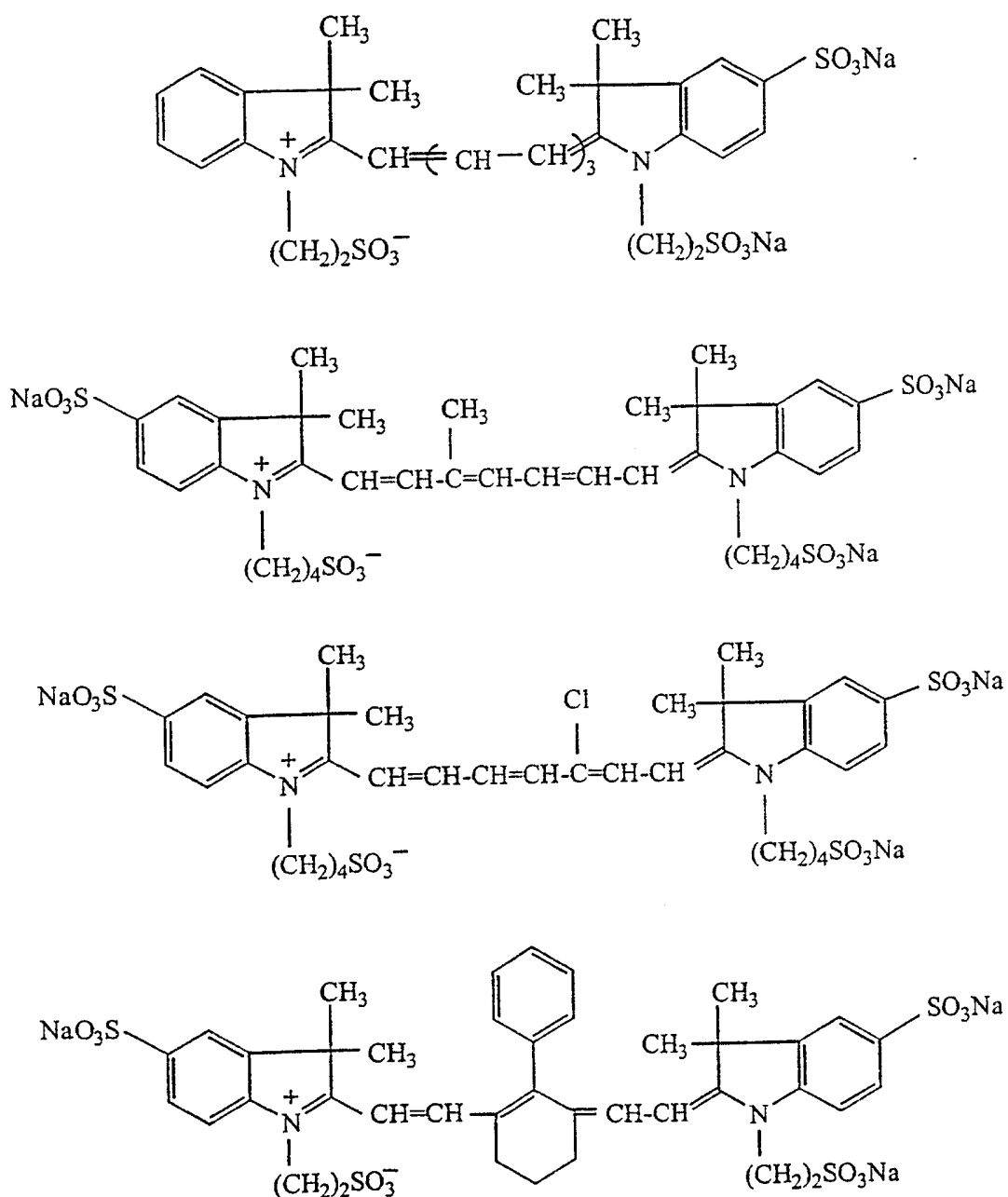


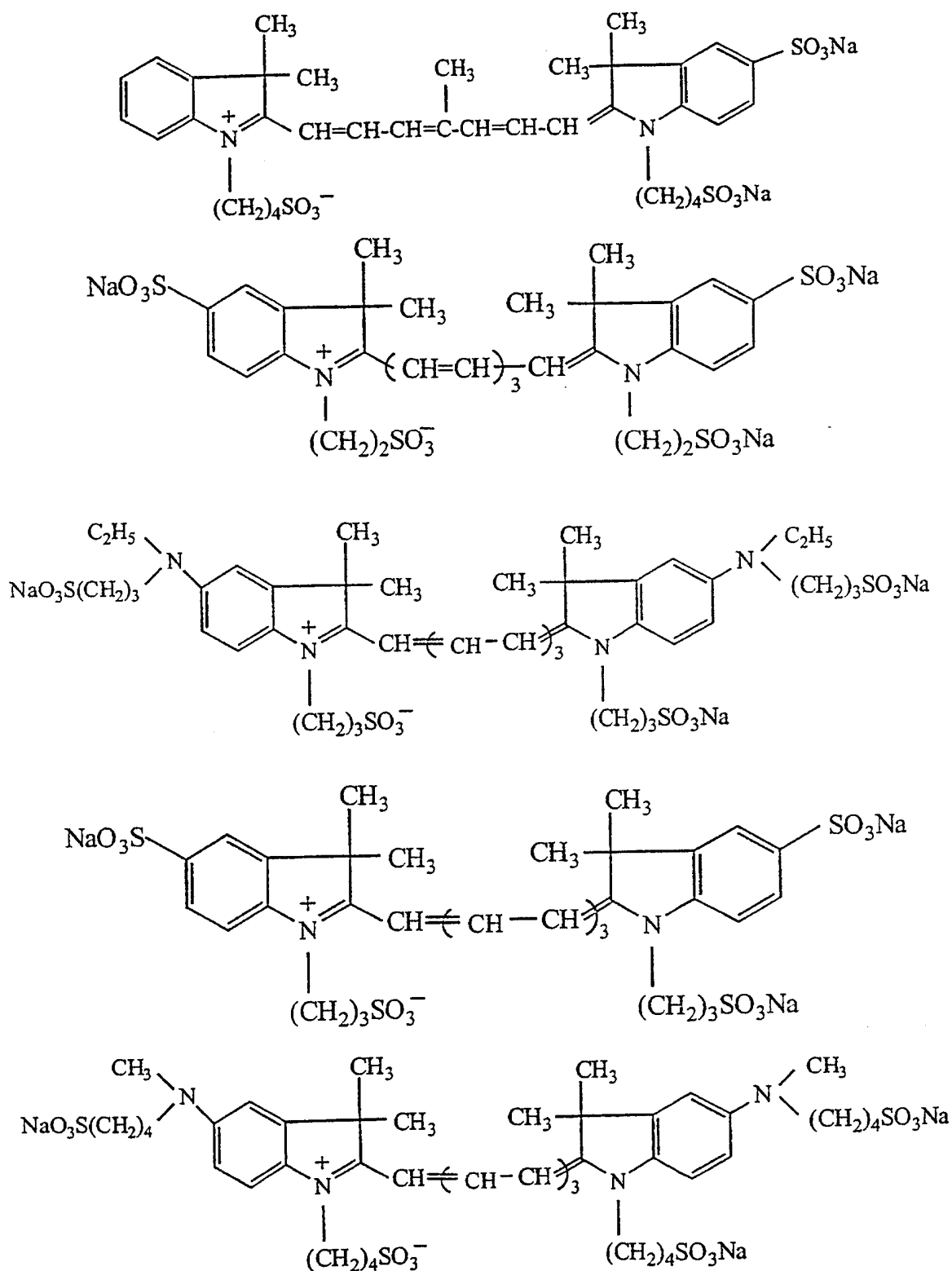


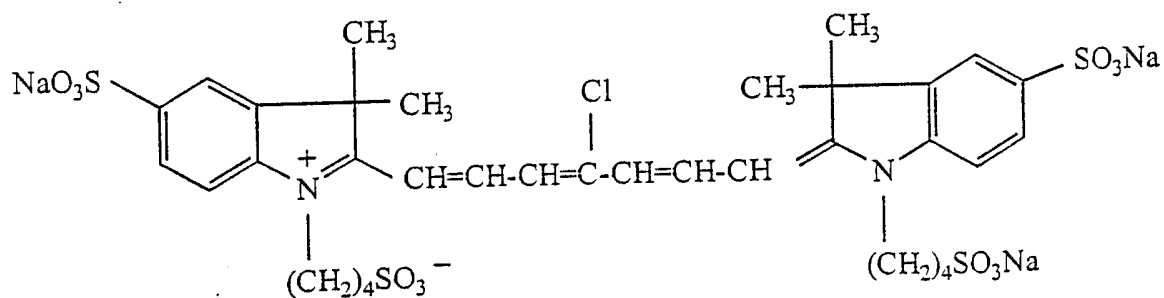
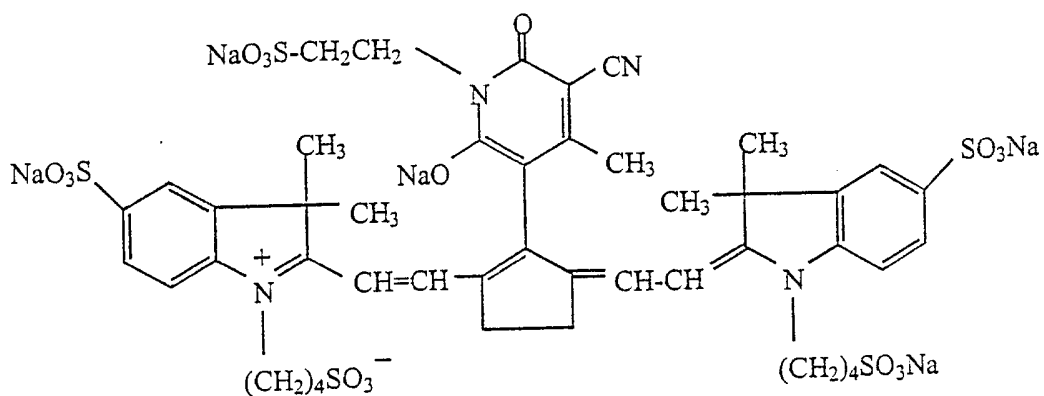
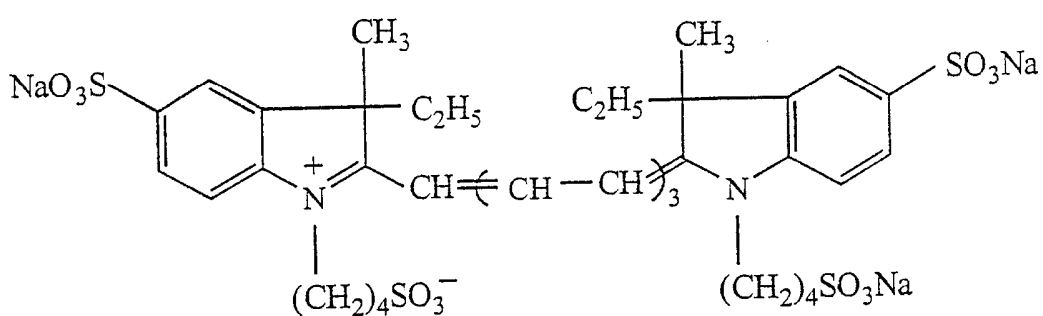
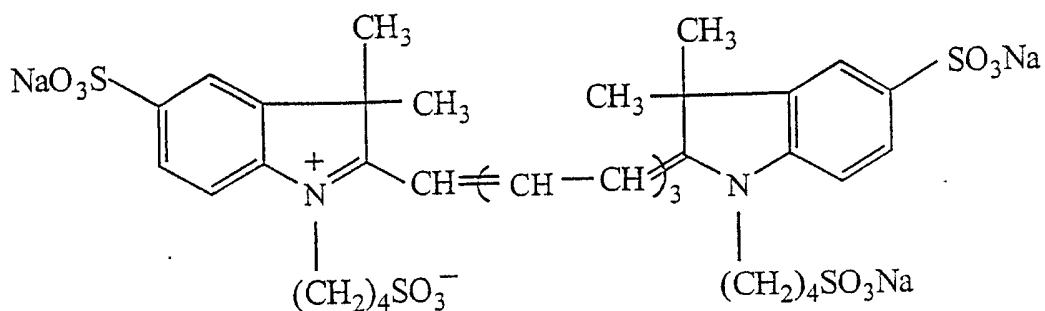


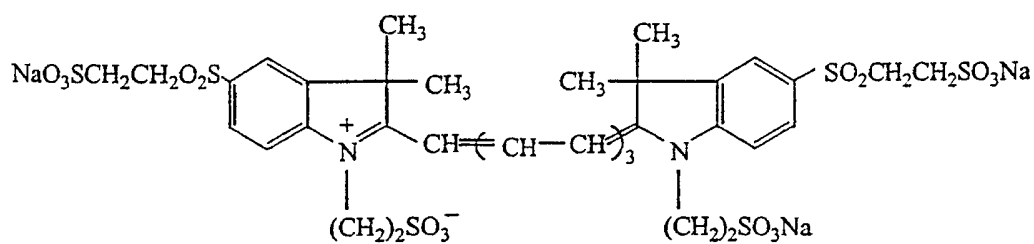
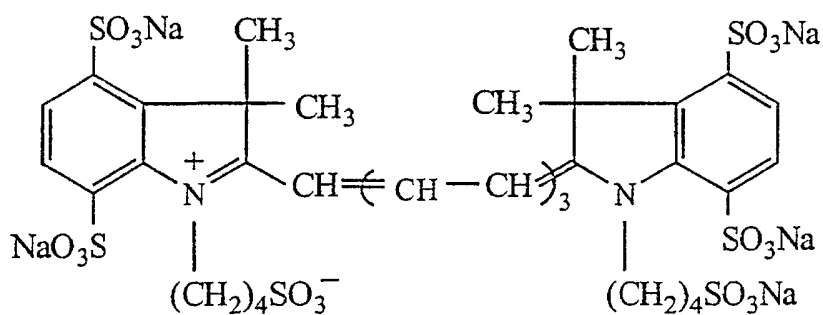
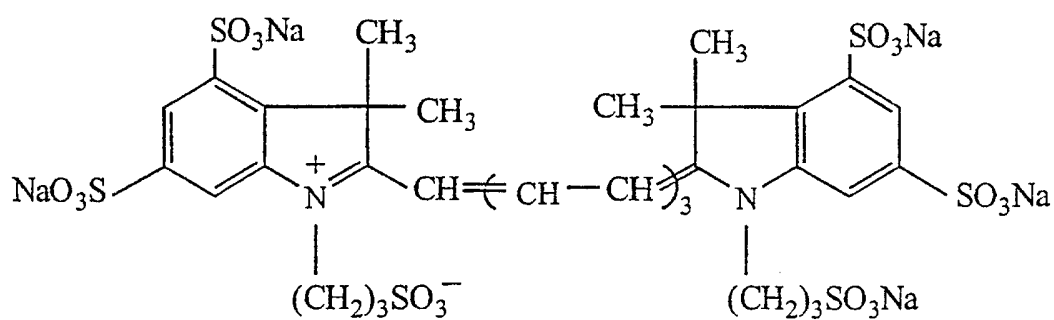
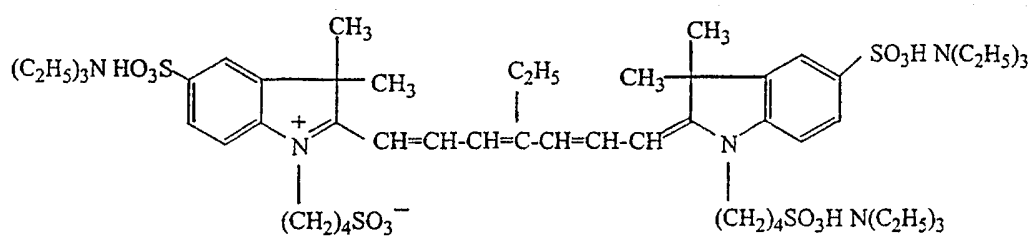


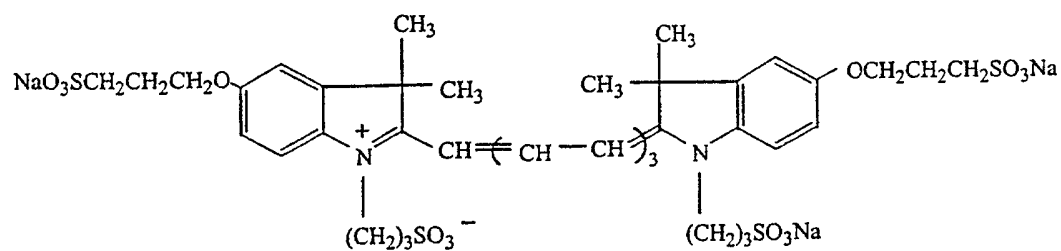
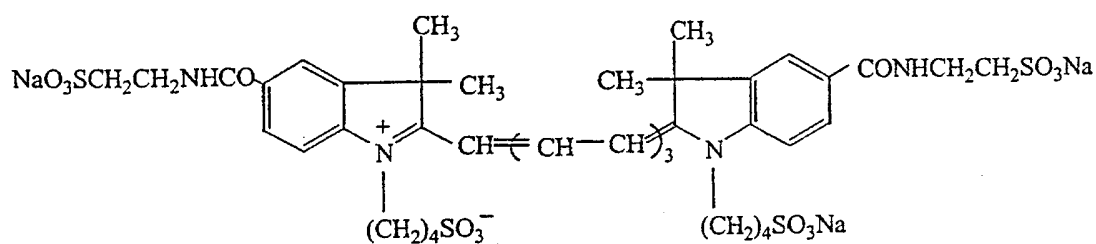
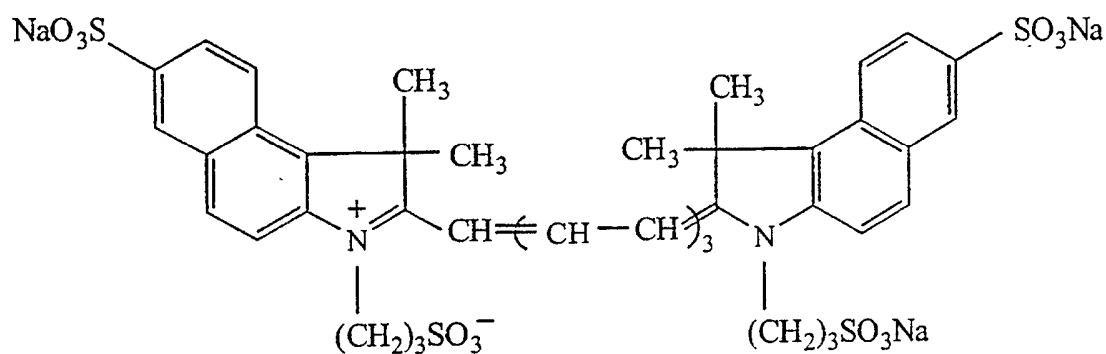
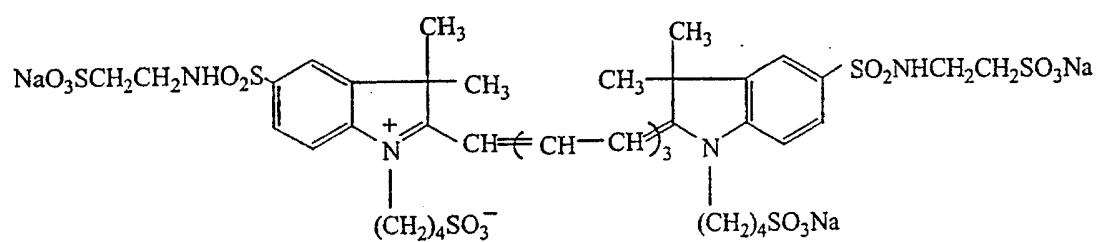
(25) Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle shora uvedeného bodu (1) zahrnující alespoň jednu sloučeninu vybranou ze skupiny zahrnující sloučeniny následujících vzorců:

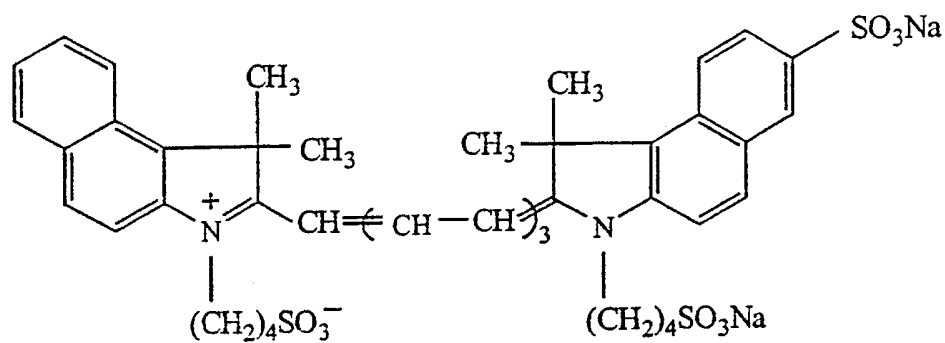
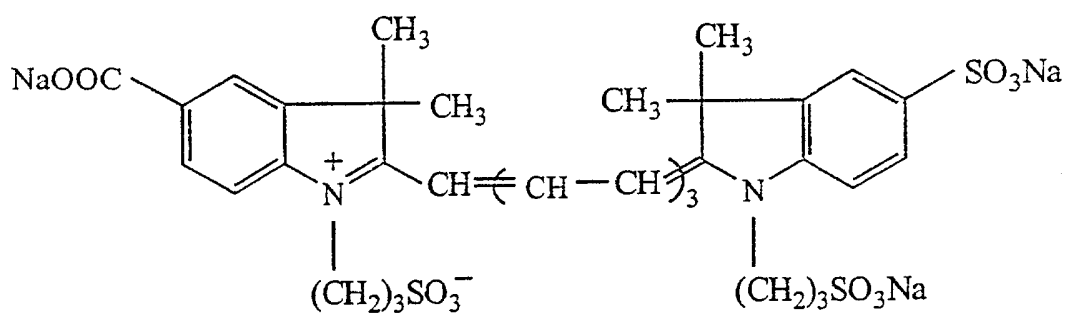
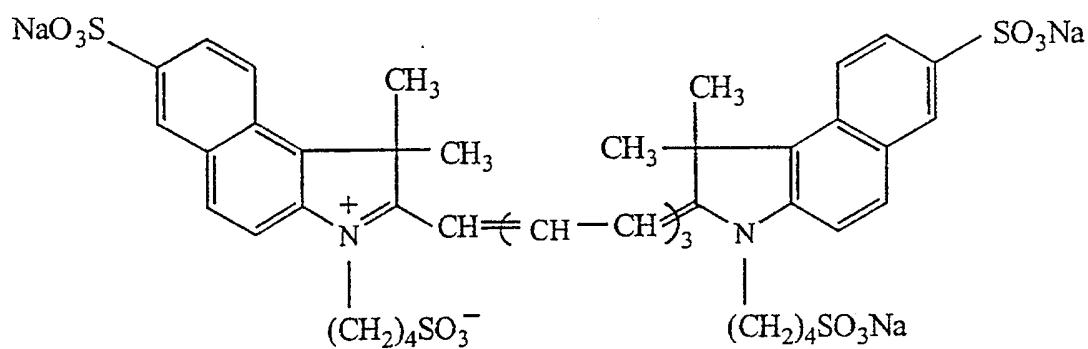
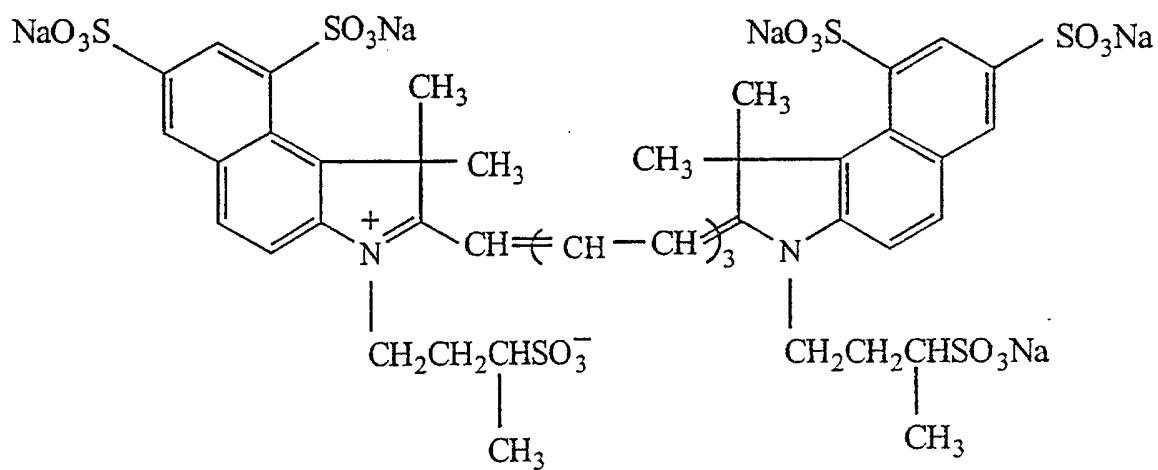


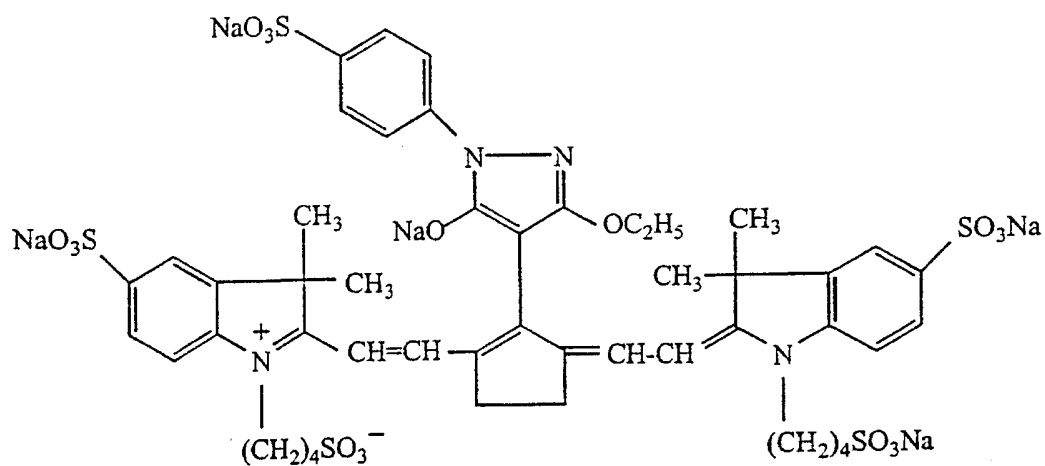
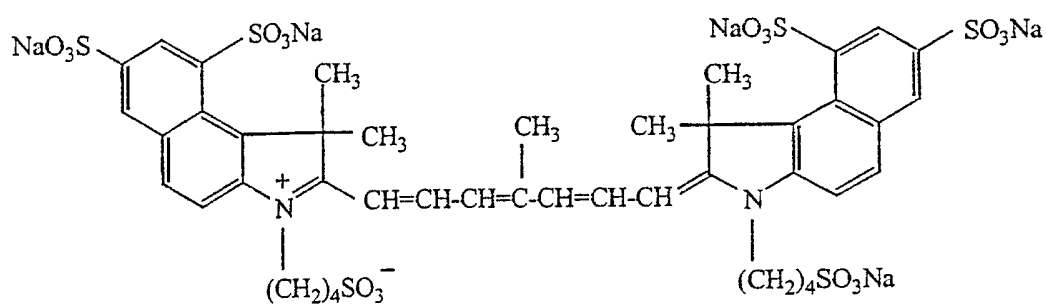
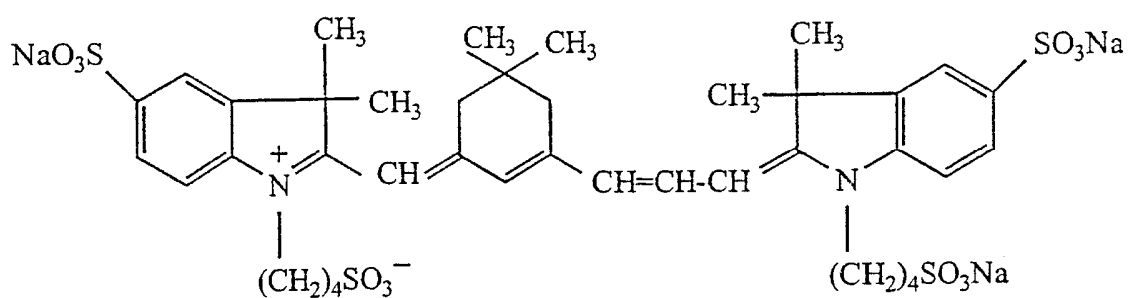
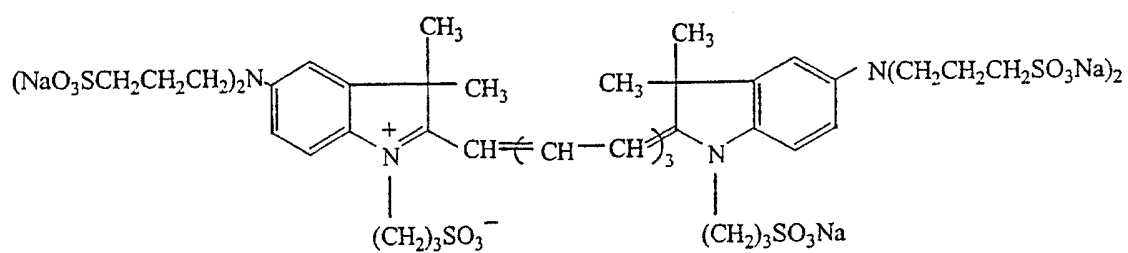


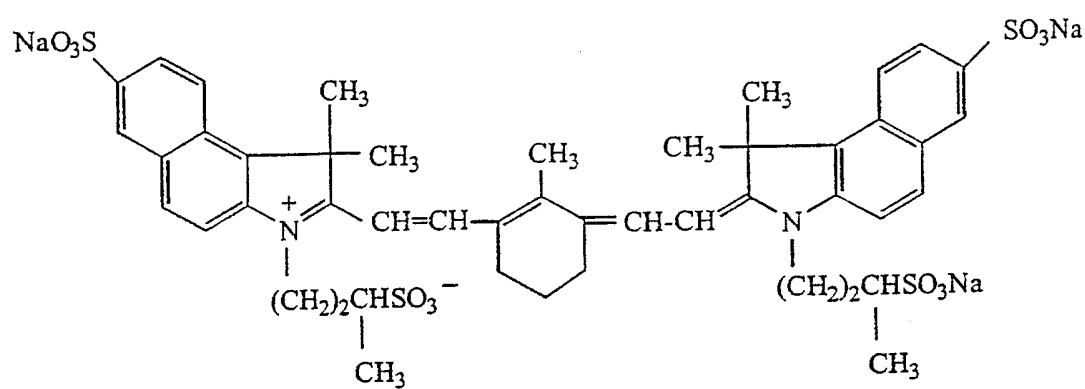
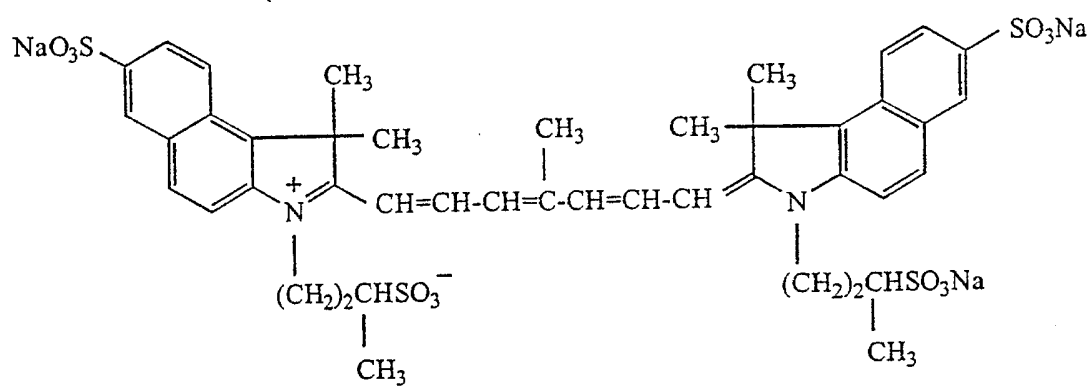
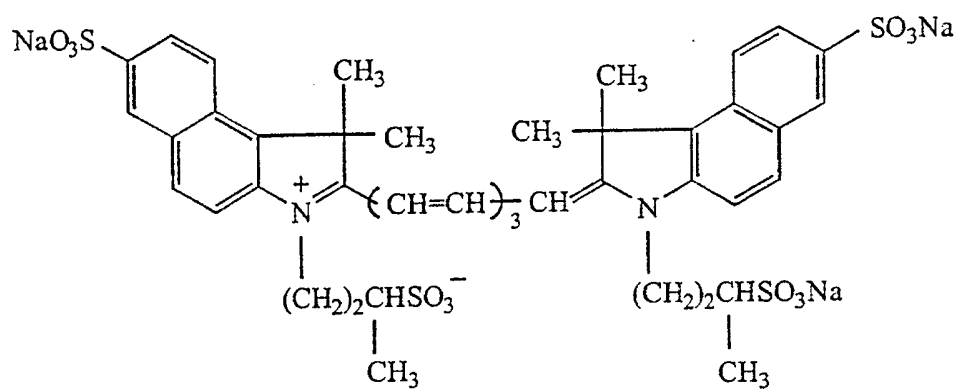


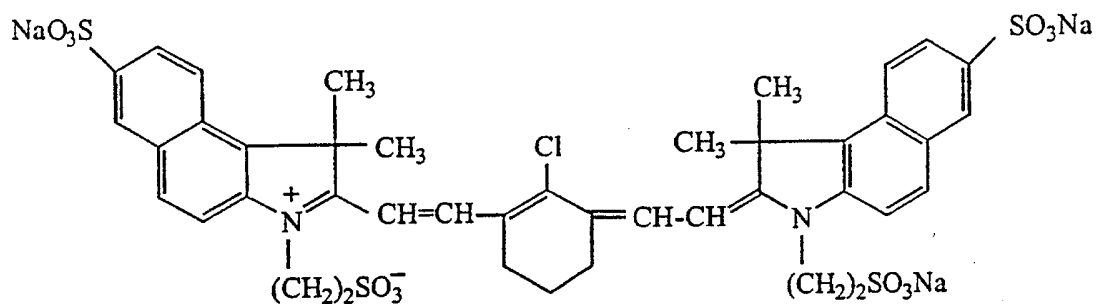
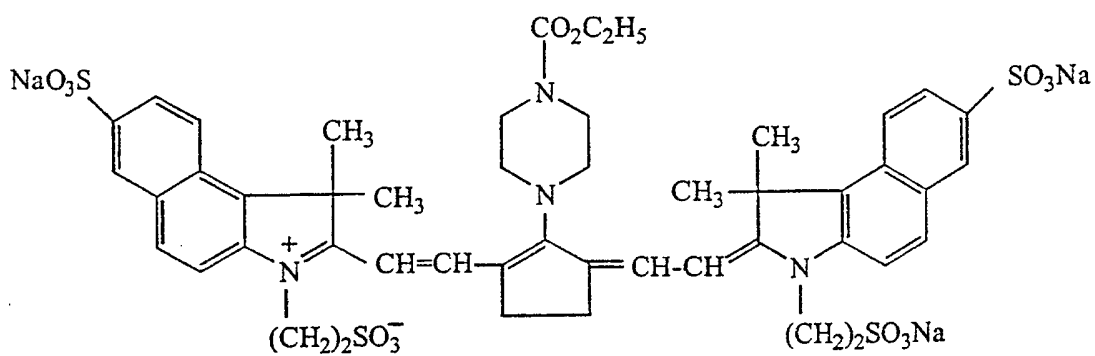
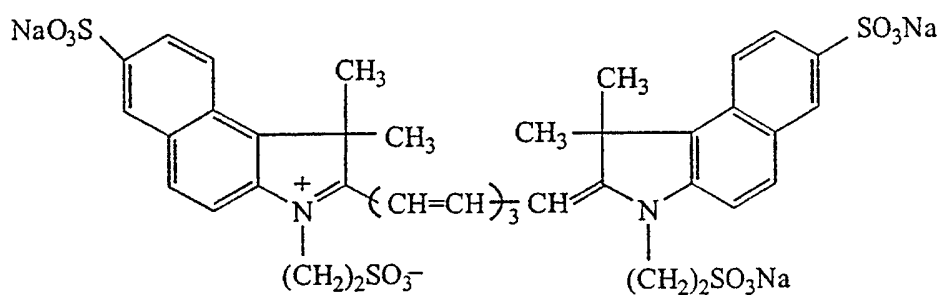
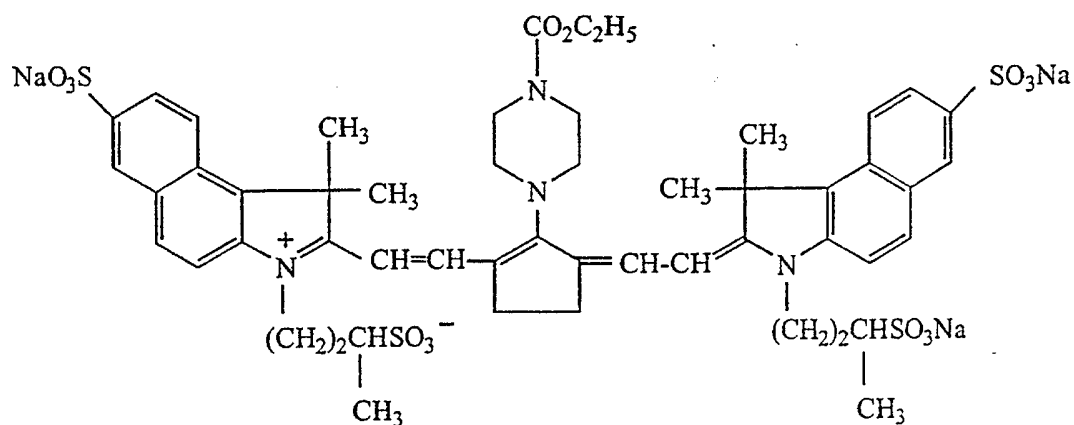


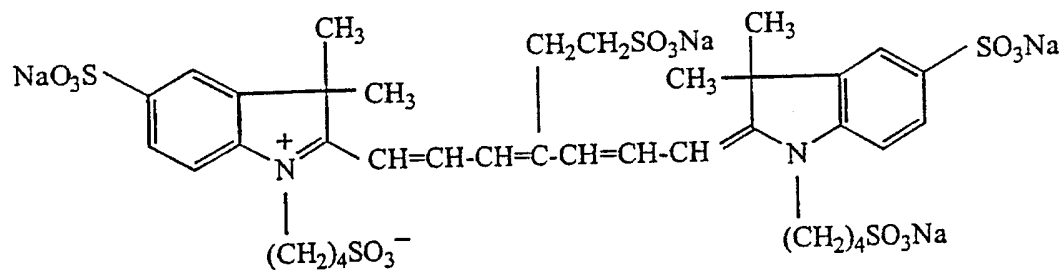
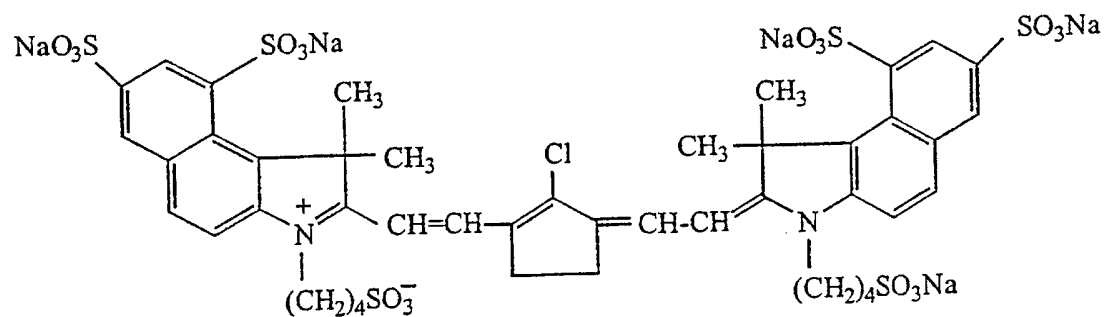
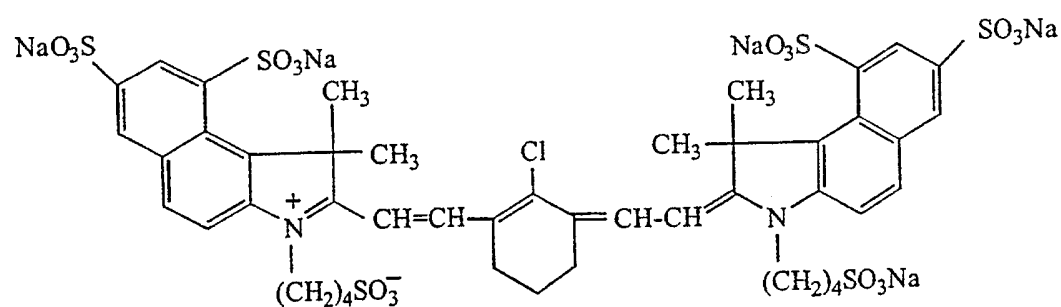
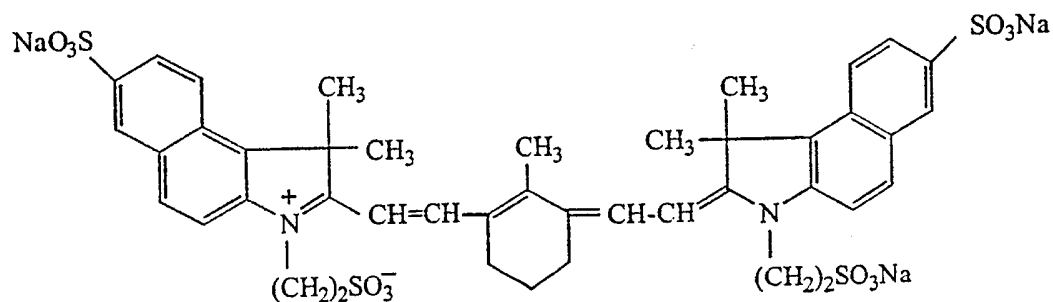


