

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

(21) **PI0710026-4 A2**

(22) Data de Depósito: 30/03/2007
(43) Data da Publicação: 02/08/2011
(RPI 2117)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 31/16 2006.01
A61K 31/185 2006.01
A61P 35/00 2006.01
A61P 43/00 2006.01

(54) Título: **ESTRUTURA PRECURSORA, COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA DETECTAR E TRATAR ÁREAS ÁCIDAS EM UM INDIVÍDUO**

(30) Prioridade Unionista: 30/03/2006 US 11/395,487, 07/06/2006 US 11/449,495, 07/06/2006 US 11/49,508

(73) Titular(es): James E. Summerton

(72) Inventor(es): James E. Summerton

(74) Procurador(es): Vieira de Mello Advogados

(86) Pedido Internacional: PCT US2007008215 de 30/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO WO2007/117398de 18/10/2007

(57) Resumo: ESTRUTURA PRECURSORA, COMPOSIÇÕES E METODOS PARA DETECTAR E TRATAR AREAS ÁCIDAS EM UM INDIVÍDUO Uma das muitas características universais do tumor maligno é sua acidez. Os instrumentos oncológicos são pequenas moléculas sintéticas de não peptídios designados para explorar a acidez na detecção precoce e destruição de um tumor. Cada instrumento oncológico tem uma estrutura que é aniônica e hidrofílica em pH 7,4 e desse modo repele superfícies provenientes de carga negativa de células em tecidos normais. Quando um instrumento oncológico associa-se a um ambiente ácido, tal como um tumor, uma fração das moléculas dos instrumentos oncológicos muda para sua forma lipofílica não iônica que é designada para associar-se a células, tal como células em áreas ácidas de um tumor. Previamente ao uso de um instrumento oncológico, uma seleção de isótopo radioativo é ligado ao instrumento oncológico. Se o isótopo radioativo emitir radiação que pode ser detectada externamente ao corpo, então o instrumento oncológico pode servir para detectar tumores. Se o isótopo radioativo emitir radiação eficaz para destruir células, então o instrumento oncológico pode servir para tratar tumores.

ESTRUTURA PRECURSORA, COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA DETECTAR E
TRATAR ÁREAS ÁCIDAS EM UM INDIVÍDUO

PEDIDOS DE PATENTES RELACIONADOS & INCORPORAÇÃO POR
REFERÊNCIA

5 Este pedido é um pedido de PCT depositado conforme 35 USC 363 e reivindica prioridade baseada em U.S. Utility Patent Application n.º 11/395.487, depositada em 30 de março de 2006, e U.S. Utility Patent Application n.º 11/449.495 e 11/449.508, ambas depositadas em 7 de junho de 10 2006.

Estes pedidos de patente de utilidade relacionados são incorporados neste contexto por referência e fazem parte deste pedido. Se qualquer conflito surgir entre a divulgação da invenção neste pedido de PCT e 15 aquelas nos pedidos de patente de utilidade relacionados, a divulgação neste pedido de PCT deverá reger. Além do mais, toda e qualquer patentes dos E.U., pedidos de patente dos E.U., e outros documentos, cópia impressa ou eletrônica, citado ou referido nesta aplicação são incorporados neste 20 contexto por referência e se fazem parte deste pedido.

CAMPO TÉCNICO

Esta invenção relaciona as composições eficazes para serem seletivamente isoladas em áreas ácidas de tumores dentro de um indivíduo com a finalidade de detectar 25 e tratar tumores.

FUNDAMENTO DA INVENÇÃO

Acidez: uma característica explorável quase-universal dos
tumores:

Em 1930, o famoso fisiologista Otto Warburg relatou que uma das características mais universais de tumores malignos é sua acidez. Pesquisa subsequente sugere que tal acidez surge porque para que um tumor crescer mais
5 que aproximadamente 1 milímetro de diâmetro, ele deve induzir novos vasos sanguíneos. Porque vasos sanguíneos indutores de tumor são mal espaçados e anormais, áreas de tumores maiores que alguns dez microns longe de tais capilares tornam-se geralmente hipóxicas (deficiência de
10 oxigênio). Células em tais áreas hipóxicas dos tumores morrem ou mudam o metabolismo glicolítico - tendo por resultado excreção de ácido láctico. Por causa da precária circulação em um tumor, esse ácido láctico excretado acumula-se no espaço intersticial entre células nas áreas
15 hipóxicas do tumor. Isto pode resultar em um pH tão baixo quanto 6,0 nas áreas mais distantes dos capilares, até aproximadamente pH 7,0 próximo de capilares. Para comparação, o pH no espaço intersticial em tecidos normais é regulado firmemente entre aproximadamente pH 7,3 e pH
20 7,5.

Células inativas em áreas ácidas dos tumores: o grande desafio inadequado na terapia do câncer:

Como notado acima, a acidez característica dos tumores aumenta geralmente com a crescente distância
25 proveniente de capilares do tumor. Enquanto as células do tumor em pH quase normal na grande proximidade aos capilares tiverem taxas metabólicas elevadas e rápida divisão de células, aquelas células de tumor em áreas mais ácidas a uma distância maior dos capilares têm taxas

metabólicas mais baixas e dividem-se lentamente ou de modo nenhum. Comparadas às células do tumor de divisão rápida, estas células de divisão lenta e sem divisão do tumor, referidas como inativas, são substancialmente mais
5 resistentes aos agentes prejudiciais à célula, tais como radiação e produtos químicos tóxicos.

Desde que as terapias convencionais do câncer (radiação e quimioterapia) foram selecionadas em grande parte pela sua habilidade para destruir células que se
10 dividem rapidamente enquanto poupava células de divisão lenta e sem divisão típicas da maioria dos tecidos normais, tais terapias convencionais do câncer são razoavelmente eficazes em destruir as células de tumor que se dividem rapidamente no pH quase normal perto dos capilares. Porém
15 não de modo surpreendente, aquelas mesmas terapias são pouco ineficazes contra às células inativas de divisão lenta e sem divisão nas áreas mais ácidas de um tumor. Conseqüentemente, os tratamentos convencionais contra o câncer destroem predominantemente as células de tumor bem
20 oxigenadas e que se dividem rapidamente enquanto poupam as células inativas nas áreas hipóxicas/ ácidas desse tumor. Esta destruição inicial das células de divisão rápida faz com que o tumor entre em remissão enquanto aquelas células destruídas são descartadas pelos processos normais de
25 limpeza de corpo. Entretanto, durante o andamento deste processo de limpeza, bastante freqüentemente as células inativas resistentes sobreviventes ao tratamento nas áreas ácidas do tumor recuperam lentamente o acesso ao oxigênio adequado, a nutrientes e a eliminação de resíduos -

eventualmente permitindo a elas reverter para taxa metabólica elevada e rápida divisão celular. Este rejuvenescimento das células anteriormente inativas do tumor conduz geralmente à temida recaída que é responsável
5 pela maioria das mortes por câncer.

Esforços prévios para explorar áreas hipóxicas/ ácidas dos tumores para terapia:

As propriedades hipóxicas/ ácidas dos tumores são conhecidas por mais de 75 anos e tem sido especulado por
10 muito tempo que tais propriedades poderiam ser exploráveis para terapia. Entretanto, até recentemente os esforços mais bem sucedidos para explorar estas propriedades se focaram na hipóxia. Especificamente, substâncias têm sido desenvolvidas para que exibam citotoxicidade mínima em
15 células em normóxia, enquanto exibiam citotoxicidade considerável em células hipóxicas. Um tal agente obteve progresso no estágio de ensaios clínicos.

Comparado à exploração da hipóxia em tumores, estes têm tido muito menos esforços focados na exploração
20 da acidez de tumores. Uma aproximação mal sucedida foi baseada na observação que o pH ácido em tecidos atua para sensibilizar esses tecidos ao prejuízo térmico. Entretanto, esforços para explorar esta sensibilidade térmica das células mediada por ácido deram resultados decepcionantes.

25 Uma outra aproximação em relação à acidez nos tumores é baseada no fato de que pH baixo em tumores ioniza agentes citotóxicos de base fraca e, desse modo, confere a eles membrana impermeável, que por sua vez resulta em redução preferencial da entrada de um número de tais

agentes de base fraca em áreas ácidas de tumores relativas à entrada de tais agentes dentro de células em áreas de um pH mais normal. Nesta consideração, antes dessa tentativa de explorar o pH baixo em um tumor, esforços foram focados preferivelmente em elevar o pH nos tumores como um meio de deionizar parcialmente e desse modo intensificar a entrada de tais agentes citotóxicos de base fraca em células de tumor. Tais esforços encontraram algum sucesso.

Ainda uma outra aproximação que se relaciona mais próxima à presente invenção, confiou no fato de que o baixo pH no espaço intersticial dos tumores causará a deionização parcial do agente citotóxico de ácido fraco, clorambucil (mostrado na Figura 1). Como consequência do menor grau de ionização desta conhecida droga citotóxica de ácido fraco em áreas ácidas dos tumores, se esperaria que ela pudesse mostrar aumento da entrada e, portanto maior citotoxicidade em células em áreas ácidas de tumores. Esta expectativa foi testada por Kozin et al., em que eles usaram métodos estabelecidos para fazer tumores mais ácidos em camundongos portadores de tumor (Cancer Research Vol. 61, pages 4740 - 4743 (2001)). Eles relataram que, como previsto, uma redução de aproximadamente 0,3 unidade de pH nos tumores coincidiu com uma melhoria modesta de 1,7 vezes no atraso do crescimento do tumor proporcionado pelo ácido fraco (pKa 5,8) clorambucil. Na conclusão de seu trabalho, eles escreveram: "Para nosso conhecimento, CHL (clorambucil) é a única terapêutica clínica que é um ácido fraco com o apropriado $pK_a \leq 6,5$. Este estudo fornece assim uma análise racional para o projeto de novas e potentes drogas que

exibem propriedades similares ao ácido fraco e para a qual difusão contribui para absorção intracelular. Como igualmente mostrado aqui, o uso combinado de tais compostos com radiação e/ ou os moduladores do gradiente de pH
5 fornecem oportunidades adicionais para maximizar a resposta terapêutica”.

