

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

(21) **PI 0719532-0 A2**

(22) Data de Depósito: 02/07/2007
(43) Data da Publicação: 26/02/2013
(RPI 2199)



(51) *Int.Cl.:*

A61K 47/48
A61K 49/00
A61K 51/04
A61P 9/00
A61P 9/10
A61P 9/06
A61P 35/00
A61P 35/02

(54) Título: SÍNTESE EFICIENTE DE AGENTES QUELANTES PARA A IMAGIOLOGIA NUCLEAR E RADIOTERAPIA: COMPOSIÇÕES E APLICAÇÕES

(30) Prioridade Unionista: 28/06/2007 US 11/770.395, 05/10/2006 US 60/828.347, 05/10/2006 US 60/828.347

(73) Titular(es): The Board Of Regents Of The University Of Texas System

(72) Inventor(es): David J. Yang, Dongfang Yu

(74) Procurador(es): Isabela Cardozo

(86) Pedido Internacional: PCT US2007072669 de 02/07/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/045604 de 17/04/2008

(57) Resumo: SÍNTESE EFICIENTE DE AGENTES QUELANTES PARA A IMAGIOLOGIA NUCLEAR E RADIOTERAPIA: COMPOSIÇÕES E APLICAÇÕES. Métodos de síntese de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante, composições compreendendo tais conjugados, e aplicações terapêuticas e diagnósticas de tais conjugados são reveladas. As composições incluem conjugados ligandos direcionais que têm por alvo agentes quelantes opcionalmente quelados a um ou mais íons metálicos. Métodos de síntese dessas composições em alta pureza são também apresentados. São revelados também métodos de realizar imagiologia, tratamento e diagnose da doença em um indivíduo que utiliza essas composições, tais como métodos de obter a imagiologia de um tumor em um indivíduo e métodos de diagnose de isquemia do miocárdio.

"SÍNTESE EFICIENTE DE AGENTES QUELANTES PARA A IMAGIOLOGIA NUCLEAR E RADIOTERAPIA: COMPOSIÇÕES E APLICAÇÕES"

Esse pedido reivindica o benefício da data de depósito do Pedido Provisório de Patente U.S. No. Série 60/828.347, editado em 5 de outubro de 2006, e US No. Serial 11/770.395, editado em 28 de junho de 2007, os conteúdos totais dos quais são aqui incorporadas por referência.

1. Campo da Invenção

A presente invenção está relacionada de modo geral aos âmbitos da síntese química, imagiologia, radioterapia, marcação, quimioterapia, terapia clínica, tratamento de doença cardiovascular e tratamento de câncer. Mais particularmente, a invenção está voltada a novos métodos de síntese de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante. Métodos orgânicos de síntese são aqui apresentados que produzem ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante de alta pureza em comparação aos conjugados direcionais que têm por alvo um agente quelante preparados através de métodos aquosos. Métodos de realizar a imagiologia de um local usando esses conjugados, bem como kits para a preparação desses conjugados, são também aqui apresentados. Métodos de diagnose e tratamento de doenças (isto é, cânceres, doenças cardiovasculares, infecções e inflamação) em um indivíduo utilizando composições que incluem os já mencionados conjugados são também revelados.

2. Descrição da Técnica Relacionada

A imagiologia biomédica inclui diversas modalidades que são amplamente usadas pelos médicos e pesquisadores para ajudar não apenas com a diagnose de doenças em um indivíduo, mas também para obter um maior entendimento da estrutura normal e funcionamento do organismo. Modalidades representativas de imagiologia incluem PET, SPECT, a imagiologia por câmera gama, TC, IRM, ultrassom, a imagiologia dual e imagiologia ótica.

Em muitos casos, a imagiologia ótima de um sítio particular contido em um indivíduo requer a administração de um agente particular ao indivíduo. Metais inorgânicos tal como tecnécio (^{99m}Tc), ferro, gadolínio, rênio, manganês, cobalto, índio, platina, cobre, gálio, ou ródio têm provado serem componentes valiosos de muitos agentes de imagiologia.

A marcação de moléculas com metais inorgânicos pode ser conseguida mediante realizar a quelação do metal a combinações de átomos de oxigênio, enxofre e nitrogênio, por exemplo, de compostos particulares. Agentes quelantes tal como enxofre coloidal, ácido dimetilenodiaminapentacético (DTPA, O_4), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, O_4) e ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetracético (DOTA, N_4) têm sido usados para esse propósito. Todavia, metais inorgânicos que sejam quelados desse modo são de utilidade limitada para imagiologia devido à rápida liberação pelo organismo.

O preferido marcador radioativo para agentes de imagiologia é o tecnécio (^{99m}Tc) devido à sua favorável meia vida (6 horas), facilidade de produção, ampla disponibilidade, baixa energia (140 keV) e baixo custo. A maior meia vida de isótopos tal como ^{99m}Tc facilita o transporte de aminoácidos rádio-marcados aos hospitais sem um ciclotron local ou laboratório dedicado de radioquímica. Todavia, a anexação de ^{99m}Tc aos fármacos para propósitos de imagiologia é muitas vezes um desafio.

^{188}Re tem boas características para imagiologia e para potencial uso terapêutico devido a sua alta energia β (2,1 MeV), curta meia-vida física (16,9 h) e emissão raios gama 155 keV para propósitos dosimétricos e de imagiologia. A curta meia-vida física de ^{188}Re permite quanto a doses maiores comparado com a dos radionuclídeos de vida longa. Além disso, a curta meia-vida reduz os problemas de manuseio e de estocagem de rejeitos radioativos. Em particular, ^{188}Re está disponível de qualquer sistema gerador doméstico similar ao gerador de ^{99m}Tc . ^{188}Re pode ser obtido a partir de um gerador $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$, o que o torna muito conveniente para uso clínico. Ambos ^{99m}Tc e ^{188}Re emitem raios gama, tal que a dosimetria gerada com base nas imagens de ^{99m}Tc é esperada ser mais precisa que aquelas produzidas usando o radioisótopo padrão usual, Y-90.

Com respeito a imagiologia usando tomografia de emissão pósitron (PET), a rádio-síntese PET precisa ser rápida porque o radioisótopo irá decair durante síntese química prolongada e pode ocorrer maior risco de exposição à radiação durante a rádio-síntese. Traçadores de base ciclotron são restringidos pela disponibilidade de um ciclotron local e a seu alto custo. A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA permite a produção em instalações comerciais centrais sob condições bem controladas, e distribui estas às clínicas locais onde eles são administrados. De modo similar, sistemas geradores de radionuclídeos que podem ser produzidos numa instalação industrial bem controlada estão abrangidos pelos procedimentos vigentes da FDA e têm um longo histórico de aplicações clínicas bem sucedidas. Um gerador utiliza um par nuclídeo pai-filho em que um isótopo pai de vida relativamente longa decai a um isótopo filho de vida curta que é usado para a imagiologia. O isótopo pai, que é produzido numa instalação industrial ciclotron, pode ser enviado a um local clínico e a partir do que o isótopo filho pode ser eluído no local para uso clínico.

^{68}Ga tem uma alta quantidade de emissão pósitron (89% de seu decaimento total), portanto a consideração principal com esse radionuclídeo é sua resolução espacial, que depende da faixa pósitron (energia), da não-colinearidade de aniquilação fotônica, propriedades intrínsecas, tamanho e geometria do detector e da seleção do algoritmo de reconstrução. Aspectos do projeto do detector, propriedades físicas e a influência delas na resolução do sistema espacial têm sido extensivamente pesquisado por muitos autores, levando a uma continuada otimização de hardware. Embora a máxima energia pósitron de ^{68}Ga (max = 1,90 MeV, médio = 0,89 MeV) seja maior que aquela de ^{18}F (max = 0,63 MeV,

média = 0,25 MeV), um estudo usando a análise Monte Carlo na resolução espacial revelou que sob o pressuposto da resolução espacial de 3 mm de detectores PET, a convencional largura completa na metade máxima (FWHM) de ^{18}F e ^{68}Ga são indiferençáveis em tecido mole (3,01 mm vs. 3,09 mm). Decorre que com a resolução espacial a 5 a 7 mm dos atuais
5 escaners clínicos, a qualidade da imagiologia utilizando traçadores de base ^{68}Ga pode ser tão boa quanto aquela de agentes de base ^{18}F e isso tem estimulado outros a investigarem potenciais agentes de imagiologia de base ^{68}Ga . Além disso, agentes PET de base ^{68}Ga possuem significativo potencial comercial porque o isótopo pode ser produzido a partir de um gerador de ^{68}Ge (meia-vida 275-dias) no local e servem como uma conveniente
10 alternativa aos isótopos PET de base ciclorton, tal como ^{18}F ou ^{13}N .

Com respeito às preparações sintéticas de agentes de imagiologia, quando tais agentes são preparados em condições aquosas (úmidas), a purificação dos agentes pode algumas vezes representar um problema. A purificação em condições aquosas pode ser conseguida usando, por exemplo, cromatografia de exclusão dimensional, ou diálise com
15 membranas de cortes particulares de pesos moleculares; por exemplo, a diálise é tipicamente mais eficaz quando separando espécies de pesos moleculares de 1000 g/mol ou maior. Todavia, esse método de purificação freqüentemente separa não apenas o agente desejado, mas também quaisquer outras espécies que possam passar através da membrana. A introdução de impurezas nos agentes de imagiologia pode ser problemática
20 em futuras aplicações dos agentes de imagiologia, especialmente com respeito aos usos em imagiologia e/ou terapêutico. Por exemplo, se um agente de imagiologia que incorpora um radionuclídeo (o "real" agente de imagiologia) é considerado estar puro mas em realidade contém impurezas que também se incorporam em um radionuclídeo, a apropriada medição ou detecção do "real" agente de imagiologia pode ser obscurecida ou tornada falsa devido à
25 presença das impurezas.

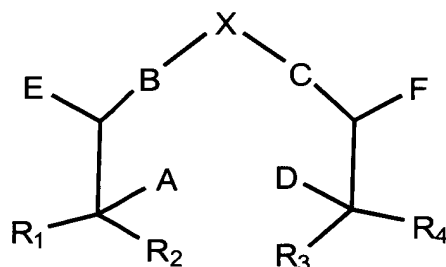
Métodos de síntese de compostos orgânicos em meio orgânico, que empregam solventes orgânicos e o uso de grupos protetores, oferecem tipicamente melhorias na purificação de compostos sobre as purificações aquosas. A instalação de grupos protetores permite a intermediação de diversos grupos funcionais durante a síntese a ser protegida, e
30 facilita a purificação daqueles intermediários. Diversos meios de purificação utilizando solventes orgânicos permitem a separação e isolamento dos compostos desejados, tal como agentes de imagiologia, com muito poucas impurezas. Além disso, espécies de pesos moleculares abaixo de 1000 g/mol podem muitas vezes ser facilmente purificadas usando métodos de química orgânica para a purificação. Em vista dos benefícios oferecidos pela
35 síntese orgânica e a purificação sobre a purificação aquosa, métodos de sintetizar organicamente e purificar agentes de imagiologia podem igualmente produzir agentes de maior pureza que aqueles obtidos através da purificação aquosa.

Até o momento, certos agentes de imagiologia têm sido preparados apenas através de meios aquosos. As impurezas presentes nesses agentes podem ser prejudiciais aos seus usos como agentes de imagiologia e/ou terapêuticos. Desse modo, existe uma necessidade quanto a preparação desses e de outros agentes utilizando técnicas de síntese orgânica para permitir a obtenção de agentes de maior nível de pureza.

Sumário da Invenção

Os presentes inventores identificaram novos métodos de síntese de agentes que são, em certas modalidades, conjugados de um agente quelante e um ligando direcional (também chamado uma fração direcionada a um alvo). Tais agentes podem ser usados para propósitos de imagiologia, diagnóstico, e/ou terapia, por exemplo. Ambos os métodos sintéticos orgânico (solvente) e a úmido (aquoso) e purificação são descritos, e é mostrado que métodos sintéticos orgânicos e de purificação resultam em compostos de maior pureza que aqueles preparados/purificados pela química úmida. Compostos de maior pureza são melhores candidatos para aplicação clínica, por exemplo. Além disso, certos compostos e métodos da presente invenção oferecem ampla flexibilidade e seletividade em termos de (1) sítios disponíveis de conjugação de um agente quelante a um ligando direcional e (2) átomos disponíveis para a quelação a um íon metálico.

Consequentemente, um aspecto geral da presente invenção contempla um método de sintetizar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que compreende:



a pelo menos um ligando direcional compreendendo pelo menos um grupo funcional, em que:

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, -COOH, ácido carboxílico protegido, -NH₂, amina protegida, tiol, ou tiol protegido, em que pelo menos uma posição é -NH₂ ou tiol;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;

R₁, R₂, R₃ e R₄ são cada um independentemente H ou alquila inferior;

X é selecionado a partir do grupo que compreende -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂- e -CH₂-CH₂-C(O)-; e

a conjugação está entre A, D, E ou F do agente quelante e pelo menos um grupo

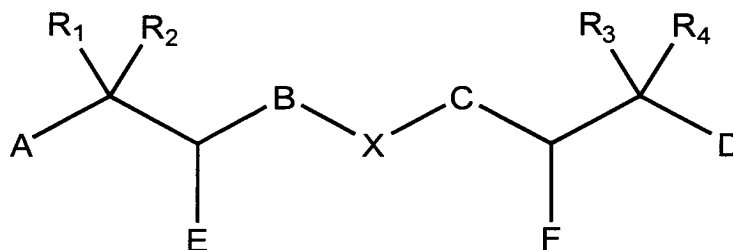
funcional não protegido de cada ligando direcional;

em que pelo menos um de A, D, E, F, ou o ligando direcional compreende um grupo funcional protegido, com a condição de que pelo menos um grupo funcional do ligando direcional esteja desprotegido, e

com a condição de que quando A e D são cada um -NH₂, nenhum de B nem C seja uma amina secundária ou uma amina terciária. Conjugados da presente invenção podem incluir um ligando direcional, ou mais que um ligando direcional. Em algumas modalidades, o conjugado inclui dois ligandos direcionais. Os ligandos direcionais podem ser idênticos ou podem ser de tipos distintos. Tipos de ligandos direcionais são discutidos em mais detalhes adiante.

Métodos discutidos aqui são distintos dos métodos descritos no Pedido co-pendente Internacional US No. Série 11/737.694, editado em 19 de abril de 2007, e são distintos dos métodos descritos no Pedido co-pendente Internacional PCT/US2006/016784, editado em 4 de maio de 2006.

O agente quelante descrito acima podem ser também visualizado como a seguir:



No geral, métodos da presente invenção ocorrem em um meio orgânico. Como usado aqui, “meio orgânico” se refere a soluções e métodos de purificação compreendendo um ou mais solventes orgânicos. Solventes de escolha para os métodos da presente invenção serão conhecidos para aqueles usualmente versados na técnica. Os solventes de escolha podem depender, por exemplo, de qual daqueles irá facilitar a solubilização da totalidade dos reagentes, ou, por exemplo, qual daqueles irá melhor facilitar a desejada reação (particularmente se o mecanismo da reação é conhecido). Solventes podem incluir, por exemplo, solventes polares e/ou solventes não polares. Um solvente pode ser um sol aprótico polar, tal como dimetilsulfóxido. Solventes de escolha incluem, mas não estão limitados a, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dioxano, metanol, etanol, hexano, cloreto de metileno, tetraidrofurano, e/ou acetonitrila. Em algumas modalidades, solventes incluem etanol, dimetilformamida e/ou dioxano. Mais que um solvente pode ser escolhido para qualquer reação particular ou procedimento de purificação. Água pode ser também misturada em qualquer solvente de escolha; isso pode ser feito para melhorar a solubilidade de um ou mais reagentes, por exemplo.

Em algumas modalidades, apenas a conjugação entre um agente quelante e um ligando direcional ocorre através de síntese orgânica (isto é, em meio orgânico). Em

algumas modalidades, apenas a síntese de um agente quelante ocorre através de síntese orgânica. Em algumas modalidades, apenas a quelação of a valent íon metálico ocorre através de síntese orgânica. Em certas modalidades, qualquer uma ou mais dessas etapas ocorrem através de sínteses orgânicas.

5 Qualquer agente quelante (isto é, um composto que é capaz de realizar quelação, ou ligação, um ou mais íons metálicos) conhecido por aqueles usualmente versados na técnica pode ser utilizado usando a metodologia da presente invenção, e agentes quelantes representativos são descritos em mais detalhes aqui. Agentes quelantes tipicamente se ligam a um ou mais íons metálicos através de uma ligação iônica. Em algumas modalidades, 10 o agente quelante compreende DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético), um ou mais aminoácidos, ou qualquer combinação de um ou mais desses grupos. Em certas modalidades, um ou mais aminoácidos são selecionados a partir do grupo que compreende glicina e cisteína. Em algumas modalidades, o agente quelante é selecionado a partir do grupo que compreende dicisteína, triglicina cisteína e tricisteína glicina. O número e as 15 escolhas dos aminoácidos pode ser limitada pelas suas solubilidades em meio orgânico. Em certas modalidades, o agente quelante é etilenodicisteína (EC).

 Ligandos direcionais são também descritos em mais detalhes aqui. Embora um agente quelante possa ser conjugado (isto é, quimicamente anexado ou ligado) a um ligando direcional por meio de qualquer modo conhecido por aqueles usualmente versados 20 na técnica (por exemplo, uma ligação covalente, uma ligação iônica, uma ligação dativa, um par iônico), tipicamente a anexação compreende uma ligação covalente.

 Métodos da presente invenção podem adicionalmente compreender pelo menos uma etapa de purificação. Qualquer composto da presente invenção pode ser purificado através de qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. 25 Aqueles usualmente versados na técnica estão familiarizados com tais métodos, e quando esses métodos podem ser empregados. Por exemplo, numa síntese multi-etapa que é objetivada na chegada a um composto particular, uma etapa cação etapa pode ser realizada após cada etapa sintética, após cada uma das poucas etapas, em diversos pontos durante a síntese, e/ou bem ao final da síntese. Em alguns métodos, uma ou mais etapas de 30 purificação compreende técnica selecioanda a partir do grupo que compreende cromatografia em coluna de sílica gel, HPLC (cromatografia líquida de alta performance) e LC (cromatografia líquida). Em certas modalidades, métodos de purificação excluem especificamente cromatografia de exclusão dimensional e/ou diálise. Métodos de purificação são descritos em mais detalhes adiante.

35 Em certas modalidades, agentes quelantes não conjugados e/ou conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante são gerados através de métodos orgânicos sintéticos em pureza muito alta relativamente a tais compostos gerados através de

metodologia aquosa. Por exemplo, em algumas modalidades da presente invenção, um agente quelante não conjugado, um agente quelante não protegido, um agente quelante protegido, um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, ou um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico gerados através de meios orgânicos (ou qualquer composto compreendendo uma combinação de agente quelante, grupo protetor, ligando direcional e íon metálico) é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro, comparado a entre cerca de 50% e cerca de 70% puro para o produto aquoso. Em certas modalidades, um agente quelante não conjugado, um agente quelante não protegido, um agente quelante protegido, um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, ou um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico gerados através de meios orgânicos (ou qualquer composto compreendendo uma combinação de agente quelante, grupo protetor, ligando direcional e íon metálico) é de cerca de ou pelo menos de cerca de 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% puro, ou maior, ou qualquer faixa derivável contida. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 70% a cerca de 99,9%. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 75% a cerca de 99,9%. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 80% a cerca de 99,9%. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 85% a cerca de 99,9%. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 90% a cerca de 99,9%. Em certas modalidades, a faixa é de cerca de 95% a cerca de 99,9%.

Em certas modalidades da presente invenção, pelo menos um de A, D, E, ou F está protegido em pelo menos uma etapa usando pelo menos um agente protetor, e pelo menos um grupo funcional do ligando direcional está protegido em pelo menos uma etapa usando pelo menos um agente protetor. Grupos funcionais, como aqui descritos, podem ser aqueles de qualquer tipo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. O termo "grupo funcional" geralmente se refere a como aqueles usualmente versados na técnica classificam grupos quimicamente reativos. Exemplos não limitantes incluem alceno, Alcino, arila (por exemplo, fenila, piridinila), álcool, aldeído, cetona, azida, halogênio, éster, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, tiol, uma amina secundária, uma amina terciária, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$ e $-\text{S}(\text{O})_2-$. Em algumas modalidades, pelo menos um grupo funcional compreende um átomo selecionado a partir do grupo que compreende C, H, O, N, P e S. Posições A, B, C, D, E e/ou F pode compreender um ou mais grupos funcionais (por exemplo, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, tiol, uma amina secundária, uma amina terciária, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, ou $-\text{S}(\text{O})_2-$). Em certas modalidades, pelo menos um grupo funcional do ligando direcional compreende um átomo selecionado a partir do grupo que compreende O, N, S e P. O grupo funcional do ligando direcional pode ser, por exemplo, selecionado a partir do grupo que compreende amino, amido, tiol, hidroxila, éter, éster,

carbonila, ácido carboxílico, sulfonamida, tioéter, tioéster e tiocarbonila.

Ambos o ligando direcional e o agente quelante irão ter tipicamente um ou mais grupos funcionais. Grupos funcionais e agentes protetores que podem ser usados para gerar um grupo funcional protegido são aqui descritos. Aqueles usualmente versados na técnica irão compreender que qualquer grupo funcional pode ser protegido usando um agente protetor como o necessário, como aqui descrito. Como tal, um grupo funcional pode ser protegido (por exemplo, uma amina protegida, tal como -NH-Cbz) ou não protegido também chamado “livre” (tal como -NH_2). Como é conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, grupos protetores são utilizados em sínteses orgânicas e sínteses não aquosas.

Além disso, em certas modalidades, um ou mais grupos protetores podem ser removidos. A remoção de um grupo protetor pode ser feita em qualquer momento durante qualquer método ou síntese descrito aqui, mas é tipicamente realizada quando o grupo protetor não é mais necessário e o grupo funcional que está sendo protegido é desejado ser “revelado”. Em qualquer método descrito aqui, qualquer composto compreendendo um agente quelante descrito aqui (por exemplo, um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico) pode não conter quaisquer grupos protetores, ou pode compreender um ou mais grupos protetores. Por exemplo, um sítio pode ser imageado usando um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico que não contém grupos protetores, ou contenha um ou mais grupos protetores.

Em certas modalidades, o ligando direcional compreende um grupo abandonador. O termo “grupo abandonador” geralmente se refere a grupos facilmente deslocáveis por um nucleofílico, tal como uma amina, um álcool ou um nucleofílico tiol. Tais grupos abandonadores são bem conhecidos e incluem, por exemplo, carboxilatos, N-hidroxisuccinimida, N-hidroxibenzotriazol, haletos, triflatos, tosilatos, mesilatos, alcóxilas, tioalcóxilas, sulfonilas e semelhantes.

Em modalidades adicionais, os três ou mais grupos funcionais do agente quelante juntos formam um quelato. Tipicamente, três ou quatro átomos juntos formam um quelato. Em certas modalidades, o quelato é selecionado a partir do grupo que compreende NS_2 , N_2S , S_4 , N_2S_2 , N_3S e NS_3 . Por exemplo, três tioéteres e uma amina secundária podem formar um quelato NS_3 . Em algumas modalidades, tal como com etilenodicisteína, o quelato é um quelato N_2S_2 . Quelatos podem ser aqueles de quaisquer tipos conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica, e são também descritos aqui. Outros átomos além de N e S podem compreender um quelato, tal como oxigênio.

Como usado aqui, “quelato” pode ser usado como um nome ou um verbo. Como um nome, “quelato” se refere a um ou mais átomos que ou são capazes de realizar

quelação um ou mais íons metálicos, ou são quelantes a um ou mais íons metálicos. Íons metálicos são descritos aqui em mais detalhes. Em algumas modalidades, apenas um íon metálico se coordena a um quelato. Um exemplo não limitante de “quelato” inclui um quelato “N₂S₂”: isso significa que dois átomos de nitrogênio e dois átomos de enxofre de um agente
 5 quelante são um ou outro de a) capaz de realizar quelação a um ou mais íons metálicos ou b) serem coordenados a (ou quelados a) a um ou mais íons metálicos. Consequentemente, em algumas modalidades, o quelato é N₂S₂. Um composto compreendendo um quelato é um agente quelante. Tipicamente, somente um íon metálico é quelado a um agente quelante.

Em certas modalidades, pelo menos um de A, D, E e F é um tiol. O tiol pode ser
 10 protegido em pelo menos uma etapa usando pelo menos um agente protetor tiol. O agente protetor tiol pode ser qualquer daqueles conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, o agente protetor tiol pode ser selecionado a partir do grupo que compreende um haleto de alquila, um haleto de benzila, um haleto de benzoila, um haleto de sulfonila, um haleto de trifenilmetila, um haleto de metoxitritenilmetila e cisteína.

Em certas modalidades, pelo menos um de A, D, E e F compreende uma amina
 15 primária ou pelo menos um de B e C compreende uma amina secundária. Em certas modalidades, pelo menos uma amina pode ser protegida em uma ou mais etapas usando pelo menos um agente protetor amina. Agentes protetores amina pode ser qualquer daqueles conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, o grupo
 20 protetor amina pode ser selecionado a partir do grupo que compreende cloroformiato de benzila, p-nitro-formiato de clorobenzila, cloroformiato de etila, di-ter-butil-dicarbonato, cloreto de trifenilmetila e cloreto de metoxifenilmetila.

Em certas modalidades, o agente quelante é etilenodicisteína. Quando empregando etilenodicisteína como um agente quelante na síntese de um conjugado ligando direcional
 25 que tem por alvo etilenodicisteína, os dois grupos tiol da etilenodicisteína estão protegidos usando pelo menos um agente protetor tiol (por exemplo, usando dois ou mais equivalentes de um agente protetor tiol) e em uma outra etapa os dois grupos amina da etilenodicisteína são protegidos usando pelo menos um agente protetor amina (por exemplo, usando dois ou mais equivalentes de um agente protetor amina). Uma vez que grupos tiol são mais reativos
 30 que grupos amina, grupos tiol serão tipicamente protegidos antes dos grupos amina serem protegidos quando ambos estão inicialmente não protegidos (“livres”).

Como mencionado, a conjugação entre o agente quelante e um ligando direcional pode ocorrer através de qualquer método e ligação química conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Isto é, o ligando direcional pode ser conjugado ou ligado a
 35 um ou mais agentes quelantes em qualquer modo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em certas modalidades, a conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional ocorre numa única etapa (isto é, uma reação “numa batelada”). Como é

conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, tais reações de etapa única são desejáveis na medida em que elas economizam tempo, ajudam a minimizar desperdício de reagentes e perda de produto. Qualquer de A, B, C, D, E, e/ou F pode participar na conjugação a um ligando direcional. Adicionalmente, qualquer de A, B, C, D, E, e/ou F pode participar na quelação. Além disso, qualquer de A, B, C, D, E, e/ou F pode participar em ambas a quelação e a conjugação. Tal flexibilidade permite aos agentes quelantes da presente invenção serem manipulados numa variedade de formas, dependendo de, por exemplo, a reatividade de um selecionado ligando direcional, a desejada seletividade da conjugação, a solubilidade dos reagentes, o desejado íon metálico para a quelação, etc. Tipicamente, mas nem sempre, a conjugação ocorre antes da quelação.

Tipicamente, um tipo de ligando direcional é conjugado a um agente quelante, mas múltiplos ligandos direcionais podem ser conjugados a um agente quelante único. Comumente, durante a síntese orgânica do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, como entre o agente quelante e o ligando direcional, um atua como o nucleófilo e o outro atua como o eletrófilo tal que a conjugação ocorre através de uma ligação covalente. A ligação covalente pode ser de qualquer tipo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em algumas modalidades, a ligação covalente é selecionada a partir do grupo que compreende uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação éster, uma ligação tioéter, uma ligação tioéster, uma ligação sulfonamida e uma ligação carbono-carbono. A ligação carbono-carbono é tipicamente uma ligação simples, mas pode ser também uma ligação dupla ou ligação tripla. Quando atuando como eletrófilos, agentes quelantes e ligandos direcionais podem compreender grupos funcionais tais como halogênios e sulfonilas, que atuam como grupos abandonadores durante a conjugação. Em algumas modalidades, a conjugação ocorre em um ou mais grupos funcionais do agente quelante selecionado a partir do grupo que compreende ácido carboxílico, amina e tiol. Ligandos direcionais podem também compreender grupos nucleofílicos, tal como $-NH_2$, que podem participar em conjugação com um agente quelante eletrofílico. Modos de conjugação são discutidos em mais detalhes adiante.

Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante adicionalmente compreende um ligador entre o agente quelante e o ligando direcional. Um tal ligador pode, por exemplo, proporcionar uma mais fácil conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional mediante proporcionar um grupo reativo que facilita uma reação de conjugação. O ligador pode ser de qualquer tipo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. O ligador pode ser inicialmente anexado ao agente quelante ou ao ligando direcional. Um ligador pode ser anexado ao agente quelante, enquanto que um outro ligador é anexado ao ligando direcional, tal que os dois ligadores podem ser então unidos. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados

com os tipos de ligadores disponíveis para os métodos da presente invenção. Em algumas modalidades, o ligador é selecionado a partir do grupo que compreende um peptídeo, ácido glutâmico, ácido aspártico, etilacetato de bromo, etileno diamina, lisina e qualquer combinação de um ou mais desses grupos.

5 Em certas modalidades, E e F são cada um independentemente selecionado a partir do grupo que compreende $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol. Em algumas modalidades, E e F são cada um $-\text{COOH}$. Em certas modalidades, a conjugação de pelo menos um ligando direcional ocorre em E e/ou F. Em certas modalidades, cada um de A e D são cada um protegido por pelo menos um grupo protetor antes da conjugação.

10 Como aqueles usualmente versados na técnica irão perceber, a fim de conjugar um agente quelante a um ligando direcional, pelo menos um grupo funcional do agente quelante e pelo menos um grupo funcional do ligando direcional precisa estar “livre” (isto é, não protegido por um grupo protetor) tal que os dois compostos possam ser unidos juntos.

O agente quelante pode adicionalmente compreender um separador, X. Em certos
15 aspectos, o uso de um separador permite o apropriado número e orientação dos átomos da quelação para quelar um íon metálico. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os tipos de separadores que podem ser usados para métodos da presente invenção, e exemplos de separadores são revelados adiante. Por exemplo, um separador alquila, tal como $(-\text{CH}_2-)_n$, em que n é de 1-100, pode ser empregado. Um tipo de
20 agente quelante que pode ser empregado nos métodos da presente invenção que compreende um separador etileno é etilenodisticteína (EC). Em certas modalidades, X é $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, ou $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ e B e/ou C é uma amina secundária. Essa modalidade tipicamente resulta em um ou outro de B ou C sendo menos nucleofílico que o outro. Por exemplo, se juntos B, C e L são descritos como $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$
25 $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$, a amina secundária da posição C será mais nucleofílica que a amina secundária de B. Desse modo, C será mais reativo, resultando na conjugação seletiva de um ligando direcional na posição C. Em certas modalidades, ambas as posições A e D ou E e F são cada uma protegidas por pelo menos um grupo protetor antes da conjugação a C.

Uma característica de utilizar ligações amida, tal como quando B, C, e L juntos
30 formam $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$, reside no fato de que as reações em que um íon metálico é quelado a um agente ocorre muitas vezes em meio de caráter ácido. Ligações amida são relativamente resistentes a degradação em meio de caráter ácido, e portanto, proporcionam estabilidade estrutural no agente quelante durante tais reações de quelação. Assim, X juntamente com B e/ou C pode compreender uma ligação amida.

35 Os conjugados ligando direcionais que têm por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico podem funcionar como, por exemplo, na imagiologia e/ou agentes de diagnóstico, como aqui descrito. Eles podem também funcionar como agentes terapêuticos,

ou agentes para a dual diagnose e terapia, ou a dual imagiologia e terapia. Consequentemente, em certas modalidades, métodos da presente invenção adicionalmente compreendem a quelação de um íon metálico a um agente quelante para gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico. O íon metálico pode ser qualquer daqueles conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. O íon metálico pode ser um íon metálico "frio" (não reativo), ou um radionuclídeo. No Exemplos não limitantes, o íon metálico pode ser selecionado a partir do grupo que compreende um íon tecnécio, um íon cobre, um íon índio, um íon tálio, um íon gálio, um íon arsênico, um íon rênio, um íon ólmio, um íon ítrio, um íon samário, um íon selênio, um íon estrôncio, um íon gadolínio, um íon bismuto, um íon ferro, um íon manganês, um íon lutécio, um íon cobalto, um íon platina, um íon cálcio e um íon ródio. O íon metálico frio pode ser, por exemplo, selecionado a partir do grupo que compreende Cu-62, As-72, Re-187, Gd-157, Bi-213, Fe-56, Mn-55, um íon ferro, um íon manganês, um íon cobalto, um íon platina e um íon ródio.

O íon metálico pode ser um radionuclídeo, e pode ser qualquer radionuclídeo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. O radionuclídeo, em algumas modalidades, pode ser selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{188}Re , ^{186}Re , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{148}Gd , ^{55}Fe , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{45}Ti , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{67}Cu , e ^{64}Cu . Em algumas modalidades, o íon metálico é ^{99m}Tc .

Se o íon metálico é escolhido ser ^{99m}Tc , por exemplo, o método pode adicionalmente compreender a adição de um agente redutor. O agente redutor pode ser qualquer daqueles conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Em algumas modalidades, o agente redutor compreende um íon selecionado a partir do grupo que compreende um íon dititionita, um íon estanoso e um íon ferroso. Em algumas modalidades, o íon metálico é ^{188}Re . Em outras modalidades, o íon metálico é ^{68}Ga .

Quando um íon metálico é empregado no método da presente invenção, o íon metálico pode ser quelado a qualquer quelato conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, como aqui descrito. Aqueles usualmente versados na técnica reconhecem que íons metálicos quelam a variados números de átomos dependendo de, por exemplo, do tipo de metal, sua valência e dos átomos disponíveis para a quelação. Por exemplo, três ou quatro átomos do agente quelante podem quelar a um íon metálico. Em certas modalidades, um íon metálico quelado pode ser ^{99m}Tc . Em certas modalidades, um íon metálico quelado pode ser ^{186}Re . Em certas modalidades, um íon metálico quelado pode ser ^{187}Re .

Em algumas modalidades, o quelato pode ser selecionado a partir do grupo que compreende NS_2 , N_2S , S_4 , N_2S_2 , N_3S e NS_3 . Em certas modalidades, qualquer um ou mais desses quelatos pode não ser um quelato da presente invenção. Em algumas modalidades, N_3S não é um quelato. Em certas modalidades, o quelato é N_2S_2 , por exemplo,

etilenodicisteína. Métodos da presente invenção podem adicionalmente compreender a síntese de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico em que o ligando direcional participa com A, B, C, D, E, e/ou F na quelação a um íon metálico. Íons metálicos, quelação e ligandos direcionais são discutidos em mais detalhes adiante. Em algumas modalidades, o íon metálico pode ser imageado. A imagiologia pode ser por qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Métodos representativos de imagiologia são discutidos no transcurso da especificação adiante, e incluem PET e SPECT.

Como discutido acima, conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante marcado com íon metálico preparados através de síntese orgânica tipicamente ensejam purezas maiores que aquelas conseguidas através de preparações aquosas. Por exemplo, em algumas modalidades da presente invenção, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico gerado através de meios orgânicos é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro, comparado a entre cerca de 50% e cerca de 70% puro para o produto aquoso. Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico sintetizado através de meios orgânicos é de cerca de ou pelo menos de cerca de 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9% puro, ou maior, ou qualquer faixa derivável contida.

Qualquer agente quelante descrito aqui pode ser quelado a um íon metálico. Um agente quelante protegido pode ser used, ou um agente quelante não protegido. O agente quelante pode ser quelado antes ou após o agente quelante ser purificado.

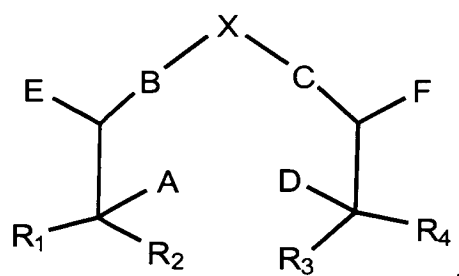
Em certas modalidades, a geração de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende:

(a) remover pelo menos um grupo protetor de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante como aqui descrito; e

(b) realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

Em certas modalidades, a geração de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende:

(a) obter um agente quelante da seguinte fórmula:



em que A, B, C, D, E, F, X, R₁, R₂, R₃ e R₄ são como definido acima e pelo menos um de A, B, C, D, E, F, X, R₁, R₂, R₃ e R₄ está protegido por pelo menos um agente protetor;

(b)conjugar o agente quelante a um ligando direcional para gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante;

5 (c)remover pelo menos um grupo protetor do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante; e

(d)realizar quelação de um íon metálico como aqui descrito ao agente quelante do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

10 Em realidade, é contemplado que qualquer composto descrito aqui compreendendo um ou mais grupos protetores pode, em qualquer método particular, experimentar a remoção de um ou mais grupos protetores. Um grupo protetor pode ser removido, por exemplo, da fração agente quelante, da fração ligando direcional, ou de ambas as frações em uma ou mais etapas antes ou após um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante ser quelado a um íon metálico, como aqui descrito. Grupos protetores
15 são descritos aqui em mais detalhes, incluindo sua instalação e remoção.

Em outras modalidades, a geração de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende:

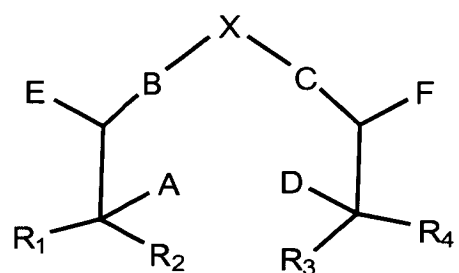
(a)realizar quelação de um íon metálico a um agente quelante como aqui descrito para gerar um agente quelante marcado com íon metálico;

20 (b)conjugar o agente quelante marcado com íon metálico a um ligando direcional; e

(c)remover um ou mais grupos protetores do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico.

Certas modalidades da presente invenção contemplam um método de sintetizar um agente quelante protegido que compreende:

25 (a)obter um agente quelante da seguinte fórmula:



em que:

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol, em que pelo menos uma posição é $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, ou $-\text{S}(\text{O})_2-$;

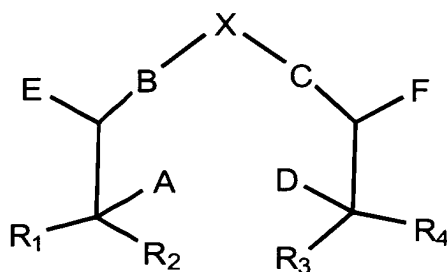
R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são cada um independentemente H ou alquila inferior; e

X é selecionado a partir do grupo que compreende $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$; e

(b) proteger o $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol usando um agente protetor ácido carboxílico, um agente protetor amina, ou um agente protetor tiol, respectivamente.

Como para qualquer método sintético da presente invenção, o método pode ser realizado em um meio orgânico. O agente quelante protegido pode ser protegido por etilenodicisteína. O método pode adicionalmente compreender uma etapa de purificação, uma etapa de quelação compreendendo a quelação de um íon metálico, a remoção de pelo menos um grupo protetor, ou qualquer combinação dessas etapas. (Em realidade, qualquer método descrito aqui pode compreender uma etapa de purificação, uma etapa de quelação compreendendo a quelação de um íon metálico, a remoção de pelo menos um grupo protetor, ou qualquer combinação dessas etapas). Nesse ou em qualquer método descrito aqui, o agente quelante protegido pode ser de cerca de 80% a cerca de 99,9% puro. Por exemplo, o agente quelante protegido pode ser de cerca de 80% a cerca de 90% puro. Nesse ou qualquer método descrito aqui compreendendo um agente quelante com a estrutura interna apresentada acima, quando A e D são cada um $-\text{NH}_2$, nenhum de B nem C pode ser uma amina secundária ou uma amina terciária.

Certas modalidades da presente invenção também contemplam um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante da seguinte fórmula:



em que:

A, D, E e F cada um independentemente compreende H, alquila inferior, $-\text{COOH}$, um ácido carboxílico protegido, $-\text{NH}_2$, uma amina protegida, tiol, um tiol protegido, um ligando direcional não protegido, ou um ligando direcional protegido,

em que pelo menos um de A, D, E e F compreende um ácido carboxílico protegido, uma amina protegida, ou um tiol protegido e pelo menos um de A, D, E e F compreende um

ligando direcional protegido ou um ligando direcional não protegido;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;

R₁, R₂, R₃ e R₄ são cada um independentemente H ou alquila inferior;

5 X é selecionado a partir do grupo que compreende -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂- e -CH₂-CH₂-C(O)-; e

em que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

10 O conjugado pode ser entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. O conjugado pode ser entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. O conjugado pode ser adicionalmente definido como um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico. O conjugado pode ser também definido como ^{99m}Tc-EC-glicosamina, ¹⁸⁶Re-EC-glicosamina, ou ¹⁸⁷Re-EC-glicosamina.

15 Como mencionado, o ligando direcional pode ser de qualquer tipo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, e tais ligandos são discutidos aqui em mais detalhes. Um "ligando direcional" é definido aqui ser uma molécula ou parte de uma molécula que se liga com especificidade a uma outra molécula. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os numerosos agentes que podem ser empregados como ligandos direcionais no contexto da presente invenção. O ligando
20 direcional pode ser qualquer tal molécula conhecida por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos não limitantes de ligandos direcionais incluem um ligando tecido-específico, um agente antimicrobiano, um agente antifúngico, ou um agente de imagiologia.

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um "ligando tecido-específico". Um "ligando tecido-específico" é definido aqui referir a uma molécula ou uma parte de uma
25 molécula que pode se ligar ou anexar a um ou mais tecidos. A ligação pode ser através de qualquer mecanismo de ligação conhecido por aqueles usualmente versados na técnica.

Exemplos não limitantes de ligandos tecido-específicos incluem um fármaco, um inibidor da DNA topoisomerase, um intercalador DNA, um antimetabólito, a composto direcionado a uma doença do ciclo celular, um marcador da expressão genética, um ligando
30 direcional que tem por alvo a angiogênese, um marcador de tumor, um ligando direcional que tem por alvo o receptor folato, um ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica, um ligando direcional que tem por alvo hipoxia, um ligando direcional que tem por alvo o receptor da doença, um marcador receptor, um peptídeo, um nucleotídeo, um anticorpo, uma molécula anti-sentido, a siRNA, glutamate pentepeptida, um agente que imita glicose,
35 amifostina, angiostatina, anticorpo monoclonal C225, anticorpo monoclonal CD31, anticorpo monoclonal CD40, capecitabina, desoxitidina, fulereno, herceptina, albumina de soro humano, lactose, quinazolina, talidomida, transferrina, e trimetil lisina.

Em algumas modalidades, o ligando tecido-específico pode ser um fármaco, tal como um agente anticâncer. Exemplos não limitantes de agentes anticâncer incluem tamoxifen, topotecan, LHRH, podofilotoxina, colchicina, endostatina, tomudex, tiotepa, ciclosfosfamida, busulfan, improsulfan, piposulfan, benzodopa, carboquone, meturedopa, uredopa, altretamina, trietilenemelamina, trietilenefosforamida, trietilenoetiofosforamida, trimetilolomelamina, bullatacina, bullatacinone, bryostatin, calistatin, CC-1065, adozelesina, carzelesina, bizelesina, criptoficin 1, criptoficin 8, dolastatin, duocarmicina, KW-2189, CB1-TM1, eleutherobin, pancratistatin, sarcodictyin, spongistatin, clorambucila, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, cloridrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichin, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, uracila mostarda, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, e ranimustina, calicheamicina, dynemicina, clodronato, uma esperamicina, cromóforo neocarzinostatina, um aclacinomisina, actinomicina, authrarnicina, azaserina, a bleomicina, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinophilina, a cromomicini, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-1-norleucina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, ácido micofenólico, nogalarnicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, streptonigrin, streptozocina, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicina, 5-fluorouracila (5-FU), denopterin, metotrexato, pteropterin, trimetrexato, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, calusterone, propionato de dromostanolona, epitiostanol, mepitioetano, testolactona, aminoglutetimida, mitotano, trilostane, ácido folínico, aceglatone, glicosida aldofosfamida, ácido aminolevulínico, eniluraclila, amsacrina, bestrabucila, bisantreno, edatraxato, defofamina, demecolcina, diaziquone, elformitina, acetato de eliptinum, uma epotilona, etoglucid, nitrato de gálio, hidroxiuréia, lentinan, lonidainina, um maitansinóida, mitoguazone, mopidanmol, nitraerina, pentostatin; fenamet; pirarubicin; losoxantrone; ácido podofilínico; 2-etilidrazida; procarbazona, PSK polisaccharide complex, razoxano, rizoxin, sizofiran, spirogermanium, ácido tenuazônico, triaziquona, 2,2',2"-triclorotrietilamina, a tricoteceno, uretan, vindesina, dacarbazina, mannomustina, mitobronitol, mitolactol, pipobroman, gacitosina, arabinosida ("Ara-C"), ciclofosfamida, tiotepa, doxetaxel, clorambucila, 6-tioguanina, mercaptopurina, metotrexato, cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, vinblastina, platina, ifosfamida, mitoxantrona, vincristina, vinorelbina, novantrona, teniposida, edatrexato, daunomicina, aminopterin, xeloda, ibandronato, irinotecan, RFS 2000, difluorometilornitina (DMFO), ácido retinóico, e capecitabina.

