



No. 07-080266-00000-0000

Fecha: 2007-08-06 16:51:43 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra 11 PATENTE/II Eje: 379 FASENACIONALII
As 411 PRESEN-ION Folios: 95

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2007/000114

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.



ver folio 98

☒

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: BAYER SCHERING PHARMA
AKTIENGESELLSCHAFT
Dirección: Müllerstrasse 178, 13353, Berlin
Alemania
Nacionalidad o Domicilio: ALEMANA
Lugar de Constitución: ALEMANIA

Teléfono: _____ Fax: _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: J. IAN RAISBECK
Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10
Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799
E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.376.996 Btá
TP 135.799

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA
Dirección: VER PAGINA ADJUNTA
Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/000058 Fecha Enero 5, 2006

Publicación Internacional No. WO 2006/072580 Fecha Julio 13, 2006

6

TÍTULO (54): USO DE COLORANTES DE CIANINA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES
PROLIFERATIVAS

7

Clasificación Internacional (51) A61K 49/00

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

Enero 7, 2005

(31) Número de Solicitud

05000276.5

9

Comprobante de pago No. 07-63, 423 Fecha _____

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Adjunto copia simple ver expediente No. 07-039.649**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12 x 12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional. (Modificaciones Realizadas bajo el Art. 34, Solicitamos al Despacho tener en cuenta versión modificada para su estudio)
- ☒ Otros. Búsqueda Internacional

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: J. IAN RAISBECK

FIRMA:

C.C. 79.376.996 Btá T.P. 135.799

LISTA DE INVENTORES PCT/EP2006/000058

Kai LICH
Bornimer Strasse 17a
14612 Falkensee, Alemania
Nacionalidad: Alemana

Martin PESSEL,
Stargarder Strasse 62
10437 Berlin, Alemania
Nacionalidad: Alemana

Malte BAHNER,
Habsburger Strasse 10
10781 Berlin, Alemania
Nacionalidad: Alemana

Michael SCHIRNER
Birkenallee 12
D-13158 Berlin, Alemania
Nacionalidad: Alemana

24

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 63,423
FECHA : AGOSTO 6 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

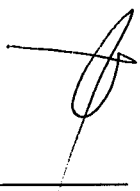
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
DLARTE RAISBECK	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	68289252	03/08/2007	482,000.00

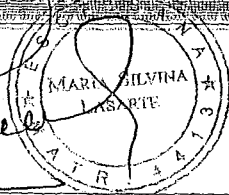
***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____





N 007422051

1 FOLIO 85.- PRIMERA COPIA.- ESCRITURA NÚMERO: VEINTICUATRO.-
2 SUSTITUCIÓN PARCIAL DE PODER: MESSERER, Dagmar a favor de
3 OLARTE, Carlos Reinaldo y otro del Poder otorgado por BAYER SCHERING
4 PHARMA AG.- En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Capital de la República
5 Argentina, el día NUEVE de MARZO del año DOS MIL SIETE, ante mí María
6 Silvina Lasarte, Escribana Autorizante, titular del Registro Notarial número 1788,
7 COMPARECE: Dagmar MESSERER, argentina, nacida el 28 de mayo de 1.968,
8 hija de Walter Messerer y Elsa Onelia Romanelli, soltera, titular del Documento Na-
9 cional de Identidad Número 20.383.892, Clave Única de Identificación Tributaria 27-
10 20383892-7, con domicilio especial en la Avenida Leandro N. Alem 1.134, Piso 10º,
11 de esta Ciudad de Buenos Aires.- La compareciente es mayor de edad.- INTERVIE-
12 NE: por su propio derecho.- Y la compareciente EXPRESA: PRIMERO: Que la
13 Sociedad "BAYER SCHERING PHARMA AG", con domicilio en Müllerstrasse
14 178, 13353, Berlín, Alemania, le confirió con fecha 22 de enero de 2007 en dicho pa-
15 ís, un Poder, el cual mediante escritura número 14 de fecha 16 de febrero de 2007,
16 otorgada ante la Escribana Mariela Vanina Scardaccione, al folio 44, protocolo co-
17 rriente de este Registro Notarial interinamente a su cargo, fue incorporado y transcrip-
18 to al mismo, cuya primera copia tengo para este acto a la vista, doy fe y en lo perti-
19 nente transcribiré en la presente.- SEGUNDO: Manifiesta bajo juramento que el refe-
20 rido poder se encuentra plenamente vigente en virtud de no haberle sido revocado,
21 suspendido ni limitado en ninguna de sus partes.- TERCERO: En consecuencia, DI-
22 CE: Que en uso de la facultad conferida SUSTITUYE PARCIALMENTE el poder
23 mencionado a favor de Carlos Reinaldo OLARTE y/o James Ian RAISBECK, al
24 solo y único objeto de que en nombre y representación de la Sociedad "BAYER
25 SCHERING PHARMA AG", y actuando en forma individual, indistinta y/o alterna-

CECBA - LEY 404 GCBA

LEGITIMACION

070312117346



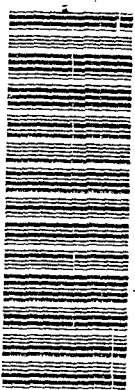
\$20.00

12/03/2007

CECBA - LEY 404 GCBA

APOSITILLA

070312054713



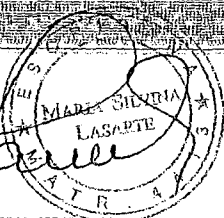
\$39.00

12/03/2007



N 007422051

damente, se presente exclusivamente ante las autoridades de COLOMBIA que co-
rrespondan y realicen los actos enumerados en el citado poder y con las facultades que
surgen del mismo, el que transcripto en lo pertinente dice: "FOLIO 44.- PRIMERA
COPIA.- ESCRITURA NÚMERO: CATORCE.-- En la Ciudad Autónoma de
Buenos Aires, Capital de la República Argentina, el día DIECISÉIS de FEBRERO del
año DOS MIL SIETE, ante mí ..., Escribana Autorizante, ..., COMPARECE: Dagmar
MESSERER, argentina, nacida el 28 de mayo de 1.968, hija de Walter Messerer y
Elsa Onelia Romanelli, soltera, titular del Documento Nacional de Identidad Número
20.383.892, Clave Única de Identificación Tributaria 27-20383892-7, domiciliada
legalmente en la Avenida Leandro N. Alem 1.134, Piso 10º, de esta Ciudad de Buenos
Aires.- La compareciente es mayor de edad.- INTERVIENE: por su propio derecho.-
Y la compareciente EXPRESA: Que a los efectos que hubiere lugar, solicita de mí, la
Autorizante, LA INCORPORACIÓN y TRANSCRIPCIÓN en este protocolo del
PODER que le fuera conferido en Berlín, Alemania, el 22 de enero de 2007, por la
Sociedad "BAYER SCHERING PHARMA AG", con domicilio en Müllerstrasse 178,
13353, Berlín, Alemania, sobre cuya plena vigencia responde la requirente bajo jura-
mento.- Yo, la Autorizante, hago constar: a) Que el instrumento de poder cuya incor-
poración y transcripción a este protocolo solicita la compareciente, se encuentra ex-
tendido en idioma castellano, certificadas las firmas por notario en idioma alemán,
debidamente legalizado en idioma alemán (Sello de Apostilla de la Convención de La
Haya del 5 de octubre de 1961) y traducido en lo pertinente al idioma nacional por la
Traductora Pública Laura Thieberger.- b) Que la compareciente en virtud de lo mani-
festado tiene interés legítimo en su requerimiento.- En consecuencia, me hace entrega
en este acto del original del instrumento de poder relacionado con su respectiva tra-
ducción al idioma nacional, el que agrego a la presente y transcripto dice: "MOE-



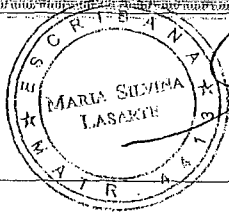
N 007422052

1 LLER & CO. (Sigue aclaración en idioma inglés) - PODER Los abajo firmante/s
2 BAYER SCHERING PHARMA AG domiciliados en Müllerstrasse 178 13353 Berlín
3 - Alemania declaran por el presente otorgar a Dagmar MESSERER poder general am-
4 plio y suficiente para recabar de las autoridades ..., sud y centroamericanas ... que co-
5 rrespondan, la obtención de patentes de invención, el registro y la renovación de mar-
6 cas y modelos y/o derechos de propiedad intelectual y/o nombres de dominio, a cuyo
7 efecto los faculta/n para llevar a cabo ante dichas autoridades todas las gestiones nece-
8 sarias al objeto indicado, presentar solicitudes, formular descripciones, oposiciones,
9 protestos, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, justificar explota-
10 ciones, solicitar testimonios, aceptar transferencias, recibir documentos y valores, per-
11 cibir y hacer cuanto fuere necesario ante las autoridades administrativas de cualquier
12 orden. Por otra parte, les confieren mandato para que en su nombre y representación
13 puedan iniciar y proseguir cualquier juicio que actualmente los que suscriben tengan o
14 en el futuro tuvieran ..., en Sudamérica, Centroamérica ..., con motivo de su nombre,
15 marcas de fábrica o de comercio, patentes de invención y modelos y/o de sus derechos
16 de propiedad intelectual que actualmente posean o adquieran en lo sucesivo, promover
17 juicios de cualquier jurisdicción, criminales, correccionales, civiles o comerciales,
18 contra los falsificadores, usurpadores o imitadores y contra los tenedores de artículos
19 que infrinjan su nombre, marcas o patentes de invención, seguir los juicios por oposi-
20 ción u otros en que fueran parte como actores o demandados, defender el nombre, las
21 marcas, patentes y modelos y/o de derechos de propiedad intelectual y/o nombres de
22 dominio, haciendo las protestas del caso o diciendo de nulidad. Al efecto, podrán pre-
23 sentarse con escritos, querellas, pedidos, y lo que fuere necesario ante cualquier auto-
24 ridad judicial, presentar testigos, documentos y demás justificativos, rendir pruebas de
25 cualquier especie, pedir nombramientos de peritos, pedir y absolver posiciones, asistir



N 007422052

a juicios verbales, declinar y prorrogar de jurisdicción, tachar, recusar, apelar, transar, someter a arbitraje o mediación, hacer renunciaciones, exigir y dar cauciones, pedir embargos preventivos, definitivos o inhibiciones y su levantamiento, pedir la venta de los bienes de los deudores, solicitar y obtener el cumplimiento de sentencias, prestar juramentos, decir de nulidad, desistir, percibir, otorgar recibos y en general practicar todos los actos y diligencias que sean precisos al desempeño de este mandato. Podrán asimismo substituir el presente poder en todo o en parte.- Dado y firmado en Berlín (Sigue fecha en idioma inglés). Bayer Schering Pharma AG (Sigue texto en idioma inglés). ppa. Sigue una firma ilegible. (Aclarado:) Dr. Noeske-Jungblut. ppa. Sigue otra firma ilegible. (Aclarado:) Dr. Klose". ES COPIA FIEL, doy fe.- En hoja adjunta consta la certificación notarial de las firmas obrantes en el poder en idioma alemán, efectuada el 22 de enero de 2007 por el Escribano Dimitri Rempen, de Berlín, Alemania, y a continuación consta la respectiva legalización de la firma y sello del nombrado Notario (Sello de Apostilla de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961), en idioma alemán, efectuada por el Presidente del Tribunal Regional de Berlín, Alemania.- En hojas adjuntas sigue la referida traducción al idioma nacional la que transcrita textualmente, dice: "TRADUCCIÓN PUBLICA - (Sobre papel con membrete de "MOELLER y CO" - América Latina - Agentes de la Propiedad Intelectual - figura un Poder otorgado por la Sociedad "BAYER SCHERING PHARMA AG", con sede en Berlín, Alemania, redactado en idioma nacional, luego del que aparecen los siguientes textos, que traducidos dicen:) "BAYER SCHERING PHARMA AG" - Patentes y licencias - (Firmado y Aclarado:) pp Dr. Noeske-Jungblut - pp (Firmado y Aclarado:) Dr. Klose.- La versión en inglés es para su información únicamente.- Registro de Actas N° R 17/2007.- Me he referido a la prohibición de intervención según el artículo 3, párrafo 1, N° 7, de la Ley de Certificaciones. Mi pregunta de si ha existi-



N 007422053

1 do una intervención previa en el sentido de la norma me fue contestaba por la negati-
2 va.- Las firmas trazadas ante mi por el Dr. Walter Klose, que nació el 26 de diciembre
3 de 1952, y de la Dra. Chistiane Noeske-Jungblut de soltera Noeske, que nació el 26 de
4 junio de 1957 – Ambos de mi personal conocimiento – Ambos con domicilio comer-
5 cial en 13353 Berlín, Müllerstrasse 178 son auténticas, de lo que doy fe.- Al mismo
6 tiempo certifico en base a que tuve a la vista en el día de hoy las actas del Registro de
7 Comercio del Tribunal de Primera Instancia de Charlottenburg, N° de Registro HR B
8 283, que la Sociedad “Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft”, con sede en Ber-
9 lín, está inscripta con el número mencionado arriba en el Registro de Comercio y que
10 la arriba mencionada Dra. Noeske-Jungblut y el arriba mencionado Dr. Walter Klose
11 están facultados en su carácter de mandatarios a representar en forma conjunta a la
12 Sociedad “Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft” de Berlín. Berlín, 22 de enero
13 de 2007.- El escribano (firma ilegible) y liquidación de derechos. (Hay un sello en
14 oblea sobre precinto:) Dimitri Rempen, Escribano de Berlín.- 9101ª E-F.- APOSTI-
15 LLA – (Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961) - País: República Federal
16 de Alemania - Este instrumento público fue firmado por Dimitri Rempen, actuando en
17 su carácter de escribano de Berlín, estando provisto del sello del escribano.- Certifica-
18 do en Berlín, el 24 de enero de 2007, por el Presidente del Tribunal Regional de Ber-
19 lín, con el N° 9101 a E-F 536/07 - Sello (hay un sello:) el Presidente del Tribunal Re-
20 gional de Berlín – Firma el Funcionario autorizado (firmado y aclarado:) Holldorf –
21 Juez Principal del Tribunal Regional.- ES TRADUCCIÓN FIEL de las partes perti-
22 nentes en los idiomas alemán e inglés del documento que se acompaña, que he vertido
23 al idioma nacional, en Buenos Aires, a 6 de febrero de 2007.- Hay una firma ilegible.
24 Hay un sello que dice: “LAURA THIEBERGER – MATRÍCULA DE TRADUCTO-
25 RES ALEMÁN – FRANCÉS – Tomo II Folio 254 (Cap.) Tomo III – 98 – (La Plata) –



N 007422053

INGLÉS – Tomo III: Folio 14 (Cap.) – Tomo III Folio 329 (La Plata) – COLEGIO DE TRADUCTORES PÚBLICOS N° 173”.- ES COPIA FIEL, doy fe.- A continuación hay un sello que dice: “COLEGIO DE TRADUCTORES PÚBLICOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES Corresponde a la Legalización N° T4-3278/07. Sigue una firma ilegible: Esteban Santiago Allegretti”.- ES COPIA FIEL, doy fe.- Al dorso en el margen superior hay un sello timbrador ...”.- A continuación sigue la legalización de la firma de la nombrada traductora, ...”.- ES COPIA FIEL, doy fe.- En este estado la compareciente DICE: que en la forma expresada deja INCORPORADO y TRANSCRIPTO en este Protocolo el Poder que agrego a la presente, solicitando de mí, la Escribana Autorizante, expida primera copia de la presente para la nombrada apoderada Dagmar MESSERER.- Constancias Notariales: Identidad de la compareciente (Artículo 1.002 del Código Civil): Se justifica la misma por conocimiento de la Autorizante.- ...- LEO esta escritura a la compareciente, quien así la otorga y en prueba de conformidad, la firma ante mí, doy fe.- Dagmar MESSERER. Ante mí: MARIELA VANINA SCARDACCIONE. Escribana. Está mi sello. CONCUERDA con su escritura matriz que pasó ante mí, al folio 44 del Registro Notarial número 1788, interinamente a mi cargo.- PARA LA APODERADA expido la presente PRIMERA COPIA en tres (3) sellos de actuación notarial numerados correlativamente desde el número N 007376153 al presente inclusive, que sello y firmo en la fecha y lugar de su otorgamiento, doy fe.- Sigue una firma ilegible y un sello que dice: Mariela V. Scardaccione – Escribana – Mat. 4527.”.- **ES COPIA FIEL**, de las partes pertinentes de la escritura de referencia, doy fe.- **CUARTO**: Finalmente la compareciente expresa: a) Que el presente otorgamiento no significa renunciar al ejercicio de las facultades sustituidas; y b) Que los nombrados apoderados sustitutos no podrán sustituir el presente poder en ninguna de sus partes.- Constancias Notariales: Identidad de la Compare-



N 007422054

1 ciente (Artículo 1.002 del Código Civil): Se justifica la misma por conocimiento de
2 la Autorizante.-Yo, la Escribana Autorizante impongo y advierto a la compareciente, a
3 tenor de lo dispuesto en el artículo 77 inciso h) de la Ley Orgánica Notarial Número
4 404, respecto de los alcances y consecuencias de las cláusulas contenidas en la presen-
5 te escritura y del derecho de leer por sí este instrumento.- LEO esta escritura a la
6 compareciente, quien así la otorga y en prueba de conformidad la firma ante mí, doy
7 fe.- Dagmar MESSERER. Ante mí: MARIA SILVINA LASARTE. Escribana. Está
8 mi sello. CONCUERDA con su escritura matriz que pasó ante mí, al folio 85 del Re-
9 gistro Notarial número 1788, a mi cargo. PARA LA PODERDANTE expido la pre-
10 sente PRIMERA COPIA en cuatro (4) sellos de actuación notarial numerados corre-
11 lativamente desde el número N 007422051 al presente inclusive, que sello y firmo en
12 la fecha y lugar de su otorgamiento, doy fe.-

13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

[Handwritten signature]



N 007422054

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50



L 007495419

EL COLEGIO DE ESCRIBANOS de la Ciudad de Buenos Aires, Capital Federal de la República

Argentina, en virtud de las facultades que le confiere la ley vigente, **LEGALIZA** la firma

y sello del escribano **MARIA SILVINA LASARTE**

obstantes en el documento anexo, presentado en el día de la fecha bajo

el N° **070312117346/0**

La presente legalización no juzga sobre

el contenido y forma del documento.

Buenos Aires, Lunes 12 de Marzo de 2007



[Handwritten signature]

ESC. EDDA ENRIQUETA SINELLI
COLEGIO DE ESCRIBANOS
CONSEJERA

CONSEJERO



APOSTILLE

REPUBLICA
ARGENTINA

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

A 00115229

1. PAÍS: REPUBLICA ARGENTINA

El presente documento público

2. Ha sido firmado por EDDA ENRIQUETA SINELLI

3. Quien actúa en calidad de CONSEJERA

4. Lleva el sello / timbre de COLEGIO DE ESCRIBANOS DE LA CIUDAD DE BUENOS

AIRES

5. En LA CIUDAD DE BUENOS AIRES 6. El día 12/03/2007

7. Por EL COLEGIO DE ESCRIBANOS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES, COMERCIO INTERNACIONAL Y CULTO

(Convenio 02/09/2003)

Bajo el número: 070312054713

10. Sello / Timbre
COLEGIO DE ESCRIBANOS
DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES



10. Firma

JUAN PEDRO A. HOWARD
COLEGIO DE ESCRIBANOS
CONSEJERO

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 July 2006 (13.07.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/072580 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 49/00 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/000058

(22) International Filing Date: 5 January 2006 (05.01.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
05000276.5 7 January 2005 (07.01.2005) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): **SCHERING AG** [DE/DE]; Mullerstrasse 170-178, 13342 Berlin (DE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **LICHA, Kai** [DE/DE]; Bornimer Strasse 17a, 14612 Falkensee (DE). **PESSEL, Martin** [DE/DE]; Stargarder Strasse 62, 10437 Berlin (DE). **BAHNER, Malte** [DE/DE]; Habsburger Strasse 10, 10781 Berlin (DE).

(74) Agents: **KRAUSS, Jan, B.** et al; **BOEHMERT & BOEHMERT**, Hollerallee 32, 28209 Bremen (DE).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: USE OF CYANINE DYES FOR THE DIAGNOSIS OF PROLIFERATIVE DISEASES

(57) Abstract: The present invention concerns the use of the cyanine dye SF64 for the diagnosis of proliferative diseases upon administration of less than 5 mg/kg body weight.

WO 2006/072580 A1

Use of cyanine dyes for the diagnosis of proliferative diseases

The present invention concerns the use of cyanine dyes, in particular SF64, 5-29, 5-36, and/or
5 5-41 for the diagnosis of proliferative diseases, in particular tumor diseases upon administration of less than 0.1 mg/kg body weight.

Background of the invention

10 Cancer is the second leading cause of death among Americans and is responsible for one out of every four deaths in the United States. In 2004 over 560,000 Americans or more than 1,500 people a day will die of cancer. Over 18 million new cases of cancer have been diagnosed since 1990 and about 1.4 million new cases will be diagnosed in 2004 alone. This estimate does not include preinvasive cancer or more than 1 million cases of none-melanoma-skin cancer expected to be diagnosed this year. The financial costs of cancer are overwhelming. According to the National Institute of Health cancers cost in the United States are more than \$
15 189 billion in 2003. This amount includes over \$ 64 billion in direct medical costs and more than \$ 125 billion in lost productivity. The number of new cancer fatalities could be reduced substantially by early diagnosis of cancers. Therefore, cancer screening in particular screening
20 tests for breast, cervical and colorectal cancers could significantly reduce the number of deaths from this diseases by finding them early when they are most treatable. Screening tests for breast, cervical and colorectal cancers may actually prevent these cancers from ever developing by detecting treatable pre-cancerous conditions.

25 Ideally screening methods are sensitive and specific, can be performed rapidly, are non-invasive, cheap and are associated with no or only neglectable side effects. For the screening for, e.g. mammary tumors the currently established screening standard involves x-ray imaging of the breast tissue a procedure which is also called mammography. Other methods involve nuclear magnetic resonance imaging, ultrasonography and thermography. By far the most
30 widely administered screening method is x-ray mammography, which has a high specificity (about 80%), however, the sensitivity depends largely on the interpretation of imaging data by the radiologist. The spatial resolution of mammography is low and tumors detected usually have a size of 1 cm or larger. However, mammography has been associated with a significant and cumulative risk of radiation exposure in particular in premenopausal woman, which have

12
82

denser breast tissue and require higher radiation dosages as older woman to obtain a sufficient sensitivity. Mammography has also been criticized for the forceful manipulation of the breast during the procedure, which might facilitate dissemination of tumor cells. Magnetic resonance imaging (MRI) has been used increasingly in the past in particular after a tumor had been identified with a different method. MRI imaging due to its high spatial resolution has a vastly superior sensitivity in comparison to x-ray based imaging techniques like mammography, however, it is less specific (specificity ranging from 37% to 97% and the predictive value for woman not previously diagnosed with breast cancer is less than 2%) much more expensive and time consuming and, thus, less amenable to mass screening of patients.

10 Recently, a further method called diffuse optical tomography (DOT) in the near-infrared (NIR) has emerged as a new imaging method with a high potential in a variety of medical imaging applications. This technique has the capacity to produce quantitative images of intrinsic and extrinsic absorption and scattering (Arridge, S. R. (1995) *Appl. Opt.* 34: 7395-7409 and Gonatas, C. P. *et al.* (1995) *Phys. Rev. E* 52: 4361-4365). Ntziachristos, V. *et al.* (2000) *Proc. Nat. Aca. Sci. U.S.A.* 97: 2767-2772) describe the use of indocyanine green (ICG) for contrast enhancement during optical imaging of the human breast *in vivo*. Optical imaging of large organs such as breast is often feasible because of the low absorption of tissue in the 700 to 850 nm spectral region. In fact, light has been investigated since the late 1920s as a diagnostic tool for breast cancer by transillumination. Transillumination, however, had low spatial resolution and afforded little in spectral quantification of the lesions detected. Hence, transillumination did not attain sufficient sensitivity and specificity to be used clinically. Vast improvements in the mathematical modelling of light propagation in tissue combined with technological advances have now made possible the application of tomographic principles for imaging with diffuse light. Diffuse optical tomography has dramatically improved the ability to localize and quantify tissue structures with light. Furthermore, the method employs none-ionizing radiation and uses relatively low costs instrumentation, which makes it suitable for mass screening of breast or other cancers accessible by light. Fluorochromes like, e.g. indocyanine (ICG, which is an absorber and fluorophor in the NIR) have been used as contrast agents. For DOT using FCG as contrast agent it has been reported that ductal breast carcinomas with a size of 1 cm and larger could be detected at a concentration of 0.25 mg/kg body weight. Other fluorescent contrast agents, which can be used in near-infrared fluorescent contrast imaging are described in, for example, EP 1 113 822 A1 and Kai

EP 1 113 822 A1 and Kai Licha *et al.* ((2000) *Photochemistry and Photobiology* 72: 392-398).