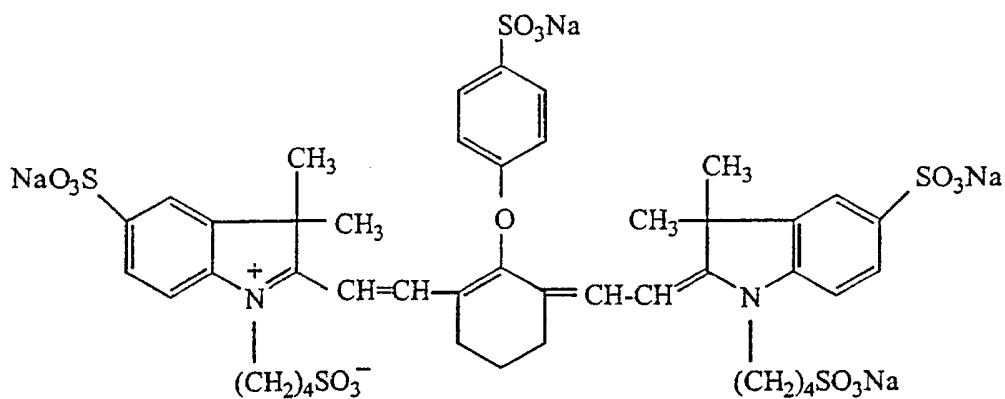
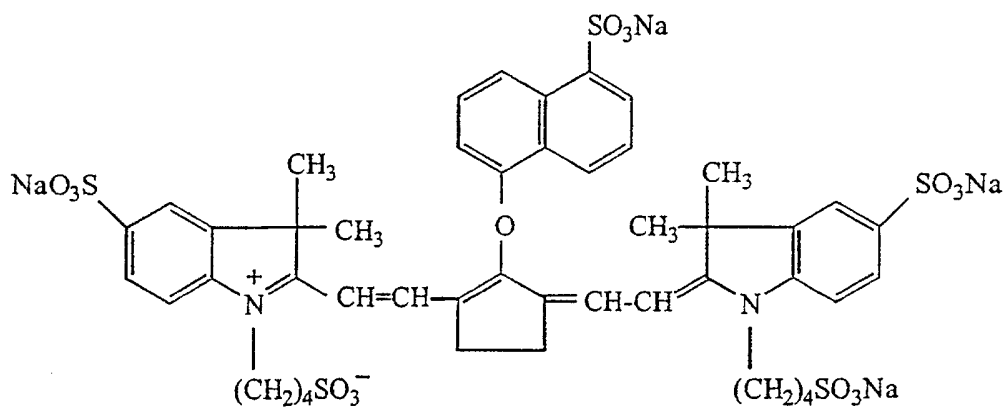
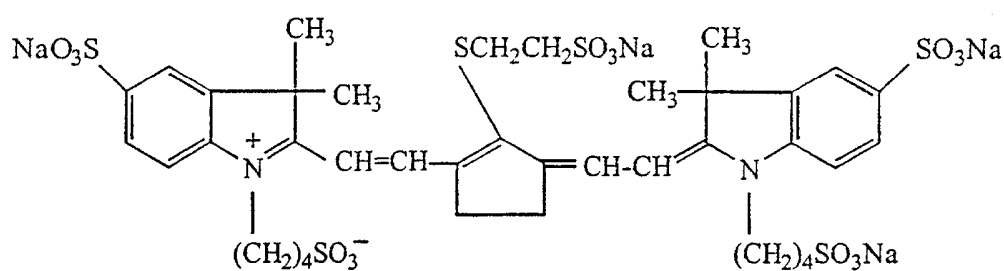
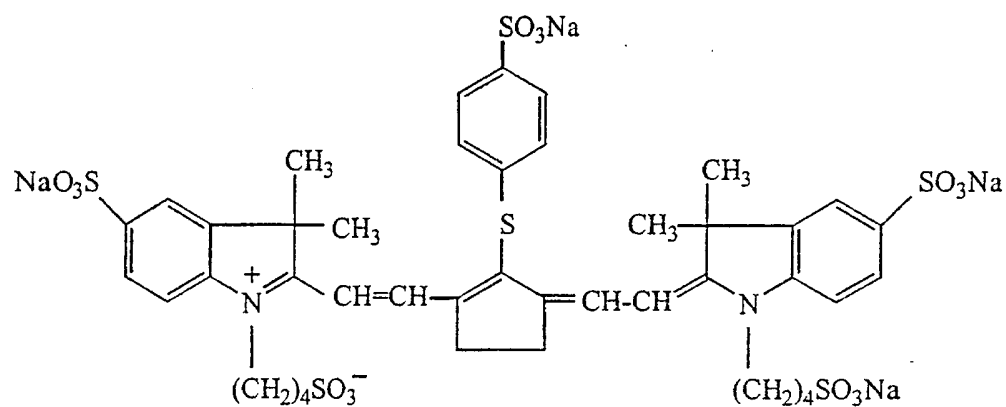


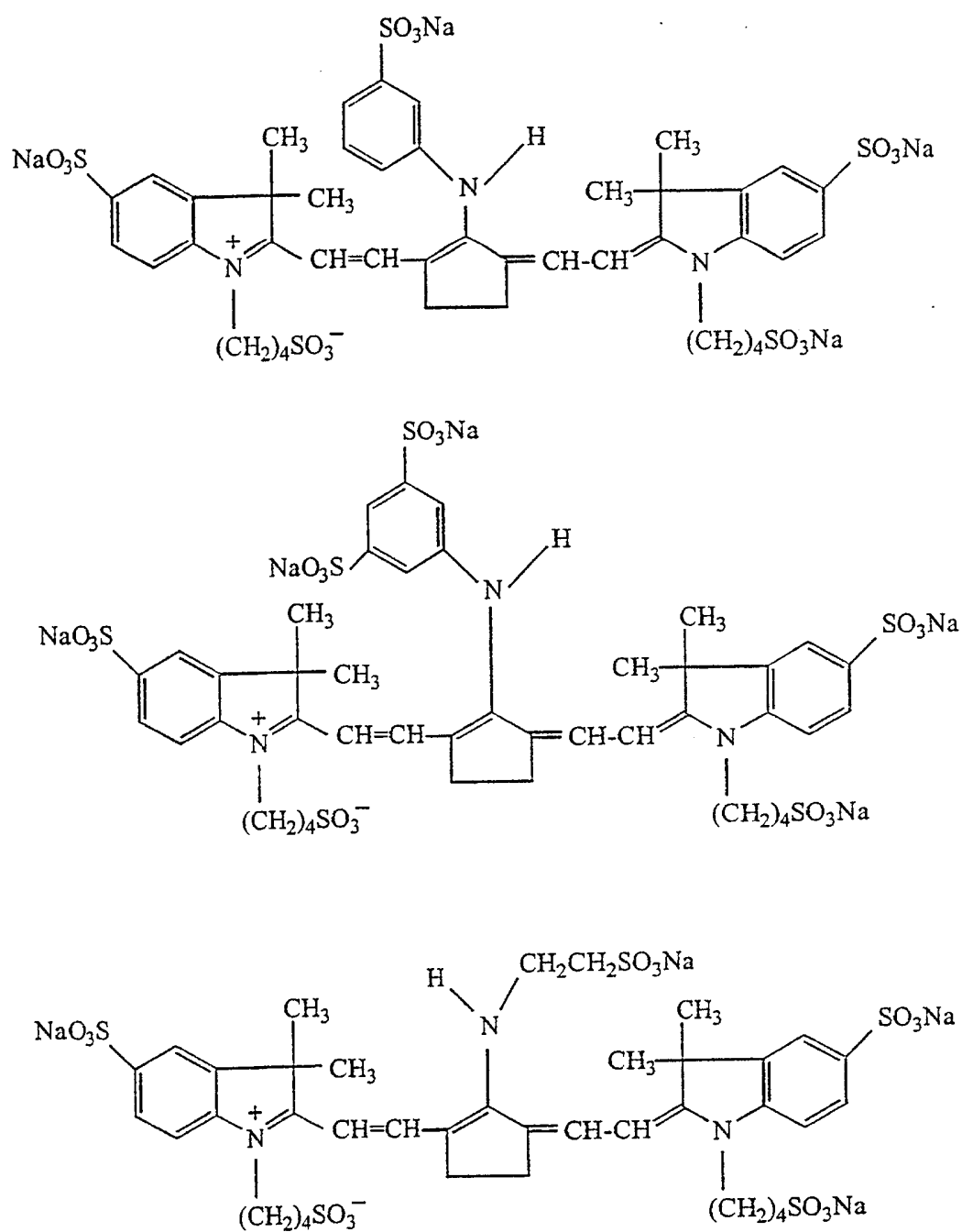


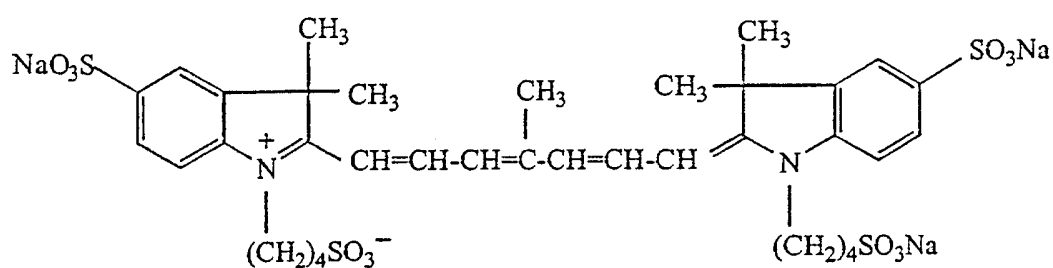
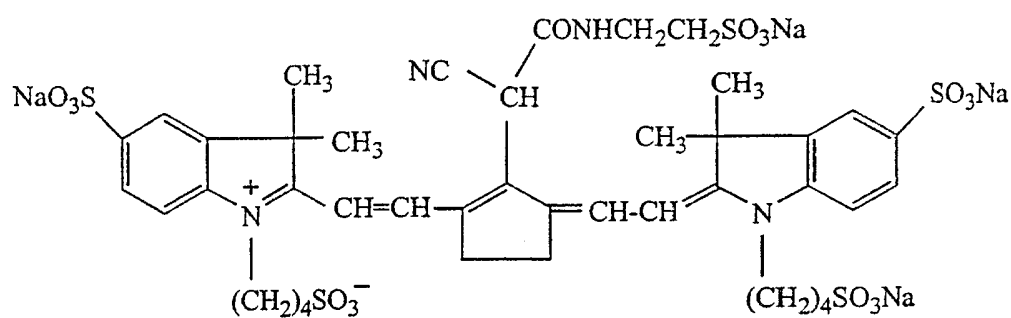
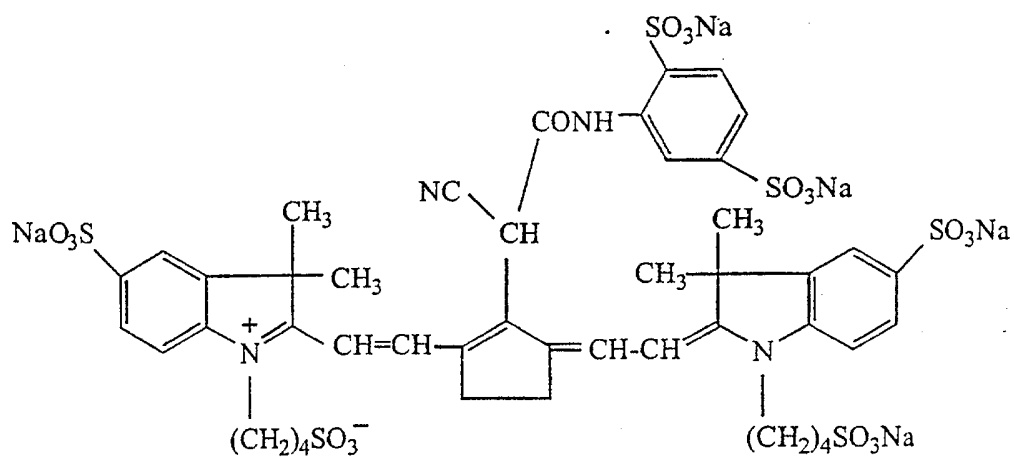




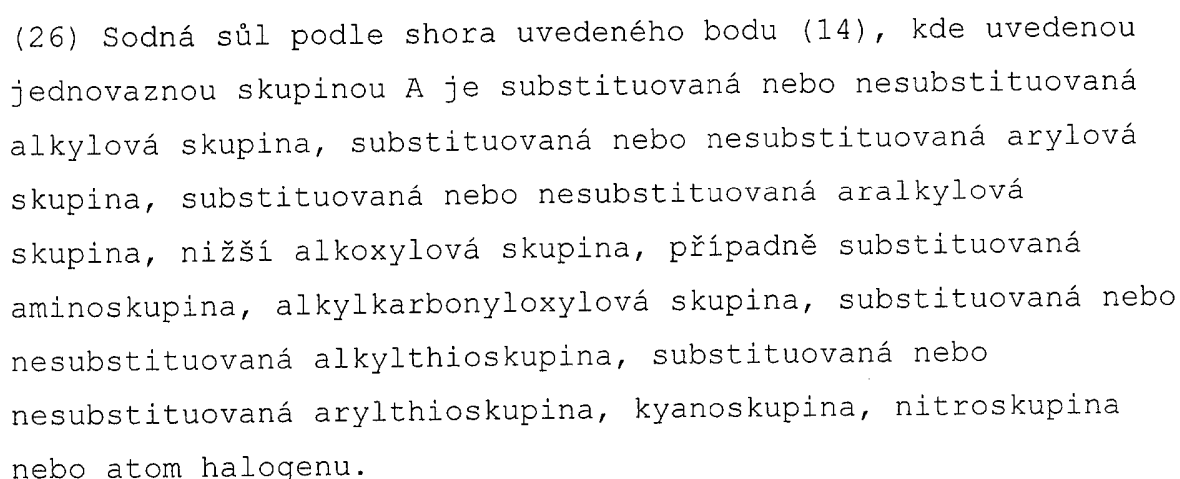






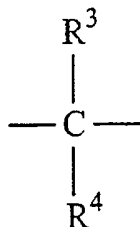


a



Pojmy používané v tomto textu mají význam uvedený v následujících odstavcích.

Sulfonovou skupinou podle tohoto vynálezu se může, v případech, kdy tato sulfonová skupina je součástí vnitřní soli, rozumět sulfonátová skupina ($-\text{SO}_3^-$). Výhodnými skupinami X a Y podle předmětného vynálezu jsou skupiny obecného vzorce



kde R^3 a R^4 jsou nezávislé na sobě substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny.

Alkylovou skupinou v „substituované nebo nesubstituované alkylové skupině“, kterou představují skupiny R^1 , R^2 , R^3 a R^4 , je výhodně lineární nebo rozvětvená nižší alkylová skupina obsahující 1 až 5 atomů uhlíku, jako je methylová skupina, ethylová skupina, propylová skupina, isopropylová skupina, butylová skupina, isobutylová skupina, sek. butylová skupina, terc. butylová skupina, pentylová skupina, isopentylová skupina, neopentylová skupina, terc. pentylová skupina, 2-methylpropylová skupina, 1,1-dimethylpropylová skupina apod. Uvedeným substituentem této skupiny může být například sulfonová skupina, karboxylová skupina, hydroxylová skupina apod. Jako konkrétní příklad substituované alkylové skupiny je možné uvést hydroxymethylovou skupinu, 1-hydroxyethylovou skupinu, 2-hydroxyethylovou skupinu, 2-hydroxypropylovou skupinu, 3-hydroxypropylovou skupinu, 4-hydroxybutylovou skupinu, karboxymethylovou skupinu, karboxyethylovou skupinu, karboxybutylovou skupinu, sulfomethylovou skupinu, 2-sulfoethylovou skupinu, 3-sulfopropylovou skupinu, 4-sulfobutylovou skupinu apod. Výhodnými skupinami R^1 a R^2 jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou (jako je například 2-sulfoethylová skupina, 3-sulfopropylová skupina, 4-sulfobutylová skupina apod.) a výhodnými skupinami R^3 a R^4 jsou nesubstituované nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku (jako je například methylová skupina, ethylová skupina apod.).

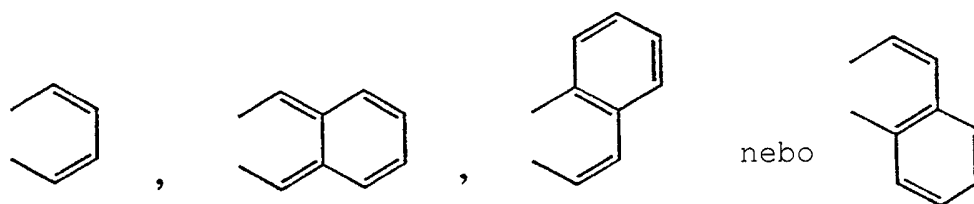
Příkladem nesubstituovaných nižších alkylových skupin obsahujících od 1 do 5 atomů uhlíku, které představují skupiny R^{17} a R^{18} , jsou skupiny uvedené výše v souvislosti s alkylovou

skupinou v „substituované nebo nesubstituované alkylové skupině“, kterou představují skupiny R^1 , R^2 , R^3 a R^4 .

Příkladem alkylových skupin v nižších alkylových skupinách obsahujících od 1 do 5 atomů uhlíku substituovaných sulfonovou kyselinou, které představují skupiny R^{19} a R^{20} , jsou skupiny uvedené výše v souvislosti s alkylovou skupinou v „substituované nebo nesubstituované alkylové skupině“, kterou představují skupiny R^1 , R^2 , R^3 a R^4 , a jako konkrétní příklad takovéto substituované nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku je možné uvést 2-sulfoethylovou skupinu, 3-sulfopropylovou skupinu a 4-sulfobutylovou skupinu.

Alkylovou část alkyl(sulfoalkyl)aminoskupin, bis(sulfoalkyl)aminoskupin, sulfoalkoxylových skupin, (sulfoalkyl)sulfonylových skupin a (sulfoalkyl)aminosulfonylových skupin, které představují skupiny R^{21} až R^{28} tvoří výhodně lineární nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku, jejímž příkladem jsou skupiny uvedené výše v souvislosti s alkylovou skupinou v „substituované nebo nesubstituované alkylové skupině“, kterou představují skupiny R^1 , R^2 , R^3 a R^4 .

Výrazem „nekovové atomy nezbytné pro vytvoření substituované nebo nesubstituované kondenzované benzoskupiny nebo kondenzované naftoskupiny“ se podle předmětného vynálezu rozumí vazací skupina nezbytná pro vytvoření kondenzované benzoskupiny nebo kondenzované naftoskupiny, kterou je skupina vzorce



Pokud uvedená kondenzovaná benzoskupina nebo kondenzovaná naftoskupina obsahuje substituent, obsahuje uvedená vazací skupina substituent.

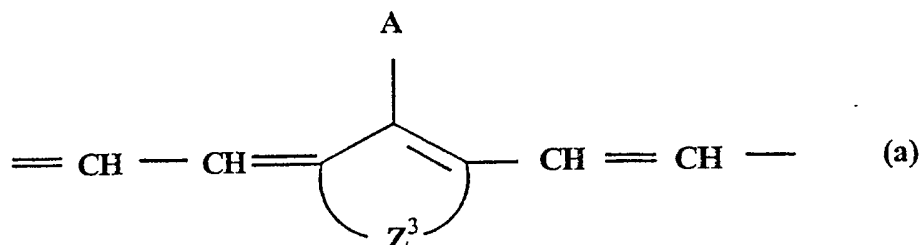
Jako konkrétní příklad nekovového atomu je možné uvést atom uhlíku, atom dusíku, atom kyslíku, atom vodíku, atom síry, atom halogenu (např. atom fluoru, atom chloru, atom bromu a atom jodu) apod.

Jako příklad substituentu uvedené kondenzované benzoskupiny a kondenzované naftoskupiny, které jsou tvořeny uvedenými nekovovými atomy, které představují skupiny Z^1 a Z^2 , je možné uvést sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, atom halogenu (např. atom fluoru, atom chloru, atom bromu a atom jodu), kyanoskupinu, substituovanou aminoskupinu (např. dimethylaminoskupinu, diethylaminoskupinu, ethyl-4-sulfobutylaminoskupinu, di-(3-sulfopropyl)aminoskupinu apod.) a substituovanou nebo nesubstituovanou alkylovou skupinu, jejíž definice byla uvedena výše, která je vázaná k danému kruhu přímo nebo přes dvojvaznou vazací skupinu. Jako příklad výhodné dvojvazné vazací skupiny je možné uvést skupinu $-O-$, skupinu $-NHCO-$, skupinu $-NHSO_2-$, skupinu $-NHCOO-$, skupinu $-NHCONH-$, skupinu $-COO-$, skupinu $-CO-$, skupinu $-SO_2-$ apod. Jako výhodný příklad uvedené substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny, která je vázaná k danému

kruhu přímo nebo přes dvojvaznou vazací skupinu, je možné uvést methylovou skupinu, ethylovou skupinu, propylovou skupinu a butylovou skupinu a jako příklad výhodného substituentu je možné uvést sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu a hydroxylovou skupinu.

Jako příklad substituentu methinových skupin, které představují skupiny L^1 až L^7 , je možné uvést substituovanou nebo nesubstituovanou alkylovou skupinu (jejíž definice byla uvedena výše), atom halogenu (jehož definice byla uvedena výše), substituovanou nebo nesubstituovanou arylovou skupinu, nižší alkoxylovou skupinu apod. Jako příklad arylové skupiny v uvedené „substituované nebo nesubstituované arylové skupině“ je možné uvést fenylovou skupinu, naftylovou skupinu apod., výhodně fenylovou skupinu. Jako příklad uvedeného substituentu je možné uvést atom halogenu (jehož definice byla uvedena výše, výhodně atom chloru) apod. Skupina substituovaných arylových skupin zahrnuje například 4-chlorfenylovou skupinu apod. Uvedenou nižší alkoxylovou skupinou je výhodně lineární nebo rozvětvená alkoxylová skupina obsahující od 1 do 6 atomů uhlíku, kterou je konkrétně methoxylová skupina, ethoxylová skupina, propoxylová skupina, butoxylová skupina, terc. butoxylová skupina, pentyloxylová skupina apod., výhodně methoxylová skupina a ethoxylová skupina. Dále mohou být substituenty methinových skupin L^1 až L^7 k sobě navzájem vázány, takže tvoří kruh obsahující tři methinové skupiny, který může dále tvořit kondenzovaný kruh s kruhem obsahujícím jiné tři methinové skupiny. Jako příklad uvedeného kruhu obsahujícího tři methinové skupiny, který je tvořen vazbami mezi substituenty methinových skupin L^1 až L^7 , je možné uvést 4,4-dimethylcyklohexenový kruh a podobně.

Konjugovaným methinovým řetězcem, který se skládá ze skupin L^1 až L^7 , a který obsahuje kruh, je výhodně skupina obecného vzorce (a):



kde

Z^3 jsou nekovové atomy nezbytné pro vytvoření pěti- až šestičlenného kruhu; a

A je atom vodíku nebo jednovazná skupina.

Příklady uvedených „nekovových atomů nezbytných pro vytvoření pěti- až šestičlenného kruhu“ již byly uvedeny v jednom z předcházejících odstavců.

V obecných vzorcích (a) a [III-2], přičemž druhý z těchto vzorců je uveden níže, je příkladem - nebo šestičlenného kruhu, kterým je skupina Z^3 , cyklopentenový kruh, cyklohexenový kruh, 4,4-dimethylcyklohexenový kruh apod., přičemž jako výhodný příklad je možné uvést cyklopentenový kruh.

Jako příklad jednovazné skupiny znázorňované písmenem A je možné uvést substituovanou nebo nesubstituovanou alkylovou skupinu (jejíž definice byla uvedena výše), substituovanou nebo nesubstituovanou arylovou skupinu (jejíž definice byla uvedena výše), substituovanou nebo nesubstituovanou aralkylovou skupinu, nižší alkoxylovou skupinu (jejíž definice

byla uvedena výše), substituovanou aminoskupinu, která je případně substituovaná, alkylkarbonyloxylovou skupinu (např. acetoxylovou skupinu), substituovanou nebo nesubstituovanou alkylthioskupinu, substituovanou nebo nesubstituovanou arylthioskupinu, kyanoskupinu, nitroskupinu, atom halogenu (jehož definice byla uvedena výše) apod. Jako příklad aralkylové skupiny v uvedené „substituované nebo nesubstituované aralkylové skupině“ je možné uvést benzylovou skupinu, 2-fenylethylovou skupinu, 1-fenylethylovou skupinu, 3-fenylpropylovou skupinu apod., přičemž uvedeným substituentem může být skupina vybraná ze skupiny zahrnující sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, substituovanou nebo nesubstituovanou alkylovou skupinu (jejíž definice byla uvedena výše), alkoxylovou skupinu (jejíž definice byla uvedena výše), atom halogenu (jehož definice byla uvedena výše) apod. Substituovaná aminoskupina „substituované aminoskupiny, která je případně substituovaná“ je vybraná ze skupiny zahrnující například alkylaminoskupinu (jako je např. methylaminoskupina, ethylaminoskupina apod.), dialkylaminoskupinu (jako je např. dimethylaminoskupina, diethylaminoskupina apod.), difenylaminoskupinu, methylfenylaminoskupinu, cyklickou aminoskupinu (jako je např. morfolinová skupina, imidazolidinová skupina, ethoxykarbonylpiperadinová skupina apod.) apod. Substituentem v uvedené „substituované aminoskupině, která je případně substituovaná“ může být například sulfonová skupina, karboxylová skupina apod. Alkylthioskupinou uvedené „substituované nebo nesubstituované alkylthioskupiny“ může být například methylthioskupina, ethylthioskupina apod. Jako příklad substituentu je možné uvést sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu apod.

Arylthioskupinou uvedené „substituované nebo nesubstituované arylthioskupiny“ může být například fenylthioskupina, naftylthioskupina apod. Jako příklad substituentu je možné uvést sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu apod.

Uvedenou jednovaznou skupinou znázorňovanou písmenem A je výhodně atom fluoru, atom chloru, dialkylaminoskupina (výhodně obsahující 6 nebo méně atomů uhlíku a případně tvořící kruh) nebo morfolinová skupina. Tato skupina ve zvlášť výhodném provedení předmětného vynálezu obsahuje karboxylovou nebo sulfonylovou skupinu.

V obecném vzorci [I] je r výhodně číslo 1.

Z farmaceutického hlediska přijatelnou solí podle předmětného vynálezu může být jakákoli netoxická sůl sloučeniny obecného vzorce [I]. Jako příklad těchto solí je možné uvést alkalické soli, jako je sodná sůl, draselná sůl; soli kovů alkalických zemin, jako je hořečnatá sůl, vápenatá sůl apod.; organické amoniové soli, jako je amoniová sůl, triethylamoniová sůl, tributylamoniová sůl, pyridiniová sůl apod.; soli aminokyselin, jako je lysinová sůl, argininová sůl apod. Zvlášť výhodná je sodná sůl snižující toxicitu sloučenin podle předmětného vynálezu v živém těle.

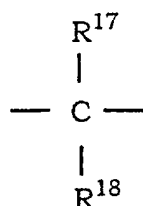
Fluorescenční kontrastní činidlo, které má být použito v živém těle musí být zejména rozpustné ve vodě. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu má pozoruhodně zlepšenou rozpustnost ve vodě, což je důsledkem zavedení tří nebo více sulfonových skupin do struktury shora uvedené sloučeniny. Pro

dosažení vynikající rozpustnosti ve vodě je počet zavedených sulfonových skupin výhodně čtyři nebo více. Z hlediska snadnosti syntézy daného kontrastního činidla, není počet zavedených sulfonylových skupin větší než 10, výhodně není tento počet větší než 8. Uvedené zlepšení rozpustnosti ve vodě je možné stanovit měřením rozdělovacího koeficientu jednotlivých sloučenin, který může být měřen například ve dvoufázovém systému butanol/voda. Konkrétněji je možné uvést, že zavedení tří nebo více sulfonových skupin se projeví tak, že rozdělovací koeficient ($\log P_o/w$) pro systém n-butanol/voda není větší než -1,00.

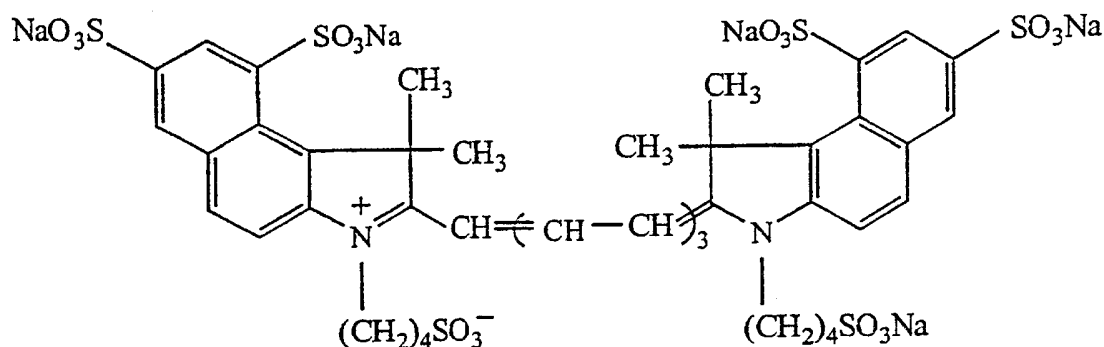
Uvedené sulfonové skupiny se zvláště výhodně zavádějí do polohy R^1 , R^2 , Z^1 a/nebo Z^2 obecného vzorce [I] a do polohy R^1 , R^2 , R^5 , R^7 , R^{11} a/nebo R^{13} obecného vzorce [II].

Dále jsou tyto sulfonové skupiny výhodně navazovány ke skupině L^4 uvedeného konjugovaného methinového řetězce v poloze A shora uvedeného obecného vzorce (a) přes dvojvaznou skupinu, jako je alkylenová skupina.

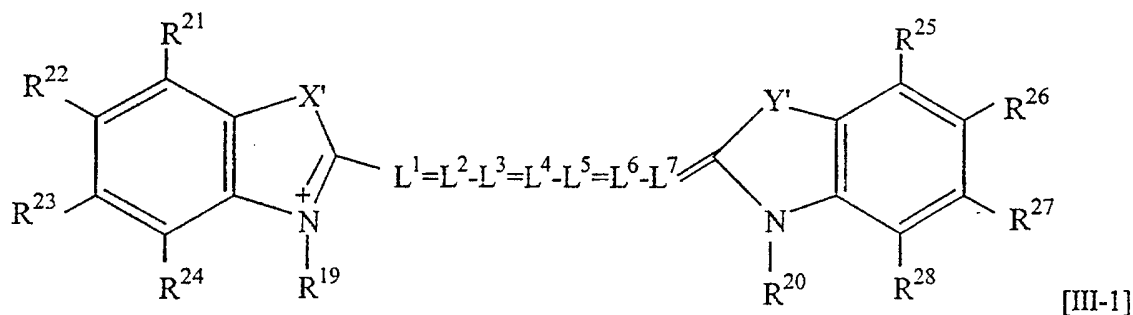
Ze skupiny sodných solí sloučenin obecného vzorce [II] obsahujících ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin je výhodná sodná sůl sloučeniny, ve které skupiny R^1 a R^2 jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou, a ve které skupiny X a Y jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce



kde skupiny R^{17} a R^{18} jsou nezávisle na sobě nesubstituované alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku, přičemž tato sůl obsahuje ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin; zvláště výhodnou je sloučenina vzorce



Ze sloučenin obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu obsahujících ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin a jejich z farmaceutického hlediska přijatelných solí je výhodná sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-1]



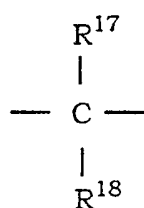
kde

$L^1 - L^7$ mají shora uvedený význam;

R^{19} a R^{20} jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku, které jsou substituované sulfonovou skupinou;

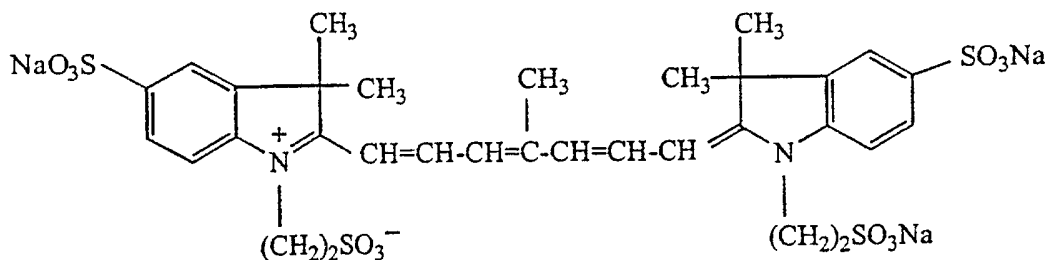
R^{21} a R^{28} jsou nezávisle na sobě vybrané ze skupiny zahrnující atom vodíku, sulfonovou skupinu, karboxylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, alkyl(sulfoalkyl)aminoskupinu, bis(sulfoalkyl)aminoskupinu, sulfoalkoxylovou skupinu, (sulfoalkyl)sulfonylovou skupinu nebo (sulfoalkyl)aminosulfonylovou skupinu;

X' a Y' jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce

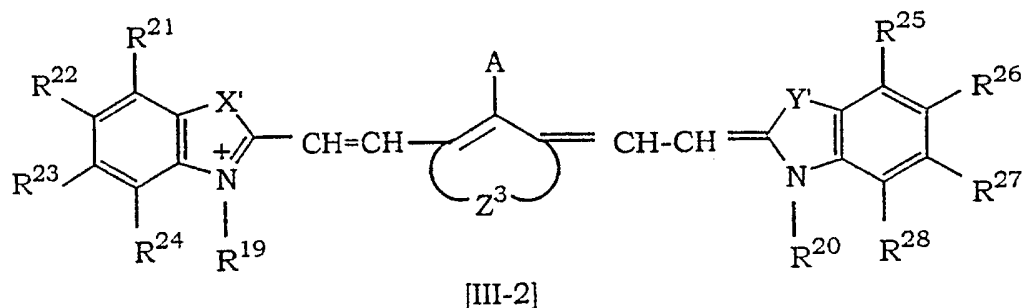


kde skupiny R^{17} a R^{18} mají shora uvedený význam,

přičemž tato sůl obsahuje ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin; zvláště výhodnou je sloučenina vzorce



Ze sloučenin obecného vzorce [III-1] podle předmětného vynálezu obsahujících ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin je výhodná sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-2]



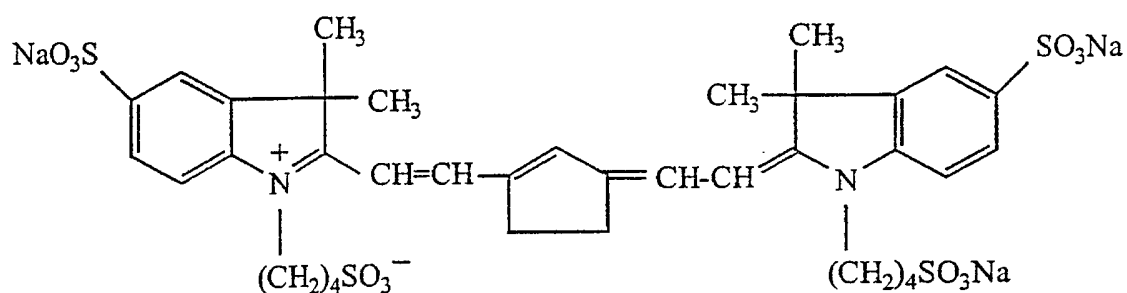
kde

R^{19} až R^{28} , X' a Y' mají shora uvedený význam;

Z^3 jsou nekovové atomy nezbytné pro vytvoření pěti- nebo šestičlenného kruhu; a

A je atom vodíku nebo jednovazná skupina,

přičemž tato sůl obsahuje ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin; zvláště výhodnou je sloučenina vzorce



Sloučeninami obsaženými ve fluorescenčním kontrastním činidle vyzařujícím záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu mohou být jakékoli sloučeniny pokud je možné je znázornit obecným vzorcem [I] nebo [II] a pokud obsahují ve své struktuře tři nebo více, výhodně čtyři nebo více sulfonových skupin. Uvedené sloučeniny je možné syntetizovat známými způsoby výroby sloučenin, které se používají jako kyaninová barviva, které byly popsány

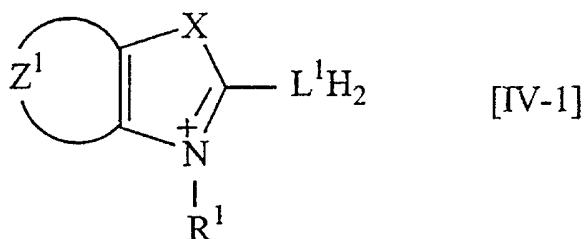
v publikaci *The Cyanine Dyes and Related Compounds*, F. M. Hamer, John Wiley and Sons, New York, 1964, v publikaci *Cytometry*, 10, 3-10 (1989), v publikaci *Cytometry*, 11, 418-430 (1990), v publikaci *Cytometry*, 12, 723-730 (1990), v publikaci *Bioconjugate Chem.*, 4, 105-111 (1993), v publikaci *Anal. Biochem.*, 217, 197-204 (1994), v publikaci *Tetrahedron*, 45, 4845-4866 (1989), ve zveřejněné přihlášce evropského patentu číslo EP-A-0591820A1, ve zveřejněné přihlášce evropského patentu číslo EP-A-0580145A1 apod. Dále mohou být při jejich přípravě použity semisyntetické postupy vycházející z komerčně dostupných sloučenin používaných jako kyaninová barviva. Konkrétně mohou být uvedené sloučeniny syntetizovány vzájemnou reakcí dianylové sloučeniny s heterocyklickou kvartérní solí.

Sloučeniny obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu je možné syntetizovat například následujícím způsobem.

(i) pokud $r = 0$

(a) $L^1 = L^5$, $X = Y$, $R^1 = R^2$ a $Z^1 = Z^2$

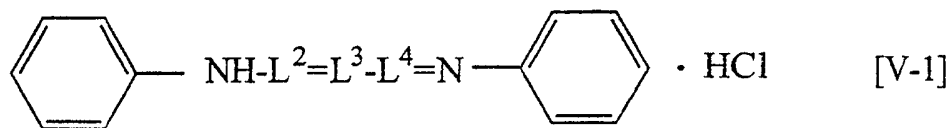
2 moly heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [IV-1]



kde

L^1 , X , Z^1 a R^1 mají shora uvedený význam,

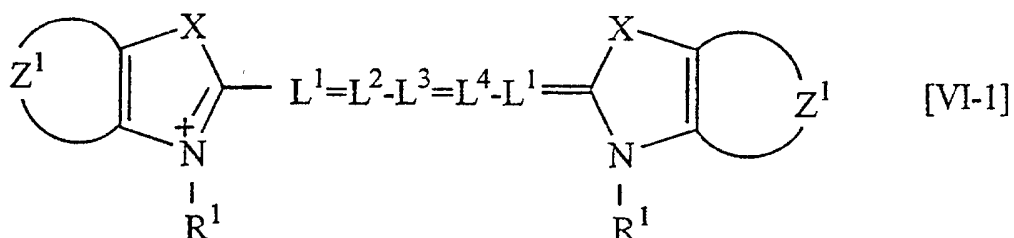
a 1 mol dianylové sloučeniny obecného vzorce [V-1]



kde

L^2 , L^3 a L^4 mají shora uvedený význam,

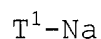
reagují v přítomnosti zásady a rozpouštědla za vzniku
sloučeniny obecného vzorce [VI-1]



kde

L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , R^1 , Z^1 a X mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VI-1] a nezbytné
molární množství sloučeniny obecného vzorce [VII]



[VII]

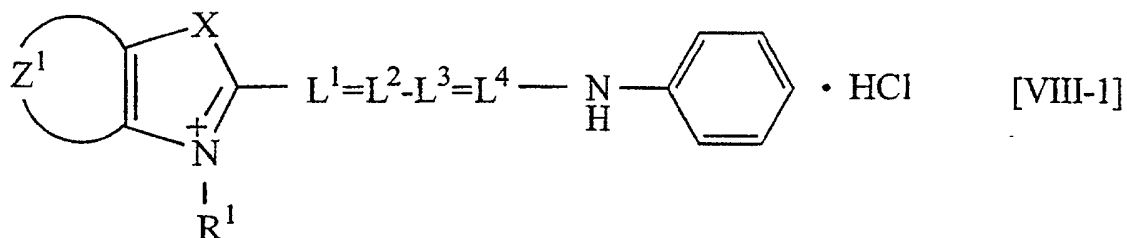
kde

T^1 je zbytek organické kyseliny,

reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného
obecného vzorce [VI-1].

(b) $L^1 \neq L^5$ nebo $X \neq Y$ nebo $R^1 \neq R^2$ nebo $Z^1 \neq Z^2$

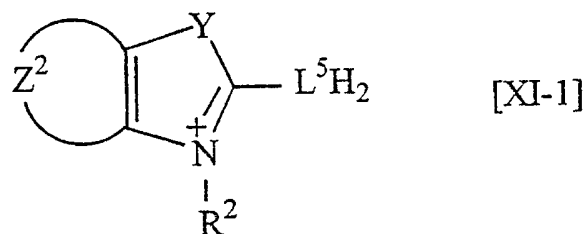
1 mol heterocyklické kvartérní soli shora uvedeného obecného vzorce [IV-1] a 1 mol shora uvedené dianylové sloučeniny obecného vzorce [V-1] reagují v přítomnosti zásady a rozpouštědla za vzniku sloučeniny obecného vzorce [VIII-1]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, R^1, Z^1$ a X mají shora uvedený význam,

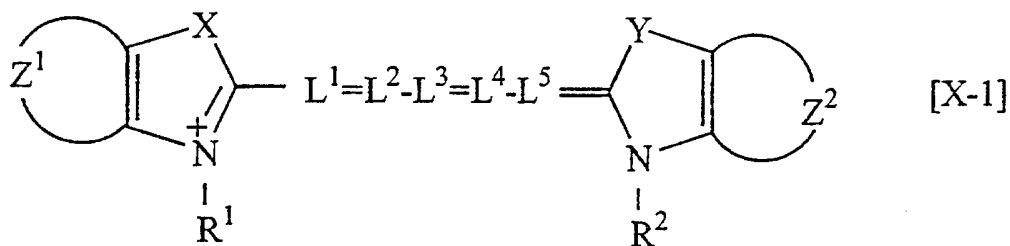
a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VIII-1] a 1 mol heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [XI-1]



kde

L^5, Y, Z^2 a R^2 mají shora uvedený význam,

reagují za vzniku sloučeniny obecného vzorce [X-1]



kde

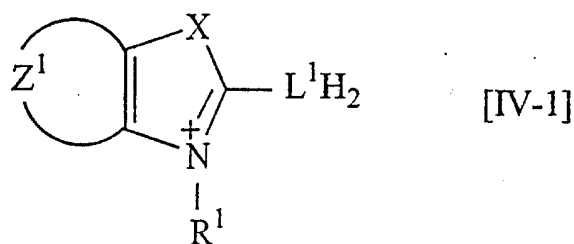
$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ a Y mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [X-1] a nezbytné molární množství shora uvedené sloučeniny obecného vzorce [VII] reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce [X-1].