Outros exemplos de fármacos incluem fármacos cardiovasculares. Exemplos não limitantes de tais fármacos incluem um agente anti-hiperlipoproteinêmico, um agente anti-arteriosclerótico, um agente anti-trombótico, um agente fibrinolítico, um agente anti-

plaquetário, um coagulante do sangue, um agente trombolítico, um agente antiarrítmico, um agente anti-hipertensivo, um vasopressor, um agente anti-angiotensão II, um agente de redução pós-carga-pré-carga, um diurético, e um agente inotrópico. Exemplos de fármacos cardiovasculares incluem mexiletina, tocainida, moricizina, procainamida, disopiramida, quinidina, popafenone, flecainida, encainida, bepridila, verapamil, diltiazem, bretilium, sotalol, amiodarone, ibutilida, propranolol, atropina, adenosina e digoxin. Mais exemplos são apresentados adiante.

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um inibidor da DNA topoisomerase. Exemplos não limitantes incluem um antibiótico fluorquinolona, irinotecan, topotecan, etoposida, teniposida, lurtotecan, exatecan e rubitecan. Exemplos não limitantes de intercaladores DNA incluem 7-aminoactinomicina, etídio, proflavin, daunomicina, Doxorubicina, e talidomida.

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um antimetabólito. Exemplos não limitantes incluem azatioprina, uma mercaptopurina, uma pirimidina, um fármaco sulfanilamida, metotrexato, tetraidrofolato, ácido fólico, pemetrexed, raltitrexed, tioguanina, fludarabina, pentostatin, cladribina, fluorouracila, floxuridina, e gemcitabina.

O ligando direcional pode ser um ligando direcional que tem por alvo uma doença do ciclo celular. Exemplos não limitantes incluem adenosina, FIAU, FIRU, IVFRU, GCV, PCV, FGCV, FPCV, FHPG, FHBG e guanina.

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um marcador da expressão genética. Por exemplo, o marcador da expressão genética pode ser um ligando direcional que tem por alvo o receptor do fator de crescimento epidérmico. Em modalidades adicionais, o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo a angiogênese. Exemplos não limitantes incluem um inibidor de COX-2, receptor anti-EGF, herceptina, angiostatina, ou talidomida. Exemplos de inibidores de COX-2 incluem celecoxib, rofecoxib, e etoricoxib.

Outros exemplos de ligandos direcionais incluem marcadores de tumor. Exemplos não limitantes de marcadores de tumor incluem PSA, ER, PR, CA-125, CA-199, CEA, AFP, um interferon, BRCA1, HER-2/neu, citoxan, p53 e endostatina. O ligando direcional pode também ser um ligando direcional que tem por alvo o receptor folato. Exemplos incluem folato, metotrexato e tomudex.

O ligando direcional pode também ser um ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica. Por exemplo, o ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica pode ser também definido como um ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica de tumor. Exemplos não limitantes incluem um anticorpo monoclonal TRAIL, um substrato de caspase-3 e um membro da família Bcl. Exemplos de um substrato de caspase-3 incluem um peptídeo ou polipeptídeo compreendendo sequência aminoácido ácido aspártico-ácido glutâmico-valina-ácido aspártico. Exemplos de membros da família Bcl incluem Bax, Bcl-xL,

Bid, Bad, Bak e Bcl-2

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo hipoxia. Por exemplo, o ligando direcional que tem por alvo hipoxia pode ser um ligando direcional que tem por alvo a hipoxia do tumor, um marcador de isquemia cardíaca, um
 5 marcador tecidual de viabilidade cardíaca, um marcador de falha cardíaca congestiva, ou um marcador de repouso/estresse do tecido cardíaco. Exemplos não limitantes de ligandos direcionais que têm por alvo a hipoxia do tumor incluem anexin V, colchicina, um nitromidazol, mitomicina, metronidazol, 99mTc-HL91, e Cu-ATSM. Exemplos não limitantes de marcadores de isquemia cardíaca incluem interleucina-6, fator alfa de necrose tumoral,
 10 matriz metaloproteinase 9, mieloperoxidase, moléculas de aderência intracelular e vascular, ligando CD40 solúvel, fator de crescimento placentário, proteína C-reativa de alta sensibilidade (hs-CRP), albumina modificada por isquemia (IMA), ácidos graxos livres, e colina. Exemplos não limitantes de marcadores teciduais da viabilidade cardíaca incluem fosfolipase C, fosfatase miosina de cadeia leve, óxido nítrico, prostaciclina, endotelina,
 15 tromboxano, L-arginina e L-citrulina. Exemplos não limitantes de marcadores de falha cardíaca congestiva incluem interleucina-1, cardiotrofina-1, fator de crescimento tipo insulina, fator de crescimento epidérmico, receptor tirosina quinase, angiotensina II, e metronidazol. Exemplos não limitantes de marcadores teciduais de repouso/estresse cardíaco incluem a proteína quinase mitogênio-ativada, monofosfato de adenosina cíclico,
 20 fosfolipase C, bifosfato de fosfatidilinositol, trifosfato de isositol, diacilglicerol, uma tirosina quinase, e metronidazol.

Exemplos não limitantes de peptídeos contemplados como ligandos direcionais incluem neuropeptídeo Y, peptídeo calcitonina gene-relacionado, substância P, e peptídeo intestinal vasoativo. Exemplos não limitantes de nucleotídeos contemplados como ligandos
 25 direcionais incluem adenina, timina, guanina, citosina, e uracila. Exemplos não limitantes de anticorpos contemplados como ligandos direcionais incluem um anticorpo que se liga a uma troponina, tropomiosina, um sarcolemal, um colágeno, uma matriz metaloproteinase, ou um inibidor tecidual de uma matriz metaloproteinase.

Em algumas modalidades, o ligando direcional é uma molécula anti-sentido ou um
 30 siRNA. O ligando direcional pode também ser pentapeptídeo glutamato.

Em modalidades particulares, o ligando direcional é um agente que imita glicose. Exemplos não limitantes de agentes que imitam glicose incluem desoxiglicose, glicosamina, glicosamina tetracetilada, neomicina, kanamicina, gentamicina, paromicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, ribostamicina, sisomicina, micromicina, lividomicina, dibekacina,
 35 isepamicina, astromicin e aminoglicosídeo. Em modalidades particulares, o agente que imita glicose é glicosamina.

Em modalidades adicionais, o ligando direcional é um ligando direcional que tem

por alvo o receptor da doença. Exemplos não limitantes de ligandos direcionais que têm por alvo um receptor da doença incluem um estrogênio, um androgênio, hormônio luteinizante, hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH)), transferrina, uma progestina, manose tetracetato, tirosina- α - β , tirosina, um derivado tirosina, estrona, tamoxifen, e α -metiltirosina.

5 Outros aspectos gerais da presente invenção contemplam uma composição que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico sintetizado através de qualquer dos métodos descritos aqui. Em modalidades particulares, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicitestina quelada a um íon metálico
10 selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{188}Re , ^{187}Re e ^{186}Re ; o ligando direcional compreende um ligando selecionado a partir do grupo que compreende glicosamina, desoxiglicose, metronidazol, anexin V, guanina e LHRH; e a conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional ocorre através de uma ligação amida ou uma ligação éster.

15 Composições anticâncer representativas incluem um agente quelante capaz de realizar quelação a uma substância radiometálica terapêutica, tal como Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90, Sr-89, ou Sm-153, arsênico, cobalto, cobre, cálcio, selênio, tálio ou platina. Outros ligandos anticâncer representativos incluem, por exemplo,
20 epipodophyllotoxin, vincristina, docetaxel, paclitaxel, daunomicina, doxorubicina, mitoxantrona, topotecan, bleomicina, gemcitabina, fludarabina e 5-FUDR. Em certas modalidades particulares, o ligando anticâncer é metotrexato.

 Outros aspectos da presente invenção contemplam uma composição que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante sintetizado através de qualquer dos métodos descritos aqui. Em certas modalidades, a
25 invenção contempla uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico sintetizado através de qualquer dos métodos descritos aqui. Em qualquer dada modalidade de composição, a composição do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante pode compreender um ou mais grupos protetores em qualquer posição de um ou outro/ambos o agente
30 quelante e/ou o ligando direcional, ou sem nenhum grupo protetor. Além disso, o agente quelante ou conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante pode ou não compreender um íon metálico.

 Modalidades da presente invenção também estão relacionadas a uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante
35 marcado com íon metálico sintetizado através de qualquer dos métodos aqui apresentados. A composição pode incluir um veículo farmacologicamente aceitável tal como ácido glutâmico e outros ácidos brandos e metais frios. Em algumas modalidades, a composição

compreende (a) o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicisteína quelada a um íon metálico selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{188}Re , e ^{187}Re ; (b) o ligando direcional compreende um ligando selecionado a partir do grupo que compreende glicosamina, desoxiglicose, metronidazol, anexin V, guanina e LHRH; e (c) a conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional ocorre através de uma ligação amida ou uma ligação éster.

Modalidades adicionais da presente invenção incluem um reagente para preparar um agente de imagiologia, um agente terapêutico ou um agente rádio/terapêutico, compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico preparado através de qualquer dos métodos aqui apresentados. Em modalidades específicas, o reagente é um reagente para preparar um agente quimioterápico ou um agente rádio/quimioterápico. Em algumas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicisteína.

A presente invenção também está relacionada a kits para preparar um agente de imagiologia, um agente terapêutico, ou um agente rádio/terapêutico, compreendendo um ou mais recipientes selados e uma predeterminada quantidade de uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante preparado através de qualquer método descrito aqui em um ou mais recipientes selados. Em algumas modalidades, o kit inclui um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. Em algumas modalidades, o kit inclui um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. Em algumas modalidades, o kit inclui um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro. Em modalidades particulares, o kit inclui um conjugado ligando direcional que tem por alvo etilenodicisteína. Em algumas modalidades, o kit adicionalmente inclui um íon metálico. O íon metálico pode ou não ser um radionuclídeo. No Exemplos particulares, o íon metálico é um íon metálico frio (não um radionuclídeo). Em a particular modalidade, o íon metálico frio é Re-187. Em outros exemplos, o íon metálico é um radionuclídeo. Exemplos de íons metálicos incluem qualquer daqueles íons metálicos discutidos acima. Em algumas modalidades, o kit inclui um ou mais frascos contendo uma composição compreendendo di-hidrogenofosfato de sódio diidratado, manitol, ácido ascórbico, edentato de sódio, cloreto estânico diidratado, ácido tartárico, ou dihidrogenofosfato de potássio, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Modalidades adicionais da presente invenção está relacionada a um agente de imagiologia, terapêutico, ou rádio/terapêutico, preparado através de um método compreendendo qualquer dos métodos apresentados acima. Em algumas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 90% e
5 cerca de 99,9% puro. Em algumas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. Em algumas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro. Em modalidades específicas, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende
10 etilenodicisteína. Em modalidades particulares, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é ^{99m}Tc -EC-glicosamina. Em modalidades particulares adicionais, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é ^{186}Re -EC-glicosamina. Em modalidades ainda adicionais, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado
15 com íon metálico é ^{187}Re -EC-glicosamina.

Modalidades adicionais estão relacionadas a um método de imagiologia, diagnose, ou de tratamento de um indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade farmacologicamente ou diagnosticamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, em que o conjugado ligando
20 direcional que tem por alvo um agente quelante é preparado através de um método compreendendo qualquer dos métodos apresentados acima, em que a doença é imageada, diagnosticada, ou tratada. O conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado
25 com íon metálico é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro. Em modalidades particulares, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicisteína. O íon metálico, por exemplo, pode ser qualquer
30 daqueles íons metálicos apresentados acima.

Certas modalidades estão relacionadas a um método de tratar um indivíduo com a doença hiperproliferativa, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade farmacologicamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente
35 quelante marcado com íon metálico preparado através de qualquer dos métodos aqui apresentados. Em modalidades particulares, a doença hiperproliferativa é câncer. Por exemplo, o câncer pode ser câncer de mama, câncer de pulmão, câncer de próstata, câncer de ovário, câncer cerebral, câncer hepático, câncer do colo uterino, câncer de cólon, câncer

renal, câncer de pele, câncer de cabeça e pescoço, câncer ósseo, câncer de esôfago, câncer da bexiga, câncer uterino, câncer linfático, câncer de estômago, câncer de pâncreas, câncer de testículo, linfoma, ou leucemia. Em certas modalidades, o método é adicionalmente definido como um método para realizar a dual rádio/quimioterapia. Algumas modalidades adicionalmente compreendem administrar uma ou mais formas secundárias de terapia da doença hiperproliferativa. Por exemplo, a forma secundária de terapia pode ser quimioterapia, terapia genética, terapia cirúrgica, terapia de radiação, ou imunoterapia. Certas modalidades estão relacionadas a métodos de realizar imagiologia dual e terapia em um indivíduo.

Modalidades da presente invenção também estão geralmente relacionadas a métodos de diagnose, avaliação da eficácia do tratamento, ou imagiologia em um indivíduo doença cardiovascular sabida ou suspeita. O indivíduo pode ser qualquer indivíduo, tal como um mamífero ou modelos animais usados para avaliar a presença da doença cardiovascular. O mamífero, por exemplo, pode ser um humano ou membro de espécies macacos. Modelos animais incluem cães, gatos, ratos, camundongos ou coelhos. Em modalidades preferidas, o indivíduo é um humano com doença cardiovascular sabida ou suspeita.

A doença cardiovascular pode ser qualquer doença do coração ou tecido nutrido pelo sistema vascular. O sistema vascular inclui artérias coronárias, e todas as artérias coronárias que suprem nutrição ao sistema vascular periférico e ao cérebro. O sistema vascular inclui artérias, veias, arteríolas, vênulas, e capilares. Exemplos de doenças cardiovasculares incluem doenças do coração, tal como infarto do miocárdio, isquemia do miocárdio, angina pectoris, falha cardíaca congestiva, cardiomiopatia (congénita ou adquirida), arritmia, ou doença valvular cardíaca. Em modalidades particulares, o indivíduo é sabido ou suspeito de ter isquemia do miocárdio.

O indivíduo, por exemplo, pode ser um paciente que se apresenta a uma clínica com sinais ou sintomas sugestivos de isquemia do miocárdio ou infarto do miocárdio. A imagiologia do coração do indivíduo para diagnosticar a doença pode envolver administrar ao indivíduo uma quantidade farmacêuticamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico sintetizado usando qualquer dos métodos aqui apresentados. A imagiologia pode sere realizada usando qualquer modalidade de imagiologia conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em modalidades particulares, a imagiologia envolve o uso de tecnologia de imagiologia com base radionuclídeo, tal como PET ou SPECT. Em modalidades particulares, o conjugado ligando direcional que tem por alvo radionuclídeo marcado com íon metálico é ^{99m}Tc -EC-glicosamina. A glicosamina não é ativamente capturada por um tecido miocárdio viável mas ao contrário é um alvo específico para regiões de isquemia. A

gravidade da isquemia pode ser visualmente avaliada ou graduada dependendo da magnitude do sinal que é medido usando qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em algumas modalidades, a imagiologia usando qualquer dos conjugados aqui apresentados é realizada antes, durante, ou após imagiologia do coração usando um segundo agente de imagiologia. Por exemplo, o segundo agente de imagiologia pode tálio imageado por cintigrafia imageada por tálio para definir a região da perfusão miocárdial normal (tecido não isquêmico).

Perfusão miocárdial SPECT (MPS) consiste de uma combinação de uma modalidade de estresse (exercício ou farmacológico) com administração de repouso e estresse e imagiologia de rádio-farmacêuticos. O tálio tem excelentes propriedades fisiológicas para a imagiologia da perfusão miocárdial. Sendo altamente extraído durante a primeira passagem através da circulação coronária, uma relação linear entre o fluxo de sangue ao miocárdio viável e captação de tálio se mostra durante o exercício; entretanto, em níveis muito altos de fluxo, ocorre uma paralisação da captação. Como um análogo potássio não ligado, tálio se redistribui durante o tempo. Sua distribuição inicial é proporcional à perfusão miocárdial regional e no equilíbrio, a distribuição de tálio é proporcional ao somatório de potássio regional, refletindo o miocárdio viável. Os mecanismos da redistribuição de tálio são taxas diferenciais de eliminação entre miocárdio hipo-perfundidos porém viável e zonas normais e acumulando para zonas inicialmente hipo-perfundidos. A taxa de eliminação de tálio é o gradiente de concentração entre a célula miocárdica e o sangue. Existe uma liberação sanguínea mais lenta do tálio em seguida da injeção em repouso ou em baixo nível de exercício. Taxas difusas de eliminação, imitando isquemia difusa, podem ser observadas em pacientes normais que não conseguiram adequados níveis de estresse. Estados hiperinsulinêmicos freiam a redistribuição, levando a uma subestimação do miocárdio viável; desse modo o jejum é recomendado antes de e durante 4 horas em seguida da injeção de tálio. Isso é porque se o ECG é usado como um agente viável em combinação com tálio talium ele irá apontar para a área precisa de interesse que pode ser a área isquêmica porém viável (ver Angello et al., 1987; Gutman et al., 1983; Pohost et al., 1977).

Imagiologia usando qualquer do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico da presente invenção pode ser também realizada em conjunto com outros métodos diagnósticos, tal como medição de isozimas cardíacas, ou cateterismo cardíaco. A imagiologia pode ser realizada em diversos intervalos em seguida ao início dos sintomas, ou pode ser realizado para avaliar quanto a alteração na perfusão miocárdial no transcurso do tempo.

Modalidades adicionais estão relacionadas a um método de imagiologia de um sítio em um indivíduo compreendendo (a) administrar ao indivíduo uma quantidade

diagnosticamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, em que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é sintetizado através de qualquer dos métodos aqui apresentados; e (b) detectar um sinal do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico que está localizado no local. Em certas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. Em modalidades específicas, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodisteína.

10 O sinal pode ser detectado por qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos não limitantes de tais métodos incluem PET, PET/TC, TC, SPECT, SPECT/TC, IRM, imagiologia ótica e ultrassom.

O indivíduo pode ser qualquer indivíduo, tal como um mamífero ou espécie aviária. Em modalidades particulares, o mamífero é um humano. O local a ser submetido a imagiologia pode ser qualquer sítio em um indivíduo, e podem incluir, por exemplo, um tumor, coração, pulmão, esôfago, músculo, intestinos, mama, próstata, estômago, bexiga, fígado, baço, pâncreas, rim, um tumor, duodeno, jejuno, íleo, ceco, cólon, reto, glândula salivar, vesícula biliar, bexiga urinária, traquéia, laringe, faringe, aorta, artéria, veia, timo, nodos linfáticos, ossos, glândula pituitária, glândula tireóide, paraglandula tireóide, glândula adrenal, cérebro, grande cérebro, cerebelo, medula, fibras ponte, medula espinal, nervo, musculatura esquelética, musculatura lisa, ossos, testes, epidídimos, próstata, vesículas seminais, pênis, ovário, útero, glândula mamária, vagina, pele, olhos, ou nervo ótico. Em modalidades particulares, o local a ser submetido a imagiologia é um tumor. Em modalidades particulares adicionais, o local a ser submetido a imagiologia é o coração.

25 Em algumas modalidades, o método de imagiologia adicionalmente compreende realizar um ou mais procedimentos adicionais de diagnóstico ou imagiologia para avaliar o indivíduo quanto a uma doença. Em modalidades adicionais, o método de imagiologia é adicionalmente definido como um método de realizar a dual imagiologia e terapia.

Em certas modalidades, a doença a ser tratada é uma doença cardiovascular. Exemplos não limitantes de tais doenças incluem infarto do miocárdio, falha cardíaca congestiva, cardiomiopatia, doença valvular cardíaca, uma arritmia, doença cardíaca congênita, e angina pectoris.

A presente invenção também está de modo geral relacionada a métodos para imagiologia do cérebro ou medula espinal (sistema neuroendócrino) de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo um ou mais dos conjugados da presente invenção. Em algumas modalidades, por exemplo, o quelato é conjugado a um ligando direcional que é capaz de reticular a barreira sanguínea cerebral de um indivíduo. Um

exemplo não limitante de um tal ligando direcional é um aminoácido, tal como tirosina ou um análogo da tirosina tal como alfa-metil tirosina. Outros exemplos incluem somatostatina, octreotida, e triptofano.

A presente invenção também está de modo geral relacionada a métodos de tratar um indivíduo com um distúrbio do sistema nervoso central de um indivíduo. O distúrbio do sistema nervoso central pode ser, por exemplo, uma doença neurodegenerativa tal como doença de Parkinson, doença de Huntington, esclerose amiotrófica lateral, doença de Alzheimer, ou um tumor neuroendócrino. Exemplos de tumores neuroendócrinos incluem tumores cerebrais primários e metastáticos. Exemplos de tumores cerebrais primários incluem astrocitomas, glioblastomas, oligodendrogliomas, ependimomas, gliomas mistos, tumores glio-neurais mistos (tumores apresentando um componente neuronal, bem como glial, por exemplo, gangliomas, tumores desembrioplásticos neuroepiteliais) e tumores originários de células neuronais (por exemplo, gangliocitoma, gangliocitoma central). O tumor pode ser um tumor metastático. Em algumas modalidades, o distúrbio do sistema nervoso central é uma doença inflamatória. Por exemplo, a doença pode ser uma doença infecciosa, ou uma doença imuno.

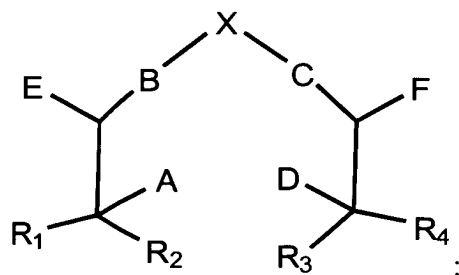
A presente invenção também está relacionada a um método de determinar a pureza de uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico de pureza desconhecida também contemplado pela presente invenção, o referido método compreendendo:

- a) obter uma primeira composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico de pureza desconhecida;
- b) obter uma segunda composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico preparado através de qualquer dos métodos descritos aqui;
- c) realizar análise quantitativa de uma amostra da primeira composição para gerar uma primeira medição;
- d) realizar análise quantitativa da segunda composição para gerar uma segunda medição; e
- e) calcular uma relação da primeira medição em relação à segunda medição, em que a relação da primeira medição para a segunda medição é uma medida da pureza da composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico de pureza desconhecida.

Análise quantitativa pode ser realizada através de qualquer técnica conhecida por aqueles usualmente versados na técnica. Em certas modalidades, a análise quantitativa é realizada pela técnica selecionada a partir do grupo que compreende autoradiografia, diálise, espectroscopia de massa, determinação do ponto de fusão, análise colorimétrica,

cromatografia líquida de alta performance, cromatografia de camada fina e análise por ressonância magnética nuclear.

Outros aspectos da presente invenção contemplam uma composição que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, em que o agente quelante é da seguinte fórmula:



em que:

o ponto de conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional está em uma ou mais posições selecionada a partir do grupo que compreende A, B, C, D, E e F;

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol, com a condição de que pelo menos uma posição é $-\text{NH}_2$ ou tiol;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, ou $-\text{S}(\text{O})_2-$;

R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são cada um independentemente H ou alquila inferior; e

X é selecionado a partir do grupo que compreende $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$;

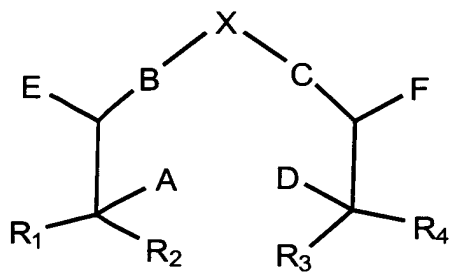
em que pelo menos um de A, B, C, D, E, F, ou um grupo funcional do ligando direcional está protegido por um grupo protetor, e

em que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 75% e cerca de 99,9% puro.

O grupo protetor pode ser de qualquer tipo descrito aqui. O ligando direcional pode ser de qualquer tipo descrito aqui. Em certas modalidades, a composição tem a condição de que quando A e D são cada um $-\text{NH}_2$, nenhum de B nem C seja uma amina secundária ou uma amina terciária. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 85% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 95% e cerca de 99,9% puro. A

composição pode, em certas modalidades, ser adicionalmente definida como um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, como discutido aqui.

Um outro aspecto da presente invenção contempla uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, em que o agente quelante é da seguinte fórmula:



em que:

o ponto de conjugação entre o agente quelante e o ligando direcional está em uma ou mais posições selecionada a partir do grupo que compreende A, B, C, D, E e F;

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, -COOH, -NH₂, ou tiol, com a condição de que pelo menos uma posição é -NH₂ ou tiol;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;

R₁, R₂, R₃ e R₄ são cada um independentemente H ou alquila inferior; e

X é selecionado a partir do grupo que compreende -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂- e -CH₂-CH₂-C(O)-;

em que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 75% e cerca de 99,9% puro.

O ligando direcional pode ser de qualquer tipo descrito aqui. Em certas modalidades, a composição tem a condição de que quando A e D são cada um -NH₂, nenhum de B nem C seja uma amina secundária ou uma amina terciária. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 85% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. A composição pode compreender um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante que é entre cerca de 95% e cerca de 99,9% puro. A composição pode, em certas modalidades, ser adicionalmente definida como um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente

quelante marcado com íon metálico, como discutido aqui. A composição pode ser adicionalmente definida como ^{99m}Tc -EC-glicosamina. A composição pode ser adicionalmente definida como ^{186}Re -EC-glicosamina. A composição pode ser adicionalmente definida como ^{187}Re -EC-glicosamina.

5 É contemplado que qualquer modalidade discutida nessa especificação pode ser implementada com respeito a qualquer método, composto ou composição da invenção, e vice versa. Além disso, compostos e composições da invenção pode ser usados para conseguir os métodos da invenção.

10 Aqueles usualmente versados na técnica irão reconhecer que modificações químicas podem ser feitas aos compostos da presente invenção, bem como compostos empregados no método da presente invenção, sem se afastar do espírito e escopo da presente invenção. Substitutos, derivados, ou equivalentes podem ser também usados, todos os quais são contemplados como sendo parte da presente invenção.

15 Como usado aqui, “meio orgânico” se refere a soluções (por exemplo, soluções de reação) e métodos de purificação compreendendo um ou mais solventes orgânicos (também chamados “solventes” aqui). Solventes de escolha para os métodos da presente invenção serão conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. A escolha dos solventes pode depender, por exemplo, em que eles irão facilitar a solubilização da totalidade dos reagentes, ou, por exemplo, quais aqueles que melhor facilitam a desejada reação

20 (particularmente se o mecanismo da reação é conhecido). Solventes podem incluir, por exemplo, solventes polares e solventes não polares. Solventes de escolha incluem, mas não estão limitados a, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dioxano, metanol, etanol, hexano, cloreto de metileno e acetonitrila. Em algumas modalidades preferidas, os solventes incluem etanol, dimetilformamida e dioxano. Mais que um solvente pode ser escolhido para qualquer

25 reação particular ou procedimento de purificação. Água (isto é, um componente aquoso) pode ser também misturada em qualquer solvente escolhido; a água é tipicamente acrescentada para facilitar a solubilização da totalidade dos reagentes. Em certas modalidades, o componente orgânico do meio orgânico, por volume, é de cerca de ou pelo menos de cerca de 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%,

30 80%, 85%, 90%, 95%, ou 100% solvente orgânico comparado ao componente aquoso.

 O termo “conjugar” e “conjugado” é definido aqui como quimicamente unido na mesma molécula. Por exemplo, duas ou mais moléculas e/ou átomos podem ser conjugadas juntas através de uma ligação covalente, formando uma molécula única. As duas moléculas podem ser conjugadas entre si através de uma conexão direta (por exemplo, onde os

35 compostos são diretamente anexados através de uma ligação covalente) ou os compostos podem ser conjugados através de uma conexão indireta (por exemplo, onde os dois compostos estão ligados de forma covalente a um ou mais ligadores, formando uma

molécula única). Em outros casos, um átomo metálico pode ser conjugado a uma molécula através de uma interação por quelação.

O termo “grupo funcional” se refere geralmente a como aqueles usualmente versados na técnica classificam grupos quimicamente reativos. Exemplos não limitantes de grupos funcionais incluem ligações carbono-carbono (incluindo ligações simples, dupla e tripla), hidroxila (ou álcool), amina, sulfidril (ou tiol), grupos amida, éter, éster, tioéter, tioéster, ácido carboxílico e grupos carbonila. Como usado aqui, “amina” e “amino” e outros pares similares de termos como “hidróxi” e “hidroxila” se referem à mesma fração funcional e desse modo são usados de modo intercambiável. Como usado aqui, “amina” pode referir a um ou outro, ou ambos, -NH_2 e -NH- .

Como usado aqui, “quelato” pode ser usado como um nome ou um verbo. Como um nome, “quelato” se refere a um ou mais átomos ou são capazes de realizar quelação a um ou mais íons metálicos, ou são quelantes a um ou mais íons metálicos. Em modalidades preferidas, apenas um íon metálico se coordena a um quelato. Um exemplo não limitante de “quelato” inclui um quelato “ N_2S_2 ”: isso significa que dois átomos de nitrogênio e dois átomos de enxofre de um agente quelante são um ou outro de a) capazes de realizar quelação a um ou mais íons metálicos ou b) serem coordenados a (ou quelados a) a um ou mais íons metálicos (preferivelmente somente um íon metálico). Como um verbo, “quelato” se refere ao processo de um íon metálico se tornar coordenado ou quelado a, por exemplo, um agente quelante ou um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

Como usado aqui, um “agente quelante não conjugado” se refere a um agente quelante que não está conjugado a um ligando direcional.

Como usado aqui, um “agente quelante não protegido” se refere a um agente quelante que não compreende quaisquer grupos protetores.

Como usado aqui, um “agente quelante protegido” se refere a um agente quelante que compreende pelo menos um grupo protetor.

Como usado aqui, um “ligando direcional desprotegido” se refere a um ligando direcional que não compreende quaisquer grupos protetores.

Como usado aqui, um “ligando direcional protegido” se refere a um ligando direcional que compreende pelo menos um grupo protetor.

O termo “nucleófilo” ou “nucleofílico” se refere geralmente a átomos que abrigam um ou mais pares isolados de elétrons. Tais termos são bem conhecidos na arte e incluem -NH_2 , tiolato, carbânio, e alcoolato (também conhecido como hidroxila).

O termo “electrófilo” ou “electrofílico” se refere geralmente a espécies que reagem com nucleófilos. Grupos eletrofílicos possuem tipicamente uma carga parcial positiva. Um tal termo é bem conhecido na arte e inclui o carbono de um carbono ligado a um grupo abandonador tal como um grupo halogênio, sulfonila, ou um grupo amino quaternário.

O termo “grupo abandonador” se refere geralmente a grupos facilmente deslocáveis por um nucleófilo, tal como uma amina, e álcool ou um nucleófilo tiol. Tais grupos abandonadores são bem conhecidos e incluem carboxilatos, N-hidroxisuccinimida, N-hidroxibenzotriazol, halogênio (haletos), triflatos, tosilatos, mesilatos, alcóxi, tioalcóxi, sulfonilas e semelhantes.

Como usado aqui, “alquila” ou “alk” se refere a uma cadeia hidrocarboneto ou carbono-carbono linear, ramificada ou cíclica, opcionalmente incluindo ligação alceno ou alcino, contendo de 1-30 átomos. “Alquila inferior” se refere a radicais alquila que compreendem de 1-4 carbonos. Exemplos não limitantes de alquillas inferiores incluem metlila, etlila, propila, butil e isopropila. “Alquila substituída” se refere a um radical alquila substituído com pelo menos um átomo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em certas modalidades, um ou mais substituintes pode ser selecionado a partir do grupo que compreende hidrogênio, halogênio, oxo (por exemplo, éter), hidróxi, alcóxi, sililóxi, cicloalquila, acila, arila, acetila, carbonila, tiocarbonila, ciano, azida, amido, aminocarbonila, amino, -NH-alquila, -N(alquila)₂, -NH-cicloalquila, -N(cicloalquil)₂, -NH-arila, -N(aril)₂, trialkilsililóxi, acilóxi, acilamino, bis-acilamino, éster, NO, NO₂ e sulfo (por exemplo, tioéter, tioéster, sulfonamida, sulfonila).

O termo “arila” se refere a um grupo aromático carbocíclico, incluindo mas não limitado a aqueles selecionados a partir do grupo que compreende fenila, naftila, indenila, indanila, azulenila, fluorenila, e antracenila; ou um grupo aromático heterocíclico, incluindo mas não limitado a aqueles selecionados a partir do grupo que compreende furlila, furanila, tienila, piridila, pirrolila, oxazolila, tiazolila, imidazolila, pirazolila, pirazolinila, pirazolidinila, isoxazolila, isotiazolila, oxadiazolila, triazolila, tiadiazolila, piridazinila, pirimidinila, pirazinila, triazinila, tritiana, indolizinila, indolila, isoindolila, indolinila, tiofenila, indazolila, benzimidazolila, benzotiazolila, purinila, quinolizinila, quinolinila, isoquinolinila, innolinila, ftalazinila, quinazolinila, quinoxalinila, naftiridinila, pteridinil carbazolila, acridinila, fenazinila, fenotiazonila, fenoxazinil e qualquer combinação ou derivado de um ou mais desses grupos.

Grupos “arila”, como definido aqui nesse pedido pode independentemente conter um ou mais grupos funcionais como substituintes. Em certas modalidades, substituintes podem ser selecionados a partir do grupo que compreende hidrogênio, alquila, halogênio, oxo (por exemplo, éter), hidróxi, alcóxi, sililóxi, cicloalquila, acila, arila, acetila, carbonila, tiocarbonila, ciano, amido, aminocarbonila, amino, -NH-alquila, -N(alquila)₂, -NH-cicloalquila, -N(cicloalquil)₂, -NH-arila, -N(aril)₂, trialkilsililóxi, acilóxi, acilamino, bis-acilamino, éster, NO, NO₂ e sulfo (por exemplo, tioéter, tioéster, sulfonamida, sulfonil). Também, quaisquer desses substituintes pode estar adicionalmente substituído com os substituintes como agora descritos.

Como usado aqui o termo “cicloalquila” se refere a carbociclos ou heterociclos de

três ou mais átomos, os átomos do anel que podem estar opcionalmente substituídos com C, S, O ou N, e os átomos do anel que podem compreender um ou mais grupos funcionais como substituintes. Substituintes podem ser selecionados, em algumas modalidades, a partir do grupo que compreende hidrogênio, alquila, halogênio, oxo (por exemplo, éter), hidróxi, alcóxi, sililóxi, cicloalquila, acila, arila, acetila, carbonila, tiocarbonila, ciano, azido, amido, aminocarbonila, amino, -NH-alquila, -N(alquila)₂, -NH-cicloalquila, -N(cicloalquil)₂, -NH-arila, -N(aril)₂, trialkilsililóxi, acilóxi, acilamino, bis-acilamino, éster, NO, NO₂ e sulfo (por exemplo, tioéter, tioéster, sulfonamida, sulfonila).

O termo “aminoácido” se refere a qualquer dos aminoácidos naturalmente ocorrentes, bem como análogos sintéticos (por exemplo, D-estereoisômeros dos aminoácidos naturalmente ocorrentes, tal como D-treonina) e derivados desses mencionados. α -Aminoácidos compreendem um átomo de carbono ao qual está ligado um grupo amino, um grupo carboxila, um átomo de hidrogênio, e um grupo distintivo referido como “cadeia lateral”. Aminoácidos compreendendo um grupo metileno adicional em sua cadeia estrutural são frequentemente chamados β -aminoácidos. As cadeias laterais dos aminoácidos naturalmente ocorrentes são bem conhecidas na arte e incluem, por exemplo, hidrogênio (por exemplo, como em glicina), alquila (por exemplo, como na alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina), alquila substituída (por exemplo, como em treonina, serina, metionina, cisteína, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, glutamina, arginina, e lisina), arilalquil (por exemplo, como em fenilalanina e triptofano), arilalquila substituída (por exemplo, como em tirosina), e heteroarilalquila (por exemplo, como em histidina). Aminoácidos não naturais são também conhecidos na arte, como apresentado em, por exemplo, Williams (1989); Evans et al. (1990); Pu et al. (1991); Williams et al (1991); e todas as referências aqui mencionadas. A presente invenção inclui também as cadeias laterais de aminoácidos não naturais.

Os termos “amina primária”, “amina secundária” e “amina terciária” se referem a aminas, como derivados amônia (NH₃), em que um (primário), dois (secundário) ou três (terciário) dos hidrogênios foram substituídos por carbono, em que o referido carbono pode ser anexado a qualquer outro átomo. Em certas modalidades, o referido carbono (C) está compreendido no X da fórmula apresentada acima, um grupo hidrocarboneto (por exemplo, -CH₂-), -CH(E)(CHAR₁R₂), -CH(F)(CHDR₃R₄), ou um grupo -C(O)-, em que A, D, E, F, X, R₁, R₂, R₃ e R₄ são como definidos aqui.

Compostos como aqui descritos podem conter um ou mais centros assimétricos e assim podem ocorrer como racematos e misturas racêmicas, enantiômeros únicos, misturas diastereoméricas e diastereômeros individuais. Todos os estereoisômeros possíveis da totalidade dos compostos descritos aqui, a menos que de outro modo indicado, são contemplados como estando dentro do escopo da presente invenção. Os centros quirais dos

compostos da presente invenção podem ter a configuração S-, ou R-, como definido pelas Recomendações IUPAC 1974. A presente invenção é significada abranger a totalidade de tais formas isoméricas dos compostos da invenção.

A invenção reivindicada é também pretendida para abranger sais dos compostos sintetizados da presente invenção. O termo “sal(s)” como usado aqui, é entendido ser sais de caráter ácido ou básico formados com ácidos e bases inorgânicos e/ou orgânicos. Zwitterions (sais internos ou interiores) são entendidos como estando inclusos no contexto do termo “sal(s)”, como são sais de amônio quaternário tal como sais de alquilamônio. Sais não tóxicos, farmacologicamente aceitáveis, são preferidos como descrito adiante, embora outros sais possam ser úteis, como por exemplo, nas etapas de separação ou de purificação.

Exemplos não limitantes de sais de adição ácida incluem, mas não estão limitados a, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, benzenesulfonato, bisulfato, butirato, citrato, camforato, camforsulfonato, ciclopentanepropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanesulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreto, hidrobrometo, hidriodeto, 2-hidroxietanesulfonato, lactato, maleato, metanesulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato e undecanoato.

Exemplos não limitantes de sais básicos incluem mas não estão limitados a sais de amônio; sais de metais alcalinos tal como sais de sódio, lítio e potássio; sais de metais alcalino terrosos tal como sais de cálcio e magnésio; sais compreendendo bases orgânicas tal como aminas (por exemplo, diciclohexilamina, alquilaminas tal como t-butilamina e t-amilamina, alquilaminas substituídas, aril-alquilaminas tal como benzilamina, dialquilaminas, dialquilaminas substituídas tal como N-metil glicamina (especialmente N-metil D-glicamina), trialquilaminas, e trialquilaminas substituídas); e sais compreendendo aminoácidos tal como arginina, lisina e assim por diante. Os grupos contendo nitrogênio básico podem ser quaternizados com agentes tal como haletos de alquila inferior (por exemplo cloretos, brometos e iodetos de metila, etila, propila, e butila), sulfatos de dialquila (por exemplo sulfatos de dimetila, dietila, dibutila, e diamila), haletos de cadeia longa (por exemplo cloretos, brometos e iodetos de decila, laurila, miristila e estearila), haletos de arilalquila (por exemplo brometos de benzila e fenetila) e outros conhecidos na arte.

O uso do termo “o” ou “a” quando usado em conjunto com o termo “compreendendo” nas reivindicações e/ou especificação podem significar “um”, mas ele é também consistente com o significado de “um ou mais,” “pelo menos um,” e “um ou mais que um”.

No transcurso desse pedido, o termo “cerca de” é usado para indicar que um valor

inclui a inerente variação do erro para o dispositivo, o método sendo empregado para determinar o valor, ou a variação que existe em meio aos indivíduos do estudo. Por exemplo, “cerca de” pode ser dentro de 10%, preferivelmente dentro de 5%, mais preferivelmente dentro de 1%, e muito preferentemente dentro de 0,5%.

O uso do termo “ou” nas reivindicações é usado para significar “e/ou” a menos que explicitamente indicado referir a alternativas apenas ou as alternativas são mutuamente exclusivas, embora a revelação sustente uma definição que se refere a apenas alternativas e “e/ou”.

Como usado nessa especificação e reivindicação(s), os termos “compreendendo” (e qualquer forma de compreendendo, tal como “compreende” e “compreender”), “possuir” (e qualquer forma de ter, tal como “possui” e “tem”), “incluindo” (e qualquer forma de incluindo, tal como “inclui” e “incluir”) ou “conter” (e qualquer forma de conter, tal como “contém” e “contêm”) são inclusivos ou de extremidade aberta e não excluem elementos adicionais ou não reagidos ou etapas do método.

Outros objetivos, características e vantagens da presente invenção se tornarão evidentes a partir da descrição detalhada apresentada a seguir. Deverá ser entendido, todavia, que a descrição detalhada dos exemplos específicos, embora indicando modalidades preferidas da invenção, são dados apenas a título de ilustração, uma vez que diversas alterações e modificações dentro do espírito e escopo da invenção se tornarão evidentes por aqueles usualmente versados na técnica a partir dessa descrição detalhada.

Breve Descrição dos Desenhos

Os desenhos apresentados a seguir fazem parte da presente especificação e são incluídos para adicionalmente demonstrar certos aspectos da presente invenção. A invenção pode ser mais bem entendida mediante referência a um ou mais desses desenhos em combinação com a descrição detalhada das modalidades específicas aqui apresentadas.

FIG. 1. Exemplo não limitante de uma síntese orgânica de etilenodicisteína-glicosamina (EC-G).

FIG. 2. Exemplo não limitante de uma síntese orgânica de rênio-etilenodicisteína-glicosamina (Re-EC-G).

FIG. 3. Ensaio de incorporação da [^3H]Timidina usando Re-EC-G e uma linhagem de célula linfoma.

FIG. 4. Comparação da captação celular de Ec-G na forma bruta ou forma purificada por HPLC prep.

FIG. 5. Espectrometria de massa de EC-G.

FIG. 6. Rádio-TLC (cromatografia em camada fina) de ^{68}Ga -EC-G. (a) ^{68}Ga -EC-G, sintetizado através de meios orgânicos; (b) ^{68}Ga -EC-G, sintetizado através de meios aquosos; (c) livre de ^{68}Ga .

FIG. 7. Analítico de rádio-HPLC de ^{68}Ga -EC-G. (a) detecção UV; (b) detecção NaI.

FIGs. 8A e 8B. Estabilidade de ^{68}Ga -EC-G soro canino como mostrado por rádio-TLC. (a) ^{68}Ga -EC-G (0,7 mg/0,7 mL, pH 7,5, 865 μCi); (b) 100 μL ^{68}Ga -EC-G em 100 μL soro canino, tempo = 0; (c) tempo = 30 min.; (d) tempo = 60 min.; (e) tempo = 120 min.; (f) ^{68}Ga -EC-BSA.

FIG. 9. Estabilidade de ^{68}Ga -EC-G em soro canino como analisado em um ensaio de ligação proteína.

FIG. 10. Estudo da captação in vitro de compostos ^{68}Ga -marcados em linhagens de células de câncer de mama 13762.

FIG. 11. Imagens planas do derivado $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-ESMOLOL (300 μCi /rato) em ratos portadores de tumor de mama. H/UM = relações da densidade de contagem coração/mediastino superior (contagens/pixel) a 15-45 minutos.

FIG. 12. ^{68}Ga -EC-TML PET imagiologia em um coelho branco da Nova Zelândia.

FIG. 13. Exemplo não limitante de uma síntese orgânica de etilenodicisteína-glicosamina (EC-G).

Descrição das Modalidades Representativas

Os presentes inventores identificaram novos métodos sintéticos para a preparação de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante opcionalmente quelados a um ou mais íons metálicos. A presente invenção adicionalmente proporciona a síntese de agentes quelantes, tal como agentes quelantes não conjugados, protegido agentes quelantes (isto é, agentes quelantes em que um ou mais grupos funcionais estão protegidos usando um agente protetor) e agentes quelantes marcados com íon metálico (isto é, agentes quelantes que são quelados a um ou mais íons metálicos). Esses métodos sintéticos compreendem, geralmente o uso de solventes orgânicos e procedimentos de síntese orgânica e métodos de purificação. Métodos baseados na química úmida (aquosos) são também providos. Compostos da presente invenção resultantes a partir de tais métodos de síntese orgânica têm alta pureza, especialmente quando comparados a compostos preparados pela química a úmido. Um agente quelante preferido é etilenodicisteína. O ligando direcional pode ser, por exemplo, uma fração que tem por alvo os tecidos, uma fração de diagnóstico, ou uma fração terapêutica. Os íons metálicos quelados aos compostos da presente invenção podem adicionalmente tornar o composto útil para imagiologia, diagnóstico, ou uso terapêutico. Os compostos da presente invenção, seus métodos e suas sínteses e usos são também descritos adiante.