For any imaging method administered in repeat screenings it is desired that they have as little side effects as possible. If the imaging technique requires the administration of substances like contrast agents it is desirable that only small amounts of such a substances are administered to avoid potential hazardous side effects and accumulation of the drug which might occur upon repeat administration. Thus, there is a need in the prior art to identify contrast agents which can be administered in small amounts and which will still provide the desired specificity and sensitivity for routine screening applications of DOT.

Detailed Description of the Invention

Before the present invention is described in detail below, it is to be understood that this invention is not limited to the particular methodology, protocols, cell lines, vectors, and reagents described herein as these may vary. It is also to be understood that the terminology used herein is for the purpose of describing particular embodiments only, and is not intended to limit the scope of the present invention which will be limited only by the appended claims. Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meanings as commonly understood by one of ordinary skill in the art.

Preferably, the terms used herein are defined as described in "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. and KM, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Switzerland).

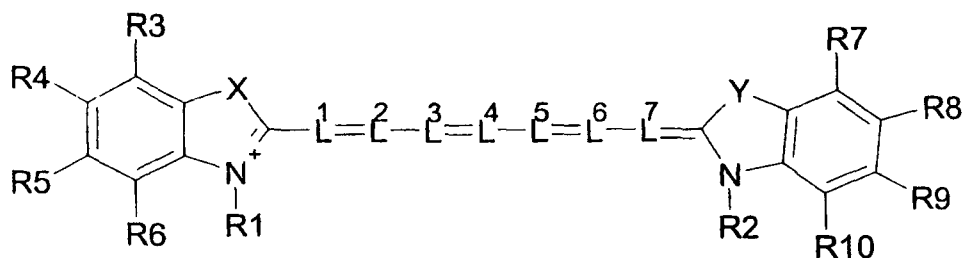
Throughout this specification and the claims which follow, unless the context requires otherwise, the word "comprise", and variations such as "comprises" and "comprising", will be understood to imply the inclusion of a stated integer or step or group of integers or steps but not the exclusion of any other integer or step or group of integer or step.

Several documents are cited throughout the text of this specification. Each of the documents cited herein (including all patents, patent applications, scientific publications, manufacturer's specifications, instructions, etc.), whether supra or infra, are hereby incorporated by reference

in their entirety. Nothing herein is to be construed as an admission that the invention is not entitled to antedate such disclosure by virtue of prior invention.

It must be noted that as used herein and in the appended claims, the singular forms "a", "an", and "the", include plural referents unless the context clearly indicates otherwise. Thus, for example, reference to "a reagent" includes one or more of such different reagents, and reference to "the method" includes reference to equivalent steps and methods known to those of ordinary skill in the art that could be modified or substituted for the methods described herein.

- 10 Given above described need in the prior art it has now been surprisingly found by the present inventors that the previously known compounds according to formula (I)



(I)

- 15 wherein L^1 to L^7 are the same or different and each is a substituted or unsubstituted methane or L^3 and L^5 together form a five or six-membered ring and L^4 is methane substituted by alkyl having 1 to 4, e.g. 1, 2, 3, or 4, carbon atoms, R^1 and R^2 are lower alkyl having 1 to 5, e.g. 1, 2, 3, 4, or 5, carbon atoms and are substituted by a sulfonic acid group, or aryl or heteroaryl optionally substituted, R^3 to R^{10} are the same or different and each is a hydrogen atom, a sulfonic acid group, a carboxyl group, a hydroxyl group, an alkyl(sulfoalkyl)amino group, a bis(sulfoalkyl)amino group, a sulfoalkoxy group, a (sulfoalkyl)sulfonyl group or a (sulfoalkyl)aminosulfonyl group and X and Y are the same or different and each is a group of the formula (II)



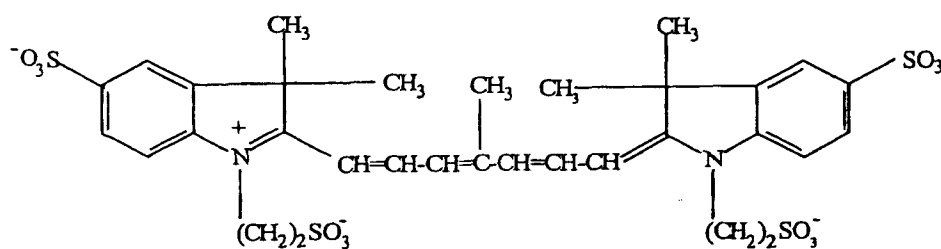
(II)

wherein R^{11} and R^{12} are unsubstituted lower alkyl having 1 to 5, e.g. 1, 2, 3, 4, or 5 carbon atoms and pharmaceutically acceptable salts there, e.g. Na, K, Ca, Mg^{2+} etc. These com-

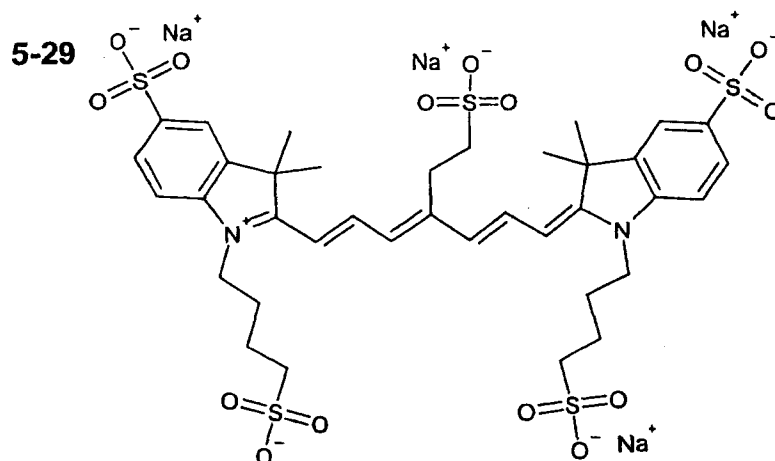
compounds provide a signal with a specificity and sensitivity sufficient for routine screening for proliferative diseases in amounts per kg body weight, which are significantly lower than amounts per kg body weight which have been used in the prior art to obtain sufficient specificity and sensitivity.

5

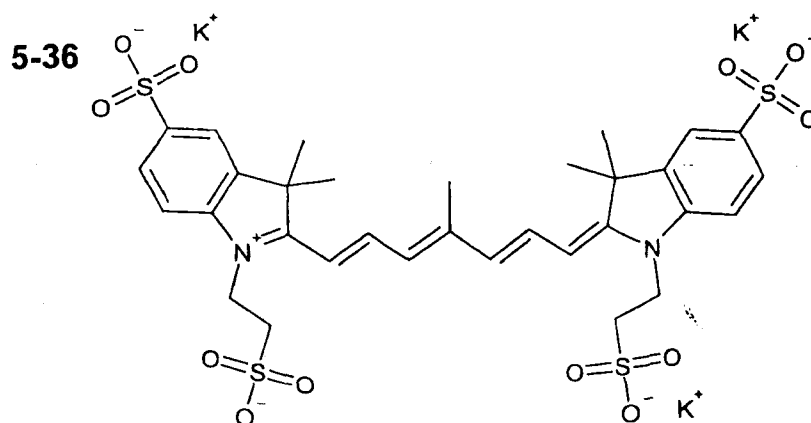
Particular preferred compounds to be used in the context of the present invention are one or more of the compounds with the structure according to formulas (III) to (VI)



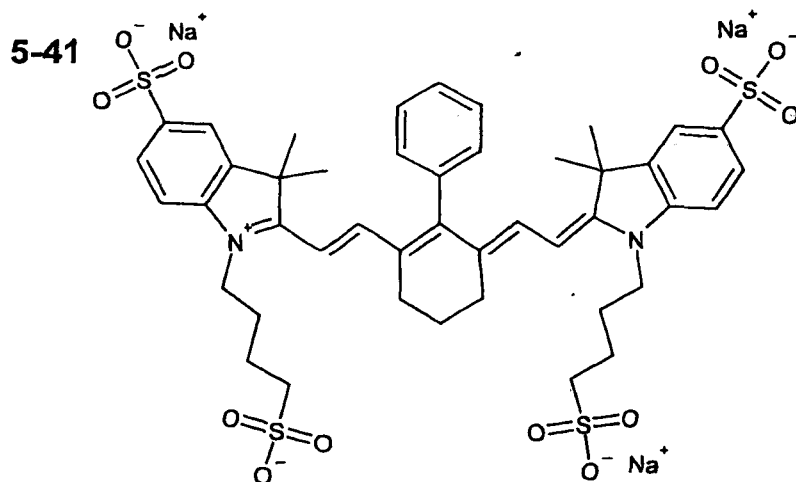
(III),



(IV)

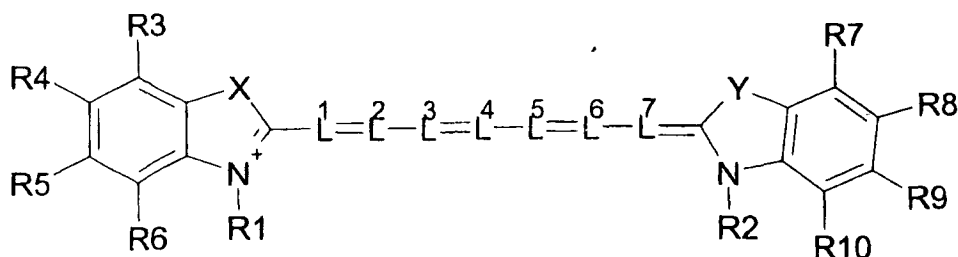


(V)



which is also known by the name SF64, 5-29, 5-36, and 5-41, and which provide a signal with a specificity and sensitivity sufficient for routine screening for proliferative diseases in amounts per kg body weight which are significantly lower than amounts per kg body weight which have been used in the prior art to obtain sufficient specificity and sensitivity. Thus, the compounds usable according to the present invention and in particular SF64, 5-29, 5-36, and 5-41, surprisingly can be administered in very small amounts and consequently with a low potential for toxic side effects, in addition the tumors detectable at this low concentration are as small as 3 mm in diameter and such significantly smaller than the tumors previously detected using other cyanine dyes like, e.g. ICG, for which detection limit are tumors of a size of 1 cm, i.e. comparable to x-ray mammography. The ability to detect tumors as small as 3 mm represents a significant advancement over the ability to detect tumors down to a size of 10 mm and has tremendous implications for the long term survival of the diagnosed patient. Tumors with a diameter of 1 cm or more have already attracted endothelial cells to form new capillaries, i.e. have been neo-vascularized, and have often already released tumor cells into the blood or lymph circulation. However, tumors with a diameter of 3 mm or less are often not vascularized and have stopped further growth due to a lack of nutrients. Since vascularization of the tumor is a prerequisite for further growth these tumors will only advance, if they develop the capability to attract endothelial cells. Consequently, the chances of preventing a cancer from ever developing into a life threatening disease is much higher, if the tumor can be detected already at a size where it is much less likely to have spread through the body and/or have attracted endothelial cells to form new capillaries.

Accordingly, a first aspect of the invention is the use of a compound according to formula (I)



(I)

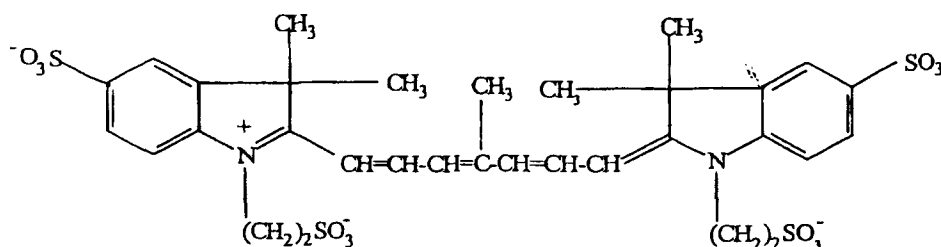
wherein L^1 to L^7 are the same or different and each is a substituted or unsubstituted methine; and L^4 is methane substituted by alkyl having 1 to 4, e.g. 1, 2, 3, or 4, carbon atoms, R^1 and R^2 are lower alkyl having 1 to 5, e.g. 1, 2, 3, 4, or 5, carbon atoms and are substituted by a sulfonic acid group, R^3 to R^{10} are the same or different and each is a hydrogen atom, a sulfonic acid group, a carboxyl group, a hydroxyl group, an alkyl(sulfoalkyl)amino group, a bis(sulfoalkyl)amino group, a sulfoalkoxy group, a (sulfoalkyl)sulfonyl group or a (sulfoalkyl)aminosulfonyl group and X and Y are the same or different and each is a group of the formula (II)



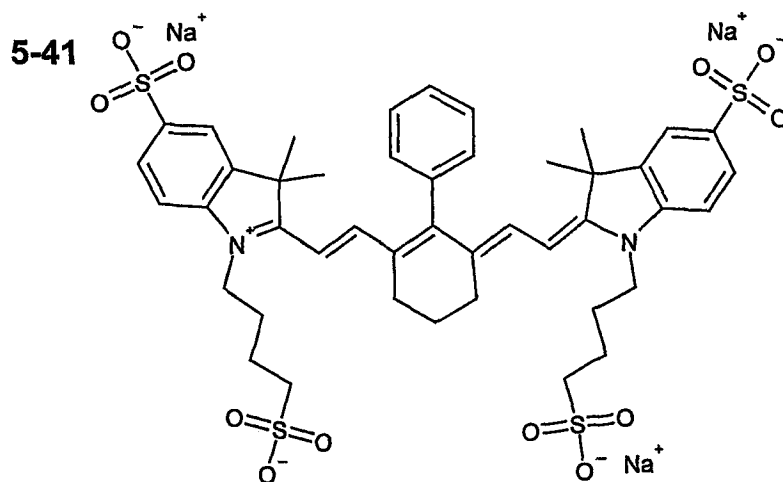
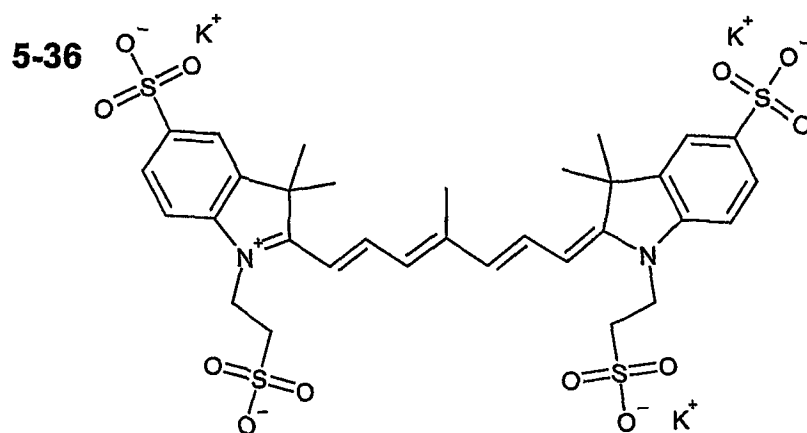
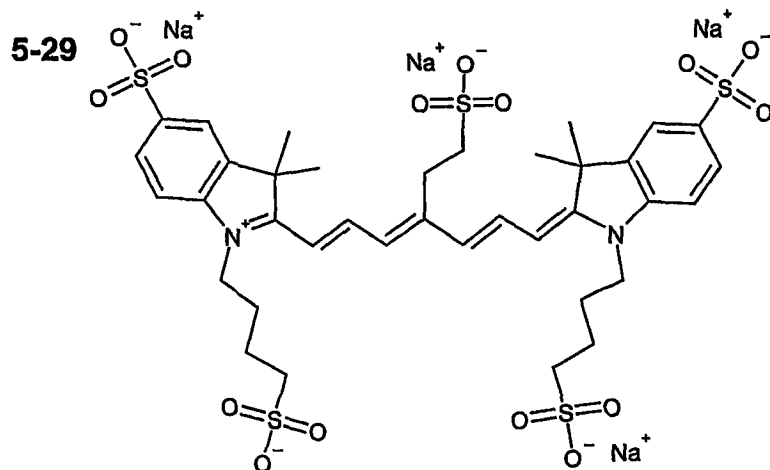
(II)

wherein R^{11} and R^{12} are unsubstituted lower alkyl having 1 to 5, e.g. 1, 2, 3, 4, or 5 carbon atoms or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for the preparation of a diagnostic composition for the detection of a proliferative disease, wherein the diagnostic composition comprises the compound in an amount of less than 0.5 and more than 0.001 mg/kg body weight per diagnostic application.

Particularly preferred compounds to be used in the context of the present invention are one or more of the compounds with the structure according to formulas (III) to (VI)



(III),



5

or pharmaceutically acceptable salts thereof, for the preparation of a diagnostic composition for the detection of a proliferative disease, wherein the diagnostic composition comprises the compound in an amount of less than 0.5 and more than 0.001 mg/kg body weight per diagnostic application.

10

The ability of the hydrophilic compounds usable according to the present invention and in particular of the cyanine dyes SF64, 5-29, 5-36, and 5-41 to act as contrast agent is in part determined by oxy- and dioxy-hemoglobin concentrations, blood oxidant saturation, contrast agent uptake into tissue and organical concentration, however, it is possible to increase the specificity and/or sensitivity of the compounds usable according to the present invention and in particular of SF64, 5-29, 5-36, and 5-41 by coupling it to a targeting compound which binds specifically to structures which are preferentially or exclusively present on proliferating cells and tissues or in the vicinity of proliferating cells and tissue. Some of these structures are associated directly with the proliferating cell or are associated with cells in the vicinity of the proliferative tissue. The former are structures altered or over-expressed in the proliferating cell like, for example, growth factor receptors, like somatostatin receptor or epidermal growth factor receptor (EGFR). A large variety of such structures have been identified by now and comprise without limitation growth factor receptors, G-protein coupled receptors, pore proteins, ion channels, drug efflux pumps, accessory binding sites for growth factors, heparan sulfate, membrane bound proteases, adhesion molecules, T cell receptors and selectins, in particular EGF, TGF, CEA, Lewis Y, CD 20, CD 33, or CD38. Other structures, which can be targeted are T-cell-defined cancer-associated antigens belonging to unique gene products of mutated or recombined cellular genes, in particular cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), p15^{Ink4b}, p53, AFP, β -catenin, caspase 8, p53, p21^{Ras} mutations, Bcr-abl fusion product, MUM-1 MUM-2, MUM-3, ELF2M, HSP70-2M, HST-2, KIAA0205, RAGE, myosin/m, 707-AP, CDC27/m, ETV6/AML, TEL/Aml1, Dekcain, LDLR/FUT, Pml-RAR α , TEL/AML1; Cancer-testis (CT) antigens, in particular NY-ESO-1, members of the MAGE-family (MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6 MAGE-10, MAGE-12), BAGE, DAM-6, DAM-10, members of the GAGE-family (GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8), NA-88A, CAG-3, RCC-associated antigen G250; Tumor virus antigens, in particular human papilloma virus (HPV)-derived E6 or E7 oncoproteins, Epstein Barr virus EBNA2-6, LMP-1, LMP-2; overexpressed or tissue-specific differentiation antigens, in particular gp77, gp100, MART-1/Melan-A, p53, tyrosinase, tyrosinase-related protein (TRP-1 and TPR-2), PSA, PSM, MCIR; widely expressed antigens, in particular ART4, CAMEL, CEA, CypB, HER2/neu, hTERT, hTRT, ICE, Mucl, Muc2, PRAME RU1, RU2, SART-1, SART-2, SART-3, and WT1.

16
X

It is known that proliferating cells in particular tumor cells produce diffusible factors, which attract endothelial cells and stimulate them to grow. Therefore, tumors are one of the few areas within the body wherein new vascularization is observed. Consequently, the proliferating tumor endothelium and structures associated with it has been used to specifically target drugs to the tumor site. Molecular structures associated with angiogenesis are reviewed in, for example, WO 96/01653, Alessi P. *et al.* (2004) and Nanda, H. and Saint-Croix (2004). Cells which form proliferative tissues express both angiogenic and anti-angiogenic factors, which as long as angiogenesis inhibitors counteract the effect of the angiogenic factors leads to a suppression of angiogenesis. Once the effect of the angiogenic factors prevail they lead to initiation of angiogenesis. Thus, both structures, i.e. angiogenesis activators and inhibitors, which are involved in the regulation of angiogenesis can be bound by the targeting compound of the present invention. Angiogenesis activators include without limitation molecular structures like, e.g. ED-B fibronectin (ED-BF), endogline (CD105) (Burrows, F. J. *et al.* (1997) Clin. Cancer Res. 1: 1623-1634), VEGF-family members, vascular endothelial growth factor (VEGFR), NRP-I, Ang1, Thie2, PDGF-bb and receptors, TGF- β 1, TGF- β 3-receptors, FGF, HGF, MCP-I, integrants ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_5\beta_1$), VE-cadherin, PICAM (CD31), ephrins, plasminogen activators, MMPs PAI-I, NOS, COX-2, A733, chemokines or Id1/Id3. Angiogenesis inhibitors include without limitation molecular structures like, e.g. VEGFR-I, Ang2, TSP-I, -2, angiostatin and related plasminogen kringle, endostatin (collagene (XVII-fragment), vasostatin, platelet factor IV, TBVIPs, MMP inhibitors, PEX, METH-I, METH-2, IFN- α , - β , - γ , IP-10, IL-4, IL-12, IL-18, prolactin, VEGF, fragment of SPARC, osteopontin fragment or maspin (Carmeliet, P. and Jain, R.K. (2000) *Nature* 407: 249-257; Yancopoulos, G. D. *et al.* (2000) *Nature* 407: 242-248; Bergers, G. and Benjamin, L.E. (2002) *Nature Reviews Cancer* 3: 401-410; Hendriks, M.J.C. *et al.* (2002) *Nature Reviews Cancer* 3: 411-421).

In a preferred embodiment the targeting compounds bind to the angiogenesis specific factors ED-BF, VEGFR or endoglin. Out of those ED-BF is a particular preferred target structure. ED-BF is splice variant of fibronectin also called oncofoetal fibronectin, which is specifically formed in newly grown microvascular structures during angiogenesis.

The component that binds to these structures is preferably a peptide (amino acid chain with two to 50 amino acid residues), a protein (amino acid chains with more than 50 amino acid

residues), a nucleic acid, a small molecule, or a sugar. In the remainder of this specification peptides and proteins are also commonly referred to as polypeptides.

5 Preferred polypeptides are ligands of structures, which are preferentially or exclusively expressed in proliferating cells or on the vicinity of proliferating cells like in vascularized or vascularizing structures, in particular vascular endothelial growth factor (VEGF), somatostatin, somatostatin analogues, bombesin, bombesin analogues, Vasoactive intestinal peptide (VIP) and analogues, neurotensin and neurotensin analogues, Neuropeptide Y and analogues and antibodies, including human, humanized and chimeric antibodies; antibody binding domain comprising fragments, e.g. Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc, Facb; single chain antibodies, e.g. single chain Fvs (scFvs); and diabodies.

A large variety of such antibodies has been described in the literature and include for ED-BF: L19 and E8 (see Viti F. et al. (1999) Cancer Res. 59:347-352), the BC-I monoclonal antibody 15 described in EP 0 344 134 B1, which is obtainable from the hybridoma deposited at the European Collection of Animal Cell Cultures, Porton Down, Salisbury, UK under the number 88042101 or a chimeric or humanized version thereof, the antibodies against ED-BF with the specific V_L and V_H sequences disclosed in WO 97/45544 A1, the antibodies against ED-BF with the specific V_L and V_H sequences disclosed in WO 99/5857 A2, the antibodies against 20 ED-BF with the specific V_L and V_H sequences disclosed in WO 01/62800 A1 and AP38 and AP39 (Marty C, et al. (2001) Protein Expr. Purif. 21:156-64). Antibodies specific to ED-BF have been reviewed in Ebbinghaus C, et al. (2004) Curr Pharm Des. 10:1537-49. AU these antibodies or antibody binding fragments thereof can be used as angiogenesis specific binding component in a preferred use of the present invention. Particularly preferred antibodies are 25 L19, E8, AP 38 and AP 39 or binding domain comprising fragments thereof.

Antibodies for VEGF-R include Bevacizumab (AvastinTM, rhumAb-VEGF developed by Genentech and Roche), the anti-VEGFR-I antibody mAb 6.12, the fully human anti-VEGFR-2 antibodies IMC-2C6 and MC-1 121, the fully human anti-VEGFR-3 mAb HF4-3C5 (all 30 hncclone Systems Inc.), and KM-2550 (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.), an anti-VEGFR-1 antibody (Salgaller ML (2003) Current Opinion in Molecular Therapeutics 5(6):657-667). Antibodies for endoglin include: SN6h, SN6, SN6a, SN6j, P3D1, P4A4, 44G4, GRE, E-9, CLE-4, RMAC8, PN-E2, MAEND3, TEC4, TECII, All, 8E1 1. Clone SN6h has been used extensively to study expression of endoglin in different tumor entities by immunohistochem-

17
17

immunohistochemistry (Wikström P. et al. (2002) *The Prostate* 51:268-275; Li C. et al. (2003) *Br. J. Cancer* 88:1424-1431; Saad R.S. et al. (2004) *Modern Pathol.* 17: 197-203). Of the same SN6 series antibodies SN6, SN6a and SN6j have been described (She X. et al. (2004) *Int. J. Cancer* 108:251-257). For the antibody clones P3D1, P4A4, 44G4, GRE, E-9, CLE-4, RMAC8, PN-E2, MAEND3, TEC4, TECII the binding epitopes of endoglin have been determined (Pichuantes S. et al. (1997) *Tissue antigens* 50:265-276). For some of these antibodies and antibody clone All the differential expression of endoglin has been investigated on normal and tumor tissues of human origin (Duff S. E. et al. (2003) *FASEB J.* 17:984-992). WO 02/02614 discloses further endoglin specific antibodies, e.g. scFv C4. In one of the last publications on antibodies against CD105 the clone 8E11 was investigated for its prediction of metastatic risk in breast cancer patients by immunohistochemistry (Dales J.P. et al. (2004) *Br. J. Cancer* 90:1216-1221). All these antibodies or antibody binding fragments thereof can be used as angiogenesis specific binding component in a preferred use of the present invention.