(ii) pokud $r = 1$

(a) $L^1 = L^7, X = Y, R^1 = R^2$ a $Z^1 = Z^2$

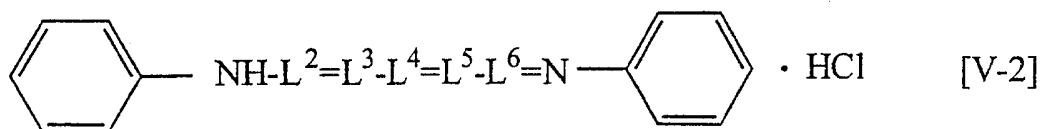
2 moly heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [IV-1]



kde

L^1, X, Z^1 a R^1 mají shora uvedený význam,

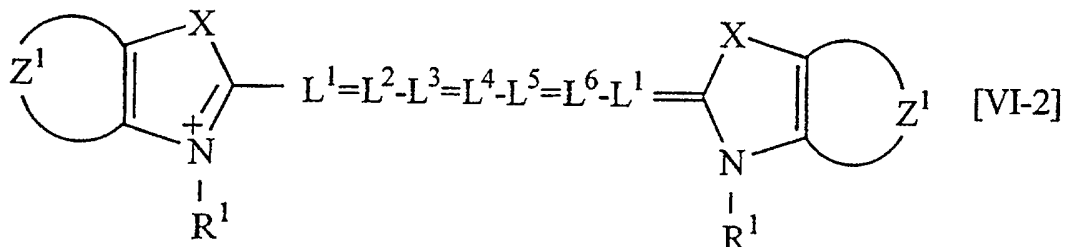
a 1 mol dianylové sloučeniny obecného vzorce [V-2]



kde

L^2, L^3, L^4, L^5 a L^6 mají shora uvedený význam,

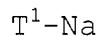
reagují v přítomnosti zásady a rozpouštědla za vzniku sloučeniny obecného vzorce [VI-2]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, R^1, Z^1$ a X mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VI-2] a nezbytné molární množství sloučeniny obecného vzorce [VII]



[VII]

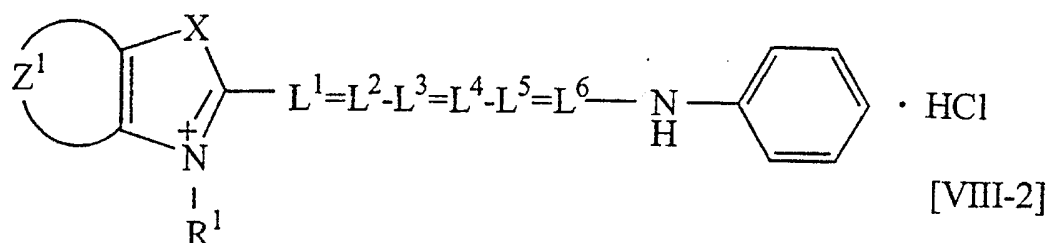
kde

T^1 má shora uvedený význam,

reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce [VI-2].

(b) $L^1 \neq L^7$ nebo $X \neq Y$ nebo $R^1 \neq R^2$ nebo $Z^1 \neq Z^2$

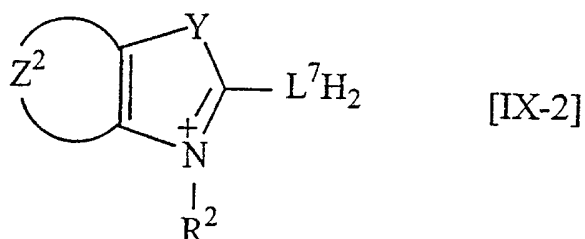
1 mol heterocyklické kvartérní soli shora uvedeného obecného vzorce [IV-1] a 1 mol shora uvedené dianylové sloučeniny obecného vzorce [V-2] reagují v přítomnosti zásady a rozpouštědla za vzniku sloučeniny obecného vzorce [VIII-2]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, R^1, Z^1$ a X mají shora uvedený význam,

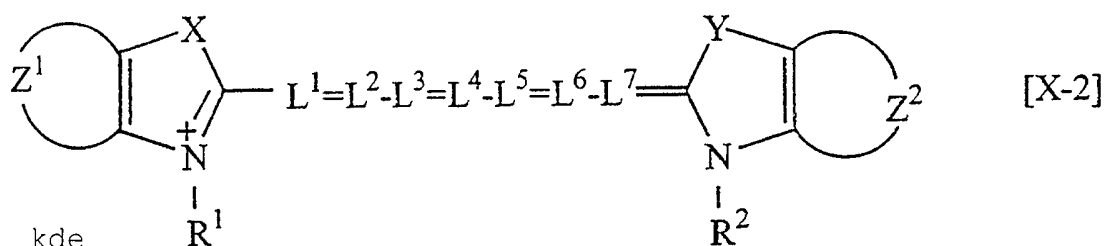
a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VIII-2] a 1 mol heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [IX-2]



kde

L^7, Y, Z^2 a R^2 mají shora uvedený význam,

reagují za vzniku sloučeniny shora obecného vzorce [X-2]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ a Y mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [X-2] a nezbytné molární množství shora uvedené sloučeniny obecného

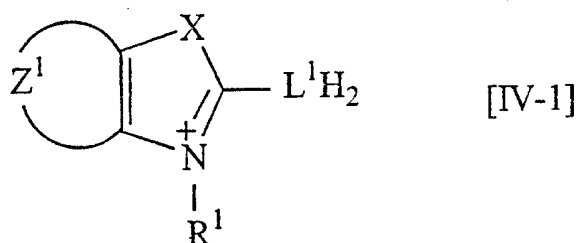
vzorci [VII] reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce [X-2].

(iii) pokud $r = 2$

Pokud r je rovno 2, skupiny L^6 a L^7 v obecném vzorci [I] se překrývají. Pro lepší názornost jsou proto skupiny L^6 a L^7 označovány v tomto případě jako L^8 a L^9 .

(a) $L^1 = L^9$, $X = Y$, $R^1 = R^2$ a $Z^1 = Z^2$

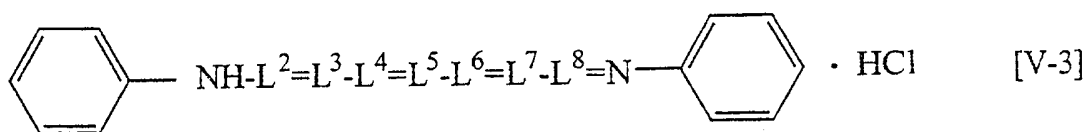
2 moly heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [IV-1]



kde

L^1 , X , Z^1 a R^1 mají shora uvedený význam,

a 1 mol dianylové sloučeniny obecného vzorce [V-3]

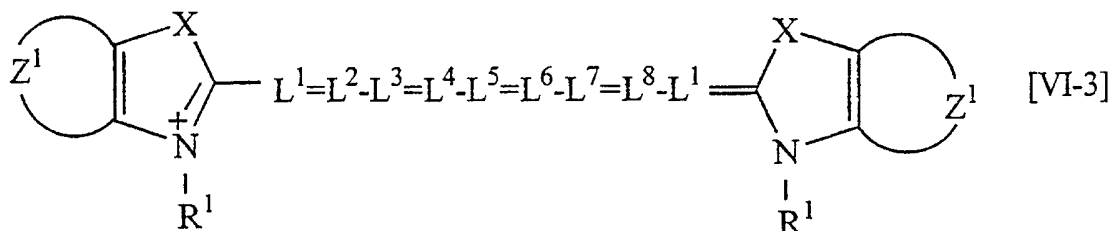


kde

L^2 , L^3 , L^4 , L^5 , L^6 a L^7 mají shora uvedený význam, a

L^8 je případně substituovaná methinová skupina

reagují v přítomnosti zásady a rozpouštědla za vzniku
sloučeniny obecného vzorce [VI-3]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, R^1, Z^1$ a X mají shora
uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VI-3] a nezbytné
molární množství sloučeniny obecného vzorce [VII]



[VII]

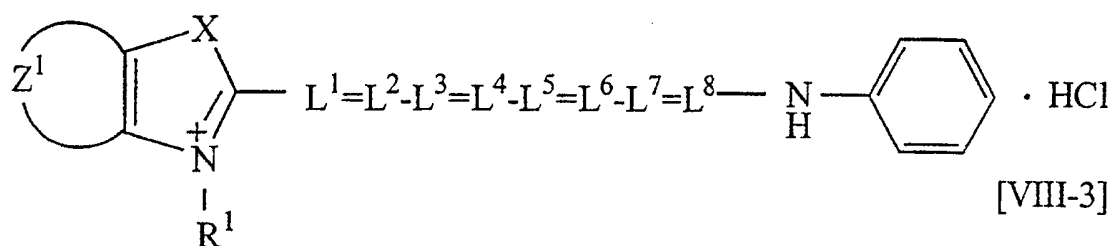
kde

T^1 má shora uvedený význam,

reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného
obecného vzorce [VI-3].

(b) $L^1 \neq L^9$ nebo $X \neq Y$ nebo $R^1 \neq R^2$ nebo $Z^1 \neq Z^2$

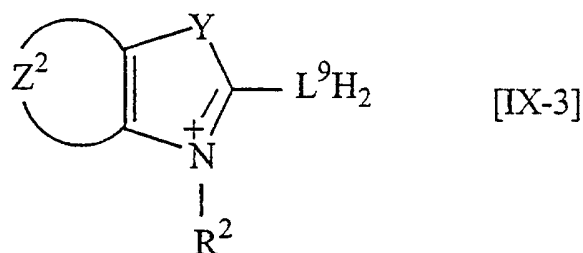
1 mol heterocyklické kvartérní soli shora uvedeného
obecného vzorce [IV-1] a 1 mol shora uvedeně dianylové
sloučeniny obecného vzorce [V-3] reagují v přítomnosti zásady
a rozpouštědla za vzniku sloučeniny obecného vzorce [VIII-3]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, R^1, Z^1$ a X mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [VIII-3] a 1 mol heterocyklické kvartérní soli obecného vzorce [IX-3]

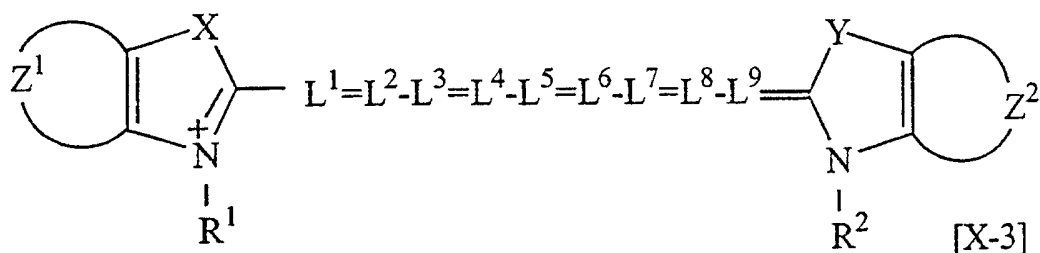


kde

Y, Z^2 a R^2 mají shora uvedený význam, a

L^9 je případně substituovaná methinová skupina,

reagují za vzniku sloučeniny shora obecného vzorce [X-3]



kde

$L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, L^6, L^7, L^8, L^9, R^1, R^2, Z^1, Z^2, X$ a Y mají shora uvedený význam,

a 1 mol uvedené sloučeniny obecného vzorce [X-3] a nezbytné molární množství shora uvedené sloučeniny obecného vzorce [VII] reagují za vzniku sodné soli sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce [X-3].

Uvedené nezbytné molární množství sloučeniny obecného vzorce [VII] není menší než množství, které je ekvivalentní k množství sodíku obsaženému v jedné molekule příslušné sodné soli sloučeniny obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu.

Jako příklad substituentu uvedené substituované methinové skupiny L^8 a L^9 je možné uvést stejné skupiny jako v případě shora uvedených methinových skupin L^1 až L^7 .

Při shora uvedených syntetických postupech (i), (ii) a (iii) probíhá reakce sloučeniny [IV-1] se sloučeninou [V-1], reakce sloučeniny [VIII-1] se sloučeninou [XI-1], reakce sloučeniny [IV-1] se sloučeninou [V-2], reakce sloučeniny [VIII-2] se sloučeninou [IX-2], reakce sloučeniny [IV-1] se sloučeninou [V-3] a reakce sloučeniny [VIII-3] se sloučeninou [IX-3] při teplotě od $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, výhodně při teplotě od $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, výhodně v přítomnosti acylačního činidla, jako je anhydrid kyseliny octové.

Při shora uvedených syntetických postupech (i), (ii) a (iii) probíhá reakce sloučeniny [IV-1] se sloučeninou [VII], reakce sloučeniny [X-1] se sloučeninou [VII], reakce sloučeniny [VI-2] se sloučeninou [VII], reakce sloučeniny [X-2] se sloučeninou [VII], reakce

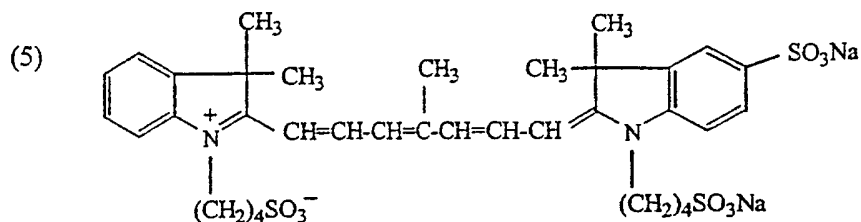
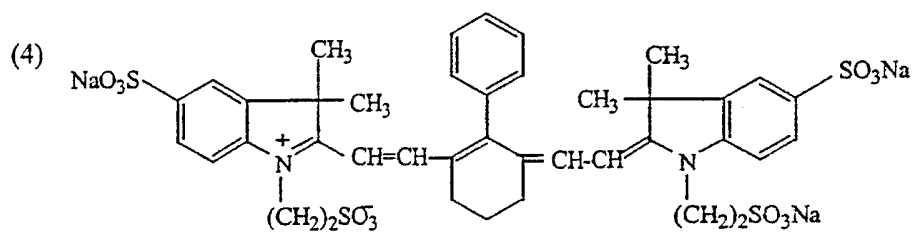
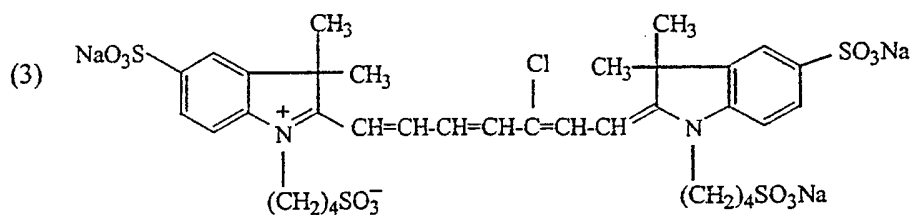
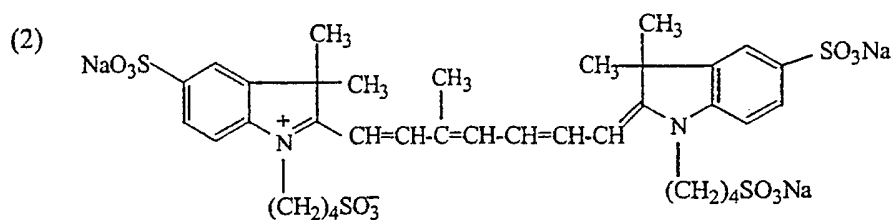
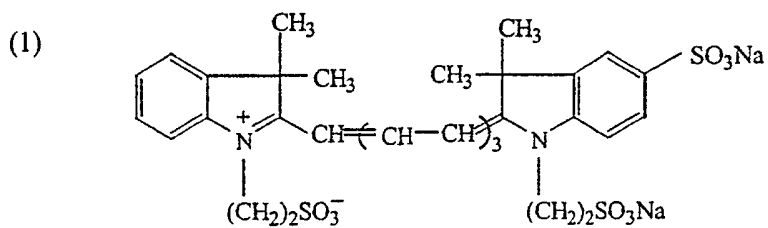
sloučeniny [VI-3] se sloučeninou [VII] a reakce sloučeniny [X-3] se sloučeninou [VII] při teplotě od 0 °C do 40 °C, výhodně v přítomnosti rozpouštědla, jako je alkohol nebo voda.

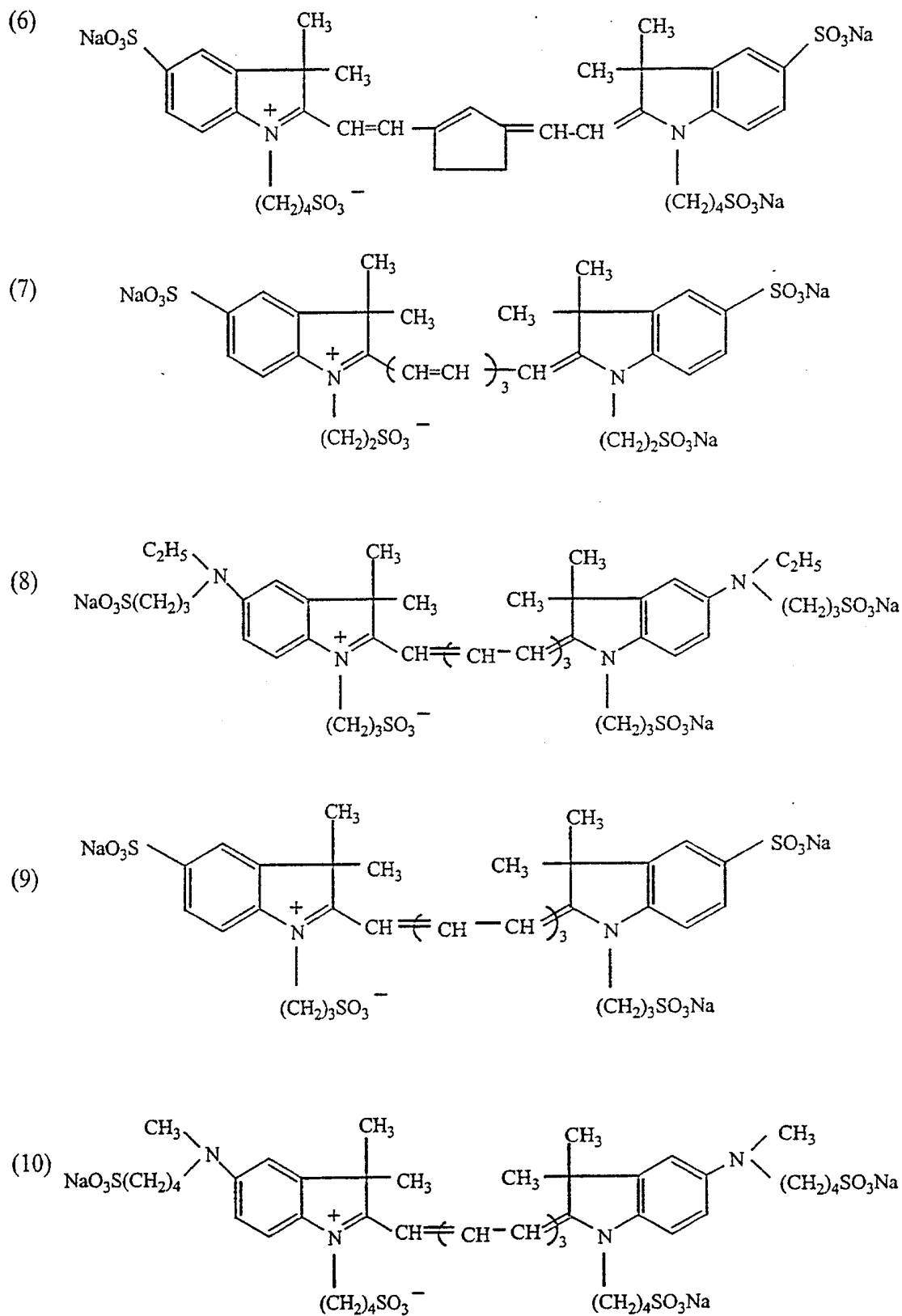
Zásadou, kterou je možné použít při shora uvedených syntetických postupech (i), (ii) a (iii), může být například triethylamin, tributylamin, pyridin, diazabicykloundecen, methoxid sodný apod.; rozpouštědlem používaným při těchto postupech může být například amidová sloučenina, jako je N,N-dimethylacetamid, N-methylpyrrolidon a N,N-diethylformamid, nebo alkohol, jako je methanol; a uvedeným organickým zbytkem při těchto postupech může být například skupina CH_3COO apod.

Co se týče přípravy různých z farmaceutického hlediska přijatelných solí sloučenin obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu, je možné připravit amoniové soli sloučenin obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu například nahrazením sloučeniny obecného vzorce [VII], která se používá ve výše uvedených syntetických postupech (i), (ii) a (iii), sloučeninou obecného vzorce [VII], ve které je atom sodíku nahrazen amoniovou skupinou nebo atomem draslíku; a různé kationtové soli sloučenin obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu je možné získat přeměnou uvedené amoniové soli a draselné soli na různé kationtové soli pomocí odpovídajících iontoměničových pryskyřic.

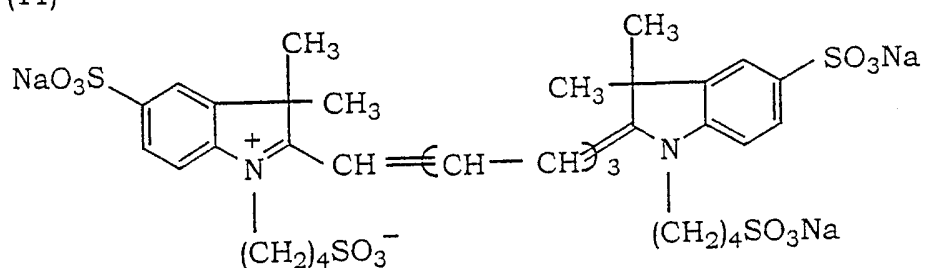
Konkrétní příklady sloučenin shora uvedeného obecného vzorce [I], včetně sloučenin obecného vzorce [II], které se

používají podle předmětného vynálezu, jsou uvedeny níže, přičemž tyto příklady nijak neomezují rozsah tohoto vynálezu.

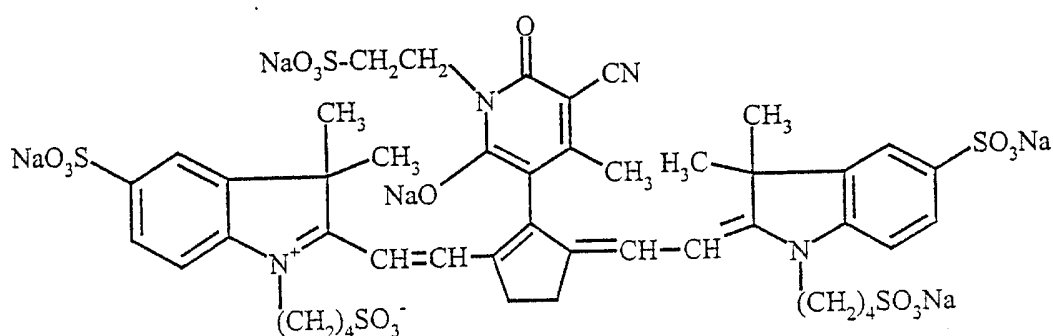
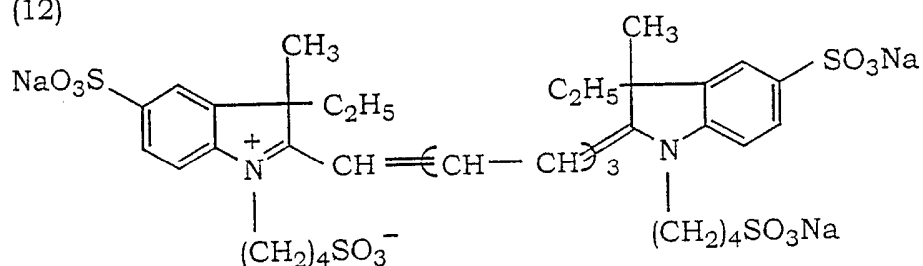




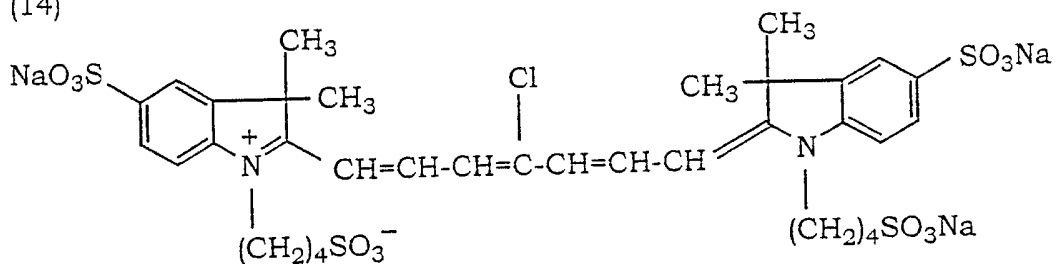
(11)



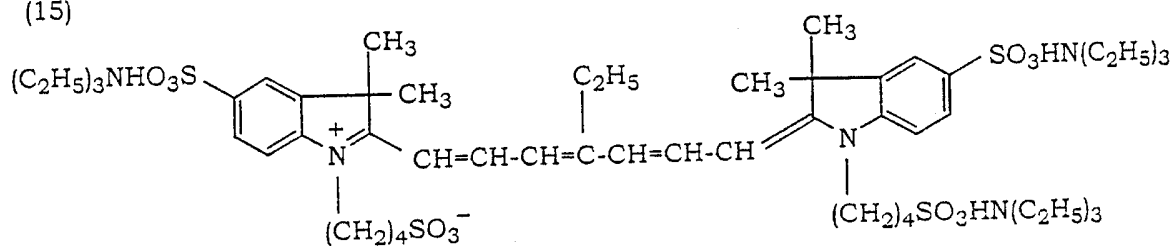
(12)



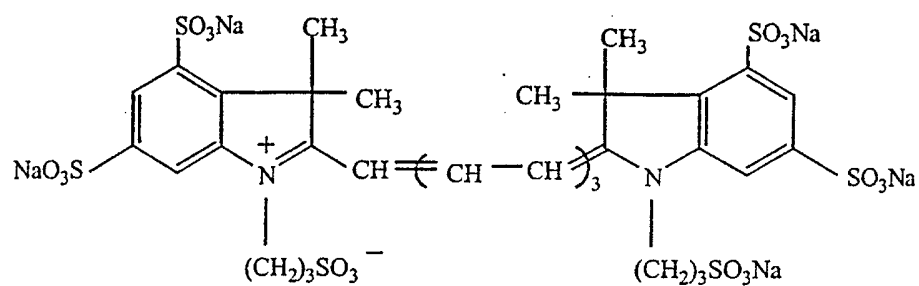
(14)



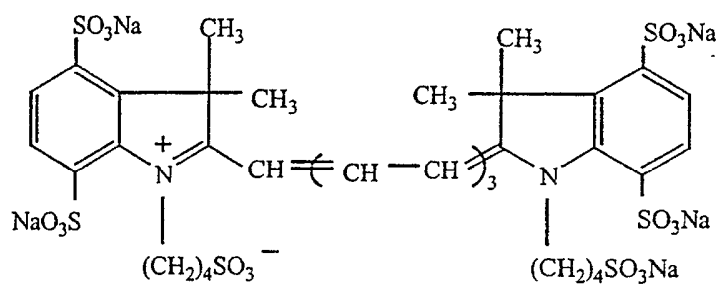
(15)



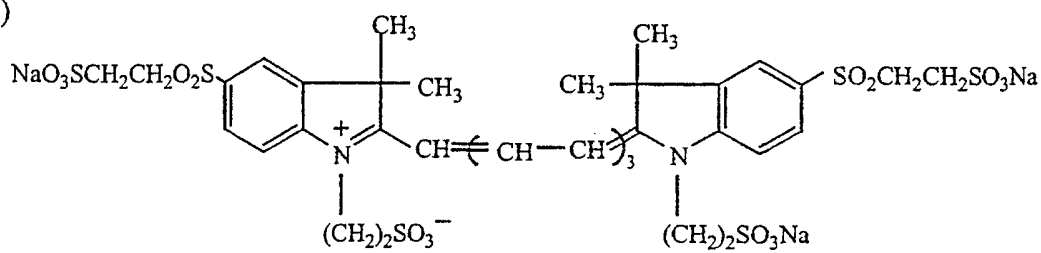
(16)



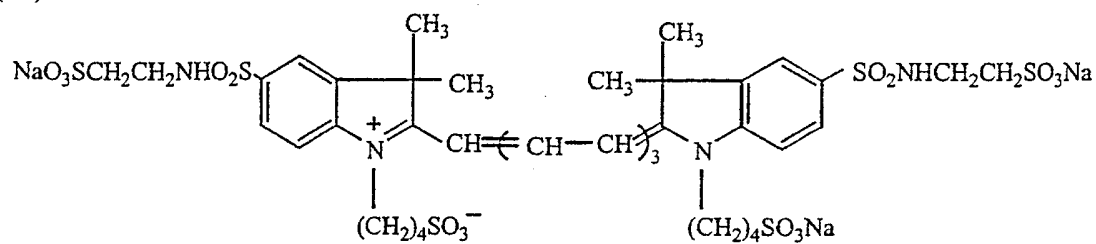
(17)



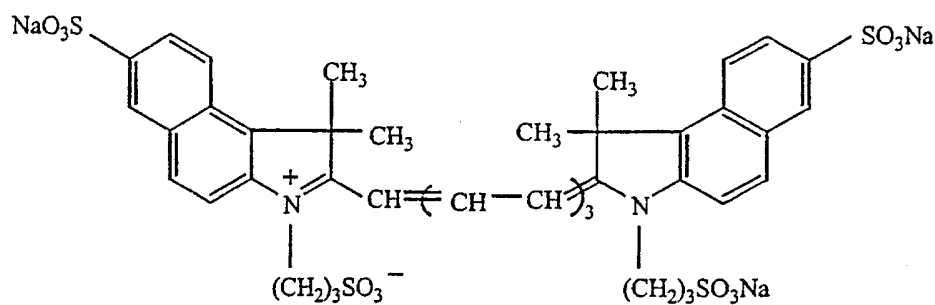
(18)



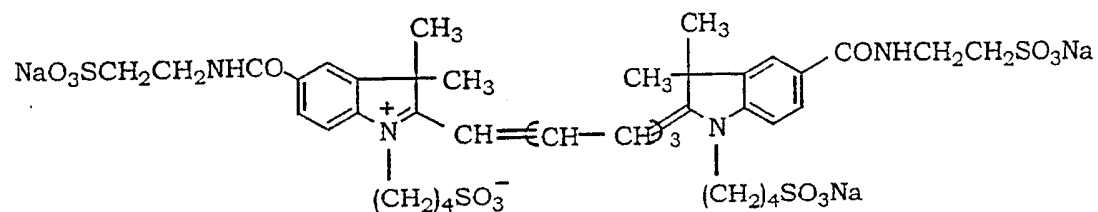
(19)



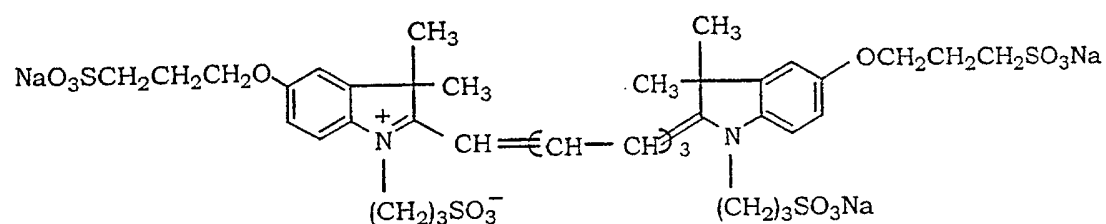
(20)



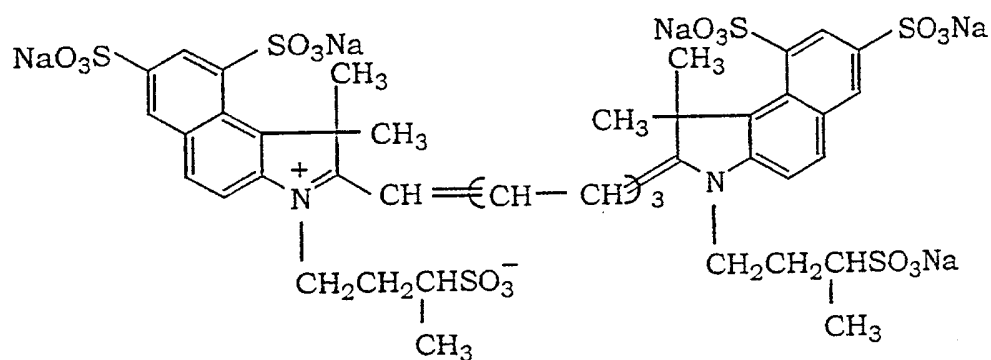
(21)



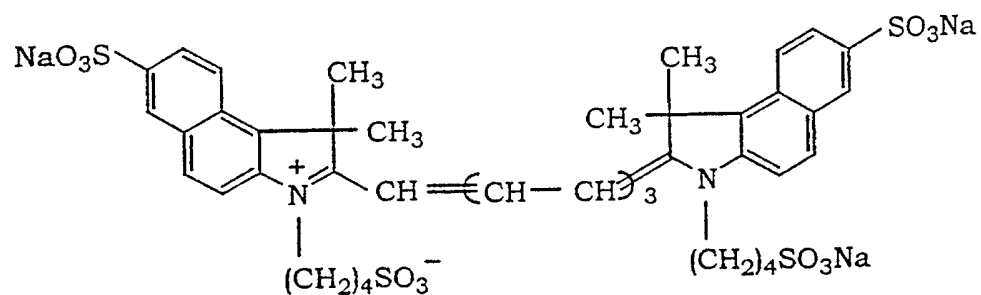
(22)



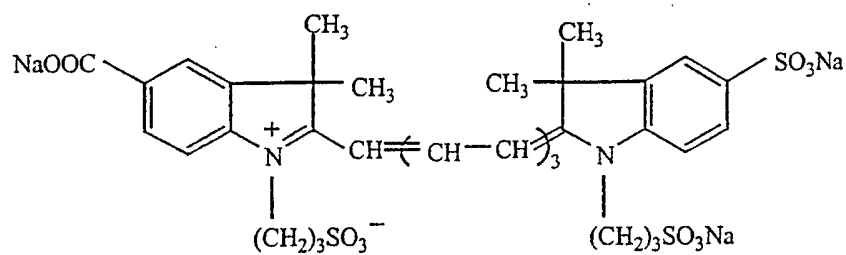
(23)



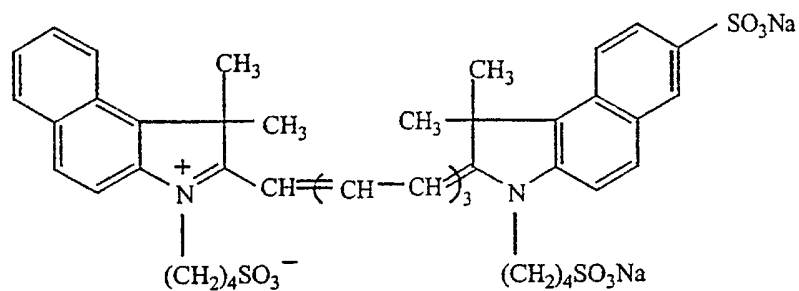
(24)



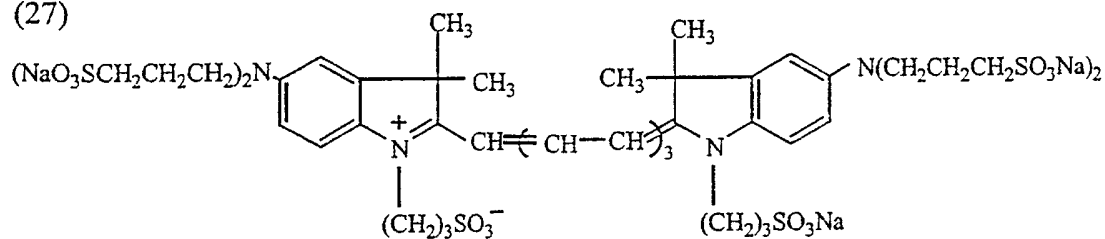
(25)



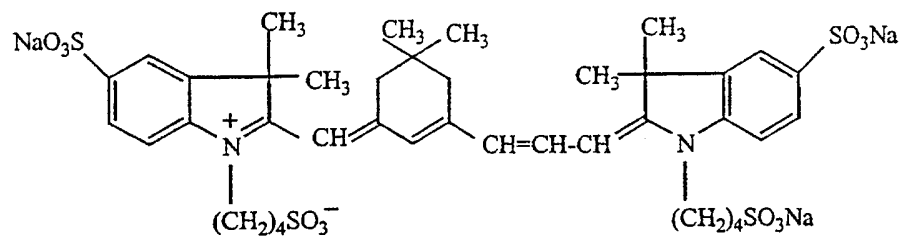
(26)

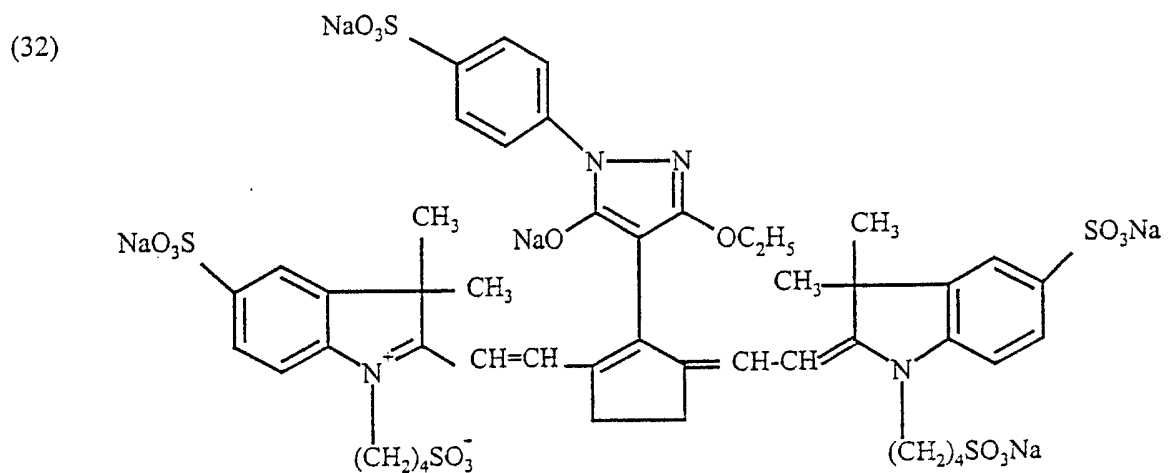
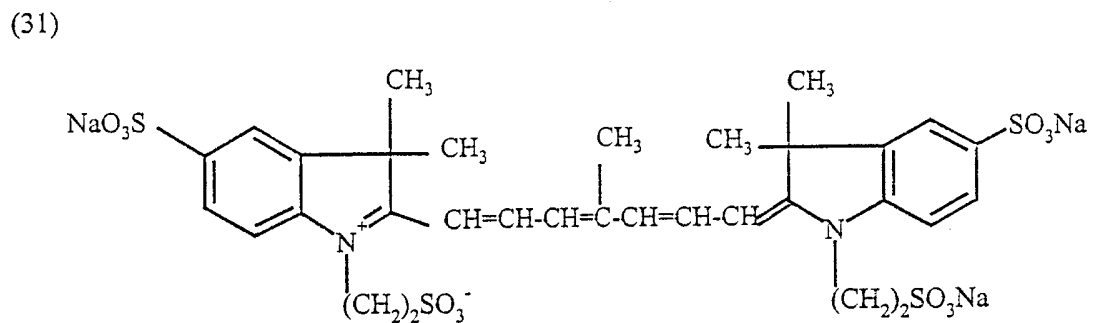
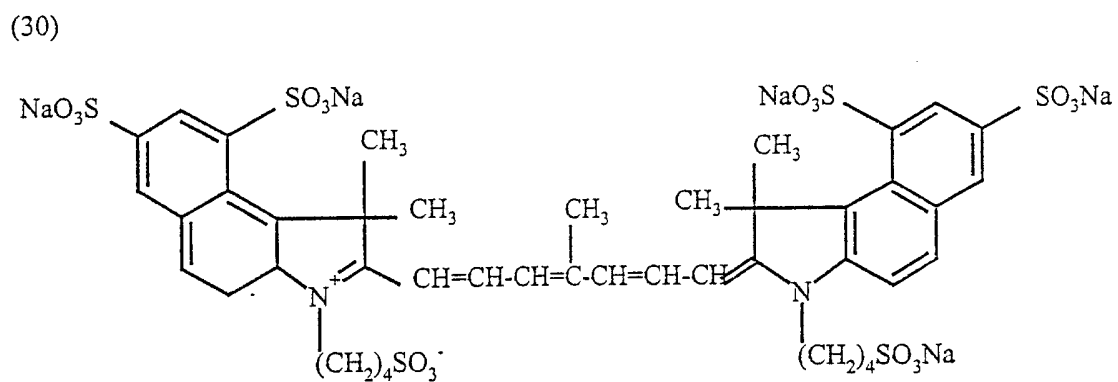
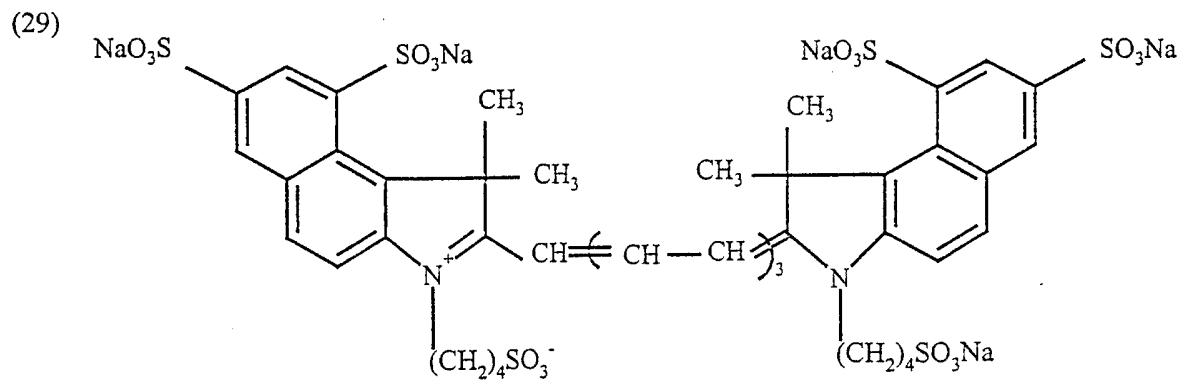