A. Agentes quelantes

Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com compostos capazes de realizar quelação um ou mais íons metálicos ("agentes quelantes"). Agentes quelantes empregados no método da presente invenção compreendem no geral um ou mais

átomos capazes de realizar quelação a um ou mais íons metálicos. Agentes quelantes compreendendo três ou quatro átomos disponíveis para a quelação são preferidos. Tipicamente, um agente quelante faz quelação a um íon metálico.

Quelação de um íon metálico a um agente quelante pode ser por qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Métodos de quelação (também chamados coordenação) são descritos em mais detalhes adiante. Átomos disponíveis para a quelação são conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica, e tipicamente compreende O, N ou S. Em modalidades preferidas, os átomos disponíveis para a quelação são selecionados a partir do grupo que compreende N e S. Em certas modalidades preferidas, o íon metálico é quelado a um grupo de átomos, referidos aqui como “quelatos”, selecionados a partir do grupo que compreende NS_2 , N_2S , S_4 , N_2S_2 , N_3S e NS_3 . A quelação pode também ocorrer entre ambos o agente quelante e o ligando direcional; isto é, ambos o agente quelante e o ligando direcional podem contribuir com átomos que fazem quelação do mesmo íon metálico.

Em certas modalidades, o agente quelante compreende compostos que incorporam um ou mais aminoácidos. Aminoácidos serão tipicamente selecionados a partir do grupo que compreende cisteína e glicina. Por exemplo, o agente quelante pode compreender três cisteínas e uma glicina ou três glicinas e uma cisteína. Como discutido adiante, um separador pode conectar um aminoácido ao outro.

É bem conhecido por aqueles usualmente versados na técnica que os agentes quelantes, em geral, compreendem uma variedade de grupos funcionais. Exemplos não limitantes de tais grupos funcionais incluem hidróxi, tiol, amina, amido e ácido carboxílico.

1. Diácidos carboxílicos bis-aminoetanotiol (BAT)

Diácidos carboxílicos bis-aminoetanotiol (BAT) podem constituir um agente quelante empregado no método da presente invenção. Em modalidades preferidas, o diácido carboxílico BAT é etilenodicisteína (EC). Diácidos carboxílicos BAT são capazes de atuarem como ligandos tetradentados, e são também conhecidos como compostos diaminoditiol (DADT). Tais compostos são conhecidos formarem complexos Tc(V)O estáveis com base na eficiente ligação do grupo oxitecnécio a dois átomos tiol-enxofre e dois átomos amina-nitrogênio. O dietiléster marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc-L,L-ECD}$) é conhecido como um agente cerebral. $^{99\text{m}}\text{Tc-L,L-etilenodicisteína}$ ($^{99\text{m}}\text{Tc-L,L-EC}$) é o mais popular metabolito e foi descoberto ser excretado rapidamente e eficientemente na urina. Assim, $^{99\text{m}}\text{Tc-L,L-EC}$ têm sido usado como uma agente de função renal. (Verbruggen et al. 1992). Outros metais tal como índio, rênio, gálio, cobre, ólmio, platina, gadolínio, lutécio, ítrio, cobalto, cálcio e arsênico podem ser também quelados a diácidos carboxílicos BAT tal como EC.

2. Separadores

Agentes quelantes da presente invenção podem compreender um ou mais

separadores. Por exemplo, aminoácidos e seus derivados podem ser unidos por um ou mais separadores. Um exemplo de dois aminoácidos unidos por um separador inclui etilenodicisteína, descrito acima. Tais separadores são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Esses separadores, em geral, proporcionam flexibilidade adicional ao composto como um todo que pode facilitar a quelação de um ou mais íons metálicos ao agente quelante. Exemplos não limitantes de separadores incluem grupos alquila de qualquer comprimento, tal como etileno ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), ligações éter, ligações tioéter, ligações amina e qualquer combinação de um ou mais desses grupos. É vislumbrado que múltiplos agentes quelantes (isto é, dois ou mais) ligados juntos são capazes de formar uma molécula completa que pode quelar a um ou mais, ou mais tipicamente dois ou mais, íons metálicos. Isto é, cada agente quelante que constitui a molécula completa pode cada um quelar a um único íon metálico em separado.

B. Grupos protetores

Quando uma reação química é para ser realizada seletivamente em um ou mais sítios em um composto multifuncional, outros sítios reativos precisam ser temporariamente bloqueados. Um “grupo protetor”, como usado aqui, é definido como um grupo usado para o propósito desse bloqueio temporário. Assim, a função de um grupo protetor é proteger um ou mais grupos funcionais (por exemplo, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$) durante as subsequentes reações que possam não se proceder bem, ou devido ao grupo funcional livre (em outras palavras, não protegido) que poderia reagir e ser funcionalizado em um modo que seja inconsistente com suas necessidades de estar livre para a subsequentes reações, ou o grupo funcional livre poderia interferir na reação. Aqueles usualmente versados na técnica identificam que o uso de grupos protetores é típico na química de síntese orgânica.

Durante a síntese dos compostos da presente invenção, diversos grupos funcionais precisam ser protegidos usando agentes protetores em diversos estágios de uma síntese. A “agente protetor” é usado para instalar o grupo protetor. Assim, em um típico procedimento, um agente protetor é misturado com um composto que apresenta um grupo funcional que é para ser protegido, e o agente protetor forma uma ligação covalente com aquele grupo funcional. Desse modo, o grupo funcional é “protegido” por um grupo protetor (e efetivamente tornado não reativo) pela ligação covalente que formou com o agente protetor. Múltiplos grupos funcionais podem ser protegidos em uma ou mais etapas usando agentes protetores apropriadamente selecionados. Tal seleção apropriada é entendida por aqueles usualmente versados na técnica. Tal seleção é frequentemente baseada na variação da reatividade dos grupos funcionais a serem protegidos: desse modo, mais grupos reativos (tal como enxofre/tiol) são tipicamente protegidos antes de grupos menos reativos (tal como amina) serem protegidos.

Existem numerosos métodos bem conhecidos por aqueles usualmente versados na

técnica para conseguir uma tal etapa. Quanto aos agentes protetores, suas reatividades, instalação e uso, ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), aqui incorporado por referência em sua totalidade. O mesmo grupo protetor pode ser usado para proteger um ou mais do(s) mesmo() ou diferente(s) grupo(s) funcional(s). Exemplos não limitantes de instalação de grupo protetor são descritos adiante.

O uso da frase “hidróxi protegido” ou “amina protegida” e semelhantes não significa que cada tal grupo funcional dispositivo a ser protegido está protegido. Similarmente, um “agente quelante protegido,” como usado aqui, não implica que cada grupo funcional do agente quelante esteja protegido.

Compostos da presente invenção, incluindo compostos usados e produzidos durante a prática do método da presente invenção, são contemplados tanto na forma protegida e desprotegida (ou “livre”). Aqueles usualmente versados na técnica irão compreender que grupos funcionais necessários para uma desejada transformação devem estar não protegidos.

Quando um grupo protetor não é mais desejado, ele é removido através de métodos bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Para agentes desprotetores e sua utilização, ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999). Agentes usados para remover o grupo protetor são tipicamente chamados de agentes desprotetores. Grupos protetores são tipicamente facilmente removíveis (como é conhecido por aqueles usualmente versados na técnica) através de métodos que empregam agentes desprotetores que são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, grupos protetores acetato, éster e carbamado podem ser facilmente removidos usando condições brandas ácidas ou básicas, ao passo que grupos protetores éster de benzila e de benzoíla necessitam condições ácidas ou básicas muito mais fortes. É bem conhecido que certos agentes desprotetores removem alguns dos grupos protetores e não outros, enquanto que outros agentes desprotetores removem diversos tipos de grupos protetores dos diversos tipos de grupos funcionais. Por exemplo, reações Birch de redução usando amônia líquida e sódio (como descrito adiante) desprotegem grupos benzila de tióis (ou enxofre, mais particularmente) ou grupos carbamato de nitrogênio, mas não grupos acetato de oxigênio. Assim, um primeiro agente de desproteção pode ser usado para remover um tipo de grupo protetor, seguido pelo uso de um segundo agente de desproteção para remover um segundo tipo de grupo protetor, e assim por diante.

Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com o apropriado ordenamento de remoção de grupo protetor usando agentes desprotetores. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999). Exemplos não limitantes de remoção de grupo protetor são discutidos adiante.

Grupos protetores amina são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na

técnica. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), Capítulo 7. Esses grupos protetores podem ser instalados através de agentes protetores bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. A remoção desses grupos é também bem conhecida por aqueles usualmente versados na técnica.

5 Em algumas modalidades, o grupo protetor amina pode ser selecionado a partir do grupo que compreende t-butoxicarbonila, benziloxicarbonila, formila, tritila, acetila, tricloroacetila, dicloroacetila, cloroacetila, trifluoroacetila, difluoroacetila, fluoroacetila, benzil clorofornato, 4-fenilbenziloxicarbonila, 2-metilbenziloxicarbonila, 4-etoxibenxiloxicarbonila, 4-fluorobenxiloxicarbonila, 4-clorobenxiloxicarbonila, 3-
10 clorobenxiloxicarbonila, 2-clorobenxiloxicarbonila, 2,4-diclorobenxiloxicarbonila, 4-bromobenxiloxicarbonila, 3-bromobenxiloxicarbonila, 4-nitrobenxiloxicarbonila, 4-cianobenxiloxicarbonila, 2-(4-xenil)isopropoxicarbonila, 1,1-difenileth-1-iloxicarbonila, 1,1-difenilprop-1-iloxicarbonila, 2-fenilprop-2-iloxicarbonila, 2-(p-toluil)prop-2-iloxicarbonila, ciclopentaniloxicarbonila, 1-metilciclopentaniloxicarbonila, ciclohexaniloxicarbonila, 1-
15 metilciclohexaniloxicarbonila, 2-metilciclohexaniloxicarbonila, 2-(4-toluisulfonil)etoxicarbonila, 2-(metilsulfonil)etoxicarbonila, 2-(trifenilfosfino)etoxicarbonila, fluorenilmetoxicarbonila, 2-(trimetilsilil)etoxicarbonila, aliloxicarbonila, 1-(trimetilsililmetil)prop-1-eniloxicarbonila, 5-benzisoxalilmetoxicarbonila, 4-acetoxibenxiloxicarbonila, 2,2,2-tricloroetoxicarbonila, 2-etinil-2-propoxicarbonila, ciclopropylmetoxicarbonila, 4-(deciloxil)benziloxicarbonila, 20 isobomiloxicarbonila, 1-piperidiloxicarbonil e 9-fluorenilmetil carbonato.

Em algumas modalidades, o agente protetor para proteção amina é selecionado a partir do grupo que compreende cloroforniato de benzila, p-nitro-forniato de clorobenzilla, cloroforniato de etila, di-ter-butil-dicarbonato, cloreto de trifenilmetila e cloreto de metoxifenilmetila. Numa modalidade preferida, o grupo protetor é benziloxicarbonila, 25 instalado pelo agente protetor benziloxiclorofornato.

Grupos protetores tiol são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), Capítulo 6. Esses grupos protetores podem ser instalados através de agentes protetores bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. A remoção desses grupos é também bem conhecida por 30 aqueles usualmente versados na técnica.

Em algumas modalidades, um grupo protetor tiol pode ser selecionado a partir do grupo que compreende acetamidometila, benzamidometila, 1-etoxietila, benzoíla, trifenilmetila, t-butila, benzil, adamantila, cianoetila, acetil e trifluoroacetila.

Em algumas modalidades, o agente protetor para proteção tiol é selecionado a 35 partir do grupo que compreende um haleto de alquila, um haleto de benzila, um haleto de benzoíla, um haleto de sulfonila, um haleto de trifenilmetila, um haleto de metoxitriphenilmetila e cisteína. Exemplos não limitantes desses agentes protetores incluem haletos de etila,

haletos de propila e haletos de acetila. Haletos podem compreender cloro, bromo ou iodo, por exemplo. Numa modalidade preferida, o grupo protetor é benzila, instalado pelo agente protetor cloreto de benzila.

Grupos protetores hidróxi (ou álcool) são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), Capítulo 2. Esses grupos protetores podem ser instalados através de agentes protetores bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. A remoção desses grupos é também bem conhecida por aqueles usualmente versados na técnica.

A suitable hidroxí grupo protetor pode ser selecionado a partir do grupo que compreende ésteres ou ethers. Ésteres tal como de grupos acetato, benzoíla, ter-butilcarbonila e trifluoroacetila are removíveis através de condições ácidas ou básicas. Éteres tal como de metoxila, etoxila e tri-benzilmetila são removíveis através de condições ácidas ou básicas mais fortes. Um preferido grupo protetor é um éster acetato.

Grupos protetores carbonila são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), Capítulo 4. Tais grupos protetores podem proteger, por exemplo, cetonas ou aldeídos, ou a carbonila presente em éteres, amidas, ésteres e semelhantes. Esses grupos protetores podem ser instalados através de agentes protetores bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. A remoção desses grupos é também bem conhecida por aqueles usualmente versados na técnica.

Em algumas modalidades, um grupo protetor carbonila pode ser selecionado a partir do grupo que compreende dimetilacetil, dimetilcetal, diisopropilacetil, diisopropilcetal, enaminas e enol éteres.

Grupos protetores ácido carboxílico são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Ver, por exemplo, Greene e Wuts (1999), Capítulo 5. A remoção desses grupos é também bem conhecida por aqueles usualmente versados na técnica.

Um adequado grupo protetor ácido carboxílico pode ser selecionado a partir do grupo que compreende amidas ou ésteres, por exemplo. Amidas tal como sulfonamida, para-nitroanilina, benzilamida e benzililamida podem ser hidrolisadas em condições ácidas. Ésteres tal como éster de metila, éster de etila e éster de benzila podem ser hidrolisados através de condições ácidas ou básicas. Um preferido grupo protetor é uma amida.

C. Íons metálicos

Como apresentado acima, certas modalidades da presente invenção estão relacionadas a composições que irão funcionar para quelar um ou mais íons metálicos. Os ligandos direcionais da presente invenção podem também participar em realizar quelação de um ou mais íons metálicos. Um "íon metálico" é definido aqui referir a um íon metálico que é capaz de formar uma ligação, tal como uma ligação não covalente, com um ou mais átomos

ou moléculas. O(s) outro(s) átomo(s) ou molécula(s) pode estar negativamente carregado(s).

Qualquer íon metálico conhecido por aqueles usualmente versados na técnica é contemplado para inclusão nas composições da presente invenção. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os íons metálicos e suas aplicações. Em algumas modalidades, o íon metálico pode ser selecionado a partir do grupo que compreende Tc-99m, Cu-60, Cu-61, Cu-62, Cu-67, Em-111, Tl-201, Ga-67, Ga-68, As-72, Re-186, Re-187, Re-188, Ho-166, Y-90, Sm-153, Sr-89, Gd-157, Bi-212, Bi-213, Fe-56, Mn-55, Lu-177, um íon ferro ion, um íon arsênico, um íon selênio, um íon tálio, um íon manganês, um íon cobalto, um íon platina, um íon rênio ion, um íon cálcio e um íon ródio. Por exemplo, o íon metálico pode ser um radionuclídeo. Um radionuclídeo é um isótopo de origem artificial ou natural que apresenta radioatividade. Em algumas modalidades, o radionuclídeo é selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{188}Re , ^{186}Re , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{148}Gd , ^{55}Fe , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{45}Ti , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{67}Cu , e ^{64}Cu . Em modalidades preferidas, o íon metálico é rênio ou um radionuclídeo tal como ^{99m}Tc , ^{188}Re , ou ^{68}Ga . Como descrito adiante, um agente redutor pode necessitar acompanhar um dos radionuclídeos, tal como ^{99m}Tc . Exemplos não limitantes de tais agentes redutores incluem um íon dititionita, um íon estanoso e um íon ferroso.

Devido às melhores características de imagiologia e mais baixo preço, têm sido feitas tentativas para substituir os compostos marcados com ^{123}I , ^{131}I , ^{67}Ga e ^{111}In com os correspondentes compostos marcados com ^{99m}Tc quando possível. Devido às mais favoráveis características físicas bem como de preço extremamente baixos (\$0,21/mCi), o ^{99m}Tc tem sido preferido para marcar rádio-farmacêuticos.

Um número de fatores precisa ser considerado para a ótima rádio-imagiologia em hormônios. Para maximizar a eficiência de detecção, um íon metálico que emite energia gama na faixa de 100 a 200 keV é preferido. Um "emissor gama" é aqui definido como um agente que emite energia gama de qualquer faixa. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os diversos íons metálicos que são emissores gama. Para minimizar a dose de radiação absorvida ao paciente, a meia-vida física do radionuclídeo deve ser tão curta quanto o procedimento de imagiologia possa permitir. Para permitir aos exames serem realizados em qualquer dia e a qualquer momento do dia, é vantajoso ter uma fonte do radionuclídeo sempre disponível no local clínico. O ^{99m}Tc é um radionuclídeo preferido porque ele emite radiação gama a 140 keV, ele tem uma meia-vida física de 6 horas, e ele é facilmente disponível no local usando um gerador molibdênio-99/tecnécio-99m. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com métodos para determinar a rádio-imagiologia em humanos.

Em certas modalidades particulares da presente invenção, o íon metálico é um íon

metálico terapêutico. Por exemplo, em algumas modalidades, o íon metálico é um radionuclídeo terapêutico que é um beta-emissor. Como definido aqui, um beta-emissor é qualquer agente que emite energia beta de qualquer faixa. Exemplos de beta-emissores incluem Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90, Bi-212, Bi-213, e Sn-153. os beta-emissores podem ser ou não gama-emissores. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com o uso de beta-emissores no tratamento de doença hiperproliferativa, tal como câncer.

Em modalidades adicionais das composições da presente invenção, o íon metálico é um íon metálico terapêutico que não é um beta-emissor ou um gama-emissor. Por exemplo, o íon metálico terapêutico pode ser platina, cobalto, cobre, arsênico, selênio, cálcio ou tálio. Composições incluindo esses íons metálicos terapêuticos podem ser aplicadas nos métodos direcionados ao tratamento de doenças tal como doença hiperproliferativas, doença cardiovascular, infecções, e inflamação. Exemplos de doença hiperproliferativas incluem cânceres. Métodos de realizar a dual quimioterapia e terapia de radiação que envolvem as composições da presente invenção são discutidos em mais detalhes adiante.

D. Ligandos direcionais

Um “ligando direcional” é definido aqui ser uma molécula ou parte de uma molécula que se liga com especificidade a uma outra molécula. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os numerosos agentes que podem ser empregados como ligandos direcionais no contexto da presente invenção.

Exemplos de ligandos direcionais incluem compostos direcionados a uma doença do ciclo celular, ligandos direcionais que têm por alvo a angiogênese, ligandos direcionais que têm por alvo a apoptose do tumor, ligandos direcionais que têm por alvo um receptor da doença, marcadores da expressão genética, ligandos baseados em fármacos, antimicrobianos, ligandos direcionais que têm por alvo a hipoxia do tumor, uma molécula anti-sentido, um agente que imita glicose, amifostina, angiostatina, ligandos a receptor de EGF, capecitabina, inibidores de COX-2, desoxítidina, fulereno, herceptina, albumina de soro humano, lactose, hormônio luteinizante, piridoxal, quinazolina, talidomida, transferrina, e trimetil lisina.

Em modalidades adicionais da presente invenção, o ligando direcional é um anticorpo. Qualquer anticorpo é contemplado como um ligando direcional no contexto da presente invenção. Por exemplo, o anticorpo pode ser um anticorpo monoclonal. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com anticorpos monoclonais, métodos de preparação de anticorpos monoclonais, e métodos de uso dos anticorpos monoclonais como ligandos. Em certas modalidades da presente invenção, o anticorpo monoclonal é um anticorpo direcionado contra um marcador de tumor. Em algumas modalidades, o anticorpo monoclonal é um anticorpo monoclonal C225, anticorpo

monoclonal CD31, ou anticorpo monoclonal CD40.

Um único ligando direcional, ou mais que um tal ligando direcional, pode ser conjugado a um agente quelante da presente invenção. Nessas modalidades, qualquer número de ligandos direcionais pode ser conjugado aos agentes quelantes aqui apresentados. Em certas modalidades, um conjugado da presente invenção pode compreender um único ligando direcional. Em outras modalidades, um conjugado pode compreender apenas dois ligandos direcionais. Em modalidades adicionais, um ligando direcional pode compreender três ou mais ligandos direcionais. Em qualquer situação onde um conjugado compreende dois ou mais ligandos direcionais, os ligandos direcionais podem ser iguais ou diferentes.

Os ligandos direcionais pode estar unidos ao agente quelante em qualquer modo, incluindo por exemplo ligações covalentes, ligações iônicas e ligações hidrogênio. Por exemplo, o ligando direcional pode estar unido ao agente quelante numa ligação amida, uma ligação éster, ou uma ligação carbono-carbono de qualquer comprimento. Se dois ou mais ligandos direcionais estão ligados a um agente quelante, os modos de ligação podem ser iguais ou diferentes. Em outras modalidades, a ligação compreende um ligador. Exemplos não limitantes de tais ligadores incluem peptídeos, ácido glutâmico, ácido aspártico, etilacetato de bromo, etileno diamina, lisina e qualquer combinação de um ou mais desses grupos. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com a química desses agentes, e métodos para conjugar esses agentes como ligandos aos agentes quelantes da invenção reivindicada. Métodos de síntese dos compostos da presente invenção, incluindo modos de conjugação, são discutidos em detalhes adiante.

Informação relacionada aos ligandos direcionais e conjugação com compostos é provida na Patente U.S. No. 6.692.724, Pedido de Patente U.S. No. 09/599.152, Pedido de Patente U.S. No. de Série 10/627.763, Pedido de Patente U.S. No. de Série 10/672.142, Pedido de Patente U.S. No. de Série 10/703.405, e Pedido de Patente U.S. No. de Série 10/732.919, cada um dos quais é aqui especificamente incorporado por referência em suas totalidades para essa seção da especificação e todas as outras seções da especificação.

Em algumas modalidades das composições da presente invenção, o ligando direcional é um ligando tecido-específico, que é conjugado ao agente quelante. Um "ligando tecido-específico" é definido aqui referir a uma molécula ou uma parte de uma molécula que pode ser ligar ou anexar a um ou mais tecidos. A ligação pode ser através de qualquer mecanismo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos incluem agentes terapêuticos, antimetabolitos, agentes apoptóticos, agentes bio-redutores, agentes terapêuticos transdutores de sinal, agentes receptores responsivos, ou agentes específicos do ciclo celular. O tecido pode ser qualquer tipo de tecido, tal como uma célula. Por exemplo, a célula pode ser uma célula de um indivíduo, tal como a célula de câncer. Em certas

modalidades, o ligando tecido-direcional é uma sequência aminoácido que tem por alvo um tecido que está conjugada a um agente quelante que é capaz de se ligar a um íon metálico.

Representative exemplos de ligandos direcionais são discutidos adiante.

1. Fármacos

Em algumas modalidades das composições da presente invenção, um ligando direcional é um fármaco, ou “ligando terapêutico”, que é definido aqui referir a qualquer agente terapêutico. Um “agente terapêutico” ou “fármaco” é definido aqui incluir qualquer composto ou substância que pode ser administrado a um indivíduo, ou contatado com uma célula ou tecido, par o proposito de tratar uma doença ou distúrbio, ou de prevenir uma doença ou distúrbio, ou tratar ou prevenir uma alteração ou ruptura de um processo fisiológico normal. Por exemplo, o ligando terapêutico pode ser uma fração anticâncer, tal como um agente quimioterápico. Em certas modalidades da presente invenção, o ligando terapêutico é uma sequência aminoácido terapêutica que é conjugada à sequência aminoácido terapêutica. Tais conjugados são discutidos adiante em outras partes dessa especificação.

a. Agentes quimioterápicos

Exemplos de ligandos anticâncer incluem qualquer agente quimioterápico conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos de tais agentes quimioterápicos incluem, mas não estão limitados a, cisplatina (CDDP), carboplatina, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, camptotecina, ifosfamida, melfalan, clorambucil, busulfan, nitrosurea, dactinomicina, daunorubicina, Doxorubicina, bleomicina, plicomicina, mitomicina, etoposida (VP16), tamoxifen, raloxifeno, agentes ligantes a receptor estrogênio, taxol, gemcitabina, navelbina, inibidores farnesil-proteína transferase, transplatinum, 5-fluorouracil, vincristin, vinblastina e metotrexato, ou qualquer análogo ou variante derivada dos até o momento mencionados. Em certas modalidades particulares, o ligando anticâncer é metotrexato.

Uma ampla variedade de agentes quimioterápicos pode ser usada de acordo com a presente invenção. O termo “quimioterapia” se refere ao uso de fármacos para tratar câncer. Um “agente quimioterápico” é usado para conotar um composto ou composição que é administrada no tratamento de câncer. Esses agentes ou fármacos são categorizados pelos seus modos de atividade dentro de uma célula, por exemplo, se e em qual estágio eles afetam o ciclo celular. Alternativamente, um agente pode ser caracterizado com base em sua capacidade de reticular diretamente DNA, intercalar no DNA, ou induzir aberrações cromossômicas e mitóticas mediante afetar a síntese de ácido nucléico. A maioria dos agentes quimioterápicos se inserem nas categorias seguintes: agentes de alquilação, antimetabolitos, antibióticos anti-tumor, inibidores mitóticos, e nitrosuréis.

Exemplos de agentes quimioterápicos incluem agentes de alquilação tal como

tiotepa e ciclosfosfamida; sulfonatos de alquila tal como busulfan, improsulfan e piposulfan; aziridinas tal como benzodopa, carboquone, meturedopa, e uredopa; etileniminas e metilmelaminas incluindo altretamina, trietilenomelamina, trietilenefosforamida, trietilenotiofosforamida e trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacin e bulatacinona); a camptotecina (incluindo o análogo sintético topotecan); bryostatin; calistatin; CC-1065 (incluindo seus análogos sintéticos arzelesina e bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 e criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluindo os análogos sintéticos, KW-2189 e CB1-TM1); eleuterobin; pancratistatin; a sarcodictyin; spongistatin; mostardas nitrogênio tal como clorambucila, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, cloridrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichin, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostarda uracila ; nitrosuréis tal como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, e ranimustine; antibióticos tal como os antibióticos enedina (por exemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicin gamall e calicheamicin omegall; dynemicina, incluindo dynemicin A); bisfosfonatos, tal como clodronato; um esperamicin; bem como cromóforo neocarzinostatina e correlatos antibióticos cromoprotein enediyne cromóforos, aclacinomisins, actinomicina, authrarnicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinophilina, cromomicinis, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-1-norleucina, doxorubicina (incluindo morfolino-Doxorubicina, cianomorfolino-Doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina e desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tal como mitomicin C, ácido micofenólico, nogalarnicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrin, estreptozocina, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; anti-metabolitos tal como metotrexato e 5-fluorouracila (5-FU); análogos ácido fólico tal como denopterin, metotrexato, pteropterin, trimetrexato; análogos purina tal como fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanine; análogos pirimidina tal como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; androgênios tal como calusterone, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; anti-adrenais tal como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; repositores de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamida glicosida; ácido aminolevulínico; eniluracil; amsacrine; bestabucil; bisantrene; edatraxate; defofamine; demecolcine; diaziquone; elformitina; acetato de eliptinum; uma epotilona; etoglucid; nitrato de gálio; hidroxiuréia; lentinan; lonidainine; maytansinóides tal como maytansina e ansamitocinas; mitoguazone; mitoxantrone; mopidanmol; nitraerine; pentostatin; fenamet; pirarubicin; losoxantrone; ácido podofilínico; 2-etilidrazida; procarbazine; PSK (polissacarídeo complexo); razoxane; rizoxin; sizofiran; spirogermanium; ácido tenuazônico; triaziquona; 2,2',2''-triclortrietilamine; tricotecenos (especialmente T-2 toxin, verracurin A,

roridin A e anguidine); uretan; vindesine; dacarbazine; mannomustine; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosine; arabinosida ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxóides, por exemplo, paclitaxel e doxetaxel; clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanine; mercaptopurina; metotrexato; complexos de coordenação platina tal como cisplatina, oxaliplatina e carboplatina; vinblastine; platina; etoposida (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; novantrona; teniposida; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronate; irinotecan (por exemplo, CPT-11); inibidor topoisomerase RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinóides tal como ácido retinóico; capecitabina; e sais, ácidos ou derivados farmacologicamente aceitáveis de qualquer dos acima.

Também incluso nessa definição estão agentes anti-hormonais que atuam para regular ou inibir a ação hormonal sobre tumores tal como anti-estrogênicos e moduladores seletivos de receptor estrogênio (SERMs), incluindo, por exemplo, tamoxifeno, raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristone, e toremifene; inibidores aromatase que inibem a enzima aromatase, que regula a produção de estrogênio nas glândulas adrenais, tal como, por exemplo, 4(5)-imidazóis, aminoglutetimida, acetato de megestrol, exemestane, formestane, fadrozol, vorozol, letrozol, e anastrozole; e anti-androgens tal como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, e goserelin; bem como troxacitabina (um análogo 1,3-dioxolano nucleosídeo citosina); oligonucleotídeos anti-sentido, particularmente aqueles que inibem a expressão dos genes em rotas de sinalização implicadas na proliferação celular anormal, tal como, por exemplo, PKC-alfa, Ralf e H-Ras; ribozimas tal como um inibidor do vetor de expressão VEGF e inibidor da expressão de HER2; vacinas tal como vacinas de terapia genética e sais, ácidos ou derivados farmacologicamente aceitáveis de qualquer dos acima mencionados.

Exemplos adicionais de agentes anticâncer incluem aqueles fármacos de escolha para a quimioterapia do câncer listados na Tabela 1:

TABELA 1

Fármacos de Escolha para a Quimioterapia do Câncer

As tabelas apresentadas adiante listam fármacos usados para o tratamento de câncer nos EUA e Canadá e seus principais efeitos adversos. A listagem dos Fármacos de Escolha é com base nas opiniões de Consultores da Medical Letter. Alguns dos fármacos estão listados para indicações para as quais eles não foram aprovados pelo FDA Norte Americano. Fármacos anti-câncer fármacos e seus efeitos adversos se apresentam adiante. Para propósitos da presente invenção, essas listagens são significadas serem meramente representativas e não completas.

FÁRMACOS DE ESCOLHA

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Adrenocortical**	Mitotane	Doxorubicina,

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
	Cisplatin	streptozocina, etoposida
Bexiga*	Local: Instilação de BCG	Instilação de
	Sistêmico: Metotrexato + vinblastina + doxorubicina + cisplatina (MVAC)	mitomicina, doxorubicina ou tiotape
	Cisplatina + Metotrexato + vinblastina (CMV)	Pacitaxel, substituição de carboplatina para cisplatina nas combinações
Cérebro		
Anaplástico astrocitoma*	Procarbazina + lomustina + vincristine	Carmustina, Cisplatin
Anaplástico oligodendro-	Procarbazina + lomustina + vincristine	Carmustina, Cisplatin
Glioma*		
Glioblastoma**	Carmustina ou lomustine	Procarbazina,
Meduloblastoma	Vincristina + carmustina ± mecloretamina ± metotrexato	cisplatin Etoposida
	Mechioretamina + vincristina + procarbazina + prednisona (MOPP)	
	Vincristina + cisplatina ± ciclofosfamida	
Linfoma primário do sistema nervoso central	Metotrexato (high dose Intravenous e/ou Intratecal) ± citarabina (Intravenous e/ou Intratecal)	
	Ciclofosfamida + Doxorubicina + vincristina + prednisona (CHOP)	
Mama	Adjuvante1: Ciclofosfamida +	

* Quimioterapia tem apenas uma atividade moderada.

** Quimioterapia tem apenas atividade menor.

¹ Tamoxifen com ou sem quimioterapia é geralmente recomendado para pacientes modo positivo, positivo estrogênio-receptor pós-menopáusico, e quimioterapia com ou sem tamoxifen para pacientes pós-menopáusico modo positivo. Tratamento auxiliar com quimioterapia e/ou tamoxifen é recomendado para pacientes modo negativo com tumores maiores ou outros indicadores de prognósticos adversos.

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
	metotrexato + fluorouracila (CMF); Ciclofosfamida + Doxorubicina ± fluorouracila (AC ou CAF); Tamoxifen Metastásico: Ciclofosfamida + metho-trexate + fluorouracila (CMF) ou Ciclofosfamida + doxorubicina ± fluorouracila (AC ou CAF) para receptor-negativo e/ou hormônio-refratário; Tamoxifen for receptor-positive e/ou hormone-sensitive ²	Paclitaxel; tiotepa + Doxorubicina + vinblastine; mitomicin + vinblastine; mitomicin + metotrexato + mitoxantrone; fluorouracila através de infusão contínua; Transplante de medula óssea ³
Cervix**	Cisplatin Ifosfamida com meios Bleomicin + ifosfamida com meios + cisplatin	Clorambucila, vincristina, fluorouracila, Doxorubicina, metotrexato, altretamine
Coriocarcinoma	Metotrexato ± leucovorin Dactinomicin	Metotrexato + dactinomicin + ciclofosfamida (MAC) Etoposida + metotrexato + dactinomicin + ciclofosfamida + vincristine
Colo-retal*	Adjuvante cólon ⁴ : Fluorouracila + levamisole; fluorouracila +	Hepatic metastases: Intrahepatic-arterial

² Megastrol e outros agentes hormonais podem ser eficazes em alguns pacientes com falhas tamoxifen.

³ Após quimioterapia de alta dosagem (Medical Letter, 34:79, 1982).

⁴ Tratamento adjuvante pós-operatório para câncer retal com fluorouracila mais radiação, precedido e seguido por tratamento com fluoruracila sozinho.

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
	leucovorin	floxuridina
	Metastatic: fluorouracila + leucovorin	Mitomycin
Embryonal rhabdomiosarcoma ⁵	Vincristina + dactinomycin ± ciclofosfamida	O mesmo + Doxorubicina
	Vincristina + ifosfamida com meios + etoposida	
Endometrial ^{**}	Megastrol ou another progestin	fluorouracila,
	Doxorubicina + cisplatina ± ciclofosfamida	tamoxifen,
Esophageal [*]	Cisplatina + fluorouracil	altretamine
		Doxorubicina,
		metotrexato,
		mitomycin
Ewing's sarcoma ⁵	Ciclofosfamida (ou ifosfamida com meios) + Doxorubicina + vincristina (CAV) ± dactinomycin	CAV + etoposida
Gastric ^{**}	Fluorouracila ± leucovorin	Cisplatin,
		Doxorubicina,
		etoposida,
		metotrexato +
		leucovorin, mitomycin
Célula escamosa cabeça e pescoço [*]	Cisplatina + fluorouracil	Bleomicina,
	Metotrexato	carboplatin,
		paclitaxel
Célula ilhota ^{**}	Streptozocin + Doxorubicina	Streptozocin +
		fluorouracil;
		clorozotocin [†] ;
		octreotide
Sarcoma de Kaposi [*] (relacionado com Aids)	Etoposida ou interferon alfa ou vinblastine	Vincristina,
	Doxorubicina + bleomicin + vincristina ou vinblastina (ABV)	Doxorubicina,
		bleomicin
Leucemia		

⁵ Fármacos possuem atividade principal apenas quando combinados com ressecção cirúrgica, radioterapia ou ambos.

[†] Disponível nos EUA apenas para uso em pesquisa.

Câncer		Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Leucemia aguda (ALL) ⁶	linfocítica	Indução: Vincristina + prednisona + asparaginase ± daunorubicin CNS prophylaxis: Intratecal metotrexato ± systemic alta dose metotrexato com leucovorin ± Intratecal citarabina ± Intratecal hidrocortisone Maintenance: Metotrexato + mercapto-purine Transplante de medula óssea, ³ 7	Indução: igual ± alta dose metotrexato ± citarabine; pegaspargase em lugar de asparaginase Teniposide ou etoposida Alta dose citarabine Maintenance: same + periodic vincristina + prednisona
Leucemia aguda (AML) ⁸	mielóide	Induction: Citarabina + either daunorubicin ou idarubicin Post Induction: Alta dose citarabina ± other fármacos tal como etoposida Transplante de medula óssea ³ .	Citarabina + mitoxentrone Alta dose citarabine
Leucemia Crônica (CLL)	Linfocítica	Clorambucila ± prednisona Fludarabin	Cladribina, ciclofosfamida, pentostatin, vincristina, Doxorubicina
Leucemia crônica (CML) ⁹	mielóide		

⁶ Pacientes de alto risco (por exemplo, altas contagens, anormalidades citogênicas, adultos) pode requerer fármacos adicionais para indução, manutenção e "intensificação" (uso de fármacos adicionais após obtenção da remissão). Fármacos adicionais incluem, ciclofosfamida, mitoxantrone e thioguanine. Os resultados de um grande ensaio controlado no Reino Unido sugere que a intensificação pode melhorar a sobrevivência em todas as crianças com ALL (Chasselle *et al*, 1995).

⁷ Pacientes com pobres prognósticos inicialmente ou aqueles que tiveram recidiva após remissão.

⁸ Alguns pacientes com leucemia promielocítica aguda têm dado respostas completas a tratinoína. Tal tratamento pode induzir uma síndrome tóxica caracterizada primariamente por febre e agonia respiratória (Warrell, Jr *et al*, 1993).

⁹ Transplante de medula óssea de gêmeos idênticos Alogeneicos HLA pode curar de 40% a 70% dos pacientes com CML em fase crônica, 18% a 28% dos pacientes com CML de fase acelerada, e < 15% pacientes em crise explosiva. A sobrevivência livre da doença após o transplante de medula óssea influenciou adversamente os com idade >50 anos, a duração da doença >3 anos a partir do diagnóstico, e uso de um antígeno não compatível ou doador de medula óssea não aparentados compatíveis. O Interferon também pode ser curativo em pacientes com CML de fase crônica que conseguem uma completa resposta citogênica (cerca de 10%); ele é o tratamento de escolha para pacientes com >80 anos de idade com CML de fase crônica recém diagnosticado e para a totali-

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Fase crônica	Transplante de medula óssea ³	Busulfan
	Interferon alfa	
	Hidroxiuréia	
Acelerada ¹⁰	Transplante de medula óssea ³	Hidroxiures, busulfan
Crise Explosiva ¹¹	Linfóide: Vincristina + prednisona + L-asparaginase + intratecal metotrexato (± manutenção intenance com metotrexato + 8- mercaptopurine)	Tretinoln† Amsecrina, † azacitidine Vincristina ± plicamicin
Leucemia de célula pilosa	Pentostatina ou cladribine	Interferon alfa, clorambucilila, fludarabin
Fígado**	Doxorubicina Fluorouracil	Intrahepatic-arterial floxuridina ou claplatin
Pulmão, small célula (célula felina)	Cisplatina + etoposida (PE) Ciclofosfamida + doxorubicina + vincristina (CAV) PE alternated com CAV Ciclofosfamida + etoposida + cisplatina (CEP) Doxorubicina + ciclofosfamida + etoposida (ACE)	Ifosfamida com meios + carboplatina + etoposida (ICE) Daily oral etoposida Etoposida + ifosfamida com meios + claplatina (VIP Paclitaxel
Pulmão (célula não pequena) **	Cisplatina + etoposida Cisplatina + Vinblastina ± mitomicin Cisplatina + vincristina	Cisplatina + fluorouracila + leucovorin Carboplatina + paclitaxel
Linfomas de		

dade dos pacientes que não sejam candidatos para todos os transplantes alogeneicos de medula óssea. A quimioterapia sozinha é paliativa.

¹⁰ Se uma segunda fase é conseguida com qualquer dessas combinações, transplante alogeneico de medula óssea deve ser considerado. O transplante de medula óssea em fase crônica pode ser curativo para 30% a 35% de pacientes com CML.

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Hodgkin ¹¹	Doxorubicina + bleomicin + vinblastina + dacarbazina (ABVD) ABVD alternado com MOPP Mecloretamina + vincristina + procarbazina (± prednisona) + doxorubicina + bleomicin + vinblastina (MOP[P]-ABV)	Mecloretamina + vincristina + procarbazina + prednisona (MOPP) Clorambusil + vinblastina + procarbazina + prednisona ± carmustine Etoposida + vinblastina + doxorubicina Transplante de medula óssea ³
Linfoma não-Hodgkin de Burkitt	Ciclofosfamida + vincristina + metotrexato Ciclofosfamida + alta dose citarabina ± metotrexato com leutovorin Intratecal metotrexato ou citarabine	Ifosfamida com meios Ciclofosfamida + doxorubicina + vincristina + prednisona (CHOP)
Linfoma difuso de célula grande	Ciclofosfamida + doxorubicina + vincristina + prednisona (CHOP)	Dexametasone algumas vezes é substituto para prednisona Other combinação regimens, que podem incluir metotrexato, etoposida, citarabina, bleomicina, procarbazina,

¹¹ Doença de Hodgkin em estágio limitado (estágios 1 e 2) é curável por radioterapia. Doença disseminada (estágios 3b e 4) requer quimioterapia. Alguns estágios intermediários e situações clínicas selecionadas podem se beneficiar de ambos.

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
		ifosfamida e mitoxantrone Transplante de medula óssea ³
Linfoma Folicular	Ciclofosfamida ou clorambusil	Same ± vincristina e prednisona, ± etoposida Interferon alfa, cladribina, fludarabin Transplante de medula óssea ³ Ciclofosfamida + doxorubicina + vincristina + prednisona (CHOP)
Melanoma**	Interferon Alfa Dacarbazine	Carmustina, lomustina, cisplatina Dacarbazina + clapletina + carmustina + tamoxifen Aldesleuquin
Micoses fungóides*	PUVA (psoralen + ultraviolet A) Mecloretamina (topical) Interferon alfa Electron beam radioterapia Metotrexato	Isotretinoin, topical carmustina, pentosistina, fludarabin, cladribina, photoferesis (extra- corporeal photochemotherapy), quimioterapia como em linfoma não Hodgkin
Myeloma*	Melfalan (ou ciclofosfamida) + prednisona Melfalan + carmustina +	Interferon alfa Transplante de medula óssea ³

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Neuroblastoma*	ciclofosfamida + prednisona + vincristina	Alta dose dexametasone
	Dexametasone + doxorubicina + vincristina (VAD)	
	Vincristina + carmustina + doxorubicina + prednisona (VBAP)	
	Doxorubicina + ciclofosfamida + cisplatina + teniposide ou etoposida	Carboplatin, etoposida
	doxorubicina + ciclofosfamida Claplatina + ciclofosfamida	Transplante de medula óssea3
Sarcoma osteogênico5	Doxorubicina + cisplatina + etoposida + ifosfamida	Ifosfamida com meios, etoposida, carboplatin, alta dose metotrexato com leucovorin Ciclofosfamida + etoposida
Ovário	Cisplatina (ou carboplatin) + paclitaxel Cisplatina (ou carboplatin) + ciclofosfamida (CP) + doxorubicina (CAP)	Ifosfamida com meios, paclitaxel , tamoxifen, melfalan, altretamine
Pancreático **	Fluorouracila + leucovorin	
Próstata	Leuprolide + flutamide	Estramustina + vinblastina, aminoglutetimida + hidrocortisone, estramustina + etoposida, dietilstilbestrol, nilutamida
Renal **	Aldesleuquin Inteferon alfa	Vinblastina, floxuridina

Câncer	Fármacos de escolha	Algumas alternativas
Retinoblastoma ^{5*}	Doxorubicina + ciclofosfamida + cisplatina + etoposida + vincristine	Carboplatin, etoposida, Ifosfamida com meios
Sarcomas, tecido mole, adulto *	Doxorubicina + dacarbazina + ciclofosfamida + Ifosfamida com meios	Mitornyel + doxorubicina + cisplatin Vincristina, etoposida
Testicular	Cisplatina + etoposida + bleomicin (PEB)	Vinblastina (ou etoposida) + Ifosfamida com meios + cisplatina (VIP) Transplante de medula óssea ³
Tumor de Wilms ⁵	Dactinomycin + vincristina + doxorubicina + ciclofosfamida	Ifosfamida com meios, etoposida, carboplatin

+ Disponíveis no EUA apenas para uso em pesquisas.

b. Fármacos cardiovasculares

Um “fármaco cardiovascular” é definido aqui referir a qualquer agente terapêutico que pode ser aplicado no tratamento ou prevenção de uma doença do coração e/ou vasos sanguíneos.