No trabalho acima mencionado, os autores notaram que seus resultados mostraram modesta intensificação na eficácia da droga citotóxica imediatamente disponível
10 clorambucil, fornecendo uma análise racional para projetar novas drogas anticancerosas citotóxicas de ácido fraco as quais podem mostrar eficácia elevada - porém nenhuma orientação foi dada para as estruturas moleculares esperadas para tais drogas, nem qualquer orientação foi
15 dada em como continuar a integrar tanto a função ácida fraca e a função citotóxica em uma estrutura apropriada da droga, nem qualquer orientação foi dada sobre que propriedades específicas são desejáveis, nem qualquer orientação foi dada em como continuar a projetar, preparar
20 ou testar tais drogas citotóxicas de ácido fraco, nem qualquer orientação foi dada a respeito das aplicações ou métodos de uso de tais drogas citotóxicas. A limitação mais séria na proposta dos autores em que novas drogas citotóxicas de ácido fraco de potência melhorada poderiam
25 ser projetadas baseadas no modelo do clorambucil é de células inativas em áreas ácidas de tumores, em que tais drogas são projetadas para inserir preferencialmente, são particularmente resistentes às drogas citotóxicas convencionais em virtude daquelas células serem inativas.

Assim, um caso marcante pode ser feito que as drogas citotóxicas convencionais, tal como clorambucil, são inadequadas para destruir as células inativas em áreas ácidas de tumores para os quais eles foram propostos para serem utilizados.

Ao invés de Summerton (inventor dos instrumentos oncológicos) afirmar que o que é exigido efetivamente para destruir células inativas em áreas ácidas de tumores são as drogas especialmente projetadas que têm um impacto particularmente devastador na viabilidade da célula suficiente para destruir decisivamente aquelas células de tumor inativas resistentes ao tratamento. Acoplada a esta exigência para um impacto devastador na viabilidade da célula é a co-exigência que tais drogas sejam efetivamente distribuídas dentro das células do tumor enquanto são amplamente excluídas das células em tecidos normais.

FUNDAMENTO DA TÉCNICA

Em contraste com a proposta de Kozin *et al.*, para utilizar drogas citotóxicas de ácido fraco convencionais para explorar a acidez de tumores, vários anos atrás Dr. James Summerton, inventor dos instrumentos oncológicos, começou o desenvolvimento de novas composições de peptídeos projetadas explicitamente para explorar o diferencial de pH entre tecidos normais e regiões ácidas de tumores, com o objetivo de fornecer tratamentos mais seguros e eficazes para uma larga escala de tumores. Aquelas grandes composições de peptídios (tipicamente com massas na escala de 2.000 a 4.000 daltons), são referidas como "peptídios transportadores e aglutinantes". Suas estruturas e métodos

utilizados para detecção e tratamento tumores são divulgados no pendente pedido de patente U.S. n.º 11/069.849 e na patente U.S. n.º 7.132.393 entregue em 7 de novembro de 2006 - Dr. James E. Summerton o inventor de
5 ambos. Enquanto tais peptídios transportadores e aglutinantes tem sido encontrados para inserir tumores em camundongos portadores de tumor com satisfatória seletividade, apesar disso, resultados experimentais dos estudos com camundongos sugerem que tais peptídios consigam
10 menos especificidade e eficácia do que desejado. Igualmente parecem estar sujeitos a indevida reabsorção nos rins - o qual é indesejável em aplicações diagnósticas, e inaceitável em aplicações terapêuticas.

Em virtude das limitações dos peptídios transportadores e aglutinantes, Summerton subsequente-
15 mente empreendeu uma procura para planejar uma classe inteiramente nova de pequenas drogas não-peptídicas, chamado instrumentos oncológicos, com o objetivo de conseguir aprimorar consideravelmente a especificidade,
20 eficácia e segurança relativo aos peptídios transportadores e aglutinantes anteriores. Estes pequenos instrumentos oncológicos não-peptídicos que compreendem a presente invenção foram divulgados pelo presente inventor, Dr. James E. Summerton, somente no pedido de patente pendente U.S.
25 n.º 11/395.487 depositado em 30 de março de 2006, e nos pedidos de patente U.S. n.º 11/449.495 e 11/449.508 ambos depositados em 7 de junho de 2006.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

O objeto da presente invenção é fornecer composições de não-peptídio e métodos para detecção e tratamento de tumores que contêm áreas ácidas.

Instrumentos oncológicos exploram a acidez dos tumores para

5 detecção precoce e destruição de tumores:

Instrumentos oncológicos da presente invenção são uma classe nova de moléculas projetadas para detecção e tratamento de tumores. Cada instrumento oncológico contém dois ou mais componentes de seletor de pH os quais
10 convertem prontamente entre uma forma hidrofílica aniônica em pH mais elevado e uma forma lipofílica não-iônica em pH mais baixo. Cada instrumento oncológico também contém um componente de carga o qual é eficaz para ligar um isótopo radioativo selecionado o qual é apropriado para realizar o
15 papel diagnóstico ou terapêutico de um instrumento oncológico. Instrumentos oncológicos consistem em moléculas relativamente pequenas de não-peptídio sintético com massas tipicamente na escala de aproximadamente 300 a 1500 daltons - sem contar a massa do isótopo radioativo.

20 No pH neutro de tecidos normais, instrumentos oncológicos existem em sua forma negativamente carregada solúvel em água a qual é projetada para ser repelida pelas superfícies negativamente carregadas das células e ser prontamente excretada pelos rins. Inversamente, quando os
25 instrumentos oncológicos se inserem em região ácida de um tumor, uma fração das moléculas do instrumento oncológico muda para sua forma não-iônica solúvel em lipídios a qual é projetada para se inserir prontamente em qualquer célula vizinha. Assim, quando uma dose do instrumento oncológico é

injetada em uma pessoa, se essa pessoa tem um tumor maior que aproximadamente 1 milímetro de diâmetro, uma fração da dose injetada é projetada para inserir rapidamente e permanecer dentro das células em regiões ácidas do tumor, com o restante da dose sendo excretada pelos rins. Diferentemente declarado, instrumentos oncológicos são projetados para ter propriedades chave: a) ser repelido das células em tecidos normais; b) ser isolado dentro das áreas ácidas de tumores e, c) qualquer instrumento oncológico não isolado em uma área ácida de um tumor é projetado para ser rapidamente eliminado do corpo através dos rins.

Previamente ao uso de um instrumento oncológico um isótopo radioativo selecionado é interligado a esse instrumento oncológico. Esse isótopo radioativo unido realiza o papel diagnóstico ou terapêutico do instrumento oncológico. O papel diagnóstico é relatar a presença do instrumento oncológico dentro de um tumor a um detetor fora do corpo. O papel terapêutico é destruir o tumor.

Instrumentos oncológicos de diagnóstico:

Por causa da grande variabilidade entre tumores, detecção de rotina de uma extensa escala de tipos de tumor em estágio suficientemente precoce em que eles podem ser tratados com sucesso (preferivelmente antes que se reproduzam por metástase, mostrem sintomas evidentes ou causem sério prejuízo ao órgão) tem sido por muito tempo um objetivo insatisfatório da medicina. Muita da dificuldade na detecção de rotina precoce dos tumores consistiu em identificar alguma propriedade a qual é comum á maioria ou a todos os tumores, e que pode efetivamente ser explorada

pela rotina e detecção precoce disponível de tumores. Um instrumento oncológico conduzindo um isótopo radioativo apropriado (por exemplo, um emissor gama ou pósitron) o qual emite um sinal prontamente detectável fora do corpo, 5 combinado com as tecnologias modernas de imagem, é projetado para fornecer com segurança detecção muito precoce da maioria ou de todos os tipos de tumor.

Um instrumento oncológico de diagnóstico é projetado para ser utilizado amplamente em exames físicos 10 anuais de rotina para fornecer detecção muito precoce de essencialmente todos os tumores maiores que tamanho microscópico. Dessa maneira, um único instrumento oncológico de diagnóstico pode servir como uma substituição superior e abrangente para uma extensa escala de 15 procedimentos atuais de diagnóstico de tumor, tais como mamografias, exame de Papanicolau, exames da próstata e colonoscopias. Além disso, deve-se apreciar que muitos tipos de tumores atualmente não podem ser rotineiramente detectados até que alcancem um estágio um tanto tardio de 20 desenvolvimento em que se manifestam pela dor, mau funcionamento de um órgão ou algum outro sintoma genérico ou conjunto de sintomas, os quais exigem então procedimentos diagnósticos exaustivos e muito caros a fim identificar a causa origem do problema. Até que tal tumor 25 seja detectado esse é freqüentemente avançado para qualquer esperança de tratamento bem sucedido (pelo menos com terapias atualmente aprovadas). Nesta consideração, os instrumentos oncológicos de diagnóstico oferecem a promessa

de uma capacidade inteiramente nova para a detecção de rotina precoce de tais tumores de difícil diagnóstico.