(27)

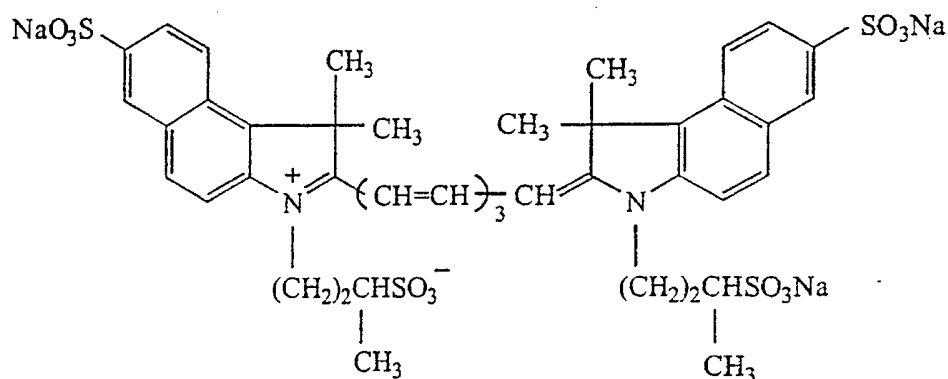


(28)

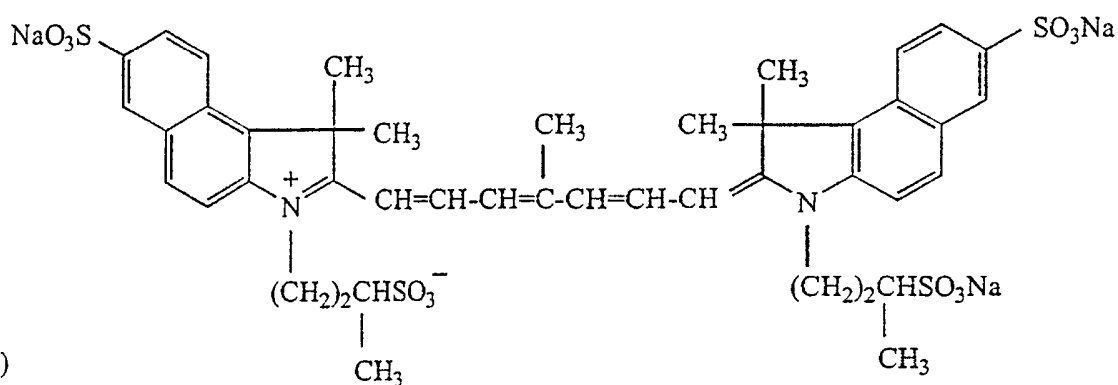




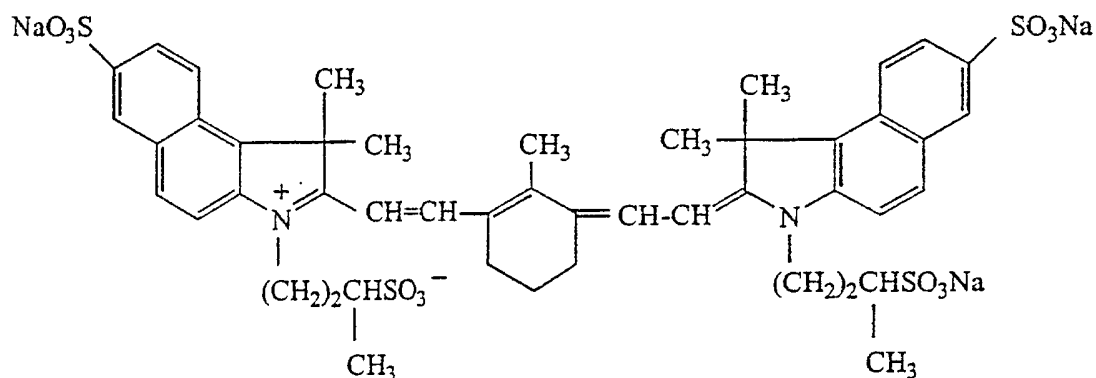
(33)



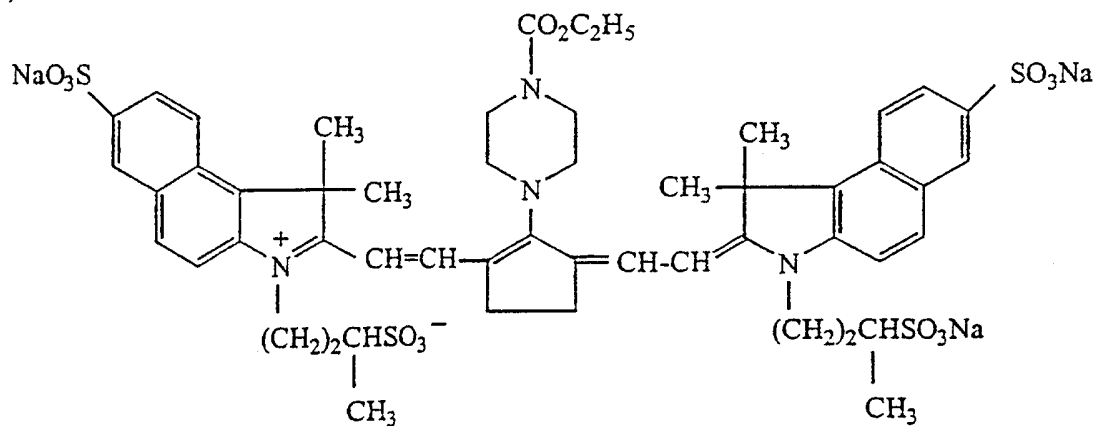
(34)



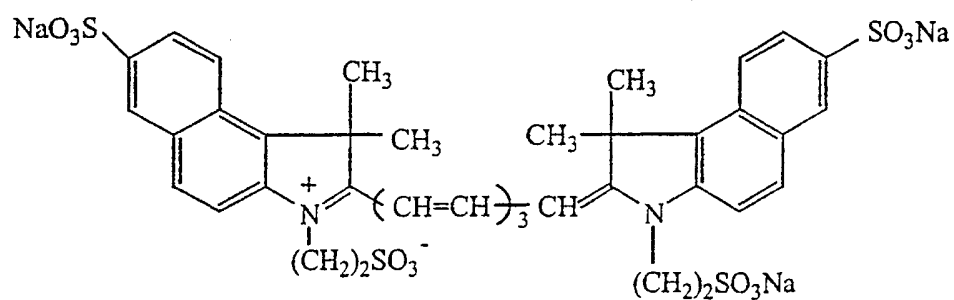
(35)



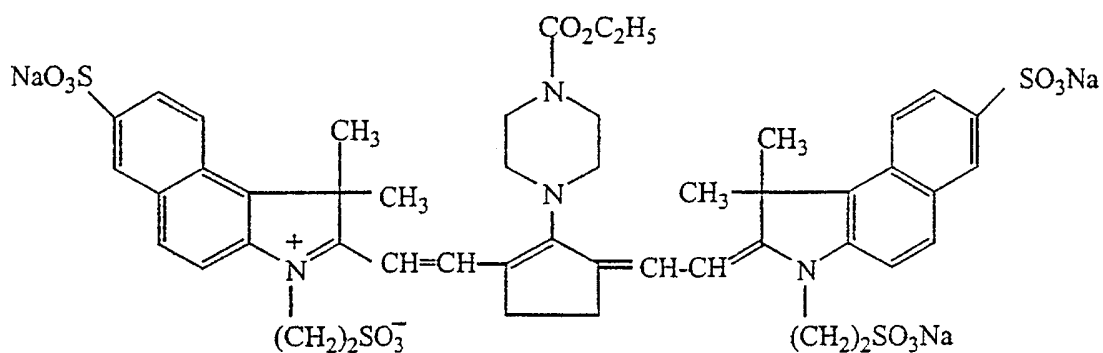
(36)



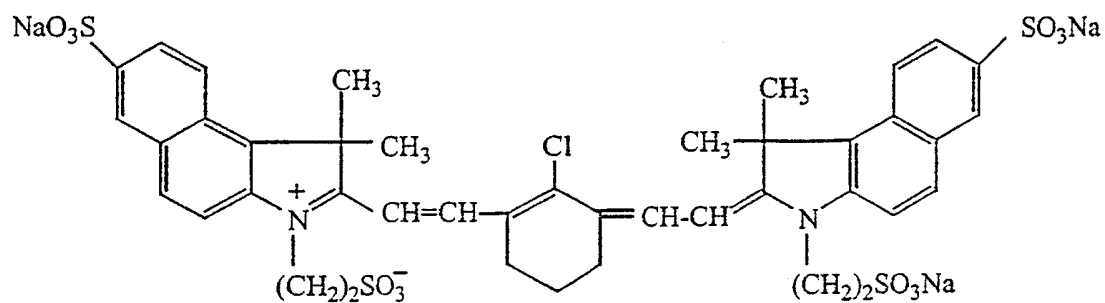
(37)



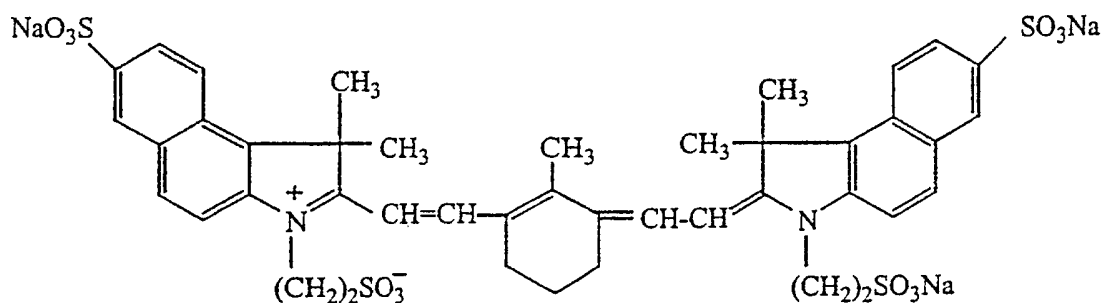
(38)



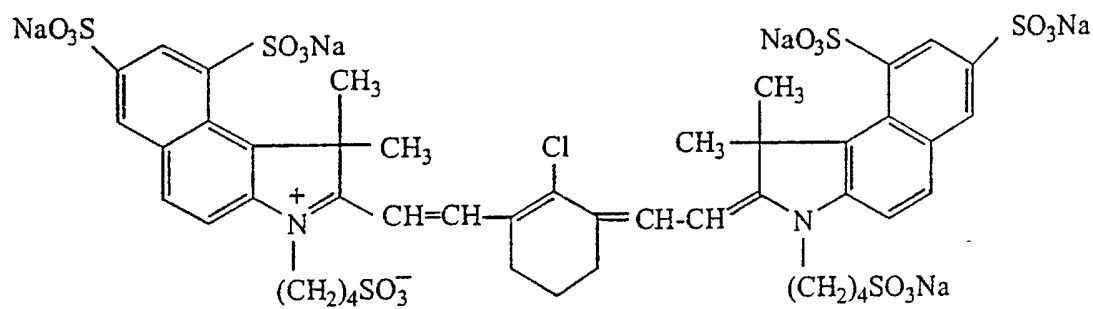
(39)



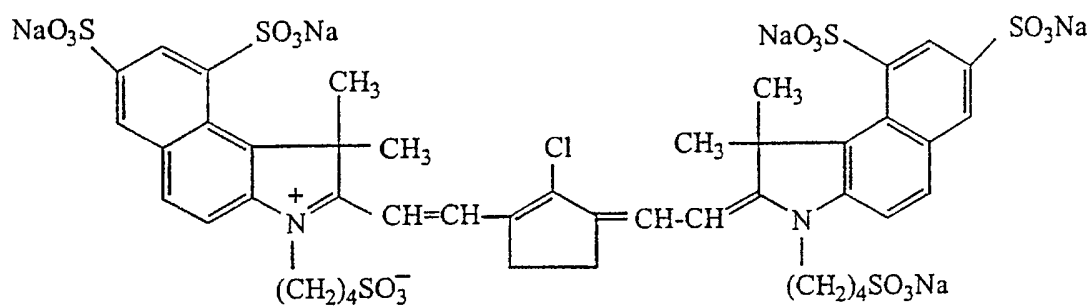
(40)



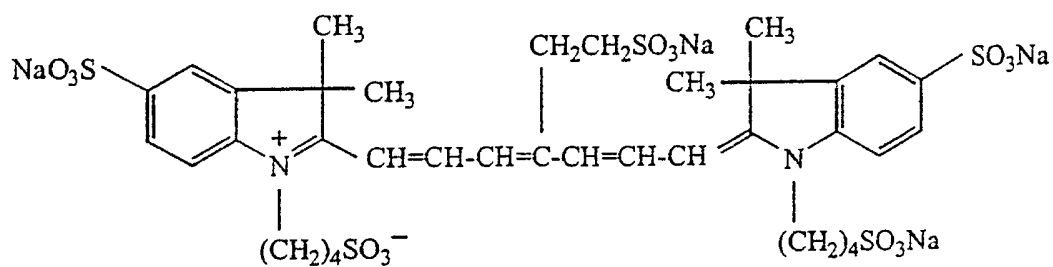
(41)



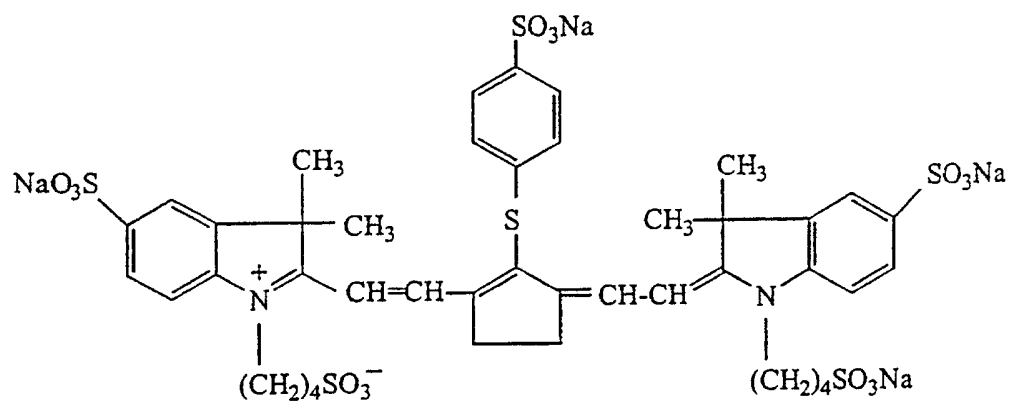
(42)



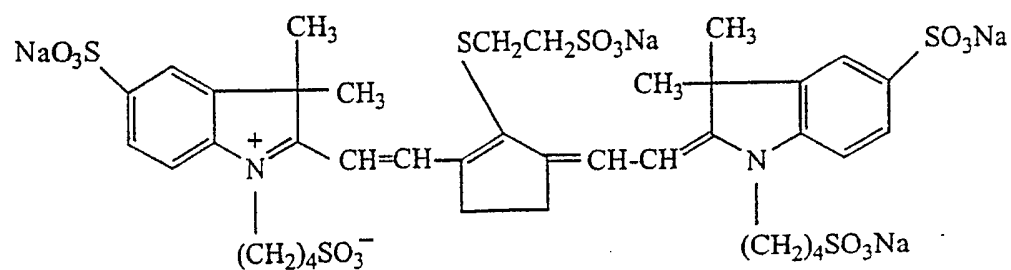
(43)



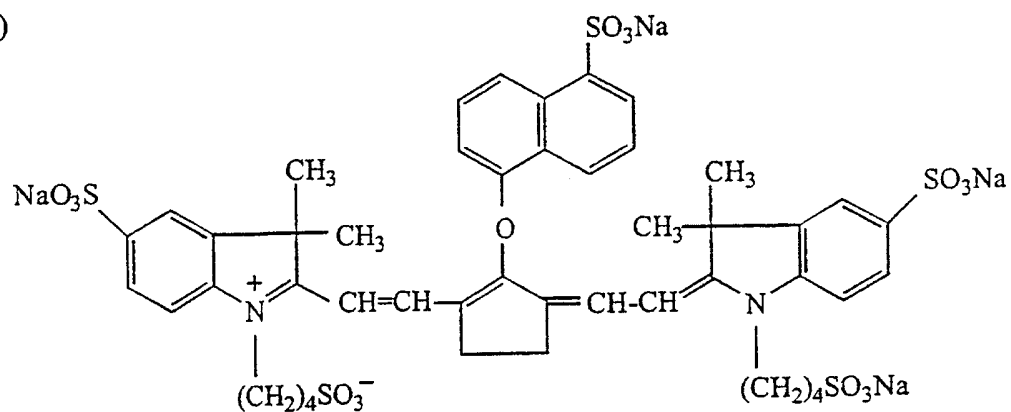
(44)



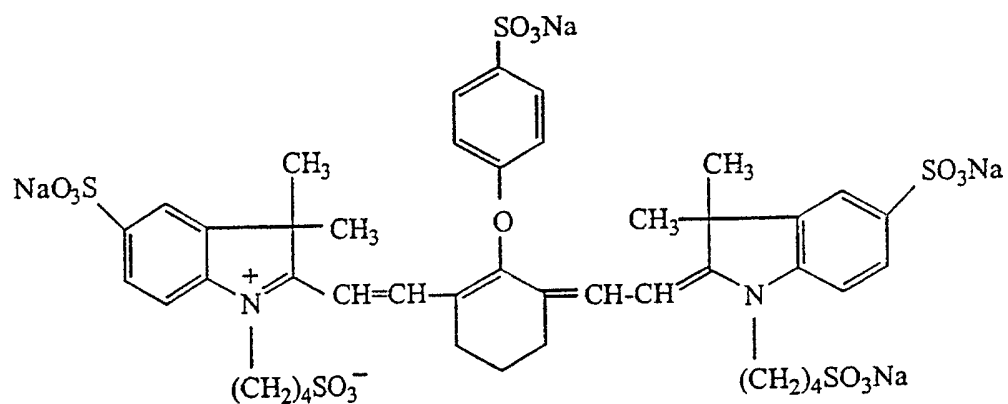
(45)



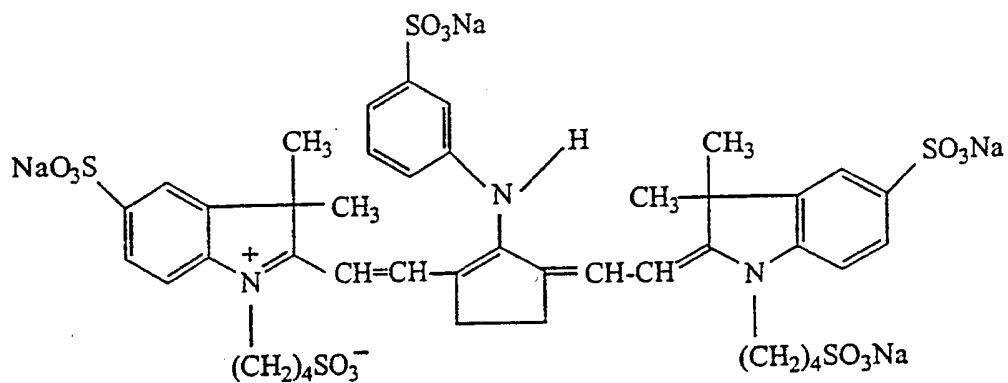
(46)



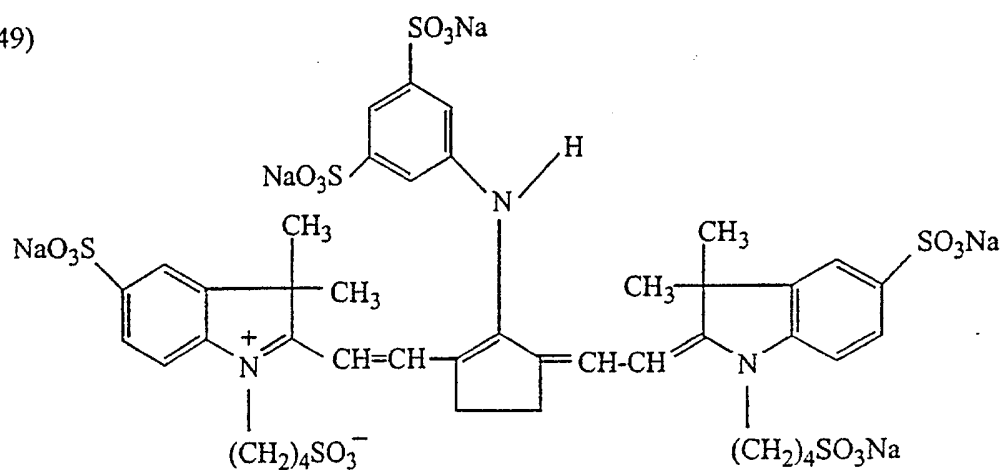
(47)



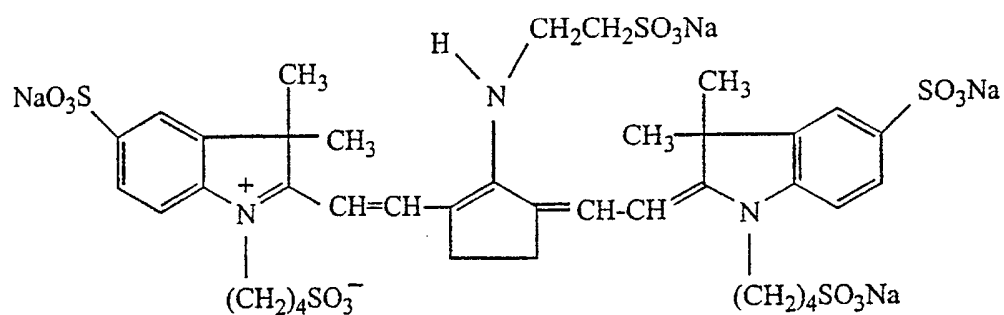
(48)



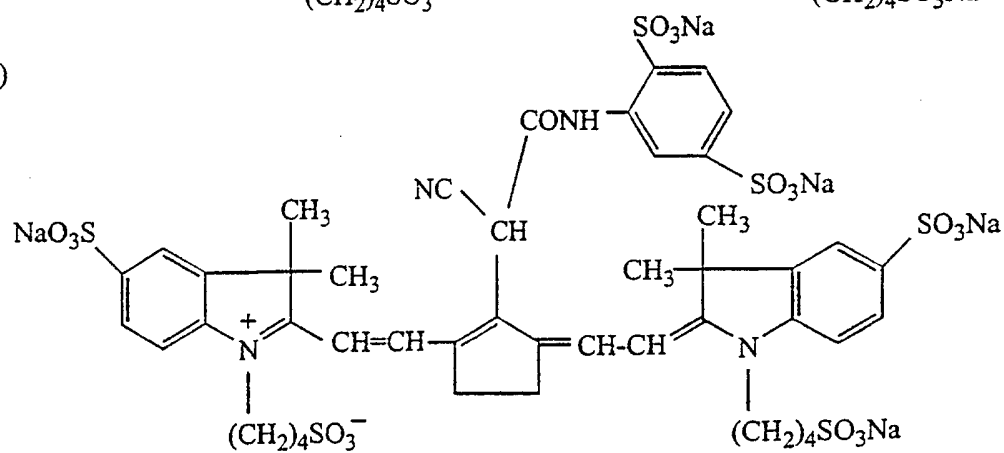
(49)



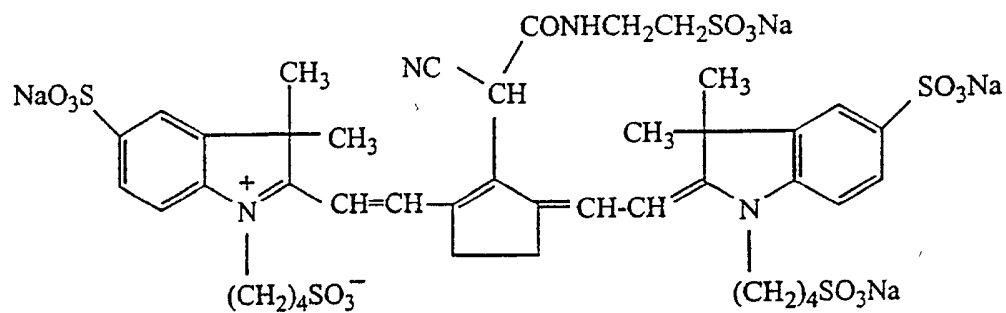
(50)



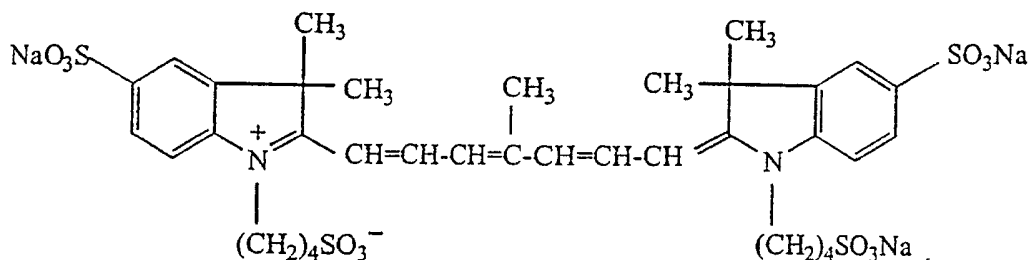
(51)



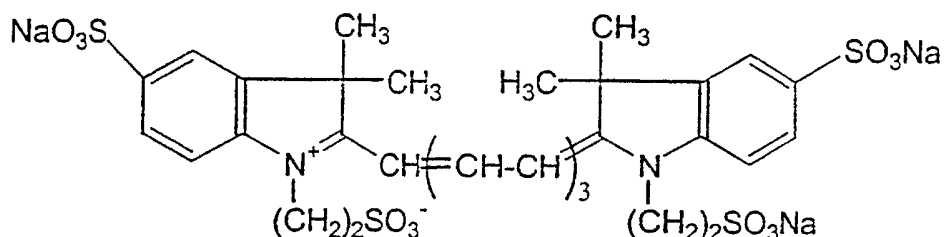
(52)



(53)



(54)



Shora uvedené sloučeniny, které mohou být obsaženy ve fluorescenčním kontrastním činidle vyzařujícím záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu vykazují absorpční a fluorescenci v blízké infračervené oblasti, tj. v oblasti vlnových délek 700 nanometrů až 1300 nanometrů, zejména v oblasti od 700 nanometrů do 900 nanometrů, a jejich molární absorpční koeficient není menší než 100 000.

Složení fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu není ničím omezeno, pokud toto činidlo zahrnuje sloučeninu obecného vzorce [I] nebo obecného vzorce [II] a/nebo jejich z farmaceutického hlediska přijatelné soli, a pokud obsahuje ve své struktuře 3 nebo více, výhodně 4 nebo více sulfonových skupin. Uvedená sloučenina nebo její sůl může být v kontrastním činidle podle předmětného vynálezu obsažena samotná nebo ve směsi s jinými látkami.

Konkrétně kontrastní činidlo podle předmětného vynálezu zahrnuje uvedenou sloučeninu nebo uvedenou sloučeninu suspendovanou nebo rozpuštěnou v rozpouštědle, jako je injikovatelná destilovaná voda, fyziologický roztok, roztok Ringer apod. Pokud je to nezbytné, mohou být rovněž použity z farmakologického hlediska přijatelné přísady, jako je nosič, mastový základ apod. Tyto přísady obsahují látky, jako je z farmakologického hlediska přijatelný elektrolyt, pufr, povrchově aktivní činidlo a látka pro regulaci osmotického tlaku a zlepšení stability a rozpustnosti (například cyklodextrin, liposom apod.). Podle předmětného vynálezu je možné použít různé přísady, které se běžně používají v dané oblasti techniky. Pokud je fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu určeno pro farmaceutické použití, zahrnuje výhodně způsob jeho výroby sterilizační stupeň.

Kontrastní činidlo podle předmětného vynálezu může být do živého těla podáváno injekcemi, sprejováním nebo potahováním, intravenózně (žilou nebo tepnou), orálně, intraperitoneálně, perkutánně, subkutánně, intracysticky nebo intrabronchiálně. Výhodně se činidlo podle předmětného vynálezu podává do krevních cév ve formě vodného roztoku, emulze nebo suspenze.

Velikost dávky fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu není nijak konkrétně omezena, pokud daná dávka umožňuje detekci místa, kde především má dojít ke stanovení diagnózy. Daná dávka je vhodně upravena podle druhu použité sloučeniny, která vyzařuje záření v blízké infračervené oblasti, věku pacienta, tělesné hmotnosti

pacienta a cílového orgánu, který má být vyšetřen apod. Obvyklá velikost dávky sloučeniny podle předmětného vynálezu se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 100 miligramů/ kilogram tělesné hmotnosti, výhodně v rozmezí od 0,5 do 20 miligramů/kilogram tělesné hmotnosti.

Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu může být vhodně použito pro různé živočichy, kterými není člověk. Forma podávání, způsob podávání a velikost dávky se v jednotlivých způsobech určí podle tělesné hmotnosti a stavu jednotlivých zvířat.

Dále bylo zjištěno, že shora uvedená sloučenina obecného vzorce [I] podle předmětného vynálezu, zejména potom sloučenina obecného vzorce [II] podle předmětného vynálezu, obsahující ve své molekule 3 nebo více, výhodně 4 nebo více, sulfonových skupin, má sklon k výraznému hromadění v nádorových tkáních. S využitím této vlastnosti je možné pomocí fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu specificky zobrazovat nádorovou tkáň. Dále mohou některé sloučeniny podle předmětného vynálezu zůstat po dlouhou dobu v krevních cévách a očekává se, že by mohly sloužit jako dobrá kontrastní činidla při angiografii.

Způsob fluorescenčního zobrazování podle předmětného vynálezu je charakteristický tím, že zahrnuje použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu. Tento způsob se provádí podle již známých postupů, přičemž je

příslušně stanoven každý parametr, jako je vlnová délka excitačního záření a vlnová délka fluorescenčního záření, které má být detekováno, aby se dosáhlo optimálního zobrazení a vyhodnocení, a to v závislosti na druhu podávaného fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti a v závislosti na cíli podávání tohoto činidla. Doba mezi podáním fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu určenému cíli a počátkem stanovení fluorescenčním zobrazováním podle předmětného vynálezu se liší podle druhu použitého fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu a podle cíle podávání. Tak například při použití činidla podle předmětného vynálezu, které zahrnuje sloučeninu obecného vzorce [I], pro zobrazování nádoru, je délka uvedeného intervalu od přibližně 4 hodin do přibližně 120 hodin od podání. V případě použití sloučeniny obecného vzorce [II] je délka uvedeného intervalu od přibližně 24 hodin do přibližně 120 hodin od podání. Pokud je uvedený interval příliš krátký, je fluorescence tak intenzivní, že není možné jasně rozlišit cílové místo od ostatních míst. Pokud je naopak tento interval příliš dlouhý, může dojít k vyloučení uvedeného kontrastního činidla z těla. Pokud je cílem zobrazení krevních cév, je uvedená sloučenina obecného vzorce [I] nebo obecného vzorce [II] detekována okamžitě po jejím podání nebo do přibližně 30 minut od podání.

Uvedený způsob obecně zahrnuje následující stupně:

Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu je

podáno cíli detekce a tento cíl detekce je vystaven působení excitačního záření, které vychází z příslušného zdroje. Poté je detekováno fluorescenční záření, vycházející z fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu, které bylo způsobeno uvedeným excitačním zářením, přičemž k této detekci se používá fluorescenční detektor.

Vlnová délka excitačního záření se mění podle konkrétně použitého fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu. Tato vlnová délka není nijak omezena pokud uvedená sloučenina účinně vyzařuje fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti. Výhodně se používá záření v blízké infračervené oblasti, které má vynikající schopnost procházet biologickým materiálem.

Vlnová délka fluorescenčního záření v blízké infračervené oblasti, která má být detekována se rovněž mění podle konkrétně použitého fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu. Obecně je možné uvést, že se používá excitačního záření o vlnové délce 600 až 1000 nanometrů, výhodně 700 až 850 nanometrů a je detekováno fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti o vlnové délce 700 až 1000 nanometrů, výhodně 750 až 900 nanometrů. V tomto případě je zdrojem excitačního záření běžně používaný zdroj takového záření, jako jsou různé lasery (např. iontový laser, barevný laser a polovodičový laser), halogenový světelný zdroj, xenonový světelný zdroj apod. V případě potřeby je pro dosažení optimální vlnové délky excitačního záření možné

použít různé optické filtry. Podobně je možné fluorescenční záření detekovat pomocí různých optických filtrů, jejichž použitím dojde k zachycení pouze fluorescenčního záření vyzařovaného uvedeným fluorescenčním kontrastním činidlem.

Detekované fluorescenční záření je datově zpracováno ve formě fluorescenční informace a použito pro vytvoření fluorescenčních obrazů, které je možné zaznamenávat. Uvedené fluorescenční obrazy jsou vytvořeny vyzařováním široké oblasti, která zahrnuje i cílovou tkáň, detekováním fluorescenčního záření pomocí CCD kamery a zpracováním získané fluorescenční informace na odpovídající obraz. Při jiném způsobu je možné použít optické zařízení CT, dále je možné použít endoskop nebo kameru pro sledování očního pozadí.

Způsob fluorescenčního zobrazování podle předmětného vynálezu umožňuje vizualizaci systemických onemocnění, nádorů, krevních cév a podobně, aniž by došlo k poškození živého těla.

Předmětný vynález je detailněji vysvětlen pomocí příkladů a experimentálních příkladů, které jsou uvedeny v dalším textu, a které nijak neomezují rozsah tohoto vynálezu. Čísla sloučenin uvedená v těchto příkladech a experimentálních příkladech odpovídají číslům sloučenin, které jsou v tomto textu znázorněny strukturními vzorci.

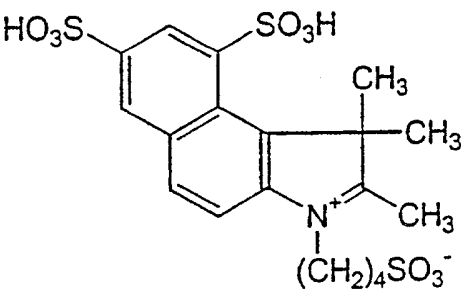
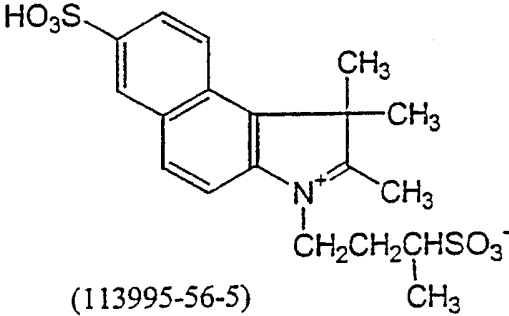
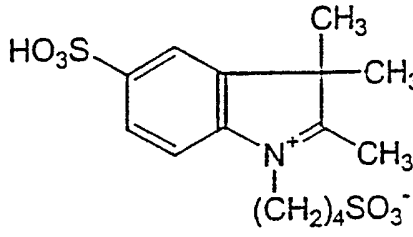
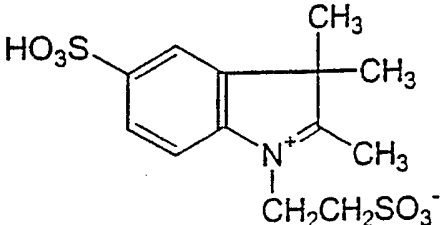
Sloučeninou, ve které je za číslem sloučeniny uvedeno označení „draselná sůl“, „vápenatá sůl“ nebo „pyridiniová sůl“ (například sloučenina (29) K sůl) se rozumí sloučenina, která je shodná se sloučeninou znázorněnou jako číslo sloučeniny (sodná sůl) s tím, že uvedeným protiiontem je místo sodného

kationtu draselný kation, vápenatý kation nebo pyridiniový kation. Tak například pojmem „sloučenina (31) K sůl“ se rozumí sloučenina, která je shodná se sloučeninou (31) s tím, že uvedeným protiiontem je místo sodíku draslík; pojmem „sloučenina (31) Ca sůl“ se rozumí sloučenina, která je shodná se sloučeninou (31) s tím, že uvedeným protiiontem je místo sodíku vápník; a pojmem „sloučenina (31) pyridiniová sůl“ se rozumí sloučenina, která je shodná se sloučeninou (31) s tím, že uvedeným protiiontem je místo sodíku pyridinium.

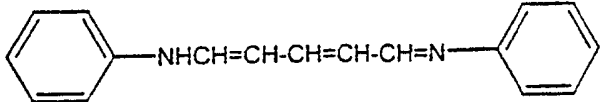
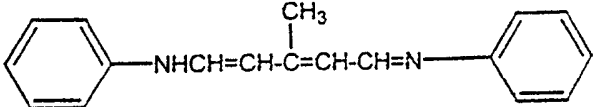
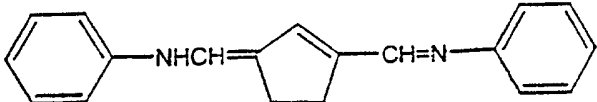
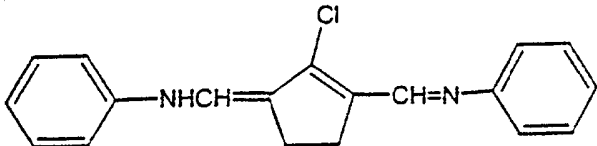
Způsoby syntézy sloučenin, které jsou jako aktivní složka přítomné ve fluorescenčním kontrastním činidle vyzařujícím záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu, jsou popsány v níže uvedených příkladech provedení předmětného vynálezu.

Níže popsané způsoby syntézy většinou zahrnují reakce heterocyklických kvartérních solí uvedených v tabulce 1 a dianylových sloučenin uvedených v tabulkách 2 a 3.

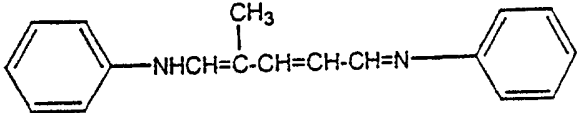
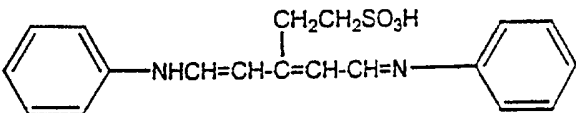
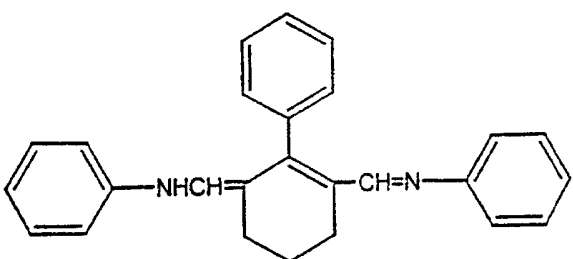
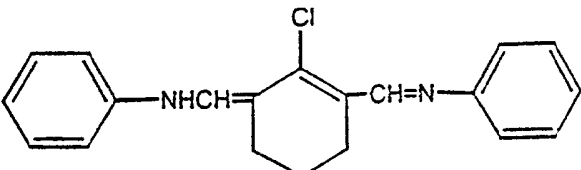
Tabulka 1 Heterocyklické kvartérní soli

Označení	Strukturní vzorec (registrační číslo v Chemical Abstracts (CA))	Zdroj/Způsob syntézy
Q1	 (138913-76-5)	Stejným způsobem jako Q2, odpovídající derivát indoleninu reaguje s butansultonem
Q2	 (113995-56-5)	JP-A 63-55544 EP 251 282
Q3	 (76588-81-3)	JP-A 2-233658 CA 114:122053
Q4	 (183272-36-8)	Stejným způsobem jako Q3, odpovídající derivát indoleninu reaguje s kyselinou 2-bromethansulfonovou

Tabulka 2 Dianylové sloučeniny-1

Označení	Strukturní vzorec (registrační číslo v Chemical Abstracts (CA))	Zdroj/Způsob syntézy
A1	 (1497-49-0) • HCl	Reakční činidlo komerčně dostupné například od firmy Aldrich
A2	 (1979-58-4) • HCl	JP-A 8-295658 CA 126:90721
A3	 (53019-66-2) • HCl	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034
A4	 (63856-99-5) • HCl	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

Tabulka 3 Dianylové sloučeniny-2

Označení	Strukturní vzorec (registrační číslo v Chemical Abstracts (CA))	Zdroj/Způsob syntézy
A5	 (77146-76-0) • HCl	Nukleofil'nye Reacts. Karbonil'nykh Soedin (1982), 52-53 CA 101:130179
A6	 (125577-71-1) • HCl	Ger Offem, DE 2928184 CA 94:176696
A7	 (56709-94-5) • HCl	Zh. Org. Khim., 18(10) 2176-9 (1982) CA 98:73808
A8	 (63857-00-1) • HCl	Zh. Org. Khim., 13(6) 1189-92 (1977) CA 87:102034

Přehled obrázků na výkresech

Na obrázcích 1 až 4 jsou fotografie ukazující fluorescenční obrazy získané 24 hodin po podání příslušné sloučeniny, kterou byla A: indokyaninová zeleň (ICG) (5 miligramů/kilogram), B: NK-1967 (5 miligramů/kilogram), C: sloučenina (29) (5 miligramů/kilogram) a D: sloučenina (6) K sůl (5 miligramů/kilogram).

Na obrázku 5 je fotografie ukazující fluorescenční obraz získaný 24 hodin po podání sloučeniny, kterou byla E: sloučenina (31) (5 miligramů/kilogram).

Na obrázcích 6 až 9 jsou fotografie ukazující fluorescenční obrazy získané 20 sekund a 5 minut po podání (5 miligramů/kilogram) příslušné sloučeniny, kterou byla A: indokyaninová zeleň (ICG) (20 sekund po podání), B: indokyaninová zeleň (ICG) (5 minut po podání), C: sloučenina (29) (20 sekund po podání) a D: sloučenina (29) (5 minut po podání).