Em certas modalidades, o fármaco de uso cardiovascular é um agente que rebaixa a concentração de um ou mais lipídios e/ou lipoproteínas do sangue, conhecido aqui como um “anti-hiperlipoproteinêmico”, que pode ser aplicado no tratamento de aterosclerose, e espessamentos ou bloqueios de tecidos vasculares. Os exemplos incluem um derivado de ácido ariloxialcanóico/fíbrico, um sequestrante ácido resinas/bile, um inibidor HMG CoA redutase, um derivado ácido nicotínico, um hormônio tireóide ou análogo hormônio tireóide, um agente misto, ou uma combinação desses mencionados. Exemplos não limitantes de derivados de ácido ariloxialcanóico/fíbrico incluem beclobrato, enzafibrato, binifibrato, ciprofibrato, clinofibrato, clofibrate (atromide-S), ácido clofíbrico, etofibrato, fenofibrato, gemfibrozil (lobid), nicofibrato, pirifibrato, ronifibrato, simfibrato e teofibrato. Exemplos não limitantes de sequestrantes ácido resinas/bile incluem colestiramina (colibar, questran), colestipol (colestid) e polidexida. Exemplos não limitantes de inibidores HMG CoA redutase

incluem lovastatina (mevacor), pravastatina (pravochol) ou simvastatina (zocor). Exemplos não limitantes de derivados ácido nicotínico incluem nicotinato, acepimox, niceritrol, nicoclonato, nicomol e ácido oxiniacínico. Exemplos não limitantes de hormônios tereóide e seus análogos incluem etoroxato, ácido tiprópico e tiroxina. Exemplos não limitantes de anti-
 5 hiperlipoproteinemicos mistos incluem acifran, azacosterol, benfluorex, β -benzalbutiramida, carnitina, sulfato de condroitina, clomestrona, detaxtran, sulfato sódico de dextrano, ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico, eritadenina, furazabol, meglutol, melinamida, mitatrienediol, ornitina, γ -oryzanol, pantetina, pentaerithritol tetraacetato, α -fenilbutiramida, pirozadila, probucol (lorelco), β -sitosterol, sal de ácido sultosílico-piperazina, tiadenol, triparanol e
 10 xenbucin.

Exemplos não limitantes de um antiarteriosclerótico incluem carbamato de piridinol.

Em certas modalidades, o fármaco de uso cardiovascular é um agente que ajuda na remoção ou prevenção de coágulos sanguíneos. Exemplos não limitantes de agentes antitrombóticos e/ou fibrinolíticos incluem anticoagulantes, antagonistas de anticoagulantes,
 15 agentes antiplaquetários, agentes trombolíticos, antagonistas de agentes trombolíticos, ou combinações desses mencionados. Exemplos de agentes antitrombóticos incluem aspirina e wafarina (coumadina). Exemplos de anticoagulantes incluem acenocoumarol, ancrod, anisindiona, bromindiona, clorindiona, coumetarol, ciclocoumarol, sulfato sódico de dextrano, dicoumarol, difenadiona, biscoumacetato de etila, etilideno dicoumarol, fluidindiona, heparina,
 20 hirudina, liapolato sódico, oxazidiona, polisulfato de pentosan, fenindiona, fenprocoumon, fosvitin, picotamida, tiocloamarol e warfarina. Exemplos não limitantes de agentes antiplaquetários incluem aspirina, um dextrano, dipiridamol (persantin), heparina, sulfipiranona (anturano) e ticlopidina (ticlid). Exemplos não limitantes de agentes trombolíticos incluem ativador plasminogênio tecidual (activase), plasmin, pro-uroquinase,
 25 uroquinase (abboquinase) streptoquinase (streptase), anistreplase/APSAC (eminase).

Em algumas modalidades, o fármaco de uso cardiovascular é um coagulante do sangue. Exemplos não limitantes de um agente promotor da coagulação do sangue incluem antagonistas de agente trombolítico e antagonistas de anticoagulantes. Exemplos não limitantes de antagonistas de anticoagulantes incluem protamina e vitamina K1.

Exemplos não limitantes de antagonistas de agente trombolítico incluem ácido aminocapróico (amicar) e ácido tranexâmico (amstat). Exemplos não limitantes de antitrombóticos incluem anagrelida, argatroban, cilstazol, daltroban, defibrotida, enoxaparina, fraxiparina, indobufen, lamoparan, ozagrel, picotamida, plafibrida, tedelparin, ticlopidina e triflusal.

O fármaco de uso cardiovascular pode ser um agente antiarrítmico. Exemplos não limitantes de agentes antiarrítmicos incluem agentes antiarrítmicos Classe I (bloqueadores do canal sódio), agentes antiarrítmicos Classe II (bloqueadores beta-adrenérgicos), agentes

antiarrítmicos Classe III (fármacos prolongadores da repolarização), agentes antiarrítmicos Classe Classe IV (bloqueadores do canal cálcio) e agentes antiarrítmicos mistos. Exemplos não limitantes de bloqueadores do canal sódio incluem agentes antiarrítmicos Classe IA, Classe IB e Classe IC. Exemplos não limitantes de agentes antiarrítmicos Classe IA incluem

5 disppiramida (norpace), procainamida (pronestil) e quinidina (quinidex). Exemplos não limitantes de agentes antiarrítmicos Classe IB incluem lidocaina (xilocaina), tocainida (tonocard) e mexiletina (mexitil). Exemplos não limitantes de agentes antiarrítmicos Classe IC incluem encainida (enkaid) e flecainide (tambocor). Exemplos não limitantes de um bloqueador beta, de outro modo conhecido como um bloqueador β -adrenérgico, um

10 antagonista β -adrenérgico ou um agente antiarrítmico Classe II, incluem acebutolol (sectral), alprenolol, amosulalol, arotinolol, atenolol, befunolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, bucumolol, bufetolol, bufuralol, bunitrolol, bupranolol, butidrina hidrocloreto, butofilolol, carazolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, cetamolol, cloranolol, dilevalol, epanolol, esmolol (brevibloc), indenolol, labetalol, levobunolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol,

15 moprolol, nadolol, nadoxolol, nifenalol, nipradilol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, practolol, pronetalol, propanolol (inalon), sotalol (betapace), sulfinalol, talinolol, tertatolol, timolol, toliprolol e xibinolol. Em certos aspectos, o bloqueador beta compreende um derivado ariloxipropanolamina. Exemplos não limitantes de derivados ariloxipropanolamina incluem acebutolol, alprenolol, arotinolol, atenolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol,

20 bunitrolol, butofilolol, carazolol, carteolol, carvedilol, celiprolol, cetamolol, epanolol, indenolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol, moprolol, nadolol, nipradilol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propanolol, talinolol, tertatolol, timolol e toliprolol. Exemplos não limitantes de um agente que prolonga a repolarização, também known como um agente antiarrítmico Classe III, incluem amiodarona (cordum bloqueador do canal cálcio, de outro modo conhecido como

25 um agente antiarrítmico Classe IV, incluem uma arilalquilamina (por exemplo, bepridila, diltiazem, fendilina, gallopamil, nifedipina, terodilina, verapamil), um derivado dihidropiridina (felodipina, isradipina, nicardipina, nifedipina, nimodipina, nisoldipina, nitrendipina), um derivado piperazina (por exemplo, cinnarizina, flunarizina, lidoflazine) ou um bloqueador do canal cálcio misto tal como benciclane, etafenone, magnésio, mibefradil

30 ou perhexiline. Em certas modalidades um bloqueador do canal cálcio compreende um antagonista cálcio diidropiridina de ação prolongada (tipo nifedipina). Exemplos não limitantes de agentes antiarrítmicos mistos incluem adenosina (adenocard), digoxin (lanoxin), acecainida, ajmalina, amoproxan, aprindina, bretilium tosilato, bunaftina, butobendina, ácido capogênico, cinfelina, disopiranida, hidroquinidina, indecainida, brometo

35 de ipatrópio, lidocaína, lorajmina, lorcainida meobentina, moricizina, pirmenol, prajmalina, propafenona pirinolina, poligalacturonato de quinidina, sulfato de quinidina e viquidila.

Outros exemplos de fármacos cardiovasculares incluem agentes anti-hipertensivos.

Exemplos não limitantes de agentes anti-hipertensivos incluem bloqueadores alfa/beta, simpatolíticos, agentes anti-angiotensina II, beta bloqueadores, bloqueadores do canal cálcio, vasodilatadores e anti-hipertensivos mistos. Exemplos não limitantes de um bloqueador alfa, também conhecido como bloqueador α -adrenérgico ou de um antagonista α -adrenérgico, incluem amosulalol, arotinolol, dapiprazol, doxazosina, mesilatos ergolóides, fenspirida, indoramin, labetalol, nicergolina, prazosina, terazosina, tolazolina, trimazosin e yohimbine. Em certas modalidades, um bloqueador alfa pode compreender um derivado quinazolina. Exemplos não limitantes de quinazolina derivatives incluem alfuzosina, bunazosina, doxazosina, prazosina, terazosin e trimazosin. Em certas modalidades, um agente anti-hipertensivo é tanto um antagonista alfa e beta adrenérico. Exemplos não limitantes de um bloqueador alfa/beta comprise labetalol (normodyne, trandate). Exemplos não limitantes de agentes anti-angiotensão II incluem inibidores da enzima de conversão angiotensina e antagonistas de receptor angiotensão II. Exemplos não limitantes de inibidores de enzima de conversão angiotensão (inibidores ACE) incluem alacepril, enalapril (vasotec), captopril, cilazapril, delapril, enalaprilat, fosinopril, lisinopril, moveltopril, perindopril, quinapril e ramipril. Exemplos não limitantes de um bloqueador de receptor angiotensina II, também conhecido como um antagonista de receptor de angiotensão II, um bloqueador de receptor ANG ou um bloqueador de receptor ANG-II tipo-1 (ARBS), incluem angiocandesartan, eprosartan, irbesartan, losartan e valsartan. Exemplos não limitantes de um simpatolítico incluem um simpatolítico de atuação central ou um simpatolítico de ação periférica. Exemplos não limitantes de um simpatolítico de ação central, também conhecido como um simpatolítico do sistema nervoso central (CNS), incluem clonidina (catapres), guanabenz (wytensin) guanfacina (tenex) e metildopa (aldomet). Exemplos não limitantes de um simpatolítico de ação periférica incluem um agente de bloqueio de gânglios, um agente adrenérgico de bloqueio neurônio, um agente de bloqueio β -adrenérgico ou um agente de bloqueio alfa-adrenérgico. Exemplos não limitantes de um agente de bloqueio de gânglios incluem mecamilamina (inversine) e trimetaphan (arfonad). Exemplos não limitantes de um agente adrenérgico de bloqueio neurônio incluem guanetidina (ismelin) e reserpina (serpasil). Exemplos não limitantes de um bloqueador β -adrenérgico incluem acenitolol (sectral), atenolol (tenormin), betaxolol (kerlone), carteolol (cartrol), labetalol (normodyne, trandate), metoprolol (lopressor), nadanol (corgard), penbutolol (levatol), pindolol (visken), propranolol (inalderal) e timolol (blocadren). Exemplos não limitantes de bloqueador alfa-adrenérgico incluem prazosin (minipress), doxazocin (cardura) e terazosin (hytrin). Em certas modalidades um agente terapêutico cardiovascular pode compreender um vasodilatador (por exemplo, um vaso dilatador cerebral, um vasodilatador coronariano ou um vasodilatador periférico). Em certas modalidades preferidas, um vasodilator compreende um vasodilatador coronariano. Exemplos não limitantes de um vasodilatador coronariano

incluem amotrifen, bendazol, hemisuccinato de benfurodila, benziodarona, cloracizina, cromonar, clobenfurol, clonitrato, dilazep, dipiridamole, droprenilamina, efloxato, erithritil tetranitrane, etafenone, fendilina, floredlila, ganglefeno, herestrol bis(β -dietilaminoetil éter), hexobendina, itramin tosilato, khelina, lidoflanina, mannitol hexanitrate, medibazina, nicorglicerol, pentaerithritol tetranitrato, pentritinol, perhexilina, pimefylina, trapidilila, tricromila, trimetazidina, trolnitrate fosfato e visnadine. Em certos aspectos, um vasodilatador pode compreender um vasodilatador de terapia crônica ou um vasodilatador hipertensivo de emergência. Exemplos não limitantes de um vaso dilatador de tarapia crônica incluem hidralazina (apresolina) e minoxidil (loniten). Exemplos não limitantes de vasodilatador hipertensivo de emergência incluem nitroprussida (niprida), diazóxido (hyperstat IV), hidralazina (apresolina), minoxidil (loniten) e verapamil.

Exemplos não limitantes de anti-hipertensivos mistos incluem ajmalina, ácido γ -aminobutírico, bufenide, cicletaina, ciclosidomina, um criptenamina tanato, fenoldopam, flosequinan, ketanserina, mebutamato, mecamlamina, metildopa, metil 4-piridil cetona tiosemicarbazona, muzolimina, pargylina, pempidina, pinacidilila, piperoxan, primaperone, a protoveratrina, raubasina, rescimetol, rilmenidene, saralasina, sódio nitroprussida, ticrynafena, trimetaphan camsilato, tirosinase e urapidil.

Em certos aspectos, um anti-hipertensivo pode compreender um derivado ariletanolamina, um derivado anolamina benzotiadiazina, um derivado carboxialquil(peptida/lactama), um derivado diidropiridina, um derivado guanidina, uma hidrazina/ftalazina, um derivado imidazol, um composto de amônio quaternário, um derivado reserpina ou um derivado sulfonamida. Exemplos não limitantes de derivados ariletanolamina incluem amosulalol, bufuralol, dilevalol, labetalol, pronetalol, sotalol e sulfinalol. Exemplos não limitantes de derivados benzotiadiazina incluem altizida, bendroflumetiazida, benzotiazida, benzilhidroclorotiazida, butiazida, clorotiazida, clortalidone, ciclopentiazida, ciclotiazida, diazóxido, epitiazida, etiazida, fenquizone, hidroclorotizida, hidroflumetizida, meticlozida, metocrane, metolazone, paraflutizida, politizida, tetraclormetiazida e triclorometiazida. Exemplos não limitantes de derivados N-carboxialquil(peptídeo/lactam) incluem alacepril, captopril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, lisinopril, moveltipril, perindopril. Exemplos não limitantes de derivados diidropiridina incluem amlodipina, felodipina, isradipina, nicardipina, nifedipina, nilvadipina, nisoldipina e nitrendipina. Exemplos não limitantes de derivados guanidina incluem betanidina, debrisoquina, guanabenz, guanacina, guanadrel, guanazodina, guanetidina, guanfacina, guanoclor, guanoxabenz e guanoxan. Exemplos não limitantes de derivados hidrazinas/ftalazines incluem budralazina, cadralazina, dihidralazina, endralazina, hidracarbazina, hidralazina, feniprazina, pildralazina e todralazina. Exemplos não limitantes de derivados imidazol incluem clonidina, lofexidina, fentolamina, tiamenidina e tolonidina.

Exemplos não limitantes de compostos de amônio quaternários incluem brometo de azametônio, cloreto de clorisondamina, hexametônio, pentacínio bis(metilsulfato), brometo de pentametônio, tartarato de pentolinium, cloreto de fenactropinium e metosulfato de trimetidinium. Exemplos não limitantes de derivados reserpina incluem bietaserpina, deserpidina, rescinnamina, reserpina e syrosingopina. Exemplos não limitantes de derivados sulfonamida incluem ambusida, clopamida, furosemida, indapamida, quinetazone, tripamida e xipamida.

Outros exemplos de fármacos cardiovasculares incluem vasopressores. Vasopressores são usados geralmente para aumentar a pressão sanguínea durante o choque, que pode ocorrer durante um procedimento cirúrgico. Exemplos não limitantes de um vasopressor, também conhecido como um anti-hipotensivo, incluem metil sulfato de amezinium, angiotensin amida, dimetofrina, dopamina, etifelmin, etilefrin, gepefrina, metaraminol, midodrina, norepinefrina, foledrina e sinefrina.

Outros exemplos de fármacos cardiovasculares incluem agentes que podem ser aplicados no tratamento ou prevenção de falha cardíaca congestiva. Exemplos não limitantes de agentes para o tratamento de falha cardíaca congestiva incluem agentes anti-angiotensão II, tratamento da redução pós-carga-pré-carga, diuréticos, e agentes inotrópicos. Exemplos de afterload-preload reduction agentes incluem hidralazina (apresoline) e isosorbide dinitrate (isordila, sorbitrate). Exemplos não limitantes de um diurético incluem um derivado tiazide ou benzotiadiazina (por exemplo, altiazida, bendroflumetazida, benzotiazida, benzilhidroclorotiazida, butiazida, clorotiazida, clorotiazida, clortalidona, ciclopentiazida, epitiazida, etiazida, etiazida, fenquizone, hidroclorotiazida, hidroflumetiazida, meticlotiazida, meticrane, metolazone, paraflutizida, politizida, tetraclorometiazida, triclormetiazida), an organomercurial (por exemplo, clormerodrin, merallurida, mercamphamida, mercaptomerin sódio, mercumalilic acid, mercumatilin sódio, cloreto mercuroso, mersalil), uma pteridina (por exemplo, furtereno, triamtereno), purinas (por exemplo, acefyline, 7-morfolinometilteofilina, pamobrom, protheobromina, theobromine), esteróides incluindo antagonistas aldosterona (por exemplo, canrenone, oleandrin, spironolactona), um derivado sulfonamida (por exemplo, acetazolamida, ambusida, azosemida, bumetanida, butazolamida, cloramino fenamida, clofenamida, clopamida, clorexolona, difenilmetana-4,4'-disulfonamida, disulfamida, etoxzolamida, furosemida, indapamida, mefrusida, metazolamida, piretanida, quinetazone, torasemida, tripamida, xipamide), a uracila (por exemplo, aminometradina, amisometradine), um antagonista poupador de potássio (por exemplo, amilorida, triamterene) ou a miscellaneous diuretic tal como aminozina, arbutin, clorazanila, etacrynic acid, etozolina, hidracarbazina, isosorbida, mannitol, metochalcone, muzolimina, perhexilina, ticnafen e urea. Exemplos não limitantes de um agente inotrópico positivo, também conhecido como um cardiotônico, incluem

acefyllina, uma acetildigitoxina, 2-amino-4-picolina, amrinone, benfurodil hemisuccinato, bucladesina, cerberosina, camphotamida, convallatoxin, cymarina, denopamina, deslanosida, digitalina, digitalis, digitoxina, digoxina, dobutamina, dopamina, dopexamina, enoximone, erithrophleina, fenalcomina, gitalina, gitoxina, glicocyamina, heptaminol, hidrastina, 5 ibopamina, a lanatosida, metamivam, milrinone, nerifolina, oleandrina, ouabain, oxifedrina, prenalterol, proscillaridina, resibufogenina, scillaren, scillarenina, strphantin, sulmazol, theobromina e xamoterol. Em aspectos particulares, um agente inotrópico é um glicosídeo cardíaco, um agonista beta-adrenérgico ou um inibidor fosfodiesterase. Exemplos não limitantes de um glicosídeo cardíaco inclui digoxina (lanoxin) e digitoxina (crystodigin).

10 Exemplos não limitantes de um agonista β -adrenérgico incluem albuterol, bambuterol, bitolterol, carbuterol, clenbuterol, clorprenalina, denopamina, dioxethedrina, dobutamina (dobutrex), dopamina (intropin), dopexamina, efedrina, etafedrina, etilnorepinefrina, fenoterol, formoterol, hexoprenalina, ibopamina, isoetarina, isoproterenol, mabuterol, metaproterenol, metoxifenamina, oxifedrina, pirbuterol, procaterol, protoquilol, reproterol, 15 rimiterol, ritodrina, soterenol, terbutalina, tretoquinol, tulobuterol e xamoterol. Exemplos não limitantes de um inibidor fosfodiesterase incluem amrinone (inocor). Agentes antianginais podem compreender organonitratos, bloqueadores do canal cálcio, beta bloqueadores e combinações desses mencionados. Exemplos não limitantes de organonitratos, também conhecidos como nitrovasodiladores, incluem nitroglicerina (nitro-bid, nitrostat), dinitrato de 20 isosorbida (isordil, sorbitrato) e nitrato de amila (aspirol, vaporol).

2. Compostos direcionados a uma doença do ciclo celular

Compostos direcionados a uma doença do ciclo celular se referem a compostos que têm por alvo agentes que estejam supra-regulados nas células proliferativas. Compostos usados para esse propósito podem ser usados para medir diversos parâmetros 25 em células, tal como o teor DNA na célula tumoral.

Muitos desses agentes são análogos nucleosídeos. Por exemplo, nucleosídeo pirimidina (por exemplo, 2'-flúor-2'-desóxi-5-iodo-1- β -D-arabinofuranosiluracila [FIAU], 2'-flúor-2'-desóxi-5-iodo-1- β -D-ribofuranosil-uracila [FIRU], 2'-flúor-2'-5-metil-1- β -D-arabinofuranosiluracila [FMAU], 2'-flúor-2'-desóxi-5-iodovinil-1- β -D-ribofuranosiluracila [IVFRU]) e acicloguanosina: 9-[(2-hidróxi-1-(hidroximetil)etoxi)metil]guanina (GCV) e 9-[4-hidróxi-3-(hidroximetil)butil]guanina (PCV) (Tjuvajev et al., 2002; Gambhir et al., 1998; Gambhir et al., 1999) e outros análogos acicloguanosina 18F-marcados, tal como 8-flúor-9-[(2-hidróxi-1-(hidroximetil)etoxi)metil]guanina (FGCV) (Gambhir et al., 1999; Namavari et al., 2000), 8-flúor-9-[4-hidróxi-3-(hidroximetil)butil]guanina (FPCV) (Gambhir et al., 2000; Iyer et al., 2001), 9-[3-flúor-1-hidróxi-2-propoxi metil]guanina (FHPG) (Alauddin et al., 1996; Alauddin et al., 1999), e 9-[4-flúor-3-(hidroximetil)butil]guanina (FHBG) (Alauddin e Conti, 1998; Yaghoubi et al., 2001) foram desenvolvidos como substratos mensageiros para a 35

imagiologia tipo natural e mutante (Gambhir et al., 2000) da expressão HSV1-tk. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com esses e outros agentes que são usados para ter pó alvo a doença do ciclo celular.

3. Ligandos direcionais que têm por alvo a angiogênese

“Ligandos direcionais que têm por alvo a angiogênese” se referem a agentes que podem se ligar a neovascularização ou a revascularização do tecido. Por exemplo, a neovascularização de células tumorais ou a revascularização do tecido miocárdio. Agentes que são usados para esse propósito são conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica para uso em realizar diversas medições, incluindo medição do tamanho de um leito vascular do tumor e medição do volume do tumor. Alguns desses agentes se ligam à parede celular. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os agentes que são disponíveis para uso quanto a esse propósito.

No transcurso desse pedido, “ter por alvo a angiogênese” se refere ao uso de um agente para se ligar ao tecido neovascular. Alguns exemplos de agentes que são usados para esse propósito são conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica para uso em realizar diversas medições do tumor, incluindo medição do tamanho de um leito vascular do tumor, e a medição do volume do tumor. Alguns desses agentes se ligam à parede vascular. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os agentes que são disponíveis para uso quanto a esse propósito. Um ligando direcional que tem por alvo a angiogênese do tumor é um ligando que é usado para o propósito de ter por alvo a angiogênese do tumor como definido acima. Exemplos de ligandos direcionais que têm por alvo a angiogênese incluem inibidores de COX-2, ligandos a receptor anti-EGF, herceptina, angiostatina, C225 e talidomida. inibidores de COX-2 incluem, por exemplo, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib e análogos desses agentes.

4. Ligandos direcionais que têm por alvo a apoptose do tumor

“Ter por alvo a apoptose do tumor” se refere ao uso de um agente para se ligar a uma célula que esteja experimentando apoptose ou em risco de experimentar apoptose. Esses agentes são geralmente usados para proporcionar um indicador da extensão ou risco da apoptose, ou morte celular programada, numa população de células, tal como um tecido tumoral ou cardíaco. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com agentes que são usados para esse propósito. Um “ligando direcional que tem por alvo a apoptose do tumor” é um ligando que é capaz de realizar o “direcionamento para a apoptose do tumor” como definido nesse parágrafo. O ligando direcional da presente invenção pode incluir TRAIL (ligando indutor da apoptose TNF-relacionado) anticorpo monoclonal. TRAIL é um componente da família de ligando ao fator de necrose tumoral que rapidamente induz a apoptose numa variedade de tipos de células transformadas. O ligando direcional da presente invenção podem também compreender um substrato de caspase-3, tal como

peptídeo ou agente quelante que includes as 4 sequências nucleotídicas ácido aspártico-ácido glutâmico-valina-ácido aspártico. O substrato caspase-3 (por exemplo, um peptídeo ou agente quelante que inclui sequência aminoácido ácido aspártico-ácido glutâmico-valina-ácido aspártico), e qualquer componente da família Bcl. Exemplos de componentes da família Bcl incluem, por exemplo, Bax, Bcl-xL, Bid, Bad, Bak e Bcl-2. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com a família Bcl, e seus respectivos substratos.

Supressores da apoptose são alvos para a descoberta do fármaco, com a idéia de anular suas funções citoprotetoras e restaurar a sensibilidade apoptose às células tumorais (Reed, 2003).

5. Ligandos direcionais que têm por alvo um receptor da doença

Em “ter por alvo o receptor da doença”, certos agentes são explorados quanto às suas capacidades de se ligarem a certos receptores celulares que estejam superexpressos nos estados doentes, tal como câncer, doenças neurológicas e doenças cardiovasculares. Exemplos de tais receptores que são tidos por alvo incluem receptores estrogênio, receptores pituitários, receptores transferina e receptores progesterona. Exemplos de agentes que podem ser aplicados no direcionamento doença-receptor incluem androgênio, estrogênio, somatostatina, progesterona, transferrina, hormônio luteinizante e anticorpo de hormônio luteinizante.

Os ligandos rádio-marcados, tal como pentatreótídeo, octatreótídeo, transferrina e peptídeo pituitário, se ligam a receptores celulares, alguns dos quais são superexpressos em certas células. Uma vez que esses ligandos não são imunogênicos e são liberados rapidamente do plasma, a imagiologia do receptor pode parecer ser mais promissora comparada com a imagiologia do anticorpo.

O receptor folato é incluído aqui como um outro exemplo de um receptor de doença. Os receptores folato (FRs) são superexpressos em muitos tipos de células neoplásicas (por exemplo, pulmão, mama, ovário, cervical, colo-retal, nasofaríngeal, adenocarcinomas renais, melanoma maligno e ependimomas), mas primariamente expressas apenas em diversos tecidos normais diferenciados (por exemplo, plexo coróide, placenta, tireóide e rim) (Weitman et al., 1992a; Campbell et al., 1991; Weitman et al., 1992b; Holm et al., 1994; Ross et al., 1994; Franklin et al., 1994; Weitman et al., 1994). FRs são também usados para aplicar toxinas de proteína folato-conjugadas, oligonucleotídeos fármaco/anti-sentido e lipossomas nas células tumorais que superexpressam os receptores folato (Ginobbi et al., 1997; Leamon e Low, 1991; Leamon e Low, 1992; Leamon et al., 1993; Lee e Low, 1994). Além disso, anticorpos biespecíficos que contêm anticorpos anti-FR ligados a anticorpos receptores anti-célula T têm sido usados para direcionar células-T a células tumorais FR-positivas e estão usualmente em ensaios clínicos para carcinomas de ovário (Canevari et al., 1993; Bolhuis et al., 1992; Patrick et al., 1997; Coney et al., 1994;

Kranz et al., 1995).

Exemplos de ligandos direcionais que têm por alvo receptor folato incluem ácido fólico e análogos de ácido fólico. Preferidos ligandos direcionais que têm por alvo receptor folato incluem folato, metotrexato e tomudex. Ácido fólico bem como antifolatos tal como metotrexato adentram nas células através dos receptores folato de alta afinidade (proteína ligante a membrana folato ligada por glicosilfosfatidilinositol) adicionalmente ao clássico sistema de veículo de reduzido teor folato (Westerhof et al., 1991; Orr et al., 1995; Hsueh e Dolnick, 1993).

6. Marcadores de Isquemia cardíaca

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um marcador de isquemia cardíaca. Um marcador de isquemia cardíaca é um ligando que é relativamente seletivo para o tecido cardíaco isquêmico. Exemplos não limitantes de marcadores de isquemia cardíaca incluem interleucina-6, fator alfa de necrose tumoral, matriz metaloproteinase 9, mieloperoxidase, moléculas de aderência intracelular e vascular, ligando CD40 solúvel, fator de crescimento placentário, proteína C-reativa de alta sensibilidade (hs-CRP), albumina modificada por isquemia (IMA), ácidos graxos livres, e colina.

7. Viabilidade dos Marcadores de Tecido Cardíaco

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um marcador da viabilidade do tecido cardíaco. Um marcador da viabilidade do tecido cardíaco se refere a um ligando que é relativamente seletivo para tecido cardíaco viável comparado a um tecido cardíaco não viável. Exemplos não limitantes de marcadores teciduais da viabilidade cardíaca incluem aqueles selecionados a partir do grupo que compreende fosfolipase C, fosfatase miosina de cadeia leve, óxido nítrico, prostaciclina, endotelina, tromboxano, L-arginina e L-citrulina.

8. Marcadores de falha cardíaca congestiva

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um marcador de falha cardíaca congestiva. Um marcador de falha cardíaca congestiva é um ligando que é relativamente seletivo para tecido cardíaco de um coração em falha cardíaca congestiva comparado um tecido normal de coração saudável. Exemplos não limitantes de marcadores de falha cardíaca congestiva incluem aqueles selecionados a partir do grupo que compreende interleucina-1, cardiotrofina-1, fator de crescimento tipo insulina, fator de crescimento epidérmico, receptor tirosina quinase e angiotensina II.

9. Marcadores teciduais de repouso/estresse cardíaco

Em algumas modalidades, o ligando direcional é um marcador de repouso/estresse do tecido cardíaco. Um marcador de repouso/estresse do tecido cardíaco é um ligando que é relativamente seletivo para o tecido cardíaco que é estressado comparado a um tecido cardíaco não estressado (em repouso), ou vice-versa. Exemplos não limitantes de marcadores teciduais de repouso/estresse cardíaco incluem aqueles selecionados a partir do grupo

que compreende proteína quinase mitogênio-ativada, monofosfato de adenosina cíclico, fosfolipase C, bifosfato de fosfatidilinositol, trifosfato de isositol, diacilglicerol e tirosina quinases.

10. Avaliação do Fármaco

5 Certos ligandos baseados em fármacos podem ser aplicados na medição da resposta farmacológica de um indivíduo a um fármaco. Uma ampla faixa de parâmetros pode ser medida na determinação da resposta de um indivíduo à administração de um fármaco. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os tipos de respostas que podem ser medidas. Essas respostas dependem em parte de diversos fatores, incluindo

10 o fármaco em particular que está sendo avaliado, a doença ou condição em particular para a qual o indivíduo está sendo tratado, e as características do indivíduo. Exemplos de ligandos baseados em fármacos incluem carnitina, puromicina, verapamila, digoxin, prazosina, quindina, disopiramida, teofilina, inibidores protease nidedipina, diltiazem, flecainida, amiodarona, sotalol, adenosina, dopamina, dobutamina, inamrinona, milrinona, spironolactona, prazosina, aspirina e warfarina.

15

11. Antimicrobianos

Qualquer antimicrobiano é contemplado para inclusão como um ligando direcional. Antimicrobianos preferidos incluem ampicilina, amoxicilina, penicilina, clindamicina, gentamicina, kanamicina, neomicina, natamicina, nafcilina, rifampin, tetraciclina,

20 vancomicina, bleomicina, doxiciclina, amikacina, netilmicin, streptomycin, tobramycin, loracarbef, ertapenem, imipenem, meropenem, cefadroxil, cefazolin, cefalexin, cefaclor, cefamandole, cefoxitin, cefprozil, cefuroxime, cefixime, cefdinir, cefditoren, cefoperazone, cefotaxime, cefpodoxime, ceftazidime, ceftibuten, ceftizoxime, ceftriaxone, cefepime, teicoplanin, azitromicin, claritromicin, diritromicin, eritromicin, roxitromicin, troleandomicin,

25 aztreonam, azlocilin, carbenicilin, cloxacilin, dicloxacilin, flucloxacilin, mezlocilin, piperacilin, ticarcilin, bacitracin, colistin, polymyxin b, ciprofloxacin, enoxacin, gatifloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, moxifloxacin, norfloxacin, ofloxacin, trovafloxacin, mafenide, prontosil, sulfacetamide, sulfametizole, sulfanilimide, sulfasalazine, sulfisoxazole, trimethoprim, trimethoprim-sulfametoxazole, demeclociclina, minociclina, oxitetraciclina, arsfenamine,

30 cloramfenicol, etambutol, fosfomicin, furazolidone, isoniazid, linezolid, metronidazol, mupirocin, nitrofurantoin, platensimicin, pirazinamide, quinupristin, dalfopristin, spectinomycin, e telitromicin.

Antifúngicos incluem natamicina, rimocidin, filipin, nystatin, amphotericin B, miconazol, cetoconazol, clotrimazol, econazol, bifonazol, butocanazol, finticonazol,

35 isoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol, fluconazol, itraconazol, ravuconazol, posaconazol, vorconazol, terconazol, terbinafina, amorolfina, naftifina, butenafina, anidulafungin, caspofungin, micafungin, ciclopirox, flucitosina, griseofulvin,

gentian violet, haloprogin, tolnaftato, undeciclenic acid, amantadina, polimicina, aciclovir e ganciclovir para fungos. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os diversos agentes que são considerados serem antimicrobianos.

12. Agentes que imitam glicose

5 Agentes que imitam glicose são também contemplados para inclusão como ligandos direcionais. Tais agentes podem ser também considerados “análogos glicose” ou “derivados glicose”.

 Glicose é utilizada pelos organismos vivos no transcurso da rota glicólise. Compostos tal como neomicina, kanamicina, gentamicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, ribos-
10 tamicina, sisomicina, micromicina, lividomicina, dibekacina, isepamicina, e astromicin pertencem a um grupo denominado aminoglicosídeos.

 Em termos de estrutura, agentes que imitam glicose tipicamente possuem uma estrutura anel glicose. Todavia, existem exceções, tal como puromicina, que tem uma estrutura anel pentose, mas que pode ser ainda considerado um agente que imita glicose.

15 Em termos de funcionamento, os aminoglicosídeos são usados como antibióticos que bloqueiam a rota glicólise através das propriedades deles de serem estruturalmente similares à glicose e desse modo, eles são funcionalmente considerados como agentes que imitam glicose. Quando esses aminoglicosídeos são usados em estudos de imagiologia, não existem efeitos farmacológicos detectáveis.

20 A palavra “imita”, como definido aqui, significa “parecer muito proximamente ou simular”. Os aminoglicosídeos são funcionalmente utilizados no transcurso da rota glicolítica em virtude de suas similaridades estruturais com a glicose. Portanto, os aminoglicosídeos são considerados imitarem ou simulares a glicose em termos estruturais e funcionais.

 Exemplos não limitantes de estruturas químicas com seus números CID identificador PubChem Database (NCBI) são como a seguir: Amikacina CID 37768; Aminoglicosídeo
25 CID 191574; Astromicin CID 65345; Desóxiglicose CID 439268; D-glicosamina CID 441477; Dibekacin CID 3021; Gentamicin CID 3467; Glicose CID 5793; Isepamicin CID 456297; Kanamicin CID 5460349; Lividomicin CID 72394; Micromicin CID 107677; Neomicin CID 504578; Netilmicin CID 441306; Puromicin CID 439530; Ribostamicin CID 33042; Sisomicin
30 CID 36119; e Tobramicin CID 36294.

 Referências que descrevem o bloqueio glicólise pelos aminoglicosídeos incluem, por exemplo, Tachibana et al., 1976; Borodina et al., 2005; Murakami et al., 1996; Hoelscher et al., 2000; Yang et al., 2004; Michalik et al., 1989; Murakami et al., 1997; Diamond et al.,
1978; Hostetler e Hall, 1982; Benveniste e Davies, 1973; Hu, 1998; Yanai et al., 2006; Misz-
35 ka et al., 2003; Nakae e Nakae, 1982; Ozmen et al., 2005; e Tod et al., 2000.

 Agentes preferidos que imitam glicose, ou açúcares, incluem neomicina, kanamicina, gentamicina, paromicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, ribostamicina, sisomicina,

micromicina, lividomicina, dibekacina, isepamicina, astromicina, e aminoglicosídeos glicose e glicosamina.

13. Ligandos direcionais que têm por alvo hipoxia

Em algumas modalidades da presente invenção, o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo a hipoxia do tumor. Por exemplo, células tumorais são mais sensíveis à radiação convencional em presença de oxigênio que em sua ausência; ainda que uma pequena porcentagem de células hipóxicas dentro de um tumor possa limitar a resposta à radiação (Hall, 1988; Bush et al., 1978; Gray et al., 1958). A rádio-resistência hipóxica tem sido demonstrada em muitos tumores animais, mas apenas em poucos tipos de tumores em humanos (Dische, 1991; Gatenby et al., 1988; Nordmark et al., 1996). A ocorrência da hipoxia em tumores hormônios, na maioria dos casos, tem sido inferidos a partir de descobertas da histologia e a partir de estudos de tumor animal. A demonstração in vivo da hipoxia requer medições no tecido com eletrodos de oxigênio e a invasividade dessas técnicas tem limitado a aplicação clínica delas.

Misonidazol, um exemplo de um ligando direcional que tem por alvo a hipoxia do tumor, é um sensibilizante de célula hipóxica, e marcador MISO com diferentes radioisótopos (por exemplo, ^{18}F , ^{123}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$) pode ser útil para a diferenciação de um tumor hipóxico mas metabolicamente ativo de um tumor ativo bem oxigenado por cintigrafia plana ou por PET. [^{18}F]Fluoromisonidazol (FMISO) tem sido usado com PET para avaliar hipoxia de tumores. Estudos recentes mostraram que PET, com sua capacidade para monitorar o teor de oxigênio da célula através de [^{18}F]FMISO, tem um alto potencial para predizer a resposta tumoral à radiação (Koh et al., 1992; Valk et al., 1992; Martina et al., 1989; Rasey et al., 1989; Rasey et al., 1990; Yang et al., 1995). PET dá maior resolução sem colimação, todavia, o custo de utilizar isótopos PET em uma instalação clínica é proibitivo.

14. Moléculas Anti-sentido

Moléculas anti-sentido interagem com fitas complementárias de ácidos nucleicos, modificando a expressão dos genes.

Algumas regiões dentro de uma fita dupla de código de DNA para genes, que são usualmente instruções que especificam a ordem dos aminoácidos numa proteína juntamente com sequências regulatórias, juntando sítios, não codificando introns e outros detalhes complicadores. Para uma célula utilizar essa informação, uma fita do DNA serve como um gabarito para uma síntese de uma fita complementar de RNA. O gabarito da fita DNA é chamada fita anti-sentido e o RNA é dito ser de sentido (o complemento do anti-sentido). Pelo fato do DNA ser de dupla fita, a fita complementar da fita anti-sentido é também chamada de sentido e tem a mesma sequência base como do mRNA (embora bases T no DNA sejam substituídas com bases U no RNA). Por exemplo, estão substituídas com bases U em RNA). Por exemplo:

DNA Fita 1: fita sentido

DNA fita 2: fita anti-sentido (copiada para) → fita RNA (sentido).

Muitas formas de anti-sentido têm sido desenvolvidas e podem ser amplamente categorizadas na forma de anti-sentido enzima-dependente ou anti-sentido por bloqueio estérico. Anti-sentido enzima-dependente inclui formas dependentes da atividade RNase H para degradar o mRNA alvo, incluindo DNA de fita única, RNA, e fosforotioato anti-sentido. RNA de dupla fita atua como um anti-sentido enzima-dependente no transcurso da rota RNAi/siRNA, envolvendo o reconhecimento do mRNA alvo através do emparelhamento da fita sentido-anti-sentido seguido pela degradação do mRNA alvo pelo complexo de silenciamento RNA-induzido (RISC). O bloqueio estérico anti-sentido (anti-sentido RNase-H independente) interfere com a expressão genética ou outros processos celulares mRNA-dependentes através da ligação a uma sequência alvo de mRNA e entrando no caminho de outros processos. O bloqueio estérico anti-sentido inclui 2'-O alquila (usualmente em quimeras com anti-sentido RNase-H dependente), ácido peptido nucléico (PNA), ácido nucléico trancado (LNA) e Morfolino anti-sentido. As células podem produzir moléculas RNA anti-sentido naturalmente, as quais interagem com moléculas mRNA complementarias e inibem a expressão delas.

Moléculas ácidos nucléicos anti-sentido têm sido usadas experimentalmente para se ligar a mRNA e impedir a expressão de genes específicos. Terapias anti-sentido estão também em desenvolvimento; o FDA aprovou um fosfotioato oligo anti-sentido, fomivirsen (Vitravene), para uso terapêutico humano.

15. Frações de Imagiologia

Em certas modalidades das composições da presente invenção, o ligando direcional é uma fração de imagiologia. Como definido aqui, uma "fração de imagiologia" é uma parte de uma molécula que é um agente ou composto que pode ser administrado a um indivíduo, contactado com um tecido, ou aplicado a uma célula para o propósito de facilitar a visualização de características ou aspectos particulares do indivíduo, tecido, ou célula através do uso de uma modalidade de imagiologia. Modalidades de imagiologia são discutidas em mais detalhes adiante. Qualquer agente de imagiologia conhecido por aqueles usualmente versados na técnica é contemplado como uma fração de imagiologia da presente invenção. Assim, por exemplo, em certas modalidades de composições da presente invenção, as composições podem ser aplicadas em técnicas multimodais de imagiologia. A imagiologia dual e imagiologia multimodal são discutidas em mais detalhes na especificação abaixo.

Em certas modalidades, a fração de imagiologia é um meio de contraste. Exemplos incluem meio de contraste TC, meio de contraste IRM, meio de contraste ótico, meio de contraste por ultrassom, ou qualquer outro meio de contraste a ser usado em qualquer outra

forma de modalidade de imagiologia conhecida por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos incluem diatrizoato (um agente de contraste TC), um quelato de gadolínio quelato (um agente de contraste IRM) e fluoresceína sódica (um meio de contraste ótico). Exemplos adicionais de meios de contraste são discutidos em mais detalhes na especificação abaixo. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com a ampla faixa de tipos de agentes de imagiologia que podem ser empregados como frações de imagiologia nos agentes quelantes da presente invenção.

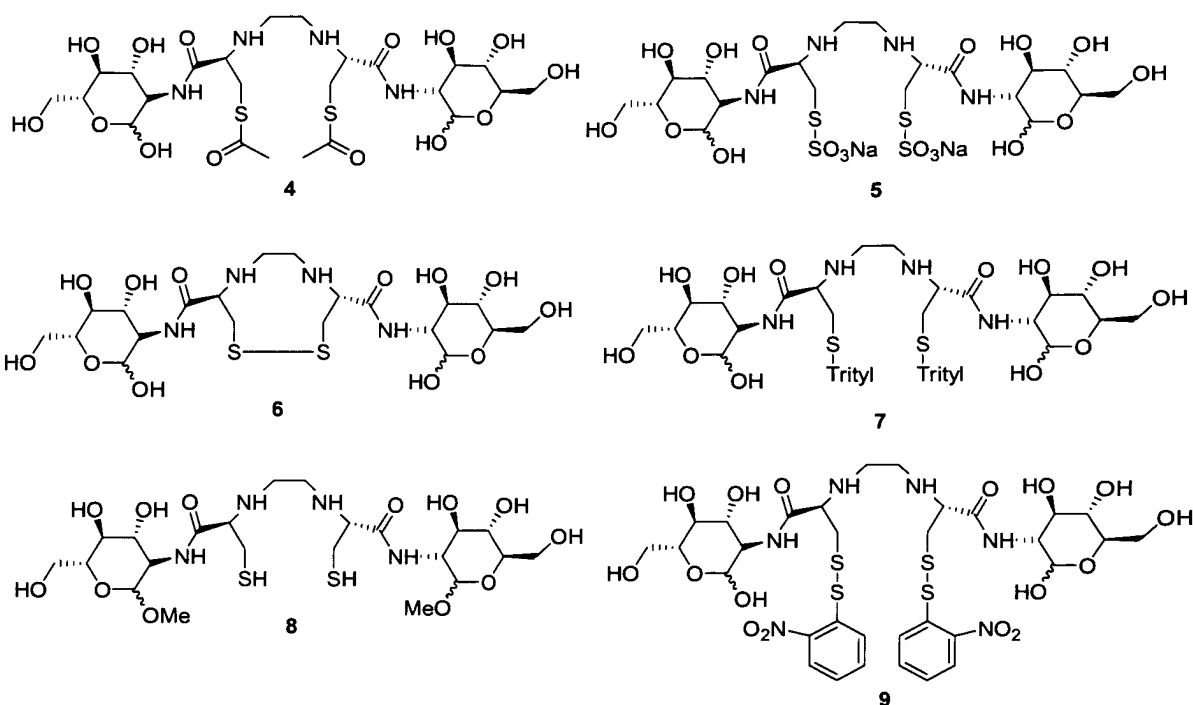
E. Métodos de síntese

1. Fonte de reagentes para as composições da presente invenção

Reagentes para a preparação das composições da presente invenção podem ser obtidos a partir de qualquer fonte. Uma ampla faixa de fontes são conhecidas por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, os reagentes podem ser obtidos a partir de fontes comerciais tal como Sigma-Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), a partir de síntese química, ou a partir de fontes naturais. Por exemplo, um fornecedor de radionuclídeos é Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA). Os reagentes podem ser isolados e purificados usando qualquer técnica conhecida por aqueles usualmente versados na técnica, como aqui descrito. Os íons metálicos não ligados livres podem ser removidos com, por exemplo, resina de troca iônica ou pela adição de um agente transquelante (por exemplo, glicoeptonato, gliconato, glicarato ou acetilacetato).