Instrumentos oncológicos terapêuticos:

Instrumentos oncológicos terapêuticos são
5 projetados para explorar a acidez característica de tumores para fornecer a destruição segura e eficaz de tumores. Para resultados ótimos uma combinação de duas formulações de instrumento oncológico deve ser utilizada. Uma formulação conduz um isótopo radioativo o qual emite radiação de
10 transferência de energia linear elevada durante um curto trajeto, tal como uma partícula alfa de energia muito elevada, que seja eficaz para destruir as células inativas resistentes a radiação bem perto em áreas ácidas de tumor (ver Figura 2). A outra formulação conduz um isótopo
15 radioativo o qual emite uma partícula beta de média energia durante um trajeto médio eficaz para destruir as células de tumor de divisão rápida, sensíveis a radiação mais distante dos arredores dos capilares. Quando utilizadas em combinação, estas duas formulações são projetadas para
20 destruir efetivamente o tumor inteiro, com pequeno ou nenhum prejuízo a outras células no corpo. Como consequência, os instrumentos oncológicos terapêuticos são projetados para serem eficazes na maioria contra todo tipo de célula ou em todos os tumores, e assim oferecer a
25 promessa de tratamento de tumores muito menos tóxico e muito mais eficaz, com pouca ou nenhuma recaída.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS:

A Figura 1 mostra quimioterápico citotóxico de ácido fraco, clorambucil, em suas formas aniônica e não-iônica.

5 A Figura 2 ilustra a distribuição de acidez nos tumores.

A Figura 3 ilustra as transições de pH mediado e solubilidade mediadas entre formas.

A Figura 4 mostra curvas de titulação calculadas como função de lipofilicidade da forma ácida não-iônica.

10 A Figura 5a ilustra as águas de hidratação esperadas, mostrando moléculas de água ligadas por ponte de H a um ácido carboxílico convencional em suas formas aniônicas e não-iônica.

15 A Figura 5b ilustra as águas de hidratação esperadas, mostrando moléculas de água ligadas por ponte de H a uma estrutura contendo ácido carboxílico em sua forma aniônica e em sua forma não-iônica ligada à ponte de H internamente.

20 A Figura 6a ilustra uma ponte de H ácido específica em uma estrutura que forma uma ponte de H ácido específica interna somente em sua forma não-iônica.

A Figura 6b ilustra uma estrutura que forma ponte de H não ácido específico tanto na sua forma aniônica e sua forma não-iônica.

25 A Figura 7a mostra as estruturas de anel representativas adequadas para seletores de pH avançados, incluindo uma estrutura de anel com 4 elementos, uma estrutura de anel com 5 elementos, e uma estrutura de anel com 6 elementos.

A Figura 7b mostra uma estrutura a qual é inaceitável para o uso como um seletor de pH avançado porque esse tem uma estrutura acíclica.

5 A Figura 8a ilustra o isolamento da porção carboxila proveniente dos devidos efeitos indutivos para um número crescente de carbonos com separação de carboxila proveniente de um grupo de remoção de elétrons.

10 A Figura 8b ilustra uma estrutura que tem o isolamento inadequado de sua carboxila proveniente dos efeitos indutivos.

A Figura 9a ilustra uma estrutura cujo local de ponte de H está aberto para solvente.

A Figura 9b ilustra uma estrutura cujo local de ponte de H é parcialmente impedido por solvente.

15 A Figura 10 mostra componentes de ponte de H de barreira baixa.

20 A Figura 10a mostra doador de ponte de H, compreendendo um ácido carboxílico, que seja apropriado para formar pontes de H de barreira com porções aceitadoras de ponte de H tendo um valor de pKa, na forma forma independente, na escala de aproximadamente 3,0 a 6,5.

A Figura 10b mostra porções aceitadoras de ponte de H representativos apropriados para formar pontes de H de barreira baixa com um doador de ácido carboxílico.

25 A Figura 10c ilustra seletores de pH avançados representativos projetados para formar pontes de H de barreira baixa ácido específicas internas.

A Figura 11 ilustra as bases estatísticas para o aumento de especificidade de instrumentos oncológicos multiseletores de pH.

5 A Figura 11a ilustra formas aniônicas não isoladas e não-iônicas isoladas em tumor de um instrumento oncológico com dois seletores de pH.

A Figura 11b ilustra formas aniônicas não isoladas e não-iônicas isoladas em tumor de um instrumento oncológico com três seletores de pH.

10 A Figura 12 mostra fatores de especificidade e eficácia calculados para multiseletores de pH de instrumentos oncológicos.

A Figura 12a mostra fatores de especificidade e eficácia calculados como uma função do valor de pKa para estruturas que contêm um seletor de pH.

A Figura 12b mostra fatores de especificidade e eficácia calculados como uma função do valor de pKa para instrumentos oncológicos que contêm dois seletor de pH.

20 A Figura 12c mostra fatores de especificidade e eficácia calculados como uma função do valor de pKa para instrumentos oncológicos que contêm três seletor de pH.

A Figura 12d mostra fatores de especificidade e eficácia calculados como uma função do valor de pKa para instrumentos oncológicos que contêm quatro seletor de pH.

25 A Figura 13 mostra uma composição contendo dois seletores de pH avançados.

A Figura 13a mostra a estrutura desta composição.

A Figura 13b mostra um gráfico da divisão n-Octanol/ tampão desta composição de 2 seletores de pH como uma função do pH.

5 A Figura 14 ilustra componentes de carga representativos em ambas suas formas precursoras e finais.

A Figura 15 ilustra duas rotas sintéticas para componentes de carga representativos, incluindo um procedimento simples para converter formas precursoras para suas formas finais.

10 A Figura 16 ilustra instrumentos oncológicos de 2 seletores de pH representativos.

A Figura 16a ilustra dois instrumentos oncológicos de 2 seletores de pH representativos que contêm seletores de pH simples.

15 A Figura 16b ilustra cinco instrumentos oncológicos de 2 seletores de pH representativos que contêm seletores de pH avançados.

A Figura 16c ilustra dez instrumentos oncológicos de 2 seletores de pH representativos que contêm seletores
20 de pH avançados projetados para formar ponte de H de barreira baixa. As estruturas 1 e 2 da figura 16c mostra dois instrumentos oncológicos em que a porção aceitadora de ponte de H de seletores de pH são porções de N-óxido, e em que cada porção de N-óxido serve como aceitador de ponte de
25 H para duas porções de ácido carboxílico doadoras de ponte de H.

A Figura 17 ilustra instrumentos oncológicos de 3 seletores de pH representativos.

A Figura 17a ilustra dois instrumentos oncológicos de 3 seletores de pH representativos que contêm seletores de pH avançados.

5 A Figura 17b dois instrumentos oncológicos de 3 seletores de pH representativos que contêm seletores de pH avançados projetados para formar ponte de H de barreira baixa.

A Figura 18 ilustra instrumentos oncológicos de 4 seletores de pH representativos.

10 A Figura 18a ilustra instrumentos oncológicos de 4 seletores de pH onde as porções aceitadores de ponte de H de seletores de pH são porções de alcóxi amina.

A Figura 18b ilustra instrumentos oncológicos de 4 seletores de pH, onde as porções de aceitadores de ponte de H de seletores de pH são porções de N-óxido, e em que cada porção de N-óxido serve como aceitador de ponte de H para duas porções de ácido carboxílico doadores de ponte de H.

20 A Figura 19 ilustra a síntese de instrumentos oncológicos contendo seletores de pH simples, em que a lipofilicidade pode ser ajustado variando o grupo R.

A Figura 20 ilustra um esquema sintético de seletores de pH avançados, em que a lipofilicidade pode ser ajustada variando o grupo R.

25 A Figura 21 ilustra intermediários úteis de amina éster e cetona éster para síntese de instrumento oncológico.

A Figura 22 ilustra sínteses de seletores de pH representativos projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa ácido específica interna.

5 A Figura 22a mostra as sínteses de um seletor de pH em que o aceitador de ponte de H é uma porção de cianometil amina.

A Figura 22b mostra as sínteses de um seletor de pH em que o aceitador de ponte de H é uma porção de N-óxido.

10 A Figura 22c mostra as sínteses de um seletor de pH em que o aceitador de ponte de H é uma porção de trifluoroetil amina.

A Figura 23 mostra resultados de titulação para uma variedade de estruturas de seletor de pH.

15 A Figura 23a mostra uma curva de titulação convencional, onde a titulação foi realizada em metanol/água, 1:1 para volume, para um ácido carboxílico simples (ácido butírico) e um seletor de pH avançado (um derivado de amido ácido do ácido canfórico), mais aquele mesmos
20 dados traçados no forma derivada da primeira informação.

A Figura 23b mostra uma curva de titulação convencional, onde a titulação foi realizada em água e cada espécie estava presente na concentração de 33 milliMolar, para os instrumentos oncológicos do dois seletores de pH
25 (porém com iodo estável ao invés de iodo radioativo) variando em seu grupo R, e uma estrutura de três seletores de pH.

A Figura 23c mostra uma curva de titulação, traçada como o primeiro derivado, para um seletor de pH

avançado projetado para formar uma ponte de H de barreira baixa. Esta titulação foi realizado na água e o seletor de pH, compreendendo um N-óxido/ estrutura ácida derivada do ácido canfórico, estava presente em uma concentração 5
5 milliMolar.

A Figura 24 mostra valores de pKa experimentalmente determinados para três estruturas de seletor de pH, incluindo: o amido/ seletor de pH avançado ácido derivado do ácido canfórico, mostrado na figura 23a;
10 um N-óxido/ seletor de pH avançado ácido projetado para formar uma ponte de H de barreira baixa, derivado do ácido isonipocótico; e, o N-óxido/ seletor de pH avançado ácido projetado para formar uma ponte de H de barreira baixa, derivado do ácido canfórico, mostrado na figura 23c.