Na obrázku 10 je graf znázorňující koncentraci příslušné sloučeniny v plazmě po 0,5, 1, 4 a 24 hodinách od podání, kde na osu y je vynesena koncentrace (v mikrogramech/mililitr) příslušné sloučeniny pro každý časový okamžik.

Na obrázku 11 je znázorněno infračervené absorpční spektrum sloučeniny (29).

Na obrázku 12 je znázorněno infračervené absorpční spektrum sloučeniny (31).

Na obrázku 13 je znázorněno infračervené absorpční spektrum sloučeniny (6).

Na obrázku 14 je znázorněno infračervené absorpční spektrum sloučeniny (54).

Příklady provedení vynálezu

V následujících příkladech jsou jednotlivé sloučeniny označovány pro lepší přehlednost stejně jako v tabulce 1 až 3 (např. A1, Q1 apod.).

Příklad 1

Syntéza sloučeniny (29)

K 5 gramům heterocyklické kvartérní soli Q1 bylo přidáno 100 mililitrů methanolu, 25 mililitrů N,N-dimethylformamidu, 5,6 mililitru triethylaminu, 1,83 gramu dianylové sloučeniny A1 a 3 mililitry anhydridu kyseliny octové a tato směs byla 4 hodiny míchána při teplotě místnosti. Ke směsi byly přidány 2,2 mililitru triethylaminu a 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a reakční směs byla míchána další 3 hodiny při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 2 gramů octanu sodného v 15 mililitrech methanolu, výsledná směs byla míchána 1 hodinu při teplotě místnosti a byly z ní odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K 3,5 gramu získaných surových krystalů bylo pro jejich rozpuštění přidáno 20 mililitrů vody. K roztoku byl přidán 1 gram octanu sodného a 30 mililitrů methanolu a směs byla 1 hodinu míchána. Vzniklé krystaly byly

odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž byly získány 3 gramy sloučeniny (29).

Získaná sloučenina (29) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 780 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 243 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 802 nanometry.

Bylo měřeno infračervené absorpční spektrum získané sloučeniny (29), které bylo měřeno v tabletě bromidu draselného v infračerveném spektrometru s Fourierovou transformací (VALOR-III, výrobek firmy JASCO). Byly detekovány níže uvedené signály. Tvar spektra je zobrazen na obrázku 11.
IČ (max(KBr)): 1414, 1086, 1037, 995, 889 cm^{-1}

Příklad 2

Syntéza sloučeniny (34)

K 2,13 gramu heterocyklické kvartérní soli Q2 byl přidáno 20 mililitrů methanolu, směs byla ochlazená na teplotu 10 °C a bylo k ní přidáno 0,75 gramu dianylové sloučeniny A2, 4 mililitry triethylaminu a 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a výsledná směs byla 20 minut míchána. Poté byly do směsi přidány 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a směs byla míchána další 4 hodiny při teplotě 10 °C. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 2 gramů octanu sodného v malém množství methanolu. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány a promyty malým množstvím methanolu. K získaným surovým krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 7 mililitrů vody. K roztoku bylo přidáno 7 mililitrů methanolu, čímž došlo k vysrážení krystalů.

Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 1,2 gramu sloučeniny (34).

Získaná sloučenina (34) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 794 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 176 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 812 nanometrů.

Příklad 3

Syntéza sloučeniny (6)

K 9,5 gramu heterocyklické kvartérní soli Q3 bylo přidáno 50 mililitrů methanolu, 7 mililitrů triethylaminu, 3,1 gramu dianylové sloučeniny A3 a 3,9 mililitru anhydridu kyseliny octové a tato směs byla 7 hodin míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 5 gramů octanu sodného v malém množství methanolu, výsledná směs byla ponechána stát přes noc a byly z ní odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 30 mililitrů vody. K roztoku byly přidány 2 gramy octanu sodného a 30 mililitrů methanolu. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž byla získána sloučenina (6).

Příklad 4

Syntéza sloučeniny (45)

K 4,8 gramu heterocyklické kvartérní soli Q3 bylo přidáno 50 mililitrů methanolu, 4 mililitry triethylaminu, 1,7 gramu dianylové sloučeniny A4 a 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a tato směs byla 3 hodiny míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál, k filtrátu byl přidán roztok 4 gramů octanu sodného v malém množství methanolu a byly z něj odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 10 mililitrů vody. K roztoku bylo přidáno 10 mililitrů methanolu. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny na vzduchu, čímž bylo získáno 1,6 gramu sloučeniny, která byla stejná jako sloučenina (45) s tím rozdílem, že substituentem methinové sloučeniny byl atom chloru (-Cl) místo skupiny $-SCH_2CH_2SO_3Na$.

Shora uvedený stupeň byl zopakován, čímž bylo získáno 4,2 gramu uvedené sloučeniny. K této sloučenině bylo přidáno 30 mililitrů vody, 1,2 mililitru triethylaminu a 0,8 gramu 2-merkptoethansulfonátu sodného a výsledná směs byla 4 hodiny míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 2 gramů octanu sodného v malém množství vody a byly z něj odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty 20 mililitry methanolu a usušeny na vzduchu, čímž bylo získáno 2,3 gramu sloučeniny (45)

Získaná sloučenina (45) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorpance (H_2O): 815 nanometrů
Molární absorpční koeficient (H_2O): 196 000
Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření
(H_2O): 827 nanometrů

Příklad 5

Syntéza sloučeniny (2)

K 4,7 gramu heterocyklické kvartérní soli Q3 bylo přidáno 25 mililitrů methanolu, 2,8 mililitru triethylaminu, 1,5 gramu dianylové sloučeniny A5 a 2,4 mililitru anhydridu kyseliny octové a tato směs byla 1 hodinu míchána při teplotě místnosti. K reakční směsi bylo přidáno 3,5 mililitru triethylaminu a 1,5 mililitru anhydridu kyseliny octové a směs byla míchána při teplotě místnosti 3,5 hodiny. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 3 gramů octanu sodného v malém množství methanolu, tato směs byla míchána 1 hodinu při teplotě místnosti a byly z ní odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 15 mililitrů vody. K roztoku bylo přidáno 15 mililitrů methanolu, vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž byla získána sloučenina (2).

Příklad 6

Syntéza sloučeniny (43)

K 3,75 gramu heterocyklické kvartérní soli Q3 bylo přidáno 25 mililitrů methanolu, 3,5 mililitru triethylaminu, 1,95 gramu dianylové sloučeniny A6 a 2,4 mililitru anhydridu

kyseliny octové a tato směs byla 1 hodinu míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 3,9 gramu octanu sodného v malém množství methanolu, směs byla míchána 1 hodinu při teplotě místnosti a byly z ní odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 10 mililitrů vody. K roztoku byly přidány 2 gramy octanu sodného a 10 mililitrů methanolu. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 1,8 gramu sloučeniny (43).

Získaná sloučenina (43) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 773 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 204 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 789 nanometrů

Příklad 7

Syntéza sloučeniny (4)

K 3,5 gramu heterocyklické kvartérní soli Q3 bylo přidáno 20 mililitrů methanolu, 3,5 mililitru triethylaminu, 1,2 gramu dianylové sloučeniny A7 a 1,9 mililitru anhydridu kyseliny octové a tato směs byla 10 hodin míchána při teplotě místnosti a poté ponechána stát přes noc. Směs byla míchána 5 hodin při teplotě 50 °C, byly k ní přidány 2 mililitry vody a ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál. K filtrátu byl přidán roztok 5 gramů octanu sodného v malém množství methanolu, směs byla míchána 30 minut při teplotě místnosti a byly z ní odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým

množstvím methanolu a usušeny, čímž byla získána sloučenina (4).

Příklad 8

Syntéza sloučeniny (31)

K 3,5 gramu heterocyklické kvartérní soli Q4 bylo postupně za neustálého míchání přidáno 35 mililitrů methanolu, 3,5 mililitru triethylaminu, 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a 1,8 gramu dianylové sloučeniny A2 a tato směs byla dále míchána 1 hodinu při teplotě místnosti. Ke směsi byly přidány 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a byla 5 hodin míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál a k filtrátu byl přidán roztok 4 gramů octanu sodného v malém množství methanolu a byly z něj odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo pro jejich rozpuštění přidáno 10 mililitrů vody. K roztoku bylo přidáno 10 mililitrů methanolu a směs byla míchána 2 hodiny při teplotě místnosti. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 1,3 gramu sloučeniny (31).

Získaná sloučenina (31) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorpce (H_2O): 755 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 228 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 774 nanometrů

Bylo měřeno infračervené absorpční spektrum získané sloučeniny (31), které bylo měřeno v tabletě bromidu

draselného v infračerveném spektrometru s Fourierovou transformací (VALOR-III, výrobek firmy JASCO). Byly detekovány níže uvedené signály. Tvar spektra je zobrazen na obrázku 12. IČ (KBr): 1518, 1183, 1149, 1111, 995 cm^{-1}

Příklad 9

Syntéza sloučeniny (41)

K 12 gramům heterocyklické kvartérní soli Q1 bylo přidáno 120 mililitrů methanolu, 13,6 mililitru triethylaminu, 4,4 gramu dianylové sloučeniny A8 a 2,4 mililitru anhydridu kyseliny octové a tato směs byla míchána 30 minut. Ke směsi byly přidány 2,4 mililitru anhydridu kyseliny octové, byla 1,5 hodiny míchána a poté k ní byly přidány další 2,4 mililitru anhydridu kyseliny octové a byla míchána 6 hodin při teplotě místnosti. Do reakční směsi byl přidán další 1 gram heterocyklické kvartérní soli Q1, 3 mililitry triethylaminu a 3 mililitry anhydridu kyseliny octové a směs byla míchána další 2 hodiny při teplotě místnosti a následně ponechána stát přes noc. Ke směsi bylo přidáno 5 gramů octanu sodného a vzniklé krystaly byly odfiltrovány a promyty malým množstvím methanolu. K získaným surovým krystalům bylo přidáno 200 mililitrů vody a byl odfiltrován nerozpustný materiál. K filtrátu bylo přidáno 10 gramů octanu sodného a byly z něj odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. K získaným krystalům bylo přidáno 200 mililitrů vody a 10 mililitrů triethylaminu a roztok 10 gramů octanu sodného ve 100 mililitrech methanolu, čímž došlo postupně k rozpuštění a opětovnému vysrážení krystalů. Tento stupeň byl dvakrát opakován. Vzniklé krystaly byly

odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 9,7 gramu sloučeniny (41). Získaná sloučenina (41) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 811 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 230 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 822 nanometrů

Příklad 10

Syntéza sloučeniny (3)

Sloučenina (3) byla získána reakcí heterocyklické kvartérní soli Q3 s odpovídající dianylovou sloučeninou způsobem popsáním v příkladu 5.

Příklad 11

Stejným způsobem jako při syntéze sloučeniny (29) v příkladu 1, avšak s tím, že místo 2 gramů octanu sodného byly použity 2 gramy octanu draselného, byla připravena sloučenina shodná se sloučeninou (29) až na to, že protiiontem byl místo sodného kationtu draselný kation. V dalším textu je tato sloučenina označována jako sloučenina (29) K sůl. Získaná sloučenina (29) K sůl barvila při plamenové zkoušce plamen na purpurově fialovou barvu.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 780 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 254 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 800 nanometrů

Dosud popsané způsoby syntézy ostatních sloučenin byly upraveny způsobem popsaným v tomto příkladu, takže byly získány všechny předešlé sloučeniny, ve kterých byl sodný protiion nahrazen draselným protiionem.

Tyto sloučeniny obsahující draselný protiion jsou od shora uvedených sloučenin odlišeny přidáním označení „K sůl“ za odpovídající číslo sloučeniny.

Příklad 12

Stejným způsobem jako v příkladu 11 byla připravena sloučenina (6) K sůl.

Získaná sloučenina (6) K sůl barvila při plamenové zkoušce plamen na purpurově fialovou barvu.

Maximální vlnová délka absorpce (H_2O): 788 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 226 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 806 nanometrů

Příklad 13

Stejným způsobem jako v příkladu 11 byla připravena sloučenina (2) K sůl.

Získaná sloučenina (2) K sůl barvila při plamenové zkoušce plamen na purpurově fialovou barvu.

Maximální vlnová délka absorpce (H_2O): 743 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 266 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 762 nanometrů

Příklad 14

Stejným způsobem jako v příkladu 11 byla připravena sloučenina (4) K sůl.
Získaná sloučenina (4) K sůl barvila při plamenové zkoušce plamen na purpurově fialovou barvu.
Maximální vlnová délka absorpce (H_2O): 753 nanometrů
Molární absorpční koeficient (H_2O): 212 000
Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 767 nanometrů

Příklad 15

Stejným způsobem jako v příkladu 11 byla připravena sloučenina (3) K sůl.
Získaná sloučenina (3) K sůl barvila při plamenové zkoušce plamen na purpurově fialovou barvu.
Maximální vlnová délka absorpce (H_2O): 751 nanometrů
Molární absorpční koeficient (H_2O): 241 000
Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 767 nanometrů

Příklad 16

50 miligramů sloučeniny (6) K soli bylo rozpuštěno v malém množství vody a ponecháno projít skrz iontoměničovou pryskyřici, čímž došlo k výměně draslíku v uvedené sloučenině (6) K soli za proton. K tomuto produktu byl přidán nasycený roztok octanu sodného v methanolu, čímž došlo k vysrážení krystalů. Tento postup byl dvakrát opakován. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím

methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 32 miligramů sloučeniny (6).

Získaná sloučenina (6) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Bylo měřeno infračervené absorpční spektrum získané sloučeniny (6), které bylo měřeno v tabletě bromidu draselného v infračerveném spektrometru s Fourierovou transformací (VALOR-III, výrobek firmy JASCO). Byly detekovány níže uvedené signály. Tvar spektra je zobrazen na obrázku 13.

IČ (max(KBr)): 1395, 1372, 1188, 1102, 1020 cm^{-1}

Příklad 17

Syntéza sloučeniny (54)

K 3,5 gramu heterocyklické kvartérní soli Q4 bylo postupně za neustálého míchání přidáno 20 mililitrů methanolu, 3,5 mililitru triethylaminu, 2 mililitry anhydridu kyseliny octové a 1,4 gramu dianylové sloučeniny A1 a tato směs byla dále míchána 20 minut. Ke směsi byl přidán 1 mililitr anhydridu kyseliny octové a byla 1,5 hodiny míchána při teplotě místnosti. Ze směsi byl odfiltrován nerozpustný materiál, k filtrátu byl přidán roztok 4 gramů octanu sodného v malém množství methanolu a byly z něj odfiltrovány vzniklé krystaly, které byly promyty malým množstvím methanolu. Získané krystaly byly rozpuštěny v malém množství vody. Roztok byl poté zředěn 10 mililitry methanolu a směs byla míchána 1 hodinu při teplotě místnosti. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty malým množstvím methanolu a usušeny, čímž bylo získáno 1,5 gramu sloučeniny (54).

Získaná sloučenina (54) barvila při plamenové zkoušce plamen na žluto.

Maximální vlnová délka absorbance (H_2O): 743 nanometrů

Molární absorpční koeficient (H_2O): 244 000

Maximální vlnová délka vyzařovaného fluorescenčního záření (H_2O): 766 nanometrů

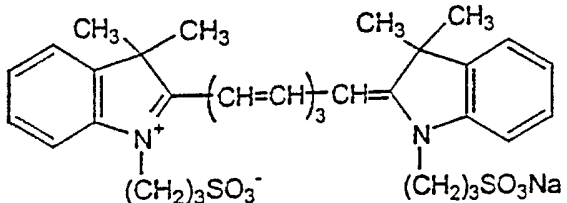
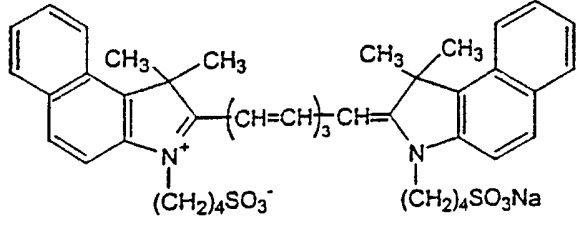
Bylo měřeno infračervené absorpční spektrum získané sloučeniny (54), které bylo měřeno v tabletě bromidu draselného v infračerveném spektrometru s Fourierovou transformací (VALOR-III, výrobek firmy JASCO). Byly detekovány níže uvedené signály. Tvar spektra je zobrazen na obrázku 14. IČ ($\max(KBr)$): 1511, 1421, 1099, 1004, 926 cm^{-1}

Experimentální příklad 1

Byly stanoveny rozdělovací koeficienty ($\log P_o/w$) pro systém n-butanol/voda, a to pro sloučeninu (29), sloučeninu (43), sloučeninu (45), sloučeninu (31), sloučeninu (3) K sůl, sloučeninu (11) [dostupnou od společnosti Nippon Kankoh-Shikiso Kenkyusho CO., LTD pod označením NK-3261], sloučeninu (6) K sůl, sloučeninu (2) K sůl, sloučeninu (4) K sůl, sloučeninu (34) a pro sloučeninu (54).

Jako srovnávací sloučenina byla použita sloučenina označovaná NK-1967 (dostupná od společnosti Nippon Kankoh-Shikiso Kenkyusho CO., LTD) a indokyaninová zeleň (ICG) (dostupná od společnosti Tokyo Kasei Kogyo) obsahující ve své struktuře pouze dvě sulfonové skupiny. Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 4.

Tabulka 4

Sloučenina	Počet sulfonových skupin	log Po/w (butanol/voda)
Sloučenina (29)	6	-2,00 nebo méně
Sloučenina (43)	5	-2,00 nebo méně
Sloučenina (45)	5	-2,00 nebo méně
Sloučenina (31)	4	-2,00 nebo méně
Sloučenina (3) K sůl	4	-2,00 nebo méně
Sloučenina (11) (NK-3261)	4	-2,00 nebo méně
Sloučenina (6) K sůl	4	-2,00 nebo méně
Sloučenina (2) K sůl	4	-2,00 nebo méně
Sloučenina (4) K sůl	4	-1,51
Sloučenina (34)	4	-1,49
Sloučenina (54)	4	-2,00 nebo méně
NK-1967 	2	0,34
ICG 	2	1,41

Experimentální příklad 2

Test fluorescenčního zobrazování (1)

Kousky nádorové tkáně z myšího karcinomu střev (střevní karcinom 26) byly podkožně transplantovány do levého prsa holé myši BALB/c (která byla 5 týdnů stará, získaná od společnosti Clea Japan, Inc.). Po deseti dnech, kdy nádor narostl na průměr přibližně 8 milimetrů, byly myši podrobeny uvedenému testu.

Jako zdroj záření vyvolávajícího fluorescenční záření byl použit titanový safírový laser. Testované myši byly jednotně vystaveny laserovému záření s použitím světelného vodiče kruhového typu (dostupného od společnosti Sumita Optical Glass Co.), ve kterém nedocházelo k většímu než 10 procentnímu rozptylu záření. Výkon záření byl nastaven tak, že jeho hodnota v blízkosti povrchu kůže myši byla přibližně 40 mikrowattů/cm². Fluorescenční záření bylo excitováno při maximální excitační vlnové délce každé sloučeniny a fluorescenční záření vyzařované z myši bylo detekováno a fotografováno skrz optický filtr zachycující krátkovlnné záření (IR84, IR86, IR88, Fuji Photo Film CO., LTD.) CCD kamerou (C4880, Hamamatsu Photonics K. K.). Uvedené optické filtry byly voleny tak, aby se vždy shodovaly s excitační vlnovou délkou konkrétní sloučeniny. Doba ozařování byla nastavena v závislosti na intenzitě fluorescence každé sloučeniny.

Při testu byly použity následující sloučeniny podle předmětného vynálezu: sloučenina (29), sloučenina (31) a

sloučenina (6) K sůl. A jako srovnávací sloučenina byla použita sloučenina NK-1967 a indokyaninová zeleň (ICG), které ve své struktuře obsahovaly pouze dvě sulfonové skupiny. Každá z testovaných sloučenin byla rozpuštěna v destilované vodě (tak aby koncentrace vzniklého roztoku byla 0,5 miligramu/mililitr) a podána myši ocasní žílou. Velikost dávky byla v případě sloučeniny (31), sloučeniny (6) K soli, sloučeniny NK-1967 a indokyaninové zeleně (ICG) 5,0 miligramů/kilogram a v případě sloučeniny (29) 0,5 miligramu/kilogram. Po uplynutí 24 hodin od podání uvedených sloučenin byly myši uspány diethyletherem a byly vyfotografovány fluorescenční obrazy celých těl jednotlivých myší. Získané výsledky jsou zobrazeny na obrázcích 1 až 5.

Při použití sloučeniny (29), která měla benzotrikarbokyaninovou strukturu a obsahovala ve své struktuře šest sulfonových skupin a sloučeniny (6) K soli a sloučeniny (31), které obě měly trikarbokyaninovou strukturu a obsahovaly ve své struktuře čtyři sulfonové skupiny, byly získány zřetelně jasnější obrazy nádoru v porovnání se srovnávacími sloučeninami (NK-1967, která měla benzotrikarbokyaninovou strukturu, a indokyaninovou zelení (ICG), která měla trikarbokyaninovou strukturu), které obsahovaly ve své struktuře dvě sulfonové skupiny. Zejména při použití sloučeniny (29) bylo možné jasně odlišit nádor od ostatní tkáně, a to i při podání nízké dávky a tato sloučenina tedy byla označena jako zvláště účinná.

Experimentální příklad 3

Test fluorescenčního zobrazování (2)

Při tomto testu byly opět použity holé myši a sloučenina (29) podle předmětného vynálezu a srovnávací sloučenina, kterou byla indokyaninová zeleň (ICG). Uvedené sloučeniny byly intravenózně injektovány ocasní žílou myším, které byly pod neustálým vlivem sevofluranové inhalační anestezie, přičemž velikost dávky jednotlivých sloučenin byla 5,0 miligramů/kilogram. Ve stejném okamžiku bylo započato s občasným fotografováním fluorescenčních obrazů. Aby bylo možné fotografovat fluorescenční obrazy, byly myši vystaveny excitačnímu laserovému záření a fluorescenční záření bylo extrahováno pomocí optického filtru, přičemž doba ozařování byla 1 sekunda. Po 20 sekundách od podání uvedených sloučenin již došlo ke zřetelnému zobrazení krevních cév. Fluorescenční obrazy byly fotografovány až do uplynutí 5 minut od podání jednotlivých sloučenin. Na obrázcích 6 až 9 jsou zobrazeny fluorescenční obrazy celých těl myši 20 sekund a 5 minut po podání jednotlivých sloučenin.

V případě použití indokyaninové zeleně (ICG) již nebylo možné po 5 minutách od podání kontrastně zobrazit krevní cévy, zatímco v případě použití sloučeniny (29) bylo možné zobrazovat krevní cévy déle než v případě použití indokyaninové zeleně (ICG).

Experimentální příklad 4

Doba setrvání jednotlivých sloučenin v krevních cévách

Stejným způsobem jako v experimentálním příkladu 2 byly kousky nádorové tkáně transplantovány myším CDF₁ (5 týdnů staré samice, získané od společnosti Japan SLC, Inc.) a po přibližně 2 týdnech, kdy se průměr nádoru zvětšil na přibližně 1 centimetr, byly myši podrobeny testu.

Při testu byly použity následující sloučeniny podle předmětného vynálezu:

sloučenina (29) K sůl a sloučenina (41) K sůl, které měly benzotrikarbokyaninovou strukturu a obsahovaly ve své struktuře 6 sulfonových skupin; sloučenina (6) K sůl, sloučenina (4) K sůl, sloučenina (45) K sůl, sloučenina (31), sloučenina (31) K sůl, sloučenina (3) K sůl, sloučenina (2) K sůl, sloučenina (43) K sůl a sloučenina (11), které měly trikarbokyaninovou strukturu a obsahovaly ve své struktuře 4 až 5 sulfonových skupin. Dále byla při tomto testu použita jako srovnávací sloučenina indokyaninová zeleň (ICG) a sloučenina NK-1967. Každá testovaná sloučenina byla před použitím rozpuštěna v destilované vodě tak, aby její výsledná koncentrace v roztoku byla 0,5 miligramu/mililitr. Jednotlivé roztoky byly uvedeným myším podávány ocasní žílou, přičemž velikost dávky každé sloučeniny byla 5,0 miligramů/kilogram. Jednotlivým myším byla 0,5, 1, 4 a 24 hodin po podání uvedených sloučenin odebrána krev, ze které byla odstředěním získána plazma.

Intenzita fluorescence plazmy byla měřena fluorescenčním spektrometrem (typ RF 5300 PC, výrobce SHIMADZU CORPORATION).

Pro každou sloučeninu byla sestavena kalibrační křivka, jejíž pomocí byly vypočteny koncentrace jednotlivých sloučenin v plazmě. Získané výsledky jsou zobrazeny na obrázku 10.

Bylo zjištěno, že sloučeniny podle předmětného vynálezu zůstávaly v plazmě ve zvýšené koncentraci déle.

Experimentální příklad 5

Akutní toxicita

Bylo studováno snížení toxicity sloučenin zavedením sulfonových skupin do jejich struktur a snížení toxicity přeměnou uvedených sloučenin na jejich sodné soli.

Byly testovány sloučeniny uvedené v tabulce 5

Každá testovaná sloučenina byla rozpuštěna v destilované vodě za vzniku roztoku, který byl za plného vědomí intravenózně injektován ocasní žílou myším. Během tří dnů po podání jednotlivých roztoků byly myši sledovány a byla stanovena akutní toxicita jednotlivých sloučenin [LD_{50} (miligram/kilogram tělesné hmotnosti)]. Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka 5

Počet sulfonových skupin	Sloučenina	LD ₅₀ (miligram/kilogram tělesné hmotnosti)
Tři nebo více	sloučenina (11) K sůl	350
	sloučenina (11)	1980
	sloučenina (31) K sůl	350
	sloučenina (31)	>3550
	sloučenina (31) Ca sůl	2000
	sloučenina (31) pyridiniová sůl	1000 až 2000
	sloučenina (45) K sůl	550
	sloučenina (45)	1100 až 1220
	sloučenina (43) K sůl	300 až 350
	sloučenina (43)	1630
	sloučenina (41) K sůl	470
	sloučenina (41)	>1010
	sloučenina (29) K sůl	470
	sloučenina (29)	>1010
	sloučenina (54)	>5000
	sloučenina (6) K sůl	350
	sloučenina (3) K sůl	530
	sloučenina (4) K sůl	450
	sloučenina (2) K sůl	610
Dvě nebo méně	ICG	70
	NK-1967	20

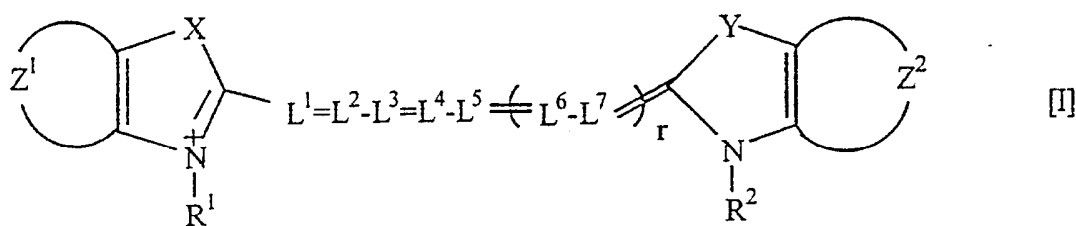
Ze zjištěných výsledků vyplývá, že zvýšením počtu sulfonových skupin obsažených ve struktuře jednotlivých

sloučenin nebo převedením na odpovídající sodné soli docházelo k výraznému snížení akutní toxicity.

Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle předmětného vynálezu je excitováno excitačním zářením a vyzařuje fluorescenční záření v blízké infračervené oblasti, které velice snadno prochází skrz biologické tkáně, čímž byla umožněna detekce lézí v hlubokých částech živého těla. Dále je kontrastní činidlo podle předmětného vynálezu velice dobře rozpustné ve vodě a je velice málo toxické, takže je možné jej použít bez nebezpečí pro zkoumaný objekt.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké oblasti infračerveného záření **vyznačující se tím, že** zahrnuje sloučeninu obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin, kterou lze znázornit obecným vzorcem [I]



kde

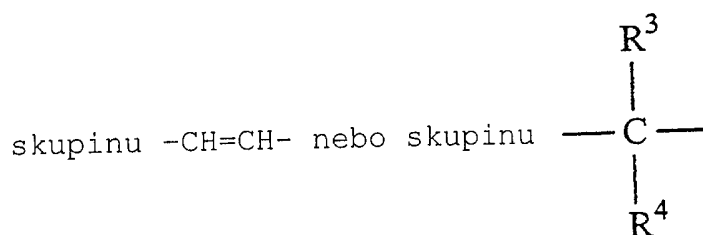
R^1 a R^2 jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny;

Z^1 a Z^2 jsou nekovové atomy nezbytné pro vytvoření substituované nebo nesubstituované kondenzované benzoskupiny nebo kondenzované naftoskupiny;

r je číslo 0, 1 nebo 2;

$L^1 - L^7$ jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované methinové skupiny, přičemž pokud r je 2, skupiny L^6 a L^7 mohou být přítomny dvakrát a jsou stejné nebo se liší; a

X a Y jsou nezávisle na sobě vybrané ze skupiny zahrnující skupinu $-O-$, skupinu $-S-$,



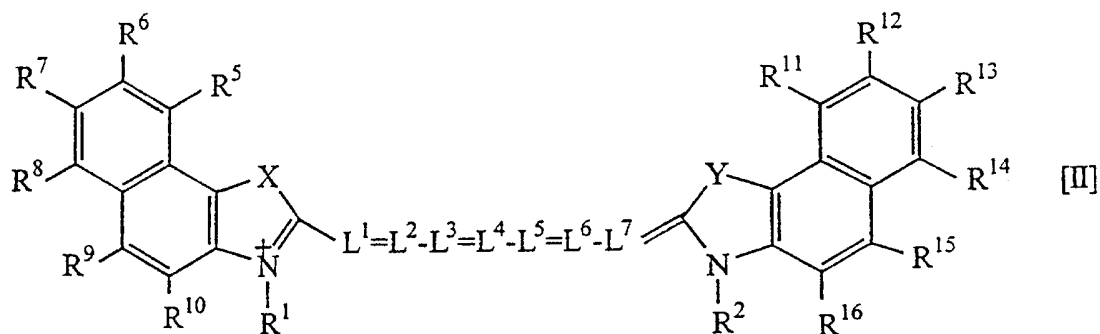
kde

R^3 a R^4 jsou nezávisle na sobě substituované nebo nesubstituované alkylové skupiny,

nebo z farmaceutického hlediska přijatelnou sůl uvedené sloučeniny.

2. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle nároku **1 vyznačující se tím, že** ve své struktuře neobsahuje karboxylovou skupinu.
3. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle nároku **1** nebo **2 vyznačující se tím, že** v obecném vzorci [I] je $r = 1$.
4. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků **1 až 3 vyznačující se tím, že** ve své struktuře obsahuje čtyři nebo více sulfonových skupin.
5. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků **1 až 4 vyznačující se tím, že** ve své struktuře obsahuje deset nebo méně sulfonových skupin.

6. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků 1 až 4 **vyznačující se tím, že** ve své struktuře obsahuje osm nebo méně sulfonových skupin.
7. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků 1 až 6 **vyznačující se tím, že** uvedenou z farmaceutického hlediska přijatelnou solí je sodná sůl.
8. Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků 1 až 7 pro zobrazování nádoru.
9. Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle kteréhokoli z nároků 1 až 7 pro angiografii.
10. Sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [II] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin



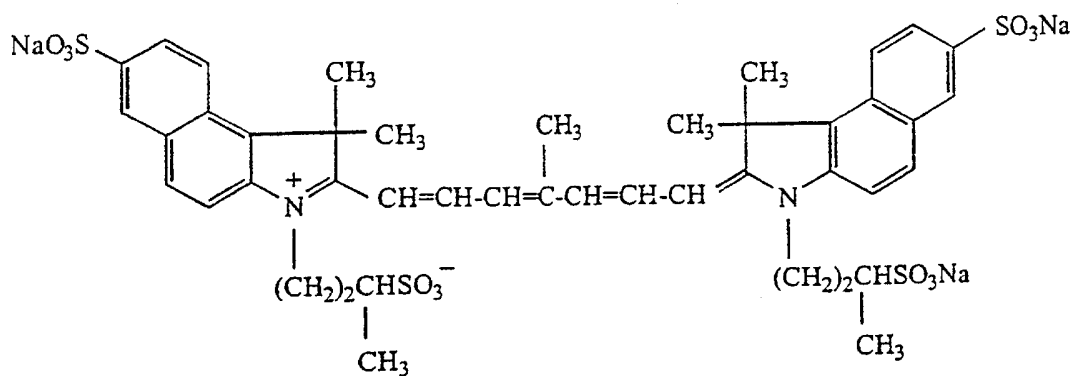
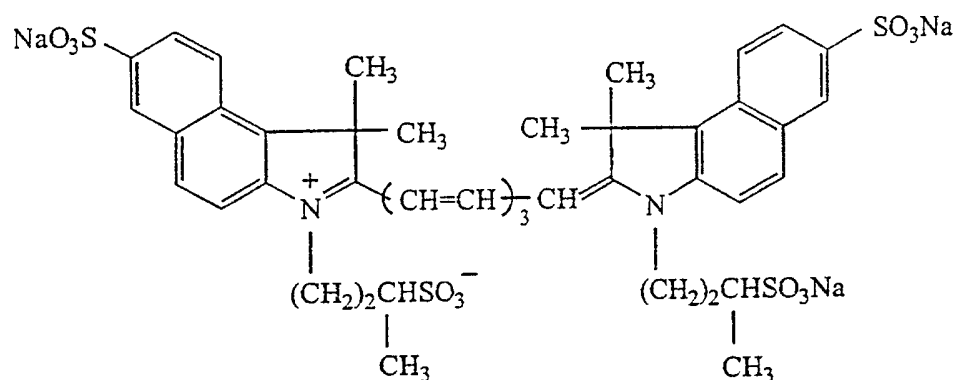
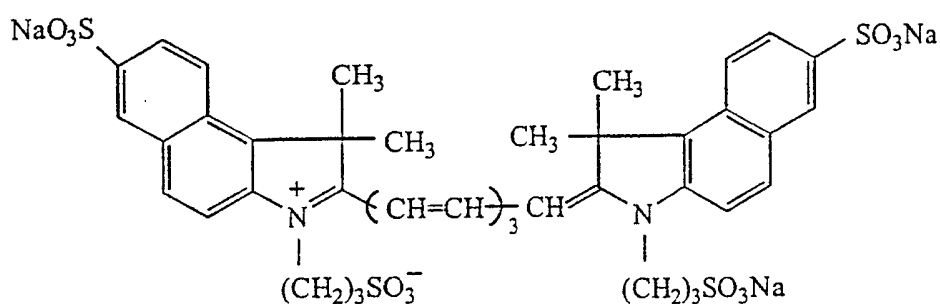
kde

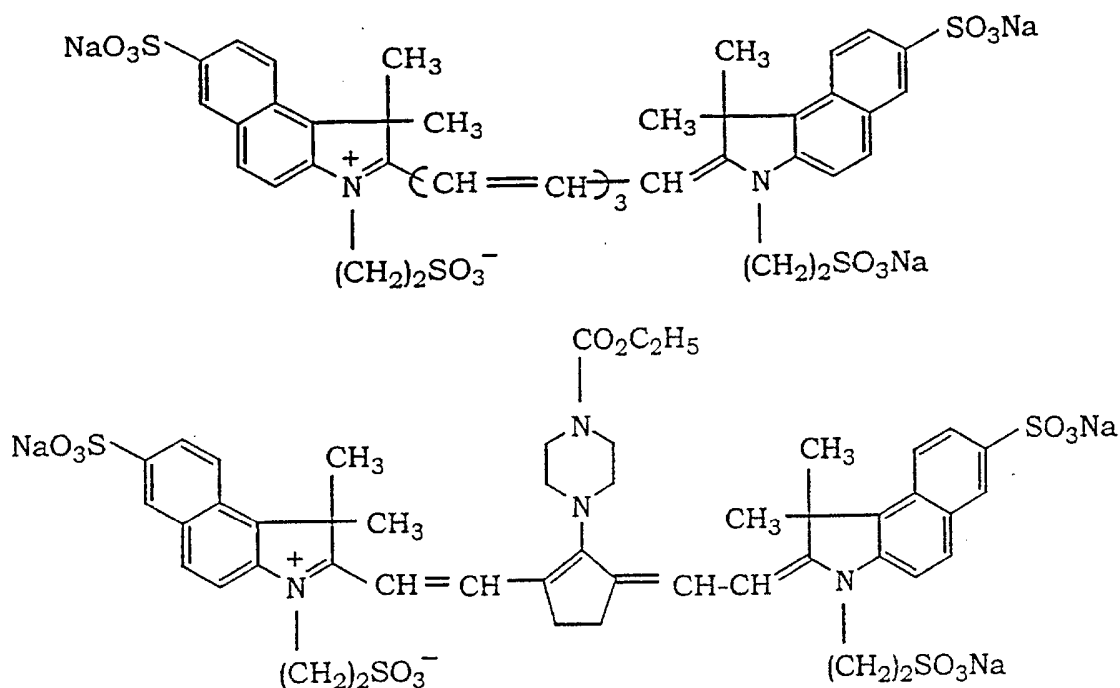
skupiny R^1 , R^2 , $L^1 - L^7$, X a Y mají shora uvedený význam;

a

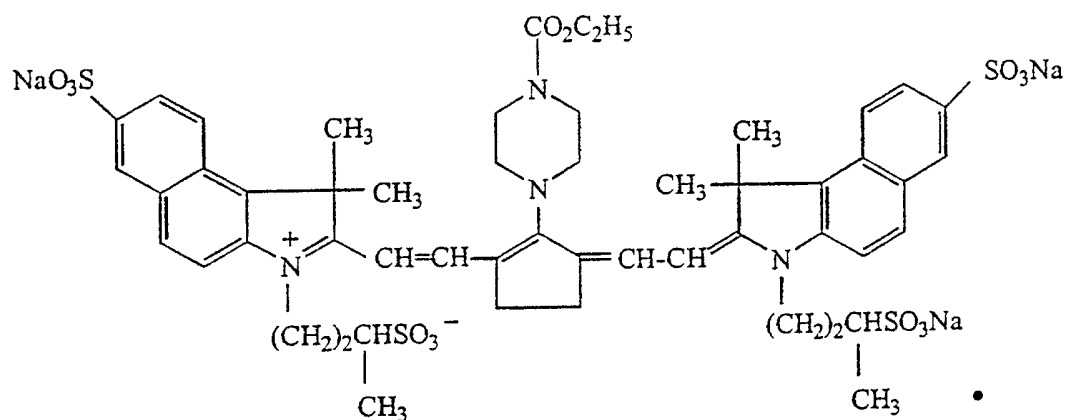
R^5 až R^{16} jsou nezávisle na sobě atomy vodíku, sulfonové skupiny, karboxylové skupiny, hydroxylové skupiny, alkyl(sulfoalkyl)aminoskupiny, bis(sulfoalkyl)aminoskupiny, sulfoalkoxylové skupiny, (sulfoalkyl)sulfonylové skupiny nebo (sulfoalkyl)aminosulfonylové skupiny,

s výjimkou těchto sloučenin:

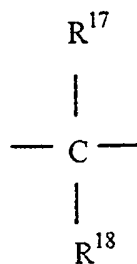




a



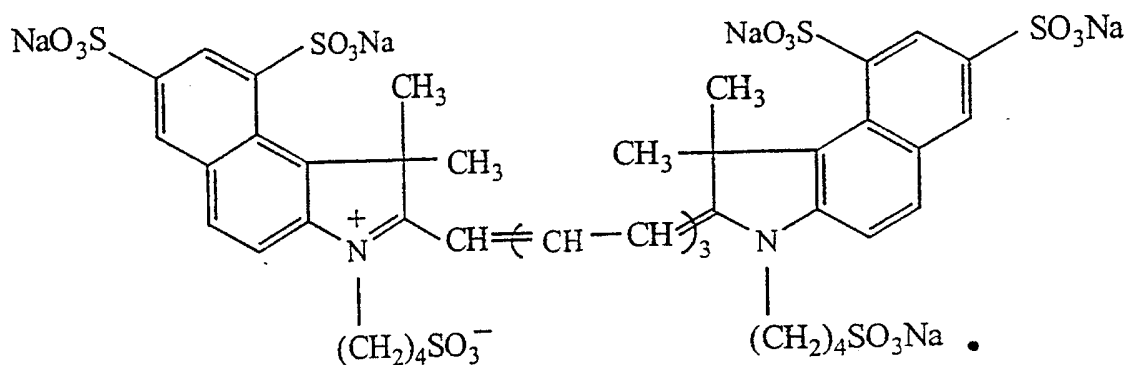
11. Sodná sůl sloučeniny podle nároku 10, kde skupiny R^1 a R^2 v obecném vzorci [II] jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou a skupiny X a Y jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce



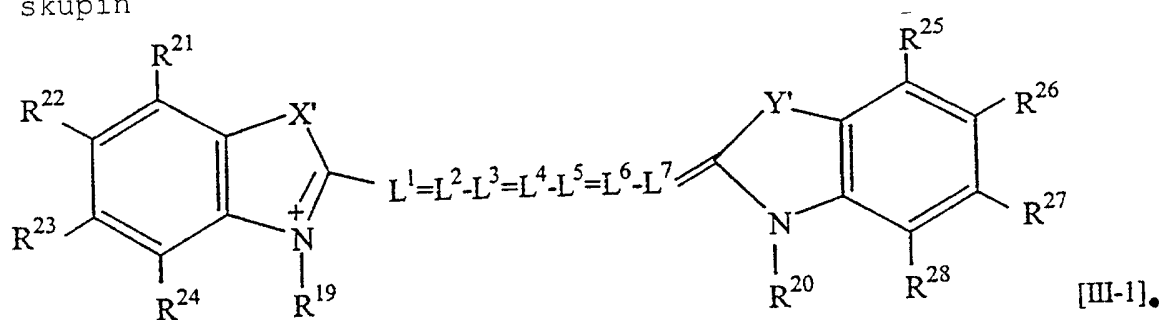
kde

R^{17} a R^{18} jsou nesubstituované nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku.