In addition many antibodies or binding fragments thereof, which specifically bind to various tumor cells themselves have been described in the prior art and include without limitation antibodies against G-protein coupled receptors, pore proteins, ion channels, drug efflux pumps, accessory binding sites for growth factors, heparan sulfate, membrane bound proteases, adhesion molecules, T cell receptors and selectins, in particular EGF, TGF, CEA, Lewis Y, CD 20, CD 33, or CD38. Furthermore antibodies or binding fragments thereof, against T-cell-defined cancer-associated antigens belonging to unique gene products of mutated or recombined cellular genes can be used, in particular cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), p15^{Ink4b}, p53, AFP, β -catenin, caspase 8, p53, p21^{Ras} mutations, Bcr-abl fusion product, MUM-1 MUM-2, MUM-3, ELF2M, HSP70-2M, HST-2, KIAA0205, RAGE, myosin/m, 707-AP, CDC27/m, ETV6/AML, TEL/Aml1, Dekcain, LDLR/FUT, Pml-RAR α , TEL/AML1; Cancer-testis (CT) antigens, in particular NY-ESO-1, members of the MAGE-family (MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6 MAGE-10, MAGE-12), BAGE, DAM-6, DAM-10, members of the GAGE-family (GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8), NA-88A, CAG-3, RCC-associated antigen G250; Tumor virus antigens, in particular human papilloma virus (HPV)-derived E6 or E7 oncoproteins, Epstein Barr virus EBNA2-6, LMP-1, LMP-2; overexpressed or tissue-specific differentiation antigens, in particular gp77, gp100, MART-1/Melan-A, p53, tyrosinase, tyrosinase-related protein (TRP-I and TPR-2), PSA, PSM, MCIR; widely expressed

expressed antigens, in particular ART4, CAMEL, CEA₅, CypB, HER2/neu, hTERT, hTRT, ICE, Mucl, Muc2, PRAME RUI, RU2, SART-I, SART-2, SART-3, and WTI.

5 It is well known in the art that nucleic acids can possess specific binding properties, thus, the targeting component can also be a nucleic acid. Preferably, such nucleic acids include DNA, RNA, aptamers, and PNA, wherein aptamers are particularly preferred. Methods to identify specifically binding aptamers are well known in the art and are described, for example, in WO 93/24508 A1, WO 94/08050 A1, WO 95/07364 A1, WO 96/27605 A1, and WO 96/34875 A1. The methods disclosed in these documents are hereby specifically referenced and can be
10 used in the identification of aptamers, which specifically bind to proliferating tissue or to tissue in the vicinity of proliferating tissue like newly formed and/or proliferating endothelium. Particularly preferred targeting compounds for the use of the present invention are angiogenesis specific binding aptamers. Preferred aptamers employed in the use of the present invention specifically recognize ED-BF, endoglin or VEGFR.

15 With the advent of high throughput screening of small molecules, i.e. non peptidyl, non nucleic acid compounds, of a molecular weight lower than 1.000 g/mol, preferably lower than 500 g/mol, it has been possible to identify small molecules with particular binding properties. Such small molecules can equally be employed as a targeting component in the use of the
20 present invention. A preferred small molecule is 2,2-diphenylethylamine, which has been identified to specifically bind to ED-BF (Scheuermann J. (2002) Isolation of binding molecules to the EDB domain of fibronectin, a marker of angiogenesis. Dissertation submitted to Swiss Federal Inst. of Technology, Zurich).

25 Above targeting compounds can be coupled to the compounds usable according to the present invention and in particular to SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 by a direct or indirect bond. In this context the term "direct bond" means a covalent bond to a residue of the targeting compound while the term "indirect bond" as used herein means that one or more additional chemical residues which are connected by a covalent or non-covalent bond are located between the SF64 dye and the targeting compound. These one or more additional chemical residues
30 is also termed "spacer". A spacer can, e.g. provide a spatial separation between the targeting compound and the SF64 dye. Several methods of coupling the compounds usable according to the present invention and in particular the cyanine dyes SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 to a targeting compound as outlined above are known in the art and usually involve the

18
18

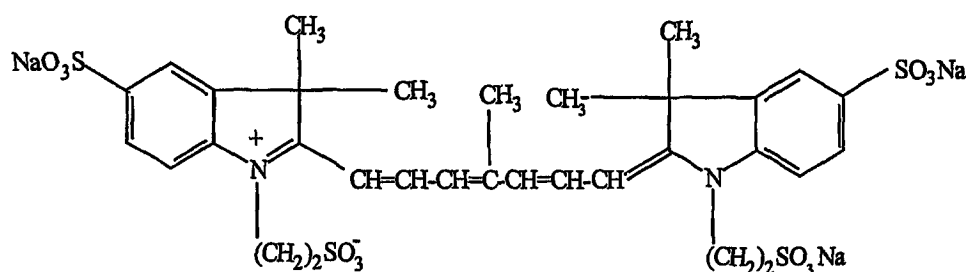
introduction of reactive functionalities into the dye, synthesize the dye as a derivative with reactive functionalities and/or into the targeting compound, which are capable of forming covalent bonds. Such groups include, for example, thio, hydroxy, amino or carboxy groups. For the compounds usable according to the present invention and in particular for SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 the coupling can be affected at either of the indole groups and/or the methyl groups at the 3 position of the indole heterocycle or the at methyl group located in the middle of the heptatrien or can be affected at any of the carbone residues of the heptatrien. In addition the coupling between the targeting compound and the compounds usable according to the present invention and in particular SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 can be affected at the alkyl-chains linked to the indole nitrogen. Preferably, the targeting compound is coupled to one of the methyl groups at the 3 position of the indole or to the 4-methyl group of the heptatrien.

The term "ligand of receptors" refers to polypeptides, which specifically bind to cell surface receptors, i.e. which are natural binding partners of the receptor. The interaction between the receptor and its ligand can have different consequences, on one hand it is possible that the ligand and receptor simply act as a tether between, for example, two cells or that the binding can lead to a conformational or functional change of the receptor, which in turn can result in e.g. activation of an enzymatic function of receptor or association of the receptor with new and/or different further components within the cell membrane, on the extra cellular site or at the cytoplasmic site of the cell membrane. In this context ligands can have an agonistic or antagonistic effect on receptor function. Receptor ligands within the meaning of the invention are also modified ligands, which might carry additional N- or C-terminal amino acids or wherein amino acids have been replaced without a significant decrease of binding activity to the receptor. In this context a decrease by more than 90% would be considered significant. Preferably, modified ligands show an increase in specific binding. Examples of such ligands of receptors are VEGF, somatostatin and analogues thereof, bombesin or and bombesin analogues, Vasoactive intestinal peptide (VIP) and analogues, neurotensin and neurotensin analogues, Neuropeptide Y and analogues thereof.

Preferably, the compound according to formula (I) and/or (III) to (VI) above is used as a sodium salt, however, it is also possible to use other pharmaceutical acceptable salts in addition to or instead of sodium, i.e. replacing one or more of the sodium ions in the molecule with one or more pharmaceutically acceptable other organic or inorganic cation including other alkali metal ions like potassium, alkaline earth metals such as magnesium, calcium and the

the like, organic cations such as triethyl ammonium, tributyl ammonium, pyridinium and the like, salts of amino acids, such as lysine, arginine and the like. A particularly preferred sodium salt of the compound usable according to the present invention is depicted in formula (VII)

5



(VII).

The proliferative diseases which can be diagnosed using above-indicated amount of the compound usable according to the present invention is preferably selected from the group consisting of a tumor, a precancerosis, a dysplasia, a metaplasia, psoriasis, psoriatic arthritis, rheumatoid arthritis, endometriosises and/or an ocular disease.

Preferred proliferative diseases, which are diagnosed, are tumors. Tumors can be further differentiated in the primary tumor or a metastasis thereof. Often the cell which have metastasized grow more rapidly, shows less anchorage dependence, have a higher chromosomal ploidy and have gained the capability to extravasate from the circulation due to the expression of proteases like, e.g. collagenases, matrix metalloproteinases and the like. Thus, preferably a tumor is diagnosed prior to it having metastasized. While the risk that a primary tumor forms metastasizes in general increases with increasing size some tumors like, for example, melanomas often metastasise when the have a size of just one or a few millimetres other tumors are much less prone to early dissemination of tumor cells throughout the body like, for example, prostate cancer. A significant advantage of the use of the present invention is the ability to detect small sized proliferative lesions, in particular primary tumors. Preferably the proliferative lesion detected is smaller than 10 mm, preferably smaller than 9 mm, preferably smaller than 8 mm, preferably smaller than 7 mm, preferably smaller than 6 mm, preferably smaller than 5 mm and most preferably smaller than 4 mm.

Preferably the tumor diagnosed according to the use of the present invention is a malignoma
30 of the gastrointestinal or colorectal tract, liver, pancreas, kidney, bladder, thyroid, prostate, en-

19
14

endometrium, ovary, testes, melanoma, dysplastic oral mucosa, invasive oral cancer, small cell or non-small cell lung carcinoma; a mammary tumor, including hormone-dependent breast cancer, hormone independent breast cancers; transitional and squamous cell cancers; neurological malignancy including neuroblastoma, gliomas, astrocytomas, osteosarcoma, meningioma; soft tissue sarcoma; hemangioma and an endocrinological tumor, including pituitary adenoma, pheochromocytoma, paraganglioma, a haematological malignancy including lymphoma and leukemia or the metastasis originates from one of above mentioned tumors. Particularly preferred tumors are tumors of the breast, cervix, prostate, testis, wherein the organ/tissue from which the tumor developed is easily accessible from outside the body or by endoscopic means.

The precancerosis, which is detectable according to the use of the present invention is preferably selected from the group consisting of precancerosis of the skin, in particular actinic keratosis, cutaneous horn, actinic cheilitis, tar keratosis, arsenic keratosis, x-ray keratosis, Bowen's disease, bowenoid papulosis, lentigo maligna, lichen sclerosus, and lichen ruber mucosae; precancerosis of the digestive tract, in particular erythroplakia, leukoplakia, Barrett's esophagus, Plummer-Vinson syndrome, crural ulcer, gastropathia hypertrophica gigantea, borderline carcinoma, neoplastic intestinal polyp, rectal polyp, porcelain gallbladder; gynaecological precancerosis, in particular carcinoma ductale in situ (CDIS), cervical intraepithelial neoplasia (CIN), leukoplakia, endometrial hyperplasia (grade III), vulvar dystrophy, vulvar intraepithelial neoplasia (VIN), hydatidiform mole; urologic precancerosis, in particular bladder papillomatosis, Queyrat's erythroplasia, testicular intraepithelial neoplasia (TIN), leukoplakia; carcinoma in situ (CIS); precancerosis caused by chronic inflammation, in particular pyoderma, osteomyelitis, acne conglobata, lupus vulgaris, and fistula.

Dysplasia is frequently a forerunner of cancer, and is found mainly in the epithelia; it is the most disorderly form of non-neoplastic cell growth, involving a loss in individual cell uniformity and in the architectural orientation of cells. Dysplastic cells often have abnormally large, deeply stained nuclei, and exhibit pleomorphism. Dysplasia characteristically occurs where there exist chronic irritation or inflammation. Dysplastic disorders which can be diagnosed according to the present invention include, but are not limited to, anhidrotic ectodermal dysplasia, anterofacial dysplasia, asphyxiating thoracic dysplasia, atrioidigital dysplasia, bronchopulmonary dysplasia, cerebral dysplasia, cervical dysplasia, chondroectodermal dysplasia,

chondroectodermal dysplasia, cleidocranial dysplasia, congenital ectodermal dysplasia, craniodiaphysial dysplasia, craniocarpotarsal dysplasia, craniometaphysial dysplasia, dentin dysplasia, diaphysial dysplasia, ectodermal dysplasia, enamel dysplasia, encephalo-
 5 ophthalmic dysplasia, dysplasia epiphysialis hemimelia, dysplasia epiphysialis multiplex, dysplasia epiphysialis punctata, epithelial dysplasia, faciodigitogenital dysplasia, familial fibrous dysplasia of jaws, familial white folded dysplasia, fibromuscular dysplasia, fibrous dysplasia of bone, florid osseous dysplasia, hereditary renal-retinal dysplasia hidrotic
 10 ectodermal dysplasia, hypohidrotic ectodermal dysplasia, lymphopenic thymic dysplasia, mammary dysplasia, mandibulofacial dysplasia, metaphysical dysplasia, Mondini dysplasia, monostotic fibrous dysplasia, mucoepithelial dysplasia, multiple epiphysial dysplasia, oculoauriculovertebral dysplasia, oculodentodigital dysplasia, oculovertebral dysplasia, odontogenic dysplasia, ophthalmomandibulomelic dysplasia, periapical cemental dysplasia, polyostotic fibrous dysplasia, pseudoachondroplastic spondyloepiphysial dysplasia, retinal
 15 dysplasia, septo-optic dysplasia, spondyloepiphysial dysplasia, and ventriculoradial dysplasia.

15

Metaplasia is a form of controlled cell growth in which one type of adult or fully differentiated cell substitutes for another type of adult cell. Metaplastic disorders, which are detectable according to the use of the present invention are preferably selected from the group consisting of agnogenic myeloid metaplasia, apocrine metaplasia, atypical metaplasia, autoparenchymatous metaplasia, connective tissue metaplasia, epithelial metaplasia, intestinal metaplasia,
 20 metaplastic anemia, metaplastic ossification, metaplastic polyps, myeloid metaplasia, primary myeloid metaplasia, secondary myeloid metaplasia, squamous metaplasia, squamous metaplasia of amnion, symptomatic myeloid metaplasia and regenerative metaplasia.

25

The ocular disease, which is detectable according to the use of the present invention is preferably selected from the group consisting of trachoma, retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy, neovascular glaucoma and age-related macular degeneration.

30 Endometriosis is a gynecological disease defined by the proliferation of endometrial tissue outside the uterine cavity. Proliferating endometrial cells can distribute through the entire body and endometrial lesions have already been found in the lung and in other organs and in that respect the distribution of endometrial lesions resembles the distribution of micrometastasis. In a preferred embodiment of the use of the present invention the endometric lesions, e.g.

lesions, e.g. endometrial cell clusters, which are detected are hematogenous cell clusters, cavitory cell clusters, intraluminal cell clusters, lymphatic cell clusters, local cell clusters and/or regional cell clusters.

- 5 The use of the present invention can be for routine diagnosis i.e. for screening for the respectively indicated diseases. However, in a further embodiment the conjugates are used once the disease has been diagnosed with, for example, a standard x-ray procedure, e.g. mammography, a whole body scan or MRI. The patient is then examined for metastases and/or small (additional) primary tumor(s). Such an examination can occur for a better assessment of the severity, e.g. stage of the disease, or to determine the best treatment options and/or prior, during and/or after a treatment procedure (e.g. drugs, radiation or surgery). If performed prior to a treatment procedure the use of present invention due to its high sensitivity allows the determination whether, e.g. metastases have already formed in the vicinity of the primary tumor, and, thus, a better determination of the treatment regimen, e.g. whether a lumpectomy or rather a mastectomy is indicated in breast cancer.

- After treatment the use of the diagnostic procedure of the present invention allows to assess the success of the treatment procedure and to determine subsequent treatment regimens, e.g. radiation or chemotherapy. When used during a surgical procedure it is, for example, possible to detect metastases in tissue, e.g. lymph nodes, surrounding of the primary tumor. In this embodiment the use of the present invention allows more complete removal of tumors or metastases during a surgical procedure.

- In a further aspect of the use of the present invention the diagnostic composition further comprises pharmaceutical acceptable materials such as, for example, pharmaceutically acceptable salts to adjust the osmotic pressure, buffers, preservatives, carriers and/or excipients. Preferably the diagnostic composition is supplied in the form of a pyrogen-free parenterally acceptable pharmaceutical form, which may be an aqueous solution or a lyophilisate for the reconstitution prior to administration. The preparation of such a pharmaceutical composition having due regard to pH isotonicity, stability and the like is within the skill in the art. The diagnostic compositions used according to the present invention may include pharmaceutically acceptable diluents, such as, for example, sodium chloride injection and Ringer's injection. For administration to humans, the composition may be administered in autologous serum or plasma.

In a preferred use of the present invention the diagnostic compound is administered parenterally and more preferred intravenously. After intravenous administration of the compound(s) usable according to the present invention and in particular of SF64, 5-29, 5-36, and 5-41 imaging *in vivo* can take place in a matter of a few minutes. However, imaging can take place, if desired hours or even longer after the compound(s) usable according to the present invention and in particular after SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 has been injected to the patient. In most instances a sufficient amount of the administered dose will accumulate in the area to be imaged within about 0.1 hour. When using compound(s) usable according to the present invention and in particular SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 it has been surprisingly found that the contrast agent allowed the imaging of tumors up to 48 h after injection. This is an additional advantage over prior art dyes since it allows the administration of the compound usable according to the present invention one or even two days prior to using DOT, for example, by the regular practitioner of a patient which then allows immediate imaging of the patient at a specialized screening facility without the need to inject the dye at the screening facility and to allow the distribution of the contrast agent at the day of carrying out DOT. Thus, in a preferred embodiment the diagnostic compound is administered at least 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 or 48 h prior to imaging.

As outlined above it has been surprisingly found that much lower amounts of the cyanine dyes usable according to the present invention and in particular of SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 as have been reported for other cyanine dyes like ICG are sufficient to provide the sensitivity and specificity required for detection of proliferative diseases. However, in a preferred embodiment of the use according to the present invention the compound according to formula (I) is comprised in the diagnostic composition in an amount of about 0.4, about 0.3, about 0.2, 0.1, less than 0.1, about 0.09, about 0.08, about 0.07, about 0.06, about 0.05, about 0.04, about 0.03, about 0.02, and about 0.01 mg/kg body weight. Consequently, preferred ranges of the compound(s) usable according to the present invention and in particular SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 to be administered are between 0.4 and 0.001, between 0.2 and 0.001, between 0.1 and 0.001, between less than 0.1 and 0.001, between 0.09 and 0.001, between 0.008 and 0.001, between 0.06 and 0.001, between 0.05 and 0.001 mg per kg body weight. Due to the high hydrophilicity and high water solubility of the compounds of the present invention in particular of SF64, 5-29, 5-36, and/or 5-41 injection volumes to the patient can be as low as 1

21
2X

the patient can be as low as 1 ml, which is significantly smaller than the currently used injections in excess of 10 ml. Therefore, in a preferred embodiment of the use according to the present invention the compound according to formula (I) is comprised in less than 5 ml, preferably less than 4 ml, preferably less than 3 ml, preferably less than 2 ml and even more preferably about 1 ml diagnostic composition.

A further aspect of the present invention is a diagnostic kit comprising the compound(s) of formula (I) and/or (II) to (VI) in an amount to prepare a diagnostic composition for administration of between less than 0.5 and 0.001 mg/kg body weight, preferably between 0.4 and 0.001, between 0.2 and 0.001, between 0.1 and 0.001, between less than 0.1 and 0.001, between 0.09 and 0.001, between 0.008 and 0.001, between 0.06 and 0.001, between 0.05 and 0.001 mg/kg body weight of the compound per diagnostic application and optionally a pharmaceutical acceptable salt, carrier, excipient and/or buffer as outlined above. Preferably, the kit comprises the compound and optional additional components in a lyophilized form.

Without further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent. The following preferred specific embodiments are, therefore, to be construed as merely illustrative, and not limitative of the disclosure in any way whatsoever.

Brief Description of the Figures

Fig. 1 Optical mammography after i.v. injection of SF64 in a female patient with invasive breast cancer in the right breast. The bright spot is caused by a marked fluorescence signal of SF64, which after i. v. injection did accumulate in this invasive breast cancer.

Fig. 2: Example of ex vivo imaging of experimental endometriotic micrometastases 6 h after substance administration. The left panel shows the structure of the fluorescent dye and the right panel shows the image of the endometrial tissue preparation. The image includes a ruler indicating a cm size scale.

Fig. 3: Example of in vivo imaging of spontaneous micro-lesions of the skin 6 h after substance administration. Panel A shows the original image and Panel B shows the inverted image. The image includes a ruler indicating a cm size scale.

Examples

Optical mammography after Lv. injection of SF64 in a female patient with invasive breast cancer in the right breast.

A dose of 0.1 mg/kg body weight of SF64 was, after dilution of the lyophilisate with 0.9% normal saline, injected intravenously via an indwelling forearm canula. The patient was imaged with an optical computed tomographic laser mammography device in a prone position with her breast hanging freely into the imaging chamber, being surrounded by air. Image acquisition was started

1 hour 10 minutes after i.v. injection of SF64, and image reconstruction was performed using the fluorescence mode, thus almost exclusively showing the fluorescence signal of SF64. The contrast dye did accumulate in this invasive breast cancer, which is represented in the image by the bright spot. This led to the marked fluorescence signal of SF64 in the image.

Determination of fluorescence quantum yield of several tricarboyanine dyes

Compounds 6-4, 5-36, 5-29, 5-41, NIR96009, NIR96005 and ICG (see Table 1) were tested for their fluorescence quantum yields at a concentration of 2 μ M in either water or plasma. It is apparent from Table 2 that a substitution in the middle of the tricarboyanine dye improves fluorescence quantum yield in both media.

Table 1

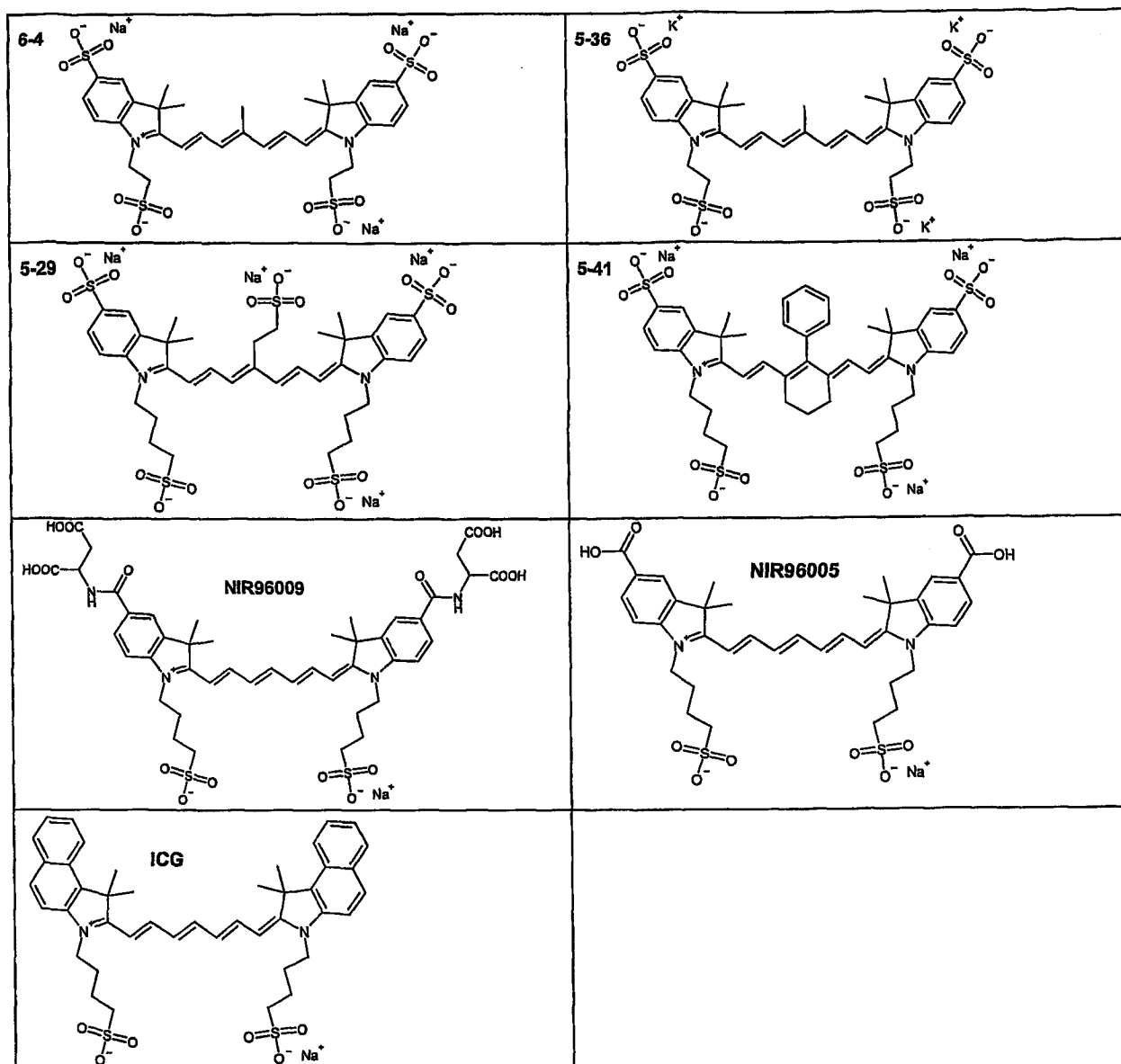
22
22

Table 2

Compound (#)	Fluorescence max. (nm) In plasma	Fluorescence quantum yield (%) In plasma	Fluorescence quantum yield (%) In water	remarks
<i>Compounds with L4 = alkyl substituted</i>				
6-4	787	17	11	
5-36	787	17	12	
5-29	813	9.8	8.2	
5-41	799	19	10	
<i>Compounds without alkyl substitution at L4</i>				
NIR96009	786	7.8	5.8	* see Ref.
NIR96005	795	7.2	5.6	* see Ref.
ICG	829	3	1	* see Ref.