15 A Figura 25 ilustra esquemas sintéticos para instrumentos oncológicos representativos contendo seletores de pH avançados.

A Figura 25a mostra um instrumento oncológico em que seus dois seletores de pH estão unidos por uma
20 estrutura de di-acilhidrazida.

A Figura 25b mostra um instrumento oncológico em que seus dois seletores de pH estão unidos por uma estrutura do di-amida.

A Figura 26 ilustra esquemas sintéticos para
25 instrumentos oncológicos representativos contendo seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa.

A Figura 26a mostra um esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH em que a porção

simples de N-óxido serve como porção receptora de ponte de H para duas porções doadoras de ponte de H de ácido carboxílico.

5 A Figura 26b mostra um esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH em que ambos os nitrogênios de uma porção de hidrazina servem como porção receptora de ponte de H para duas porções doadoras de ponte de H de ácido carboxílico.

10 A Figura 26c mostra um esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH em que porção cianometil amina serve como porção receptora de ponte de H para duas porções doadoras de ponte de H de ácido carboxílico.

15 A Figura 26d mostra um esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH em que cada porção de N-óxido serve como porção receptora de ponte de H para duas porções doadoras de ponte de H de ácido carboxílico.

DEFINIÇÕES DOS TERMOS

20 Os termos usados neste contexto têm os seguintes significados específicos, a não ser que anotados de outra maneira.

As palavras "compreender," "ter," "conter," e "incluir," e outras formas destes, são equivalentes no
25 significado e não exclusivas a um item ou itens referentes a quaisquer destas palavras, isto é, não fazem parte de uma lista exaustiva de tal item ou itens ou limitam-se somente ao item ou itens listados.

As palavras "consistente" "consiste de" e outras formas destes, são equivalentes no significado e limitadas no sentido de que um item ou itens referentes a alguma destas palavras fazem parte de uma lista exaustiva de tal item ou itens e são limitados somente ao item ou itens listados.

Componente de seletor de pH - um componente estrutural de um instrumento oncológico que é capaz de se submeter a uma transição mediada por pH entre uma forma hidrofílica aniônica em um pH mais elevado e uma forma lipofílica não-iônica em um pH mais baixo.

Componente de seletor de pH avançado - um componente de mudança de pH designado para formar uma ponte de hidrogênio ácido específica interna. Um seletor de pH avançado tem as seguintes propriedades:

a) contém uma estrutura alifática de anel selecionada proveniente de um grupo que consiste em: anéis com 4 elementos, anéis com 5 elementos, e anéis com 6 elementos;

b) contém uma porção de ácido carboxílico ligado diretamente à uma estrutura alifática do anel;

c) uma porção de ácido carboxílico é separada proveniente de um grupo com retirada de elétrons por pelo menos dois carbonos;

d) contém uma porção aceitadora de ponte de H selecionado dentro de um grupo que consiste em:

i) parte da estrutura alifática do anel;

ii) ligação direta com a estrutura alifática de um anel; e

iii) ligação através de um átomo com a estrutura alifática do anel;

e) a porção aceitadora de H tem uma estrutura que em sua forma não-iônica não serve como porção doadora de
5 ponte de H; e

f) a porção de ácido carboxílico e a dita porção aceitadora de ponte de H são posicionadas na proximidade da vizinhança e são posicionados corretamente e orientados tais que eles sejam compatíveis com a formação de uma ponte
10 de H ácido específico interna.

Componente de carga - um componente estrutural de um instrumento oncológico que serve para ligar um isótopo radioativo que é eficaz para relatar a presença do instrumento oncológico, ou seja, eficaz para destruir
15 células. O componente de carga pode existir em qualquer uma forma precursora pronto para ligar um isótopo radioativo ou uma forma final que contenha um isótopo radioativo.

Componente de carga na forma de precursor - um componente da carga que tem uma estrutura que é capaz de
20 ligar prontamente a um isótopo radioativo selecionado, porém ainda não determina um isótopo radioativo. Um instrumento oncológico com esta forma precursora de componente de carga é apropriada para o armazenamento em longo prazo.

Componente de carga na forma final - um
25 componente de carga que contenha pelo menos um isótopo radioativo determinado. Um instrumento oncológico com essa forma final de componente de carga é apropriada para a distribuição dentro de um indivíduo com a finalidade de

detectar e/ ou de destruir os tumores contendo áreas ácidas.

Instrumento oncológico - uma composição não peptídica que inclui pelo menos dois componentes seletivos de pH e pelo menos um componente de carga.

Instrumento oncológico para diagnóstico - um instrumento oncológico contendo um isótopo radioativo que é eficaz para relatar a presença do instrumento oncológico em um tumor para um detector fora do indivíduo que se submete ao procedimento de diagnóstico.

Instrumento oncológico para terapêutica - um instrumento oncológico contendo um isótopo radioativo que é eficaz para destruir células.

Estratégia de terapia de instrumento oncológico com duplo isótopo radioativo - uma estratégia de tratamento onde pelo menos dois instrumentos oncológicos diferentes são usados para tratar tumores, onde um instrumento oncológico contenha um isótopo radioativo que emita radiação de energia de transferência linear elevada, e um outro instrumento oncológico contenha um isótopo radioativo beta- emissor.

Espaço intersticial - a área de um tecido ou de um tumor que esteja fora da rede vascular e fora das células.

Área ácida do tumor - uma área de um tumor onde o espaço intersticial tenha um pH menor que 7,0.

Condições fisiológicas - uma solução aquosa com uma temperatura na escala de 20 °C a de 40 °C e que tem uma

concentração do cloreto de sódio entre 0,13 M e 0,17 M aproximadamente.

Fração significativa - maior do que aproximadamente 1%.

- 5 Forma hidrofílica aniônica - uma forma que carrega pelo menos uma carga negativa e tem um coeficiente de partição octanol/ água menor que 1.

- 10 Forma lipofílica não-iônica - uma forma que não carrega uma carga iônica e tem um coeficiente de partição octanol/ água maior que 1.

Fator de eficácia - um percentual das moléculas do instrumento oncológico que estão em sua forma não-iônica com pH 6,4.

- 15 Fator de especificidade - a relação: (percentual das moléculas do instrumento oncológico que estão na forma não-iônica com pH 6,4) dividido por (percentual das moléculas do instrumento oncológico que estão na forma não-iônica com pH 7,4).

- 20 Eficaz para relatar a presença - um isótopo radioativo cuja emissão, tal como um raio gama ou um pósitron, gere um sinal que seja prontamente detectável fora do indivíduo.

- 25 pT - o valor de pH no ponto médio da transição entre a forma hidrofílica de uma substância e a forma lipofílica dessa substância, onde essa transição entre as duas formas é medida com 5 miliMolar da substância presente em solução aquosa salina fisiológica (ou um equivalente próximo contendo algum tampão). Quando o valor de pT assemelha ao valor de pKa para uma substância, o valor de

pT difere em que esse é influenciado tanto pelo pKa da substância e a lipofilicidade da substância. O valor de pT é útil para descrever substâncias contendo carboxila cuja a forma não-iônica é fortemente lipofílica e pode então
 5 desligar-se da solução aquosa durante as titulações, ou pode dividir dentro de uma fase não polar durante ensaios de partição. Adicionalmente, o valor de pT é medido na presença aproximada de uma concentração salina fisiológica assim esse reflete melhor as propriedades da substância de
 10 teste *in vivo* em um ambiente.

Isótopo radioativo que emite radiação de transferência de energia linear elevada - um isótopo radioativo que emita uma partícula alfa ou que emita um elétron de Auger e/ ou de Coster-Kronig.

15 Inventor - Ph.D James E. Summerton

ESBOÇO DA DIVULGAÇÃO:

A. Projeto Molecular de Instrumentos Oncológicos

1. Componentes de seletores de pH

a) Ajuste da lipofilicidade de seletor de pH
 20 b) Incorporação de uma nova ponte de H interna ácida específica no seletor de pH

c) Incorporação de múltiplos componentes de seletor de pH em instrumento oncológico

2. Componente de carga

25 a) Exigências estruturais
 b) Formas Precursoras e finais
 c) Seleção de carga de isótopo radioativo
 i) para detecção tumores
 ii) para tratamento tumores

3. Estrutura do Instrumento Oncológico

- a) Exigências estruturais
- b) Instrumentos oncológicos com 2 seletores de pH
- c) Instrumentos oncológicos com 3 seletores de pH
- 5 d) Instrumentos oncológicos com 4 seletores de pH

B. Síntese, Teste, e Optimização de Componentes e Instrumento oncológicos

1. Preparação de estruturas que contém seletores de pH representativos

- 10 a) Seletores de pH simples
- b) Seletores de pH avançados
- c) Seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa

2. Testando Seletores de pH

- 15 3. Preparação dos instrumentos oncológicos representativos e de conversão da forma final

- a) Instrumentos oncológicos com seletores de pH simples
- b) Instrumentos oncológicos com seletores de pH
- 20 avançadas
- c) Instrumentos oncológicos com seletores de pH avançadas projetadas para formar ponte de H de barreira baixa

4. Teste e optimização de instrumentos oncológicos

- 25 a) Processo de optimização iterativo: síntese e teste em cultura de células
 - i) Preparação conjunto de variados instrumentos oncológicos na lipofilicidade

ii) Avaliação de entrada dentro da cultura de células em pH 6,4 e pH 7,4

iii) Repetição das etapas como necessário

b) Avaliação da disposição em camundongos normais

5 c) Avaliação da disposição em camundongos portadores de tumor

d) Testes pré-clínico e clínico

C. Métodos para uso de Instrumentos oncológicos

1. Método de diagnóstico

10 2. Método terapêutico

a) Método com simples isótopo radioativo

b) Método com duplo isótopo radioativo

3. Método detalhado para detectar e tratar tumores

4. Estratégia para lidar com as micro-metastases

15 5. Tratar para diminuir pH em tumores para aumentar eficácia e a especificidade

6. Utilização de múltiplos instrumentos oncológicos que variam em pKa para aumentar a eficácia e a especificidade

20 7. Tratar para aumentar pH na urina para proteger rins de dano

8. Monitorar e lavar bexiga para aumentar a segurança

MODO DE REALIZAR A INVENÇÃO:

A. Projeto Molecular de Instrumentos Oncológicos

25 Instrumentos oncológicos que compreendem a presente invenção são uma classe nova de moléculas projetadas para a detecção e tratamento dos tumores. Cada instrumento oncológico contém dois ou mais componentes de seletor de pH que se submetem prontamente a uma transição

mediada por pH entre uma forma hidrófilo aniônica com pH mais elevado e um forma lipofílica não-iônica com pH mais baixo. Cada instrumento oncológico também contém um componente de carga que é eficaz para ligar um isótopo radioativo selecionado que é apropriado para realizar o papel diagnóstico ou terapêutico do instrumento oncológico.