12. Sodná sůl podle nároku 11 vzorce



13. Sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-1] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin



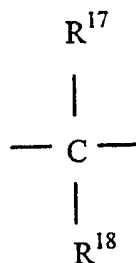
kde

skupiny $\text{L}^1 - \text{L}^7$ mají shora uvedený význam;

R^{19} a R^{20} jsou nižší alkylové skupiny obsahující od 1 do 5 atomů uhlíku substituované sulfonovou skupinou;

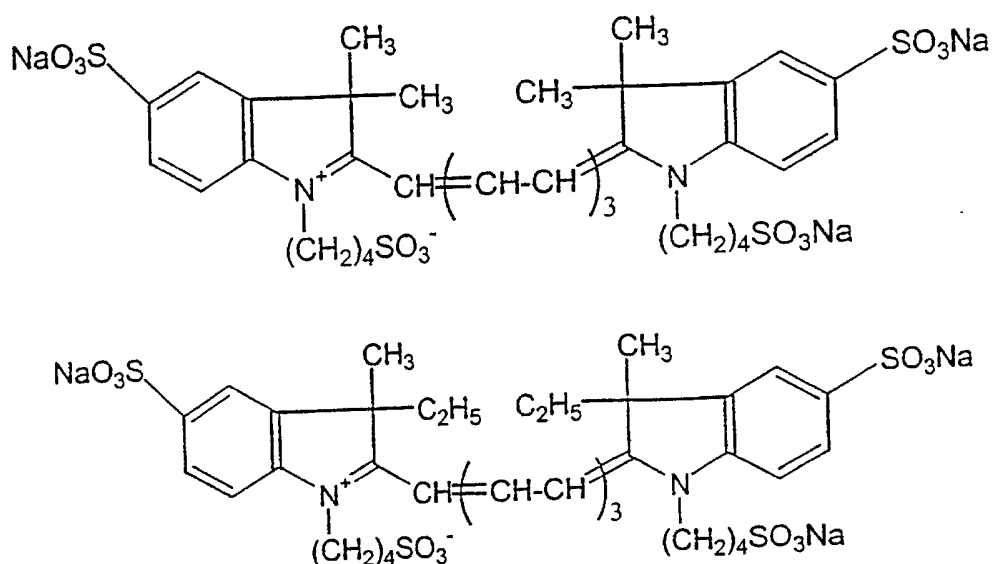
R^{21} až R^{28} jsou nezávisle na sobě atomy vodíku, sulfonové skupiny, karboxylové skupiny, hydroxylové skupiny, alkyl(sulfoalkyl)aminoskupiny, bis(sulfoalkyl)aminoskupiny, sulfoalkoxylové skupiny, (sulfoalkyl)sulfonylové skupiny nebo (sulfoalkyl)aminosulfonylové skupiny; a

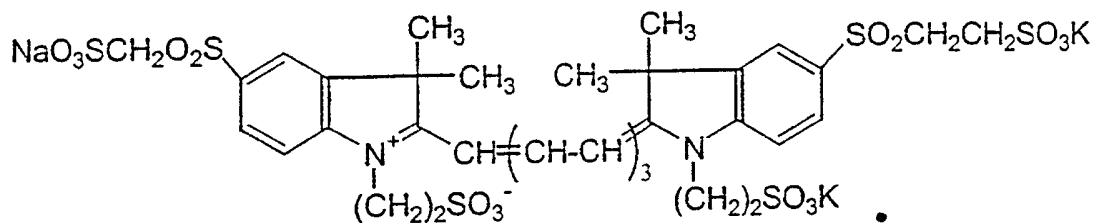
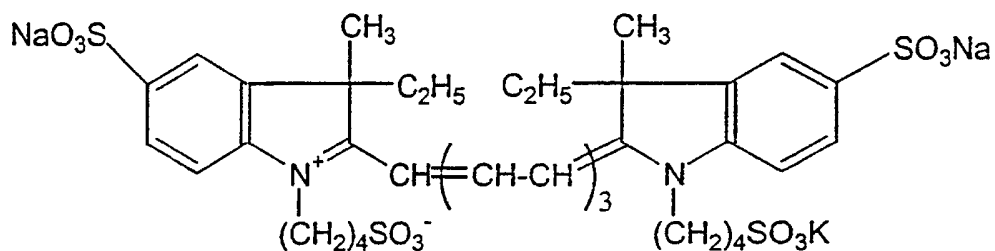
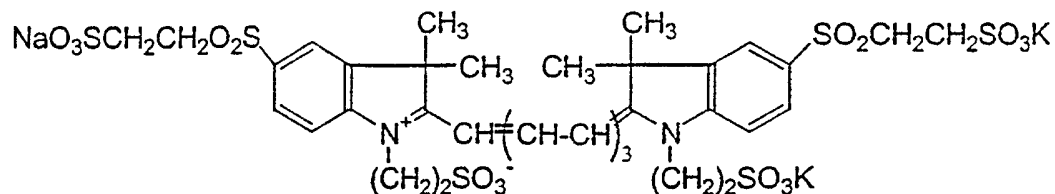
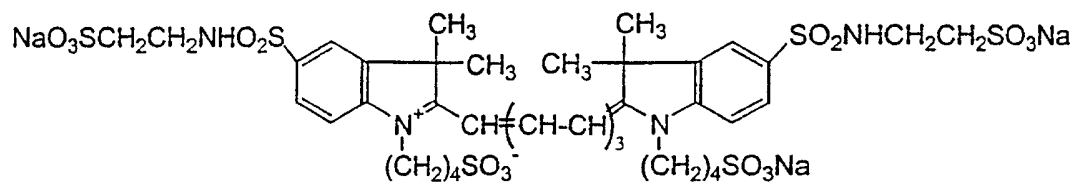
X' a Y' jsou nezávisle na sobě skupiny obecného vzorce



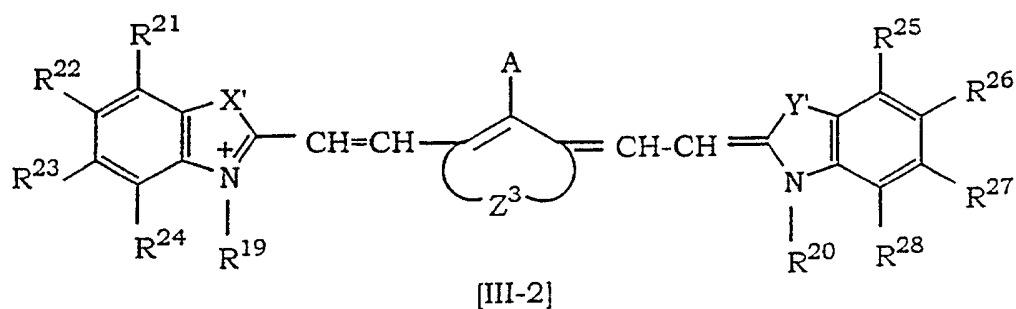
kde R^{17} a R^{18} mají shora uvedený význam,

s výjimkou těchto sloučenin:





14. Sodná sůl podle nároku 13, kde skupinou L^4 v obecném vzorci [III-1] je methinová skupina substituovaná alkylovou skupinou obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku.
15. Sodná sůl podle nároku 13, kterou je sodná sůl sloučeniny obecného vzorce [III-2] obsahující ve své struktuře tři nebo více sulfonových skupin



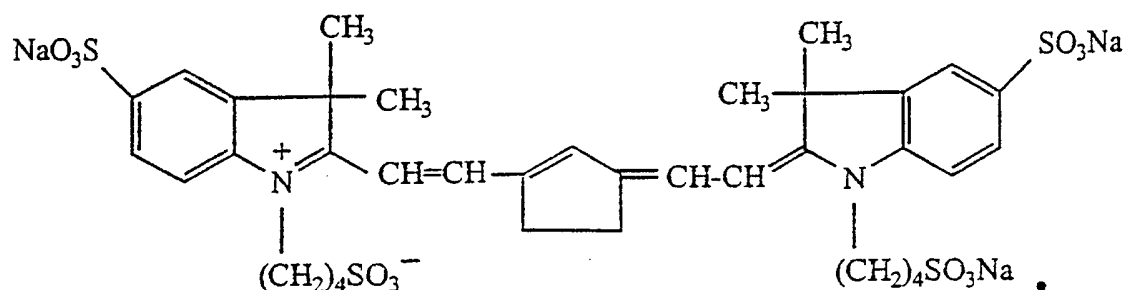
kde

skupiny R^{19} - R^{28} , X' a Y' mají shora uvedený význam;

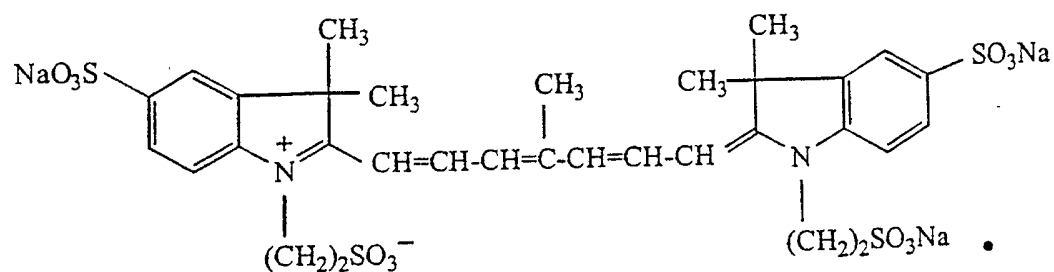
Z^3 je nekovový atom nezbytný pro vytvoření pěti- nebo šestičlenného kruhu; a

A je atom vodíku nebo jakákoli jednovazná skupina.

16. Sodná sůl podle nároku 15 vzorce

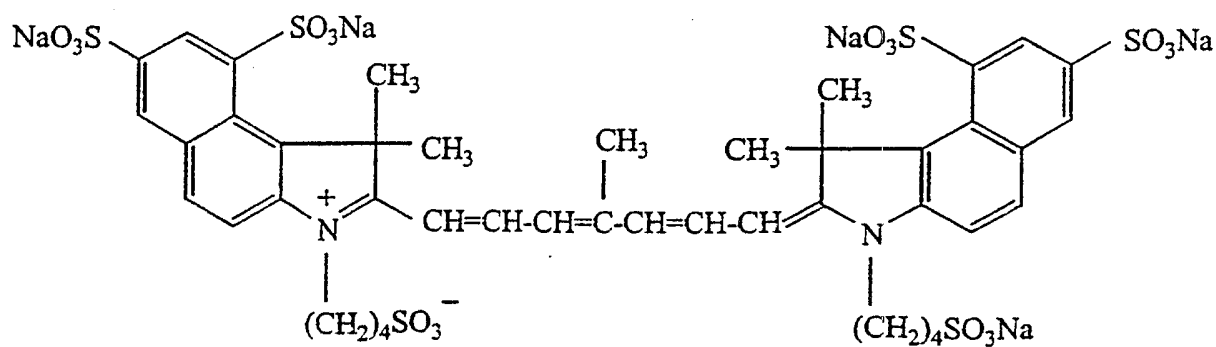
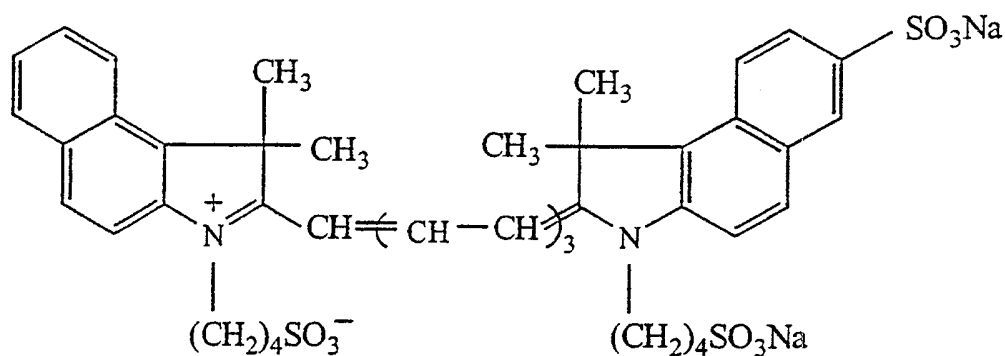
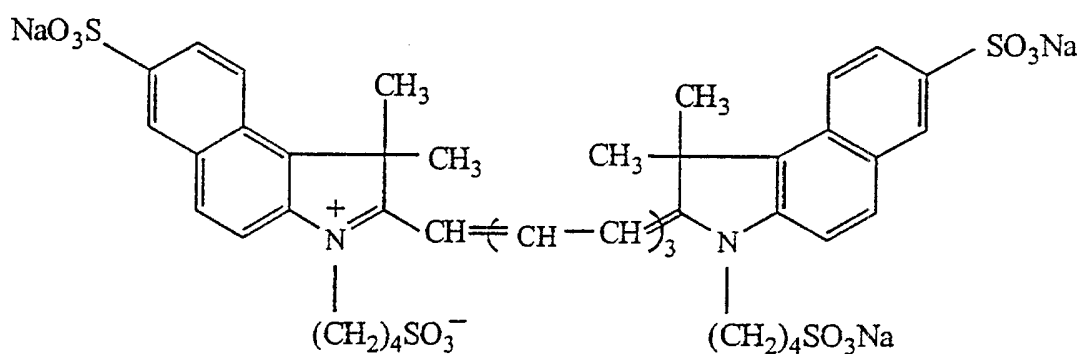
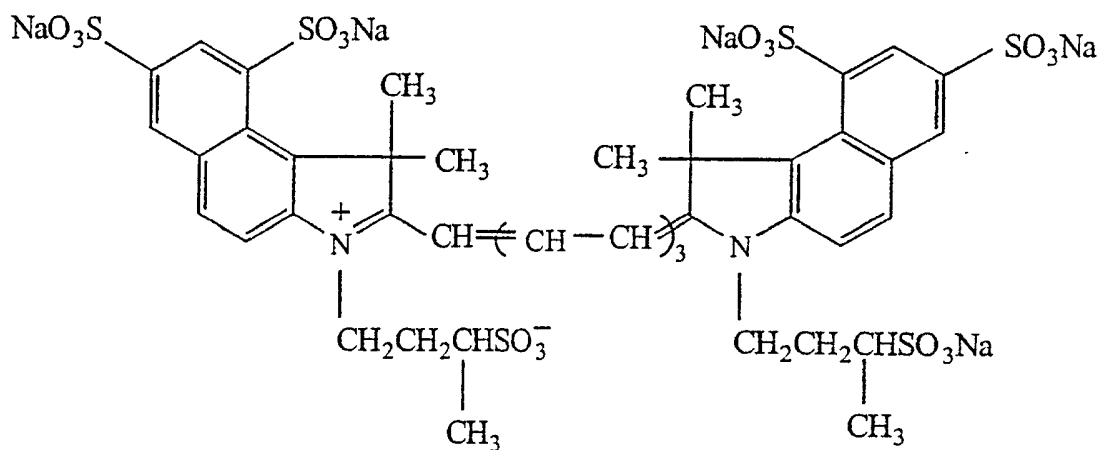


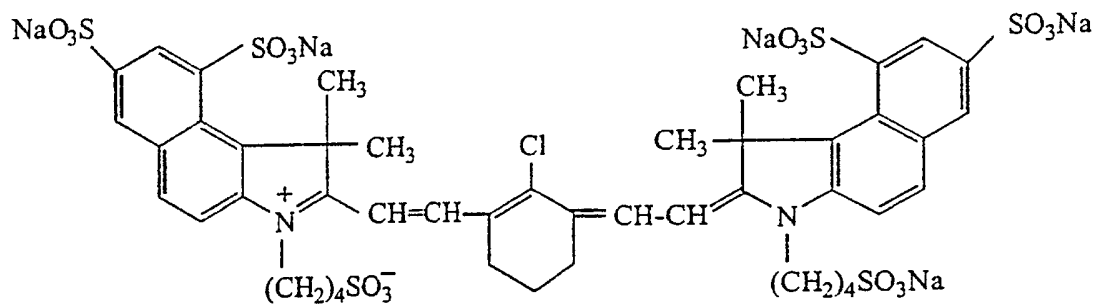
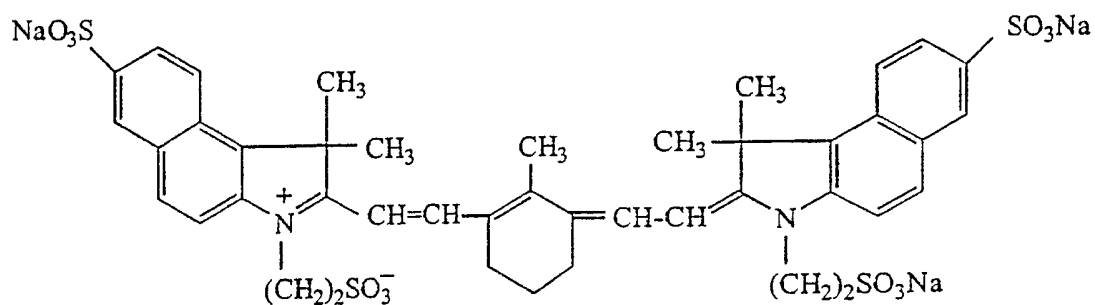
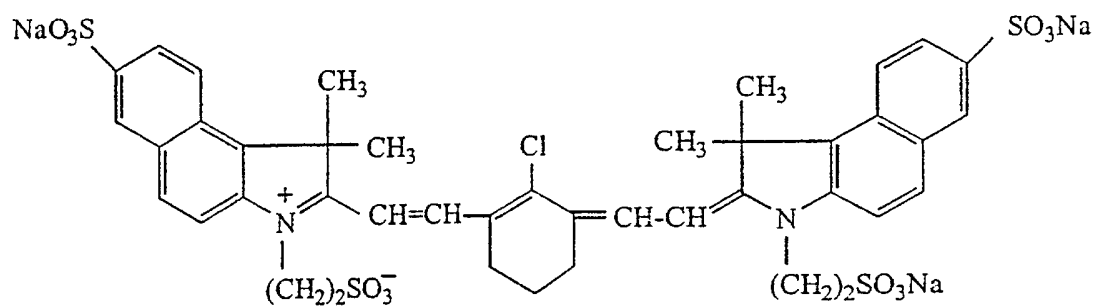
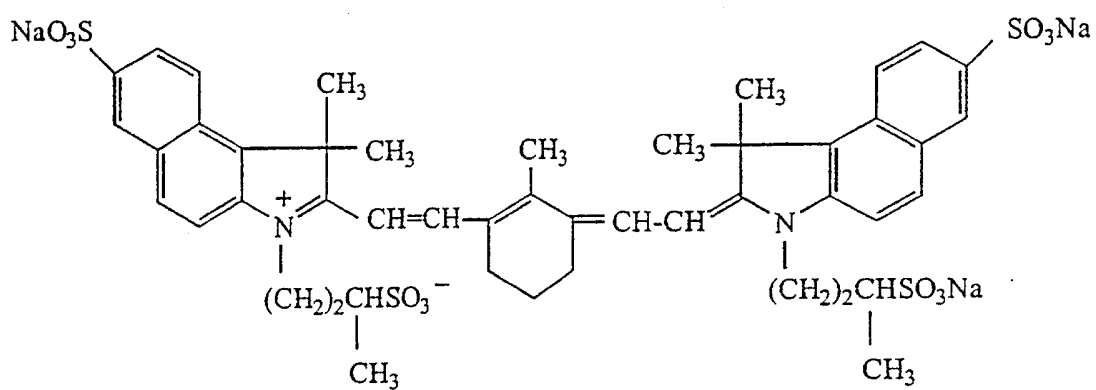
17. Sodná sůl podle nároku 13 vzorce



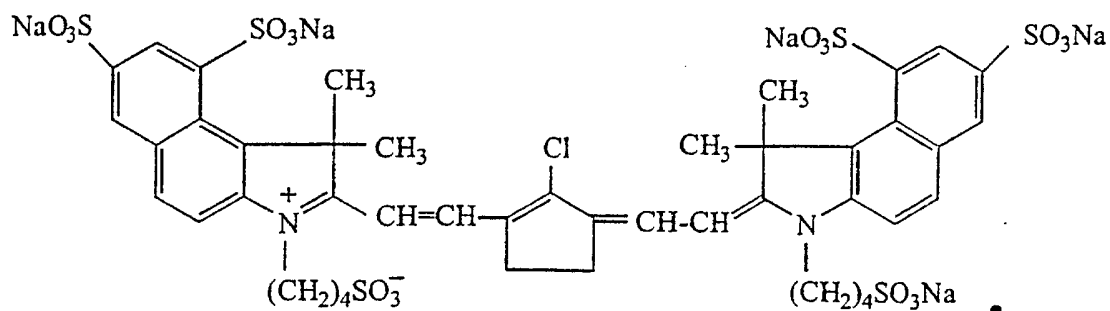
18. Sodná sůl podle kteréhokoli z nároků 10, 11, 13, 14 a 15 obsahující ve své struktuře čtyři nebo více sulfonových skupin.
19. Sodná sůl podle kteréhokoli z nároků 10, 11, 13, 14, 15 a 18 obsahující ve své struktuře deset nebo méně sulfonových skupin.
20. Sodná sůl podle kteréhokoli z **nároků** 10, 11, 13, 14, 15 a 18 obsahující ve své struktuře osm nebo méně sulfonových skupin.
21. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti **vyznačující se tím, že** zahrnuje sodnou sůl podle kteréhokoli z nároků 10 až 20.
22. Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle nároku 21 pro zobrazování nádoru.
23. Použití fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle nároku 21 pro angiografii.
24. Způsob fluorescenčního zobrazování **vyznačující se tím, že** zahrnuje zavedení fluorescenčního kontrastního činidla vyzařujícího záření v blízké infračervené oblasti podle nároku 1 do živého těla, ozáření tohoto těla excitačním zářením a detekci fluorescenčního záření v blízké infračervené oblasti vyzařovaného uvedeným kontrastním činidlem.

25. Sodná sůl podle nároku 10, kterou je alespoň jedna sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující sloučeniny následujících vzorců:

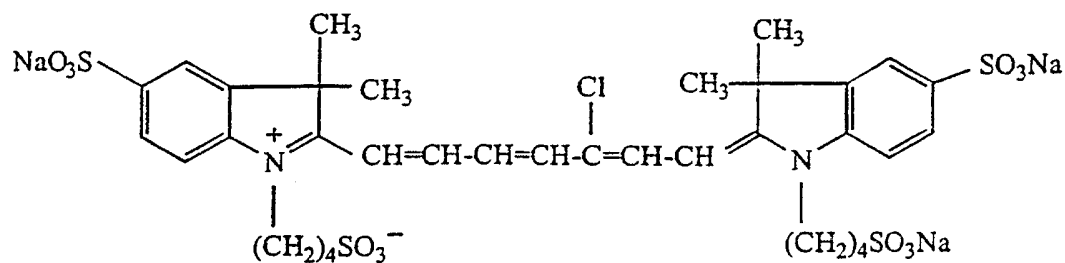
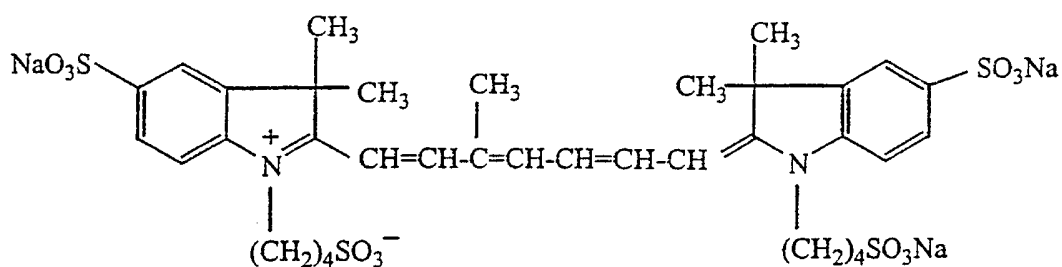
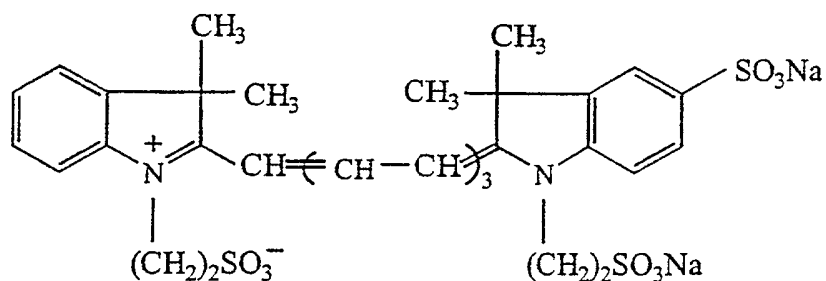




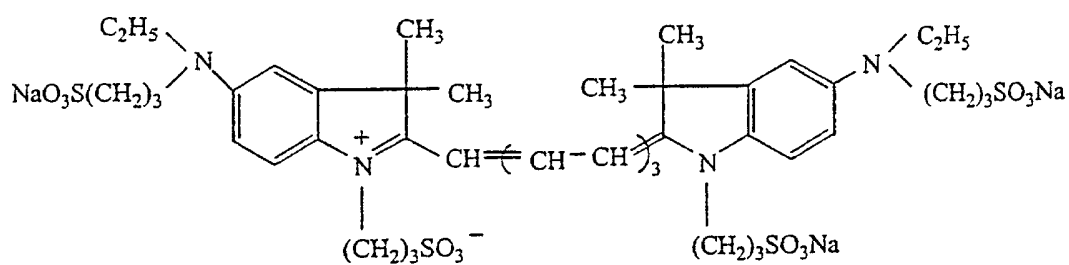
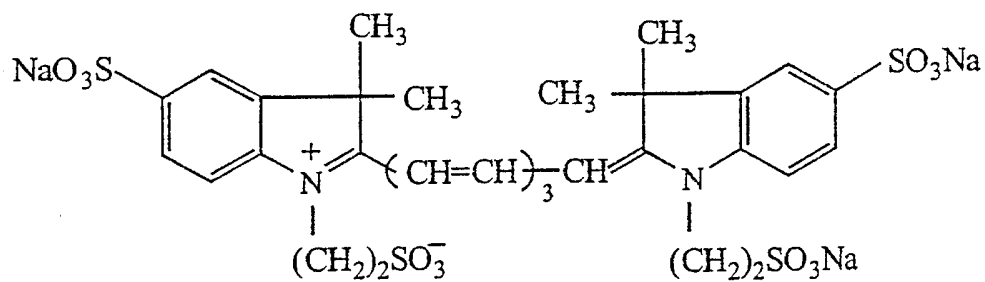
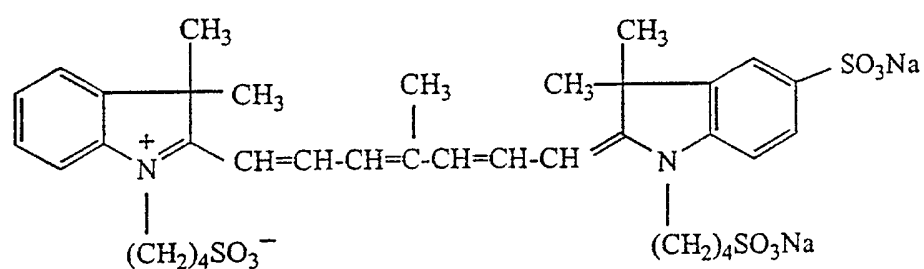
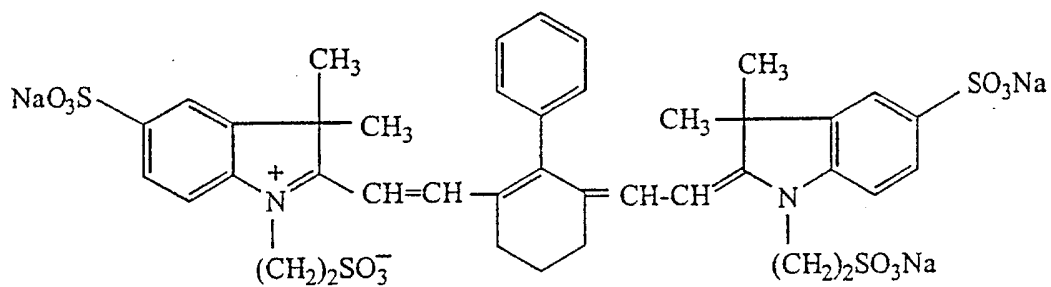
a

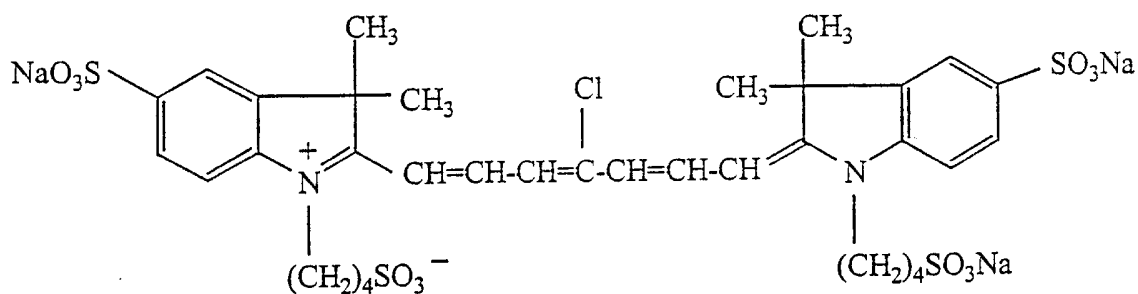
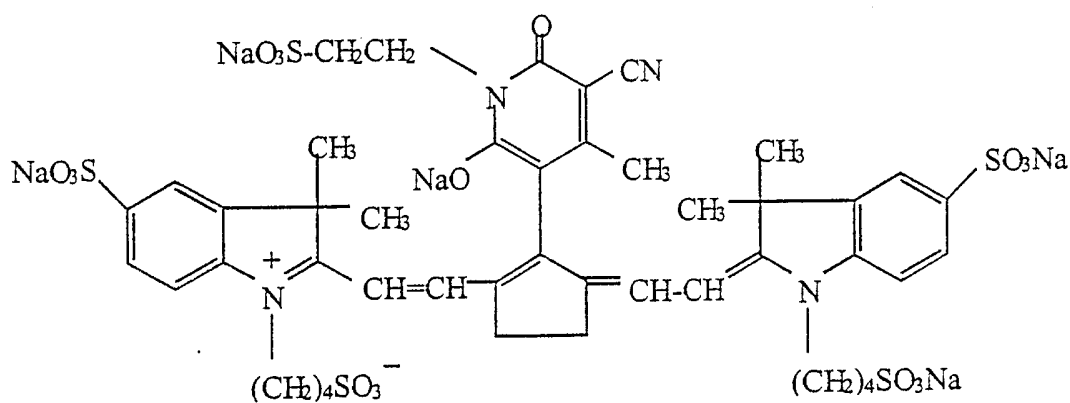
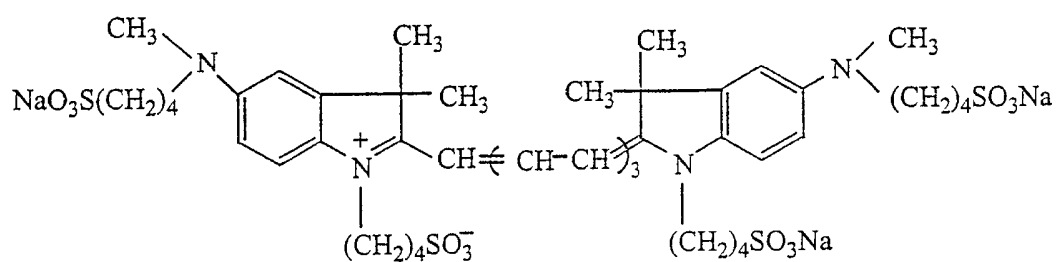
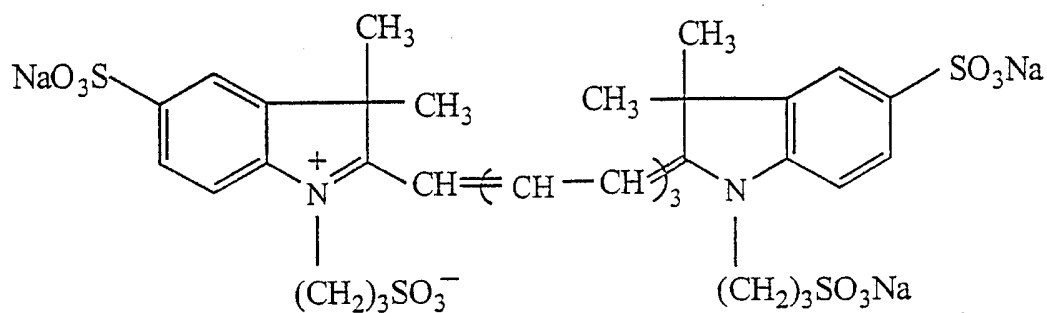


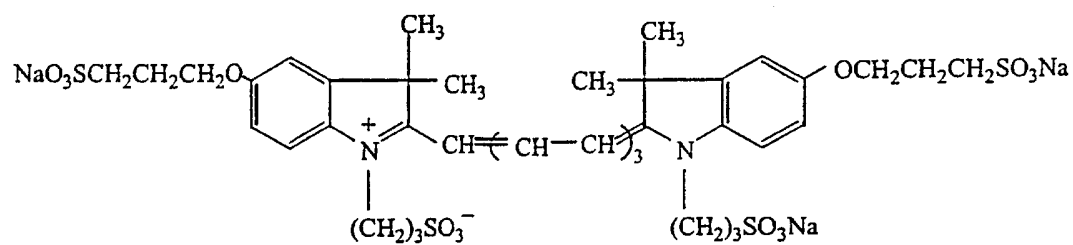
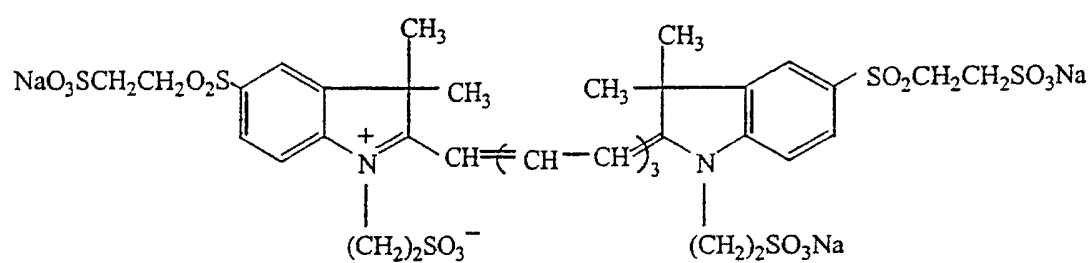
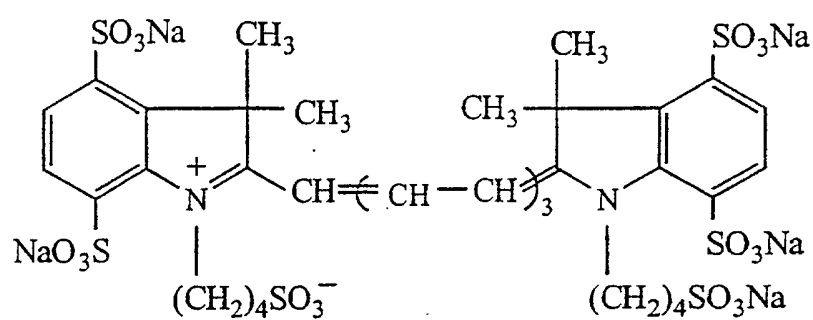
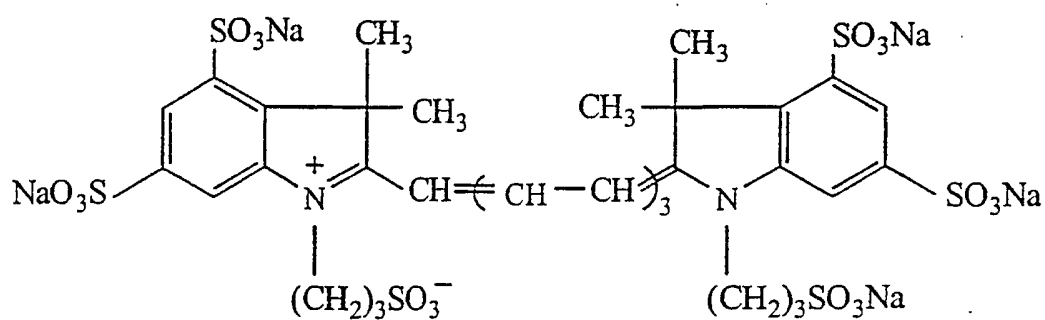
26. Sodná sůl podle nároku 13, kterou je alespoň jedna sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující sloučeniny následujících vzorců:

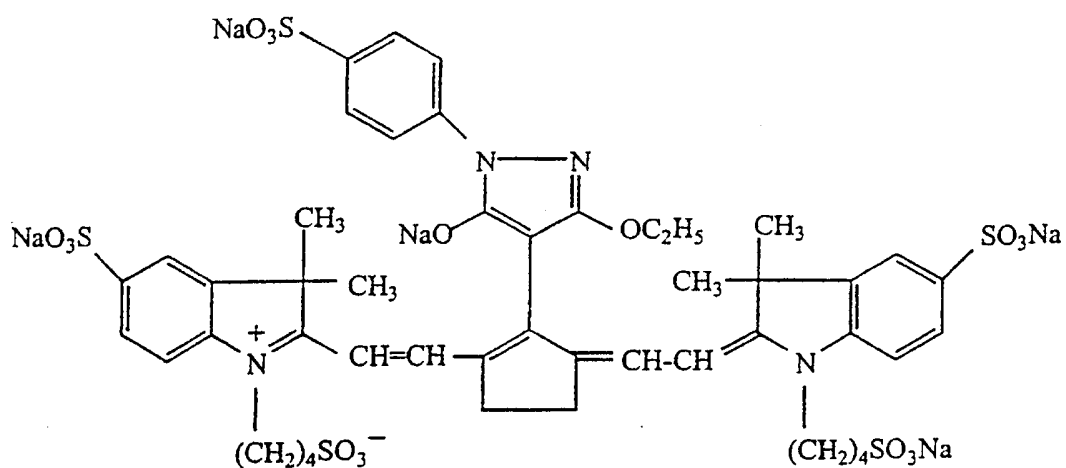
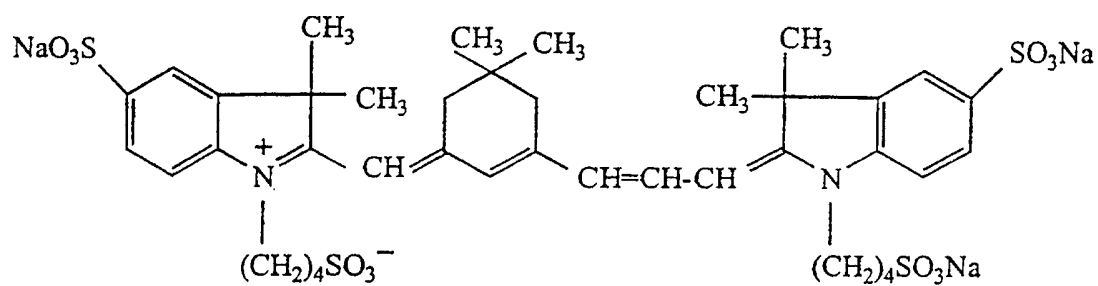
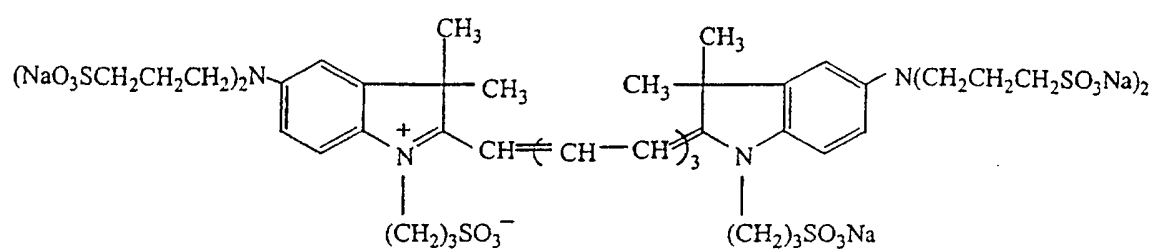
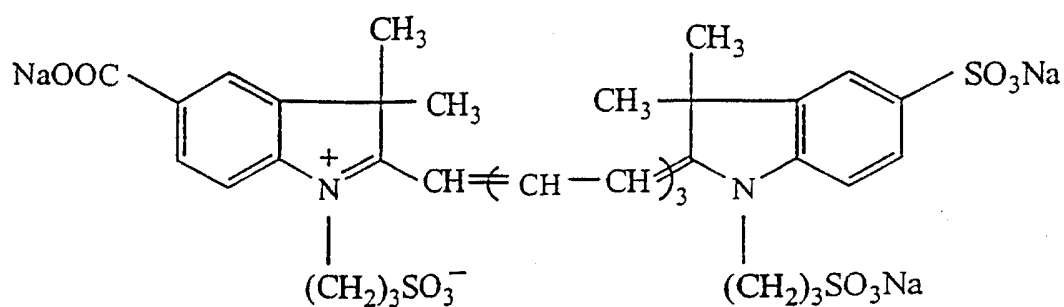