2. Uso de um produto intermediário como o ingrediente farmacêutico ativo (API)

A formação dissulfeto e o ataque nucleofílico do centro anomérico na fração glicosamina de certos compostos da presente invenção pode ser problemática. Por exemplo, essas reações indesejadas podem ocorrer nos grupos tiol e/ou nos grupos amino na EC-glicosamina (EC-G): estas são as principais reações colaterais que podem provocar instabilidade do EC-G. Além disso, os rendimentos tipicamente baixos da etapa de desproteção com Na/NH₃ para obter o produto primário de EC-G pode produzir baixa pureza (ver FIGs. 1 e 13). Consequentemente, pode ser desejável utilizar intermediários das sínteses da presente invenção como ingredientes farmacêuticamente ativos (APIs). Por exemplo, análogos EC-G tal como aqueles apresentados adiante, os quais sejam produtos intermediários em certas preparações podem ser usados como APIs. Esses análogos, em certas modalidades, podem produzir alta pureza no processo de ampliação da escala de produção.



3. Procedimentos de Purificação e Determinações da Pureza

Como mencionado acima, aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com métodos de purificação dos compostos da presente invenção. Como usado aqui, "purificação" se refere a qualquer aumento medido na pureza relativamente à pureza do material antes da purificação. A purificação de todos os compostos da presente invenção é geralmente possível, incluindo a purificação dos intermediários bem como a purificação dos produtos finais. A etapa de purificação não é sempre inclusa nas metodologias gerais explanadas adiante, mas aqueles usualmente versados na técnica entenderão que os compostos podem ser geralmente purificados em qualquer etapa. Exemplos de métodos de purificação incluem filtração em gel, cromatografia de exclusão dimensional (também chamada cromatografia de filtração em gel, cromatografia de permeação em gel ou exclusão molecular), diálise, destilação, recristalização, sublimação, derivação, eletroforese, cromatografia em coluna de sílica gel e cromatografia líquida de alta performance (HPLC), HPLC de fase normal e HPLC de fase reversa. Em certas modalidades, cromatografia de exclusão dimensional e/ou diálise são especificamente excluídas como formas de purificação de compostos da presente invenção. Purificação de compostos através de cromatografia em coluna de sílica gel ou HPLC, por exemplo, oferece o benefício de produzir os compostos desejados em muito alta pureza, muitas vezes maior que quando os compostos são purificados através de outros métodos. A pureza radioquímica de compostos da presente invenção pode ser também determinada. Métodos de determinar pureza radioquímica são bem conhecidos na arte e incluem métodos cromatográficos em conjunto com métodos de detecção de radioatividade (por exemplo, análises de autoradiografia). Exemplos de comparações da pureza de compostos produzidos através de metodologias orgânicas e úmidas e purificados através de

variados métodos são providos adiante.

Métodos de determinação da pureza de compostos são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica e incluem, no Exemplos não limitantes, autoradiografia, espectroscopia de massa, determinação do ponto de fusão, análise por ultravioleta, análise colorimétricas, (HPLC), cromatografia de camada fina e análise por ressonância magnética nuclear (RMN) (incluindo, mas não limitado a, ^1H e ^{13}C NMR). Em algumas modalidades, um método colorimétrico pode ser usado para titular a pureza de um agente quelante ou conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Por exemplo, a geração de um adutor tiol-benzila (isto é, um grupo funcional tiol protegido por um grupo benzila) ou a performance de uma reação de oxidação através do uso de iodo pode ser usado para determinar a pureza do agente quelante ou do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Em uma modalidade, a pureza de um composto desconhecido pode ser determinada mediante comparação a um composto de pureza conhecida: essa comparação pode ser na forma de uma relação cuja medição descreva a pureza do desconhecido. Softwares disponíveis em diversos instrumentos (por exemplo, espectrofotômetros, HPLCs, NMRs) podem ajudar aqueles usualmente versados na técnica em produzir essas determinações, bem como outros meios conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica.

Os parâmetros não limitantes apresentados a seguir podem ser usados, em certas modalidades, para determinar a pureza de compostos da presente invenção:

Coluna: Primesep100, 4,6 x 150 mm, 5 μm , temperatura ambiente

Fase móvel (A): H_2O com 0,025% TFA

Fase móvel (B): acetonitrila com 0,025% TFA

Corrida isocrática: A/B (50/50) at 1,0 ml/min

Deteção: ELSD, SEDEX75, 50C, 4,5 bar

Em certas modalidades da presente invenção, a purificação de um composto não remove todas as impurezas. Em algumas modalidades, tais impurezas podem ser identificadas.

4. Obtenção de um agente quelante

Métodos de preparar e obter agentes quelantes são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, agentes quelantes pode ser obtidos a partir de fontes comerciais, síntese química, ou fontes naturais.

Em uma modalidade, o agente quelante pode compreender etilenodiciesteína (EC). A preparação da etilenodiciesteína (EC) é descrita em Patente U.S. No. 6.692.724. Em resumo, a EC pode ser preparada numa síntese em duas etapas de acordo com os métodos anteriormente descritos (Ratner e Clarke, 1937; Blondeau et al., 1967; cada um aqui incorporado por referência). O precursor, ácido L-tiazolidin-4-carboxílico, foi sintetizado e em seguida a EC foi preparada. É muitas vezes também importante incluir um antioxidante numa

composição para impedir a oxidação da etilenodicitostina. O antioxidante preferido para uso em conjunto com a presente invenção é a vitamina C (ácido ascórbico). Todavia, é contemplado que outros antioxidantes, tal como tocoferol, piridoxina, tiamina, ou rutina podem ser também úteis.

- 5 Agentes quelantes podem também compreender aminoácidos unidos por separadores. Um tal separador pode compreender, como descrito acima, um separador alquila separador tal como etileno.

 Ligações amida podem também ser também unidas a um ou mais aminoácidos para formar um agente quelante. Exemplos de métodos sintéticos para a preparação de tais
10 agentes quelantes incluem síntese em fase sólida e síntese em fase solução. Tais métodos são descritos, por exemplo, em Bodansky, 1993 e Grant, 1992.

 5. Síntese Orgânica de Conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante

 Numa modalidade preferida, a presente invenção adicionalmente proporciona um
15 método de produzir a síntese orgânica de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante. O método inclui obter, por exemplo, um agente quelante tal como etilenodicitostina (EC) como descrito acima e misturar a EC com um grupo protetor tiol em um meio orgânico a fim de proteger ambos os tióis livres, resultando numa EC-S-S'-bis-
20 protegida, que é então misturada com um grupo protetor amino em um meio orgânico/aquoso a fim de proteger ambas as aminas livres, resultando em EC-S-S'-bis-protegida-N,N'-bis-protegida. Os grupos tiol são mais reativos que grupos nitrogênio; assim, grupos tiol são tipicamente protegidos primeiro. Como descrito acima, aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com o apropriado ordenamento da instalação de grupos protetores dependendo dos tipos de grupos funcionais presentes no agente quelante. Essa EC
25 protegida é então conjugada a um ligando direcional de qualquer tipo descrito aqui através de qualquer modo de conjugação descrito aqui seguido pela remoção dos grupos protetores tiol e amino, que resulta em um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

 Em certas modalidades, a conjugação entre um agente quelante e um ligando direcional ocorre em uma etapa. Em modalidades particulares, a conjugação compreende uma
30 anexação covalente de um agente quelante a um ligando direcional, em que a anexação covalente ocorre em uma etapa. Como mencionado, tais procedimentos em uma etapa são preferíveis, na medida em que eles minimizam tempo, reagentes, e desperdício e perda de produtos.

35 Conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante sintetizado através desse método pode ser em seguida quelados a um íon metálico de qualquer tipo descrito aqui. Tais métodos de quelação são bem conhecidos por aqueles usualmente ver-

sados na técnica e são descritos aqui. Exemplos de métodos de quelação de íons metálicos a conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante são descritos, por exemplo, na Patente U.S. No. 6.692.724. Métodos descritos aqui onde um íon metálico é quelado a um agente quelante podem servir também como exemplos de como quelar um íon metálico a um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

Os benefícios de sintetizar conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante através de métodos da presente invenção usando síntese orgânica incluem, por exemplo, a obtenção de conjugados de alta pureza relativamente aos conjugados obtidos através da síntese aquosa, e da eficiente síntese e purificação de compostos de molécula pequena (por exemplo, 1000 g/mol ou menos). Esses benefícios permitem a conjugados que podem ser utilizados em diagnósticos por imagiologia, e/ou experimentos terapêuticos e/ou ensaios clínicos.

6. Síntese Orgânica de Conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico

Em uma outra modalidade preferida, a presente invenção adicionalmente proporciona um método de síntese orgânica de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico para uso em imagiologia, diagnóstico, ou uso terapêutico. O método inclui, por exemplo, primeiramente obter um agente quelante, tal como EC. EC pode ser então misturado com um íon metálico, que pode ser um radionuclídeo ou qualquer outro íon metálico como aqui descrito, em um meio orgânico a fim de quelar à EC através de um quelato N_2S_2 . Ver, por exemplo, FIG. 2. Outros métodos de quelação são descritos aqui (por exemplo, quelatos de qualquer combinação e O, N e S) e a quelação pode ocorrer por meio de qualquer método descrito aqui. No Exemplos não limitantes, metais tal como tecnécio, índio, rênio, gálio, cobre, ólmio, platina, gadolínio, lutécio, ítrio, cobalto, cálcio e arsênico podem ser quelados com um agente quelante tal como EC. A EC quelada a um íon metálico ("EC quelada") é então misturada com um ligando direcional, com opcional proteção com um ou mais grupos protetores, em presença de um meio orgânico a fim de gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante quelado a um íon metálico. O modo de conjugação pode ser através de qualquer modo descrito aqui e pode ocorrer em uma ou mais que uma etapa.

Os benefícios da síntese do conjugado ligando direcional marcado com íon metálico que tem por alvo um agente quelante através de métodos da presente invenção usando síntese orgânica incluem, por exemplo, a obtenção de conjugados de alta pureza relativamente aos conjugados obtidos através de síntese aquosa, e a eficiente síntese e purificação de compostos de molécula pequena (por exemplo, 1000 g/mol ou menor). Esses benefícios permitem a conjugados que podem ser utilizados em imagiologia, diagnóstico, e/ou experimentos terapêuticos e/ou ensaios clínicos.

7. Síntese Aquosa de Conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante

A presente invenção adicionalmente proporciona um método de sintetizar conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante em um meio aquoso. Os conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante foram preparados, em geral como um meio de comparar a pureza relativa de tais produtos ou produtos similares sintetizados em meios orgânicos. O método inclui, por exemplo, obter primeiramente um agente quelante, tal como EC. A EC é em seguida dissolvida em uma solução básica e agentes de acoplamento descritos aqui são acrescentados. O ligando direcional é em seguida acrescentado a essa solução para gerar o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

8. Síntese aquosa de Conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico

A presente invenção adicionalmente proporciona um método de sintetizar, em um meio aquoso, conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico. Igualmente à síntese aquosa mencionada acima os conjugados ligandos direcionais que têm por alvo agentes quelantes quelados a um íon metálico foram preparados como um meio de comparar a pureza relativa de tais produtos ou produtos similares quando sintetizados em meios orgânicos. O método inicia, numa modalidade, com a obtenção de um agente quelante quelado a um íon metálico como descrito acima ("Organic Synthesis of Chelator-Targeting Ligando Conjugates Quelados a a Metal Ion"). Esse agente quelante quelado a um íon metálico pode ser, por exemplo, EC quelado, como descrito acima. A quelação pode ocorrer através de qualquer método descrito aqui. EC quelado pode ser dissolvido em uma solução aquosa básica e agentes de acoplamento, como aqui descrito, são acrescentados juntamente com um ligando direcional de qualquer tipo descrito aqui a fim de gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante quelado a um íon metálico.

9. Conjugação de um agente quelante com um ligando direcional

A presente invenção contempla métodos para conjugar um ligando direcional a um agente quelante (opcionalmente quelada a um íon metálico). O ligando direcional pode ser de qualquer tipo descrito aqui. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os meios para conjugar ligandos direcionais a diversos grupos funcionais. Muito comumente, como entre o agente quelante e o ligando direcional, um atua como o nucleófilo e um atua como o eletrófilo tal que a conjugação ocorre através de uma ligação covalente. Exemplos não limitantes de tais ligações covalentes incluem uma ligação amida, uma ligação éster, uma ligação tioéster e uma ligação carbono-carbono. Em modalidades preferidas, a conjugação ocorre através de uma ligação amida ou éster. Em algumas modalidades, a

conjugação ocorre em um ou mais grupos funcionais do agente quelante selecionado a partir do grupo que compreende ácido carboxílico, amina e tiol. Quando atuando como eletrófilos, os agentes quelantes e ligandos direcionais podem compreender grupos funcionais tal como halogênios e sulfonilas que atuam como grupos abandonadores durante conjugação.

- 5 Ligandos direcionais podem também compreender grupos nucleofílicos, tal como $-NH_2$, que podem participar em conjugação com agente quelante eletrofilico.

Agentes de acoplamento, como usados aqui, são reagentes usados para facilitar o acoplamento de um agente quelante a um ligando direcional. Tais agentes são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica e podem ser empregados em
10 certas modalidades de métodos da presente invenção. Exemplos de agentes de acoplamento incluem, mas não estão limitados a, sulfo-N-hidroxisuccinimida (sulfo-NHS), dimetilaminopiridina (DMAP), diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC) e diciclohexilcarbodiimida (DCC). Outras carbodiimidias são também vislumbradas como agentes de acoplamento. Agentes de
15 acoplamento são discutidos, por exemplo, em Bodansky, 1993 e Grant, 1992. Esses agentes de acoplamento podem ser usados sozinhos ou em combinação entre si ou outros agentes para facilitar a conjugação. Uma vez o ligando direcional seja conjugado usando um agente de acoplamento, uréia é tipicamente formada. O subproduto uréia pode ser removido através de filtração. O produto conjugado pode então ser purificado por meio de, por
20 exemplo, cromatografia em coluna de sílica gel ou HPLC.

Em geral, os ligandos para uso em conjunto com a presente invenção irão possuir grupos funcionais que são capazes de conjugar a um ou mais grupos funcionais de um agente quelante, tal como EC. Por exemplo, um ligando direcional pode possuir uma posição halogenada que irá reagir com uma mina livre de um agente quelante para formar o
25 conjugado. Se grupos funcionais não são disponíveis, ou se um grupo funcional ótimo não é disponível, um ligando desejado pode ainda ser conjugado a um agente quelante, tal como EC, mediante adição de um ligador, tal como etilenediamina, amino propanol, dietilenetriamina, ácido aspártico, poliácido aspártico, ácido glutâmico, poliácido glutâmico, cisteína, glicina ou lisina. Por exemplo, a Patente U.S. 6.737.247 revela diversos ligadores
30 que podem ser usados com a presente invenção e é desse modo incorporada aqui por referência em sua totalidade. A Patente U.S. No. 5.605.672 revela diversas “cadeias estruturais preferidas” que podem ser usadas como ligadores na presente invenção e é aqui incorporada por referência em sua totalidade. Em certas modalidades, o agente quelante pode ser conjugado a um ligador, e o ligador ser conjugado ao ligando direcional. Em outras
35 modalidades mais que um ligador pode ser usado; por exemplo, um agente quelante pode ser conjugado a um ligador, e o ligador ser conjugado a um segundo ligador, em que o segundo ligador é conjugado ao ligando direcional. Em certas modalidades, dois, três,

quatro, ou mais ligadores que são conjugados juntos podem ser usados para conjugar um agente quelante e ligando direcional. Entretanto, é geralmente preferível usar apenas um único ligador para conjugar um agente quelante e um ligando direcional.

Alguns agentes quelantes, tal como EC, são solúveis em água. Em algumas modalidades, o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante quelados a um íon metálico da invenção é solúvel em água. Muitos dos ligandos direcionais usados em conjunto com a presente invenção serão solúveis em água, ou irão formar um composto solúvel em água quando conjugado ao agente quelante. Se o ligando direcional não é solúvel em água, entretanto, um ligador que irá aumentar a solubilidade do ligando pode ser usado. Ligadores podem atacar, por exemplo, um álcool alifático ou aromático, amina ou peptídeo a um ácido carboxílico. Ligadores podem ser, por exemplo, ou poli aminoácidos (peptídeos) ou aminoácidos tal como ácido glutâmico, ácido aspártico ou lisina. Tabela 2 ilustra ligadores preferidos para específicos grupos fármacos funcionais.

Benefícios da síntese de conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante opcionalmente quelado a íons metálicos de valência um ou mais através dos métodos da presente invenção usando síntese orgânica incluem, por exemplo, a obtenção de conjugados de alta pureza relativamente aos conjugados obtidos através da síntese aquosa, e a eficiente síntese e purificação de compostos de molécula pequena (por exemplo, 1000 g/mol ou menos). Esses benefícios permitem a conjugados que podem ser utilizados em imagiologia, diagnóstico, e/ou experimentos terapêuticos e/ou ensaios clínicos.

TABELA 2

Ligadores

Grupo fármaco funcional	Ligador	Exemplo
Alifático ou fenólico-OH	EC-poli(ácido glutâmico) (MW 750-15,000) ou EC poli(ácido aspártico) (MW 2000-15,000) ou etilacetato de bromo ou EC-ácido glutâmico ou EC-ácido aspártico.	estradiol, topotecan, paclitaxel, raloxifen etoposida
Alifático ou aromático-NH ₂ ou peptídeo	EC-poli(ácido glutâmico) (MW 750-15,000) ou EC-poli(ácido aspártico) (MW 2000-15,000) ou	Doxorubicina, mitomicin C, endostatina, anexin V, LHRH, octreotida, VIP

	EC-ácido glutâmico (mono- ou diester) ou EC-ácido aspártico.	
Ácido carboxílico ou peptídeo	Etileno diamina, lisina	metotrexato, ácido fólico

10. Quelação de um íon metálico

A presente invenção adicionalmente contempla métodos para a quelação (também chamado coordenação) de um ou mais íons metálicos a um agente quelante ou um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Tais etapas de quelação podem ocorrer em meio orgânico. Em outras modalidades, a quelação ocorre em meio aquoso. Em certas modalidades, o agente quelante e o ligando direcional pode cada um contribuir para a quelação do íon metálico. Em modalidades preferidas, o íon metálico é quelado apenas ao agente quelante. O íon metálico quelado pode ser ligado por meio de, por exemplo, uma ligação iônica, uma ligação covalente, ou uma ligação covalente coordenada (também chamada uma ligação dativa). Métodos de tal coordenação são bem conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Em uma modalidade, a coordenação pode ocorrer mediante mistura de um íon metálico numa solução contendo um agente quelante. Em uma outra modalidade, a coordenação pode ocorrer mediante mistura de um íon metálico numa solução contendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Em uma modalidade, quelação ocorre ao agente quelante, com ou sem um ligando direcional, através de um quelato N_2S_2 formado pelo agente quelante, tal como etilenodicitostéina (EC). O agente quelante e o ligando direcional podem cada um estar protegido por um ou mais grupos protetores antes ou após quelação com o íon metálico.

A quelação pode ocorrer em qualquer átomo ou grupo funcional de um agente quelante ou ligando direcional que esteja disponível para a quelação. A quelação pode ocorrer, por exemplo, em um ou mais átomos N, S, O ou P. Exemplos não limitantes de grupos de quelação incluem NS_2 , N_2S , S_4 , N_2S_2 , N_3S e NS_3 , e O_4 . Em modalidades preferidas, um íon metálico é quelado a três ou quatro átomos. Em algumas modalidades, a quelação ocorre entre um ou mais grupos funcionais tiol, amina ou ácido carboxílico. A quelação, em modalidades particulares, pode ser a uma fração carboxila de glutamato, aspartato, um análogo da glutamato, ou um análogo da aspartato. Essas modalidades podem incluir múltiplos íons metálicos quelados a agentes quelantes poli(glutamato) ou poli(aspartato). Em algumas modalidades, a quelação do íon metálico é a um ligando direcional, tal como grupos carboxila de um ligando tecido-específico. Em modalidades preferidas, a quelação é entre um ou mais grupos tiol e um ou mais grupos amina do agente quelante.

Em alguns exemplos não limitantes, o íon metálico pode ser tecnécio, índio, rênio, gálio, cobre, holmium, platina, gadolínio, lutécio, ítrio, cobalto, cálcio, arsênico, ou qualquer isótopo desses mencionados. Qualquer íon metálico descrito aqui pode ser quelado a um composto da presente invenção.

5 11. Agente redutores

Para os propósitos da presente invenção, quando o íon metálico é tecnécio é preferido que o Tc esteja no estado de oxidação +4. O agente redutor preferido para uso nesse propósito é o íon estanoso na forma de cloreto estanoso (SnCl_2) para reduzir o Tc ao seu estado de oxidação +4. Entretanto, é contemplado que outros agentes redutores, tal como íon ditionato ou íon ferroso podem ser úteis em conjunto com a presente invenção. It é também contemplado que o agente redutor pode ser um agente redutor de fase sólida. A quantidade do agente redutor pode ser importante como seja necessário para evitar a formação de colóide. É preferível, por exemplo, usar de cerca de 10 a cerca de 100 μg SnCl_2 per cerca de 100 a cerca de 300 mCi de pertecnetato de Tc. A quantidade muito mais preferida é de cerca de 0,1 mg SnCl_2 por cerca de 200 mCi de pertecnetato de Tc e cerca de 2 mL salino. Isso tipicamente produz suficiente Tc-EC-conjugado ligando direcional para uso em 5 pacientes.

F. Exemplos de Modalidades de imagiologia

1. Imagiologia por Câmera Gama

20 Uma variedade de técnicas de medicina nuclear para imagiologia são conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica. Qualquer dessas técnicas pode ser aplicada no contexto de um método de imagiologia da presente invenção para medir um sinal proveniente do mensageiro. Por exemplo, imagiologia por câmera gama é contemplado como um método de imagiologia que pode ser utilizado para medir um sinal derivado do mensageiro. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com técnicas para aplicação de imagiologia por câmera gama (ver, por exemplo, Kundra et al., 2002, aqui especificamente incorporado por referência). Em uma modalidade, a medição de um sinal pode envolver o uso de imagiologia por câmera gama de um sistema mensageiro ^{111}In -octreotídeo-SSRT2A.

30 2. PET e SPECT

Modalidades de imagiologia por radionuclídeo (tomografia por emissão pósitron (PET); tomografia computadorizada de emissão fotônica única (SPECT)) são técnicas diagnósticas do imageamento da seção transversal que mapeiam a localização e a concentração de radiotraçadores marcados com radionuclídeos. Embora TC e IRM proporcionem consideráveis informações anatômicas acerca da localização e extensão de tumores, essas modalidades de imagiologia não podem diferenciar adequadamente lesões invasivas de edema, necrose por radiação, gradação ou gliose. PET e SPECT podem ser

usados para localizar e caracterizar tumores através da medição da atividade metabólica.

PET e SPECT proporcionam informações pertinentes à informação a nível celular, tal como viabilidade celular. Em PET, um paciente ingere ou é injetado com uma substância ligeiramente radioativa que emite pósitrons, que podem ser monitorados à medida que a substância se movimentaa no organismo. Numa aplicação comum, por exemplo, é dada glicose com emissores pósitron aos pacientes, e os seus cérebros são monitorados à medida que eles realizam tarefas. Uma vez que the cérebro utiliza glicose à medida que trabalha, uma imagem PET mostra onde a atividade cerebral é alta.

Intimamente relacionado a PET é uma tomografia computadorizada de emissão fotônica única, ou SPECT. A principal diferença entre os dois é que em lugar de uma substância emissora de pósitron, a SPECT utiliza um traçador radioativo que emite fótons de baixa energia. SPECT é valiosa para o diagnóstico de doença arterial coronariana, e por volta de 2,5 milhões de estudos do coração por SPECT são realizados nos EUA a cada ano.

Radiofarmacêuticos PET para imagiologia são comumente marcados com emissores pósitron tal como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{82}Rb , ^{62}Cu , e ^{68}Ga . Radiofarmacêuticos SPECT são comumente marcados com emissores pósitron tal como $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{201}Tl , e ^{67}Ga . Com respeito à imagiologia cerebral, radiofarmacêuticos PET e SPECT são classificados de acordo com a permeabilidade da barreira sangue-cérebro (BBB), perfusão cerebral e metabolismo receptor-ligante, e ligação antígeno-anticorpo (Saha et al., 1994). Agentes SPECT barreira sangue-cérebro, tal como $^{99\text{m}}\text{TcO}_4\text{-DTPA}$, ^{201}Tl , e ^{67}Ga citrato são excluídos pelas células cerebrais normais, mas adentram nas células tumorais por causa da BBB alterada. Agentes de perfusão SPECT tal como ^{123}I IMP, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ HMPAO, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ECD são agentes lipofílicos, e portanto se difundem no cérebro normal. Importantes radiofarmacêuticos SPECT receptor-ligante incluem ^{123}I QNE, ^{123}I IBZM, e ^{123}I iomazenil. Esses traçadores se ligam a receptores específicos, e são de importância na avaliação de doenças relacionadas aos receptores.

3. Tomografia Computadorizada (TC)

A tomografia computadorizada (TC) é contemplada como uma modalidade de imagiologia no contexto da presente invenção. Mediante tirar uma série de raios-X, algumas vezes mais que um milhar, a partir de diversos ângulos e em seguida combina-los com um computador, a TC torna possível compor uma imagem tridimensional de qualquer parte do corpo. Um computador é programado para apresentar fatias bidimensionais a partir de qualquer ângulo e em qualquer profundidade.

Na TC, a injeção intravenosa de um agente radiopaco de contraste pode ajudar na identificação e delinear massas de tecido mole quando varreduras iniciais de TC não são diagnósticas. De modo similar, agentes de contraste ajudam na avaliação da vascularidade de um tecido mole ou lesão óssea. Por exemplo, o uso de agentes de contraste pode ajudar

em delinear a relação de um tumor e estruturas vasculares adjacentes.

Agentes de contraste TC incluem, por exemplo, meio de contraste iodado. Exemplos desses agentes incluem iotalamato, iohexol, diatrizoato, iopamidol, etiodol e iopanoato. Agentes gadolínio têm sido também reportados serem de uso como um agente
5 contraste de TC (ver, por exemplo, Henson et al., 2004). Por exemplo, agentes gadopentato têm sido usados como um agente de contraste de TC (discutido em Strunk e Schild, 2004).

4. Magnetic Resonance Imagiologia (IRM)

Imagiologia por Ressonância Magnética (IRM) é uma modalidade de imagiologia que é mais recente que a TC que utiliza um magneto poderoso e sinais de radiofrequência
10 para produzir as imagens. A espécie mais abundante nos tecidos biológicos é a água. É o “spin” da mecânica quântica do núcleo protônico da água que em última análise dá surgimento ao sinal nos experimentos de imagiologia. Em IRM, a amostra a ser submetida a imagiologia é colocada em um forte campo magnético estático (1-12 Tesla) e os spins são excitados com um pulso de radiação de radf (RF) para produzir uma magnetização efetiva
15 na amostra. Diversos gradientes de campos magnéticos e outros pulsos de RF então atuam sobre os spins para codificar informação espacial nos sinais registrados. Mediante coletar e analisar esses sinais, é possível computar uma imagem tridimensional que, como uma imagem por TC, é normalmente exibida em fatias bidimensionais.

Agentes de contraste usados em imagiologia RM diferem daquelas usadas em
20 outras técnicas de imagiologia. O propósito deles é ajudar na diferenciação entre componentes teciduais com características idênticas de sinal e encurtar os tempos de relaxação (que irão produzir um sinal mais forte em imagens RM de eco-spin T1-ponderal e um sinal menos intenso em imagens T2-ponderal). Exemplos de agentes de contraste para IRM incluem quelatos gadolínio, quelatos manganês, quelatos cromo, e partículas de ferro.

Ambos TC e IRM proporcionam informação anatômica que ajudam em diferenciar os limites teciduais e a estrutura vascular. Comparado a TC, as desvantagens de IRM incluem menor tolerância pelo paciente, contraindicações em marcapassos e alguns outros dispositivos metálicos implantados, e artefatos relacionados a múltiplas causas, não sendo pelo menos uma das quais movimento (Alberico et al., 2004). TC, por outro lado, é rápida,
30 bem tolerada, e facilmente disponível mas tem mais baixa resolução por contraste que um IRM e requer contraste iodado e radiação ionizante (Alberico et al., 2004). Uma desvantagem de ambos TC e IRM é que nenhuma das modalidades de imagiologia proporcionam informação funcional ao nível celular. Por exemplo, nenhuma das modalidades proporciona informação com respeito à viabilidade celular.

5.1 imagiologia ótica

Imagiologia ótica é uma outra modalidade de imagiologia que tem obtido uma ampla aceitação em áreas particulares da medicina. Exemplos incluem marcação ótica de

componentes celulares, e angiografia tal como angiografia por fluoresceína e angiografia por indocianina green. Exemplos de agentes óticos de imagiologia incluem, por exemplo, fluoresceína, um derivado fluoresceína, indocianina green, Oregon green, um derivado de derivado Oregon green, rodamina green, um derivado de rodamina green, uma eosina, uma eritrosina, Texas red um derivado de Texas red, malaquita green, éster nanogold sulfosuccinimidila, cascade blue, um derivado cumarina, um naftaleno, um derivado piridiloxazol, corante cascade yellow, ou corante dapoxila.

6. Ultrassom

Uma outra modalidade biomédica da imagiologia que tem obtido ampla aceitação é o ultrassom. A imagiologia por ultrassom tem sido usada de modo não invasivo para proporcionar imagens de seção transversal em tempo real e ainda imagens tridimensionais de estruturas de tecido mole e informação de fluxo sanguíneo no corpo. Ondas sonoras de alta frequência e um computador criam as imagens dos vasos sanguíneos, tecidos e órgãos.

Imagiologia por ultrassom do fluxo sanguíneo pode ser limitado por um número de fatores tal como tamanho e profundidade do vaso sanguíneo. Agentes de contraste para ultrassom, um desenvolvimento relativamente recente, incluem perfluorina e análogos perfluorina, que são projetados para superar essas limitações mediante contribuir para melhorar as imagens em escala de cinza e os sinais Doppler.

7. Procedimento para imagiologia dual

Certas modalidades da presente invenção estão relacionadas a métodos de realizar imagiologia de um sítio contido em um indivíduo usando duas modalidades de imagiologia que envolvem a medição de um primeiro sinal e um segundo sinal proveniente de um complexo fração de imagiologia-agente quelante-íon metálico. O primeiro sinal é derivado a partir do íon metálico e o segundo sinal é derivado de uma fração de imagiologia. Como apresentado acima, qualquer modalidade de imagiologia conhecida por aqueles usualmente versados na técnica pode ser aplicada nessas modalidades dos presentes métodos de imagiologia.

As modalidades de imagiologia são realizadas em qualquer momento durante ou após a administração de uma composição compreendendo a quantidade diagnosticamente eficaz de uma composição da presente invenção. Por exemplo, os estudos de imagiologia podem ser realizados durante a administração de uma composição de imagiologia dual da presente invenção, ou em qualquer momento em seguida. Em algumas modalidades, a primeira modalidade de imagiologia é realizada começando juntamente com a administração do agente de imagiologia dual, ou cerca de 1 segundo, 1 hora, 1 dia, ou qualquer período maior de tempo em seguida da administração do agente de imagiologia dual, ou em qualquer momento entre qualquer desses tempos estabelecidos.

A segunda modalidade de imagiologia pode ser realizada juntamente com a

primeira modalidade de imagiologia, ou em qualquer momento em seguida da primeira modalidade de imagiologia. Por exemplo, a segunda modalidade de imagiologia pode ser realizada cerca de 1 segundo, cerca de 1 hora, cerca de 1 dia, ou qualquer período maior de tempo em seguida do término da primeira modalidade de imagiologia, ou em qualquer momento entre qualquer desses tempos estabelecidos. Em certas modalidades da presente invenção, a primeira e segunda modalidades de imagiologia são realizadas juntamente tal que eles começam ao mesmo tempo em seguida da administração do agente. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com a performance das diversas modalidades de imagiologia contempladas pela presente invenção.

Em algumas modalidades dos presentes métodos de imagiologia dual, o mesmo dispositivo de imagiologia device é usado para realizar uma primeira modalidade modalidade de imagiologia e uma segunda modalidade de imagiologia. Em outras modalidades, um diferente dispositivo de imagiologia é usado para realizar a segunda modalidade de imagiologia. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com os dispositivos de imagiologia que são disponíveis para performance de uma primeira modalidade de imagiologia e uma segunda modalidade de imagiologia, e aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com o uso desses dispositivos para gerar imagens.

G. Agentes Rádio-marcados

As apresentados acima, certas modalidades das composições da presente invenção incluem um íon metálico quelado a um agente quelante como apresentado acima. Em algumas modalidades, o íon metálico é um radionuclídeo. Agentes rádio-marcados, compostos, e composições providos pela presente invenção são providos possuindo uma quantidade adequada de radioatividade. Por exemplo, em formar complexos radioativos de ^{99m}Tc , é geralmente preferido formar complexos radioativos em soluções contendo radioatividade em concentrações de cerca de 0,01 millicurie (mCi) a cerca de 300 mCi por mL.

Agentes rádio-marcados de imagiologia providos pela presente invenção podem ser usados para a visualização de sítios em um corpo de mamífero. De acordo com essa invenção, os agentes de imagiologia são administrados por qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Por exemplo, a administração pode ser numa única dose unitária injetável. Qualquer dos veículos usuais conhecidos por aqueles usualmente versados na técnica, tal como solução salina estéril ou plasma, pode ser utilizado após rádio-marcação para preparar os compostos da presente invenção para injeção. Geralmente, uma dose unitária a ser administrada tem uma radioatividade de cerca de 0,01 mCi a cerca de 300 mCi, preferivelmente de 10 mCi a cerca de 200 mCi. A solução a ser injetada na dosagem unitária é de cerca de 0,01 mL a cerca de 10 mL.

Após administração intravenosa de uma quantidade diagnosticamente eficaz de uma composição da presente invenção, a imagiologia pode ser realizada. A imagiologia de um sítio em um indivíduo, tal como um órgão ou tumor pode ocorrer, se desejado, em período mais prolongado, após o reagente rádio-marcado ser introduzido em um paciente.

5 Na maioria dos casos, uma quantidade suficiente da dose administrada irá se acumular na área a ser submetida a imagiologia dentro de cerca de 0,1 de uma hora. Como apresentado acima, a imagiologia pode sere realizada usando qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Exemplos incluem PET, SPECT, e cintigrafia gama. Na
10 cintigrafia gama, a rádio-etiqueta é um radionuclídeo emissor de radiação gama e o rádio-traçador é localizado usando uma câmara de detecção de radiação gama. O sítio imageado é detectável porque o rádio-traçador é escolhido ou para se posicionar em um sítio patológico (denominado sítio positivo) ou, de modo alternativo, o rádio-traçador é escolhido especificamente para não se posicionar em tais sítios patológicos (denominado contraste negativo).

15 H. Kits

Certas modalidades da presente invenção are geralmente concerned com kits para preparar an imagiologia ou diagnóstico agente. Por exemplo, em algumas modalidades o kit inclui um ou mais recipientes selados que contain uma predeterminada quantidade de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Em algumas
20 modalidades, o kit adicionalmente inclui um recipiente selado contendo um íon metálico. Por exemplo, o íon metálico pode ser um radionuclídeo ou um íon metálico frio.

Um kit da presente invenção pode incluir um pequeno frasco selado contendo uma predeterminada quantidade de um agente quelante da presente invenção e uma quantidade suficiente do agente redutor para marcar o composto com um íon metálico. Em algumas
25 modalidades da presente invenção, o kit inclui um íon metálico que é um radionuclídeo. Em certas modalidades adicionais, o radionuclídeo é ^{99m}Tc. Em modalidades adicionais da presente invenção, o agente quelante é conjugado a um ligando direcional que pode ser qualquer de daqueles ligandos direcionais discutidos em algum ponto no transcurso desse pedido.

30 O kit pode também conter conventional materiais farmacêuticos adicionais tal como, por exemplo, sais farmaceuticamente aceitáveis para ajustar a pressão osmótica, tampões, conservantes e semelhantes.

Em certas modalidades, um antioxidante é incluído na composição para prevenir a oxidação da fração agente quelante.

35 Em certas modalidades, o antioxidante é vitamina C (ácido ascórbico). Entretanto, é contemplado que qualquer outro antioxidante conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, tal como tocoferol, piridoxina, tiamina, ou rutin, pode também usado. Os

componentes do kit pode estar na forma líquida, congelada, ou seca. Numa modalidade preferida, os componentes do kit são providos em forma liofilizada.

O presente kit frio (isto é, não contendo radioatividade) é considerado ser um produto comercial. O presente kit frio pode servir a um propósito de radiodiagnóstico mediante acrescentar pertecnetato ao frasco com API e agentes de avolumação (agentes que não tenham sido ainda testados). A tecnologia é conhecida como o método “agitar para usar” por aqueles usualmente versados na técnica. O tempo de preparação dos radiofarmacêuticos pode ser menor que 15 minutos. O mesmo kit pode também abranger agentes quelantes ou conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante que podem ser quelados com diferentes metais para diferentes aplicações em imagiologia. Por exemplo, cobre-61 (meia vida 3,3 h) para PET; gadolínio para IRM. O kit frio propriamente pode ser usado para propósitos de prodroga para tratar doença. Por exemplo, o kit pode ser aplicado em imagiologia e terapia que têm por alvo tecido específico.

I. Doença hiperproliferativa

Certos aspectos da presente invenção se relacionam a composições em que uma fração terapêutica é conjugada a um agente quelante da presente invenção. Quando um íon metálico é quelado a um agente quelante ou a ambos um agente quelante e seu conjugado ligando direcional, a composição da presente invenção pode, em certas modalidades, ser útil em imagiologia dual e terapia. Em certas modalidades particulares, a fração terapêutica é uma fração que é um agente sabido ou suspeito de ser benéfico no tratamento ou prevenção de doença hiperproliferativa em um indivíduo. O indivíduo pode ser um animal, tal como um mamífero. Em certas modalidades particulares, o indivíduo é um humano.

Em outras modalidades da presente invenção, o íon metálico é um íon metálico terapêutico (por exemplo, Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90, Sr-89, e Sm-153), e o quelato agente quelante-íon metálico é um agente que é um agente terapêutico (preferentemente que um agente de imagiologia) que pode ser aplicado no tratamento ou prevenção da doença hiperproliferativa.

A doença hiperproliferativa é aqui definida como qualquer doença associada com crescimento celular anormal ou renovação celular anormal. Por exemplo, a doença hiperproliferativa pode ser câncer. O termo “câncer” como usado aqui é definido como um crescimento descontrolado e progressivo de células em um tecido. Aqueles usualmente versados na técnica são conhecedores da existência de outros termos sinônimos, tal como neoplasia ou malignidade ou tumor. Qualquer tipo de câncer está contemplado para tratamento através dos métodos da presente invenção. Por exemplo, o câncer pode ser câncer de mama, câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer cerebral, câncer de fígado, câncer cervical, câncer de cólon, câncer renal, câncer de pele, câncer de cabeça e pescoço, câncer ósseo, câncer de esôfago, câncer de bexiga, câncer de útero, câncer de estômago,

câncer de pâncreas, câncer de testículo, linfoma ou leucemia. Em outras modalidades da presente invenção, o câncer é câncer metastático.

J. Quimioterapia Dual e Terapia de radiação ("Radioquimioterapia")

Em certas modalidades da presente invenção, as composições da presente invenção são adequadas para quimioterapia dual e terapia de radiação (radioquimioterapia). Por exemplo, o agente quelante como aqui apresentados pode ser quelado a um íon metálico que é um íon metálico terapêutico, bem como um ligando direcional que é uma fração terapêutica (tal como uma fração anticâncer). Como um outro exemplo, um íon metálico terapêutico pode ser quelado a ambos um agente quelante e seu conjugado ligando direcional.

Por exemplo, o íon metálico pode ser um beta-emissor. Como definido aqui, um beta-emissor é qualquer agente que emita energia beta de qualquer faixa. Exemplos de beta-emissores incluem Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90, e Sn-153. Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com esses agentes para uso no tratamento de doença hiperproliferativa, tal como câncer.

Aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com o esboço de protocolos quimioterapêuticos e protocolos de terapia de radiação que podem ser aplicados na administração dos compostos da presente invenção. Como apresentado adiante, esses agentes podem ser usados em combinação com outras modalidades terapêuticas direcionadas como tratamento da doença hiperproliferativa, tal como câncer. Além disso, aqueles usualmente versados na técnica estarão familiarizados com a seleção da dose apropriada para administração ao indivíduo. O protocolo pode envolver uma dose única, ou doses múltiplas. O paciente pode ser monitorado quanto à toxicidade e resposta ao tratamento usando protocolos familiares para aqueles usualmente versados na técnica.

K. Preparações Farmacêuticas

Composições farmacêuticas da presente invenção compreendem uma quantidade terapeuticamente ou diagnosticamente eficaz de uma composição da presente invenção. As frases "farmaceuticamente ou farmacologicamente aceitável" ou "terapeuticamente eficaz" ou "diagnosticamente eficaz" se refere a entidades e composições moleculares que não produzam uma reação adversa, alérgica ou outra reação indesejada quando administrados a um animal, tal como, por exemplo, um humano, como apropriado. A preparação de composições terapeuticamente eficazes ou diagnosticamente eficazes será conhecida por aqueles usualmente versados na técnica à luz da presente revelação, como exemplificado por Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, aqui incorporado por referência. Além disso, para administração ao animal (por exemplo, humano), será entendido que as preparações devem satisfazer os padrões de esterilidade, pirogenicidade, segurança geral e de pureza como requeridos pelos Padrões Biológicos do

FDA dos EUA.

Como usado aqui, “uma composição compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz” ou “uma composição compreendendo uma quantidade diagnosticamente eficaz” inclui qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, 5 revestimentos, tensoativos, antioxidantes, conservantes (por exemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotônicos, agentes retardadores da absorção, sais, conservantes, fármacos, estabilizantes de fármacos, géis, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegração, lubrificantes, agentes adoçantes, corantes, materiais semelhantes e combinações desses mencionados, como deve ser do conhecimento 10 daqueles usualmente versados na técnica. A utilização de qualquer veículo é contemplada, a menos que seu uso seja incompatível com o ingrediente ativo.

As composições da presente invenção pode compreender diferentes tipos de veículos dependendo se ele é para ser administrado em forma sólida, líquida ou aerossol, e se é necessário ser estéril para tais rotas de administração como injeção. As composições 15 da presente invenção podem ser administradas de modo intravenoso, intradérmico, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracranial, intraarticular, intraprostática, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítreal, intravaginal, intrarretal, tópica, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutânea, subconjuntival, intravesicular, mucosal, intrapericardial, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, injeção, infusão, infusão 20 contínua, banho de perfusão localizado diretamente nas células alvo, através de um cateter, através de uma lavagem, em composições lipídicas (por exemplo, liposomas), ou através de outro método ou qualquer combinação dos até agora mencionados como possa ser conhecido por aqueles usualmente versados na técnica.

A real quantidade requerida de uma composição da presente invenção 25 administrada a um paciente pode ser determinada por meio de fatores físicos e fisiológicos tal como peso corporal, gravidade da condição, do tecido a ser submetido a imagiologia, o tipo de doença que está sendo tratada, imagiologia ou intervenções terapêuticas anteriores ou concomitantes, idiopatia do paciente, e da rota de administração. O profissional responsável pela administração deverá, em qualquer eventualidade, determinar a 30 concentração do(s) ingrediente ativo(s) numa composição e a(s) dose(s) apropriada(s) a ser indicada para o indivíduo.

Em certas modalidades, as composições farmacêuticas podem compreender, por exemplo, pelo menos de cerca de 0,1% do quelato agente quelante-íon metálico. Em outras modalidades, o composto ativo pode compreender entre cerca de 2% a cerca de 75% do 35 peso da unidade, ou de entre cerca de 25% a cerca de 60%, por exemplo, e qualquer faixa derivável contida. Em outros exemplos não limitantes, uma dose pode também compreender de cerca de 0,1 mg/kg/peso corporal a cerca de 1000 mg/kg/peso corporal ou qualquer

quantidade contida nessa faixa, ou qualquer quantidade maior que 1000 mg/kg/peso corporal por administração.

Em qualquer caso, a composição pode compreender diversos antioxidantes para retardar a oxidação de um ou mais componente. Adicionalmente, a prevenção da ação de microorganismos pode ser conseguida através de conservantes tal como diversos agentes antibacterianos e antifúngicos, incluindo, mas não limitados a parabenos (por exemplo, metilparabenos, propilparabenos), clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal ou combinações desses mencionados.

As composições da presente invenção podem ser formuladas numa base livre, neutra ou forma salina. Sais farmaceuticamente aceitáveis incluem os sais formados com os grupos carboxila livres derivados de bases inorgânicas tal como por exemplo, sódio, potássio, amônio, cálcio ou hidróxidos férricos; ou bases orgânicas tais como isopropilamina, trimetilamina, histidina ou procaína.