1. Componentes de seletor de pH

Se um instrumento oncológico é para alcançar a especificidade adequada para áreas ácidas dos tumores ele deve ter uma estrutura tal que em solução aquosa em pH 7,4 quase todas as moléculas do instrumento oncológico ocorrem em um forma negativamente carregada (aniônica) a qual possuem afinidade deficiente para as superfícies negativamente carregadas das membranas das células. Inversamente, a fim de alcançar a especificidade adequada, no pH presente em áreas ácidas de tumores uma fração significativa (maior que 1%) das moléculas do instrumento oncológico devem mudar para a forma lipofílica não-iônica que insere prontamente membranas celulares. Um desafio principal em projetar instrumentos oncológicos é planejar uma estrutura em que uma fração suficiente das moléculas do instrumento oncológico se submeta à transição entre a forma hidrófila aniônica e a forma lipofílica não-iônica como na avaliação de vários limites de diferença de pH entre tecidos normais e áreas ácidas de tumores. Quando esta diferença de pH é geralmente apenas perto de 0,5 a 0,7 unidades de pH, isso pode ser apreciado por etapas simples (descritas posteriormente na Seção C nesse contexto) pode facilmente ser executadas para aumentar substancialmente

esta diferença de pH entre tecidos normais e áreas ácidas de tumores. Com tais etapas a diferença de pH entre áreas normais e ácidas de tumores podem previsivelmente ser aumentada para 1,0 ou mais unidades de pH.

5 Para satisfazer as muitas exigências do desafio inerente do projeto molecular explorando a acidez nos tumores, estruturas de seletor de pH tem sido disponibilizadas em que cada uma contenha uma porção ácida fraca (geralmente um ácido carboxílico) que conduza uma
10 carga negativa em pH 7,4. Então, por causa desta porção essencial de ácido fraco exibindo condição substancial hidrofílica em sua forma não-iônica de ácido livre, a fim de alcançar a eficácia adequada, duas estratégias do projeto molecular têm sido utilizadas a fim de prover
15 lipofilicidade suficiente para inserção rápida da membrana quando o instrumento oncológico entrar na área ácida em um tumor. Estas duas estratégias de projeto, usadas separadas ou combinadas, quando combinadas com uma terceira estratégia de projeto, podem igualmente disputar o papel
20 chave aumentando dramaticamente à especificidade do instrumento oncológico para áreas ácidas de tumores. As bases físicas e matemáticas para estas três estratégias de projeto molecular, dois desses são acreditado que sejam exclusivos para instrumentos oncológicos, são descritas
25 abaixo.

a) Ajuste da lipofilicidade de seletor de pH por incorporação de múltiplas porções lipofílicas para se opor parcialmente a hidrofílicidade inerente da porção do ácido livre. Nesta consideração é primeiramente de utilidade

obter uma avaliação quantitativa de como o aumento da lipofilicidade da forma ácido livre não-iônica do seletor de pH afeta suas propriedades de partição (i.e., como essa divisão entre uma fase aquosa e uma fase lipofílica tais como, octanol ou uma membrana de célula). Para esse fim, modelagem matemática foi realizada para calcular a transição dependente de pH entre as formas de uma substância ácida fraca, a qual existe em pH elevado em uma forma aniônica solúvel em água, $[A^-]$, e a qual se converte em pH mais baixo para uma forma lipofílica não-iônica que tem alguma solubilidade em meio aquoso, $[HA_{sol}]$, e a qual pode igualmente se tornar insolúvel em água/ solúvel em lipídio, designada por $[HA_{insol}]$, em virtude da precipitação ou oleação da solução aquosa, ou em virtude da partição em uma fase lipofílica, tal como octanol ou uma membrana de célula. A interconversão destas três formas, juntamente com as equações chave utilizadas na modelagem matemática, são ilustradas na Figura 3.

Os resultados a partir da modelagem, ilustrados na Figura 4, demonstram que o pH do ponto médio da transição entre a forma aniônica, $[A^-]$, e as formas não-iônicas, $[HA_{sol}]$ mais $[HA_{insol}]$, crescem progressivamente assim como o coeficiente de partição octanol/ água, P , da forma não-iônica ácido livre é aumentado. Entretanto, tal aumento no pH da transição somente se aplicará depois da forma ácido livre alcançar o limiar de lipofilicidade eficaz para iniciar precipitação ou oleação, ou se uma fase não-polar estiver presente para permitir particionamento. Exemplo 1 descreve experimentos de titulação os quais

ilustram este impacto matematicamente previsto da lipofilicidade da forma ácida na transição dependente de pH entre as formas aniônica e não-iônica.

Entretanto, deve ser notado que a incorporação
5 excessiva de porções lipofílicas como meio exclusivo para aumentar a lipofilicidade da forma não-iônica pode ser ineficaz. Isto é porque quando uma lipofilicidade muito elevada é gerada somente por incorporação de número excessivo de porções lipofílicas então mesmo a forma
10 aniônico do seletor de pH pode começar a ter uma afinidade pelas superfícies da célula - tendo por resultado isolamento do instrumento oncológico em tecidos normais assim como em tumores. Este pode ser um problema particular quando porções lipofílicas formam uma grande superfície e
15 porções hidrofílicas estão bem separadas desta superfície lipofílica. Quando o instrumento oncológico também é isolado em tecidos normais causará um elevado sinal de fundo na aplicação diagnóstica e toxicidade significativa na aplicação terapêutica.

20

b) Incorporar uma nova ponte de H interna ácida específica no seletor de pH para amplificar o diferencial de solubilidade entre as formas hidrofílicas e lipofílicas.

Na seção antecedente uma estratégia um pouco
25 convencional foi descrita para melhorar a entrada do instrumento oncológico em células nas áreas ácidas de tumores, e desse modo aumentando a eficácia, esta estratégia que é incorporar grupos lipofílicos dentro de componentes de seletor de pH. Esta simples estratégia é

geralmente utilizada em que é referido como "projeto de droga racional" - o qual tem sido aplicado extensamente nas tentativas de melhorar a eficácia e a especificidade de quimioterápicos de câncer. Entretanto, porque há apenas uma
5 diferença um pouco pequena em valores de pH entre tecidos normais e áreas ácidas de tumores, o inventor partiu para planejar uma estratégia adicional para intensificar a entrada dos instrumentos oncológicos nas áreas ácidas, a qual nesse foi esperado poder também aumentar a
10 especificidade de instrumento oncológico para tumores. Para esse fim, o inventor postulou que tanto a hidrofiliabilidade da forma aniônica e a lipofiliabilidade da forma não-iônica dos seletores de pH, poderiam ser substancialmente aumentadas por planejamento de estrutura eficaz para formar
15 a ponte de hidrogênio interna ácido específica dependente de pH. O inventor postulou mais adiante que tal ponte de H interna elevaria o pH em que a transição do seletor de pH entre sua forma aniônica e sua forma não-iônica, fazendo desse modo o instrumento oncológico mais disponível na
20 forma não-iônica para entrada em células nas áreas ácidas de tumores.

Esse aumento previsto da ponte de H mediando na lipofiliabilidade da forma não-iônica e aumentando concomitante na hidrofiliabilidade da forma aniônica estão
25 baseados na expectativa que em um ambiente aquoso tal ponte de H interna deslocará diversas (provavelmente duas) águas ligantes provenientes da forma de ácido livre. Para ilustrar, a Figura 5a mostra as águas de hidratação esperadas diretamente ligadas a H para um padrão carboxila

em sua forma aniônica e em sua forma não-iônica de ácido livre. Figura 5b mostra que as águas de hidratação esperadas correspondentes diretamente ligadas a H para forma aniônica e para forma não-iônica de ácido livre de uma estrutura eficaz para formar a desejada ponte de H interna ácido específica. Claramente, tanto a carboxila padrão e a carboxila eficaz para formar a ponte de H interna, perdem seu contador de íon ao ir da forma aniônica para forma não-iônica de ácido livre. Entretanto, enquanto a carboxila padrão é esperada para ter o mesmo número (provavelmente 4) de águas diretamente ligadas a H tanto para forma aniônica e para forma não-iônica de ácido livre, o inventor acredita que para a carboxila capaz de formar uma ponte de H interna será uma perda líquida de diversas (provavelmente dois) águas diretamente ligadas a H onde irá proveniente da forma aniônica (provavelmente 5 águas ligadas a H) para forma não-iônica de ácido livre (provavelmente 3 águas ligadas a H) - e esta perda de diversas águas ligadas a H amplificará substancialmente o diferencial de hidrofiliicidade/ lipofilicidade entre as duas formas. O inventor previu que se tal ponte de H interna ácida específica poderia ser formada em um ambiente aquoso, então a perda resultante de diversas águas de hidratação aumentaria significativamente a habilidade dos instrumentos oncológicos de se inserir rapidamente células em áreas ácidas de tumores, enquanto também aumenta significativamente a repulsão do instrumento oncológico proveniente de células em tecidos normais. Em resumo, a incorporação de tal ponte de H interna ácida específica foi

prevista para aumentar a especificidade e a eficácia do instrumento oncológico por alterar diferencialmente o número de moléculas de ligação de água para cada uma das duas formas de seus componentes de seletor de pH.