- Licha et al., Proceedings of the SPIE Vol. 2927 (Bellingham, VA, US)₃ 1996, p. 192-198

Imaging of micrometastasis in Capan-1 tumor bearing nude mice

5 Capan-1 tumor cells that were grown subconfluently in culture were trypsinized, centrifuged and resuspended in PBS. After staining with trypan blue and calculation of the cell concentration, the cell suspension was set at a concentration of 3×10^7 /ml. The cell suspension was cooled on ice until it was used. Three female nude mice (NMRI-nude, 24-25 g body weight) were anesthetized, and 30 μ l (1×10^6 cells/animal) of the cell suspension inoculated subcapsu-
10 larly in the pancreas in each animal after abdominal incision. Each animal received 0.05 μ mol/kg body weight (0.04 mg dye per kg body weight) of a substance comprising a cyanine dye having a structure as depicted in Fig. 2, which had been conjugated to the EB-DF anti-
body AP39 (see Marty C, et al. (2001) Protein Expr. Purif. 21:156-64). This substance was administered intravenously at a time point that a clear tumor growth was palpable (about 12 to
15 14 weeks post tumor cell implantation). The animals were sacrificed 6 hours after intravenous substance administration and the mesenterium containing micrometastasis was imaged *ex vivo* for fluorescence signals using an intensified CCD camera. The fluorescence of the substance was excited by mesenterium irradiation with near-infrared light with 740 nm wavelength, which was produced with a laser diode (0.5 W output). The fluorescence images were stored
20 digitally. Following, the size of micrometastasis were evaluated using a low magnification microscope (Stemi 2000-C, Fa. Carl Zeis). Fluorescence signals were received from micrometastasis in the range of 0.5 to 2.0 mm in diameter and from larger mesenterial metastasis and corresponds with the microscopic evaluation. The effectiveness of the dye conjugates is depicted in Figure 2, right panel.

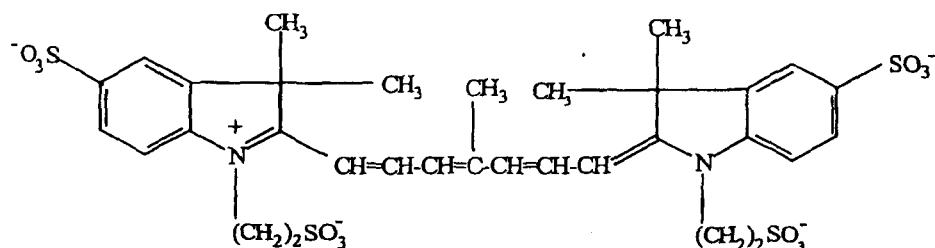
25

In vivo imaging of spontaneous micro-lesions of the skin in nude mice

Spontaneous multiple micro-lesions of the skin were observed in two NMRI-nude mice.
30 Each mouse received 0.05 μ mol/kg body weight (0.04 mg dye kg b.w.) of a dye-AP39 conjugate as depicted in Fig. 2 intravenously. The imaging was performed in anesthetized mice 6 hours after substance administration. A short-time anesthesia was induced using the inhalation anesthetics isoflurane (Isofluran Curamed, Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe, Germany). The fluorescence of the substance was excited by a diode-laser (excitation wavelength of 742
35 nm, laser diode, 0.5 W output) and detected using an intensified CCD-camera. The fluorescence images were stored digitally. Following, the size of the micro-lesions were evaluated

Claims

1. Use of compound according to formula (I)



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for the preparation of a diagnostic composition for the detection of a proliferative disease, wherein the diagnostic composition comprises the compound in an amount of less than 0.5 and more than 0.001 mg/kg body weight per diagnostic application.

2. Use according to claim 1, wherein the compound is coupled to a targeting compound.
3. Use according to claim 2, wherein the targeting compound is selected from the group of targeting compounds consisting of a polypeptide, a nucleic acid, a small molecule or a sugar.
4. Use according to any of claim 1 to 3, wherein the polypeptide is selected from the group consisting of a receptor ligand, an antibody, a single chain antibody or a binding fragment of an antibody or single chain antibody
5. Use according to any of claims 1 to 4, wherein the proliferative disease is selected from the group consisting of a tumor, a precancerosis, a dysplasia, a metaplasia, psoriasis, psoriatic arthritis, rheumatoid arthritis, endometriosis and/or an ocular disease.
6. Use according to claim 5, wherein the tumor is a primary tumor or a metastasis.
7. Use according to claim 6, wherein the tumor is a malignoma of the gastrointestinal or colorectal tract, liver, pancreas, kidney, bladder, thyroid, prostate, endometrium,

XB

lesions were evaluated using a low magnification microscope (Stemi 2000-C, Fa. Carl Zeis). Fluorescence signals were received from micro-lesions up to smaller than < 1 mm. The effectiveness of the dye conjugates is depicted in Fig. 3 based on a representative example.

24
2A

ovary, testes, melanoma, dysplastic oral mucosa, invasive oral cancer, small cell or non-small cell lung carcinoma; a mammary tumor, including hormone-dependent breast cancer, hormone independent breast cancers; transitional and squamous cell cancers; neurological malignancy including neuroblastoma, gliomas, astrocytomas, osteosarcoma, meningioma; soft tissue sarcoma; hemangioma and an endocrinological tumor, including pituitary adenoma, pheochromocytoma, paraganglioma, a haematological malignancy including lymphoma and leukemia or the metastasis originates from one of above mentioned tumors.

5

10 8. Use according to claim 6, wherein the diagnostic compound is administered during tumor screening or prior, during or after surgery.

15

20

25

9. Use according to claim 5, wherein the precancerosis is selected from the group consisting of precancerosis of the skin, in particular actinic keratosis, cutaneous horn, actinic cheilitis, tar keratosis, arsenic keratosis, x-ray keratosis, Bowen's disease, bowenoid papulosis, lentigo maligna, lichen sclerosus, and lichen rubber mucosae; precancerosis of the digestive tract, in particular erythroplakia, leukoplakia, Barrett's esophagus, Plummer-Vinson syndrome, crural ulcer, gastropathia hypertrophica gigantea, borderline carcinoma, neoplastic intestinal polyp, rectal polyp, porcelain gallbladder; gynaecological precancerosis, in particular carcinoma ductale in situ (CDIS), cervical intraepithelial neoplasia (CIN), leukoplakia, endometrial hyperplasia (grade III), vulvar dystrophy, vulvar intraepithelial neoplasia (VIN), hydatidiform mole; urologic precancerosis, in particular bladder papillomatosis, Queyrat's erythroplasia, testicular intraepithelial neoplasia (TIN), leukoplakia; carcinoma in situ (CIS); precancerosis caused by chronic inflammation, in particular pyoderma, osteomyelitis, acne conglobata, lupus vulgaris, and fistula.

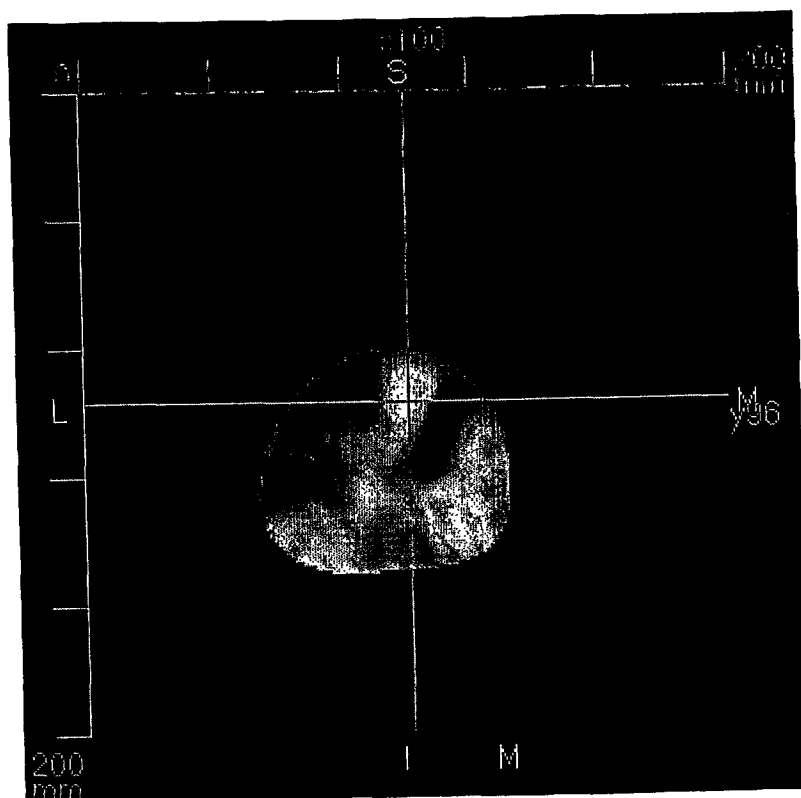
30

10. Use according claim 5, wherein the metaplasia is selected from the group consisting of agnogenic myeloid metaplasia, apocrine metaplasia, atypical metaplasia, autoparenchymatous metaplasia, connective tissue metaplasia, epithelial metaplasia, intestinal metaplasia, metaplastic anemia, metaplastic ossification, metaplastic polyps, myeloid metaplasia, primary myeloid metaplasia, secondary myeloid metaplasia, squamous metaplasia, squamous metaplasia of amnion, symptomatic myeloid metaplasia and regenerative metaplasia.

11. Use according to claim 5, wherein the dysplasia is selected from the group consisting of anhidrotic ectodermal dysplasia, anterofacial dysplasia, asphyxiating thoracic dysplasia, atriodigital dysplasia, bronchopulmonary dysplasia, cerebral dysplasia, cervical dysplasia, chondroectodermal dysplasia, cleidocranial dysplasia, congenital ectodermal dysplasia, craniodiaphysial dysplasia, craniocarpotarsal dysplasia, craniometaphysial dysplasia, dentin dysplasia, diaphysial dysplasia, ectodermal dysplasia, enamel dysplasia, encephalo-ophthalmic dysplasia, dysplasia epiphysialis heminelia, dysplasia epiphysialis multiplex, dysplasia epiphysialis punctata, epithelial dysplasia, faciodigitogenital dysplasia, familial fibrous dysplasia of jaws, familial white folded dysplasia, fibromuscular dysplasia, fibrous dysplasia of bone, florid osseous dysplasia, hereditary renal-retinal dysplasia, hidrotic ectodermal dysplasia, hypohidrotic ectodermal dysplasia, lymphopenic thymic dysplasia, mammary dysplasia, mandibulofacial dysplasia, metaphysical dysplasia, Mondini dysplasia, monostotic fibrous dysplasia, mucoepithelial dysplasia, multiple epiphysial dysplasia, oculoauriculovertebral dysplasia, oculodentodigital dysplasia, oculovertebral dysplasia, odontogenic dysplasia, ophthalmomandibulomelic dysplasia, periapical cemental dysplasia, polyostotic fibrous dysplasia, pseudoachondroplastic spondyloepiphysial dysplasia, retinal dysplasia, septo-optic dysplasia, spondyloepiphysial dysplasia, and ventriculoradial dysplasia.
12. Use according to claim 5, wherein the ocular disease is selected from the group consisting of trachoma, retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy, neovascular glaucoma and age-related macular degeneration.
13. Use according to any of claims 1 to 12, wherein the diagnostic composition further comprises a pharmaceutically acceptable salt, carrier, excipient and/or buffer.
14. Use according to any of claims 1 to 13, wherein the compound is comprised in the diagnostic composition in an amount of 0.1 or less mg/kg body weight.
15. A diagnostic kit comprising the compound of formula (I) according to claim 1 or a pharmaceutically acceptable salt thereof in an amount to prepare a diagnostic composition for administration of less than 0.5 and more than 0.001 mg/kg body

25

Fig. 1



weight of the compound per diagnostic application and optionally a pharmaceutically acceptable salt, carrier, excipient and/or buffer.



26
26

Fig. 2

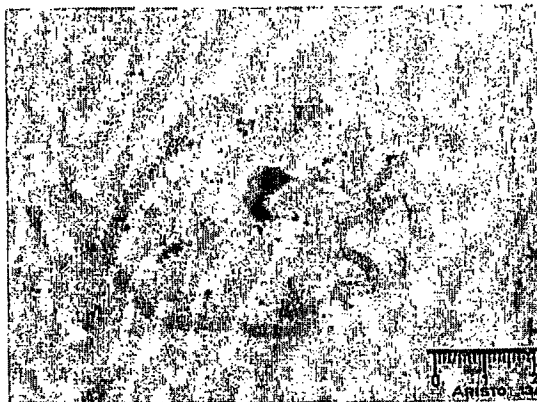
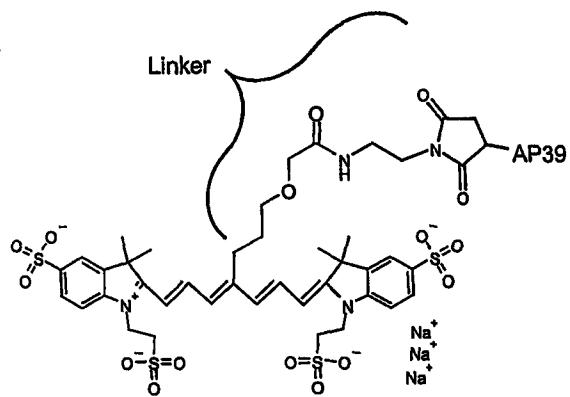


Fig. 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/000058A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal , EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
Y	WO 00/16810 A (SCHERING AKTIERMGESELLSCHAFT; FUJI PHOTO FILM CO., LTD; MIWA, NAOTO; IN) 30 March 2000 (2000-03-30) page 39, lines 16-23 compound 31 example 8 experimental example 2 & EP 1 113 822 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; FUJI PHOTO FILM CO., LTD) 11 July 2001 (2001-07-11) cited in the applicati on ----- -/-	1-8, 13-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C☒ See patent family annex

* Special categories of cited documents

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 April 2006

Date of mailing of the international search report

13/04/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office P B 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV RIJSWIJK
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Villard, A-L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/000058

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NTZIACHRISTOS V ET AL: "CONCURRENT MRI AND DIFFUSE OPTICAL TOMOGRAPHY OF BREAST AFTER INDOCYANINE GREEN ENHANCEMENT" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 97, no. 6, 14 March 2000 (2000-03-14), pages 2767-2772, XP001168698 ISSN: 0027-8424 cited in the application page 2769, column 1, paragraph 2 page 2769, column 2, last paragraph figure 3	1, 5-8, 13-15
Y	BECKER A ET AL: "RECEPTOR-TARGETED OPTICAL IMAGING OF TUMORS WITH NEAR-INFRARED FLUORESCENT LIGANDS" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING, US, vol. 19, April 2001 (2001-04), pages 327-331, XP001168699 ISSN: 1087-0156 page 330, column 1, last paragraph - column 2, paragraph 1 figure 4	1, 5-8, 13-15
Y	WO 2004/065491 A (SCHERING AG) 5 August 2004 (2004-08-05) page 4, line 1- page 17, line 30 examples 22-24 claims 1,2,6-17,22,23,27-34	2-4
Y	WO 01/23005 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; SCHIRNER, MICHAEL; LICH, KAI; DINKELBORG) 5 April 2001 (2001-04-05) page 8, line 11 - page 12, line 26 page 14, lines 4,5 page 15, line 5 - line 33 claims 5,6,14	2-4
Y	WO 00/61194 A (INSTITUT FUER DIAGNOSTIKFORSCHUNG GMBH AN DER FREIEN UNIVERSITAET BERL) 19 October 2000 (2000-10-19) abstract pages 9-10 example 41 claim 5	2-4

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/000058

28
70

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHEUERMANN JÖRG: "Isolation of binding molecules to the EDB domain of fibronectin, a marker of angiogenesis" DISSERTATION SUBMITTED TO THE SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF NATURAL SCIENCES, December 2002 (2002-12), XP002314651 cited in the application pages 7-8	2-4
E	WO 2006/008179 A (SCHERING AG; SCHIRNER, MICHAEL; LICHA, KAI; HAUFF, PETER; PERLITZ, CHR) 26 January 2006 (2006-01-26) examples 10,22,26-28	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/000058

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons.

- 1 ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely

Although claim 8 is directed to a diagnostic method practised on the human/animal body (Article 52(4) EPC), the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
- 2 ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically
- 3 **D** Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 64(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1 ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
- 2 ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
- 3 ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos :
- 4 ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos :

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

international application No

PCT/EP2006/000058

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
wo 0016810	A	30-03-2000	AT 248608 T 15-09-2003
			AU 763991 B2 07-08-2003
			AU 5981499 A 10-04-2000
			BG 105337 A 31-10-2001
			BG 107411 A 30-06-2004
			BR 9913849 A 12-06-2001
			CA 2344315 AI 30-03-2000
			CN 1515552 A 28-07-2004
			CN 1328471 A 26-12-2001
			DE 69911034 DI 09-10-2003
			DE 69911034 T2 08-07-2004
			DK 1113822 T3 22-12-2003
			EA 4249 BI 26-02-2004
			EA 5070 BI 28-10-2004
			EE 200100162 A 15-08-2002
			EP 1113822 AI 11-07-2001
			ES 2207338 T3 16-05-2004
			HK 1042855 AI 02-12-2005
			HU 0103503 A2 28-02-2002
			ID 29455 A 30-08-2001
			JP 2000095758 A 04-04-2000
			JP 2002526458 T 20-08-2002
			MX PA01002194 A 27-03-2003
			NO 20011338 A 16-05-2001
			NO 20025819 A 16-05-2001
			NZ 510019 A 25-07-2003
			PL 346709 AI 25-02-2002
			PT 1113822 T 30-01-2004
			SK 3742001 A3 11-09-2001
			TR 200100746 T2 23-07-2001
			UA 67800 C2 17-09-2001
EP 1113822	A	11-07-2001	AT 248608 T 15-09-2003
			AU 763991 B2 07-08-2003
			AU 5981499 A 10-04-2000
			BG 105337 A 31-10-2001
			BG 107411 A 30-06-2004
			BR 9913849 A 12-06-2001
			CA 2344315 AI 30-03-2000
			CN 1515552 A 28-07-2004
			CN 1328471 A 26-12-2001
			DE 69911034 DI 09-10-2003
			DE 69911034 T2 08-07-2004
			DK 1113822 T3 22-12-2003
			EA 4249 BI 26-02-2004
			EA 5070 BI 28-10-2004
			EE 200100162 A 15-08-2002
			wo 0016810 AI 30-03-2000
			ES 2207338 T3 16-05-2004
			HK 1042855 AI 02-12-2005
			HU 0103503 A2 28-02-2002
			ID 29455 A 30-08-2001
			JP 2000095758 A 04-04-2000
			JP 2002526458 T 20-08-2002
			MX PA01002194 A 27-03-2003
			NO 20011338 A 16-05-2001
			NO 20025819 A 16-05-2001
			NZ 510019 A 25-07-2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/000058

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1113822	A	PL 346709 AI PT 1113822 T SK 3742001 A3 TR 200100746 T2 UA 67800 C2	25-02-2002 30-01-2004 11-09-2001 23-07-2001 17-09-2001
wo 2004065491	A 05-08-2004	AU 2003292019 AI BR 0318028 A CA 2514131 AI EP 1585791 AI	13-08-2004 06-12-2005 05-08-2004 19-10-2005
wo 0123005	A 05-04-2001	AU 779026 B2 AU 6702600 A BG 106528 A BR 0014192 A CA 2385593 AI CN 1376074 A CZ 20020991 A3 DE 19947559 AI EE 200200152 A EP 1214099 AI HU 0202625 A2 JP 2003510294 T MX PA02002639 A NO 20021441 A NZ 517944 A PL 354027 AI SK 3972002 A3 ZA 200203225 A	06-01-2005 30-04-2001 29-12-2002 21-05-2002 05-04-2001 23-10-2002 12-06-2002 19-04-2001 15-04-2003 19-06-2002 28-12-2002 18-03-2003 30-07-2002 15-05-2002 25-06-2004 15-12-2003 10-09-2002 23-07-2003
wo 0061194	A 19-10-2000	AT 259246 T AU 769392 B2 AU 4291100 A BG 105988 A BR 0009658 A CA 2368490 AI CN 1351505 A CZ 20013562 A3 DE 19917713 AI DK 1176987 T3 EE 200100521 A EP 1176987 A2 ES 2215641 T3 HR 20010833 A2 HU 0202990 A2 JP 2002541219 T MX PA01010174 A NO 20014911 A NZ 514533 A NZ 522136 A PL 351766 AI PT 1176987 T SK 14152001 A3 ZA 200109238 A	15-02-2004 22-01-2004 14-11-2000 28-06-2002 15-01-2002 19-10-2000 29-05-2002 15-05-2002 19-10-2000 14-06-2004 16-12-2002 06-02-2002 16-10-2004 31-08-2004 28-12-2002 03-12-2002 20-08-2003 06-12-2001 26-09-2003 28-05-2004 16-06-2003 30-06-2004 04-04-2002 10-02-2003
wo 2006008179	A 26-01-2006	EP 1619501 AI	25-01-2006

- (12) **Publicación de la solicitud internacional bajo PCT**
 (19) **Organización Mundial de Propiedad Intelectual**
Oficina Internacional
 (43) **Fecha de publicación internacional : 13 de julio de 2006 (13.07.2006)**
 (10) **Número de publicación internacional: WO 2006/072580 A1**
-

(51) **Clasificación internacional de patentes:**

A61K 49/00 (2006.01)

- (21) **Número de solicitud internacional:** PCT/EP2006/000058
 (22) **Fecha de presentación internacional:** 5 de enero de 2006 (05.01.2006)
 (25) **Idioma de la presentación:** inglés
 (26) **Idioma de la publicación:** inglés
 (30) **Antecedentes de prioridad:**
 05 000 276.5 del 7 de enero de 2005 (07.01.2005) EP
 (71) **Solicitante (para todos los estados designados con excepción de US):** SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 170-178, 13342 Berlin (DE).
 (72) **Inventores; y**
 (75) **Inventor/Solicitante (solamente para US):** LICHA, Kai [DE/DE]; Bornimer Strasse 17a, 14612 Falkensee (DE). PESSEL, Martin [DE/DE]; Stargarder Strasse 62, 10437 Berlin (DE). BAHNER, Malte [DE/DE]; Habsburger Strasse 10, 10781 Berlin (DE).
 (81) **Estados designados** (en la medida en que no se indique lo contrario, para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
 (84) **Estados designados** (en la medida en que no se indique lo contrario, para cada tipo de protección regional disponible): Patente ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente euroa-

siatica (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- con el informe de búsqueda internacional

Véanse las explicaciones („Guidance Notes on Codes an Abbreviations“) al comienzo de cada edicion regular de la Gaceta-PCT para la explicación del código de dos dígitos y de las otras abreviaturas

(54) Título: Uso de colorantes de cianina para el diagnóstico de enfermedades proliferativas

(57) Resumen

La presente invención se refiere al uso del colorante de cianina SF64 para el diagnóstico de enfermedades proliferativas con una administración que comprende menos que 5 mg/kg de peso corporal.

WO 2006/072580

PCT/EP2006/000058

USO DE COLORANTES DE CIANINA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERME-
DADES PROLIFERATIVAS

5

La presente invención está dirigida al uso de la cianina SF64, 5-29, 5-36 y/o 5-41 para el diagnóstico de enfermedades proliferativas, en particular enfermedades con tumores, con la administración de menos de 0,1 mg/kg de peso corporal.