Em modalidades onde a composição está na forma líquida, um veículo pode ser um solvente ou meio de dispersão que compreende, mas não limitado a, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, polietileno glicol líquido, etc.), lípidios (por exemplo, triglicerídeos, óleos vegetais, lipossomas) e combinações desses mencionados. A apropriada fluidez pode ser mantida, por exemplo, através do uso de um revestimento, tal como lecitina; mediante a manutenção do requerido tamanho de partícula pela dispersão em veículos tal como, por exemplo poliol líquido ou lípidios; pelo uso de tensoativos tal como, por exemplo hidroxipropilcelulose; ou combinações desses tais métodos mencionados. Em muitos casos, será preferível incluir agentes isotônicos, tal como, por exemplo, açúcares, cloreto de sódio ou combinações desses mencionados.

Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas usando técnicas tal como esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas mediante incorporar os diversos ingredientes ativos esterilizados em um veículo estéril que contenha o meio básico de dispersão e/ou outros ingredientes. No caso de pós estéreis para uma preparação de soluções, suspensões ou emulsões estéreis injetáveis, os métodos preferidos de preparação são técnicas de secagem em vácuo ou de secagem por congelamento que produzem um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente adicional desejado a partir de um seu meio líquido previamente esterilizado por filtração. O meio líquido deve ser adequadamente tamponado se necessário e o diluente líquido primeiramente tornado isotônico antes da injeção com suficiente salino ou glicose. A preparação de composições altamente concentradas para injeção direta é também contemplada, onde o uso de DMSO (dimetilsulfóxido) como solvente é vislumbrado para resultar em penetração extremamente rápida, aplicando altas concentrações dos agentes ativos a áreas pequenas.

A composição precisa ser estável sob as condições de fabricação e de

armazenamento, e conservada contra a ação de contaminação por microorganismos, tal como bactérias e fungos. Será notado que a contaminação por endotoxinas devem ser mantida em níveis minimamente seguros, por exemplo, menor que 0,5 ng/mg proteína.

Em modalidades particulares, a absorção prolongada de uma composição injetável pode ser conseguida através do uso nas composições de agentes retardadores de absorção, tal como, por exemplo, monoestearato de alumínio, gelatina ou combinações desses mencionados.

L. Terapia por Combinação

Certos aspectos da presente invenção se relacionam a composições compreendendo um agente quelante que é conjugado a um ligando direcional que é uma fração terapêutica. Em outras modalidades, o agente quelante inclui uma sequência aminoácido que é uma sequência aminoácido terapêutica.

Essas composições podem ser aplicadas no tratamento de doenças, tal como câncer e doença cardiovascular, juntamente com um outro agente ou método terapêutico. O tratamento com essas composições da presente invenção pode preceder ou seguir os outros métodos terapêuticos em intervalos variando desde minutos até semanas. Em modalidades onde um outro agente é administrado, se pode geralmente garantir que um significativo período de tempo não decorra entre o momento de cada aplicação, tal que os agentes possam ser ainda capazes de exercerem um vantajoso efeito combinado sobre a célula. Ia. Por exemplo, é contemplado que se pode administrar dois, três, três ou mais doses de um agente de modo substancialmente simultâneo (isto é, dentro de menos que cerca de um minuto) com as composições da presente invenção. Em outros aspectos, um agente terapêutico ou método pode ser administrado no intervalo de cerca de 1 minuto a cerca de 48 horas ou mais antes e/ou após a administração de uma quantidade terapêutica de uma composição da presente invenção, ou antes e/ou após qualquer quantidade de tempo não aqui apresentada. Em certas outras modalidades, uma composição da presente invenção pode ser administrada no intervalo de cerca de 1 dia a cerca de 21 dias antes e/ou após a administração de uma outra modalidade terapêutica, tal como cirurgia ou terapia genética. Em algumas situações, pode ser desejável ampliar o período de tempo para tratar significativamente, principalmente onde exista um intervalo entre as respectivas administrações (por exemplo, cerca de 1 a 8 semanas ou mais).

Diversas combinações podem ser empregadas, como demonstrado adiante, em que um conjugado da presente invenção é designado "A" e o agente secundário, que pode ser qualquer outro agente ou método terapêutico, é "B":

A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B
B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A
B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

A administração das composições da presente invenção a um paciente irá seguir protocolos gerais para a administração de quimioterápicos, levando em conta a toxicidade, se houver, de qualquer desses agentes. É esperado que os ciclos de tratamento possam ser repetidos como o necessário. É também contemplado que diversas terapias padrões, bem como intervenções cirúrgicas, podem ser aplicadas em combinação com o agente descrito. Essas terapias incluem mas não estão limitadas a farmacoterapias adicionais (tal como quimioterapia para câncer), radioterapia adicional, imunoterapia, terapia genética e cirurgia.

1. Quimioterapia

Terapias de câncer também incluem uma variedade de terapias de combinação com ambos os tratamentos químico e por radiação. As quimioterapias de combinação incluem, por exemplo, cisplatina (CDDP), carboplatin, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, camptotecina, ifosfamida, melfalan, clorambucila, busulfan, nitrosurea, dactinomicina, daunorubicina, Doxorubicina, bleomicina, plicomicina, mitomicina, etoposida (VP16), tamoxifen, raloxifeno, agentes ligantes a receptor estrogênio, taxol, gemcitabina, navelbina, inibidores farnesil-proteína transferase, transplatino, 5-fluorouracila, vincristina, vinblastina e metotrexato, ou qualquer análogo ou variante derivada dos mencionados.

2. Radioterapia

Outros fatores que produzem danos ao DNA e têm sido muito usados incluem aqueles comumente conhecidos como raios- γ , raios-X, e/ou aplicação direcionada de radioisótopos às células tumorais. Outras formas de fatores prejudiciais ao DNA são também contemplados tal como microondas e irradiação-UV. É muito provável que a totalidade desses fatores influenciem uma ampla faixa de danos ao DNA, em precursores DNA, na replicação e reparo de DNA, e na montagem e manutenção de cromossomos. As faixas de dosagens para raios-X variam desde doses diárias de 50 a 200 roentgens por períodos prolongados de tempo (3 a 4 semanas), a doses simples de 2000 a 6000 roentgens. As faixas de dosagens para radioisótopos variam amplamente, e dependendo da meia-vida do isótopo, e da força e tipo da radiação emitida, e da captação pelas células neoplásicas. Os termos "contatada" e "exposta", quando aplicado a uma célula, são usados aqui para descrever o processo através do qual um construto terapêutico e um agente quimioterapêutico ou quimioterápico são entregues a uma célula alvo ou são colocados em justaposição direta com a célula alvo. Para conseguir a aniquilação ou a estase da célula, ambos os agentes são aplicados a uma célula numa quantidade combinada eficaz para aniquilar a célula ou prevenir sua divisão.

3. Imunoterapia

Imunoterápicos, se baseiam geralmente no uso de células e moléculas imuno-efetoras para alvejar e destruir células cancerosas. O imuno-efetor pode ser, por exemplo, um anticorpo específico para algum marcador sobre a superfície de uma célula tumoral. O

anticorpo sozinho pode servir como um efector da terapia ou ele pode recrutar outras células para em realidade efetuar a aniquilação celular. O anticorpo também pode ser conjugado a um fármaco ou toxina (quimioterápico, radionucleotídeo, cadeia ricina A, toxina do cólera, toxina da coqueluche, etc.) e servir simplesmente como um agente direcional. De modo alternativo, o efector pode ser um linfócito portador de uma molécula de superfície que interage ou diretamente ou indiretamente com uma célula tumoral objetivada. Diversas células efectoras incluem células T citotóxicas e células NK.

A imunoterapia, desse modo pode ser usada como parte de uma terapia combinada, em conjunto com terapia genética. A abordagem geral para a terapia combinada é discutida adiante. Geralmente, a célula tumoral precisa portar algum marcador que seja receptivo ao alvo objetivado, isto é, não estar presente na maioria das outras células. Existem muitos marcadores de tumor e quaisquer desses podem ser adequados para serem direcionais no contexto da presente invenção. Usuais marcadores tumorais incluem antígeno carcinoembrionário, antígeno prostático específico, antígeno associado ao tumor, antígeno fetal, tirosinase (p97), gp68, TAG-72, HMFG, Antígeno Sialil Lewis, MucA, MucB, PLAP, receptor estrogênio, receptor laminina, erb B e p155.

4. Genes

Em ainda uma outra modalidade, o tratamento secundário é uma terapia genética em que uma composição terapêutica é administrada antes, após, ou ao mesmo tempo como os agente terapêuticos da presente invenção. A aplicação de uma quantidade terapêutica de uma composição da presente invenção em conjunto com um vetor que codifica um produto genético terá um efeito combinado anti-hiperproliferativo sobre os tecidos tidos por alvo.

5. Cirurgia

Aproximadamente 60% das pessoas com câncer irão experimentar cirurgia de algum tipo, que inclui cirurgia preventiva, diagnóstica ou de segmentação, curativa e paliativa. A cirurgia curativa é um tratamento de câncer que pode ser usada em conjunto com outras terapias, tal como o tratamento da presente invenção, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia genética, imunoterapia e/ou terapias alternativas. Cirurgia curativa inclui a ressecção na qual a totalidade ou parte do tecido canceroso é fisicamente removido, extirpada, e/ou destruída. A ressecção tumoral se refere à remoção física de pelo menos parte de um tumor. Adicionalmente à ressecção do tumor, o tratamento por cirurgia inclui cirurgia laser, criocirurgia, eletrocirurgia, e cirurgia controlada microscopicamente (cirurgia de Moh). É adicionalmente contemplado que a presente invenção pode ser usada em conjunto com a remoção de cânceres superficiais, pré-cânceres, ou quantidades incidentais de tecido normal.

M. Outras modalidades da presente invenção

Em um aspecto, a presente invenção geralmente está relacionada a um método de

sintetizar um agente quelante, tal como EC, compreendendo pelo menos três grupos funcionais, o método compreendendo obter um agente quelante e um ou outro de:

(a)proteger pelo menos um primeiro grupo funcional do agente quelante com um primeiro agente protetor para gerar um agente quelante primeiramente protegido; ou

5 (b)realizar quelação do agente quelante a um íon metálico para gerar um agente quelante marcado com íon metálico.

Qualquer método de síntese como aqui descrito, tal como esse, pode ocorrer em um meio orgânico, como aqui descrito. O método pode adicionalmente compreender pelo menos uma etapa de purificação, como aqui descrito. Agentes quelantes, grupos funcionais, 10 íons metálicos e modos de quelação e conjugação que podem ser usados nos métodos da presente invenção são familiares para aqueles usualmente versados na técnica e são descritos aqui. O agente quelante pode adicionalmente compreender um separador como aqui descrito, tal como etileno. Tais agentes quelantes são intermediários úteis para a preparação de conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

15 Em algumas modalidades, o método compreende proteger pelo menos um primeiro grupo funcional do agente quelante com um primeiro agente protetor para gerar um agente quelante primeiramente protegido. Em certas modalidades, o primeiro grupo funcional é um grupo funcional tiol. Em certas modalidades, o primeiro agente protetor é um agente protetor tiol. Em modalidades adicionais, o agente protetor tiol é selecionado a partir do grupo que 20 compreende um haleto de alquila, um haleto de benzila, um haleto de benzoíla, um haleto de sulfonila, um haleto de trifenilmetila, um haleto de metoxitritfenilmetila e cisteína.

O método pode, em algumas modalidades, compreender proteger um segundo grupo funcional com um segundo agente protetor para gerar um o agente quelante secundariamente protegido. Em certas modalidades, o primeiro grupo funcional compreende 25 pelo menos um grupo funcional tiol e o segundo grupo funcional compreende pelo menos um grupo funcional amina. Em algumas modalidades, um grupo funcional tiol é primeiramente protegido com um agente protetor tiol e em seguida um grupo funcional amina é protegido com um agente protetor amina. Em modalidades adicionais, um agente protetor amina é selecionado a partir do grupo que compreende cloroformiato de benzila, p- 30 nitro-formiato de clorobenzila, cloroformiato de etila, di-ter-butil-dicarbonato, cloreto de trifenilmetila e cloreto de metoxifenilmetila. Um exemplo de um agente quelante que pode ser preparado compreende etilenodicisteína, em que os dois grupos tiol da etilenodicisteína estão protegidos com dois equivalentes de um agente protetor tiol seguido pela proteção dos dois grupos amina da etilenodicisteína com dois equivalentes de um agente protetor 35 amina. Uma vez que grupos tiol são mais reativos que grupos amina, grupos tiol serão tipicamente protegidos antes dos grupos grupos amina serem protegidos.

Em outras modalidades, o método adicionalmente compreende remover um ou

mais grupos protetores de qualquer composição descrita aqui compreendendo um ou mais grupos protetores. Os grupos protetores podem ser removidos, por exemplo, a partir da fração agente quelante, da fração ligando direcional, ou de ambas as frações em uma ou mais etapas antes ou após um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente
5 quelante ser quelado a um íon metálico, como aqui descrito. Grupos protetores são descritos aqui em mais detalhes, incluindo suas instalação e remoção.

Qualquer composição da presente invenção pode ser purificada através de qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Métodos de purificação são descritos aqui em mais detalhes. Em algumas modalidades, o agente
10 quelante primeiramente protegido é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro. Em algumas modalidades, o o agente quelante secundariamente protegido é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro.

Em algumas modalidades, métodos da presente invenção adicionalmente compreendem a conjugação de um agente quelante a um ligando direcional, em que o
15 ligando direcional e/ou o agente quelante compreende pelo menos um grupo funcional para formar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante. Em algumas modalidades, um grupo funcional do ligando direcional está protegido por pelo menos um agente protetor antes da conjugação ao agente quelante. Em algumas modalidades, pelo menos um grupo funcional é um ácido carboxílico grupo funcional. Em algumas
20 modalidades, o grupos funcionais do agente quelante e o ligando direcional juntos formam um quelato. A quelação do íon metálico ao agente quelante pode ser por qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica.

A conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante da presente invenção pode adicionalmente compreender um ligador entre o agente quelante e o ligando
25 direcional, como aqui descrito. Como mencionado, o ligando direcional pode ser de qualquer tipo conhecido por aqueles usualmente versados na técnica, e tais ligandos são discutidos aqui em mais detalhes.

Outros aspectos gerais da presente invenção contemplam um método de sintetizar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon
30 metálico, que compreende:

(a) obter um agente quelante protegido compreendendo pelo menos três grupos funcionais protegido por pelo menos um agente protetor;

(b) conjugar o agente quelante protegido a um ligando direcional para gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante;

35 (c) remover pelo menos um grupo protetor do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante;

(d) realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante do conjugado ligando

direcional que tem por alvo um agente quelante; e

(e) removing quaisquer grupos protetores remanescentes.

O agente quelante, agentes protetores, grupos funcionais, modo de conjugação, ligando direcional, método de remover um grupo protetor, modo de quelação e íon metálico pode ser que de qualquer tipo descrito aqui. O método pode ocorrer em um meio orgânico, como aqui descrito. O método pode compreender um ou mais purificação etapas, como aqui descrito. Em algumas modalidades, pelo menos um grupo funcional do ligando direcional está protegido por pelo menos um agente protetor antes da conjugação. Em modalidades preferidas, três ou quatro átomos do agente quelante are disponíveis para a quelação.

Outros aspectos gerais da presente invenção contemplam um método de sintetizar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico que compreende:

(a) obter um agente quelante compreendendo pelo menos três grupos funcionais;

(b) realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante para gerar um agente quelante marcado com íon metálico;

(c) conjugar o agente quelante marcado com íon metálico a um ligando direcional.

O agente quelante, grupos funcionais, modo de conjugação, ligando direcional, modo de quelação e íon metálico podem ser que de qualquer tipo descrito aqui. O método pode ocorrer em um meio orgânico, como aqui descrito. O método pode compreender uma ou mais etapas de purificação, como aqui descrito. Em algumas modalidades, pelo menos um grupo funcional do ligando direcional está protegido por pelo menos um agente protetor antes da conjugação. O método pode adicionalmente compreender a remoção de todos os grupos protetores do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico. O método também contempla, em certas modalidades, pelo menos um grupo funcional do ligando direcional sendo protegido por pelo menos um agente protetor antes da conjugação.

A presente invenção também contempla kits para preparar um agente de imagiologia, um agente quimioterápico, ou a radio/agente quimioterápico, compreendendo um ou mais recipientes selados, e uma predeterminada quantidade de qualquer composição como aqui descrito em um ou mais dos recipientes selados. A presente invenção também contempla, em algumas modalidades, um agente de imagiologia, quimioterápico, ou agente rádio/quimioterápico, compreendendo qualquer composição como aqui descrito.

Em algumas modalidades, a presente invenção contempla um método de imagiologia ou de tratamento de um indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade farmacologicamente eficaz de qualquer composição como aqui descrito. O indivíduo pode ser um mamífero, tal como um humano.

N. Métodos de Diagnose, Tratamento, ou de Imagiologia em um indivíduo com

Doença Cardíaca Sabida ou Suspeita

Modalidades da presente invenção também estão geralmente relacionadas a métodos de diagnose, tratamento, ou imagiologia em um indivíduo com doença cardíaca sabida ou suspeita. O indivíduo pode ser qualquer indivíduo, tal como um mamífero ou espécie aviária. O mamífero, por exemplo, pode ser um cão, gato, rato, camundongo, ou humano. Em modalidades preferidas, o indivíduo é um humano com doença cardiovascular sabida ou suspeita.

A doença cardiovascular pode ser qualquer doença do coração ou de um vaso sanguíneo. O vaso sanguíneo pode ser um vaso coronariano, ou pode ser um vaso outro que um vaso coronariano. O vaso pode ser uma artéria, veia, arteríola, vênula, ou capilar.

Exemplos de doenças cardiovasculares incluem doenças do coração, tal como infarto do miocárdio, isquemia do miocárdio, angina pectoris, falha cardíaca congestiva, cardiomiopatia (congenita ou adquirida), arritmia, ou doença valvular cardíaca. Em modalidades particulares, o indivíduo é sabido ou suspeito de ter isquemia do miocárdio.

O indivíduo, por exemplo, pode ser um paciente que se apresenta a uma clínica com sinais ou sintomas sugestivos de isquemia do miocárdio ou infarto do miocárdio. A imagiologia do coração do indivíduo para diagnosticar a doença pode envolver administrar ao indivíduo uma quantidade farmacologicamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico sintetizado usando qualquer dos métodos aqui apresentados. A imagiologia pode ser realizada usando qualquer modalidade de imagiologia conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em modalidades particulares, a imagiologia envolve uso de tecnologia de imagiologia de base radionuclídeo, tal como PET ou SPECT. Em modalidades particulares, o conjugado ligando direcional que tem por alvo radionuclídeo marcado com íon metálico é ^{99m}Tc -EC-glicosamina. Glicosamina é ativamente capturada pelo tecido miocardial viável. Áreas do miocárdio isquêmicas podem capturar menos ou nenhum conjugado. A gravidade da isquemia pode ser visualmente avaliada ou classificada dependendo da magnitude do sinal que é medido usando qualquer método conhecido por aqueles usualmente versados na técnica. Em algumas modalidades, a imagiologia usando qualquer dos conjugados aqui apresentados é realizada antes, durante, ou após a imagiologia do coração usando uma segunda modalidade de imagiologia. Por exemplo, a segunda modalidade de imagiologia pode ser cintigrafia de tálio.

A perfusão miocardial SPECT (MPS) consiste de uma combinação de uma modalidade de estresse (por exercício ou farmacológico) com a administração de repouso e estresse e a imagiologia de radiofármacos. O tálio tem excelentes propriedades fisiológicas para a imagiologia miocardial por perfusão. Sendo altamente extraído durante a primeira passagem através da circulação coronariana, uma relação linear entre o fluxo sanguíneo ao

miocárdio viável e a captação de tálio tem se mostrado durante o exercício; todavia, em níveis muito altos de fluxo, ocorre um “fechamento” na captação. Como um análise de potássio não ligado, o tálio se redistribui durante o tempo. Sua distribuição inicial é proporcional à perfusão regional e no equilíbrio, a distribuição do tálio é proporcional ao acúmulo regional de potássio, refletindo o miocárdio viável. Os mecanismos de redistribuição de tálio são diferenciais taxas de arraste entre miocárdio hipo-perfundido porém viável e zonas normais e de renovação para as zonas inicialmente hipo-perfundidas. A taxa de arraste do tálio é o gradiente de concentração entre a célula miocárdial e o sangue. Existe uma liberação mais lenta de tálio no sequência em seguida a uma injeção de repouso ou de baixo nível de exercícios. Taxas lentas de difusão por arraste, imitando isquemia difusa, podem ser observadas em pacientes normais que não conseguem níveis adequados de estresse. Estados hiperinsulinêmicos freiam a redistribuição, levando a uma sub-avaliação do miocárdio viável; assim o jejum é recomendado antes e por 4 horas em seguida da injeção de tálio. Isso é porque se EC-G é usado como um agente viável em combinação com tálio ele terá por alvo a área precisa de interesse que seria a área viável (Angello et al., 1987; Gutman et al., 1983; Pohost et al., 1977).

Imagiologia usando qualquer dos conjugados ligandos direcionais marcados com íon metálico que tem por alvo um agente quelante da presente invenção pode ser também realizada em conjunto com outros métodos diagnósticos, tal como medição de isozimas cardíacas, ou cateterismo cardíaco. A imagiologia pode ser realizada em diversos intervalos em seguida ao início dos sintomas, ou pode ser realizada para avaliar quanto a alterações na perfusão miocárdial no transcurso do tempo.

O. Exemplos

Os exemplos apresentados a seguir são incluídos para demonstrar certos aspectos não limitantes da invenção. Será notado por aqueles usualmente versados na técnica que as técnicas reveladas nos exemplos que são apresentados adiante representam técnicas descobertas pelos inventores para o bom funcionamento na prática da invenção. Entretanto, aqueles usualmente versados na técnica, à luz da presente revelação, percebem que muitas alterações podem ser feitas nas modalidades específicas que são reveladas e ainda obterem um resultado igual ou similar sem se afastar do espírito e escopo da invenção.

As Figuras apresentadas a seguir, estruturas químicas e detalhes sintéticos proporcionam certos compostos da presente invenção.

EXEMPLO 1

Exemplo não limitante de uma síntese orgânica de N,N-Etilenodicisteína-glicosamina (EC-G). Ver FIG. 1.

Etapla 1: Síntese of S,S'-Bis-benzil-N,N'-etilenodicisteína (Bz-EC)

Cisteína-HCl (30 g) foi dissolvida em água (100 mL). A isto, 37% formaldeído (22,3

mL) foi acrescentado e a mistura reacional foi agitada de um dia para o outro na temperatura ambiente. Piridina (25 mL) foi em seguida acrescentada e um precipitado se formou. Os cristais foram separados e lavados com etanol (50 mL), em seguida filtrado com um funil Buchner. Os cristais foram triturados com éter de petróleo (150 mL), novamente filtrados e secos. O precursor, ácido L-tiazolidine-4-arboxílico (p.f. 195 °C, reported 196-197 °C) pesou 23,408 g. O precursor (22 g) foi dissolvido em amônia líquida (200 mL) e mantido em refluxo. Sódio metálico foi acrescentado até que surgisse uma cor azul persistente por 15 min. Cloreto de amônio foi acrescentado à solução azul, os solventes foram evaporados até a secura. O resíduo foi dissolvido em água (200 mL) e o pH foi ajustado para 2 com HCl concentrado. Um precipitado foi formado, filtrado e lavado com água (500 mL). O sólido foi secado em um dessecador de cloreto de cálcio. A EC foi em seguida preparada 10,7 g (p.f. 237 °C, reportado 251-253 °C). A estrutura de EC foi confirmada por H-1 e C-13 NMR. EC (2,684 g, 10 mmol) foi dissolvida em 1N NaOH (40 mL). Cloreto de benzila (5,063 g, 40 mmol) foi dissolvido em dioxano (30 mL) e agitado. A reação foi agitada por 30 min. O pH da solução foi ajustado para 2 com HCl concentrado. O precipitado foi filtrado e lavado com água e recristalizado com ácido trifluoracético, produzindo 79,0% (3,5454 g), p.f. 227-229 °C (dec.) (reportado 229-230 °C). A estrutura de Bz-EC foi confirmada por H-1 e C-13 NMR.

Etapa 2: Síntese of S,S'-Bis-benzil-N,N'-bis-CBZ etilenodiciesteína (Cbz-Bz-EC)

Bz-EC (2,243 g, 5 mmol) foi dissolvida em solução de carbonato de sódio (1,20 g, 11,2 mmol) e o pH foi ajustado para 10 usando 1N NaOH. O volume aquoso final foi de 30 mL. Cloroformiato de benzila (233 mL, 16,5 mmol) foi dissolvido em dioxano (0,75 mL) e agitado. O pH foi ajustado para 10 mediante agitar Na₂CO₃ sólido. A mistura reacional foi agitada por 2 horas e extraída com éter dietílico para remover o excesso de cloroformiato de benzila (CBZ). O pH da camada aquosa foi ajustado para 2 com 1N HCl e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi secada sobre sulfato de magnésio anidro e o solvente foi evaporado. O resíduo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel eluída com CH₂Cl₂:ácido acético (99:1) a CH₂Cl₂:metanol:ácido acético (94:5:1) para produzir o produto desejado 87,2% (3,127 g). A estrutura de Cbz-Bz-EC foi confirmada por H-1 e C-13 NMR.

Etapa 3: Síntese de conjugado (tetracetato) de S,S'-Bis-benzil-N,N'-bis-CBZ etilenodiciesteína-glicosamina (Cbz-Bz-EC-G-4-Ac)

A um frasco agitado de diclorometano (22 mL), Cbz-Bz-EC (2,1467 g, 3 mmol) foi acrescentado. Isto foi seguido por diciclohexilcarbodiimida (DCC) (2,476 g, 12 mmol) e dimetilaminopiridina (1,466 g, 12 mmol). Cloridrato tetracetilado de glicosamina (2,533 g, 6,6 mmol) (4-Ac-G-HCl) (Oakwood Products Inc., West Columbia, SC) foi acrescentado à mistura e agitada até completamente dissolvido. A estrutura de 4-Ac-G-HCl foi confirmada por H-1 e C-13 NMR. A reação foi agitada na temperatura ambiente de um dia para o outro.

Água (0 5 mL) foi acrescentado e o sólido foi filtrado. O filtrado foi seco sobre sulfato de magnésio anidro e o solvente foi evaporado. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando diclorometano:metanol:ácido acético(9,9:0:0.1) a 56,4:3:0,6 como a fase móvel. O produto foi isolado 66,4% rendimento (2,7382 g). H-1 e C-13 NMR de Cbz-Bz-EC-G-4-Ac proporcionou confirmação bem como espectrometria de massa.

Etapa 4: Síntese de N,N'-etilenodisteína-glicosamina (EC-G)

Cbz-Bz-EC-G-4-Ac (687,7 mg, 0,5 mmol) foi dissolvida em amônia líquida (20 mL) e peças de sódio (223 mg, 10 mmol) foram acrescentadas. Após acrescentar a totalidade do sódio, a mistura reacional manteve uma coloração azul escura por 20 minutos. Cloreto de amônio (641,9 mg, 12 mmol) foi acrescentado lentamente e a solução azul escuro se tornou incolor. A amônia líquida foi removida por nitrogênio. O sólido residual foi dissolvido em água e dialisado de um dia para o outro usando MW<500. O produto bruto pesou 206,7 mg (rendimento: 70%). H-1 e C-13 NMR do composto bruto EC-G bis-acetilado foram obtidos juntamente com o espectro de massa. O íon molecular foi 861 que continha a matriz 187 e íon gerador 674 (EC-G bis-acetilado). O íon principal (100%) foi 656 que foi a partir da perda de água. O composto EC-G bis-acetilado (200 mg) foi adicionalmente purificado mediante dissolução em carbonato de sódio e agitação por 2 horas. O produto, EC-G, foi em seguida liofilizado, produzindo um peso de 70 mg. H-1 NMR e C-13 NMR de EC-G foram então obtidos. C-13 NMR de EC-G apresentou 16 picos importantes de carbono. O espectro de massa de EC-G foi difícil de obter devido à sua hidrofiliabilidade e sua tendência a ser retido na coluna de espectrometria de massa. Entretanto, o composto EC-G bis-acetilado é menos hidrofílico que EC-G; assim, o espectro de massa de EC-G bis-acetilado pode ser obtido. O espectro de massa de EC-G mostrou que havia pequena impureza proveniente do composto EC-G bis-acetilado resultante do procedimento de hidrólise incompleta. H-1 e C-13 NMR de EC-G estavam próximos dos valores previstos de EC-G. Embora 10 picos de carbono sejam esperados para a estrutura simétrica de EC-G, glicosamina tem 12 carbonos em lugar de 6 carbonos, sugerindo que a glicosamina possui duas configurações. Valores experimentais de H-1 NMR pareceram ter um perfil um tanto diferente que os valores preditos; entretanto, valores experimentais C-13 NMR de glicosamina estavam próximos aos valores previstos de glicosamina. Assim, EC-G parece ter duas configurações.

EXEMPLO 2

Exemplo não limitante de uma síntese orgânica de ^{187}Re -EC-G usando Re-EC e Glicosamina Protegida - Ver Figura 2

^{187}Re -EC-G foi usado como um padrão de referência para $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC devido à similaridade na estrutura e liofilicidade. A síntese de Re-EC-G frio é mostrado na Figura 2. A uma solução agitada de etanol, pequenas escamas de sódio (144,8 mg, 6,3 mmol) foram acrescentados lentamente em 10 mL de etanol numa garrafa de 50 mL sob nitrogênio. Após

dissolução do sódio metálico, EC (536,8 mg, 2,0 mmol) foi acrescentada. A mistura reacional foi agitada por 1 hora na temperatura ambiente a fim de formar sal EC-Na. Cloreto de trifenilfosfin-rênio ($\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$, 1,8329 g, 2,2 mmol) foi acrescentado. A cor verde oliva de $\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2$ se alterou para uma coloração verde floresta. A mistura reacional foi agitada por 1 hora e em seguida mantida em refluxo por 30 min. A mistura reacional foi em seguida filtrada e o filtrado foi evaporado até a secura produzindo um pó roxo cinzento de Re-EC (818,4 mg, 80% rendimento). A estrutura de Re-EC foi confirmada por H-1 e C-13 NMR e espectrometria de massa. Re possui dois pesos moleculares isoméricos que são 185 e 187. Portanto, ele mostra distintivamente dois íons geradores com relações 40:60.

A um solvente dimetilformamida agitado (4 mL), Re-EC (116,9 mg, 0,25 mmol) foi acrescentado seguido por 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU) (150 mL, 1,0 mmol). Em seguida, dicicloexilcarbodiimida (DCC) (123,8 mg, 0,6 mmol) foi acrescentado. A mistura reacional foi agitada por 1 hora. Glicosamina tetraacetilada (4-Ac-G-HCl) (184,9 mg, 0,5 mmol) foi acrescentada e em seguida a reação foi agitada na temperatura ambiente de um dia para o outro. Água (1 mL) foi acrescentada e a reação agitada por 1 hora adicional na temperatura ambiente. A mistura reacional foi evaporada sob pressão reduzida. Água (5 mL) foi acrescentada, seguido por clorofórmio (5 mL). A camada aquosa foi separada e liofilizada para produzir um sólido bruto marrom escuro. O sólido foi purificado através de cromatografia em coluna usando Sephadex G-50 para produzir Re-EC-G frio (128,4 mg, 65% rendimento). A estrutura de Re-EC-G frio foi confirmado por H-1 e C-13 NMR e espectrometria de massa. Novamente, o complexo-Re mostra distintivamente dois íons geradores com relações 40:60.

A análise elementar de Re-EC-G frio mostrou $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{ReS}_2$ (C, H, N) com o valor calculado C:30,41, H:4,47, N:7,09; valor encontrado C:30,04, H:4,93, N:6,09. H-1 e C-13 NMR de Re-EC-G frio foi similar à espectrometria NMR prevista. EC-G (5 mg) foi marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (pertechnetato) (1 mCi) em presença de cloreto de estanho(II) (0,1 mg). A análise HPLC mostrou que Re-EC-G frio tinha um tempo de retenção similar àquele do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G.

EXEMPLO 3

Síntese de EC-G usando EC e Glicosamina em uma Reação Aquosa

EC (107 mg, 0,4 mmol) foi dissolvida em NaHCO_3 (1N, 12 mL). A esta solução incolor, sulfo-N-hidroxissuccinimida (sulfo-NHS, 173,7 mg, 0,8 mmol) e cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC) (Aldrich Chemical Co, Milwaukee, WI) (153,4 mg, 0,8 mmol) foram acrescentados. Sal cloridrato de D-Glicosamina hidrócloride (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) (345 mg, 1,6 mmol) foi em seguida acrescentada. Um pH de 8 foi medido. A mistura foi agitada na temperatura ambiente por 16 horas e em seguida dialisada por 24 horas usando membrana porosa molecular Spectra/POR com corte a 500

(Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX). Após diálise, o produto foi filtrado por um filtro de náilon de 0,45 μm e em seguida secado por congelamento em um liofilizador (Labconco, Kansas City, MO). O produto bruto pesou 300-400 mg. H-1 NMR de EC-G mostrou padrões similares; entretanto, parece que a mistura não é tão pura quando comparada a EC-G orgânica. A análise elementar mostrou que a pureza de EC-G era de 63-77% usando diferentes relações de reação entre EC e glicosamina. HPLC-preparativa (7,8 $\times$ 300 mm coluna C-18, Waters) (vazão: 0,5 mL/min, 100% água, UV 235 nm) foi usada para purificar o produto bruto, 180-240 mg (rendimento 60%). H-1 e C-13 NMR de EC-G após HPLC-preparativa mostrou picos adicionais sugerindo impurezas de mono EC-G ou EC-glicosamina, sulfo-NHS e EDAC. A purificação por HPLC-preparativa da matéria prima EC-G produziu alguma melhoria incremental à pureza química; todavia, quando a matéria prima EC-G é marcada com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ em presença de cloreto de estanho(II), uma pureza radioquímica maior que 95% de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G pode ser conseguida usando gliconato como um agente transquelante (como mostrado na relação- TLC e análise HPLC).

EXEMPLO 4

Estudo da Captação Celular Comparando Produtos Sintetizados Através do Método Aquoso e o Método Orgânico

Para adicionalmente validar a atividade biológica de EC-G, ensaios celulares in vitro foram realizados. Em resumo, a captação celular foi determinada em células tumorais (50.000 células/cava) incubado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G (2 μCi /cava) em diversos intervalos de tempo. O ensaio de captação celular não apresentou diferença marcante entre matéria prima (não purificado) EC-G e HPLC-preparativa purificado EC-G (FIG. 4) estudos de estabilidade in vitro foram determinados ou usando cultura de células ou dissolvendo EC-G em água. Houve uma redução de 10-15% na captação celular usando $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G após 2-4 semanas. A vida útil da EC-G em água parece ser de 17,26 dias. Estudos de imagiologia in vivo não demonstraram diferença marcante entre EC-G sintetizado a partir de reações aquosas e orgânicas.

EXEMPLO 5

Síntese de Re-EC-G frio usando Re-EC e Glicosamina em uma Reação Aquosa

Re-EC (255,8 mg, 0,5 mmol) (do Exemplo 2) foi dissolvida em NaOH (1N, 4,5 mL). Foi acrescentado a essa solução roxo escuro sulfo-NHS (217,1 mg, 1 mmol) e sal cloridrato de D-glicosamina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) (431,3 mg, 2 mmol). Cloridrato de 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC) (Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI) (191,7 mg, 1 mmol) foi em seguida acrescentada. O pH mediu mais que 8. A mistura foi agitada na temperatura ambiente por 16 horas. A mistura foi dialisada por 24 horas usando membrana porosa molecular Spectra/POR com corte a 500 (Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TX). Após diálise, o produto foi filtrado e em seguida secado por

congelamento usando um liofilizador (Labconco, Kansas City, MO). O produto bruto pesou 276 mg. H-1 NMR de Re-EC-G aquoso apresentou um padrão similar; entretanto, parece haver alguma evidência de impurezas quando comparado com o composto Re-EC-G orgânico. A análise HPLC do composto Re-EC-G orgânico frio mostrou um pico a 272 nm; entretanto, Re-EC-G aquoso frio teve dois picos. Um dos picos no Re-EC-G aquoso frio corresponde ao composto Re-EC-G orgânico frio (picos 12,216 e 12,375, respectivamente). Os picos remanescentes foram sulfo-NHS e outras impurezas menores.

EXEMPLO 6

Análise quantitativa de Glicosamina (Ingrediente Farmacêutico Ativo)

D-Glicosamina foi derivada para ensaios colorimétricos. Em resumo, a uma solução de cloridrato de D-glicosamina (25 g, 0,12 mol) em uma solução aquosa recém preparada de 1N NaOH (120 mL) sob agitação foi acrescentado p-anisaldeído (17 mL, 0,14 mol). Após 30 min., a cristalização começou e a mistura foi refrigerada de um dia para o outro. O produto precipitado foi então filtrado e lavado com água fria (60 mL), seguido por uma mistura de EtOH-Et₂O (1:1) para produzir 2-desóxi-2-[p-metoxibenziliden(amino)]-D-glucopirranose (D-glicosamina-anisaldeído, 32,9408 g, 110,8 mmol, 95,5% rendimento) p.f. 165-166 °C. H-1 NMR confirmou a estrutura.

Matéria-prima EC-G (50 mg) foi hidrolisada usando 1N NaOH. Anisaldeído foi acrescentado a uma solução reacional. Após 2 horas, a mistura reacional foi extraída com clorofórmio. A camada de clorofórmio, que continha anisaldeído não reagido, foi evaporada sob nitrogênio. O peso de anisaldeído não reagido foi usado para determinar a quantidade de glicosamina no adutor D-glicosamina-anisaldeído.

EXEMPLO 7

Análise quantitativa de EC em EC-G

Matéria-prima EC-G (50 mg) foi hidrolisada usando 1N NaOH. Cloreto de benzila foi dissolvido em dioxano (30 mL) e em seguida acrescentado à mistura agitada. A reação foi agitada por 2 horas e em seguida extraída com clorofórmio. A camada de clorofórmio, que continha cloreto de benzila não reagido, foi evaporada sob nitrogênio. O cloreto de benzila reagido foi usado para determinar a quantidade de EC em EC-G (Tabela 3).

EXEMPLO 8

Análise quantitativa de Sulfo-NHS e EDAC em EC-G

Uma curva padrão de sulfo-NHS foi gerada a UV 272 nm. Matéria-prima EC-G foi dissolvida em água. A partir da curva padrão, a quantidade de sulfo-NHS em EC-G foi determinada a UV 272 nm. A quantidade de cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC) foi calculada mediante subtrair EC, glicosamina e sulfo-NHS do peso EC-G total apresentado na Tabela 3.

EXEMPLO 9

Ensaio de Análise quantitativa de Fosforilação Glicose

Um ensaio hexoquinase in vitro foi usado para avaliar o processo de fosforilação de EC-G. Usando um kit (Sigma Chemical Company, MO), fluorodesoxiglicose (FDG, 1,0 mg), EC-G (1,0 mg), D-glicosamina (G, 1,0 mg) e D-glicose (2,5 mg) foram dissolvidos em 1 mL (EC-G, G) ou 2,5 mL (D-glicose) de água. A partir disso, 200 µL foi removido e diluído em 2,5 mL de água. Uma alíquota de 100 µL foi em seguida removida e combinada em solução com 900 µL de Infinity™ Glicose Reagent e incubada a 37 °C por três minutos. A glicose fosforilada e NADH foram então ensaiadas a um comprimento de onda de 340 nm. Os picos de FDG (340 e 347 nm), glicose (301 e 342 nm), EC-G (303 e 342 nm) e G (302 e 342 nm) foram obtidos.

EXEMPLO 10

Ensaio de Identidade Química de Glicosamina (Ingrediente farmacêutico Ativo) em EC-G (Sintetizado From the Aqueous Reaction)

Um ensaio colorimétrico foi usado para determinar a quantidade de glicosamina. Uma solução de sulfato de cobre (6,93 g em 100 mL água) e tartarato de sódio potássio (34,6 g em 100 mL água contendo 10 g NaOH) foi preparada. EC-G (25 mg) e glicosamina (padrão) foram acrescentadas com solução básica de tartarato de cobre até não haver mais visualização do óxido de cobre vermelho precipitado. A quantidade de glicosamina em EC-G foi de 8,7 mg (35% p/p) determinada a partir do volume de titulação (Tabela 3).

Alternativamente, como descrito no Exemplo cloridrato de 5, D-glicosamina (25 g, 0,12 mol) foi acrescentado à solução aquosa recém preparada de 1N NaOH (120 mL) sob agitação e em seguida p-anisaldeído (17 mL, 0,14 mol) foi acrescentado a mistura. Após 30 min., a cristalização começou e a mistura foi refrigerada de um dia para o outro. O produto precipitado foi filtrado e lavado com água fria (60 mL), seguido por uma mistura de EtOH-Et₂O (1:1) para produzir 2-desóxi-2-[p-metoxibenzilidene(amino)]-D-glucopiranosose (D-glicosamina-anisaldeído, 32,9408 g, 110,8 mmol, 95,5% rendimento) p.f. 165-166 °C. Matéria-prima EC-G (50 mg) foi hidrolisada usando 1N NaOH. Anisaldeído foi acrescentado à solução reacional. Após 30 min., a cristalização começou e a mistura foi refrigerada de um dia para o outro. O produto precipitado foi filtrado e lavado com água fria e o ponto de derretimento foi determinado ser 165-166 °C (contendo 18 mg glicosamina).

TABELA 3

Análise Qualitativa de Glicosamina e EC em EC-G (sintetizado a partir da reação aquosa)

Valor Teórico

Composto	Peso molecular	Porcentagem (peso/peso)	
		(100%)	(65%)

EC-G	591		
EC	268		
Glicosamina (G)	179		
EC em EC-G		39% (234/591)	25%
G em EC-G		60% (356/591)	39%

Valor Experimental

Composto	Porcentagem (peso/peso)	Método
EC em EC-G	30%	colorimétrico
G em EC-G	35%	colorimétrico
Sulfo-NHS em EC-G	34%	UV (268 nm)
EDAC	1%	Cálculo

EXEMPLO 11

Ensaio de Identidade Química da etilenodicisteína (agente quelante) em EC-G (Sintetizado a partir da Reação Aquosa)

Dois métodos foram usados para determinar a pureza de EC-G. No primeiro método, um ensaio colorimétrico foi usado para determinar a quantidade de EC. Uma solução de iodo (0,1 mol/L) (13 g juntamente com 36 g KI em 1000 mL água) foi preparada e EC-G (25,2 mg) e EC (25 mg) (padrão) foram acrescentados à solução de iodo. No padrão EC, um sólido branco pálido foi precipitado, mas não foi notado precipitado na EC-G. Um método de titulação foi usado (coloração amarelada (persiste por mais que 5 minutos)) para determinar a quantidade de EC na EC-G. Cada 1 mL de solução de iodo que foi usado iguala a 13,4 mg of EC. A quantidade de EC na EC-G foi de 7,6 mg (30,2% p/p).

No segundo método, a medição do ponto de derretimento de um adutor tiol-EC-G foi realizada. O Exemplo 1 delineou a síntese de S,S'-Bis-benzil-N,N'-etilenodicisteína (Bz-EC). Em resumo, a EC (2,684 g, 10 mmol) foi dissolvida em 1N NaOH (40 mL). Cloreto de benzila (5,063 g, 40 mmol) foi dissolvido em dioxano (30 mL) e acrescentado à mistura agitada. Após 30 min., o pH da solução foi ajustado para 2 com HCl concentrado. O precipitado foi filtrado e lavado com água e recristalizado a partir de ácido trifluoracético. O rendimento foi de 79,0% (3,5454 g), p.f. 227-229 °C (dec.) (reportado 229-230 °C). Matéria-prima EC-G (50 mg) foi em seguida hidrolisada usando 1N NaOH, e cloreto de benzila (40 mg) foi acrescentado. A mistura reacional foi agitada por 30 min. O pH da solução foi ajustado para 2 com HCl concentrado. O precipitado foi filtrado e lavado com água para produzir adutor EC-benzila, p.f. 227-229 °C (contendo EC 16 mg).

EXEMPLO 12

Ensaio de Identidade Química de Sulfo-N-hidroxisuccinimida (Sulfo-NHS) em EC-G

(sintetizado a partir da reação aquosa)

O ensaio para N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo-NHS) foi determinado por UV (268 nm). A curva padrão de sulfo-NHS foi produzida a UV 268 nm. Sob essa absorvância UV, foi observada fraca absorvância foi observada para EC-G e EDAC. Matéria-prima EC-G (50 $\mu\text{g/mL}$) foi dissolvida em água e a absorvância foi medida a 268 nm. A avaliação de sulfo-NHS foi de $35\pm 5\%$ (p/p).