5 O inventor também previu (e tem demonstrado agora) que a formação da ponte de H interna ácida específica no componente de seletor de pH deve favorecer a transição da porção carboxila do componente de seletor de pH para sua forma de ácido livre, tendo por resultado um
10 aumento significativo no valor de pKa para essa porção de ácido carboxílico. Como será detalhado na seção seguinte, tal aumento no pKa da porção de carboxila é desejável no contexto de uma estratégia para aumentar dramaticamente a especificidade do instrumento oncológico para tumores por
15 incorporação de dois ou mais seletores de pH nesse instrumento oncológico.

Com respeito a projetar as estruturas de seletor de pH capazes de formar ponte de H interna em um ambiente aquoso, sabedoria convencional entre peritos em ponte de
20 hidrogênio tipicamente apóiam que uma ponte de hidrogênio solitária não será estável em ambiente aquoso por causa da competição com a vasta concentração de água nos locais de aceptadores de ponte de H (110 Molar) e locais de doadores de ponte de H (110 Molar). Ao invés disso, esse é suportado
25 geralmente por uma interação não-covalente estável em solução aquosa que exige uma multiplicidade de interações, selecionada proveniente de pontes de H, interações hidrofóbica e interações eletrostáticas.

Enquanto esta exigência para uma multiplicidade de ligações não-covalentes parece ser bem conhecida para interações intermoleculares, o inventor postulou que, contrário à sabedoria convencional, pode ser possível
5 planejar as estruturas compactas que irão formar uma única relativamente estável ponte de H intramolecular dependente de pH em solução aquosa, onde essa ponte de H aumenta o diferencial de hidrofilicidade/ lipofilicidade entre as duas formas e serve para favorecer significativamente a
10 forma de ácido livre sobre a forma aniônica (i.e., eleva o pKa). A pergunta crucial era então: poderiam as estruturas práticas de seletor de pH serem planejadas as quais formariam a tal ponte de H interna em solução aquosa?

Após experimentação considerável, novas
15 estruturas têm sido planejadas agora as quais demonstraram formar a única ponte de H interna dependente de pH desejada, e as quais são apropriadas para incorporação dentro dos instrumentos oncológicos da presente invenção. Como previsto inicialmente pelo inventor, tal ponte de H
20 interna parece intensificar significativamente o diferencial de hidrofilicidade/ lipofilicidade quando o seletor de pH vai de sua forma aniônica para sua forma não-iônica. Diversas pontes de H internas ácido específica foram também demonstradas para aumentar significativamente
25 o pH no qual a estrutura muda de sua forma hidrofílica aniônica para sua forma lipofílica não-iônica, relativo ao pH no qual uma similar porção de carboxila simples se submete a esta transição.

O seletor de pH o qual tem uma estrutura projetada para formar ponte de interna ácido específica é chamado "seletor de pH avançado". Resultados da modelagem molecular e do trabalho experimental extensivo sugerem que

5 as seguintes três propriedades são essenciais para que um seletor de pH avançado forme uma ponte de H interna ácido específica aceitável e estável em solução aquosa.

i) Ponte de H ácida específica

A estrutura deve conter uma porção de carboxila o

10 qual é posicionado na proximidade apropriada de uma porção aceitadora de ponte de H para formação da ponte de H. Quando essa porção de carboxila está em sua forma de ácido livre essa pode servir como doadora de ponte de H, e a porção aceitadora de ponte de H proximal deve ser tal que

15 em sua forma não-iônica pode somente servir como um aceitador de ponte de H, e não pode servir como um doador de ponte de H. O inventor refere-se a uma ponte de H formada por uma estrutura como uma "ponte de H interna ácida específica". A Figura 6a mostra uma estrutura

20 representativa do seletor de pH o qual pode formar apenas uma ponte de H interna ácido específica. Inversamente, a Figura 6b ilustra uma similar, porém inaceitável estrutura a qual pode formar tanto uma ponte de interna quando a carboxila está em sua forma aniônica e uma ponte de H

25 interna quando a carboxila está em sua forma de ácido livre. O inventor chama esta dupla capacidade de ponte de H de "ponte de H interna não ácido específica", e seus resultados experimentais indicam que tal ligação de H não ácido específica é inaceitável porque não fornece o aumento

desejado na lipofilicidade da forma ácido, e não eleva o pH no qual a estrutura muda de sua forma hidrofílica aniônica para sua forma lipofílica não-iônica. Exemplo 2 descreve resultados experimentais em que uma mistura 1 para 1 de
5 água e metanol a estrutura na Figura 6a forma ponte de H interno ácida específica sob condições brandamente ácidas - evidenciadas por um aumento significativo no pH da transição entre as formas aniônica e ácido livre (isto é, um aumento no valor do pKa da porção de carboxila).
10 Inversamente, este mesmo exemplo também mostra que a estrutura muito similar na Figura 6b, projetada para formar ponte de H não ácido específica, não aumenta o pH da transição entre formas aniônica e não-iônica sob estas condições.

15 ii) Liberdade de conformação mínima entre as porções de ponte de H

A porção aceitadora de ponte de H e a carboxila servindo como porção doadora de ponte de H deve ser realizada em grande proximidade entre elas por uma
20 estrutura a qual tenha a liberdade conformacional mínima. Esta liberdade conformacional limitada pode ser conseguida usando uma estrutura apropriada de anel. Modelagem molecular e trabalho experimental sugerem que anéis alifáticos de 4- elementos, 5- elementos e 6- elementos
25 sejam preferidos para esta finalidade. Figura 7a mostra estruturas representativas de anel alifático com 4- elementos, 5- elementos e 6- elementos os quais permitem apenas liberdade conformacional limitada entre porção doadora de ponte de H (OH do ácido carboxílico) e aceitador

de ponte de H apropriadamente posicionados. Inversamente, a Figura 7b mostra que uma estrutura um tanto similar a qual é inaceitável porque sua estrutura acíclica permite liberdade conformacional excessiva entre porções doadora de ponte de H e aceitadora de ponte de H. O Exemplo 3 descreve resultados experimentais que mostram que em mistura 1:1 de metanol e água, a estrutura com liberdade conformacional mínima entre porções de ponte de H pode proporcionar aumento significativo no valor do pKa da porção de carboxila, enquanto estrutura similar com liberdade rotacional substancialmente maior entre porções de ponte de H não fornece aumento correspondente no valor de pKa da porção de carboxila - e assim que presumivelmente não está formando ponte de H interna ácida específica estável sob estas condições.

iii) Carboxila isolada proveniente de efeitos indutivos de grupos de remoção de elétron

O ácido carboxílico o qual serve como porção doadora de ponte de H deve ser separado de qualquer grupo de remoção de elétron por pelo menos dois, e preferivelmente três ou mais carbonos. Isto evita qualquer redução excessiva no valor de pKa da carboxila devido aos efeitos indutivos proveniente dos grupos com remoção de elétrons. As estruturas moleculares e seus valores correspondentes de pKa mostrados na Figura 8a ilustram como um número crescente de carbonos alifáticos pode progressivamente isolar uma carboxila proveniente dos efeitos de diminuição de pKa de um grupo fenil. Figura 8b mostra uma estrutura em que os efeitos indutivos

provenientes da fração amida proximal causam aparentemente uma redução indevida em um pKa da porção de ácido carboxílico. Exemplo 4 descreve os resultados experimentais que sugerem que mesmo com liberdade conformacional mínima
5 entre porções doadora e aceitadora de ponte de H, se há isolamento inadequado da carboxila proveniente dos efeitos indutivos então o pH de transição entre formas aniônica e ácido livre será demasiado baixo para ser de utilidade em seletor de pH.