10

Antecedentes de la invención:

El cáncer es la segunda causa principal de muerte entre los estadounidenses y también es responsable de uno cada cuatro muertes en los EE.UU. En 2004 morirán más de 560.000 estadounidenses o más de 1.500 personas por día de cáncer. Se han diagnosticado más de 18 millones de casos nuevos de cáncer desde 1990 y solamente en 2004 recibirán el mismo diagnóstico alrededor de 1,4 millones de casos nuevos. Esta estimación no incluye el cáncer preinvasivo o más del millón de casos de cáncer de piel no melanómico que se espera será diagnosticado este año. Los costos financieros del cáncer son abrumadores. De acuerdo con el Instituto Nacional de Salud [National Institute of Health] los distintos tipos de cáncer tuvieron un costo en los EE.UU. que superó los \$ 189 mil millones en el 2003. Esta cantidad incluye más de \$ 64

25

mil millones correspondientes a costos médicos directos y más de \$ 125 mil millones en pérdidas de productividad. La cantidad de nuevos decesos debidos al cáncer podría reducirse sustancialmente mediante un diagnóstico temprano. Por
5 ello, la detección de cáncer, en particular las pruebas de detección para el cáncer de mama, cervical y colorrectal, podrían reducir significativamente la cantidad de decesos debidos a estas enfermedades si se pudieran determinar en una etapa temprana cuando son más tratables. Las pruebas de de-
10 tección para el cáncer de mama, cervical y colorrectal pueden realmente impedir el desarrollo de estas enfermedades mediante la detección de condiciones precancerosas tratables.

Idealmente, los métodos de detección son sensibles y
15 específicos, pueden realizarse rápidamente, no son invasivos, son económicos y están asociados con unos pocos, o ningún efecto adverso. Para la detección, por ejemplo, de tumores mamarios, las normas estándar de detección actualmente establecidas comprenden imágenes con rayos X del tejido de
20 la mama, un procedimiento que también se conoce como mamografía. Otros métodos comprenden el diagnóstico por imágenes con resonancia magnética nuclear, ultrasonografía y termografía. El método de detección más ampliamente utilizado es con mucho la mamografía por rayos X, que tiene una gran es-
25 pecificidad (80% aproximadamente), no obstante la sensibili-

dad depende en gran medida de la interpretación de los datos de la imagen por parte del radiólogo. La resolución espacial de la mamografía es baja y los tumores detectados tienen habitualmente un tamaño de 1 cm o más. Sin embargo, la mamografía se ha asociado con un riesgo de exposición a radiación significativo y acumulativo, en particular en mujeres en la premenopausia, que poseen un tejido mamario más denso y requieren de dosificaciones de radiación más altas que las mujeres de edad para lograr una sensibilidad suficiente. La mamografía también ha sido criticada por la manipulación física de la mama durante el procedimiento, que podría facilitar la diseminación de las células tumorales. En el pasado se han ido utilizando cada vez más las imágenes de resonancia magnética (MRI), en particular después de haber identificado un tumor mediante un método diferente. Debido a la gran resolución espacial de las imágenes MRI, tiene una sensibilidad ampliamente superior en comparación con las técnicas de diagnóstico basadas en rayos X como la mamografía; sin embargo, este método es menos específico (con una especificidad en el rango entre 37% y 97% y el valor predictivo para mujeres que no han sido diagnosticadas previamente con cáncer de mama es menor que un 2%), es mucho más costoso y requiere mucho tiempo y, por lo tanto, es menos adecuado para una detección masiva de pacientes.

Recientemente, ha surgido otro método denominado tomo-

grafía óptica difusa (DOT) en el infrarrojo cercano (NIR) como un nuevo método de exploración con un gran potencial en diversas aplicaciones de diagnóstico por imágenes en la medicina. Esta técnica tiene la capacidad de producir imágenes

5 cuantitativas de absorción y dispersión intrínseca y extrínseca (Arridge, S.R. (1995) *Appl. Opt.*, 34: 7395-7409 y Gona-
tas, C.P. et al. (1995) *Phys.Rev.E.*, 52: 4361-4365). Ntziach-
ristos, V. et al. (2000) *Proc.Nat.Aca. Sci. EE.UU.*, 97:
2767-2772) describen el uso de indocianina verde (ICG) para

10 mejorar el contraste durante el diagnóstico por imágenes óp-
ticas de la mama humana *in vivo*. El diagnóstico por imágenes
ópticas de grandes órganos, tal como la mama, a menudo es
factible debido a la baja absorción de los tejidos en la re-
gión del espectro comprendida entre 700 y 850 nm. De hecho,

15 se ha investigado la luz desde fines de la década de 1920
como una herramienta de diagnóstico para el cáncer de mama
por transiluminación. Sin embargo, la transiluminación tiene
una baja resolución espacial y ofrece poco en cuanto a cuan-
tificación espectral de las lesiones detectadas. Por ende,

20 la transiluminación no permitía suficiente sensibilidad y
especificidad como para utilizarla clínicamente. Las grandes
mejoras logradas en cuanto a la obtención de modelos matemá-
ticos de la propagación de la luz en los tejidos combinado
con los avances tecnológicos ha permitido ahora aplicar los

25 principios de la tomografía en el diagnóstico por imágenes

con luz difusa. La tomografía óptica difusa ha mejorado dramáticamente la capacidad de localizar y cuantificar las estructuras tisulares utilizando luz. Aún más, el método emplea radiación no ionizante y utiliza instrumentos cuyo costo es relativamente bajo, lo cual lo vuelve adecuado para la detección masiva de la mama o de otros tipos de cáncer a los cuales se puede acceder con luz. Se han utilizado fluoró cromos como, p.ej., la indocianina (ICG, que es un absorbente y fluoróforo en NIR) como agentes de contraste. Se ha informado que empleando DOT con FCG como agente de contraste fue posible detectar carcinomas de ductos de mama con un tamaño de 1 cm y mayores a una concentración de 0,25 mg/kg de peso corporal. Otros agentes de contraste fluorescentes, que se pueden usar en el diagnóstico por imágenes con contraste fluorescente en el infrarrojo cercano se describen, p.ej., en EP 1 113 822 A1 y en Kai Licha et al. ((2000) *Photochemistry and Photobiology* 72: 392-398).

Para cualquiera de los métodos de diagnóstico por imágenes aplicados en detecciones repetidas resulta deseable que posean tan pocos efectos secundarios como sea posible. Si la técnica de diagnóstico por imágenes requiere de la administración de sustancias como agentes de contraste resulta deseable administrar tan solo pequeñas cantidades de dichas sustancias para evitar potenciales efectos secundarios nocivos y acumulación de la droga que podría tener lugar con la

administración repetida. Por lo tanto, persiste la necesidad en la técnica anterior de identificar agentes de contraste que se puedan administrar en pequeñas cantidades y que aún proporcionen las propiedades deseadas de especificidad y 5 sensibilidad para aplicaciones de exploración de rutina de DOT.

Descripción detallada de la invención:

Antes de describir la presente invención con detalle, se debe tener en cuenta que esta invención no se limita a la 10 metodología, los protocolos, líneas celulares, vectores y reactivos particulares descritos en la presente ya que pueden existir variaciones con las mismas. También se debe tener en cuenta que la terminología usada en la presente solamente sirve para describir las realizaciones particulares, y no 15 pretende limitar el alcance de la presente invención que solamente es limitada por las reivindicaciones adjuntas. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el comúnmente comprendido por el especialista 20 en la técnica.

Preferentemente, los términos usados en la presente se definen como se describe en "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. y KM, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, 25 ta, CH-4010 Basel, Suiza).

39
20

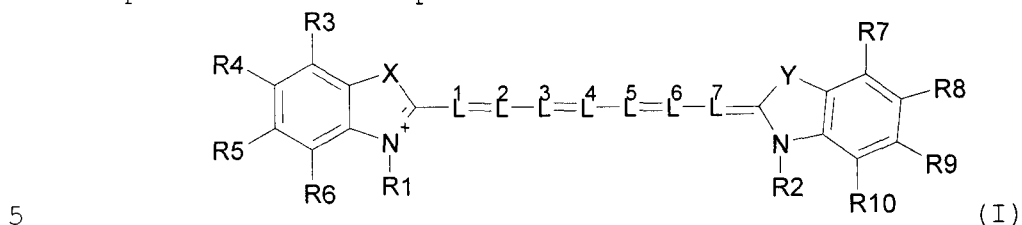
En toda esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto indique lo contrario, la palabra "comprenden", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implica la inclusión un número entero o paso o grupo de números enteros o pasos definidos pero no la exclusión de cualquier otro número entero o paso o grupo de números enteros o pasos.

En todo el texto de esta memoria descriptiva se citan diversos documentos. Cada uno de los documentos citados en la presente (incluyendo todas las patentes; solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones de proveedores, instrucciones, etc.), ya sea *supra* o *infra*, se incorporan por completo en este documento a modo de referencia. Ninguna mención en la presente debe considerarse como un reconocimiento que la invención no puede anteponer dicha descripción en virtud de una invención anterior.

Se debe tener en cuenta que, tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el", "la" incluyen las referencias al plural a menos que el contexto claramente indique lo contrario. Por lo tanto, p.ej., la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de dichos reactivos diferentes, y la referencia a "el método" incluye la referencia a pasos y métodos equivalentes conocidos por los especialistas en la técnica que podrían ser modificados, o sustituidos, por los métodos

descritos en la presente.

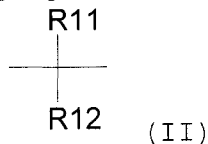
Dada la necesidad mencionada en la técnica anterior ahora los inventores han encontrado sorpresivamente que el compuesto conocido previamente de acuerdo con la fórmula (I)



donde L^1 a L^7 son iguales o diferentes y cada uno es metano sustituido o no sustituido o L^3 y L^5 forman juntos un anillo de cinco o seis miembros y L^4 es metano sustituido con un alquilo que tiene entre 1 y 4, p.ej. 1, 2, 3 ó 4, átomos de carbono, R^1 y R^2 son un alquilo inferior que tiene entre 1 y 5, p.ej. 1, 2, 3, 4 ó 5, átomos de carbono y están sustituidos con un grupo de ácido sulfónico, o arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, R^3 a R^{10} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un grupo de ácido sulfónico, un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo alquil(sulfoalquil)amino, un grupo bi(sulfoalquil)amino, un grupo sulfoalcoxi, un grupo (sulfoalquil)sulfonilo o un grupo a (sulfoalquil)aminosulfonilo y X e Y son iguales o diferentes y cada uno es un grupo de la fórmula (II)

10

15

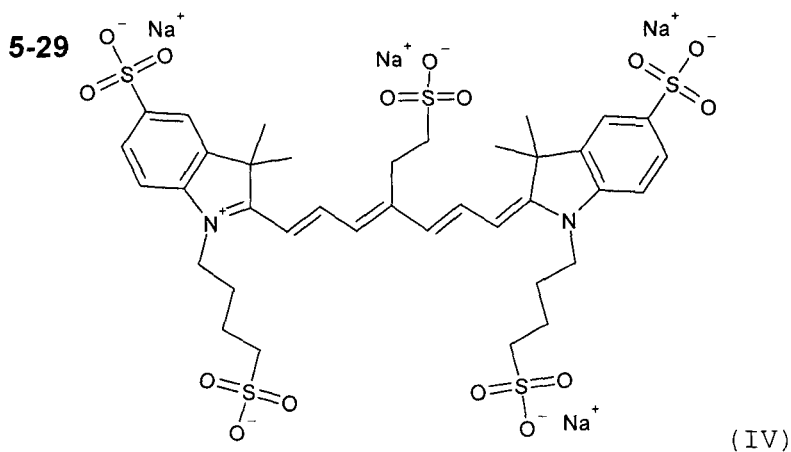
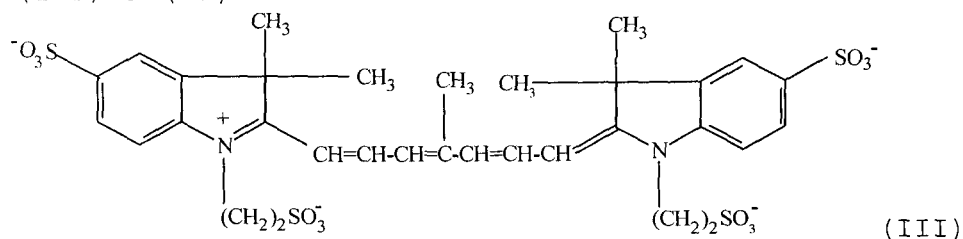


20

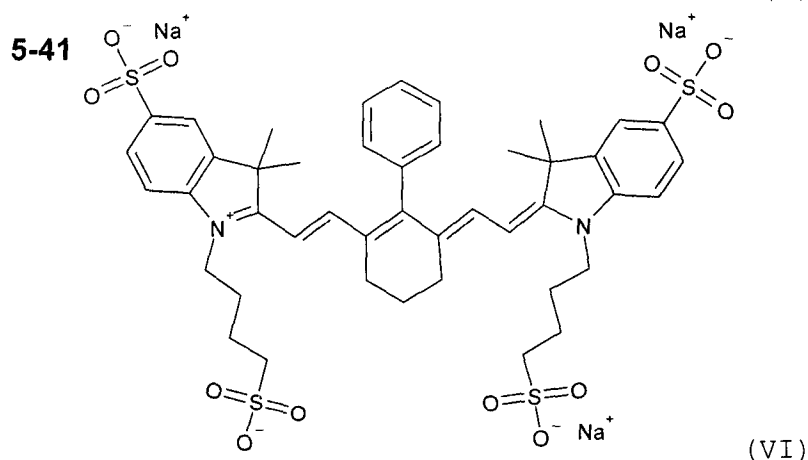
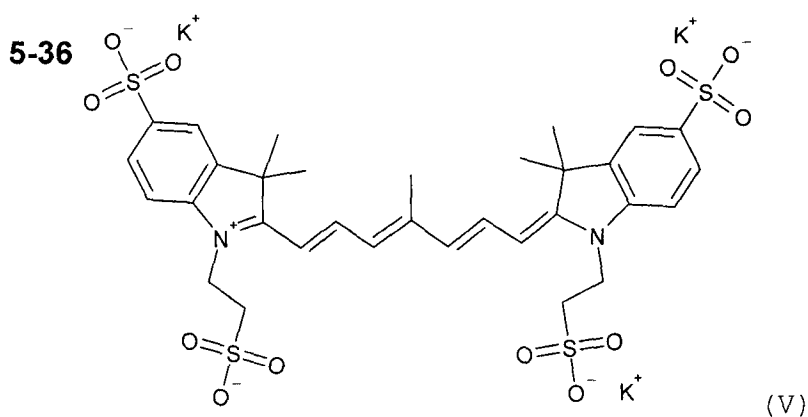
donde R^{11} y R^{12} son alquilo inferior no sustituido que

tiene entre 1 y 5, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de carbono y sales aceptables para uso farmacéutico de los mismos, p.ej. de Na, K, Ca, Mg^{2+} etc. Estos compuestos proveen una señal con una especificidad y sensibilidad suficientes para una detección de rutina de enfermedades proliferativas administrados en cantidades por kg de peso corporal, que son significativamente menores que las cantidades por kg de peso corporal que se utilizaban en la técnica anterior para obtener suficiente especificidad y sensibilidad.

Los compuestos particularmente preferidos que se pueden usar en el contexto de la presente invención comprenden uno más compuestos con una estructura de acuerdo con las fórmulas (III) a (VI)



X



también conocidos con los nombres de SF64, 5-29, 5-36 y 5-41,
 y que proveen una señal con una especificidad y sensibilidad
 5 suficientes para su uso en las exploraciones de rutina para
 enfermedades proliferativas en cantidades por kg de peso
 corporal que son significativamente inferiores a las canti-
 dades por kg de peso corporal que se han utilizado en la
 técnica anterior para obtener una especificidad y sensibili-
 10 dad suficiente. Por lo tanto, los compuestos utilizables de
 acuerdo con la presente invención y, en particular, SF64, 5-
 29, 5-36 y 5-41, sorpresivamente se pueden administrar en
 cantidades muy pequeñas y en consecuencia con un bajo poten-

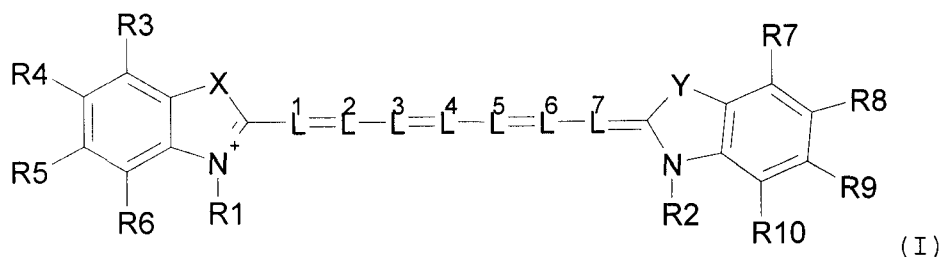
cial de efectos secundarios tóxicos. Además, los tumores detectables a esta baja concentración son tan pequeños como 3 mm de diámetro y por ende significativamente menores que los tumores detectados previamente usando otros colorantes de tipo cianina, por ejemplo ICG, para los cuales el límite de detección comprende tumores de 1 cm de tamaño, es decir, comparables a la mamografía por rayos X. La capacidad para detectar tumores tan pequeños como de 3 mm representa un avance significativo con respecto a la capacidad para detectar tumores hasta un tamaño de 10 mm y presenta implicaciones increíbles para la sobrevida a largo plazo del paciente diagnosticado. Los tumores con un diámetro de 1 cm o más ya han atraído células endoteliales para formar nuevos capilares, es decir se han neovascularizado, y a menudo han liberado ya células tumorales hacia el torrente sanguíneo o linfático. Sin embargo, los tumores con un diámetro de 3 mm o menos a menudo no están vascularizado y han detenido su crecimiento debido a la falta de nutrientes. Dado que la vascularización del tumor es un prerequisite para el crecimiento ulterior estos tumores solamente avanzarán si desarrollan capacidad para atraer células endoteliales. En consecuencia, las posibilidades de impedir que el cáncer pueda desarrollarse en una enfermedad de riesgo de vida son mucho mayores, si el tumor puede ser detectado cuando todavía tiene un tamaño donde sea mucho menos probable que se haya dispersado

43
43

a través del cuerpo y/o que haya atraído células endoteliales para formar nuevos capilares.

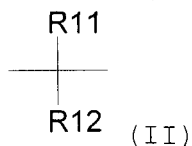
Por consiguiente, un primer aspecto de la invención comprende el uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula

5 (I)



donde L^1 a L^7 son iguales o diferentes y cada uno es metano sustituido o no sustituida y L^4 es metano sustituido con alquilo que tiene entre 1 y 4, p.ej. 1, 2, 3 ó 4, átomos de carbono, R^1 y R^2 son alquilo inferior que tiene entre 1 y 5, p.ej. 1, 2, 3, 4 ó 5, átomos de carbono y están sustituidos con un grupo de ácido sulfónico, R^3 a R^{10} son iguales o diferentes y cada uno es un átomo de hidrógeno, un grupo de ácido sulfónico, un grupo carboxilo, un grupo

10 hidroxilo, un grupo alquil(sulfoalquil)amino, un grupo bi(sulfoalquil)amino, un grupo sulfoalcoxi, un grupo (sulfoalquil)sulfonilo o un grupo (sulfoalquil)aminosulfonilo y X e Y son iguales o diferentes y cada uno es un grupo de la fórmula (II)

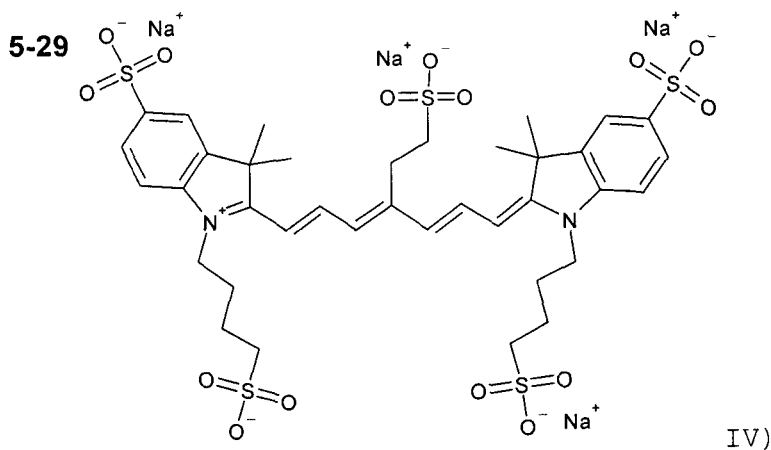
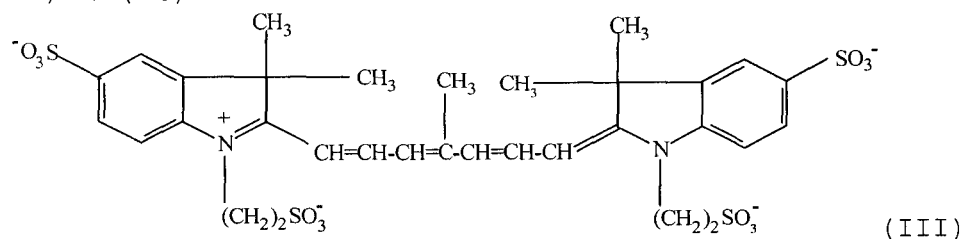


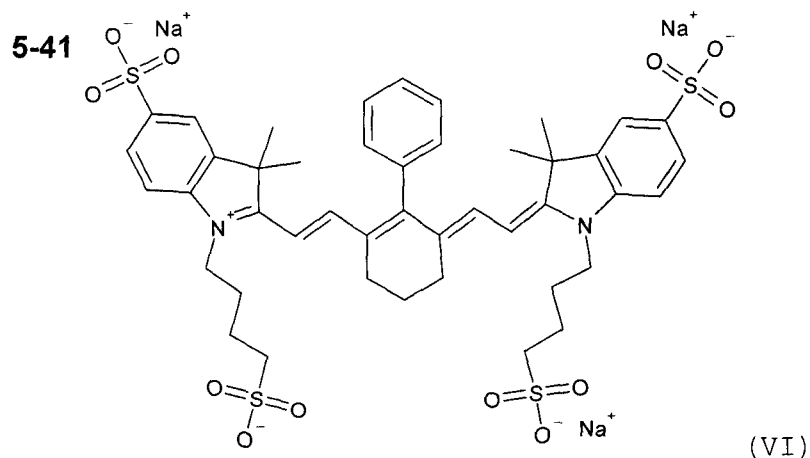
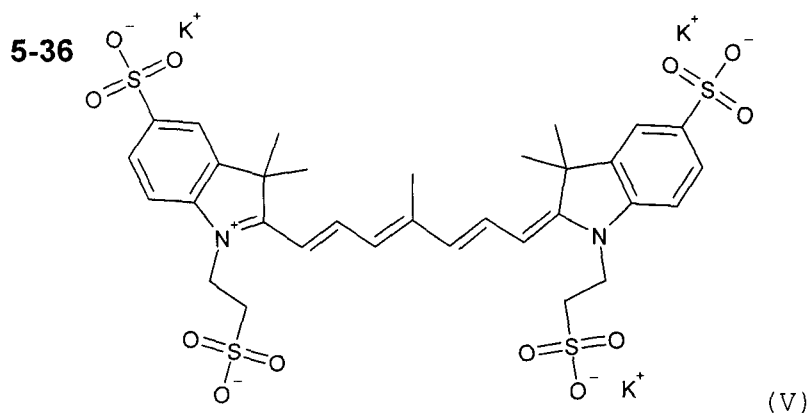
20

44
~~44~~

donde R^{11} y R^{12} son alquilo inferior no sustituido que tiene entre 1 y 5, p.ej. 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de carbono o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, para preparar una composición de diagnóstico para la detección de una enfermedad proliferativa, donde dicha composición de diagnóstico comprende una cantidad de compuesto menor que 0,5 y mayor que 0,001 mg/kg de peso corporal por aplicación de diagnóstico.

Los compuestos particularmente preferidos para su uso en el contexto de la presente invención comprenden uno o más de los compuestos cuya estructura sea acorde con las fórmulas (III) a (VI)





o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, para la
preparación de una composición de diagnóstico para detectar
5 una enfermedad proliferativa, donde dicha composición de
diagnóstico comprende al compuesto en una cantidad menor que
0,5 y mayor que 0,001 mg/kg de peso corporal por aplicación
de diagnóstico.