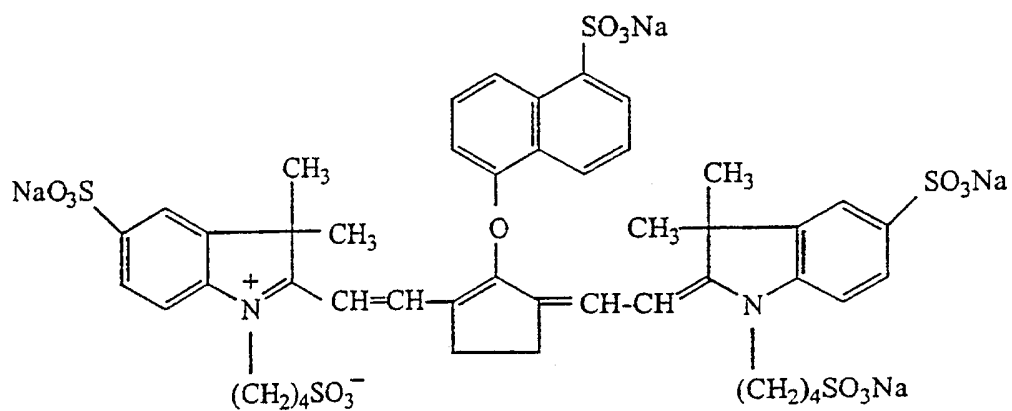
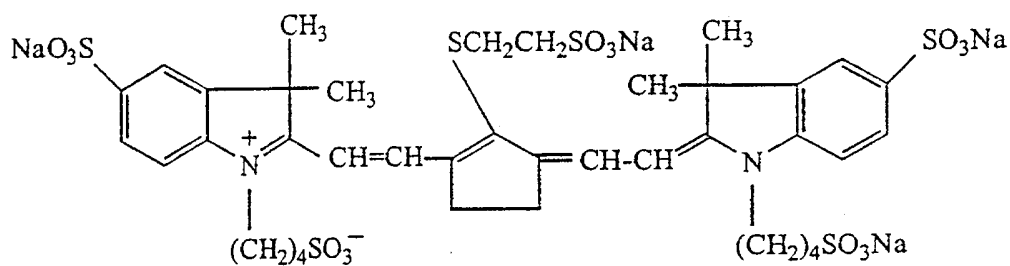
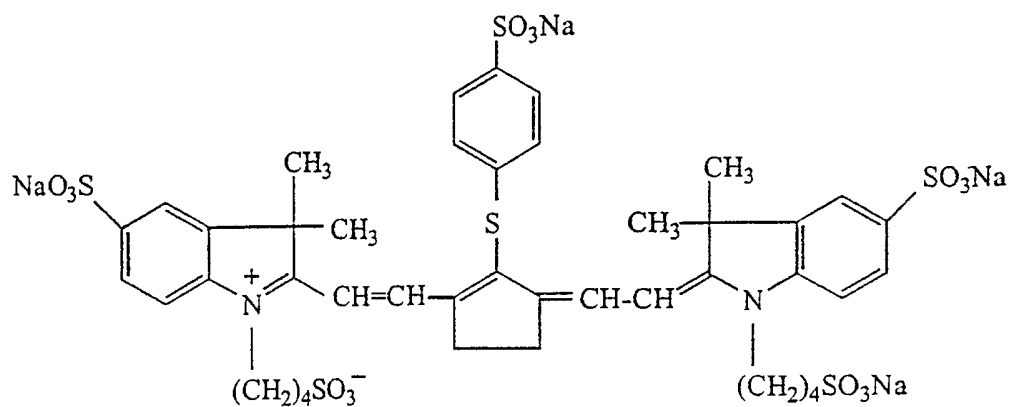
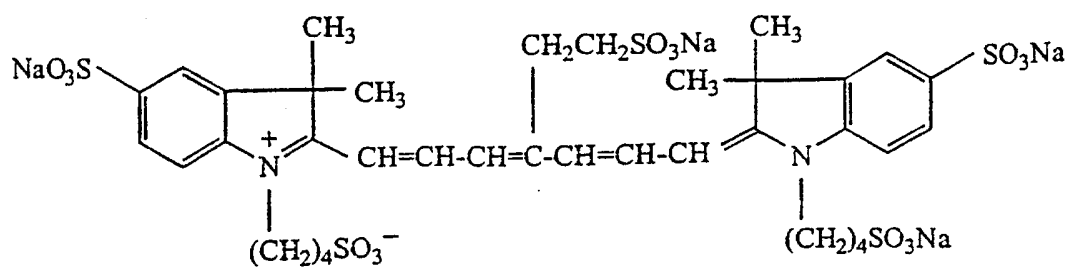
16.03.01

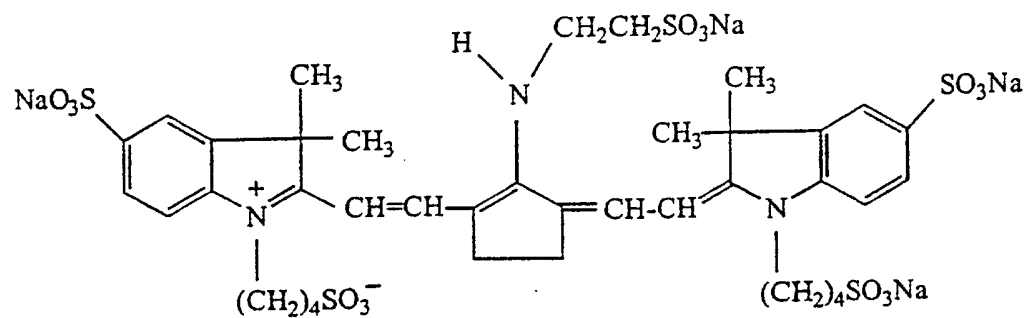
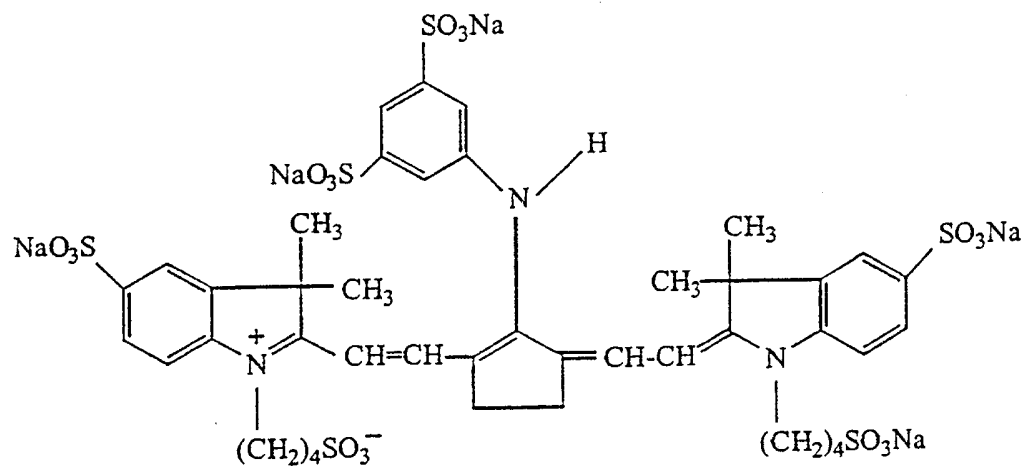
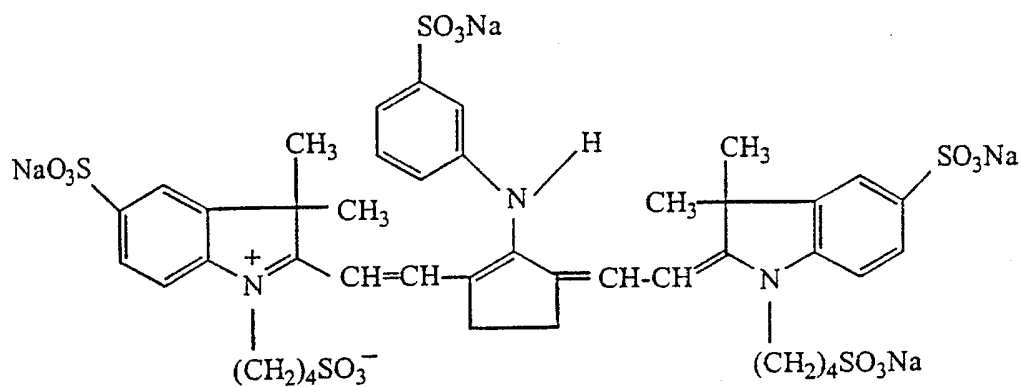
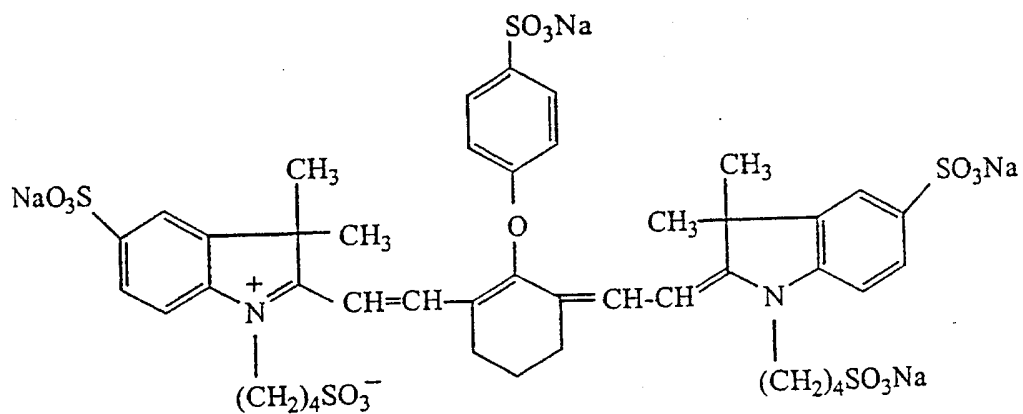


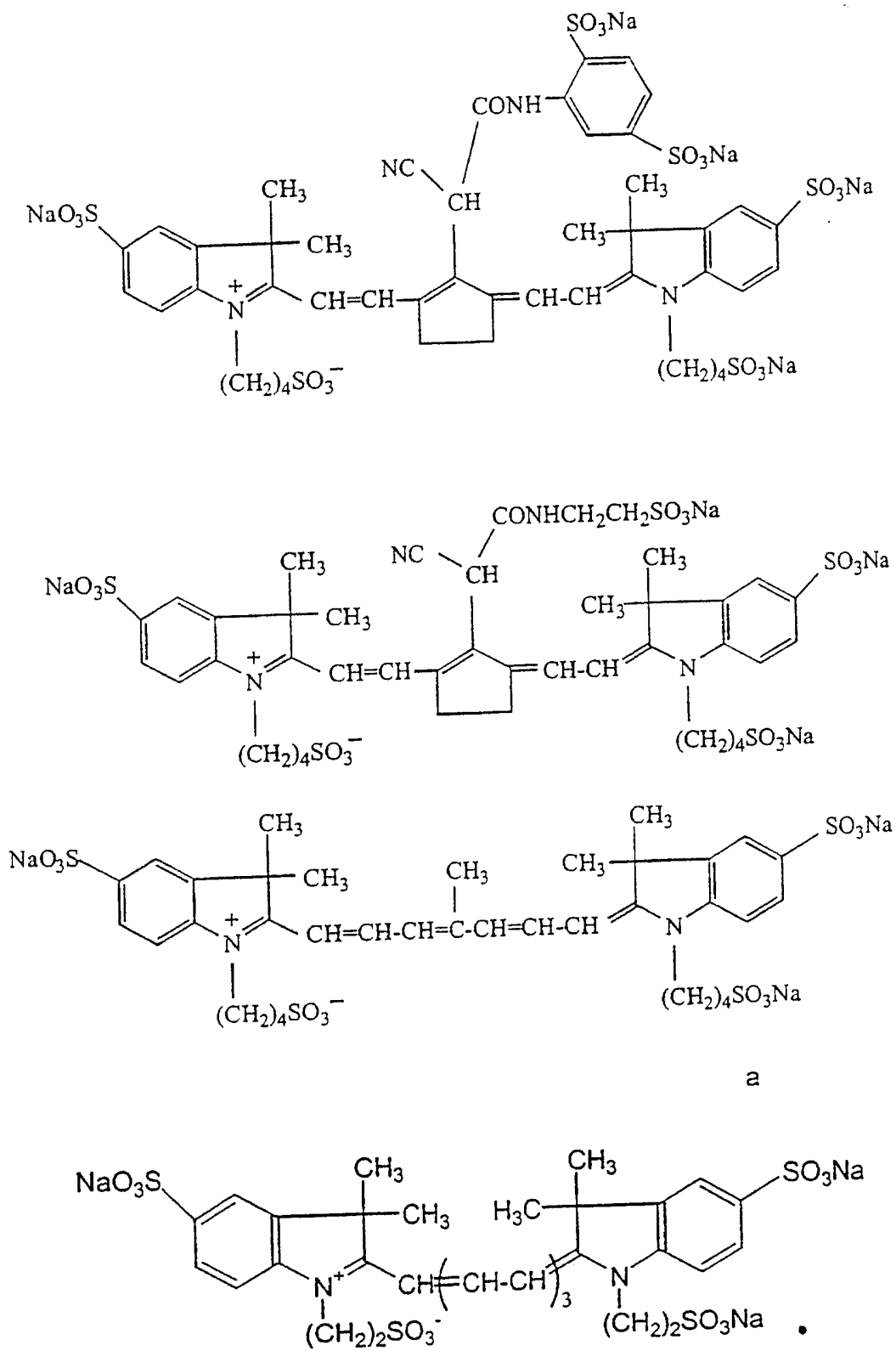




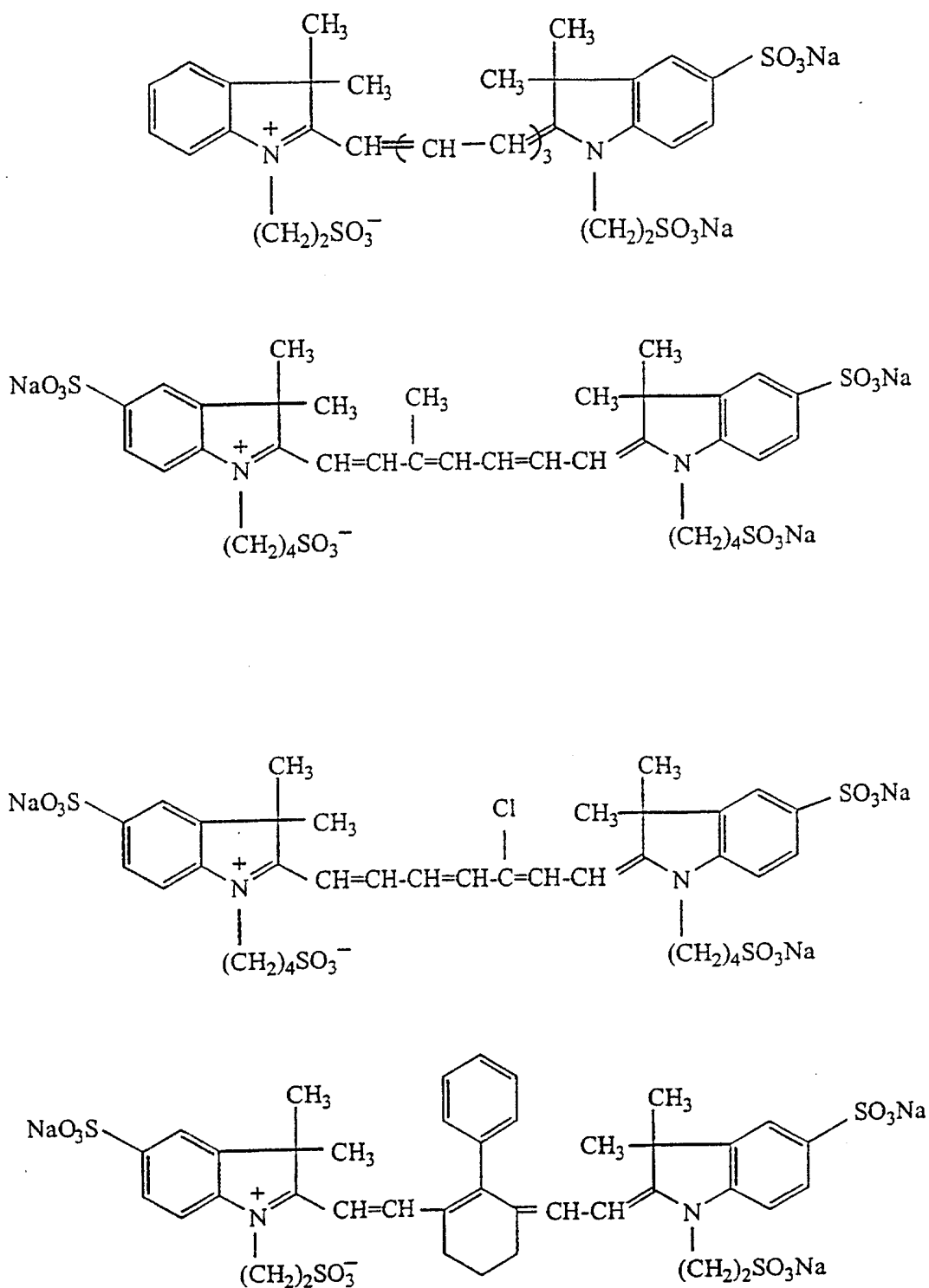


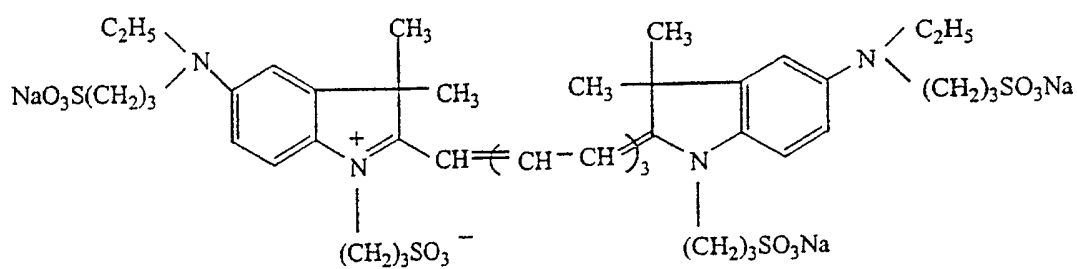
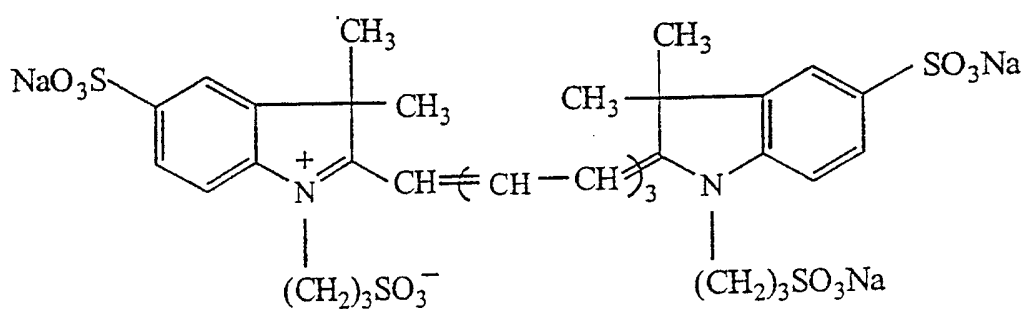
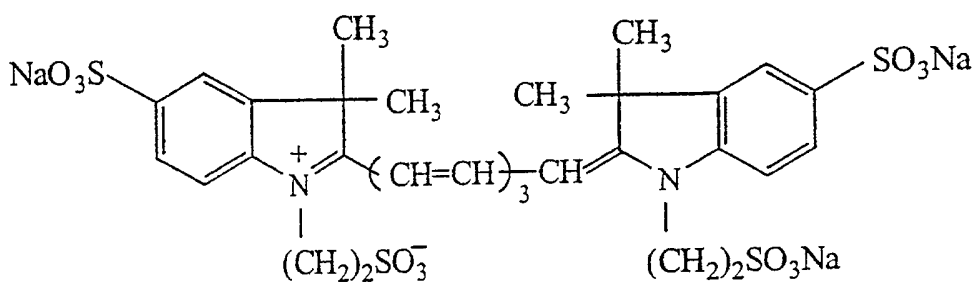
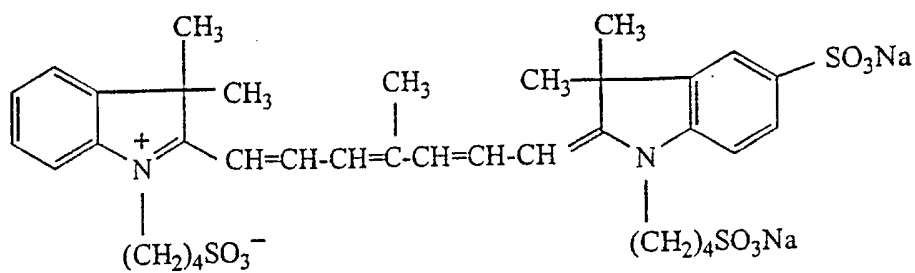


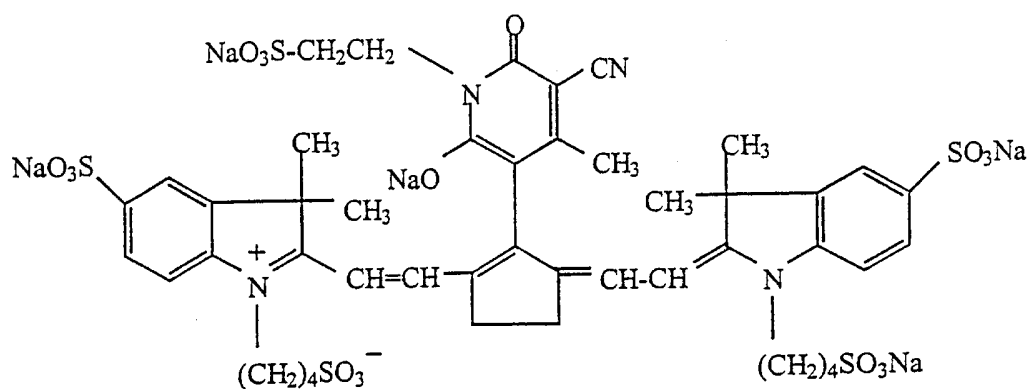
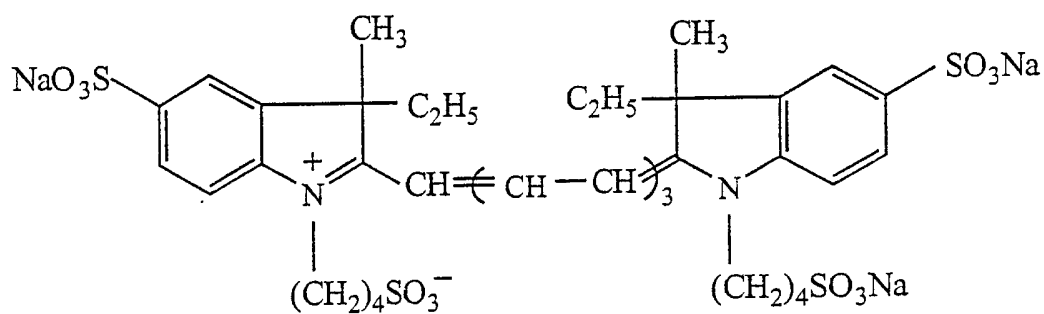
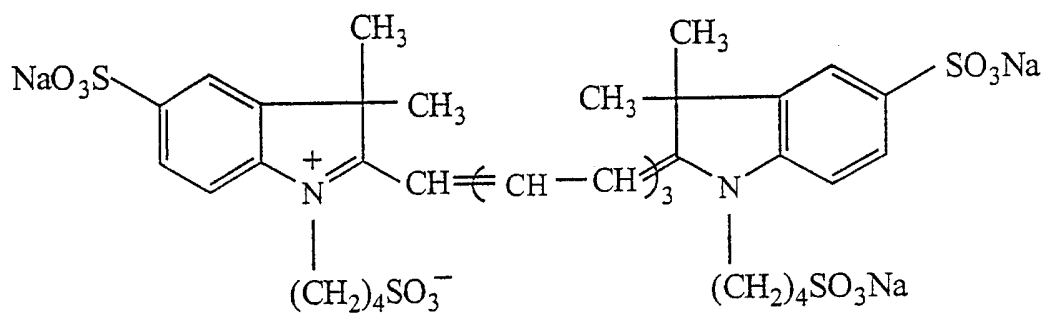
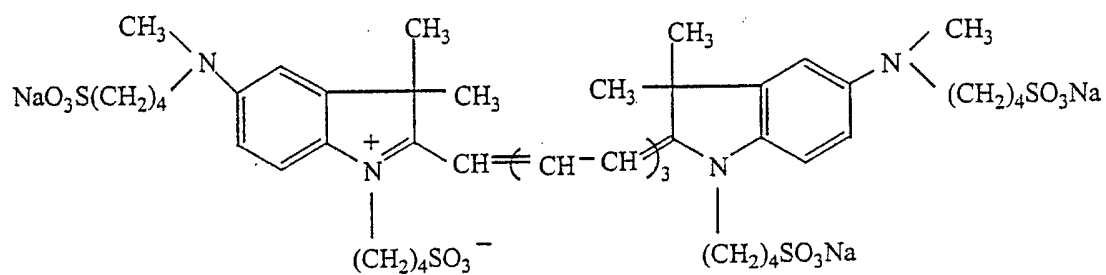


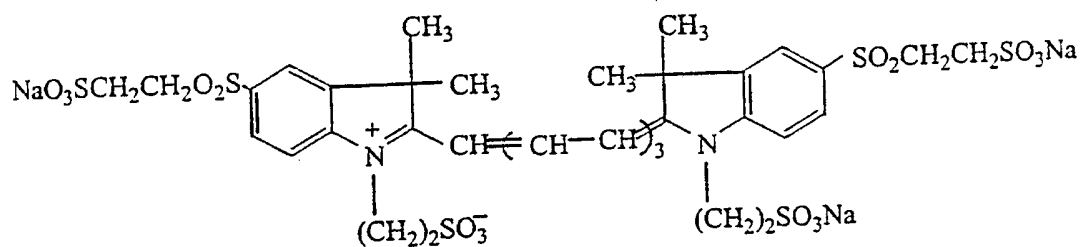
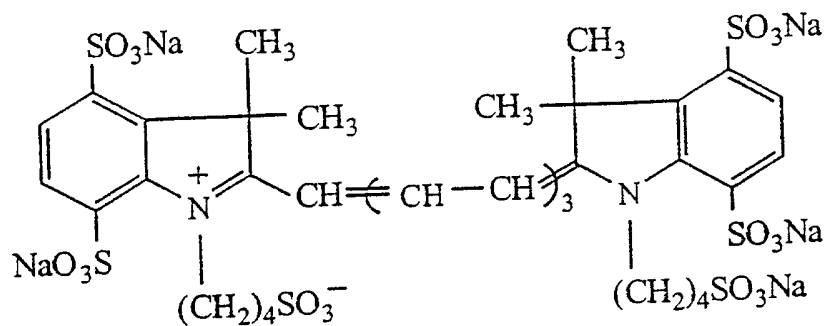
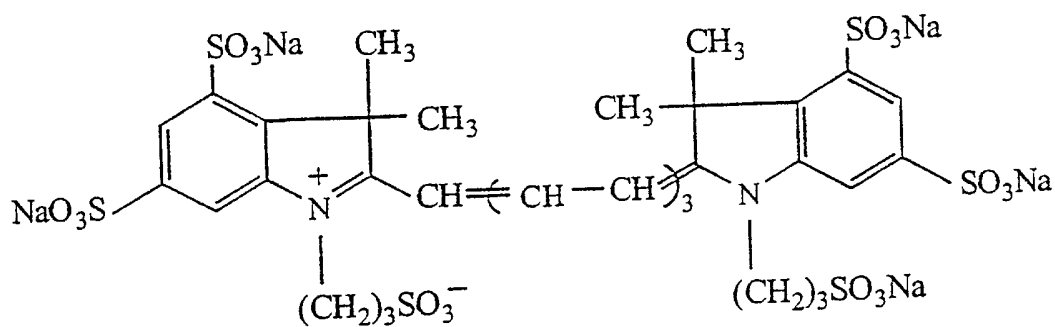
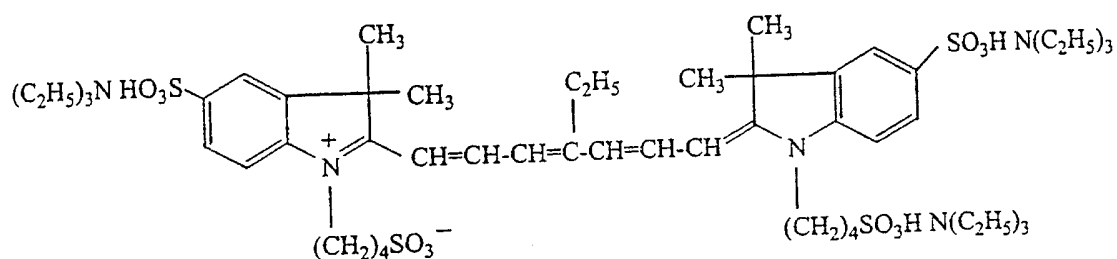
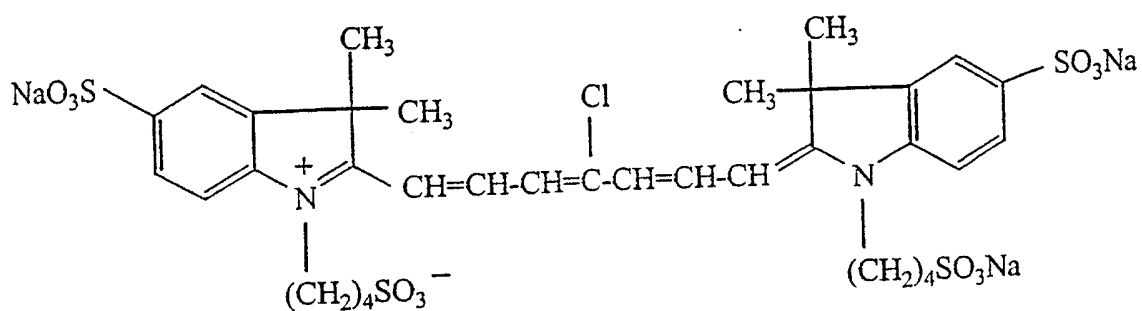


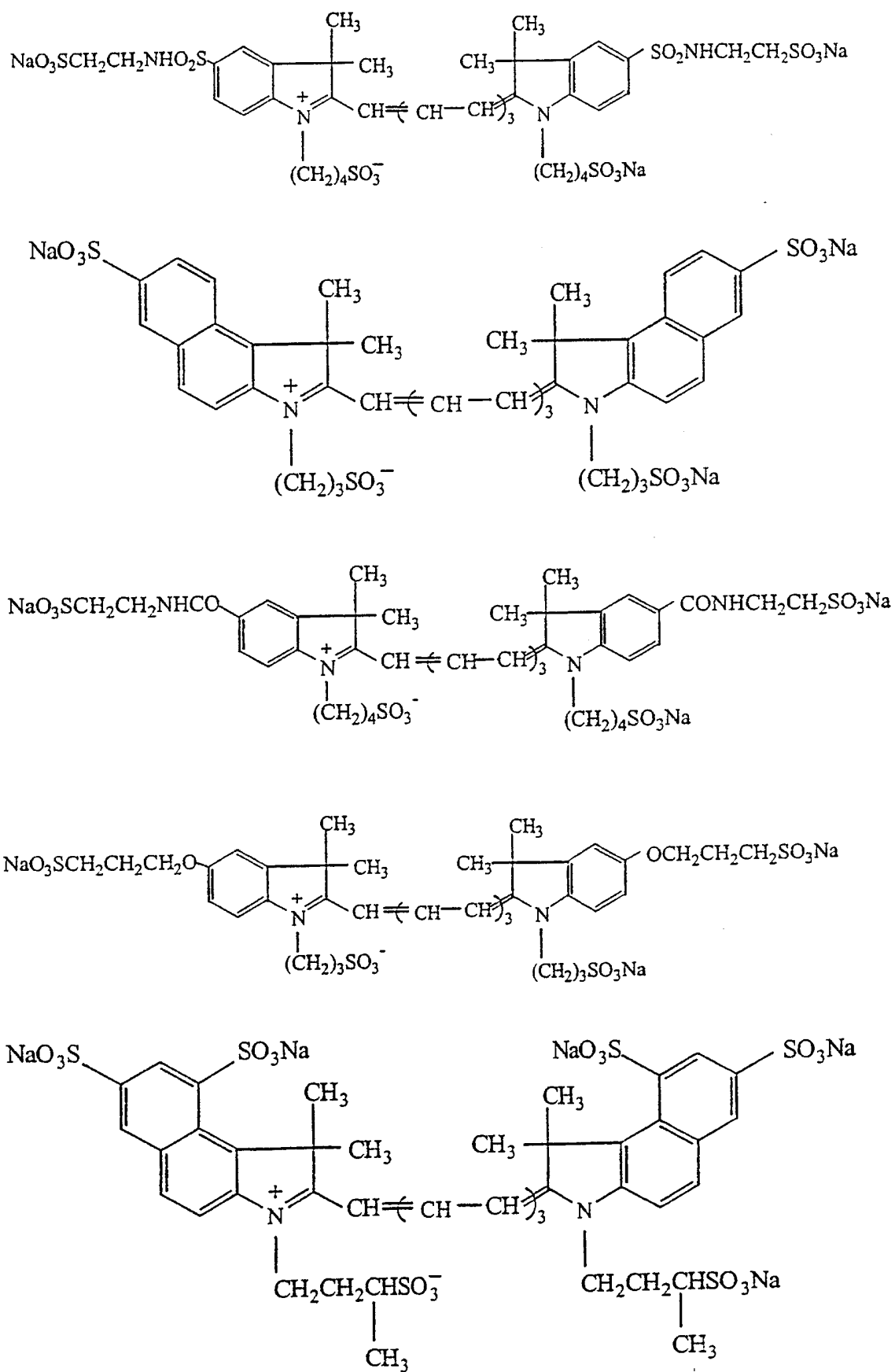
27. Fluorescenční kontrastní činidlo vyzařující záření v blízké infračervené oblasti podle nároku 1 **vyznačující se tím, že** zahrnuje alespoň jednu sloučeninu vybranou ze skupiny zahrnující sloučeniny následujících vzorců:

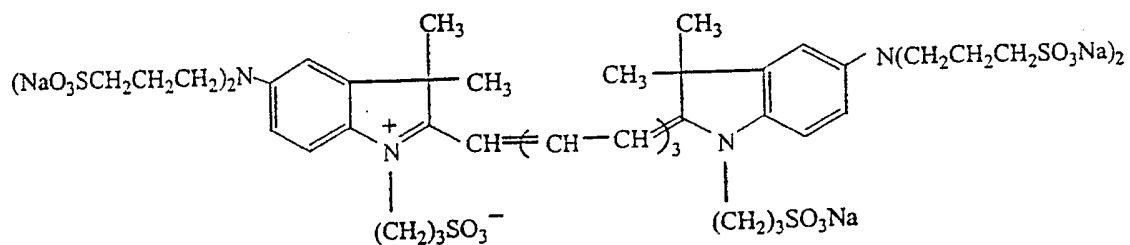
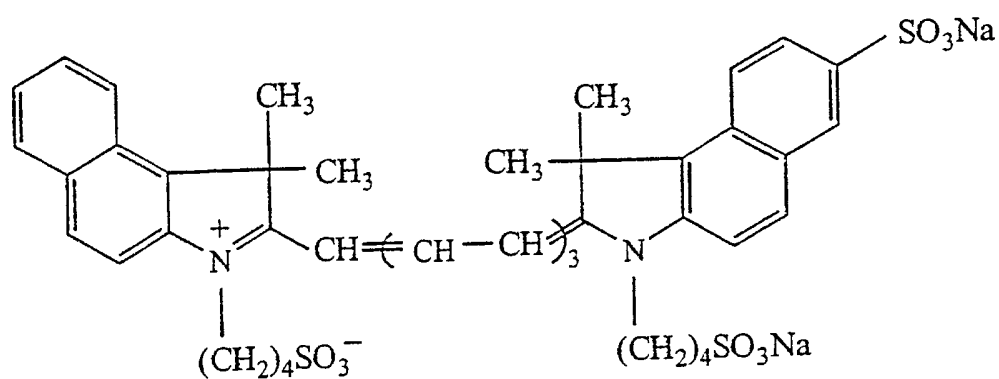
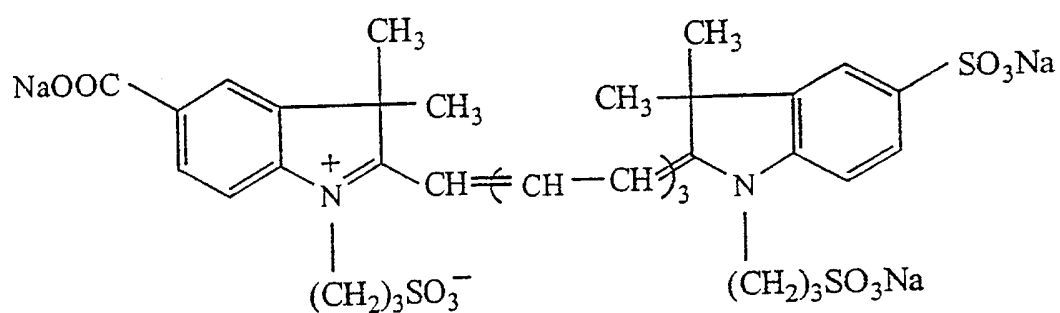
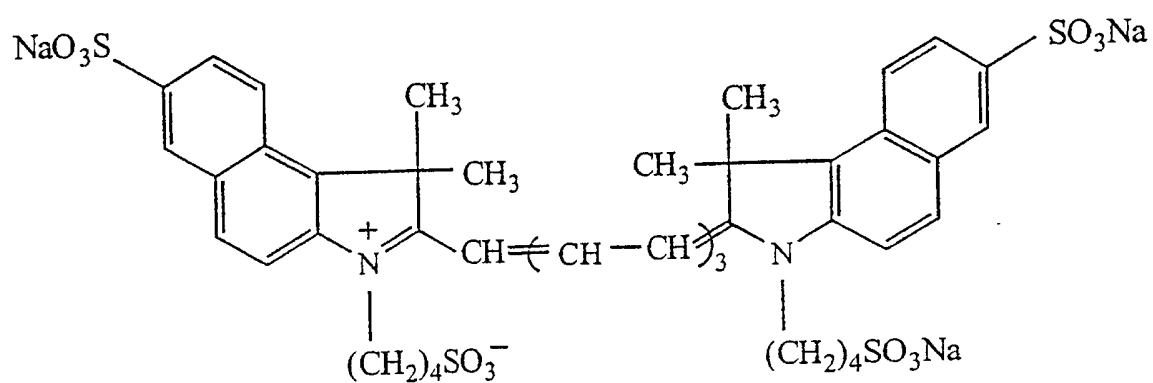


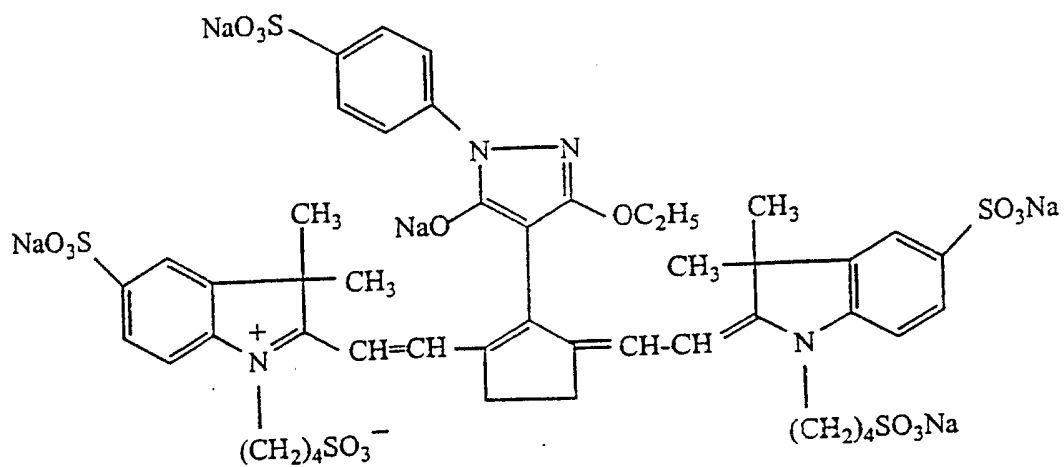
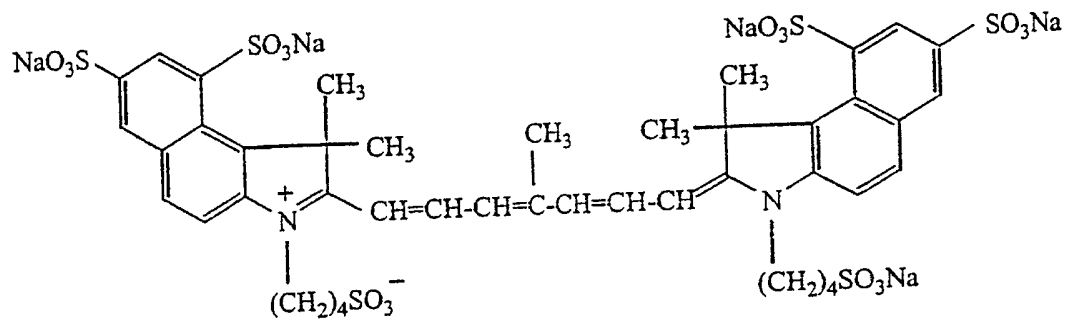
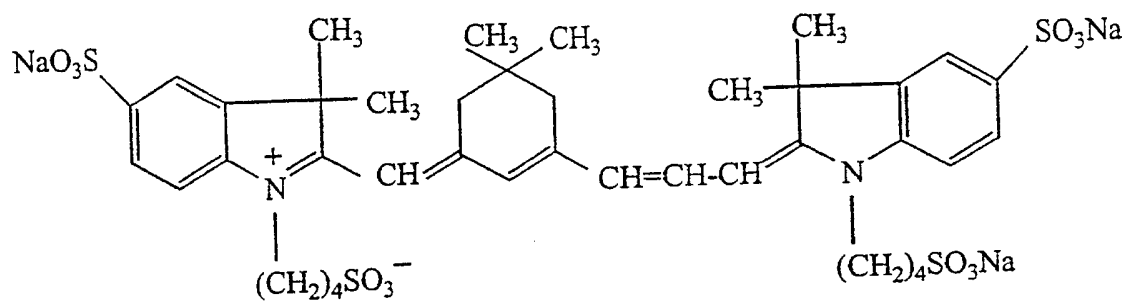