10 Além das 3 propriedades essenciais acima, aparece pelo menos uma propriedade adicional, selecionada a partir das duas propriedades seguintes, é desejável conseguir a formação de uma ponte de H interna de H em solução aquosa.

iv) Grupos lipofílicos que protegem parcialmente o local de
15 ponte de H

Um desafio principal em formar uma ponte de H solitária em ambiente aquoso é formar preferencialmente esta ponte de H na presença de vasta concentração da competição de doadores de ponte de H e aceptadores de ponte
20 de H compreendendo a água circunvizinha. Baseado em estudos bioquímicos de locais catalíticos da enzima e na modelagem molecular extensiva do inventor, ele postulou que a ponte de H intramolecular desejada poderia ser mais favorecida se o local da ponte de H fosse parcialmente protegido de
25 partículas de água pela presença de grupos lipofílicos. No contexto o impedimento parcial proveniente do solvente, Figura 9 mostra duas estruturas relevantes. Na Figura 9a o local da ponte de H está completamente aberto ao solvente. Inversamente, na Figura 9b o local correspondente da ponte

de H é parcialmente impedido pelo solvente por um metil
adjacente em um lado e por um metileno adjacente no outro
lado. Sínteses e estudos de titulação, detalhados no
Exemplo 5, dão resultados os quais sugerem que tal
5 impedimento parcial do local da ponte de H pelo solvente
favorece a ponte de H intramolecular desejada.

v) Ponte de H de barreira baixa

O termo "ponte de H de barreira baixa" é usado
neste contexto para significar ligação não-covalente
10 formada entre porção doadora de ponte de H e porção
aceitadora de ponte de H, onde os valores do pKa das duas
porções isoladas estão dentro de aproximadamente 2 unidades
de pH de cada um. Esse pode ser notado que esta essa
definição inclui o que pode também ser interpretado como um
15 sal interno em que o hidrogênio está mais próximo da porção
aceitadora que da porção doadora. Tais ligações de H de
barreira baixa são geralmente encontradas para serem
excepcionalmente fortes e assim podem apreciavelmente
favorecer a ponte de H intramolecular desejada nos
20 seletores de pH. As Figuras 10a e 10b mostram uma variedade
de porções com ponte de H os quais são apropriados para
formar ponte de H de barreira baixa em seletores de pH. A
Figura 10c ilustra diversas estruturas representativas de
seletor de pH projetadas para formar pontes de H do tipo
25 barreira baixa. O Exemplo 6 descreve a síntese e o teste de
dois seletores de pH representativos (estruturas i e iii na
Figura 10b), junto com evidência experimental para formação
da ponte de H de barreira baixa desejada em solução aquosa.

Abaixo está uma soma das propriedades as quais podem ser encontradas para ser apropriadas para um componente de seletor de pH avançado o qual é projetado para formar uma ponte de hidrogênio interna ácido específica:

- a) contém uma estrutura de anel alifático selecionada a partir de grupo consistindo de: anéis de 4- elementos, anéis de 5- elementos e anéis de 6- elementos;
- b) contém uma porção de ácido carboxílico diretamente ligado à estrutura do anel alifático;
- c) a porção de ácido carboxílico é separada de qualquer grupo de remoção de elétron por pelo menos dois carbonos;
- d) contém porção aceitadora de ponte de H selecionada a partir de grupo consistindo de:
 - i) parte de estrutura de anel alifático;
 - ii) ligação diretamente à estrutura de anel alifático; e
 - iii) ligação através de um átomo à estrutura de anel alifático;
- e) a porção aceitadora de ponte de H tem estrutura a qual em sua forma não-iônica não serve como porção doadora de ponte de H; e
- f) a porção de ácido carboxílico e porção aceitadora de ponte de H estão posicionadas em grande proximidade entre eles e estão corretamente posicionados e orientados tais que são compatíveis com formação de ponte de H interna específica.

c) Incorporar múltiplos componentes de seletor de pH dentro de cada instrumento oncológico como uma nova

estratégia para aumentar dramaticamente a especificidade do instrumento oncológico para tumores - sem causar uma redução indevida na eficácia do instrumento oncológico.

As duas estratégias do projeto descritas nas duas
5 seções precedentes, utilizadas sozinhas ou em combinação, convém para gerar estruturas de seletor de pH as quais são eficazes para se inserir nas membranas da célula no pH presente em áreas ácidas de tumores, e assim que fornecer boa eficácia. Entretanto, tais estratégias do projeto podem
10 fornecer apenas uma vantagem modesta da especificidade sobre terapias convencionais do câncer, tal como clorambucil. Nesta consideração, pode ser apreciado que com o uso mais freqüente das terapias do câncer esse tem sua especificidade precária a qual geralmente está baixo de
15 suas muitas falhas para curar pacientes. Isto é, as terapias atuais do câncer são estimadas para ter especificidades na ordem de apenas aproximadamente 2 para 8. Isto significa que elas estão tipicamente na ordem de 2 para 8 vezes mais prejudicial aos cânceres que aos tecidos
20 normais. O inventor estava intensamente ciente que um nível de especificidade limitada similar e uma taxa correspondente de êxito baixa provavelmente contaminaria a terapia com instrumento oncológico a menos que alguma estratégia eficaz pudesse ser planejada para aumentar
25 substancialmente sua especificidade para tumores. Dessa maneira, diversos anos atrás o inventor se envolveu na procura para planejar alguma maneira de aumentar substancialmente a especificidade dos instrumentos oncológicos. Esta procura conduziu a terceira e a mais

essencial estratégia do projeto de instrumento oncológico, descrita abaixo.

O pKa de um ácido é o pH de uma solução aquosa desse ácido em que metade das moléculas ácidas são aniônica e metade são não-iônica. Conhece-se o pKa de um ácido, e o pH de sua solução aquosa, então a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser utilizada para calcular a razão das formas aniônica, $[H^-]$, não-iônica, $[HA]$, do presente ácido nessa solução: $(pH = pKa + \log [A^-] / [HA])$.

Uma aplicação simples da equação de Henderson-Hasselbalch sugere que se o pH no espaço intersticial em tecidos normais e o pH em áreas ácidas de tumores diferem por apenas 1,0 unidade de pH (i.e., cerca de pH 6,4 obtido em tumores e pH 7,4 presente em tecidos normais) então a máxima especificidade teórica de uma droga contendo carboxila poderia mostrar para áreas ácidas de um tumor, relativo aos tecidos normais, parece ser não mais que 10. Diferentemente declarado, com apenas 1,0 de diferencial de pH entre normal e tumor uma aplicação simples da equação de Henderson- Hasselbalch parece sugerir que a taxa de entrada de uma droga convencional contendo ácido fraco dentro de uma célula em uma área ácida de um tumor não pode ser mais que aproximadamente 10 vezes maior que a taxa de entrada dessa droga dentro de uma célula em um tecido normal.

Se este limite superior de aproximadamente 10 for se aplicar à especificidade dos instrumentos oncológicos, então é provável que em uma aplicação diagnóstica este nível precário de especificidade geraria um sinal de fundo tão grande a partir de tecidos normais que poderia cair

muito ou todo o sinal a partir de quaisquer tumores que se estava tentando detectar - particularmente para o caso de tumores muito pequenos no estágio precoce cuja detecção forneceria o melhor prognóstico para o paciente. Do mesmo modo, em uma aplicação terapêutica em nível tão precário de especificidade provavelmente causaria considerável toxicidade no paciente, possivelmente para extensão de destruir o paciente - o que ocorre geralmente com quimioterapia atual a qual também tem níveis similares de especificidade precária.

Para superar o problema da especificidade limitada, o inventor planejou uma nova estratégia do projeto para aumentar dramaticamente a especificidade dos instrumentos oncológicos sobre o aparente máximo teórico de 10 o qual parecia ser imposto pelo pequeno diferencial de pH entre o tecido normal e o do tumor. Essencialmente, a estratégia é incorporar dois ou mais seletores de pH dentro de um único instrumento oncológico, onde a carboxila de cada seletor de pH seja suficientemente distante (provavelmente maior que aproximadamente 5 angstroms distante) da carboxila de seu seletor de pH vizinho que a ionização de uma carboxila não afeta significativamente a ionização da sua carboxila vizinho. Inversamente, todos os seletores de pH do instrumento oncológico multiseletor de pH devem estar suficientemente na grande proximidade dentro da molécula de instrumento oncológico que todos os componentes de seletores de pH devem estar em sua forma não-iônica antes que o instrumento oncológico possa se aproximar intimamente e então romper a superfície exterior

negativamente carregada da membrana da célula a fim de se inserir no interior lipofílico, como é exigido para que esse instrumento oncológico seja isolado em áreas ácidas de tumores. É estimado que todos as carboxilas do instrumento
5 oncológico multiseletor de pH não devem ter mais que aproximadamente 15 a 20 angstroms de um ao outro para satisfazer adequadamente esta última exigência.

A Figura 11a ilustra em uma forma resumida as várias formas aniônicas e não-iônicas de um instrumento
10 oncológico que contém dois componentes de seletor de pH, e a Figura 11b ilustra do mesmo modo as várias formas aniônicas e não-iônicas de um instrumento oncológico que contém três componentes de seletor de pH. Deve ser apreciado que é a concentração da forma não-iônica a qual é
15 de particular interesse porque, quando projetada corretamente, deve ser apenas esta forma não-iônica do instrumento oncológico a qual é capaz de eficientemente contatar e se inserir nas membranas da célula - com todas as formas restantes que contém pelo menos uma porção
20 aniônica que está sendo repelida das superfícies aniônicas da célula por forças eletrostáticas.

Quando empregando esta estratégia do projeto de um multiseletor de pH pode-se calcular os fatores previstos de eficácia e especificidade para um dado instrumento
25 oncológico utilizando o valor do pKa para a porção de carboxila do seletor de pH utilizado nesse instrumento oncológico, e vários desses seletores de pH nesse instrumento oncológico. Nestes cálculos, o fator de eficácia é a porcentagem de moléculas do instrumento

oncológico as quais estão em sua forma não-iônica no pH 6,4. Este fator fornece uma medida em relação a como eficientemente o instrumento oncológico se inserirá nas células em áreas ácidas de tumores. O fator de especificidade é a razão: (porcentagem na forma não-iônica no pH 6,4) dividido por (porcentagem na forma não-iônica no pH 7,4). Este fator fornece uma medida em relação à taxa relativa de entrada do instrumento oncológico em células em áreas ácidas de tumores (no pH 6,4) relativo à taxa de entrada do instrumento oncológico em células em tecidos normais (no pH 7,4). Para estes cálculos se utiliza primeiramente a equação de Henderson-Hasselbalch para calcular o seletor de pH selecionado que porcentagem estará na forma não-iônica no pH 6,4 (obtido em áreas ácidas de tumores) e no pH 7,4 (presente em tecidos normais). Então uma expansão binomial é utilizada para calcular a porcentagem de moléculas do instrumento oncológico as quais têm todos os seus componentes de seletor de pH na forma não-iônica.