La capacidad de los compuestos hidrofílicos utilizables
10 de acuerdo con la presente invención y, en particular, de
los colorantes de cianina SF64, 5-29, 5-36 y 5-41 de actuar
como agentes de contraste está determinada en parte por las
concentraciones de oxi- y dioxihemoglobina, la saturación

oxidante de la sangre, la captación del agente de contraste por los tejidos y la concentración orgánica, sin embargo, es posible incrementar la especificidad y/o sensibilidad de los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular SF46, 5-29, 5-36 y 5-41 por acoplamiento con un compuesto de direccionamiento que se una específicamente a estructuras preferencial o exclusivamente presentes sobre células y tejidos proliferativos o en la proximidad de células y tejidos en proliferación. Algunas de estas estructuras están asociadas directamente con la célula proliferativa o están asociadas con las células próximas al tejido proliferativo. Las primeras son estructuras alteradas o sobreexpresadas en la célula proliferativa como, p.ej., receptores de factores de crecimiento, tal como el receptor de somatostatina o el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Actualmente se ha identificado una amplia variedad de tales estructuras y comprenden, a modo de ejemplo, receptores de factores de crecimiento, receptores acoplados a la proteína G, proteínas de los poros, canales iónicos, bombas de eflujo de drogas, sitios de unión accesorios para los factores de crecimiento, sulfato de heparano, proteasas unidas a membrana, moléculas de adhesión, receptores de células T y selectinas, en particular EGF, TGF, CEA, Lewis Y, CD 20, CD 33 o CD38. Otras estructuras, que se pueden emplear como blancos, son los antígenos asociados a cáncer definidos por cé-

47
D7

lulas T que pertenecen a productos genéticos únicos de genes celulares mutados o recombinados, en particular quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4), p15^{Ink4b}, p53, AFP, β -catenina, caspasa 8, p53, mutaciones p21^{Ras}, producto de fusión Bcr-abl, MUM-1 MUM-2, MUM-3, ELF2M, HSP70-2M, HST-2, KIAA0205, 5 RAGE, miosina/m, 707-AP, CDC27/m, ETV6/AML, TEL/Aml1, Decalcin, LDLR/FUT, Pml-RAR α , TEL/AML1; antígenos del cáncer de testículo (CT) , en particular NY-ESO-1, miembros de la familia MAGE (MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6 MAGE-10, MAGE-12), BAGE, DAM-6, DAM-10, miembros de la familia 10 GAGE (GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8), NA-88A, CAG-3, antígeno 6250 asociados a RCC; antígenos de virus tumorales, en particular las oncoproteínas E6 o E7 derivadas del virus de papiloma humano 15 (HPV), EBNA2-6 del virus de Epstein Barr, LMP-1, LMP-2; antígenos de diferenciación sobreexpresados o específicos de tejidos, en particular gp77, gp100, MART-1/Melan-A, p53, tirosinasa, proteínas relacionadas con tirosinasa (TRP-1 y TPR-2), PSA, PSM, MC1R; antígenos ampliamente expresados, en 20 particular ART4, CAMEL, CEA, CypB, HER2/neu, hTERT, hTRT, ICE, Mucl, Muc2, PRAME RU1, RU2, SART-1, SART-2, SART-3 y WTI.

Se sabe que las células proliferativas, en particular las células tumorales, producen factores difusibles, que 25 atraen a las células endoteliales y estimulan su crecimiento.

48
28

to. Por ello, los tumores constituyen una de las pocas áreas del cuerpo donde se observa una nueva vascularización. En consecuencia, se ha utilizado el endotelio de tumores proliferativos y las estructuras asociadas con el mismo para dirigir específicamente drogas hacia el sitio del tumor. Las estructuras moleculares asociadas con las angiogénesis se revisan, p.ej., en WO 96/01653, Alessi P. et al. (2004) y Nanda, H. y Saint-Croix (2004). Las células que constituyen los tejidos proliferativos expresan factores tanto angiogénicos como anti-angiogénicos, que en tanto los inhibidores de la angiogénesis contrarrestan el efecto de los factores angiogénicos conduce a la supresión de angiogénesis. Cuando prevalece el efecto de los factores angiogénicos, conducen al inicio de la angiogénesis. Por lo tanto, ambas estructuras, es decir activadores e inhibidores de la angiogénesis, que están relacionadas con la regulación de la angiogénesis pueden unirse al compuesto de direccionamiento de la presente invención. Los activadores de la angiogénesis incluyen, en un sentido no limitativo, estructuras moleculares tipo, por ejemplo fibronectina ED-B (ED-BF), endoglina (CD105) (Burrows, F.J. et al. (1997) Clin. Cancer Res. 1: 1623-1634), miembros de la familia VEGF, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR), NRP-1, Ang1, Thie2, PDGF-bb y receptores, TGF- β 1, receptores de TGF- β , FGF, HGF, MCP-1, integrantes ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_5\beta_1$), caderina VE, PICAM (CD31), efrinas,

activadores de plasminógeno, las MMP PAI-1, NOS, COX-2, A733, quimioquinas o Id1/Id3. Los inhibidores de la angiogénesis incluyen, en un sentido no limitativo, estructuras moleculares tipo, p.ej. VEGFR-1, Ang2, TSP-1, -2, angiostatina y kringles relacionados con plasminógeno, endostatina (colágeno (fragmento XVII), vasostatina, factor plaquetario IV, TIMP, inhibidores de MMP; PEX, METH-1, METH-2, IFN- α , - β , - γ , IP-10, IL-4, IL-12, IL-18, prolactina, VEGF, fragmento de SPARC, fragmento de osteopontina o maspina (Carmeliet, P. y Jain, R.K. (2000) Nature 407: 249-257; Yancopoulos, G.D. et al. (2000) Nature 407: 242-248; Bergers, G. y Benjamin, L.E. (2002) Nature Reviews Cancer 3: 401-410; Hendriks, M.J.C. et al. (2002) Nature Reviews Cancer 3: 411-421).

En una realización preferida, los compuestos de direccionamiento se unen a los factores específicos de la angiogénesis ED-BF, VEGFR o endoglina. Entre dichos factores, ED-BF es una estructura blanco particularmente preferida. El factor ED-BF es una variante de procesamiento de la fibronectina, también conocida como fibronectina oncofetal, que se forma específicamente en las estructuras microvasculares recién formadas durante la angiogénesis.

El componente que se une a estas estructuras es preferentemente un péptido (cadena de aminoácidos que posee entre 2 y 50 residuos de aminoácidos), una proteína (cadenas de aminoácidos de más de 50 residuos de aminoácidos), un ácido

nucleico, una pequeña molécula o un azúcar. En lo que resta de esta memoria descriptiva, también se hace referencia a péptidos y proteínas como polipéptidos.

Los polipéptidos preferidos son ligandos de estructuras
5 que se expresan preferencial o exclusivamente en células proliferativas o en la proximidad de dichas células proliferativas tal como en las estructuras vascularizadas o en vascularización, en particular el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), somatostatina, análogos de somatostatina, bombesina, análogos de bombesina, péptido intestinal
10 vasoactivo (VIP) y análogos, neurotensina y análogos de neurotensina, neuropéptido Y y análogos y anticuerpos, incluyendo anticuerpos humanos, humanizados y quiméricos; el dominio de unión al anticuerpo que comprende fragmentos, por
15 ejemplo Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fabc, Facb; anticuerpos de una sola cadena, por ejemplo Fvs de cadena simple (scFvs); y *diabodies* [fragmentos divalentes de anticuerpos].

En la literatura se describe una amplia variedad de dichos anticuerpos e incluyen para ED-BF: L19 y E8 (véase Viti
20 F. et al. (1999) Cancer Res. 59:347-352), el anticuerpo monoclonal BC-1 descrito en EP 0 344 134 B1, que se puede obtener del hibridoma depositado en la *European Collection of Animal Cell Cultures*, Porton Down, Salisbury, Reino Unido, con el número 88042101 o una versión quimérica o humanizada
25 del mismo, los anticuerpos contra ED-BF con las secuencias

51
5X

específicas V_L y V_H descritas en WO 97/45544 A1, los anticuerpos contra ED-BF con las secuencias específicas V_L y V_H descritas en WO 99/5857 A2, los anticuerpos contra ED-BF con las secuencias específicas V_L y V_H descritas en WO 01/62800
5 A1 y AP38 y AP39 (Many C, et al. (2001) Protein Expr. Purif. 21:156-64). Los anticuerpos específicos para ED-BF fueron revisados por Ebbinghaus C, et al. (2004) Curr Pharm Des. 10:1537-49. Todos estos anticuerpos, o los fragmentos de unión al anticuerpo de los mismos, se pueden usar como com-
10 ponentes de unión específica para angiogénesis en un uso preferido de la presente invención. Los anticuerpos particularmente preferidos son L19, E8, AP 38 y AP 39 o fragmentos que comprenden el dominio de unión de los mismos.

Los anticuerpos para VEGF-R incluyen Bevacizumab (Avas-
15 tinTM, rhumAb-VEGF desarrollado por Genentech y Roche), el anticuerpo mAb 6.12 anti-VEGFR-1, los anticuerpos IMC-2C6 e IMC-1121 anti-VEGFR 2 completamente humanos, los mAb HF4-3C5 (alt Imclone Systems Inc.) y KM-2550 (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd.) anti-VEGFR-3 completamente humanos, un anticuerpo an-
20 ti-VEGFR-1 (Salgaller ML (2003) Current Opinion in Molecular Therapeutics 5(6):657-667). Los anticuerpos para endogлина incluyen: SN6h, SN6, SN6a, SN6j, P3D1, P4A4, 4464, GRE, E-9, CLE-4, RMACB, PN-E2, MAEND3, TEC4, TEC11, A11, 8E11. El clon SN6h se ha utilizado ampliamente para estudiar la expresión
25 de la endogлина en diferentes entidades tumorales mediante

52
DL

inmunohistoquímica (Wikström P. et al. (2002) The Prostate 51:268-275; Li C. et al. (2003) Br. J. Cancer 88:1424-1431; Saad R.S. et al. (2004) Modern Pathol. 17: 197-203). Se han descrito los anticuerpos SN6, SN6a y SN6j pertenecientes de la misma serie SN6 (She X. et al. (2004) Int. J. Cancer 108:251-257). Se han determinado los epitopes de unión de endoglina para los clones de anticuerpo P3D1, P4A4, 4464, GRE, E-9, CLE-4, RMAC8, PNE2, MAEND3, TEC4, TEC11 (Pichuan-tes S, et al. (1997) Tissue antigens 50:265-276). Algunos de estos anticuerpos y el clon de anticuerpo A11 fueron inves-
tigados en la expresión diferencial de endoglina en tejidos normales y tumorales de origen humano (Duff S.E. et al. (2003) FASEB J. 17:984-992). En WO 02/02614 se describen otros anticuerpos específicos de endoglina, p.ej. scFv C4. En una de las últimas publicaciones sobre anticuerpos contra CD105, se investigó el clon 8E11 por su capacidad de predic-
ción de riesgo metastásico en pacientes con cáncer de mama mediante inmunohistoquímica (Dales J.P. et al. (2004) Br. J. Cancer 90:1216-1221). Todos estos anticuerpos, o fragmentos de unión al anticuerpo de los mismos, pueden usarse como
componente de unión específico de la angiogénesis en un uso preferido de la presente invención.

Además, en la técnica anterior se describen muchos anticuerpos, o fragmentos de unión de los mismos, que se unen específicamente ellos mismos a diversas células tumorales e

incluyen, a modo de ejemplo, anticuerpos contra receptores acoplados a la proteína G, proteínas de los poros, canales iónicos, bombas de eflujo de drogas, sitios de unión accesorios para los factores de crecimiento, sulfato de heparano, proteasas unidas a membrana, moléculas de adhesión, receptores de células T y selectinas, en particular EGF, TGF, CEA, Lewis Y, CD 20, CD 33 o CD38. Aún más, se pueden utilizar anticuerpos, o fragmentos de unión de los mismos, contra antígenos asociados con cáncer definido por células T que pertenecen a los productos genéticos únicos de genes celulares mutados o recombinados, en particular quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4), p15^{ink4b}, p53, AFP, β -catenina, caspasa 8, p53, mutaciones p21^{Ras}, producto de fusión Bcr-abl, MUM- 1 MUM-2, MUM-3, ELF2M, HSP70-2M, HST-2, KIAA0205, RAGE, miosina/m, 707AP, CDC27/m, ETV6/AML, TEL/Aml1, Dekcain, LDLR/FUT, Pml-RARa, TEL/AML1; antígenos del cáncer de testículo (CT), en particular NY-ESO-1, miembros de la familia MAGE (MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6 MAGE-10, MAGE-12), BAGE, DAM-6, DAM-10, miembros de la familia GAGE (GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7B, GAGE-8), NA-88A, CAG-3, antígeno 6250 asociado con RCC; antígenos de virus tumorales, en particular las oncoproteínas E6 o E7 derivadas del virus de papiloma humano (HPV), EBNA2-6 del virus de Epstein Barr, LMP-1, LMP-2; antígenos de la diferenciación sobreexpresados o específicos de tejidos, en parti-

BA

cular gp77, gp100, MART-1/Melan-A, p53, tirosinasa, proteínas relacionadas con tirosinasa (TRP-1 y TPR-2), PSA, PSM, MC1R; antígenos de expresión amplia, en particular ART4, CA-MEL, CEA, CypB, HER2/neu, hTERT, hTRT, ICE, Mucl, Muc2, PRA-
5 ME RU 1, RU2, SART-1, SART-2, SART-3 y WTI.

Es bien sabido en la técnica que los ácidos nucleicos pueden poseer propiedades de unión específicas, por lo cual el componente de direccionamiento también puede ser un ácido nucleico. Preferentemente, dichos ácidos nucleicos incluyen
10 ADN, ARN, aptámeros y PNA, siendo los aptámeros particularmente preferidos. Los métodos para identificar específicamente aptámeros de unión son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en WO 93/24508 A1, WO 94/08050 A1, WO 95/07364 A1, WO 96/27605 A1 y WO 96/34875 A1. Los mé-
15 todos descritos en dichos documentos se citan específicamente como referencias y se pueden usar en la identificación de aptámeros, que se unen específicamente a tejidos en proliferación o a tejidos próximos a los tejidos en proliferación, tal como el endotelio recién formado y/o en proliferación.
20 Los compuestos de direccionamiento particularmente preferidos para el uso de la presente invención son los aptámeros de unión específicos de la angiogénesis. Los aptámeros preferidos empleados en el uso de la presente invención reconocen específicamente ED-BF, endoglina o VEGFR.

25 Con el advenimiento de la detección de gran rendimiento

de pequeñas moléculas, es decir compuestos que no son peptídico, que no son ácidos nucleicos, de un peso molecular menor que 1,000 g/mol, preferentemente menor que 500 g/mol, ha sido posible identificar pequeñas moléculas con propiedades
5 de unión particulares. Dichas pequeñas moléculas se pueden emplear igualmente como un componente de direccionamiento en el uso de la presente invención. Una molécula pequeña preferida es la 2,2-difeniletilamina, que se identificó por unirse específicamente al ED-BF (Scheuermann J. (2002) Isolation
10 of binding molecules to the EDB domain of fibronectin, a marker of angiogenesis. Disertación enviada a la Swiss Federal Inst. of Technology, Zurich).

Los compuestos de direccionamiento precedentes pueden acoplarse a los compuestos utilizables de acuerdo con la
15 presente invención y en particular a SF64, 5-29, 5-36 y/o 5-41 mediante un enlace directo o indirecto. En este contexto el término "enlace directo" significa un enlace covalente con un residuo del compuesto de direccionamiento, en tanto el término "enlace indirecto", tal como se utiliza en la
20 presente, significa que uno o más residuos químicos adicionales unidos mediante un enlace covalente o no covalente está ubicado entre el colorante SF64 y el compuesto de direccionamiento. Dichos uno o más residuos químicos adicionales también se conocen como "espaciadores". Un espaciador puede
25 proveer, por ejemplo, una separación espacial entre el com-

puesto de direccionamiento y el colorante SF64. Se conocen diversos métodos para acoplar los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular los colorantes de cianina SF64, 5-29, 5-36 y/o 5-41 a un compuesto de direccionamiento, definido precedentemente, en la técnica y habitualmente comprenden introducir funcionalidades reactivas en el colorante, sintetizar al colorante como un derivado con funcionalidades reactivas y/o en el compuesto de direccionamiento, que puede formar enlaces covalentes. Dichos grupos incluyen, por ejemplo, grupos tio, hidroxilo, amino o carboxi. Para los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular para SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41, el acoplamiento se puede efectuar por cualquiera de los grupos indol y/o de los grupos metilo en la posición 3 del heterociclo indol o en el grupo metilo ubicado en el medio del heptatrieno o se puede efectuar por cualquiera de los residuos de carbono del heptatrieno. Además, el acoplamiento entre el compuesto de direccionamiento y los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 se puede efectuar por las cadenas de alquilo ligadas al nitrógeno del indol. Preferentemente, el compuesto de direccionamiento se acopla a uno de los grupos metilo en la posición 3 del indol o al grupo 4-metilo del heptatrieno.

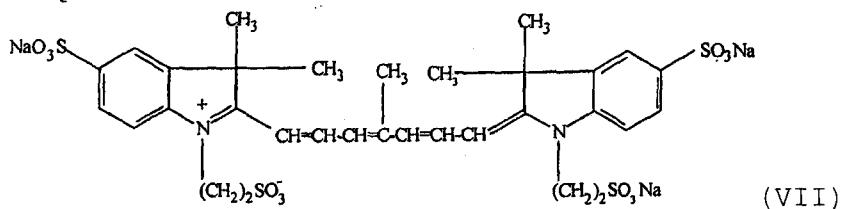
El término "ligando de receptores" se refiere a poli-

péptidos que se unen específicamente a receptores sobre la superficie celular, es decir que son compañeros de unión naturales del receptor. La interacción entre el receptor y su ligando puede tener diferentes consecuencias, por un lado es posible que el ligando y el receptor simplemente actúen como un enlace entre, por ejemplo, dos células o que la unión pueda conducir a un cambio funcional o en la conformación del receptor, lo que a su vez puede dar como resultado, por ejemplo, la activación de una función enzimática del receptor o la asociación del receptor con otros componentes nuevos y/o diferentes dentro de la membrana celular, en el sitio extracelular o en el sitio citoplasmático de la membrana celular. En este contexto, los ligandos pueden tener un efecto agonista o antagonista sobre la función del receptor.

Los ligandos de receptores, según el significado en la invención, también comprenden ligandos modificados, que podrían contener aminoácidos N- o C-terminales adicionales o en los cuales se han sustituido aminoácidos sin una disminución significativa de la actividad de unión al receptor. En este contexto, una disminución en más de un 90% se considera significativa. Preferentemente, los ligandos modificados muestran un incremento en la unión específica. Los ejemplos de dichos ligandos de receptores son: VEGF, somatostatina y análogos de la misma, bombesina o y análogos de bombesina, el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y análogos, neuroten-

sina y análogos de neurotensina, el neuropéptido Y y análogos del mismo.

Preferentemente, el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) y/o (III) a (VI) anteriores se usa en la forma de la sal de sodio, no obstante, también es posible usar otras sales aceptables para uso farmacéutico además de o en lugar de la sal de sodio, es decir se puede sustituir uno o más iones de sodio en la molécula por uno o más cationes orgánicos o inorgánicos adicionales aceptables para uso farmacéutico incluyendo otros iones de metales alcalinos, como potasio, metales alcalino-térreos, tal como magnesio, calcio y semejantes, cationes orgánicos, tal como trietilamonio, tributilamonio, piridinio y semejantes, sales de aminoácidos, tal como lisina, arginina y semejantes. Una sal de sodio particularmente preferida del compuesto que se puede emplear de acuerdo con la presente invención se ilustra en la fórmula (VII)



Las enfermedades proliferativas que pueden ser diagnosticadas usando la cantidad indicada del compuesto que se puede emplear de acuerdo con la presente invención se seleccionan preferentemente del grupo formado por un tumor, una precancerosis, una displasia, una metaplasia, psoriasis, ar-

tritis psoriática, artritis reumatoide, endometriosis y/o una enfermedad oftalmológica.

Las enfermedades proliferativas preferidas, que se pueden diagnosticar, comprenden tumores. Los tumores se pueden
5 diferenciar además en tumores primarios o metástasis de los mismos. A menudo la célula en metástasis crece más rápidamente, presenta menos dependencia del anclaje, tiene una ploidía cromosómica más alta y ha alcanzado la capacidad para extravasarse de la circulación debido a la expresión de
10 metaloproteinasas de la matriz de tipo proteasas, p.ej. collagenasas, y semejantes. Por lo tanto, el tumor es diagnosticado preferentemente antes de entrar en metástasis. Aunque el riesgo de entrar en metástasis de los tumores primarios en general incrementa con el tamaño, algunos tumores como,
15 p.ej., los melanomas a menudo forman metástasis cuando su tamaño es de tan solo uno o unos pocos milímetros en tanto otros tumores son mucho menos propensos a una diseminación temprana de células tumorales por todo el cuerpo como, p.ej., el cáncer de próstata. Una ventaja significativa del
20 uso de la presente invención es la capacidad para detectar lesiones proliferativas de tamaño pequeño, en particular tumores primarios. Preferentemente, la lesión proliferativa detectada es menor que 10 mm, preferentemente menor que 9 mm, preferentemente menor que 8 mm, preferentemente menor que
25 7 mm, preferentemente menor que 6 mm, preferentemente menor

que 5 mm y más preferentemente menor que 4 mm.

Preferentemente, el tumor diagnosticado de acuerdo con el uso de la presente invención es un malignoma del tracto gastrointestinal o colorrectal, hígado, páncreas, riñón, vejiga, tiroides, próstata, endometrio, ovario, testículo, melanoma, mucosa oral displásica, cáncer oral invasiva, carcinoma de pulmón de células pequeñas o de células no pequeñas; un tumor mamario, incluyendo cáncer de mama dependiente de hormonas, cáncer de mama no dependiente de hormonas; cáncer de células de transición y escamosas; formas malignas neurológicas incluyendo neuroblastoma, gliomas, astrocitomas, osteosarcoma, meningioma; sarcoma de tejidos blandos; hemangioama y tumores endocrinológicos, incluyendo adenoma pituitario, feocromocitoma, paraganglioma, una forma maligna hematológica incluyendo linfoma y leucemia o las metástasis originarias de uno de los tumores mencionados precedentemente. Los tumores particularmente preferidos son los tumores de mama, cérvix, próstata, testículo, donde el órgano/tejido a partir se desarrolla el tumor es fácilmente asequibles desde el exterior o por medios endoscópicos.

La precancerosis, que es detectable de acuerdo con el uso de la presente invención, se selecciona preferentemente del grupo formado por precancerosis de la piel, en particular queratosis actínica, cuerno cutáneo, queilitis actínica, queratosis por alquitrán, queratosis por arsénico, querato-

61
~~61~~

sis por rayos X, enfermedad de Bowen, papulosis bowenoide, lentigo maligno, líquen escleroso y líquen rojo de la mucosa; precancerosis del tracto digestivo, en particular eritroplaquia, leucoplaquia, esófago de Barrett, síndrome de
5 Plummer-Vinson, úlcera crural, gastropatía hipertrófica gigante, carcinoma *borderline*, pólipo intestinal neoplásico, pólipo rectal, vesícula en porcelana; precancerosis ginecológica, en particular carcinoma ductal *in situ* (CDIS), neoplasia intraepitelial cervical (CIN), leucoplaquia, hiper-
10 plasia del endometrio (grado III), distrofia vulvar, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN), mole hidatidiforme; precancerosis urológica, en particular papilomatosis de vejiga, eritroplasia de Queyrat, neoplasia intraepitelial testicular (TIN), leukoplaquia; carcinoma *in situ* (CIS); precancerosis
15 causada por inflamación crónica, en particular pioderma, osteomielitis, acné conglobata, lupus vulgar y fístula.

La displasia es con frecuencia un precursor del cáncer, y se observa principalmente en los epitelios; es la forma más desordenada de crecimiento de células no neoplásicas,
20 que comprende una pérdida de la uniformidad celular individual y de la orientación arquitectónica de las células. Las células displásicas a menudo poseen núcleos anormalmente grandes, fuertemente teñidas, y exhiben pleomorfismo. La displasia se produce característicamente cuando existe una
25 irritación o inflamación crónica. Los trastornos displásicos

62
82

que pueden ser diagnosticados de acuerdo con la presente invención incluyen, a modo de ejemplo, displasia ectodérmica anhidrótica, displasia anterofacial, displasia torácica asfixiante, displasia atriocardial, displasia broncopulmonar, 5 displasia cerebral, displasia cervical, displasia condroectodérmica, displasia cleidocraneal, displasia ectodérmica congénita, displasia craneodifisaria, displasia craneocarpotarsal, displasia craneometafisaria, displasia de dentina, displasia difisaria, displasia ectodérmica, displasia del 10 esmalte, displasia encéfalo-oftálmica; displasia epifisaria hemimélica, displasia epifisaria múltiple, displasia epifisaria punctata, displasia epitelial, displasia faciocardigital, displasia fibrosa familiar de la mandíbula, displasia familiar de pliegues blancos, displasia fibromuscular, 15 displasia fibrosa de los huesos, displasia ósea florida, displasia renal-retinal hereditaria, displasia ectodérmica hidrótica, displasia ectodérmica hipohidrótica, displasia tímica linfopénica, displasia mamaria, displasia mandibulofacial, displasia metafísica, displasia de Mondini, displasia 20 fibrosa monostótica, displasia mucoepitelial, displasia epifisaria múltiple, displasia oculoauriculovertebral, displasia oculodentodigital, displasia oculoverttebral, displasia odontogénica, displasia oftalmomandibulomélica, displasia cemental periapical, displasia fibrosa polioestótica, 25 displasia espondiloepifisaria pseudocondroplásica, displa-

63
63

sia retinal, displasia septo-óptica, displasia espondiloepifisaria y displasia ventriculorradial.