EXEMPLO 13

Ensaio de Pureza Radioquímica e Identidade

Cromatografia de camada fina (TLC) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC) foram usados para determinar a identidade radioquímica. Para o ensaio de TLC, ambos os sintetizados aquoso e orgânico de EC-G foram marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e gotejado numa tira de TLC impregnada em coluna e sílica gel (ITLC-SG) e realizada varredura usando um escaner radio-TLC. Os valores do fator de retenção (R_f) de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G (proveniente da síntese aquosa) e o padrão de referência ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G proveniente da síntese orgânica) foram 0,8 (determinado por acetato de amônio (1M):metanol; 4:1) ou salino. Para o ensaio HPLC, a pureza química do sintetizado orgânico e aquoso de EC-G foram 95,64% e 90,52%, respectivamente. EC-G sintetizado a partir da reação orgânica foi mais puro que EC-G sintetizado a partir da reação aquosa. Ambos os sintetizados orgânico e aquoso de EC-G foram marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e carregados (20 μL , 1 mg/mL EC-G) numa coluna C-18 de fase reversa (Waters, semi-prep, 7,8 $\times$ 300 mm). Os valores dos tempos de retenção (R_t) de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G e Re-EC-G frio (o padrão de referência proveniente da síntese orgânica) estavam entre 11,7-13,5 min. (determinado por 100% água a 0,5 mL/min, UV a 210 nm). Ambos os sintetizados orgânico e aquoso de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G foram detectados por comprimento de onda UV (210 nm) e as descobertas do detector radioativo compatibilizadas estavam dentro das faixas acima estabelecidas. Ensaio de cultura celular in vitro mostraram que a Re-EC-G produziu uma curva dose-resposta (FIG. 3) e foi eficaz contra células linfoma humanas.

Sumário:

▪A pureza radioquímica da $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G medida por HPLC e TLC é maior que 95% para o sintetizado aquoso de EC-G, que muito se aproxima da pureza radioquímica para o sintetizado orgânico de EC-G.

▪A pureza química do aquoso não marcado de EC-G medido por análise colorimétrica e elementar cai numa faixa de 60-70%. Todas as impurezas contidas no composto EC-G (seja de síntese aquosa ou orgânica) foram claramente identificadas através de ensaios colorimétricos e espectrometria de UV como glicosamina (35%), EC (30%), sulfo-NHS (34%) e EDAC (1%) numa base % p/p.

▪Quando medido por HPLC em UV 210 nm, a pureza química do aquoso não

marcado de EC-G se compara muito favoravelmente ao orgânico não marcado de EC-G a 90,52% vs. 95,64%, respectivamente.

▪Tempo de retenção do aquoso ^{99m}Tc -EC-G está na faixa de Re-EC-G frio medido por HPLC a 272 nm.

5 ▪NMR (^1H , ^{13}C) do aquoso de EC-G está na faixa de Re-EC-G frio.

▪Orgânico não marcado de EC-G, orgânico marcado de EC-G e Re-EC-G frio são usados padrões de referência.

▪Ensaio biológicos (captação *in vitro* e imagiologia *in vivo*) não apresentaram diferença significativa entre os sintetizados aquoso e orgânico de EC-G.

10 EXEMPLO 14

Análise de Pureza de ^{68}Ga -EC-G

^{68}Ga -EC-G sintetizado por ambos os meios orgânico e aquoso foram analisados através de radio-TLC. FIG. 6 mostra a aprimorada pureza do produto orgânico (a) sobre o produto aquoso (b). A Figura 7 representa a purificação realizada numa coluna C-18 (Pureslil, 4,6x150 mm, Waters, Milford, MA) e eluída com água usando uma vazão de 0,5 ml/min. Detecção foi realizada através de UV e NaI.

EXEMPLO 15

Análise da Estabilidade de ^{68}Ga -EC-G

FIG. 8 descreve o resultado de um estudo da estabilidade de ^{68}Ga -EC-G em soro canino como mostrado por radio-TLC. 100 μL ^{68}Ga -EC-G (0,7 mg/0,7 ml, pH 7,5, 865 μCi) foram acrescentados a 100 μL de soro canino e incubados por 0, 30, 60 e 120 minutos. Em seguida, 200 μL de MeOH foram acrescentados a cada amostra e turbilhonados antes da eluição usando um sistema compreendendo piridina:EtOH:água = 1:2:4; papel Whatman #1. (a) ^{68}Ga -EC-G (0,7 mg/0,7 mL, pH 7,5, 865 μCi); (b) 100 μL ^{68}Ga -EC-G em 100 μL soro canino, tempo = 0; (c) tempo = 30 min.; (d) tempo = 60 min.; (e) tempo = 120 min.; (f) ^{68}Ga -EC-BSA.

A Figura 9 descreve o resultado de um estudo da estabilidade de ^{68}Ga -EC-G em soro canino como analisado no ensaio de ligação protéica. Uma amostra controle foi incubada com ^{68}Ga -EC-albumina de soro bovino (BSA) em soro canino. 100 μL ^{68}Ga -EC-G (0,7 mg/0,7 mL, pH 7,5, 865 μCi) foram acrescentados a 100 μL soro canino e incubados por 0, 30, 60 e 120 minutos, a atividade contada, em seguida 200 μL MeOH foi acrescentado e a amostra submetida a turbilhamento, centrifugada por 1 minuto, e em seguida o sobrenadante e o precipitado foram cada um contados. As contagens determinadas no precipitado são indicativas do grau de ligação entre ^{68}Ga -EC-G e proteínas no soro canino.

35 A taxa de ligação protéica aumentou de 18,6% para 51,5% após 2 horas, sugerindo o potencial de direcionamento ao alvo da ^{68}Ga -EC-G.

EXEMPLO 16

Estudo de Atualização In vitro de Compostos ^{68}Ga -marcados em Linhagem de Células 13762 de Câncer de Mama

A Figura 10 descreve resultados provenientes de um estudo de captação in vitro de compostos ^{68}Ga -marcados em linhagem de células 13762 de câncer de mama. A captação celular de ^{68}Ga -EC e ^{68}Ga -EC-G em células 3762 (1 $\mu\text{Ci}/50.000$ células por cava). A captação celular de ^{68}Ga -EC-G foi significativamente maior ($p < 0,01$) que o controle ^{68}Ga -EC a 0,5-2 horas.

EXEMPLO 17

Imagiologia da Doença cardiovascular

A Figura 11 mostra imagens planas de cintigrafia de um derivado $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-ESMOLOL (300 $\mu\text{Ci}/\text{rato}$) em ratos portadores de tumor de mama. Os números são relações da densidade de contagem (contagem/pixel) do coração/mediastino superior (H/UM) a 15-45 minutos. O perfil da linhagem na Figura 11 mostra uma alta relação de contagem/pixel da região cardíaca em comparação a tecidos situados lateralmente. Esses resultados demonstram que o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-ESMOLOL é extraordinariamente eficaz na imagiologia da região cardíaca. A Figura 12 mostra resultados da imagiologia com ^{68}Ga -EC-TML PET em um coelho branco Nova Zelândia. Um coelho foi administrado com ^{68}Ga -EC-trimetil lisina (EC-TML). Imagens PET coronariana foram adquiridas a 45 minutos após injeção de 0,66 mCi de ^{68}Ga -EC-TML (ordem dorsal para ventral). Foi noticiada alta captação no coração sugerindo que a EC-TML estaria envolvida no metabolismo de ácido graxo.

EXEMPLO 18

Exemplo não limitante de Síntese Orgânica de Ec-G por meio de um Intermediário EC-Benzhidrol-Cbz-Glicosamina - (ver FIG. 13)

EC-Benzhidrol-Cbz-Glicosamina pode ser dissolvida em acetato de etila e removida por precipitação mediante adição de MTBE ou n-Hexano. Isso foi vislumbrado como um método de obter uma espécie penúltima em um método de obtenção de EC-G. A pureza (HPLC) da EC-Benzhidrol-Cbz-Glicosamina antes desse tratamento de trituração foi de cerca de 64%. Após trituração, a pureza foi de cerca de 68% (MTBE) ou 65%-80% (n-Hexano). Um outro método vislumbrado para a purificação do produto é através do uso de um cartucho biotage, na medida em que a sílica gel nesses cartuchos pe mais ativa que a sílica gel grau flash.

Outras técnicas e procedimentos de purificação foram também tentados usando diferentes sistemas solventes como uma alternativa para a cromatografia, o resultado do que se apresenta na Tabela 4 adiante. A precipitação foi tentada em diferentes sistemas solventes. A EC-Benzhidrol-Cbz foi dissolvida em um solvente selecionado (A), e lentamente carregada a um volume maior de co-solvente (B). Entretanto, o resultado não indicou que essa abordagem pudesse ser tão eficaz como outros métodos, na medida em que as

alterações na pureza foram desprezíveis. As triturações foram também tentadas usando os sistemas de solventes selecionados em diversas relações para a precipitação. O resultado quanto às triturações também sugerem que o material não é puro o suficiente para certas aplicações. Coluna de cromatografia foi também tentada, e as condições foram modificadas a partir da semana anterior (15:1 sílica:bruta, carregada seca sobre sílica). Esse método não permitiu moderada limpeza do material (de 55A% to 75A%).

TABELA 4

Purificação de EC-Benzidrol-Cbz por Precipitação e Trituração

Solvente A	Solvente B	Resultado da precipitação	Resultado da trituração
Acetato de etila	Hexano	Sólido pegajoso	Óleo
Metanol	Água	Óleo pegajoso	Óleo
DCM	Hexano	Óleo pegajoso	Óleo
Etanol	Água	Óleo pegajoso	Óleo

A totalidade das composições e métodos revelados e reivindicados aqui pode ser feita e executada sem experimentação indevida à luz da presente revelação. Embora as composições e métodos dessa invenção tenham sido descritos em termos das modalidades preferidas, será evidente por aqueles usualmente versados na técnica que variações podem ser aplicadas para as composições e métodos e nas etapas ou na sequência das etapas do método descrito aqui sem se afastar do conceito, espírito e escopo da invenção. Mais especificamente, será evidente que certos agentes que sejam tanto quimicamente e fisiologicamente correlatos podem ser substitutos para os agentes descritos aqui ao mesmo tempo em que resultados iguais ou similares podem ser conseguidos. Todos os tais substituintes similares e modificações evidentes para aqueles usualmente versados na técnica são consideradas estarem inseridas no espírito, escopo e conceito da invenção, como definido pelas reivindicações anexas.

Referências

As referências apresentadas a seguir, ao nível que elas proporcionam procedimentos representativos ou outros detalhes suplementares para aqueles aqui apresentados, são aqui especificamente incorporadas por referência.

- Patente U.S. No. 5.605.672
- Patente U.S. No. 6.692.724
- Patente U.S. No. 6.737.247
- Patente U.S. No. Appln. 09/599.152
- Patente U.S. No. Appln. 10/627.763
- Patente U.S. No. Appln. 10/672.142

Patente U.S. No. Appln. 10/703.405

Patente U.S. No. Appln. 10/732.919

Alauddin e Conti, Nucl. Med. Biol., 25(3):175-180, 1998.

Alauddin et al., Nucl. Med. Biol., 23:787-792, 1996.

5 Alauddin et al., Nucl. Med. Biol., 26:371-376, 1999.

Alberico et al., Surg. Oncol. Clin. N. Am., 13(1):13-35, 2004.

Angello et al., Am. J. Cardiol., 60:528-533, 1987.

Benveniste e Davies, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70(8):2276-2280, 1973.

Blondeau et al., Can. J. Chem., 45:49-52, 1967.

10 Bodansky, Em: Peptide Chemistry, 2nd ed., Springer-Verlag, New York, 1993.

Bolhuis et al., Int. J. Câncer Suppl., 7:78-81, 1992.

Borodina et al., Appl. Environ. Microb., 71(5):2294-302, 2005.

Bush et al., Br. J. Cancer Suppl., 37(3):302-306, 1978.

Campbell et al., Cancer Res., 51(19):5329-5338 1991.

15 Canevari et al., Hybridoma, 12(5):501-507, 1993.

Chasselle et al., Lancet, 34B:143, 1995.

Coney et al., Cancer Res., 54(9):2448-2455, 1994.

Diamond et al., J. Biol. Chem. 253(3):866-871, 1978.

Dische, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 20(1):147-152, 1991.

20 Franklin et al., Int. J. Cancer Suppl., 8:89-95, 1994.

Gambhir et al., J. Nucl. Med., 39(11):2003-2011, 1998.

Gambhir et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96(5):2333-2338, 1999.

Gambhir et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:2785-2790, 2000.

Gatenby et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 14(5):831-838, 1988.

25 Ginobbi et al., Anti-cancer Res., 17(1A):29-35, 1997.

Grant, Em: Synthetic Peptides, Freeman & Co., New York, 1992.

Gray et al., Nature, 182(4640):952-953, 1958.

Greene e Wuts, Em: Protective grupos em Organic Síntese, John Wiley & Sons, New York, 1999.

30 Gutman et al., Am. Heart J., 106: 989-995, 1983.

Hall et al., Radiat. Res., 114(3):415-424, 1988.

Henson et al., AJNR Am. J. Neuroradiol., 25(6):969-972, 2004.

Hoelscher et al., Spina, 25(15):1871-7, 2000.

Holm, et al., APMIS, 102(11):828-836, 1994.

35 Hostettler e Hall, PNAS, 79:1663-1667, 1982.

Hsueh e Dolnick, Biochem. Pharmacol., 45(12):2537-2545, 1993.

Hu, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95:9791-95, 1998.

- Iyer et al., *J. Nucl. Med.*, 42(1):96-105, 2001.
- Koh et al., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 22:199-212, 1992.
- Kranz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 92(20):9057-61, 1995.
- Kundra et al., *J. Nucl. Med.*, 43(3):406-412, 2002.
- 5 Leamon e Low, *Biochem. J.*, 291 (Pt 3):855-60, 1993.
- Leamon e Low, *J. Biol. Chem.*, 267(35):24966-71, 1992.
- Leamon e Low, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88(13):5572-76, 1991.
- Lee e Low, *J. Biol. Chem.*, 269(5):3198-3204, 1994.
- Martina et al., *J. Nucl. Med.*, 30:194-201, 1989.
- 10 Medical Letter, 34:78, 1992.
- Michalik et al., *Pharmacol Res.* 21(4):405-414, 1989.
- Murakami et al., *J Orthop Res.*, 14(5):742-8, 1996.
- Murakami et al., *Ossos*, 21(5):411-418, 1997.
- Miszka et al., *Carb. Res.*, 338:133-141, 2003.
- 15 Nakae e Nakae, *Antimicrobial Agentes e Chemo.*, Oct;22(4):554-59, 1982.
- Namavari et al., *Nucl. Med. Biol.*, 27(2):157-62, 2000.
- Nordsmark et al., *Radiother. Oncol.*, 41(1):31-39, 1996.
- Orr et al., *J. Natl. Cancer Inst.*, 87(4):299-303, 1995.
- Ozmen et al., *Fármaco Chem Toxicol.*, 28(4):433-45, 2005.
- 20 Patrick et al., *J. Neurooncol.*, 32(2):111-23, 1997.
- Pohost et al., *Circulation*, 55:294-302, 1977.
- Rasey et al., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 17(5):985-91, 1989.
- Rasey et al., *Radiother. Oncol.*, 17(2):167-73, 1990.
- Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Ed. Mack Printing Company, 1289-
25 1329, 1990.
- Ross et al., *Cancer*, 73(9):2432-43, 1994.
- Saha et al., *Semin. Nucl. Med.*, 24(4):324-49, 1994.
- Strunk e Schild, *Eur. Radiol.*, 14(6):1055-1062, 2004.
- Tachibana et al., *Biochem. Pharmacol.*, 25(20):2297-301, 1976.
- 30 Tod et al., *Clin Pharmacokinetics*, Mar;38(3):205-223, 2000.
- Tjuvajev et al., *J. Nucl. Med.*, 43(8):1072-1083, 2002.
- Valk et al., *J. Nucl. Med.*, 33(12):2133-2137, 1992.
- Verbruggen et al., *J. Nucl. Med.*, 33:551-557, 1992.
- Warrell, Jr et al., *N. Engl. J. Med.*, 329(3):177-189, 1993.
- 35 Weitman et al., *Cancer Res.*, 52(12):3396-3401, 1992b.
- Weitman et al., *Cancer Res.*, 52(23):6708-6711, 1992a.
- Weitman et al., *J Neurooncol.*, 21(2):107-112, 1994.

Westerhof et al., *Cancer Res.*, 51(20):5507-5513, 1991.

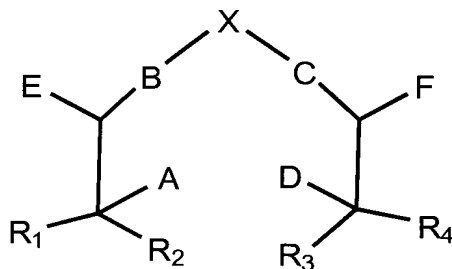
Yaghoubi et al., *J. Nucl. Med.*, 42:1225-1234, 2001.

Yanai et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(25):9661-9666, 2006.

Yang et al., *Diabetes*, 53:67-73, 2004.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de sintetizar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende conjugar um agente quelante da fórmula seguinte:



5 a pelo menos um ligando direcional que compreende pelo menos um grupo funcional, em que:

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, -COOH, ácido carboxílico protegido, -NH₂, amina protegida, tiol, ou tiol protegido, em que pelo menos uma posição é -NH₂ ou tiol;

10 B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, -S-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;

R₁, R₂, R₃ e R₄ são cada um independentemente H ou alquila inferior;

X é selecionado a partir do grupo que compreende -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂- e -CH₂-CH₂-C(O)-; e

15 a conjugação está entre A, D, E ou F do agente quelante e pelo menos um grupo funcional não protegido de cada ligando direcional;

em que pelo menos um de A, D, E, F, ou o ligando direcional compreende um grupo funcional protegido, com a condição de que pelo menos um grupo funcional do ligando direcional esteja desprotegido, e

20 com a condição de que quando A e D são cada um -NH₂, nenhum de B nem C seja uma amina secundária ou uma amina terciária.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que em que a conjugação é realizada em um meio orgânico.

3. Método, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o 25 meio orgânico compreende um solvente polar ou um solvente não polar.

4. Método, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o meio orgânico compreende dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dioxano, metanol, etanol, hexano, cloreto de metileno, acetonitrila, tetraidrofurano, ou uma mistura desses mencionados.

30 5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende pelo menos uma etapa de purificação, em que a etapa de purificação compreende cromatografia em coluna de sílica gel, HPLC, ou uma combinação

desses mencionados.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

5 7. Método, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante para gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado por íon metálico.

10 8. Método, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende remover cada grupo protetor em uma ou mais etapas.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado por íon metálico é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

15 10. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado por íon metálico é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro.

11. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado por íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro.

20 12. Método, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende realizar a quelação de um íon metálico ao agente quelante para gerar um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico.

25 13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

14. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado por íon metálico é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro.

30 15. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro.

35 16. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a síntese do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende:

(a) remover pelo menos um grupo protetor do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante; e

(b) realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante.

17. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a síntese do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende:

(a) realizar quelação de um íon metálico ao agente quelante para gerar um agente quelante marcado com íon metálico;

(b) conjugar o agente quelante marcado com íon metálico a um ligando direcional; e

(c) remover pelo menos um grupo protetor do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico.

18. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o íon metálico é selecionado a partir do grupo que compreende um íon tecnécio, um íon cobre, um íon índio, um íon tálio, um íon gálio, um íon arsênico, um íon rênio, um íon hólmio, um íon ítrio, um íon samário, um íon selênio, um íon estrôncio, um íon gadolínio, um íon bismuto, um íon ferro, um íon manganês, um íon lutécio, um íon cobalto, um íon platina, um íon cálcio e um íon ródio.

19. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o íon metálico é ^{187}Re , ^{99m}Tc , ou ^{188}Re .

20. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de o íon metálico é um radionuclídeo.

21. Método, de acordo com a reivindicação 20, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o radionuclídeo é selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{188}Re , ^{186}Re , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{183}Gd , ^{59}Fe , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{45}Ti , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{67}Cu , ^{64}Cu e ^{62}Cu .

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende a adição de um agente redutor.

23. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante é etilenodicisteína (EC).

24. Método, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os dois grupos tiol da etilenodicisteína estão protegidos e os dois grupos amina da etilenodicisteína estão protegidos.

25. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante é etilenodicisteína (EC).

26. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o pelo menos um grupo funcional do ligando direcional compreende um átomo selecionado a partir do grupo que compreende O, N, S e P.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, **CARACTERIZADO** pelo fato de que

o pelo menos um grupo funcional do ligando direcional é selecionado a partir do grupo que compreende amino, amido, tiol, hidroxila, éter, éster, carbonila, ácido carboxílico, sulfonamida, tioéter, tioéster e tiocarbonila.

28. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que
5 A, D, E e F são cada um independentemente $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol.

29. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que qualquer três ou quatro dos grupos A, B, C, D, E e F juntos formam um quelato selecionado a partir do grupo que compreende NS_2 , N_2S , S_4 , N_2S_2 , N_3S e NS_3 .

30. Método, de acordo com a reivindicação 29, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que
10 o quelato é N_2S_2 .

31. Método, de acordo com a reivindicação 29, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que pelo menos um de A, D, E e F é um tiol protegido.

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o tiol protegido é protegido usando um agente de proteção tiol selecionado a partir do grupo
15 que compreende um haleto de alquila, um haleto de benzila, um haleto de benzoíla, um haleto de sulfonila, um haleto de trifenilmetila, um haleto de metoxitritfenilmetila e cisteína.

33. Método, de acordo com a reivindicação 29, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que pelo menos um de A, D, E e F compreende umuma amina protegida ou pelo menos um de B e C compreende uma amina secundária.

20 34. Método, de acordo com a reivindicação 33, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que uma amina protegida é protegida usando um agente de proteção amina selecionado a partir do grupo que compreende cloroformiato de benzila, *p*-nitro-formiato de clorobenzila, cloroformiato de etila, dicarbonato de di-ter-butila, cloreto de trifenilmetila, e cloreto de metoxitritfenilmetila.

25 35. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante adicionalmente compreende um ligador entre o agente quelante e o ligando direcional.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o ligador é selecionado a partir do grupo que compreende um peptídeo, ácido glutâmico,
30 ácido aspártico, etilacetato de bromo, etileno diamina, lisina e qualquer combinação de um ou mais desses grupos.

37. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante é conjugado a mais que um ligando direcional.

38. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que
35 o ligando direcional é um ligando tecido-específico, um agente antimicrobiano, um agente antifúngico, ou um agente de imagiologia.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que

o ligando direcional é um ligando tecido-específico selecionado a partir do grupo que compreende um fármaco, um inibidor da DNA topoisomerase, um antimetabólito, a composto direcionado a uma doença do ciclo celular, um marcador da expressão genética, um ligando direcional que tem por alvo a angiogênese, um marcador de tumor, um ligando direcional que tem por alvo o receptor folato, um ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica, um ligando direcional que tem por alvo hipoxia, um intercalador DNA, um ligando direcional que tem por alvo o receptor da doença, um marcador receptor, um peptídeo, um nucleotídeo, um anticorpo, uma molécula anti-sentido, um siRNA, um pentapeptídeo glutamato, um agente que imita glicose, amifostina, angiostatina, anticorpo monoclonal C225, anticorpo monoclonal CD31, anticorpo monoclonal CD40, capecitabina, desoxitidina, fulereno, herceptina, albumina de soro humano, lactose, quinazolina, talidomida, transferrinaa e trimetil lisina.

40. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um fármaco.

41. Método, de acordo com a reivindicação 40, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o fármaco é um agente anticâncer.

42. Método, de acordo com a reivindicação 41, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente anticâncer é selecionado a partir do grupo que compreende tamoxifen, topotecan, LHRH, podofilotoxina, colchicina, endostatina, tomudex, tiotepa, ciclosfosfamida, busulfan, improsulfan, pipsulfan, benzodopa, carboquone, meturedopa, uredopa, altretamina, trietilenemelamina, trietilenefosforamida, trietilenetiofosforamida, trimetilolomelamina, bullatacina, bullatacinone, bryostatin, calistatin, CC-1065, adozelesina, carzelesina, bizelesina, criptoficin 1, criptoficin 8, dolastatin, duocarmicina, KW-2189, CB1-TM1, eleutherobin, pancratistatin, a sarcodictyin, spongistatin, clorambucil, clornaphazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, cloridrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichin, phenesterina, prednimustina, trofosfamida, uracila mostarda, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina, calicheamicina, dynemicina, clodronato, uma esperamicina, cromóforo neocarzinostatina, um aclacinomisina, actinomicina, authrarnicina, azaserina, a bleomicina, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinophilin, a chromomicina, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, ácido micofenólico, nogalarnicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodoirubicina, streptonigrin, streptozocina, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicina, 5-fluorouracil (5-FU), denopterin, metotrexato, pteropterin, trimetrexato, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, calusterone, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona, aminoglutetimida,

mitotano, trilostane, ácido folínico, aceglatone, glicosida aldofosfamida, ácido aminolevulínico, eniluracil, amsacrina, bestrabucil, bisantreno, edatraxato, defofamina, demecolcina, diaziquone, elformitina, acetato de eliptinum, uma epotilona, etoglucid, nitrato de gálio, hidroxauréia, lentinan, lonidainina, um maitansinóide, mitoguazone, mopidanmol, nitraerina, pentostatin; fenamet; pirarubicin; losoxantrone; ácido podofilínico; 2-etilidrazida; procarbazona, complexo polissacarídeo PSK, razoxano, rizoxin, sizofiran, spirogermanium, ácido tenuazônico, triaziquona, 2,2',2"-triclortrietilamina, um tricoteceno, uretan, vindesina, dacarbazina, mannomustina, mitobronitol, mitolactol, pipobroman, gacitosina, arabinosida ("Ara-C"), ciclofosfamida, doxetaxel, clorambucil, 6-tioguanina, mercaptopurina, metotrexato, cisplatina, oxaliplatina, carboplatina, vinblastina, platina, ifosfamida, mitoxantrona, vincristina, vinorelbina, novantrona, teniposida, edatrexato, daunomicina, aminopterin, xeloda, ibandronato, irinotecan, RFS 2000, difluorometilornitina (DMFO), ácido retinóico e capecitabina.

43. Método, de acordo com a reivindicação 40, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o fármaco é um fármaco de uso cardiovascular.

44. Método, de acordo com a reivindicação 43, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o fármaco de uso cardiovascular é selecionado a partir do grupo que compreende um agente anti-hiperlipoproteínico, um agente anti-arteriosclerótico, um agente anti-trombótico, um agente fibrinolítico, um agente anti-plaquetário, um coagulante do sangue, um agente trombolítico, um agente anti-arrítmico, um agente anti-hipertensivo, um vasopressor, um agente anti-angiotensão II, um agente de redução pós-carga-pré-carga, um diurético e um agente inotrópico.

45. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um inibidor da DNA topoisomerase selecionado a partir do grupo que compreende um antibiótico fluorquinolona, irinotecan, topotecan, etoposida, teniposida, lurtotecan, exatecan e rubitecan.

46. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um antimetabólito selecionado a partir do grupo que compreende azatioprina, uma mercaptopurina, uma pirimidina, um fármaco sulfanilamida, metotrexato, tetraidrofolato, ácido fólico, pemetrexed, raltitrexed, tioguanina, fludarabina, pentostatin, cladribina, fluorouracil, floxuridina e gemcitabina.

47. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo uma doença do ciclo celular selecionado a partir do grupo que compreende adenosina, FIAU, FIRU, IVFRU, GCV, PCV, FGCV, FPCV, FHPG, FHBG e guanina.

48. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um marcador da expressão genética que é um ligando direcional que

tem por alvo o receptor do fator de crescimento epidérmico.

49. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo a angiogênese, selecionado a partir do grupo que compreende um inibidor de COX-2, receptor anti-EGF, herceptina, angiostatina e talidomida.

50. Método, de acordo com a reivindicação 49, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o inibidor de COX-2 é celecoxib, rofecoxib, ou etoricoxib.

51. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um marcador de tumor selecionado a partir do grupo que compreende PSA, ER, PR, CA-125, CA-199, CEA, AFP, um interferon, BRCA1, HER-2/neu, citoxan, p53 e endostatina.

52. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo o receptor folato, selecionado a partir do grupo que compreende folato, metotrexato e tomudex.

53. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo célula apoptótica, selecionado a partir do grupo que compreende um anticorpo monoclonal TRAIL, um substrato de caspase-3 e um membro da família Bcl.

54. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo hipoxia.

55. Método, de acordo com a reivindicação 54, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um ligando direcional que tem por alvo a hipoxia do tumor, um marcador de isquemia cardíaca, um marcador tecidual de viabilidade cardíaca, um marcador de falha cardíaca congestiva, ou um marcador de repouso/estresse do tecido cardíaco.

56. Método, de acordo com a reivindicação 55, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um ligando direcional que tem por alvo a hipoxia do tumor selecionado a partir do grupo que compreende anexin V, colchicina, um nitromidazol, mitomicina, metronidazol, 99mTc-HL91 e Cu-ATSM.

57. Método, de acordo com a reivindicação 55, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um marcador de isquemia cardíaca selecionado a partir do grupo que compreende interleucina-6, fator alfa de necrose tumoral, matriz metaloproteinase 9, mieloperoxidase, uma molécula de aderência intracelular, uma molécula de aderência vascular, ligando CD40 solúvel, fator de crescimento placentário, proteína C-reativa de alta sensibilidade, albumina modificada por isquemia, um ácido graxo livre, colina e adenosina.

58. Método, de acordo com a reivindicação 55, **CARACTERIZADO** pelo fato de que

o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um marcador tecidual de viabilidade cardíaca selecionado a partir do grupo que compreende fosfolipase C, fosfatase miosina de cadeia leve, óxido nítrico, prostaciclina, endotelina, tromboxano, L-arginina e L-citrulina.

59. Método, de acordo com a reivindicação 55, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um marcador de falha cardíaca congestiva selecionado a partir do grupo que compreende interleucina-1, cardiotrofina-1, fator de crescimento tipo insulina, fator de crescimento epidérmico, receptor tirosina quinase, angiotensina II e metronidazol.

60. Método, de acordo com a reivindicação 55, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional que tem por alvo hipoxia é um marcador de repouso/estresse do tecido cardíaco selecionado a partir do grupo que compreende a proteína quinase mitogênio-ativada, monofosfato de adenosina cíclico, fosfolipase C, bifosfato de fosfatidilinositol, trifosfato de isositol, diacilglicerol, uma tirosina quinase e metronidazol.

61. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um intercalador DNA selecionado a partir do grupo que compreende 7-aminoactinomicina, etídio, proflavin, daunomicina, doxorubicina e talidomida.

62. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um peptídeo selecionado a partir do grupo que compreende neuropeptídeo Y, peptídeo calcitonina gene-relacionado, substância P e peptídeo intestinal vasoativo.

63. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um nucleotídeo selecionado a partir do grupo que compreende adenina, timina, guanina, citosina e uracila.

64. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um anticorpo que se liga a uma troponina, tropomiosina, um sarcolemal, um colágeno, uma matriz metaloproteinase, ou um inibidor tecidual de uma matriz metaloproteinase.

65. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é pentapeptídeo glutamato.

66. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligando direcional é um agente que imita glicose.

67. Método, de acordo com a reivindicação 66, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente que imita glicose é selecionado a partir do grupo que compreende desoxiglicose, glicosamina, glicosamina tetracetilada, neomicina, kanamicina, gentamicina, paromicina, amikacina, tobramicina, netilmicina, ribostamicina, sisomicina, micromicina, lividomicina, dibekacina, isepamicina, astromicin e aminoglycoside.

68. Método, de acordo com a reivindicação 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que

o ligando direcional é um ligando direcional que tem por alvo o receptor da doença, selecionado a partir do grupo que compreende um estrogênio, um androgênio, hormônio luteinizante, hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH)), transferrina, uma progestina, manose tetracetato, tirosina- α - β , tirosina, um derivado tirosina, estrona, tamoxifen, ou α -metiltirosina.

69. Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, sintetizado através do método de acordo com a reivindicação 1.

70. Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, sintetizado através do método de acordo com a reivindicação 7.

71. Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, sintetizado através do método de acordo com a reivindicação 8.

72. Composição, de acordo com a reivindicação 71, **CARACTERIZADA** pelo fato de que adicionalmente é definida como um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico, sintetizado através do método de acordo com a reivindicação 12.

73. Composição, de acordo com a reivindicação 72, **CARACTERIZADA** pelo fato de que:

(a) o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicitesteína quelada a um íon metálico selecionado a partir do grupo que compreende ^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{188}Re e ^{187}Re ;

(b) o ligando direcional compreende um ligando selecionado a partir do grupo que compreende glicosamina, desoxiglicose, metronidazol, anexin V, guanina e LHRH; e

(c) o agente quelante e o ligando direcional são conjugados por meio de uma ligação amida ou uma ligação éster.

74. Kit para preparar um agente de imagiologia, um agente terapêutico, ou um agente rádio/terapêutico, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um ou mais recipientes selados e uma predeterminada quantidade de uma composição compreendendo um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante preparado através de um método que compreende o método de acordo com a reivindicação 8, em um ou mais recipientes selados.

75. Kit, de acordo com a reivindicação 74, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

76. Kit, de acordo com a reivindicação 74, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o

conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro.

77. Kit, de acordo com a reivindicação 74, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro.

78. Kit, de acordo com a reivindicação 74, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante compreende etilenodicisteína.

79. Kit, de acordo com a reivindicação 74, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende um íon metálico.

80. Kit, de acordo com a reivindicação 79, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o íon metálico é um radionuclídeo.

81. Método de realizar a imagiologia de um local, diagnosticar uma doença, ou de tratar uma doença em um indivíduo, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

(a) obter um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico; e

(b) administrar ao indivíduo uma quantidade farmacologicamente ou diagnosticamente eficaz de um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico,

em que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é preparado através de um método que compreende o método apresentado na reivindicação 12, em que é obtida a imagiologia do local, a doença é diagnosticada, ou a doença é tratada.

82. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

83. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro.

84. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é entre cerca de 90% e cerca de 99,9% puro.

85. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico compreende etilenodicisteína.

86. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CHARACTERIZADO** pelo fato de o íon metálico é um radionuclídeo.

87. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o indivíduo é um humano.

88. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método é adicionalmente definido como um método de tratar um indivíduo com câncer.

89. Método, de acordo com a reivindicação 88, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o câncer é câncer de mama, câncer de pulmão, câncer de próstata, câncer de ovário, câncer cerebral, câncer hepático, câncer do colo uterino, câncer de cólon, câncer renal, câncer de pele, câncer de cabeça e pescoço, câncer ósseo, câncer de esôfago, câncer da bexiga, câncer uterino, câncer linfático, câncer de estômago, câncer de pâncreas, câncer de testículo, linfoma, ou leucemia.

90. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método é adicionalmente definido como um método para realizar a dupla rádio/quimioterapia.

91. Método, de acordo com a reivindicação 90, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende administrar uma ou mais formas secundárias de terapia de uma doença hiperproliferativa.

92. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é adicionalmente definido como um método realizar a imagiologia de um local em um indivíduo, compreendendo detectar um sinal proveniente do conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico que está situado no local.

93. Método, de acordo com a reivindicação 92, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sinal é detectado utilizando uma técnica selecionada a partir do grupo que compreende PET, PET/CT, CT, SPECT, SPECT/CT, MRI, imagiologia ótica e ultrassom.

94. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o local a ser submetido a imagiologia é um tumor ou o coração.

95. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é adicionalmente definido como um método de imagiologia, diagnose, ou de tratamento de um indivíduo com uma doença cardiovascular.

96. Método, de acordo com a reivindicação 95, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende realizar um ou mais procedimentos adicionais de diagnóstico ou de imagiologia para avaliar o indivíduo quanto a uma doença cardiovascular.

97. Método, de acordo com a reivindicação 95, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a doença cardiovascular é um infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, cardiomiopatia, doença valvular cardíaca, uma arritmia, cardiopatia congênita, angina de peito, congestão circulatória não-cardíaca, insuficiência cardíaca sistólica, insuficiência cardíaca com função sistólica normal, ou insuficiência cardíaca de lado direito.

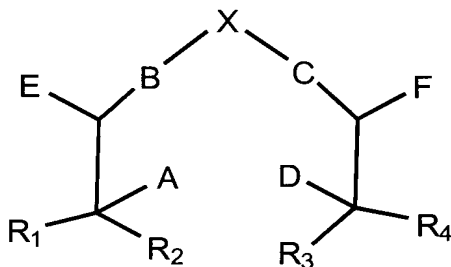
98. Método, de acordo com a reivindicação 97, **CARACTERIZADO** pelo fato de que

a doença cardiovascular é um infarto do miocárdio, isquemia do miocárdio, ou angina pectoris e o método adicionalmente compreende a imagiologia do coração do indivíduo.

99. Método, de acordo com a reivindicação 81, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico é $^{99m}\text{Tc-EC-glicosamina}$, $^{188}\text{Re-EC-glicosamina}$, ou $^{187}\text{Re-EC-glicosamina}$.

100. Método de sintetizar um agente quelante protegido, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

(a) obter um agente quelante da fórmula seguinte:



em que:

A, D, E e F são cada um independentemente H, alquila inferior, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol, onde pelo menos uma posição é $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, ou $-\text{S}(\text{O})_2-$;

R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são cada um independentemente H ou alquila inferior; e

X é selecionado a partir do grupo que compreende $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$; e

(b) proteger o $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, ou tiol utilizando um agente protetor ácido carboxílico, um agente protetor amina, ou um agente protetor tiol, respectivamente.

101. Método, de acordo com a reivindicação 100, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o método é realizado em um meio orgânico.

102. Método, de acordo com a reivindicação 100, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante protegido é etilenododicisteína protegida.

103. Método, de acordo com a reivindicação 100, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente compreende uma etapa de purificação, uma etapa de quelação compreendendo a quelação de um íon metálico, a remoção de pelo menos um grupo protetor, ou qualquer combinação dessas etapas.

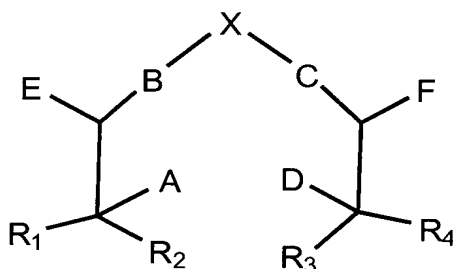
104. Método, de acordo com a reivindicação 103, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante protegido é de cerca de 70% a cerca de 99,9% puro.

105. Método, de acordo com a reivindicação 103, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante protegido é de cerca de 80% a cerca de 99,9% puro.

106. Método, de acordo com a reivindicação 103, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o agente quelante protegido é de cerca de 90% a cerca de 99,9% puro.

107. Método, de acordo com a reivindicação 100, **CARACTERIZADO** pelo fato de que quando A e D são cada um $-NH_2$, nenhum de B nem C é uma amina secundária ou uma amina terciária.

108. Conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante, **5** **CARACTERIZADO** pelo fato de que possui a fórmula seguinte:



em que:

A, D, E e F cada um independentemente compreende H, alquila inferior, $-COOH$, um ácido carboxílico protegido, $-NH_2$, uma amina protegida, tiol, um tiol protegido, um ligando direcional não protegido, ou um ligando direcional protegido,

10 onde pelo menos um de A, D, E e F compreende um ácido carboxílico protegido, uma amina protegida, ou um tiol protegido e pelo menos um de A, D, E e F compreende um ligando direcional protegido ou um ligando direcional não protegido;

B e C são cada um independentemente uma amina secundária, uma amina terciária, $-S-$, $-S(O)-$, ou $-S(O)_2-$;

15 R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são cada um independentemente H ou alquila inferior;

X é selecionado a partir do grupo que compreende $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-C(O)-$, $-C(O)-CH_2-$, $-C(O)-CH_2-CH_2-$ e $-CH_2-CH_2-C(O)-$; e

onde o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 70% e cerca de 99,9% puro.

20 109. Composição, de acordo com a reivindicação 108, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 80% e cerca de 99,9% puro.

110. Composição, de acordo com a reivindicação 108, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante é entre cerca de 25 90% e cerca de 99,9% puro.

111. Composição, de acordo com a reivindicação 108, **CARACTERIZADO** pelo fato de que adicionalmente é definido como um conjugado ligando direcional que tem por alvo um agente quelante marcado com íon metálico.

112. Composição, de acordo com a reivindicação 111, **CARACTERIZADO** pelo fato 30 de que é adicionalmente definido como $^{99m}Tc-EC$ -glicosamina, $^{186}Re-EC$ -glicosamina, ou $^{187}Re-EC$ -glicosamina.