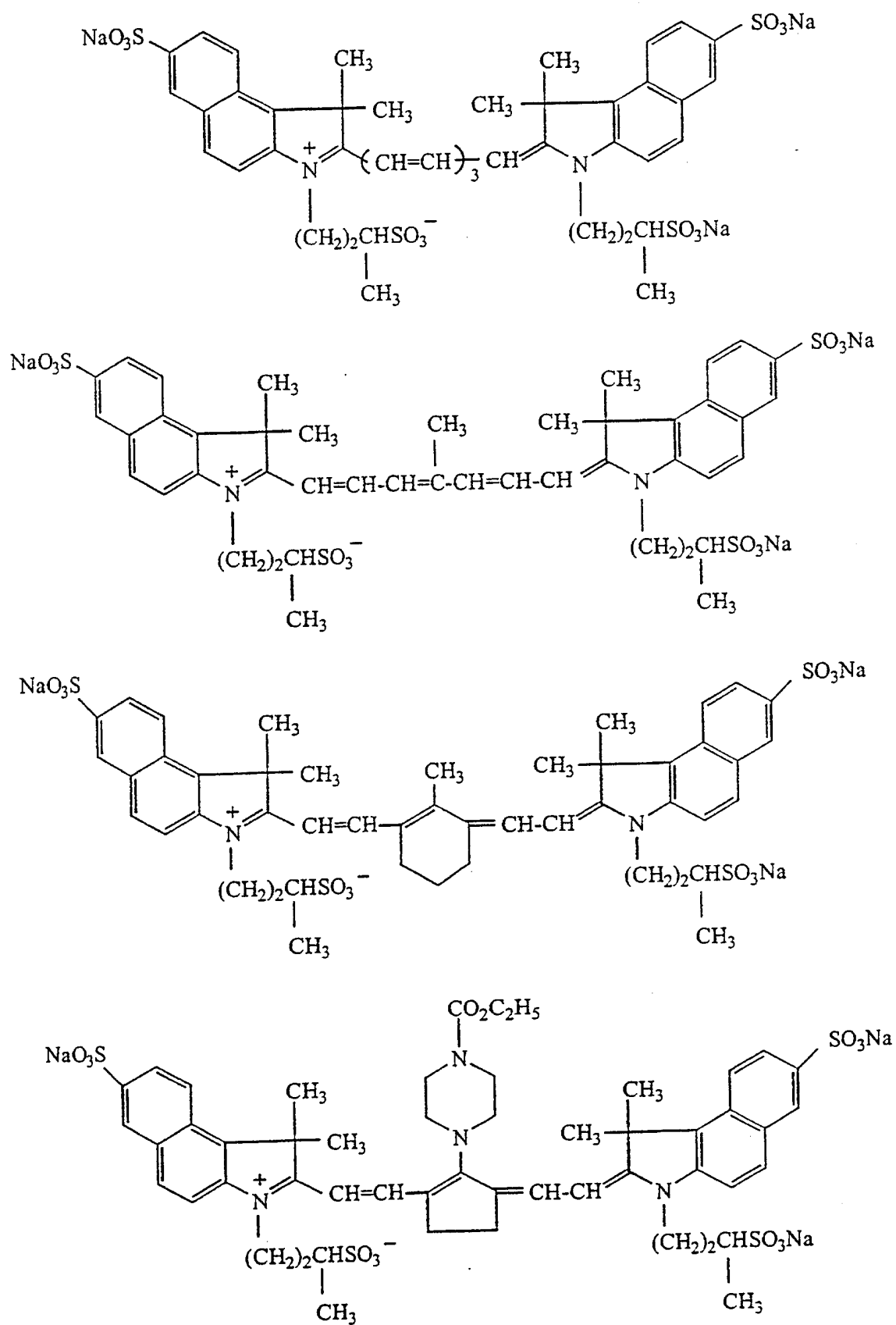


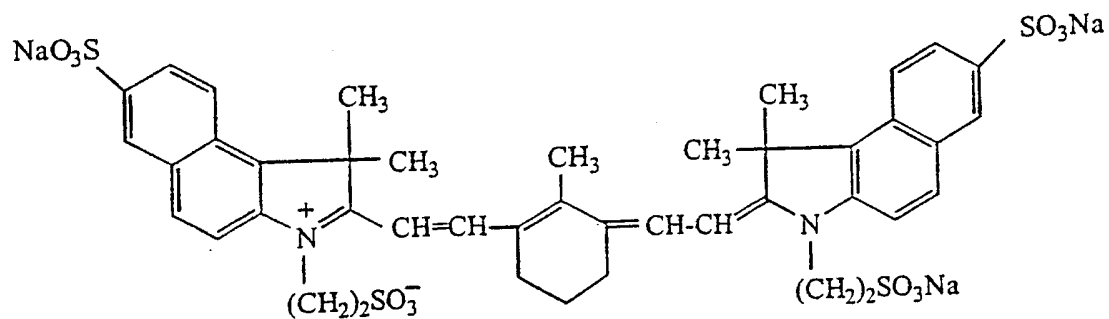
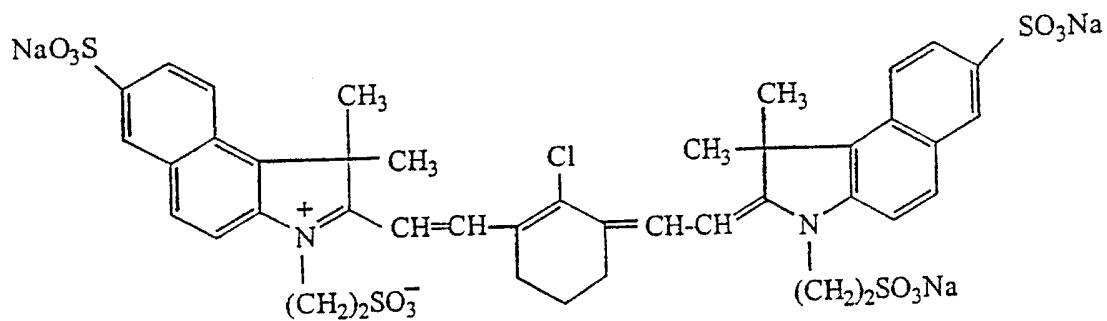
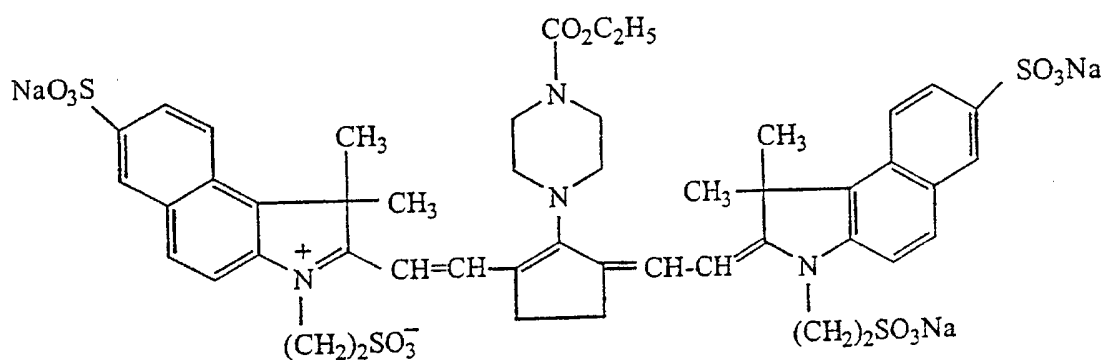
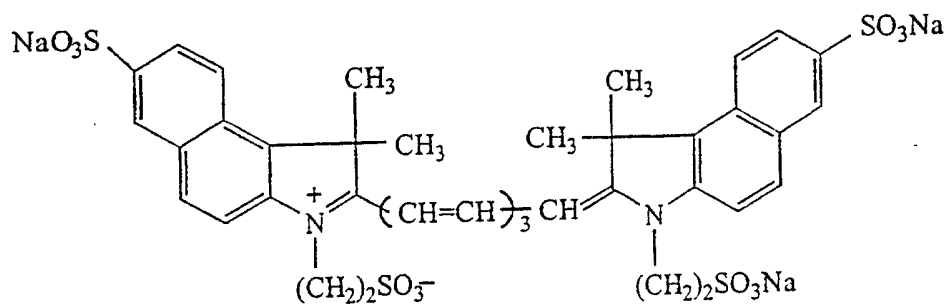


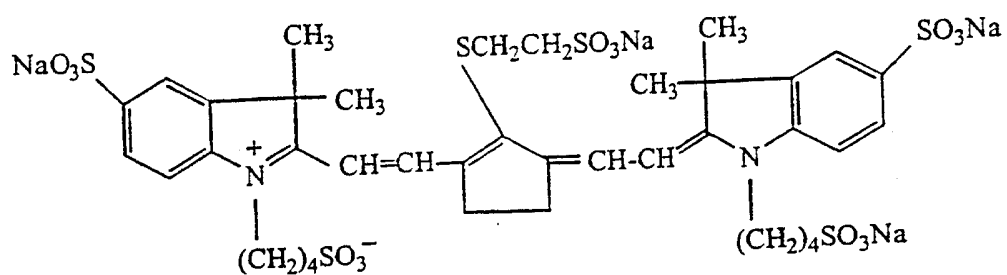


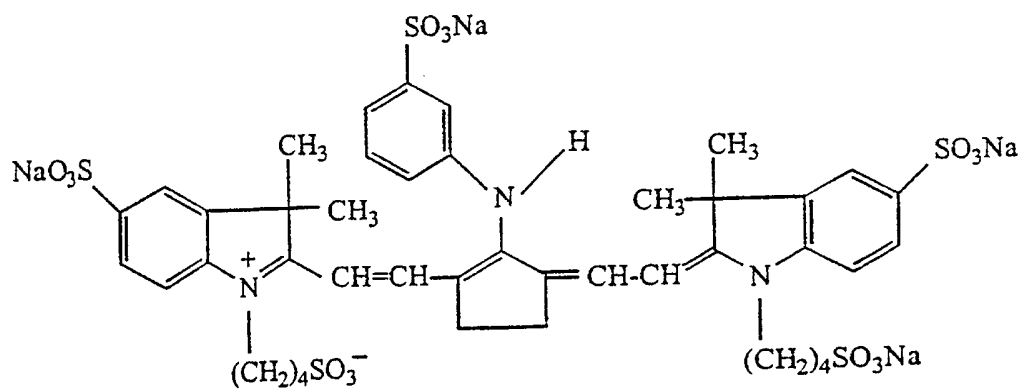
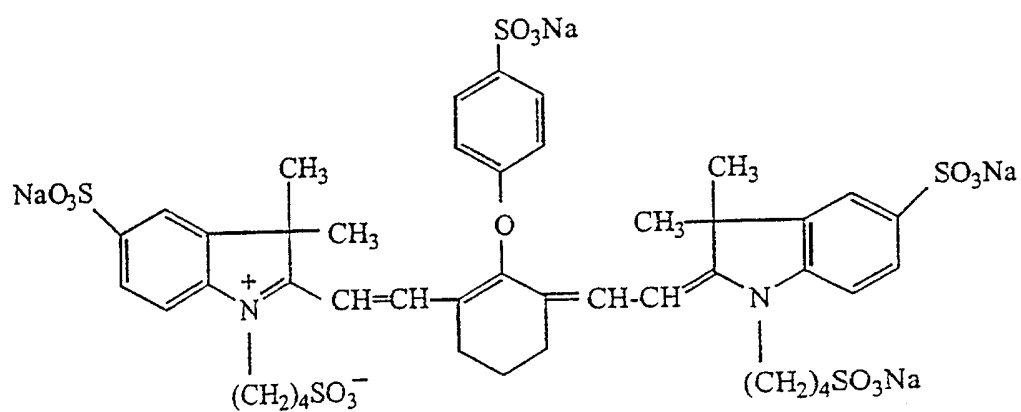
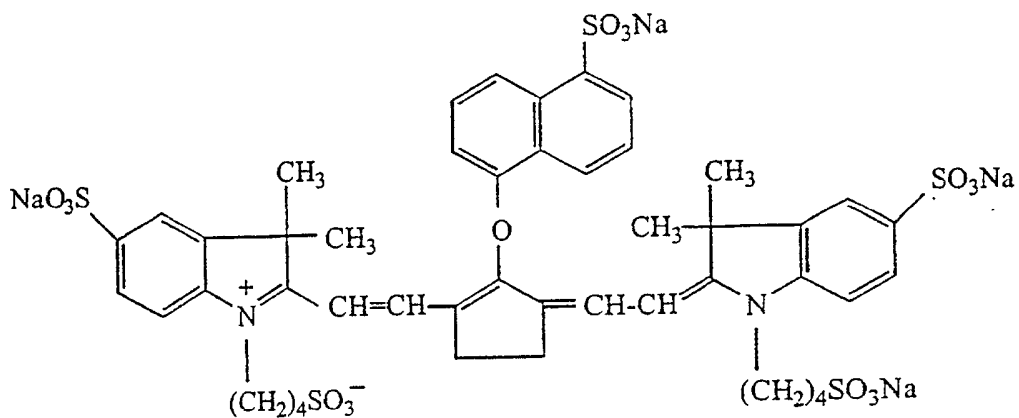


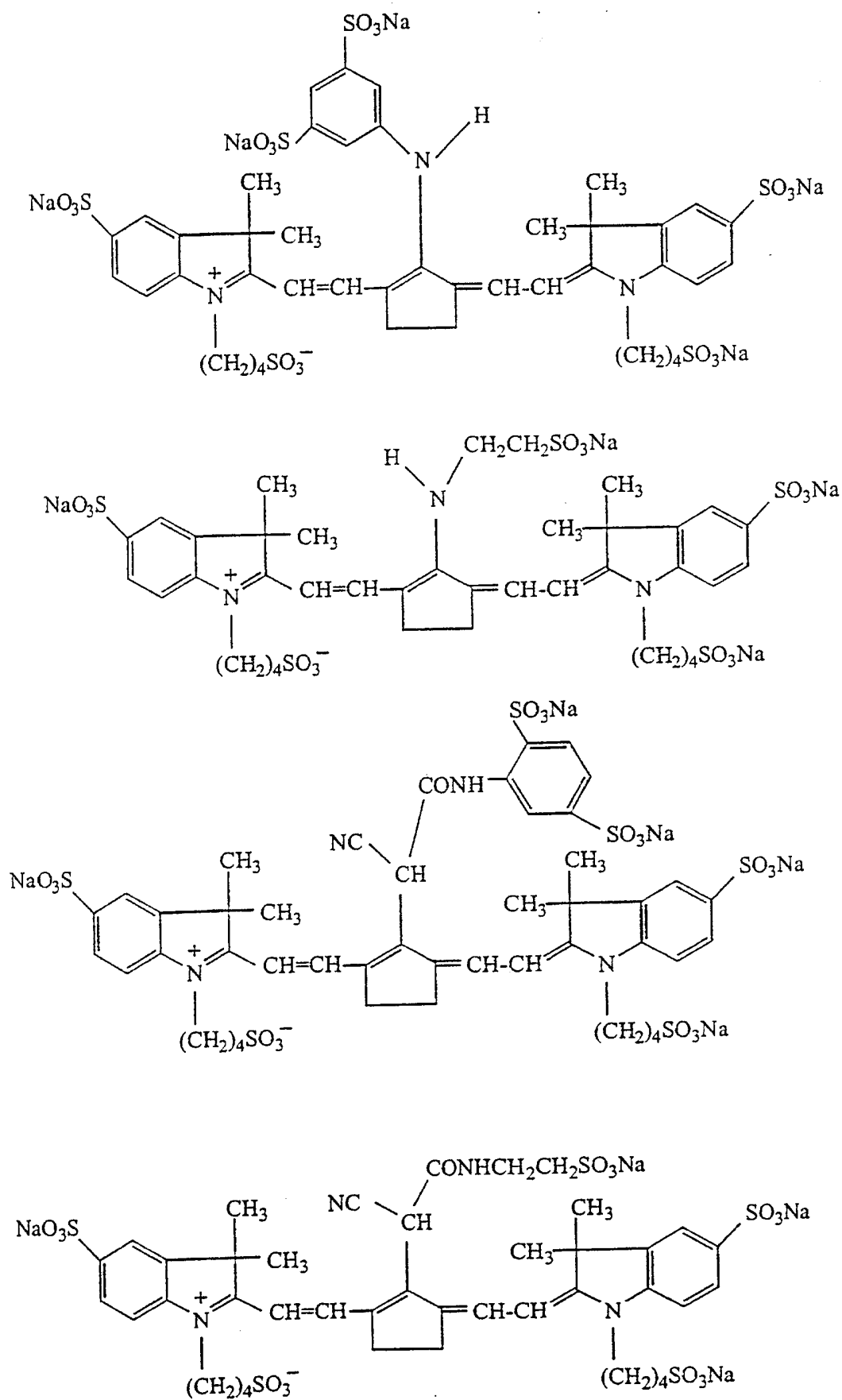


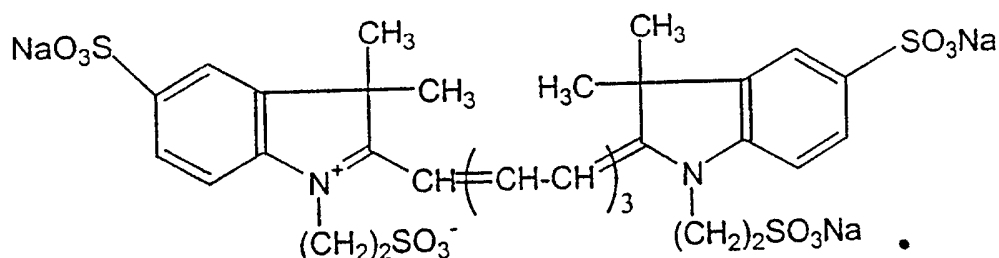
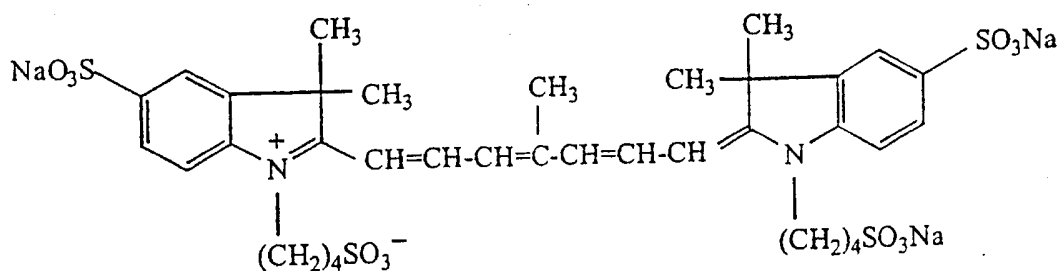












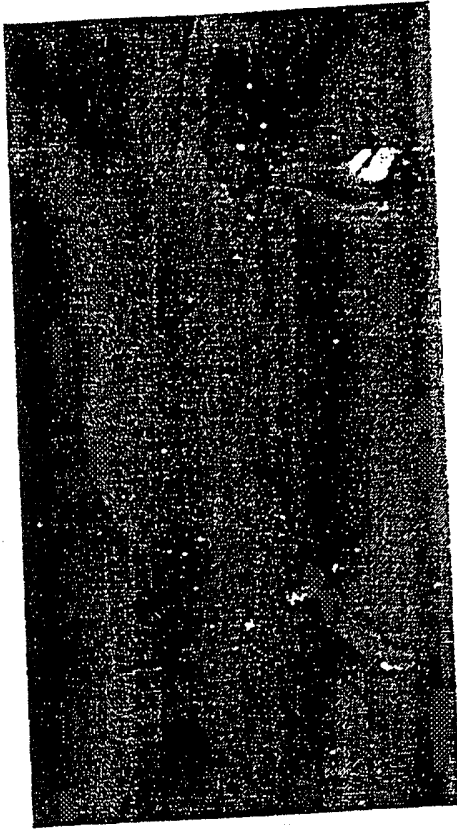
28. Sodná sůl podle nároku 15, kde uvedenou jednovaznou skupinou A je substituovaná nebo nesubstituovaná alkylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná aralkylová skupina, nižší alkoxylová skupina, případně substituovaná aminoskupina, alkylkarbonyloxylová skupina, substituovaná nebo nesubstituovaná alkylthioskupina, substituovaná nebo nesubstituovaná arylthioskupina, kyanoskupina, nitroskupina nebo atom halogenu.

16.03.01

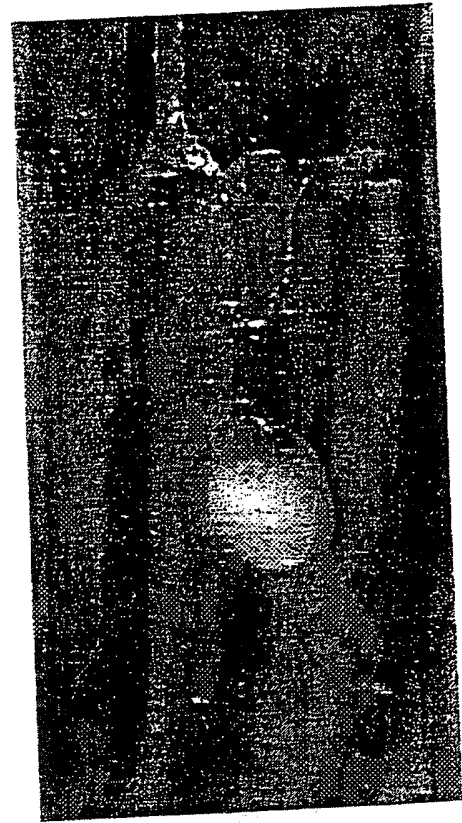
1 / 8

2001-987

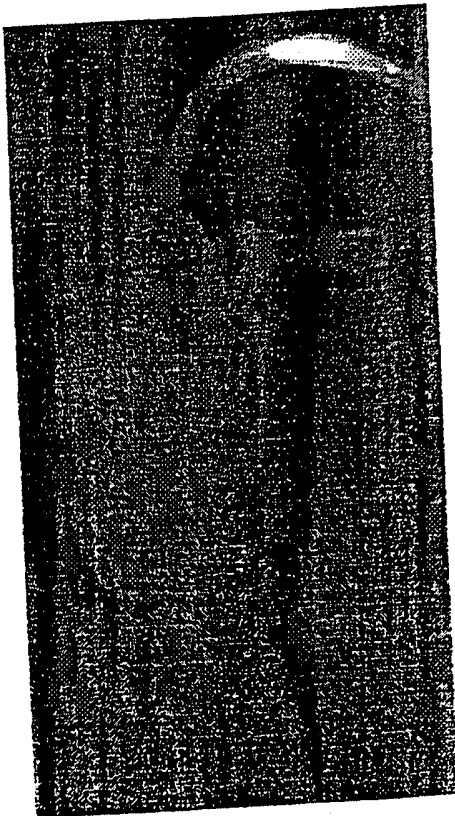
obr. 2



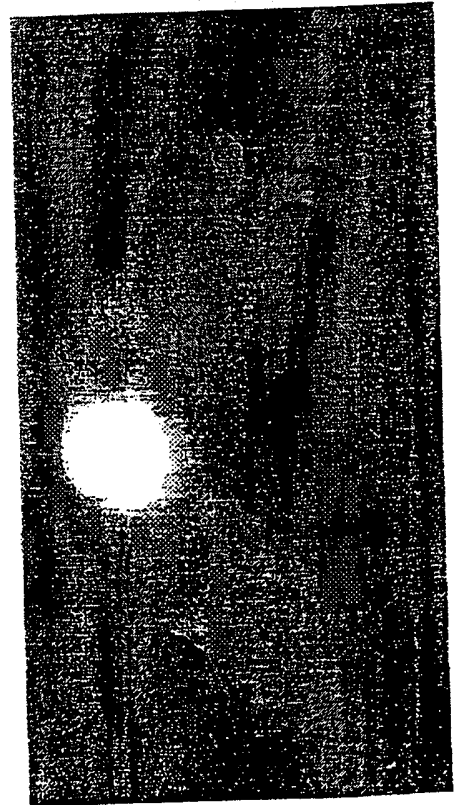
obr. 4



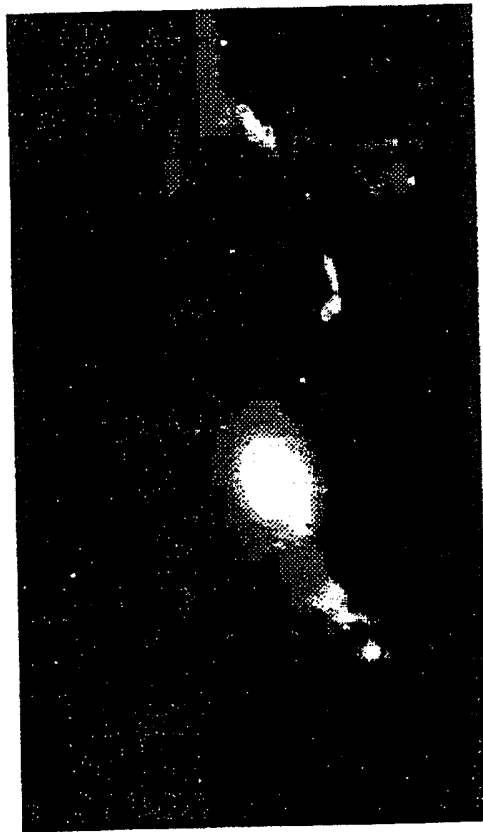
obr. 1



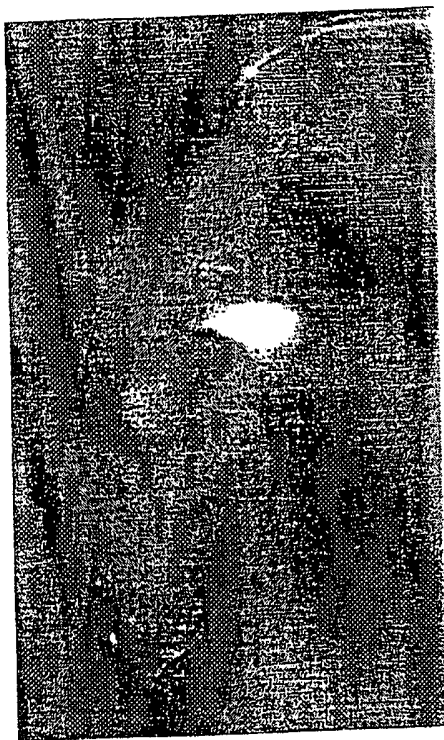
obr. 3



obr. 5



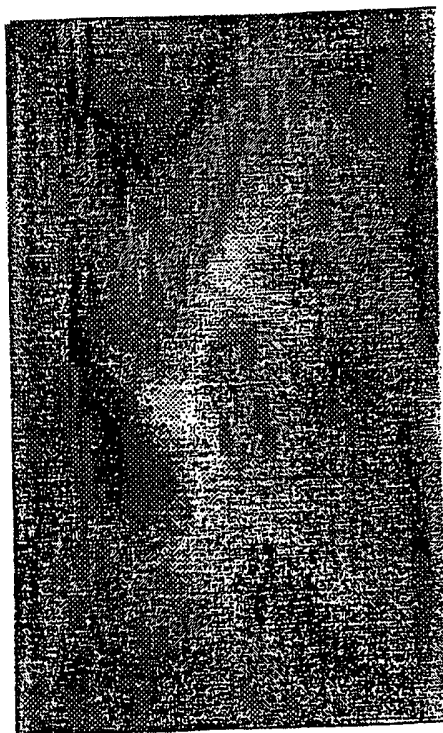
obr. 7



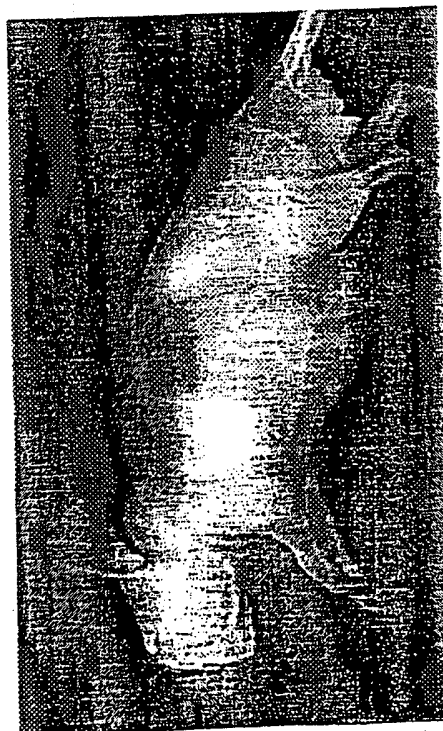
obr. 9



obr. 6



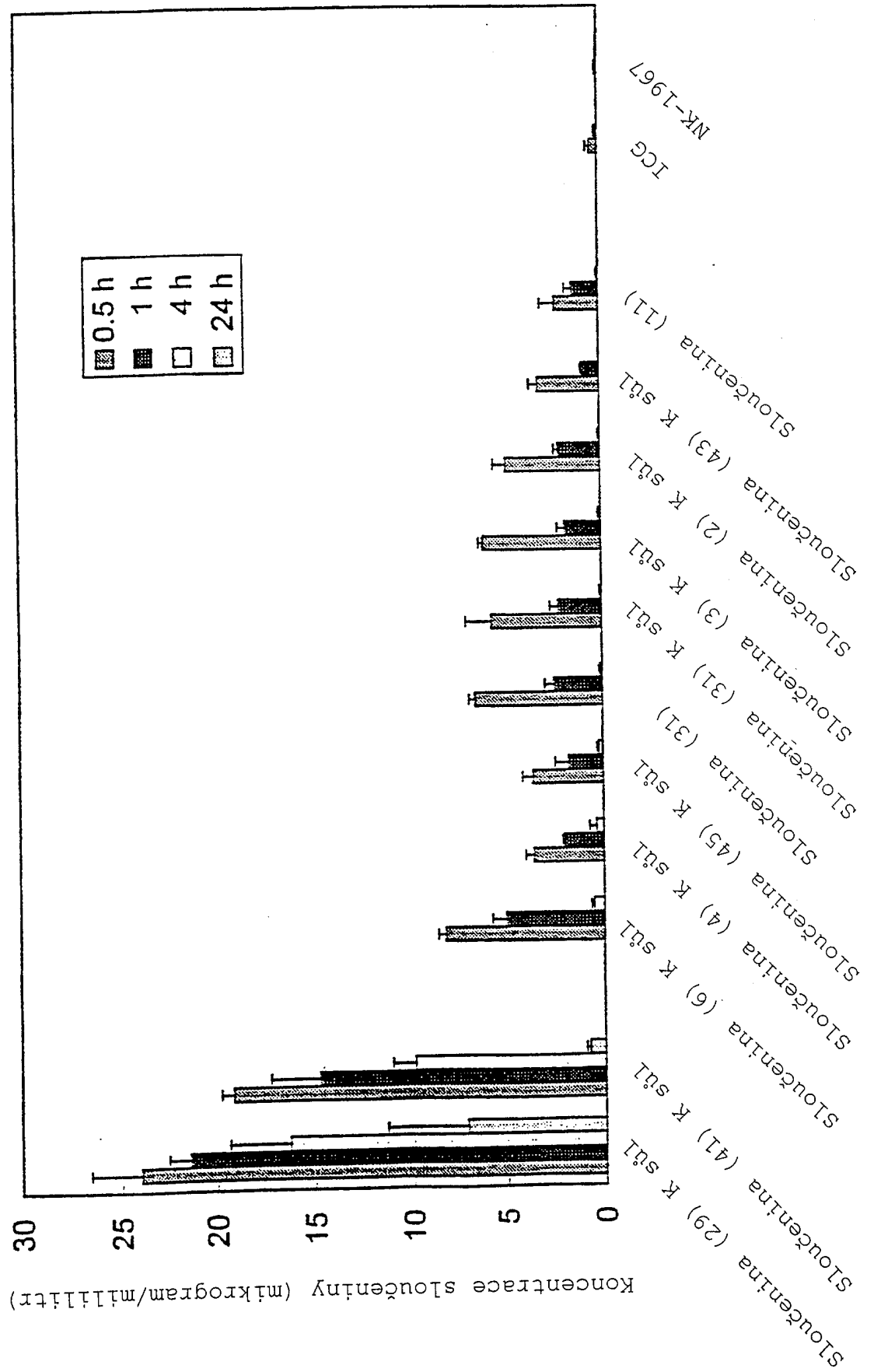
obr. 8



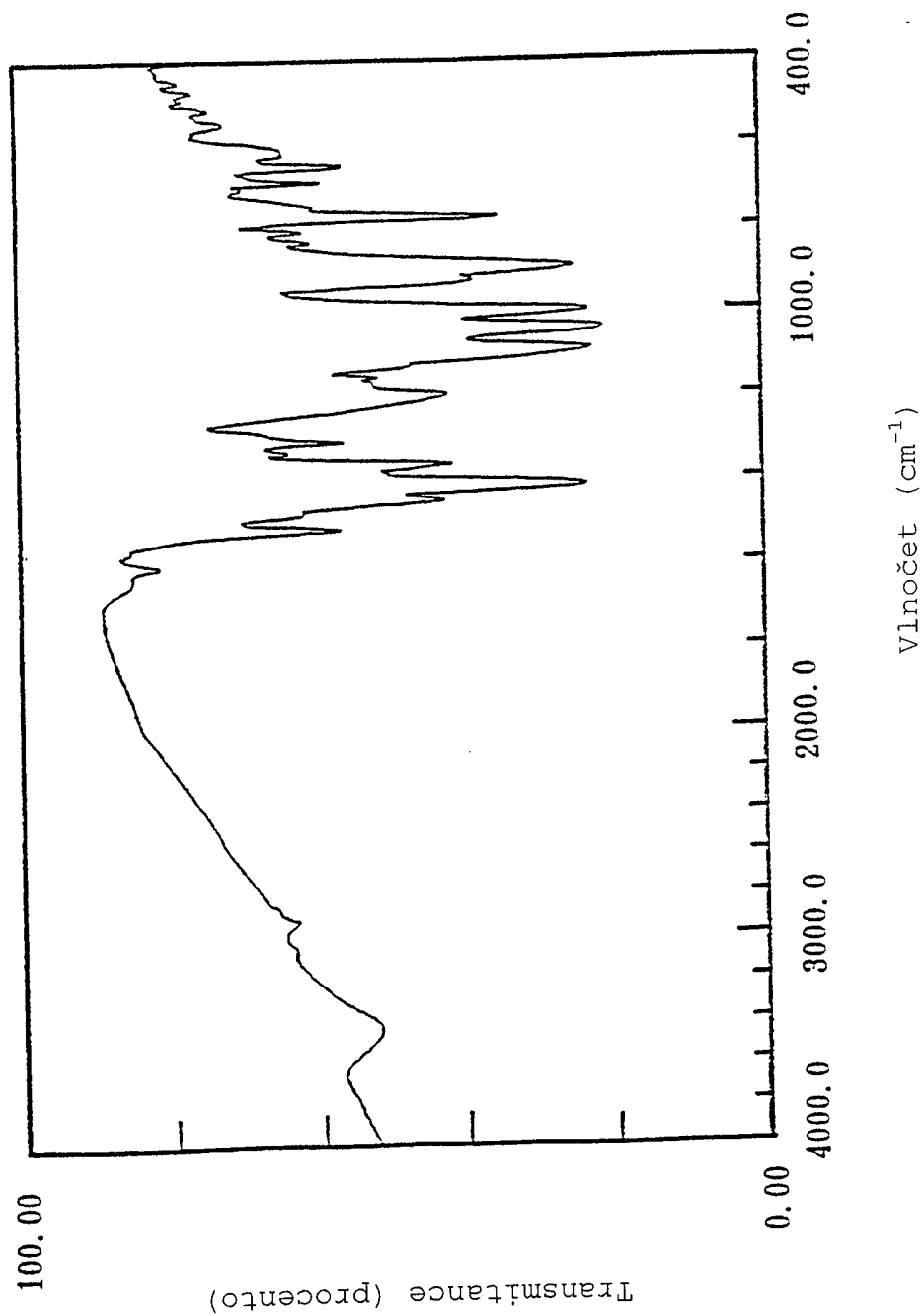
18.03.01

2001-987

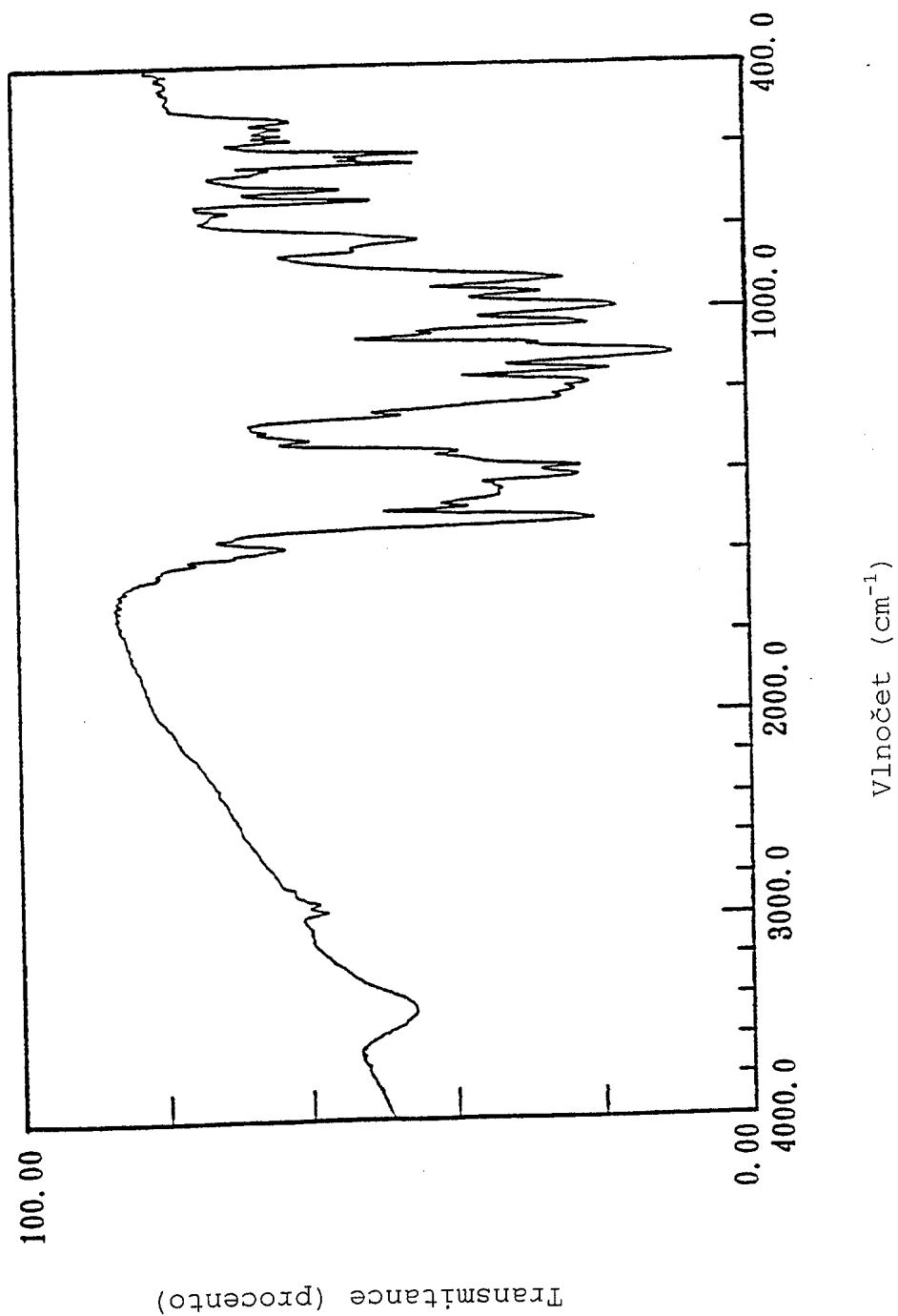
obr. 10



obr. 11



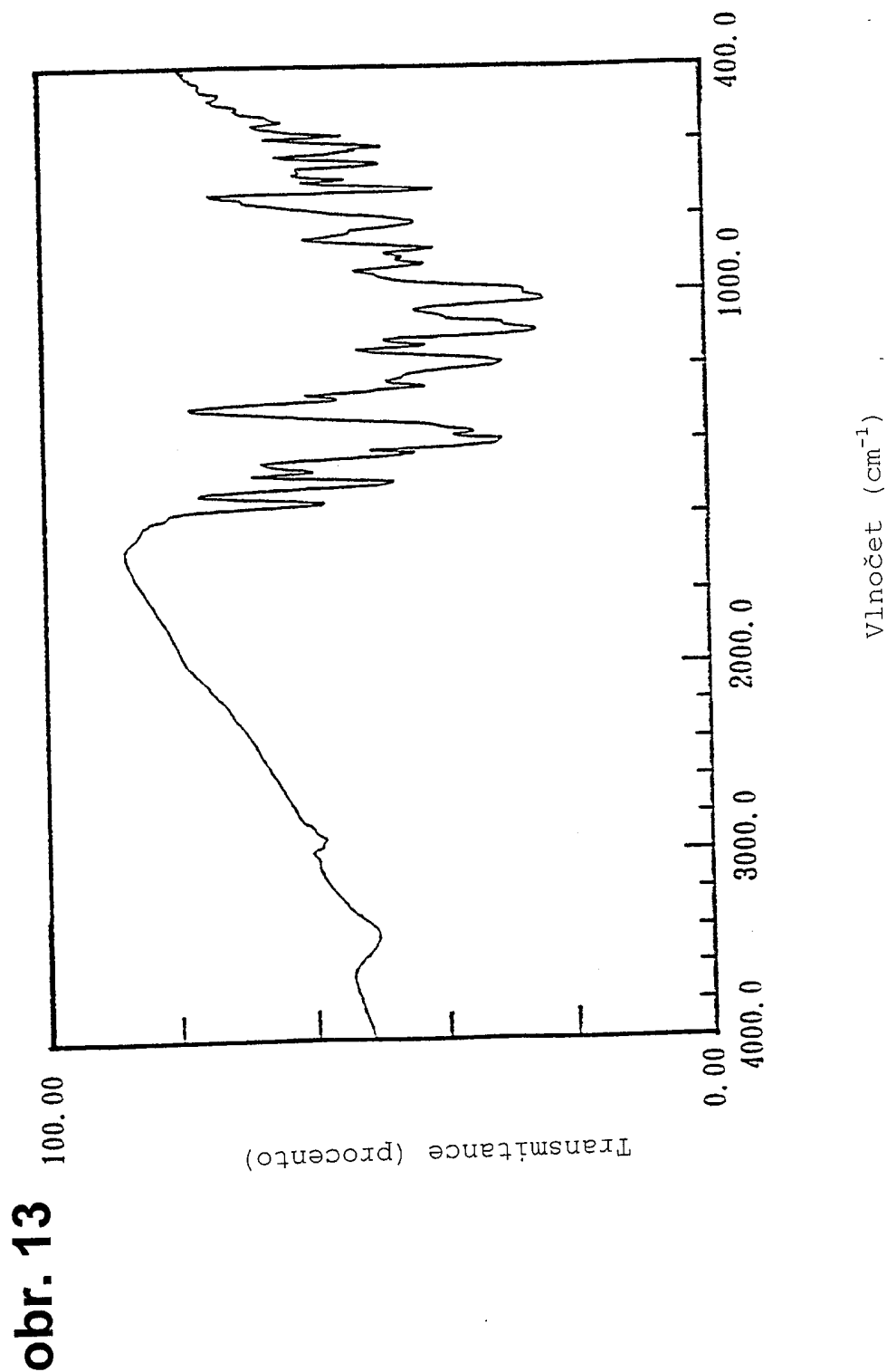
obr. 12



16.03.01

2001-987

7 / 8



16.03.01

2001-987

obr. 14