La metaplasia es una forma de crecimiento celular controlado en la cual un de célula adulta o completamente diferenciada es sustituida por otro tipo de célula adulta. Los trastornos metaplásicos, que son detectables de acuerdo con el uso de la presente invención, se seleccionan preferentemente del grupo formado por metaplasia mieloide agnogénica, metaplasia apócrina, metaplasia atípica, metaplasia autoparenquimatosa, metaplasia del tejido conectivo, metaplasia epitelial, metaplasia intestinal, anemia metaplásica, osificación metaplásica, pólipos metaplásicos, metaplasia mieloide, metaplasia mieloide primaria, metaplasia mieloide secundaria, metaplasia escamosa, metaplasia escamosa del amnios, metaplasia mieloide sintomática y metaplasia regenerativa.

La enfermedad oftalmológica, que es detectable de acuerdo con el uso de la presente invención, se selecciona preferentemente del grupo formado por tracoma, retinopatía del prematuro, retinopatía diabética, glaucoma neovascular y degeneración macular relacionada con la edad.

La endometriosis es una enfermedad ginecológica definida por la proliferación de tejido del endometrio fuera de la cavidad uterina. Las células del endometrio proliferativo se pueden distribuir por todo el cuerpo y se han encontrado lesiones de endometrio en pulmón y en otros órganos y en ese

~~69~~

sentido la distribución de las lesiones de endometrio aseme-
jan la distribución de micrometástasis. En una realización
preferida del uso de la presente invención, las lesiones en-
dométricas, p.ej. agrupaciones de células del endometrio, son
5 detectadas son agrupaciones de células hematogénicas, agru-
paciones de células de cavidades, agrupaciones de células
intraluminales, agrupaciones de células linfáticas, agrupa-
ciones de células locales y/o agrupaciones de células regio-
nales.

10 El uso de la presente invención puede ser para un dia-
gnóstico de rutina, es decir, para la detección de las en-
fermedades indicadas respectivamente. Sin embargo, en una
realización adicional se usan los conjugados una vez que se
ha diagnosticado la enfermedad con, p.ej., un procedimiento
15 estándar de rayos X, p.ej. mamografía, un escaneado [scan]
de cuerpo entero o MRI. El paciente es examinado por metás-
tasis y/o uno o más tumores primarios pequeños (adiciona-
les). Dicho examen puede realizarse para una mejor evalua-
ción de la severidad, p.ej. la etapa de la enfermedad, o pa-
20 ra determinar las mejores opciones de tratamiento y/o antes,
durante y/o después de un procedimiento de tratamiento
(p.ej. drogas, radiación o cirugía). Si el uso de presente
invención se aplica antes de un procedimiento de tratamien-
to, debido a su gran sensibilidad, permite determinar si,
25 p.ej., ya se han formado metástasis en la proximidad del tu-

mor primario, y, por lo tanto permite también determinar mejor el régimen de tratamiento, p. ej. si corresponde una lumpectomía o una mastectomía en el cáncer de mama.

Después del tratamiento, el uso del procedimiento de diagnóstico de la presente invención permite evaluar el éxito del procedimiento de tratamiento y determinar los regímenes de tratamiento subsiguientes, p. ej. radiación o quimioterapia. Cuando se usa durante un procedimiento quirúrgico es posible, p. ej., detectar metástasis en los tejidos, p. ej. nodulos linfáticos, que rodean al tumor primario. En esta realización, el uso de la presente invención permite una remoción más completa de los tumores o metástasis durante un procedimiento quirúrgico.

En un aspecto adicional del uso de la presente invención, la composición de diagnóstico además comprende materiales aceptables para uso farmacéutico tales como, por ejemplo, sales aceptables para uso farmacéutico para ajustar la presión osmótica, soluciones amortiguadoras, conservantes, vehículos y/o excipientes. Preferentemente, la composición de diagnóstico es suministrada en una forma libre de pirógenos aceptable para uso farmacéutico parenteral, que puede ser una solución acuosa o un liofilizado para su reconstitución antes de la administración. La preparación de dicha composición farmacéutica teniendo en cuenta la isotonicidad de pH, estabilidad y semejantes es propia del conocimiento

66
66

de los especialistas en la técnica. Las composiciones de diagnóstico usadas de acuerdo con la presente invención pueden incluir diluyentes aceptable para uso farmacéutico, tales como, p.ej., cloruro de sodio para inyectables y Ringer para inyectables. Para la administración a seres humanos, la composición se puede administrar en suero o plasma autólogo.

En un uso preferido de la presente invención, el compuesto diagnóstico es administrado por vía parenteral y más preferentemente por vía intravenosa. Después de la administración intravenosa de uno o más de los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular de SF46, 5-29, 5-36 y 5-41, se pueden obtener las imágenes *in vivo* en términos de unos pocos minutos. Sin embargo, la exploración de imágenes puede tener lugar, si se desea, horas o aún más después de haber inyectado uno o más de los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 en el paciente. En la mayoría de los casos, se acumulará una cantidad suficiente de la dosis administrada en el área donde se van a obtener las imágenes dentro de aproximadamente 0,1 hora. Al usar uno o más de los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 se ha encontrado sorpresivamente que el agente de contraste permitió obtener imágenes de los tumores hasta 48 h después

de la inyección. Esto representa una ventaja adicional con respecto a la técnica anterior de colorantes dado que permite la administración del compuesto que se puede usar de acuerdo con la presente invención uno o aún dos días antes del uso de DOT, p.ej., por parte del especialista a cargo del paciente, lo que después permite obtener imágenes de forma inmediata de dicho paciente en un centro de diagnóstico especializado sin necesidad de inyectar el colorante en el centro de diagnóstico y permite la distribución del agente de contraste el día que se llevó a cabo la DOT. Por lo tanto, en una realización preferida el compuesto de diagnóstico es administrado al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 ó 48 h antes de obtener las imágenes.

Como se mencionara precedentemente, se ha encontrado sorpresivamente que se han descrito cantidades de colorantes de cianina utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular de SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 para otros colorantes de cianina tipo ICG que son suficientes para proveer la sensibilidad y especificidad necesaria para la detección de enfermedades proliferativas. Sin embargo, en una realización preferida del uso de acuerdo con la presente invención el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) está incluido en la composición de diagnóstico en una cantidad que

88

comprende aproximadamente 0,4, aproximadamente 0,3, aproximadamente 0,2, 0,1, menos que 0,1, aproximadamente 0,09, aproximadamente 0,08, aproximadamente 0,07, aproximadamente 0,06, aproximadamente 0,05, aproximadamente 0,04, aproximadamente 0,03, aproximadamente 0,02 y aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal. En consecuencia, los rangos preferidos de el o los compuestos utilizables de acuerdo con la presente invención y en particular de SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 que se pueden administrar comprenden entre 0,4 y 0,001, entre 0,2 y 0,001, entre 0,1 y 0,001, entre menos de 0,1 y 0,001, entre 0,09 y 0,001, entre 0,008 y 0,001, entre 0,06 y 0,001, entre 0,05 y 0,001 mg por kg de peso corporal. Debido a la gran hidrofiliicidad y la alta solubilidad en agua, los volúmenes inyectables de los compuestos de la presente invención y en particular de SF46, 5-29, 5-36 y/o 5-41 para los pacientes pueden ser tan bajos como 1 ml, lo que es significativamente menos que las inyecciones usadas actualmente que exceden los 10 ml. Por ello, en una realización preferida del uso de acuerdo con la presente invención, el compuesto acorde con la fórmula (I) está contenida en menos que 5 ml, preferentemente menos que 4 ml, preferentemente menos que 3 ml, preferentemente menos que 2 ml y aún más preferentemente en 1 ml aproximadamente de composición de diagnóstico.

Un aspecto adicional de la presente invención es un conjunto de elementos de diagnóstico que comprende uno o más

~~69~~

compuestos de la fórmula (I) y/o (III) a (VI) en una cantidad que permite preparar una composición de diagnóstico para administrar entre menos que 0,5 y 0,001 mg/kg de peso corporal, preferentemente entre 0,4 y 0,001, entre 0,2 y 0,001, 5 entre 0,1 y 0,001, entre menos que 0,1 y 0,001, entre 0,09 y 0,001, entre 0,008 y 0,001, entre 0,06 y 0,001, entre 0,05 y 0,001 mg/kg de peso corporal del compuesto por aplicación de diagnóstico y, opcionalmente, una sal, vehículo, excipiente y/o solución amortiguadora aceptable para uso farmacéutico 10 definido precedentemente. Preferentemente, el conjunto de elementos comprende al compuesto y componentes opcionales adicionales en una forma liofilizada.

Se considera que sin mayor elaboración, un especialista en el arte puede utilizar la presente invención en su grado 15 más completo usando la presente descripción. Los siguientes Ejemplos deben considerarse, entonces, como meramente ilustrativos y no en un sentido limitativo de la descripción en modo alguno.

Descripción breve de las figuras

20 Fig. 1: Mamografía óptica después de inyección i.v. de SF64 en una paciente con cáncer de mama invasivo en la mama derecha. La mancha clara es causada por una señal de fluorescencia marcada de SF64, que luego de la inyección i.v. se acumuló en este cáncer de mama invasivo.

25 Fig. 2: Ejemplo de imágenes tomadas ex vivo de metástas-

sis de endometrio experimentales 6 h después de administrar la sustancia. En el panel de la izquierda se muestra la estructura del colorante fluorescente y en el panel de la derecha se muestra la imagen de la preparación de tejido del endometrio. La imagen incluye una regla indicadora del tamaño a escala en cm.

Fig. 3: Ejemplo de imágenes tomadas in vivo de microlesiones espontáneas de la piel 6 h después de administrar la sustancia. En el panel A se muestra la imagen original y en el panel B se muestra la imagen invertida. La imagen incluye una regla indicadora del tamaño a escala en cm.

Ejemplos

Mamografía óptica después de inyección i.v. de SF64 en una paciente con cáncer de mama invasivo en la mama derecha.

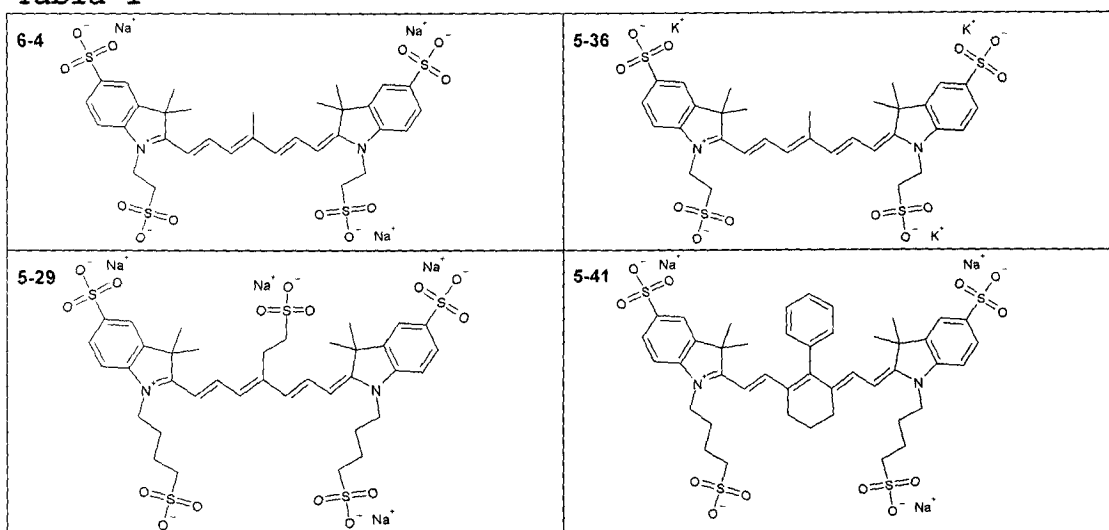
Se inyectó una dosis de SF64 a 0,1 mg/kg de peso corporal, después de diluir del liofilizado con salina normal 0,9%, por vía intravenosa a través de una cánula permanente en el antebrazo. Se obtuvieron las imágenes del paciente con un dispositivo para mamografía láser tomográfico computado óptico en una posición adecuada, con la mama colgando libremente dentro de la cámara de producción de imágenes, estando rodeado de aire. La adquisición de las imágenes comenzó 1 hora y 10 minutos después de la inyección i.v. de SF64 y se efectuó una reconstrucción de imágenes usando la modalidad de fluorescencia, con lo cual se observaba casi exclusivamen-

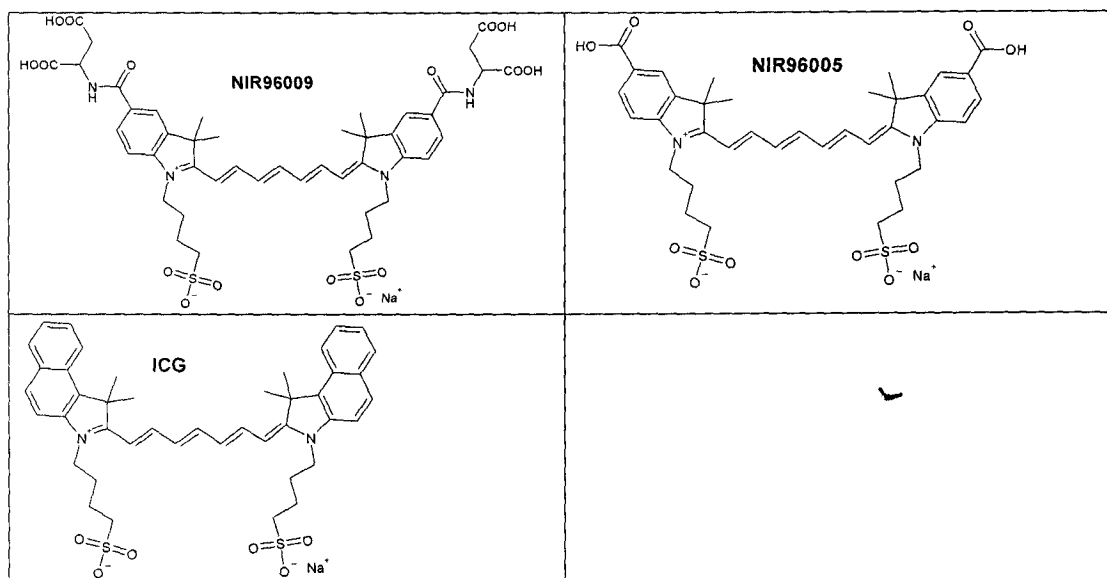
te la señal de fluorescencia de SF64. El colorante de contraste se acumuló en este cáncer de mama invasivo, que está representado en la imagen por la mancha brillante. Esto condujo a la marcada señal de fluorescencia de SF64 en la imagen.

Determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia de diversos colorantes de tricarbocianina

Los compuestos 6-4, 5-36, 5-29, 5-41, NIR96009, NIR96005 e ICG (véase la Tabla 1) fueron evaluados por sus rendimientos cuánticos de fluorescencia a una concentración de 2 μ M ya sea en agua o plasma. Resulta evidente a partir de la Tabla 2 que una sustitución en el medio del colorante de tricarbocianina mejora el rendimiento cuántico de fluorescencia en ambos medios.

Tabla 1



**Tabla 2**

Compuesto (N°)	Máx. fluores- cencia (nm) En plasma	Rendimiento cuántico de fluorescen- cia (%) En plasma	Rendimiento cuántico de fluorescen- cia (%) En agua	Observaciones
<i>Compuestos donde L4 = alquilo sustituido</i>				
6-4	787	17	11	
5-36	787	17	12	
5-29	813	9,8	8,2	
5-41	799	19	10	
<i>Compuestos sin sustitución con alquilo en L4</i>				
NIR96009	786	7,8	5,8	* véase la ref.
NIR96005	795	7,2	5,6	* véase la ref.
ICG	829	3	1	* véase la ref.

* Licha et al., Proceedings of the SPIE, Vol. 2927 (Bellingham, VA, EE.UU.), 1996, págs. 192-198

Obtención de imágenes de micrometástasis en ratones desnudos

5 con tumores Capan-1

Se tripsinizaron células de tumores Capan-1 cultivadas hasta subconfluencia en cultivo, se centrifugaron y se vol-

vieron a suspender en PBS. Después de teñirlas con azul Trypan y calcular la concentración celular, la suspensión de células se definió en una concentración de $3 \times 10^7/\text{ml}$. La suspensión de células se enfrió sobre hielo hasta el momento
5 del uso. Se anestesiaron tres ratones desnudos hembra (NMRI-desnudo, 24-25 g de peso corporal) y se inocularon 30 μl (1×10^6 células/animal) de la suspensión de células por vía subcapsular en el páncreas en cada animal después de efectuarles una incisión abdominal. Cada animal recibió 0,05
10 $\mu\text{mol/kg}$ de peso corporal (0,04 mg de colorante por kg de peso corporal) de una sustancia que comprende un colorante de cianina que posee la estructura representada en la Fig. 2, que había sido conjugado con el anticuerpo AP39 EB-DF (véase Marty C, et al. (2001) Protein Expr. Purif. 21:156-64). Esta
15 sustancia fue administrada por vía intravenosa en el momento en que era claramente palpable el crecimiento de un tumor (aproximadamente 12 a 14 semanas después del implante de células tumorales). Los animales fueron sacrificados 6 horas después de una administración por vía intravenosa de la sus-
20 tancia y se obtuvieron imágenes del mesenterio que contenía micrometástasis ex vivo para señales de fluorescencia usando una cámara CCD intensificada. La fluorescencia de la sustancia fue excitada por irradiación del mesenterio con luz infrarroja cercana con una longitud de onda de 740 nm, que era
25 producida con un diodo láser (0,5 W de salida). Las imágenes

por fluorescencia se guardaron digitalmente. A continuación, se evaluó el tamaño de las micrometástasis usando un microscopio con poco aumento (Stemi 2000-C, Fa. Carl Zeis). Se recibieron señales de fluorescencia de micrometástasis con un
5 rango entre 0,5 y 2,0 mm de diámetro y de metástasis mesen-
téricas más grandes y se corresponden con la evaluación con
microscopio. La eficacia de los conjugados de colorante se
muestran en la Fig. 2, panel derecho.

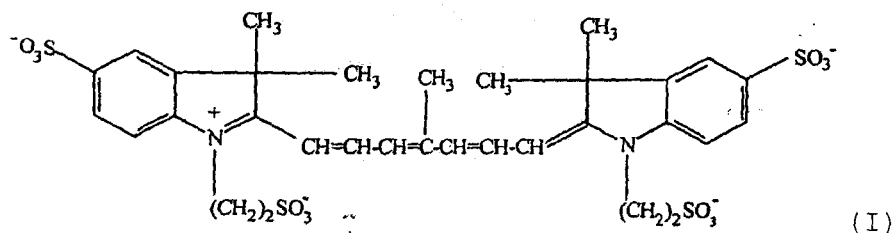
**Obtención de imágenes in vivo de microlesiones espontáneas
10 de la piel en ratones desnudos**

Se observaron múltiples microlesiones espontáneas en la
piel en dos ratones desnudos NMR. Cada ratón recibió, por
vía intravenosa, 0,05 $\mu\text{mol/kg}$ de peso corporal (0,04 mg de
colorante por kg de peso corporal) de un conjugado del colo-
15 rante AP39 representado en la Fig. 2. La obtención de imá-
ges se efectuó en ratones anestesiados 6 horas después de
administrar la sustancia. Se indujo una anestesia breve
usando el anestésico para inhalación isoflurano (Isofluran
Curamed, Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe, Alemania). La fluo-
20 rescencia de la sustancia se excitó con un diodo láser (lon-
gitud de onda de excitación de 742 nm, diodo láser, 0,5 W de
salida) y se detectó usando una cámara CCD intensificada.
Las imágenes por fluorescencia se guardaron digitalmente. A
continuación, se evaluó el tamaño de las microlesiones usan-
25 do un microscopio de poco aumento (Stemi 2000-C, Fa. Carl

Zeis). Se recibieron señales de fluorescencia de microlesiones que eran hasta < 1 mm. La eficacia de los conjugados de colorante se muestra en la Fig. 3 basado en un ejemplo representativo.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I)



o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo en la
5 preparación de una composición de diagnóstico para detectar
una enfermedad proliferativa, donde la composición de dia-
gnóstico comprende al compuesto en una cantidad menor que
0,5 y mayor que 0,001 mg/kg de peso corporal por aplicación
de diagnóstico.

10 2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde
el compuesto está acoplado a un compuesto de direccionamien-
to.

3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, donde
el compuesto de direccionamiento se selecciona del grupo
15 formado por los compuestos de direccionamiento que consisten
de un polipéptido, un ácido nucleico, una pequeña molécula o
un azúcar.

4. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindi-
caciones 1 a 3, donde el polipéptido se selecciona del grupo
20 formado por el ligando de un receptor, un anticuerpo, un an-
ticuerpo de cadena simple o un fragmento de unión de un an-
ticuerpo o de un anticuerpo de cadena simple.

5.El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la enfermedad proliferativa se selecciona del grupo formado por un tumor, una precancerosis, una displasia, una metaplasia, psoriasis, artritis psoriática, 5 artritis reumatoide, endometriosis y/o una enfermedad oftalmológica.

6.El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde el tumor es un tumor primario o una metástasis.

7.El uso de acuerdo con la reivindicación 6, donde 10 el tumor es un malignoma del tracto gastrointestinal o colorectal, hígado, páncreas, riñón, vejiga, tiroides, próstata, endometrio, ovario, testículo, melanoma, mucosa oral displásica, cáncer oral invasivo, carcinoma de pulmón de células pequeñas o de células no pequeñas; un tumor mamario, 15 incluyendo cáncer de mama dependiente de hormonas, cáncer de mama no dependiente de hormonas; cáncer de células de transición y escamosas; formas malignas neurológicas incluyendo neuroblastoma, gliomas, astrocitomas, osteosarcoma, meningioma; sarcoma de tejidos blandos; hemangioama y tumores endocrinológicos, incluyendo adenoma pituitario, feocromocitoma, paraganglioma, una forma maligna hematológica incluyendo 20 linfoma y leucemia o las metástasis originadas en uno de tumores mencionados precedentemente.

8.El uso de acuerdo con la reivindicación 6, donde 25 el compuesto de diagnóstico es administrado durante la de-

78
78

tección del tumor o antes, durante o después de una cirugía.

9. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde la precancerosis se selecciona del grupo formado por precancerosis de la piel, en particular queratosis actínica, queratosis por arsénico, queratosis por rayos X, enfermedad de Bowen, papulosis bowenoide, lentigo maligna, líquen escleroso y líquen rojo de la mucosa; precancerosis del tracto digestivo, en particular eritroplaquia, leucoplaquia, esófago de Barrett, síndrome de Plummer-Vinson, úlcera crural, gastropatía hipertrófica gigante, carcinoma *borderline*, pólipo intestinal neoplásico, pólipo rectal, vesícula en porcelana; precancerosis ginecológica, en particular carcinoma ductal *in situ* (CDIS), neoplasia intraepitelial cervical (CIN), leucoplaquia, hiperplasia del endometrio (grado III), distrofia vulvar, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN), mole hidatidiforme; precancerosis urológica, en particular, papilomatosis de vejiga, eritroplasia de Queyrat, neoplasia intraepitelial testicular (TIN), leucoplaquia; carcinoma *in situ* (CIS); precancerosis causada por inflamación crónica, en particular pioderma, osteomielitis, acné conglobata, lupus vulgar y fístula.

10. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde la metaplasia se selecciona del grupo formado por metaplasia mieloide angiogénica, metaplasia apócrina, metapla-

sia atípica, metaplasia autoparenquimatosa, metaplasia del tejido conectivo, metaplasia epitelial, metaplasia intestinal, anemia metaplásica, osificación metaplásica, pólipos metaplásicos, metaplasia mieloide, metaplasia mieloide primaria, metaplasia mieloide secundaria, metaplasia escamosa, metaplasia escamosa del amnios, metaplasia mieloide sintomática y metaplasia regenerativa.

11. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde la displasia se selecciona del grupo formado por displasia
10 ectodérmica anhidrótica, displasia anterofacial, displasia torácica asfixiante, displasia atriocardial, displasia broncopulmonar, displasia cerebral, displasia cervical, displasia condroectodérmica, displasia cleidocraneal,, displasia ectodérmica congénita, displasia craneodiafisaria, displasia
15 craneocarpotarsal, craneometafisaria displasia, displasia de dentina, displasia diafisaria, displasia ectodérmica, displasia del esmalte, displasia encéfalo-oftálmica, displasia epifisaria hemimélica, displasia epifisaria múltiple, displasia epifisaria punctata, displasia epitelial, displasia
20 faciocarditogenital, displasia fibrosa familiar de la mandíbula, displasia familiar de pliegues blancos, displasia fibromuscular, displasia fibrosa de los huesos, displasia ósea florida, displasia renal-retinal hereditaria, displasia ectodérmica hidrótica, displasia ectodérmica hipohidrótica,
25 displasia tímica linfopénica, displasia mamaria, displasia

80
80

mandibulofacial, displasia metafísica, displasia de Mondini, displasia fibrosa monostótica, displasia mucoepitelial, displasia epifisaria múltiple, displasia oculoauriculovertebral, displasia oculodentodigital, displasia oculovertebral, 5 displasia odontogénica, displasia oftalmomandibulomélica, displasia cemental periapical, displasia fibrosa polioestótica, displasia espondiloepifisaria pseudoacondroplásica, displasia retinal, displasia septo-óptica, displasia espondiloepifisaria y displasia ventriculorradial.