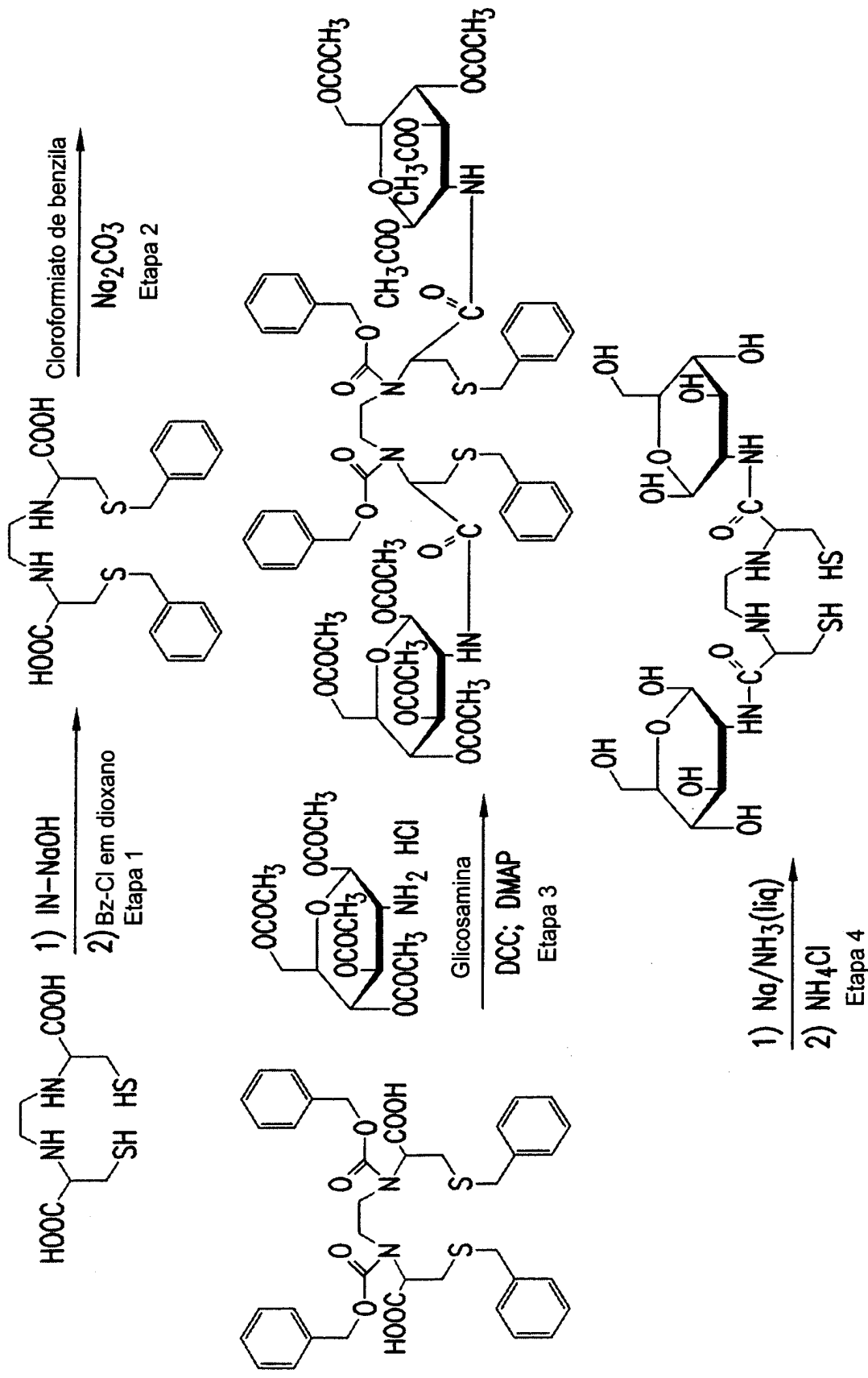


FIG.1

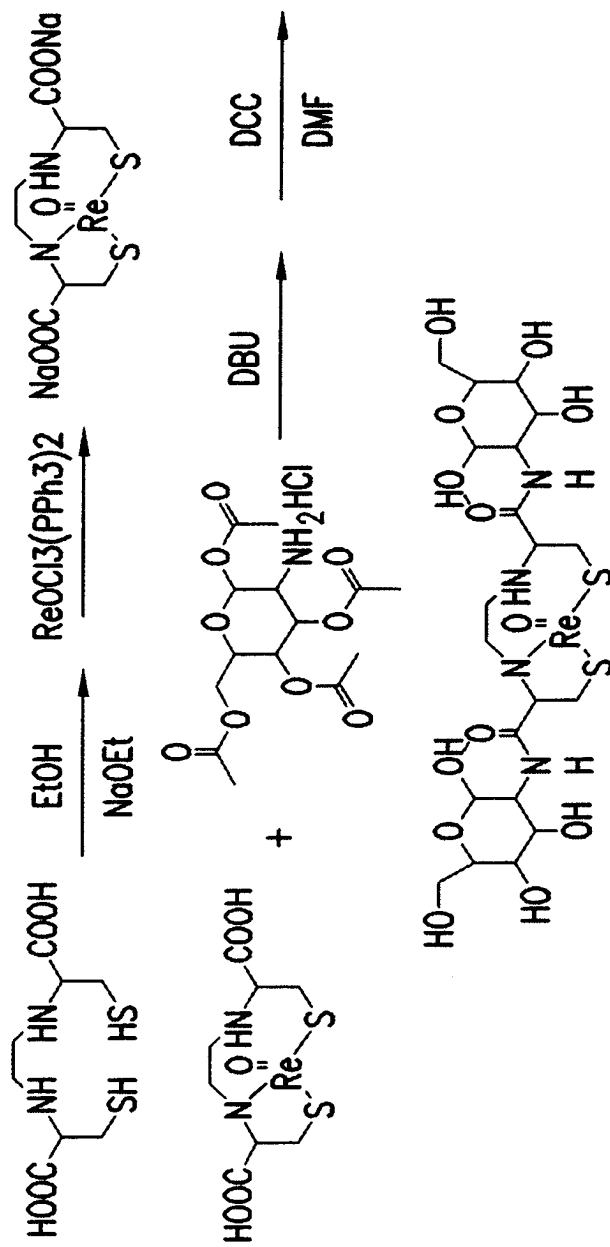


FIG.2

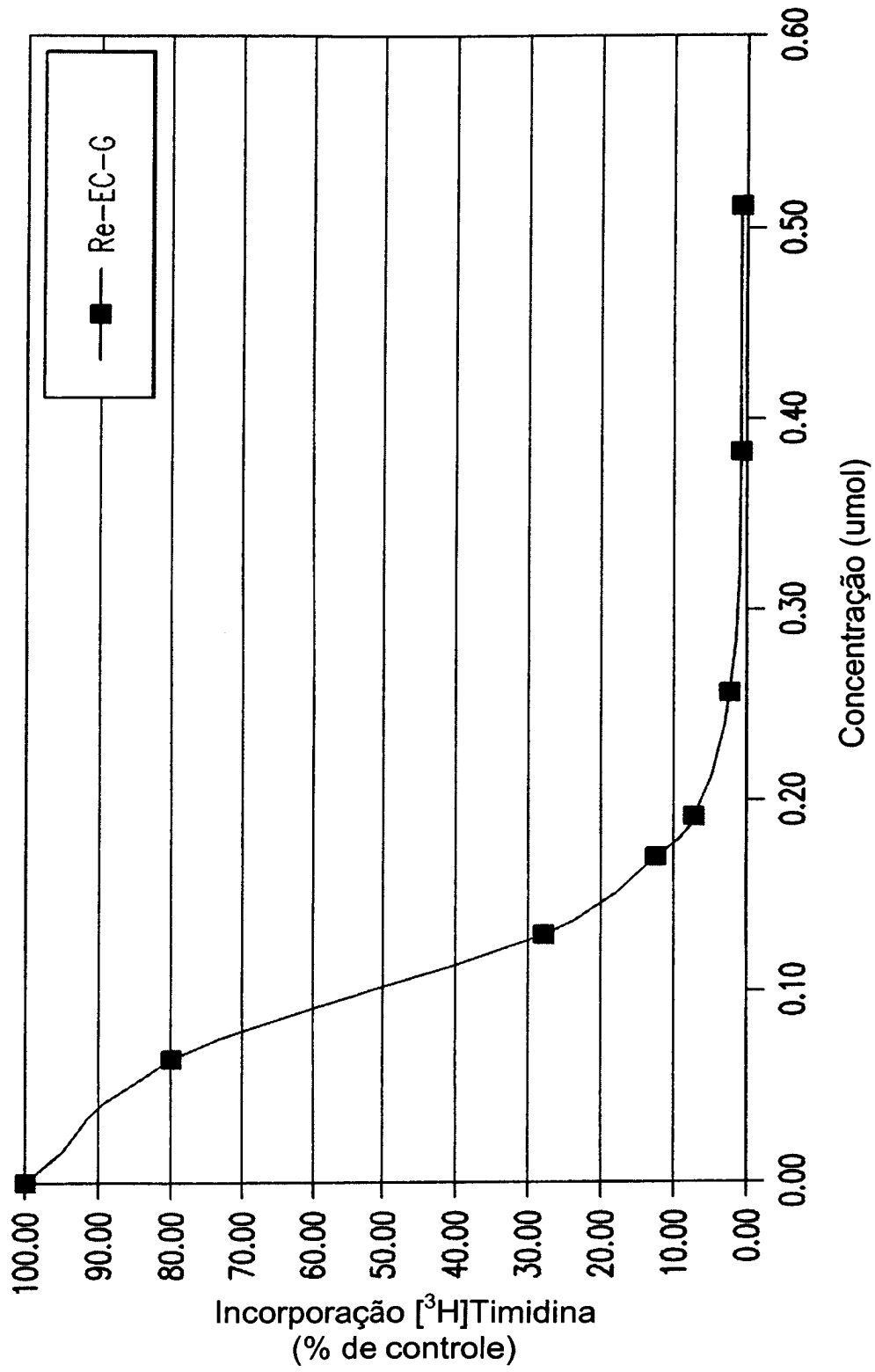
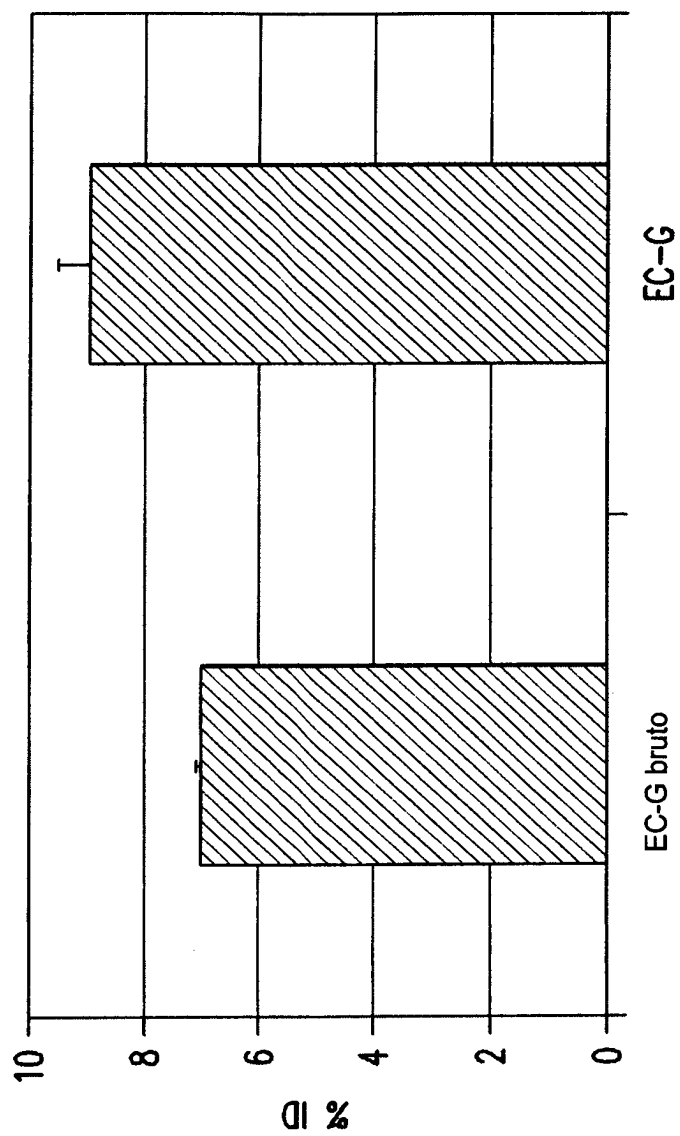


FIG.3



HPLC-Preparativa

FIG.4

ECDG (1)
 MF: C₂₀H₃₈N₄O₁₂S₂
 [M + H]⁺ m/z_{calc.}: 591.2006

1:TOF MS ES+
 1.20e3

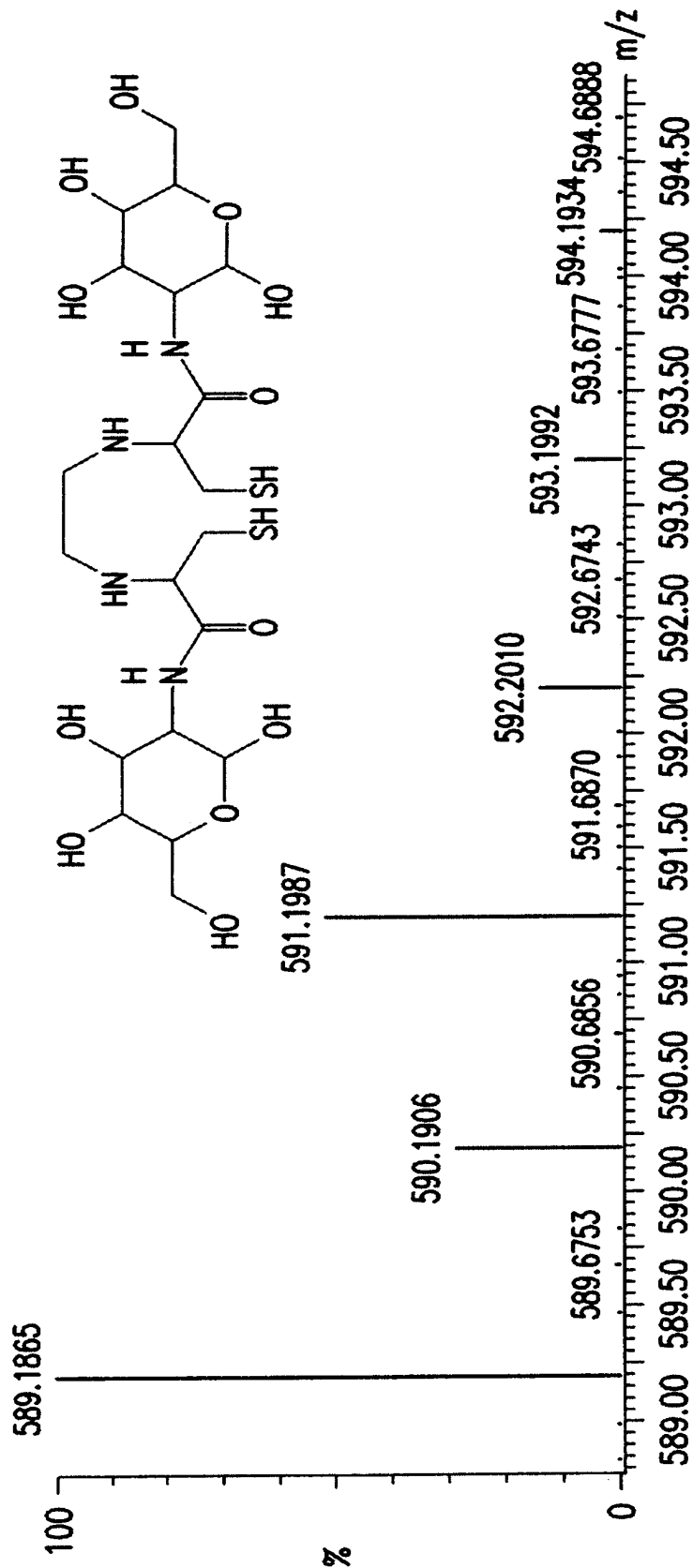
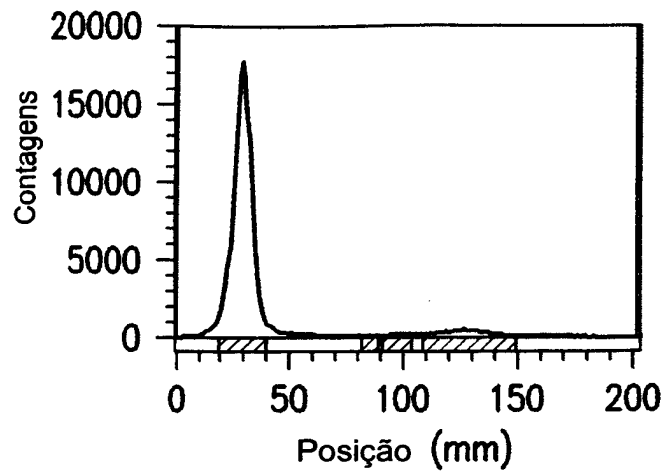
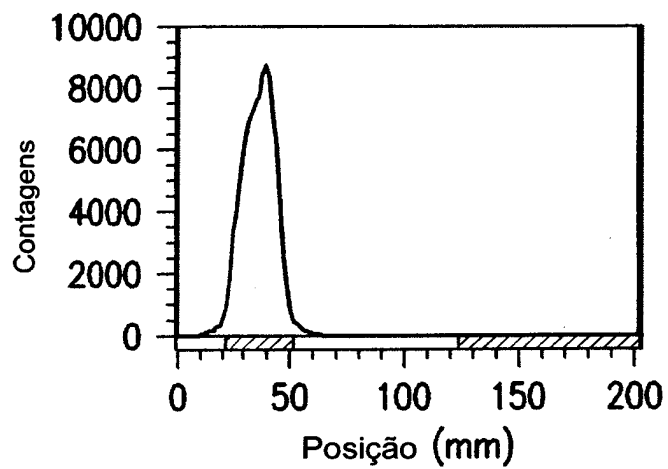
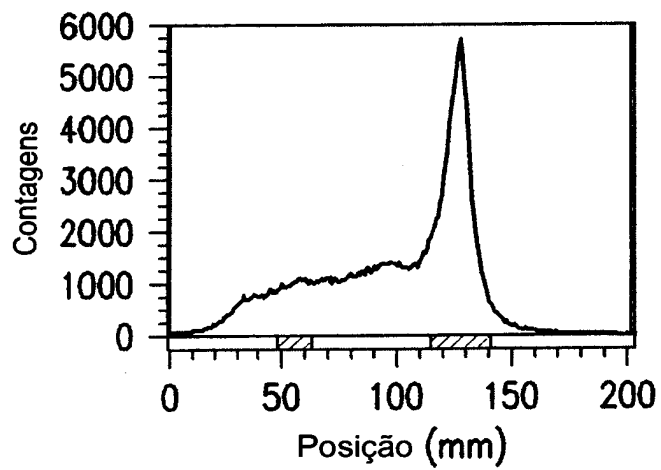


FIG.5

**FIG. 6A****FIG. 6B****FIG. 6C**

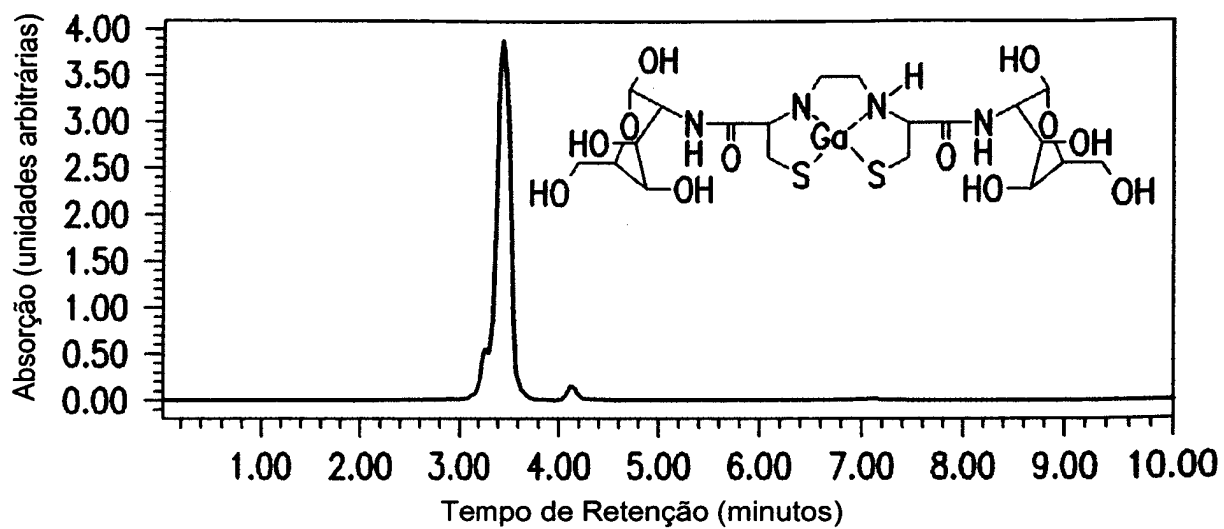


FIG.7A

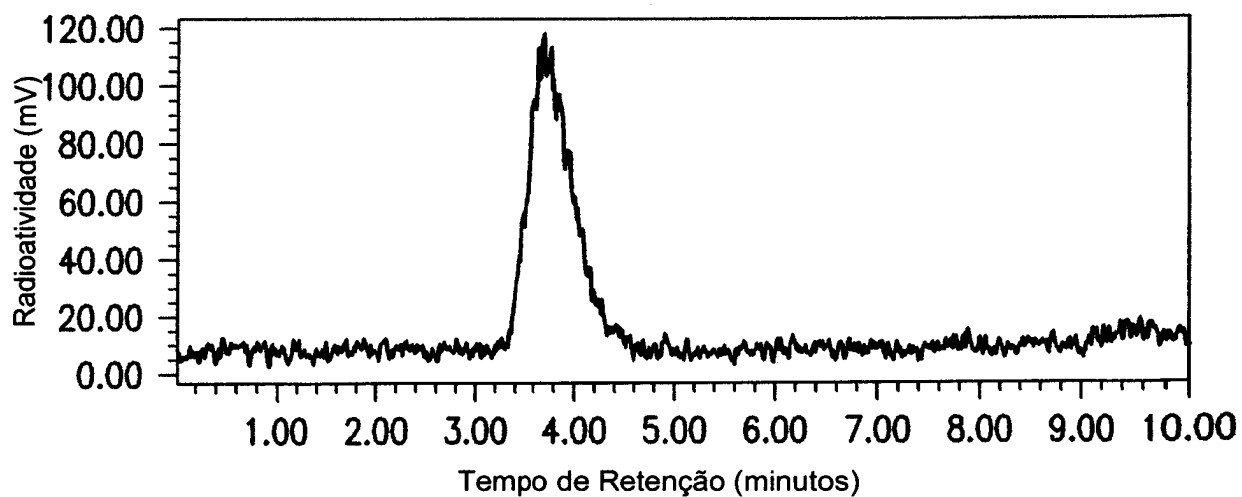
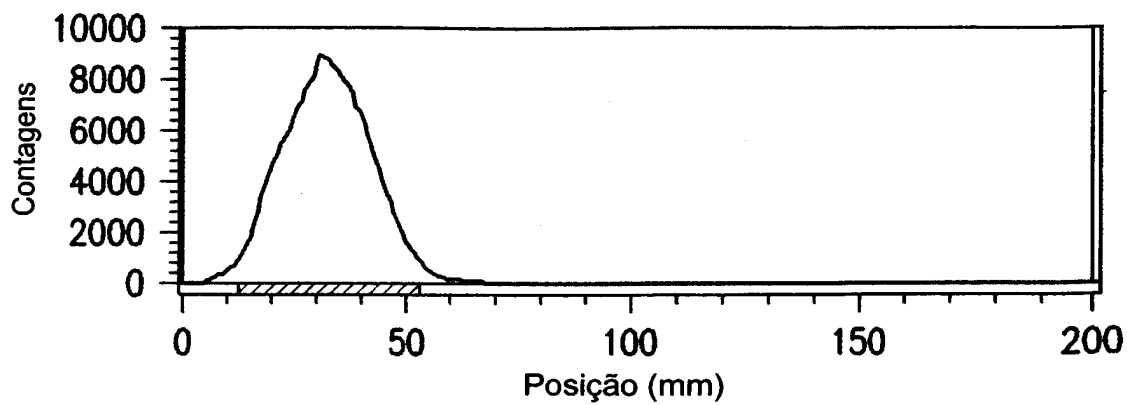
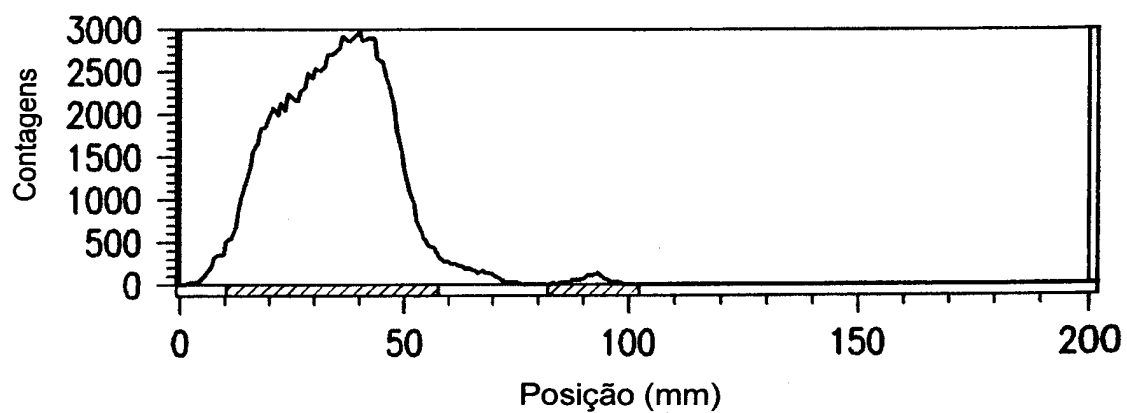
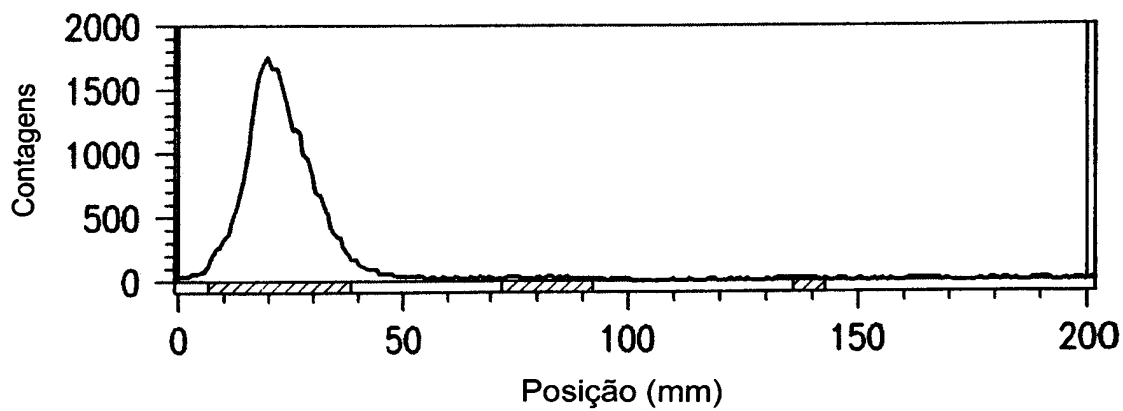
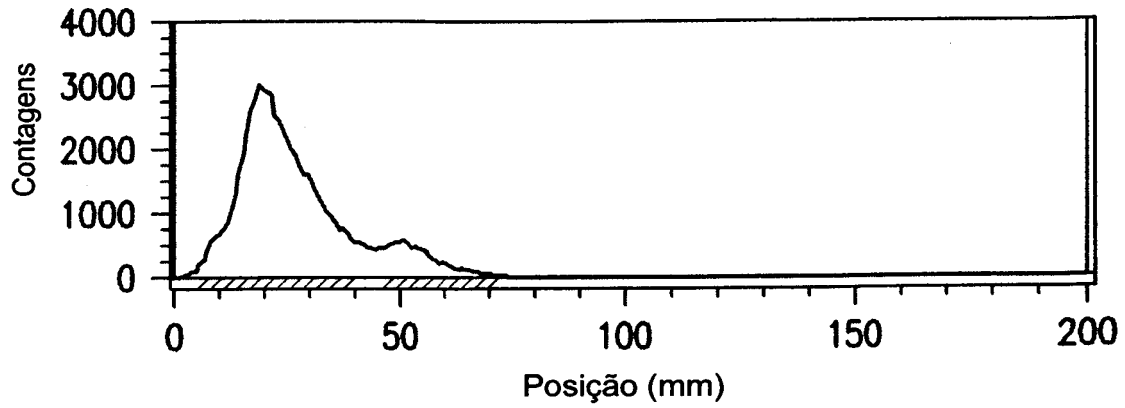
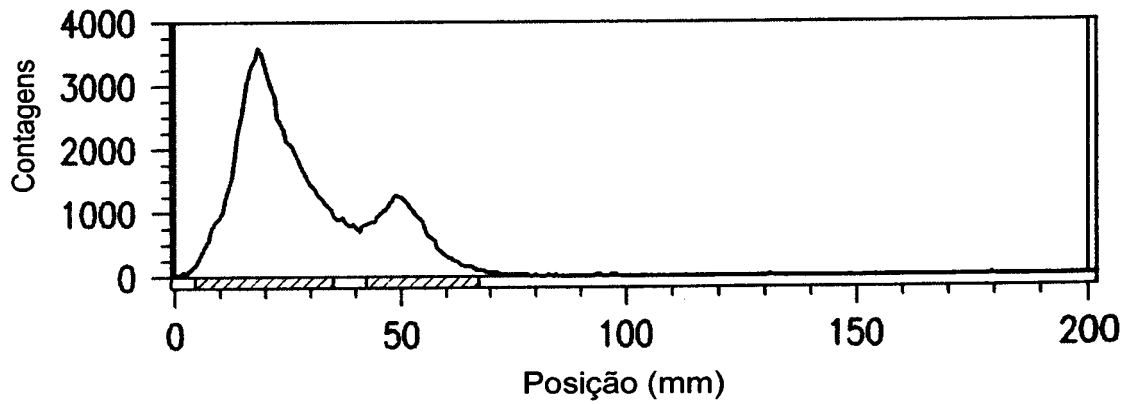
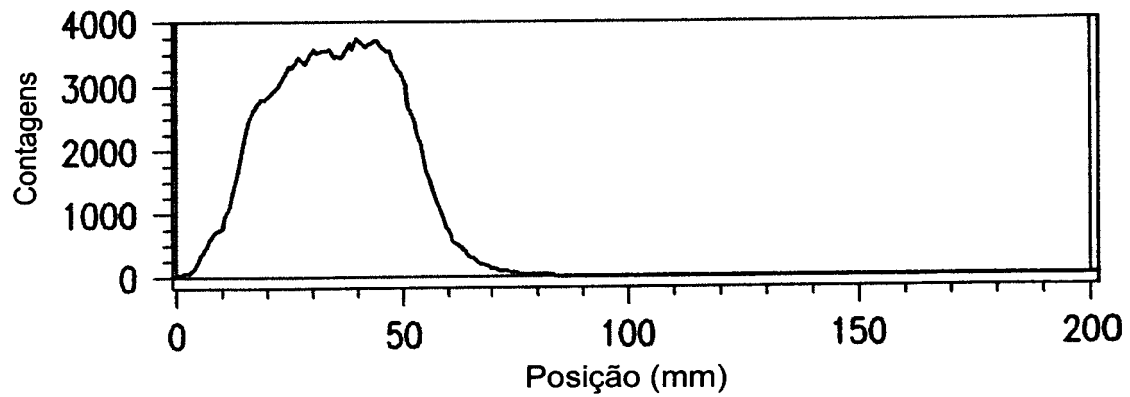
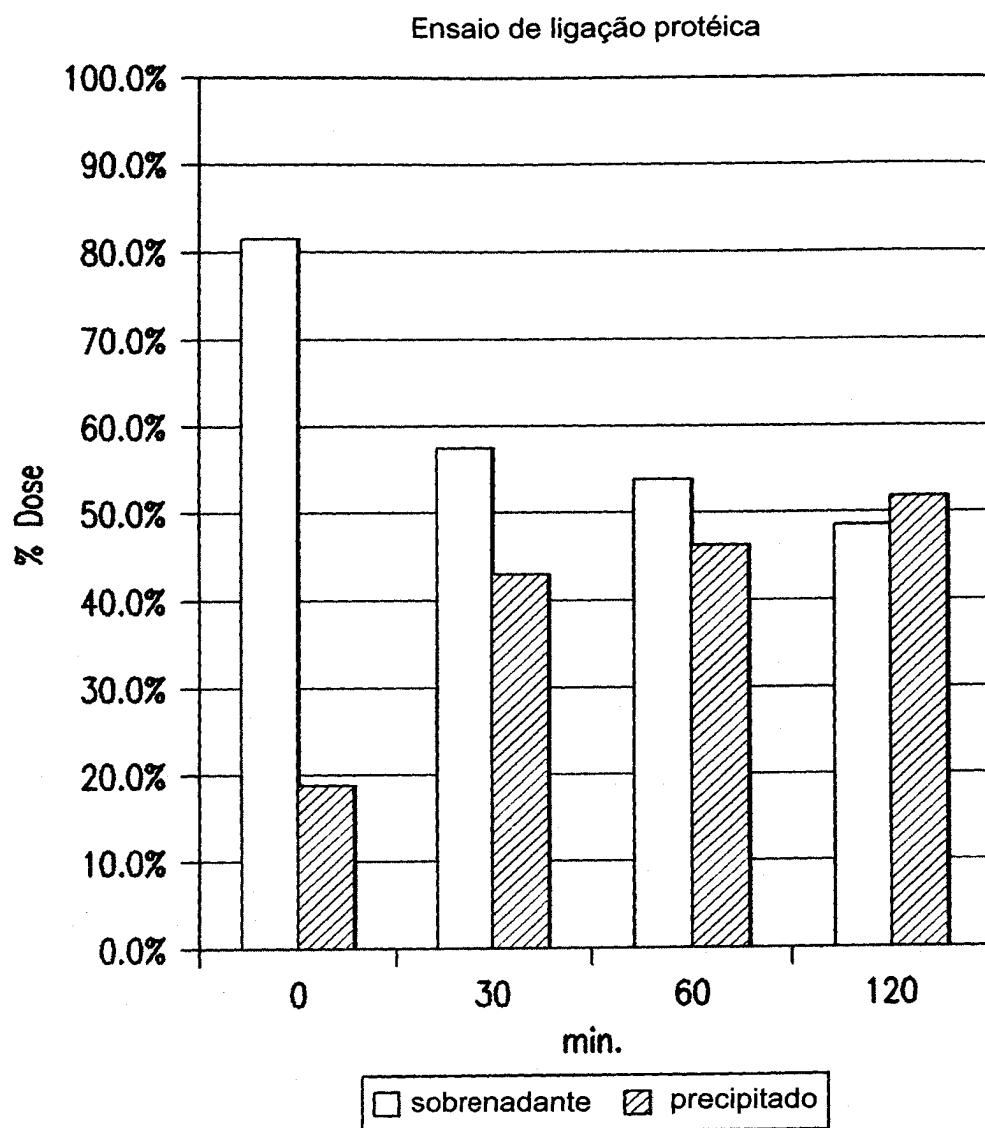


FIG.7B

**FIG.8A-(a)****FIG.8A-(b)****FIG.8A-(c)**

**FIG.8B-(a)****FIG.8B-(b)****FIG.8B-(c)**



	tempo de incubação (minutos)								GA-EC-BSA	
	0		30		60		120			
sobrenadante	92.4	81.4%	50	57.5%	40	53.8%	23.2	48.4%	77.6	93.5%
precipitado	21.1	18.6%	37	42.5%	34.3	46.2%	24.7	51.6%	5.4	6.5%

FIG. 9

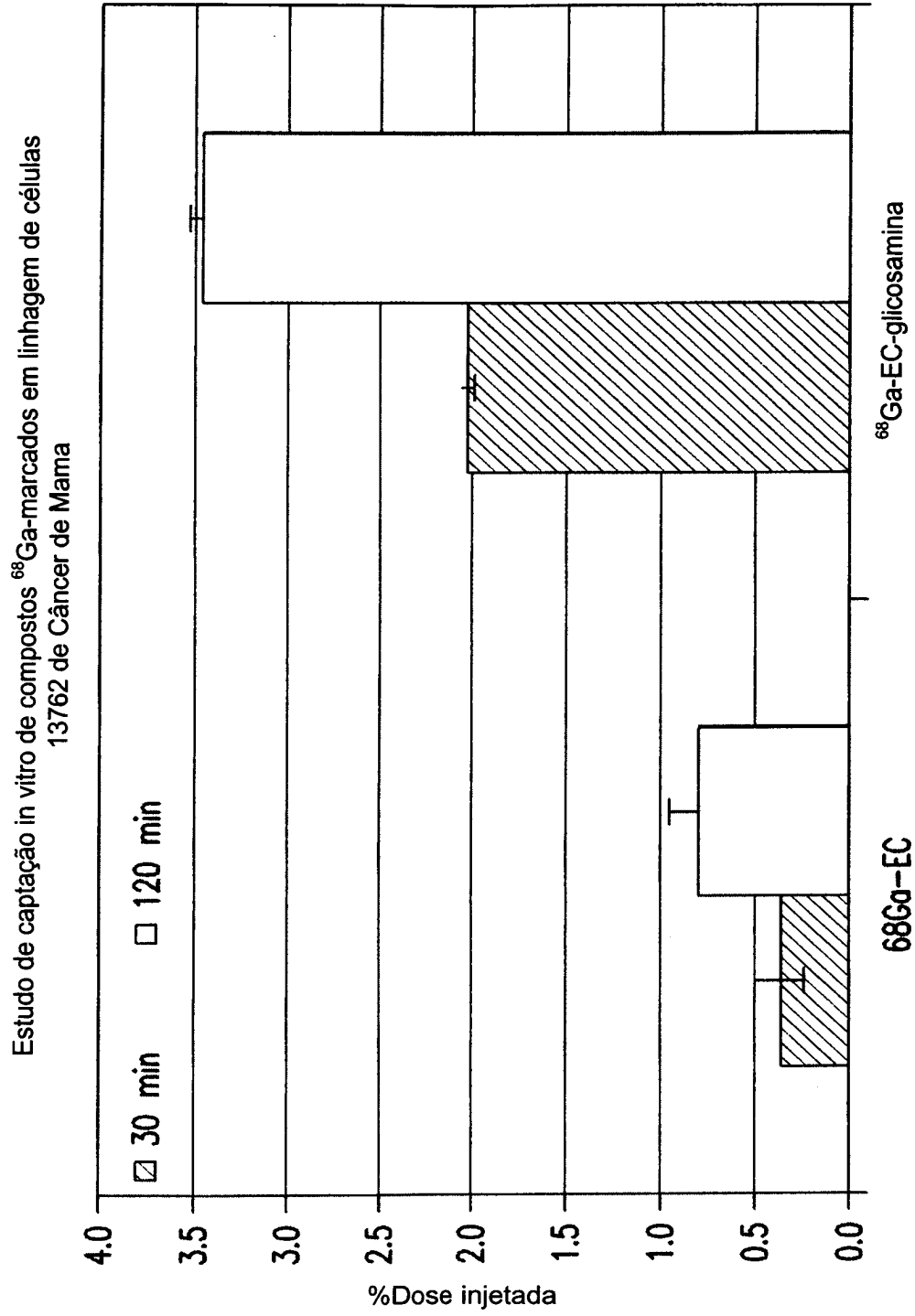


FIG.10

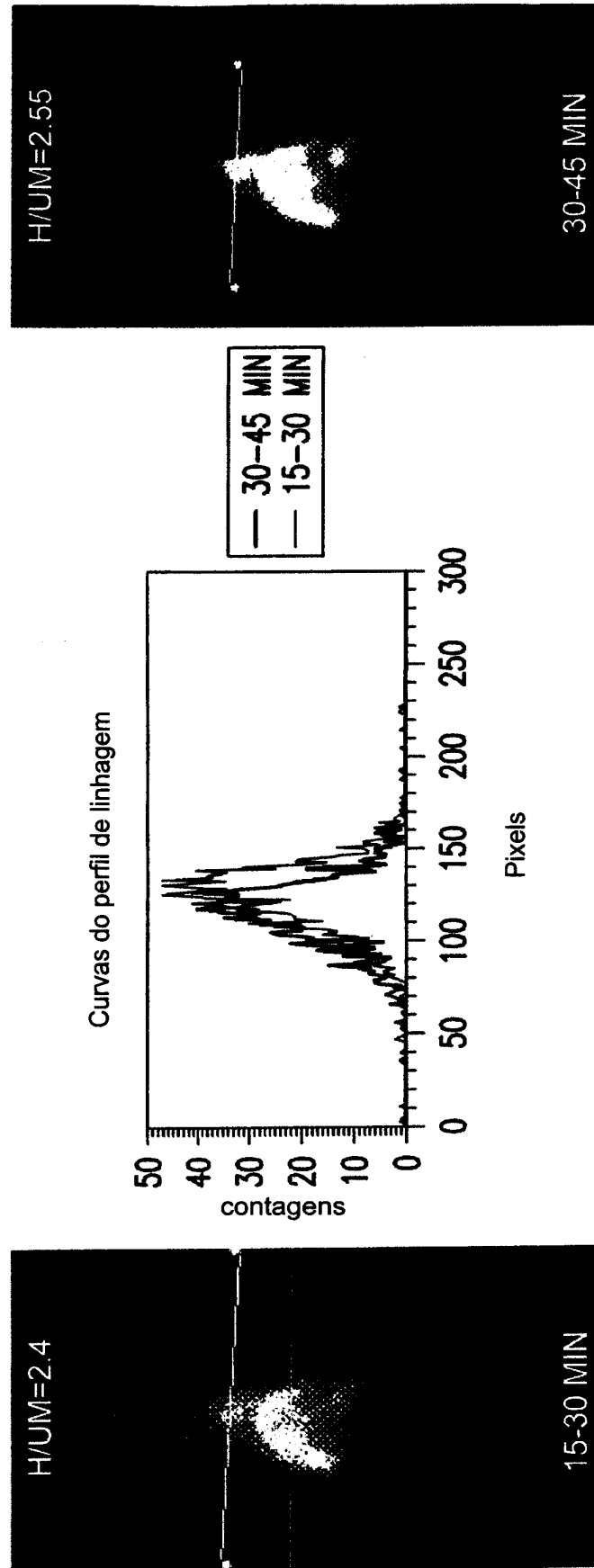


FIG.11

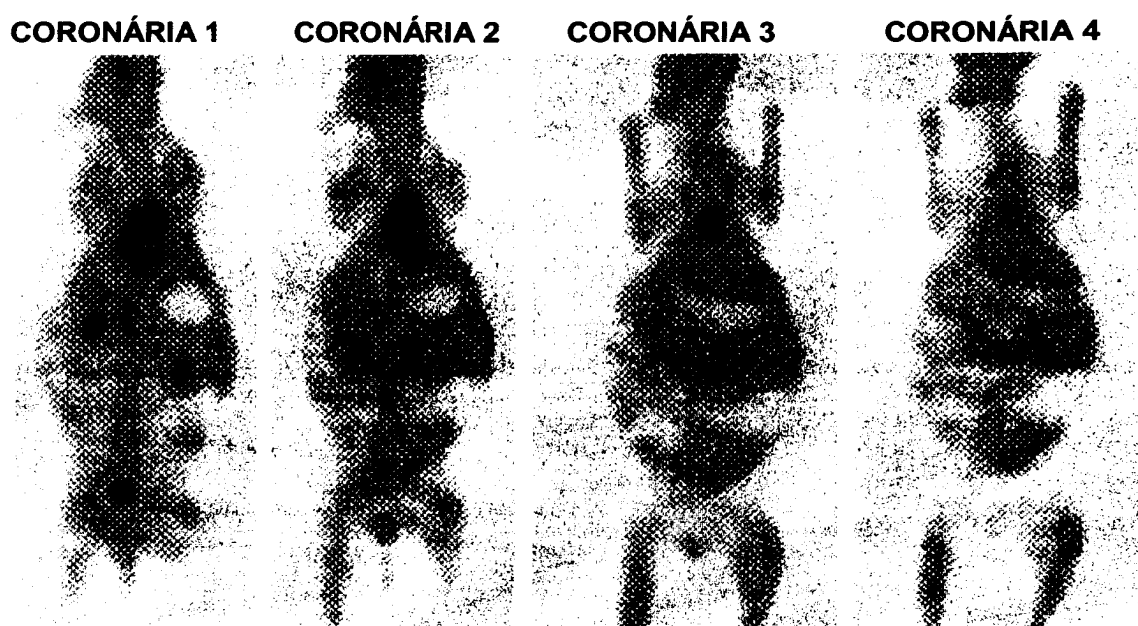


FIG.12

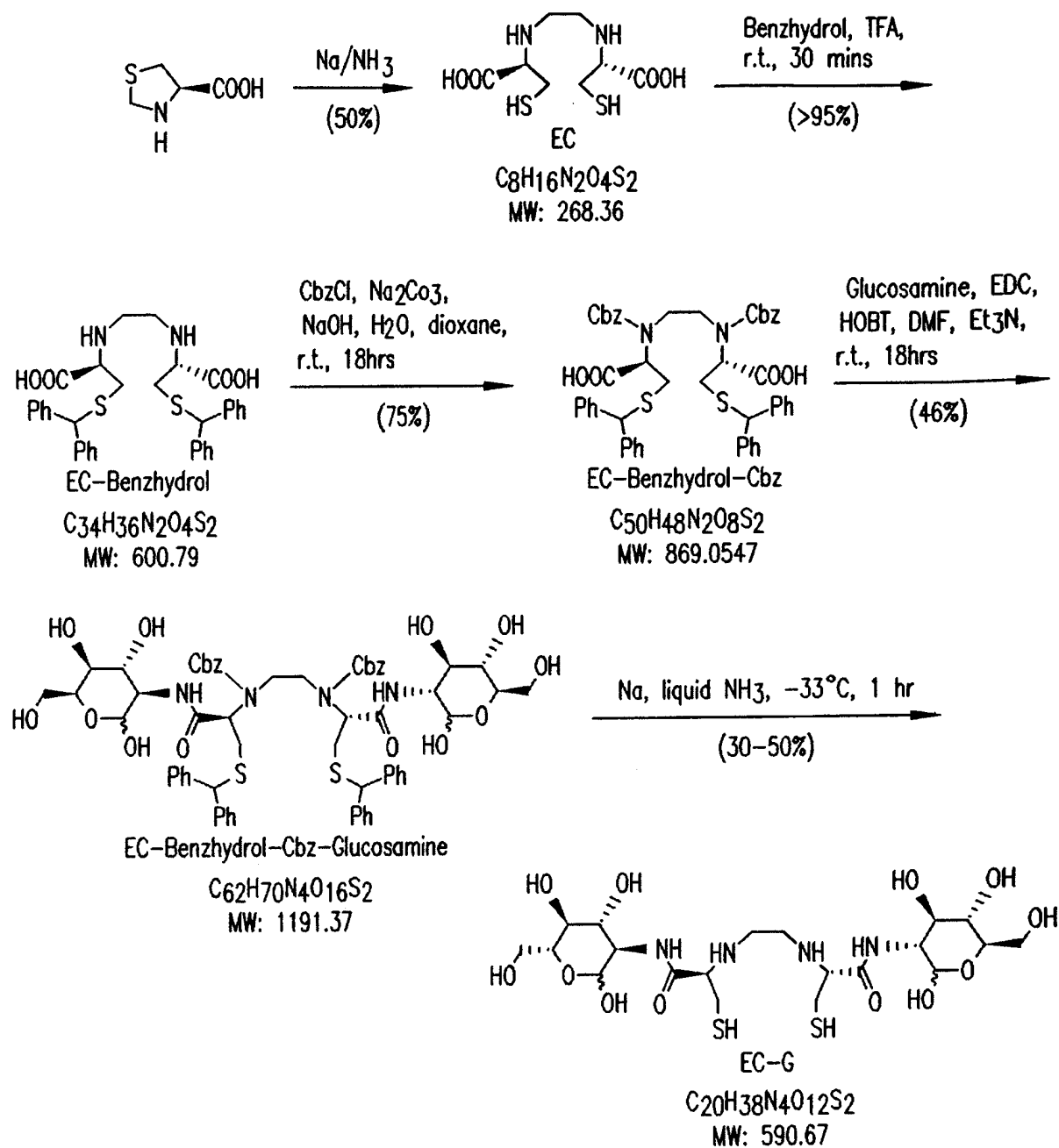


FIG.13

RESUMO

“SÍNTESE EFICIENTE DE AGENTES QUELANTES PARA A IMAGIOLOGIA NUCLEAR E RADIOTERAPIA: COMPOSIÇÕES E APLICAÇÕES”

5 Métodos de síntese de conjugados ligandos direcionais que têm por alvo um agente quelante, composições compreendendo tais conjugados, e aplicações terapêuticas e diagnósticas de tais conjugados são reveladas. As composições incluem conjugados ligandos direcionais que têm por alvo agentes quelantes opcionalmente quelados a um ou mais íons metálicos. Métodos de síntese dessas composições em alta pureza são também apresentados. São revelados também métodos de realizar imagiologia, tratamento e 10 diagnose da doença em um indivíduo que utiliza essas composições, tais como métodos de obter a imagiologia de um tumor em um indivíduo e métodos de diagnose de isquemia do miocárdio.