10 12. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde la enfermedad oftalmológica se selecciona del grupo formado por tracoma, retinopatía del prematuro, retinopatía diabética, glaucoma neovascular y degeneración macular relacionada con la edad.

15 13. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la composición de diagnóstico además comprende una sal, vehículo, excipiente y/o solución amortiguadora aceptable para uso farmacéutico.

20 14. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde el compuesto está incluido en la composición de diagnóstico en una cantidad que comprende 0,1 o menos mg/kg de peso corporal.

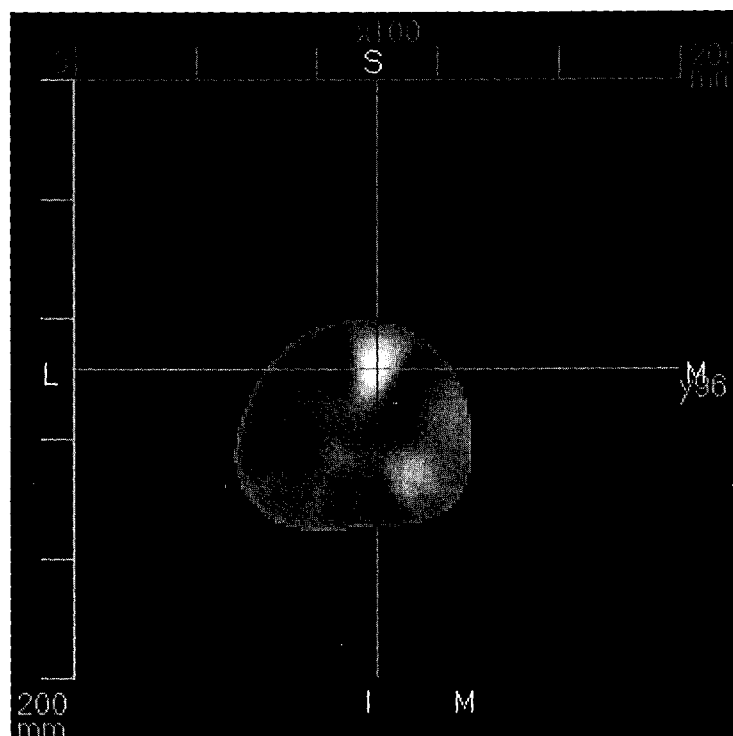
25 15. Un conjunto de elementos de diagnóstico que comprende el compuesto de la fórmula (1) acorde con la reivindicación 1 o una sal aceptable para uso farmacéutico del

41
OX

mismo, en una cantidad que permite preparar una composición de diagnóstico para su administración que comprende menos que 0,5 y más que 0,001 mg/kg de peso corporal del compuesto por cada aplicación de diagnóstico y, opcionalmente, una
5 sal, vehículo, excipiente y/o solución amortiguadora aceptable para uso farmacéutico.

82
82

Fig. 1



73
03

Fig. 2

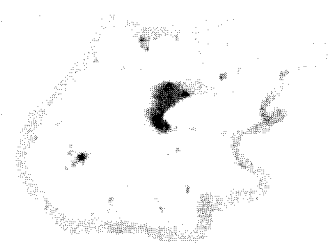
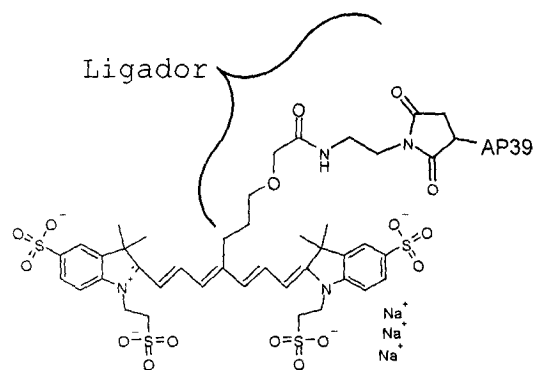
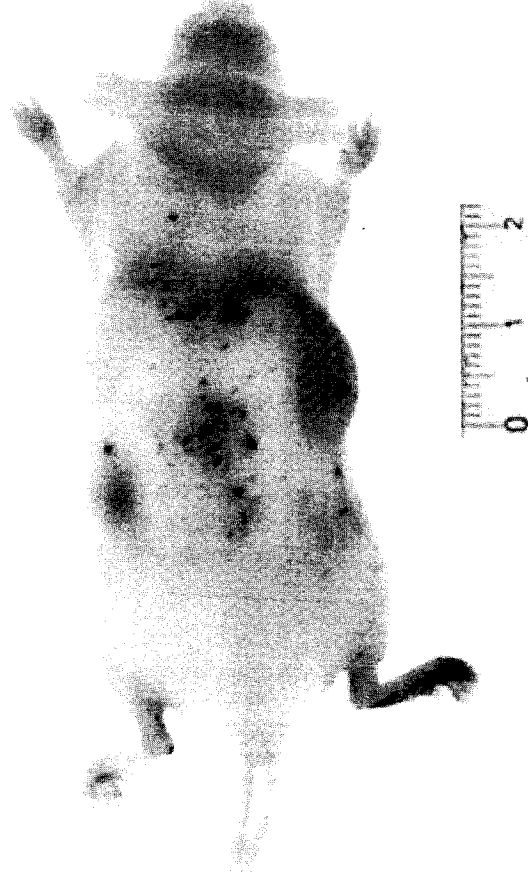
0 1 2
ARISTO 134

Fig. 3



INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia internacional
PCT/EP 2006/000058

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD		
INV. A61K49/00		
Según la clasificación internacional de patentes (IPK) o la clasificación internacional la IPK		
B. ÁMBITOS INVESTIGADOS		
Material mínimo investigado (Sistema de clasificación y símbolos de clasificación)		
A61K		
Publicaciones investigadas pero no pertenecientes al material mínimo investigado, en tanto pertenezcan al ámbito investigado		
Banco electrónico de datos consultado durante la búsqueda internacional (nombre del banco de datos y expresiones de búsqueda eventualmente empleadas)		
EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS		
C. ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Con referencia a reivindicación Nº
Y	WO 00/16810 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; FUJI PHOTO FILM CO., LTD; MINA, NAOTO; IN) 30 de marzo de 2000 (2000.03.30) página 19, renglones 16-23, compuesto 31 ejemplo 8 ejemplo experimental 2 & EP 1 113 822 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; FUJI PHOTO FILM CO., LTD) 11 de julio de 2001 (2001.07.11) mencionado en la solicitud	1-8, 13-15
☒ Otras publicaciones están listadas en la continuación del campo C ☒ Ver familia de patentes en el anexo		
"A"	Categorías particulares indicadas en publicaciones	"T"
"B"	publicación que define el estado general de la técnica pero no considerada como particularmente importante	publicaciones posteriores a las difundidas en la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y que no colisionan con la solicitud, sino que solo están indicadas para mayor entendimiento del principio fundamental de la invención o de la teoría sobre la cual se basa
"L"	documento anterior pero publicado recién o después de la de la fecha de presentación internacional	"X"
"O"	publicación adecuada para hacer aparecer como dudosa una reivindicación de prioridad, o mediante la cual debe ser considerada la fecha de divulgación de otra publicación mencionada en el informe de búsqueda o que es indicada por otra razón particular (como realizada)	publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada, solo como consecuencia de esta publicación, como novedosa o apoyarse en una actividad inventiva
"P"	publicación que se refiere a una revelación oral, a una utilización, a una exposición o a otras disposiciones	"Y"
	publicación realizada antes de la fecha de presentación internacional pero luego de la fecha de prioridad reivindicada	publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada como apoyada en una actividad inventiva cuando puede ser relacionada con una o varias otras publicaciones de esta categoría y tal relación es notoria para un especialista
		"&"
		publicación que es miembro de la misma familia
3 de abril de 2006		Fecha de envío del Informe de Búsqueda Internacional
		13/04/2006
Nombre y Código Postal de ISA European Patent Office – P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel.: (+31-70) 340-2040; Tx: 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Funcionario Apoderado Villard, A_L

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/EP 2006/000058

C. (continuación) ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Con referencia a reivindicación N°
Y	NTZIACHRISTOS V ET AL.: "CONCURRENT MRI AND DIFFUSE OPTICAL TOMOGRAPHY OF BREAST AFTER INDOCYANINE GREEN ENHANCEMENT" PROCEEDINGS OF THE NATINAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US vol. 97 N° 6, 14 de marzo de 2000 (2000.03.14), páginas 2767-2772, XP001168698 ISSN: 0027-8424 mencionado en la solicitud página 2769, columna 1, párrafo 2 página 2769, columna 2, último párrafo figura 5	1, 5-8, 13-15
Y	BECKER A ET AL.: "RECEPTOR-TARGETED OPTICAL IMAGING OF TUMORS WITH NEAR-INFRARED FLUORESCENT LIGANDS" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING, US vol. 19, abril 2001 (2001.04), páginas 327-331, XP001168699, ISSN: 1087-0156 página 330, columna 1, último párrafo columna 2, último párrafo figura 4	1, 5-8, 13-15
Y	WO 2004/065491 A (SCHERING AG) 5 de agosto de 2004 (2004.08.05) página 4, renglón 1 - página 17, renglón 30 ejemplos 23-24 reivindicaciones 1, 2, 6-17, 22, 23, 27-34	2-4
Y	WO 01/23005 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; SCHIRNER, MICHAEL, LICHA, KAI; DINNELBORG) 5 de abril de 2001 (2001.04.05) página 8, renglón 11 - página 12, renglón 26 página 14, renglones 4, 5 página 15, renglón 5 - renglón 33 reivindicaciones 5, 6, 14	2-4
Y	WO 00/31194 A (INSTITUT FUER DIAGNOSTIKFORSCHUNG GMBH AN DER FREIEN UNIVERSITAET BERL) 19 DE OCTUBRE DE 2000 (2000.10.19) RESUMEN PÁGINAS 9-10 EJEMPLO 41 REIVINDICACIÓN 5	2-4
Y	SCHEUERMANN JÖRG.: "Isolation of binding molecules to the EDB domain of fibronectin, a marker of angiogenesis" DISSERTATION SUBMITTED TO THE SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF NATURAL SCIENCES diciembre de 2002 (2002.12) XP002314651 mencionado en la solicitud páginas 7-8	2-4
E	WO 2006/008179 A (SCHERING AG; SCHIRNER, MICHAEL; LICHA, KAI; HAUFF, PETER; PERLITZ, CHR) 26 de enero de 2006 (2006.01.26) ejemplos 10, 22, 26-28	1-15

26
8/8

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/EP 2006/000058

Campo II: Observaciones acerca de porque determinadas reivindicaciones no eran investigables (continuación del ítem 2 de la hoja 1)

Este Informe de Búsqueda Internacional no fue realizado con respecto a algunas reivindicaciones, según el artículo 17(2)(a), por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones N°:
porque se refieren a objetos que no requieren ser investigados por este Organismo, a saber:

A pesar de que la reivindicación 8 está referida a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda se llevó a cabo y estuvo basada sobre los efectos alegados del compuesto/composición.
2. ☐ Reivindicaciones N°:
porque se refieren a partes de la Solicitud Internacional que no cumplen con los requisitos prescritos en una extensión que no permite llevar a cabo una búsqueda internacional, específicamente:
3. ☐ Reivindicaciones N°:
porque son reivindicaciones dependientes y no están desarrolladas en acordanza con la segunda y la tercera frase de la regla 6.4(a).

Campo III: Observaciones por falta de uniformidad de la invención (continuación del ítem 3 de la hoja 1)

Este Organismo de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, a saber:

1. ☐ Como todas las tasas adicionales requeridas fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Como todas las reivindicaciones investigables pueden ser investigadas sin un esfuerzo que justifique una tasa adicional, este Organismo no solicita ningún pago o tasa adicional.
3. ☐ Como solo algunas de las tasas adicionales fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre solo aquellas reivindicaciones para los cuales fueron abonadas las tasas, específicamente, las reivindicaciones N°:
4. ☐ Ninguna de las tasas adicionales requeridas fue abonada en término por el solicitante. En consecuencia, este Informe de Búsqueda Internacional está restringido a la invención mencionada inicialmente en las reivindicaciones; la misma está cubierta por las reivindicaciones N°:

Observaciones sobre protestas

- ☐ Las tasas adicionales fueron acompañadas por la protesta del solicitante
- ☐ Las tasas adicionales no fueron acompañadas por ninguna protesta.

78

88

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Detalle de publicaciones que pertenecen a la misma familia de patentes

Referencia Internacional

PCT/EP 2006/000058

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda			Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes		Fecha de la publicación
WO	0016810	A	30.03.2000	AT	248608 T	15.09.2003
				AU	763991 B2	07.08.2003
				AU	5981499 A	10.04.2000
				BG	105337 A	31.10.2001
				BG	107411 A	30.06.2004
				BR	9913849 A	12.06.2001
				CA	2344315 A1	30.03.2000
				CN	1515552 A	28.07.2004
				CN	1328471 A	26.12.2001
				DE	69911034 D1	09.10.2003
				DE	69911034 T2	08.07.2004
				DK	1113822 T3	22.12.2003
				EA	4249 B1	26.02.2004
				EA	5070 B1	28.10.2004
				EE	200100162 A	15.08.2002
				EP	1113822 A1	11.07.2001
				ES	2207338 T3	16.05.2004
				HK	1042855 A1	02.12.2005
				HU	0103503 A2	28.02.2002
				ID	29455 A	30.08.2001
				JP	2000095758 A	04.04.2000
				JP	2002526468 T	20.08.2002
				MX	PA01002194 A	27.03.2003
				NO	20011338 A	16.05.2001
				NO	20025819 A	16.05.2001
				NZ	510019 A	25.07.2003
				PL	346709 A1	25.02.2002
				PT	1113822 T	30.01.2004
				SK	3742001 A3	11.09.2001
				TR	200100746 T2	23.07.2001
				UA	67800 C2	17.09.2001
EP	1113822	A	11.07.2001	AT	248608 T	15.09.2003
				AU	763991 B2	07.08.2003
				AU	5981499 A	10.04.2000
				BG	105337 A	31.10.2001
				BG	107411 A	30.06.2004
				BR	9913849 A	12.06.2001
				CA	2344315 A1	30.03.2000
				CN	1515552 A	28.07.2004
				CN	1328471 A	26.12.2001
				DE	69911034 D1	09.10.2003
				DE	69911034 T2	08.07.2004
				DK	1113822 T3	22.12.2003
				EA	4249 B1	26.02.2004
				EA	5070 B1	28.10.2004
				EE	200100162 A	15.08.2002
				WO	0016810 A1	30.03.2000
				ES	2207338 T3	16.05.2004
				HK	1042855 A1	02.12.2005
				HU	0103503 A2	28.02.2002
				ID	29455 A	30.08.2001
				JP	2000095758 A	04.04.2000
				JP	2002526468 T	20.08.2002
				MX	PA01002194 A	27.03.2003
				NO	20011338 A	16.05.2001
				NO	20025819 A	16.05.2001
				NZ	510019 A	25.07.2003

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Detalle de publicaciones que pertenecen a la misma familia de patentes

Referencia Internacional

PCT/ep 2006/000058

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de la publicación
WO 0016810 A		PL 346709 A1 PT 1113822 T SK 3742001 A3 TR 200100746 T2 UA 67800 C2	25.02.2002 30.01.2004 11.09.2001 23.07.2001 17.09.2001
WO 2004065491 A	05.08.2004	AU 2003292019 A1 BR 0318028 A CA 2514131 A1 EP 1585791 A1	13.08.2004 06.12.2005 05.08.2004 19.10.2005
WO 0123005 A	05.04.2001	AU 779026 B2 AU 6702600 A BG 106528 A BR 0014192 A CA 2385593 A1 CN 1376074 A CZ 20020991 A3 DE 19947559 A1 EE 200200152 A EP 1214099 A1 HU 0202625 A2 JP 2003510294 T MX PA02002639 A NO 20021441 A NZ 517944 A PL 354027 A1 SK 3972002 A3 ZA 200203225 A	06.01.2005 30.04.2001 29.12.2002 21.05.2002 05.04.2001 23.10.2002 12.06.2002 19.04.2001 15.04.2003 19.06.2002 28.12.2002 18.03.2003 30.07.2002 15.05.2002 25.06.2004 15.12.2003 10.09.2002 23.07.2003
WO 0061194 A	19.10.2000	AT 259246 T AU 769392 B2 AU 4291100 A BG 105988 A BR 0009658 A CA 2368490 A1 CN 1351505 A CZ 20013562 A3 DE 19917713 A1 DK 1176987 T3 EE 200100521 A EP 1176987 A2 ES 2215641 T3 HR 20010833 A2 HU 0202990 A2 JP 2002541219 T MX PA01010174 A NO 20014911 A NZ 514533 A NZ 522136 A PL 351766 A1 PT 1176987 T SK 14152001 A3 ZA 200109238 A	15.02.2004 22.01.2004 14.11.2000 28.06.2002 15.01.2002 19.10.2000 29.05.2002 15.05.2002 19.10.2000 14.06.2004 16.12.2002 06.02.2002 16.10.2004 31.08.2004 28.12.2002 03.12.2002 20.08.2003 06.12.2001 26.09.2003 28.05.2004 16.06.2003 30.06.2004 04.04.2002 10.02.2003
WO 2006008179 A	26.01.2006	E 1619501 A1	25.01.2006

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e
Instrucciones Administrativas, sección 422)

A:

KRAUSS, Jan. B.
Boehmert & Boehmert
Hollerallee 32
28209 Bremen
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año): 22 de mayo de 2007 (22.05.2007)	
Referencia del solicitante o del agente: S30905PCT	NOTIFICACIÓN IMPORTANTE
Solicitud Internacional N°: PCT/EP2006/000058	Fecha de presentación (día/mes/año): 05 de enero de 2006 (05.01.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:		
☒ el solicitante	☒ el inventor	☐ el agente
☐ el representante común		
Nombre y dirección:	Pais de Nacionalidad	Pais de Residencia
	Teléfono N°:	
	Facsimil N°:	
	Telex N°:	
2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:		
☐ la persona	☐ el nombre	☐ el domicilio
☐ la nacionalidad	☐ la residencia	
Nombre y dirección:	Pais de Nacionalidad	Pais de Residencia
SCHIRNER, Michael Birkenallee 12 D-13158 Berlin ALEMANIA	DE	DE
	Teléfono N°:	
	Facsimil N°:	
	Telex N°:	
3. Otras observaciones, si son necesarias: <i>La persona identificada en el area 2 debe ser agregada a los registros como solicitante solamente en Estados Unidos y como inventor en todos los estados designados</i>		
4. Se envía una copia de esta notificación a:		
☒ la Oficina receptora	☒ las Oficinas concernientes designadas	
☐ el Organismo de Búsqueda Internacional	☐ las Oficinas concernientes seleccionadas	
☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional	☐ otros:	

La Oficina Internacional de WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Suiza	Funcionario autorizado: Nyberg Henrik Facsimil N° +41 22 338 89 70 Teléfono N°: +41 22 338 74 06
---	---

al
97

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

KRAUSS, Jan, B.
BOEHMERT & BOEHMERT
Hollerallee 32
28209 Bremen
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 22 May 2007 (22.05.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference S30905PCT	
International application No. PCT/EP2006/000058	
International filing date (day/month/year) 05 January 2006 (05.01.2006)	

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence		
Name and Address SCHIRNER, Michael Birkenallee 12 D-13158 Berlin Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office ☒ the designated Offices concerned ☐ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned ☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Nyberg Henrik
Facsimile No. +41 22 338 82 70	Facsimile No. +41 22 338 89 70 Telephone No. +41 22 338 74 06

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e
Instrucciones Administrativas, sección 422)

A:

KRAUSS, Jan. B.
Boehmert & Boehmert
Hollerallee 32
28209 Bremen
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año):

24 de abril de 2007 (24.04.2007)

Referencia del solicitante o del agente:

S30905PCT

Solicitud Internacional N°:

PCT/EP2006/000058

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Fecha de presentación (día/mes/año):

05 de enero de 2006 (05.01.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:

☒ el solicitante☐ el inventor☐ el agente☐ el representante común

Nombre y dirección:

SCHERING AG
Müllerstrasse 170-178
13342 Berlin
Alemania

País de
Nacionalidad
DEPaís de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsímil N°:

Telex N°:

2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:

☒ la persona☐ el nombre☒ el domicilio☐ la nacionalidad☐ la residencia

Nombre y dirección:

BAYER SCHERING PHARMA AG
Müllerstrasse 170-178
13342 Berlin
ALEMANIA

País de
Nacionalidad
DEPaís de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsímil N°:

Telex N°:

3. Otras observaciones, si son necesarias:

4. Se envía una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora☒ las Oficinas concernientes designadas☐ el Organismo de Búsqueda Internacional☐ las Oficinas concernientes seleccionadas☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional☐ otros:

La Oficina Internacional de WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Suiza

Funcionario autorizado:

Sontag Frederic
Facsímil N° +41 22 338 89 70
Teléfono N°: +41 22 338 83 91

Facsímil N°: (41-22) 338.82.70

Formulario PCT/IB/306 (octubre 2005)

I/C71QVIL10

93
S13

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

KRAUSS, Jan, B.
BOEHMERT & BOEHMERT
Hollerallee 32
28209 Bremen
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 24 April 2007 (24.04.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference S30905PCT	
International application No. PCT/EP2006/000058	International filing date (day/month/year) 05 January 2006 (05.01.2006)

1. The following indications appeared on record concerning: ☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative		
Name and Address SCHERING AG Müllerstrasse 170-178 13342 Berlin Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning: ☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence		
Name and Address BAYER SCHERING PHARMA AG Müllerstrasse 170-178 13342 Berlin Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to: ☒ the receiving Office ☒ the designated Offices concerned ☐ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned ☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Sontag Frederic Facsimile No. +41 22 338 89 70 Telephone No. +41 22 338 83 91
---	---

TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

De la OFICINA INTERNACIONAL

PCT

Notificación de registro de una modificación

(regla PCT 92bis.1 e
Instrucciones Administrativas, sección 422)

A:

GÄRTNER, A..
Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft
Müllerstrasse 178
13353 Berlin
Alemania

Fecha de envío (día/mes/año):

22 de mayo de 2007 (22.05.2007)

Referencia del solicitante o del agente:

S30905PCT

Solicitud Internacional N°:

PCT/EP2006/000058

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Fecha de presentación (día/mes/año):

05 de enero de 2006 (05.01.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecen en los registros concernientes a:

☒ el solicitante☐ el inventor☐ el agente☐ el representante común

Nombre y dirección:

BAYER SCHERING PHARMA AG
Müllerstrasse 170-178
13342 Berlin
Alemania

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsimil N°:

Telex N°:

2. La Oficina Internacional notifica por este medio al solicitante que se registró la siguiente modificación, concerniente a:

☐ la persona☒ el nombre☐ el domicilio☐ la nacionalidad☐ la residencia

Nombre y dirección:

BAYER SCHERING PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstrasse 170-178
13342 Berlin
ALEMANIA

País de
Nacionalidad
DE

País de
Residencia
DE

Teléfono N°:

Facsimil N°:

Telex N°:

3. Otras observaciones, si son necesarias:

4. Se envía una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina receptora☒ las Oficinas concernientes designadas☐ el Organismo de Búsqueda Internacional☐ las Oficinas concernientes seleccionadas☐ el Organismo de Examen Preliminar Internacional☐ otros:

La Oficina Internacional de WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Suiza

Funcionario autorizado:

Nyberg Henrik
Facsimil N° +41 22 338 89 70
Teléfono N°: +41 22 338 74 06

Facsimil N°: (41-22) 338.82.70

Formulario PCT/IB/306 (octubre 2005)

I/C71QVIL10

25
25

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

GÄRTNER, A.
Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft
Müllerstrasse 178
13353 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 22 May 2007 (22.05.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference S30905PCT	
International application No. PCT/EP2006/000058	International filing date (day/month/year) 05 January 2006 (05.01.2006)

1. The following indications appeared on record concerning: ☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative		
Name and Address BAYER SCHERING PHARMA AG Müllerstrasse 170-178 13342 Berlin Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning: ☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence		
Name and Address BAYER SCHERING PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT Müllerstrasse 170-178 13342 Berlin Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to: ☒ the receiving Office ☒ the designated Offices concerned ☐ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned ☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Nyberg Henrik
Facsimile No. +41 22 338 82 70	Facsimile No. +41 22 338 89 70 Telephone No. +41 22 338 74 06



No. 07-080266- -00000-0000

Fecha: 2007-08-06 16:51:43 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEYII Eve. 370 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 95



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Claudia M. Novac
Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

97
97

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
RAISBECK J. IAN
Apoderado(a) y/o Representante de
BAYER SCHERING PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT

REFERENCIA	Radicación No.	7 80266
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/000058
	Fecha inicio fase nacional	07/08/2007
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	12529

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.
2. El solicitante debe aclarar si la solicitud corresponde al capítulo I o II del PCT por que la indicación en el petitorio no corresponde a los documentos del expediente, en caso necesario adjuntar los documentos que corresponden.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 04 OCT 2007
adpall