A Figura 12 mostra esboços de fatores de eficácia e especificidade calculados para a) composições com 1 seletor de pH, b) instrumentos oncológicos com 2 seletores de pH, c) instrumentos oncológicos com 3 seletores de pH, e d) instrumentos oncológicos com 4 seletores de pH - assim como uma função dos valores do pKa de seus componentes de seletor de pH. Estes fatores de eficácia e especificidade calculados demonstram que composições que contêm uma única porção de carboxila, tal como clorambucil, inerentemente têm especificidade um pouco precária para a entrada

seletiva em células em áreas ácidas de tumores (o fator de especificidade é sempre menos de 10). Entretanto por incorporação de dois ou mais seletores de pH em um único instrumento oncológico, os cálculos sugerem que com fatores
5 práticos de eficácia (sobre aproximadamente 5% do instrumento oncológico na forma não-iônica no pH 6,4) e com ajuste apropriado do valor do pKa (veja seção anterior em ponte de H interna ácido específica), os fatores de especificidade dos instrumentos oncológicos podem ser
10 aumentados muitas vezes mais isso é possível para composições com carboxila única. Em particular, com pKa apropriado o fator de especificidade pode ser mais de 50 para os instrumentos oncológicos que contêm 2 seletores de pH, e mais de 200 para os instrumentos oncológicos que
15 contêm 3 seletores de pH, e mais de 900 para os instrumentos oncológicos que contêm 4 seletores de pH.

Como pode ser visto a partir da Figura 12, há uma relação inversa entre o fator de eficácia e o fator de especificidade. Assim, com aumento de pKa do seletor de pH
20 o fator de eficácia aumenta enquanto o fator de especificidade diminui. Desde a eficácia razoável e a especificidade elevada ambos são desejados na terapêutica do câncer, é de utilidade considerar que valor de pKa provavelmente forneça um equilíbrio razoavelmente ideal
25 entre eficácia e especificidade. Baseado nos valores calculados na Figura 12b parece que um seletor de pH com um pKa de 5,9 deve fornecer um equilíbrio desejável entre eficácia (6%) e especificidade (60) para os instrumentos oncológicos que contêm 2 seletores de pH. Adicionalmente,

valores calculados na Figura 12c sugerem que um seletor de pH com um pKa de 6,2 deve fornecer um equilíbrio desejável entre eficácia (5,8%) e especificidade (277) para os instrumentos oncológicos que contêm 3 seletores de pH.

- 5 Ainda mais, valores calculados na Figura 12d sugerem que um seletor de pH com um pKa de 6,4 deve fornecer um equilíbrio desejável entre eficácia (6,3%) e especificidade (915) para os instrumentos oncológicos que contêm 4 seletores de pH.

Neste contexto, deve ser apreciado que a
10 incorporação de uma ponte de H interna ácido específica em um seletor de pH, como descrito na seção precedente, fornece meios apropriados para ajustar o valor do pKa do seletor de pH a uma escala apropriada para obter tais especificidades dramaticamente melhoradas nestes
15 instrumentos oncológicos multiseletor de pH.

A discussão e os cálculos antecedentes focaram na otimização do valor do pKa dos seletores de pH (via incorporação de uma ponte de H interna ácido específica) de um instrumento oncológico como meios para conseguir um
20 equilíbrio desejável entre eficácia e especificidade (Figuras 11 e 12). Entretanto, deve também ser apreciado que aumentar o coeficiente de partição (i.e., a lipofilicidade) do instrumento oncológico deve ter um efeito similar no equilíbrio entre eficácia e
25 especificidade de instrumentos oncológicos multiseletor de pH. Isto é porque, assim como mostrado na Figura 4, tal aumento na lipofilicidade também convém para aumentar o pH no qual o instrumento oncológico pode se inserir na fase lipofílica, tal como a membrana da célula. Dessa maneira,

nesta estratégia do multiseletor de pH para aumentar a especificidade do instrumento oncológico para tumores pode se ajustar o equilíbrio entre eficácia e especificidade por ajuste da lipofilicidade do instrumento oncológico, ou por
5 ajustar o pKa dos seletores de pH (via incorporação de uma ponte de H interna ácido específica), ou por uma combinação para ajustar a lipofilicidade de um instrumento oncológico e ajustar o pKa dos componentes de seletor de pH.

Neste momento é apropriado perguntar: estes
10 valores calculados de especificidade para instrumentos oncológicos multiseletor de pH refletem verdadeiramente a habilidade do instrumento oncológico de se inserir seletivamente na fase lipofílica (tal como octanol ou membrana da célula) no pH obtido em áreas ácidas de um
15 tumor (pH 6,4), enquanto evita amplamente a entrada em uma fase lipofílica no pH de tecidos normais (pH 7,4)?

Para tratar esta pergunta, uma composição representativa que contém dois componentes de seletor de pH, mostrados na Figura 13a, foi sintetizada. Após a
20 síntese, esta composição foi particionada entre n-octanol e tampões aquosos que variam do pH 5,6 ao pH 8,0. Os resultados deste experimento de partição são esboçados na Figura 13b. Estes resultados mostram que em pH 6,4 (obtido nos tumores) aproximadamente metade desta composição
25 particionou na fase do octanol, enquanto em pH 7,0 apenas aproximadamente 2% particionou na fase do octanol, e em pH 7,2 nada da composição foi detectada na fase do octanol.

Como sugerido pelos valores calculados esboçados na Figura 12, estes resultados de partição sugerem do mesmo

modo que a maioria da composição que contém dois componentes do seletor de pH pode existir em sua forma não-iônica (i.e., forma solúvel em octanol) em pH o qual é presente em áreas ácidas de tumores, e então que a
5 composição pode mudar quase completamente para sua forma aniônica (i.e., solúvel no tampão) no pH presente em tecidos normais. Isto fornece base experimental para o valor da nova estratégia de incorporar múltiplos componentes de seletor de pH dentro de um instrumento
10 oncológico como meio para aumentar dramaticamente a especificidade de um instrumento oncológico para áreas ácidas de tumores.

Uma variedade de estruturas representativas do instrumento oncológico multiseletor de pH serão ilustradas
15 mais tarde na seção A.3 neste contexto.

2. Componente de carga

a) Exigências Estruturais

O componente de carga é um componente estrutural de um instrumento oncológico que serve para incorporar um
20 isótopo radioativo, cuja emissão seja eficaz para reestancar a presença do instrumento oncológico, ou seja eficaz destruir células. O componente de carga deve satisfazer as três exigências de projeto seguintes.

i) O componente de carga em sua forma precursora
25 deve ser eficaz para incorporar de modo imediato e eficiente, com manipulações mínimas, seu isótopo radioativo selecionado.

ii) O isótopo radioativo que é ligado ao componente de carga em sua forma final deve permanecer

bastante ligado durante o curso do procedimento diagnóstico ou através do curso do processo terapêutico em que emissões a partir dos isótopos radioativos são células destruidoras do tumor.

- 5 iii) O componente de carga em sua forma final, que inclui um isótopo radioativo ligado, deve ser suficientemente pequeno e de uma tal composição que este não sofra um impacto indevido nas propriedades de hidrofiliicidade / lipofilicidade de pH dependente do
10 instrumento oncológico. Determina-se de modo diferente, caso a forma final do componente de carga contribua com hidrofiliicidade excessiva, este pode suprimir a entrada da forma não iônica do instrumento oncológico dentro de células em áreas ácidas de tumores - desse modo, reduzindo
15 a eficácia. Inversamente, caso a forma final do componente de carga contribua com lipofilicidade excessiva, este pode causar o isolamento indevido em tecidos normais - desse modo, reduzindo a especificidade.

Baseado nestas exigências para o componente de
20 carga, parece que os radiohalogênios selecionados a partir de F, Br, I e At constituem os melhores tipos de isótopos radioativos, e que um grupo de vinil ou um anel aromático simples insaturado ou anel aromático simples irá efetuar melhor a ligação do radiohalogênio. A Figura 14 ilustra um
25 número de componentes em perspectiva do componente de carga em ambas as formas precursoras selecionadas e em suas formas finais contendo isótopo radioativo prontos para uso diagnóstico ou terapêutico.

b) Formas Precursoras e Finais

Quando o isótopo radioativo selecionado que deve estar ligado a um instrumento oncológico que possui uma meia vida curta, é freqüentemente desejável fazer, enviar (ship), e armazenar o instrumento oncológico em sua forma precursora, e em seguida adicionar a carga de isótopo radioativo um poço antes da transferência do instrumento oncológico dentro do indivíduo a ser diagnosticado ou tratado. Enquanto um grande número de estruturas diferentes forem reestanhadas no campo da medicina nuclear apropriado para ligar uma ampla variedade de isótopos radioativos, muitas de tais estruturas são impróprias para o uso em instrumentos oncológicos. A Figura 14 mostra alguns componentes de carga selecionados, tanto em suas formas precursoras quanto em suas formas finais, que satisfazem as exigências particulares para o uso em instrumentos oncológicos. A Figura 15 mostra esquemas sintéticos para preparar dois de tais componentes de carga em suas formas precursoras.

Estas sínteses utilizam reações chaves para adicionar um grupamento de trialkyl estanho que foram descritas por: Thibonnet, et AL., Tetrahedron Letters, Vol. 39, página 4277 (1998); Miyake & Yamamura, Chemistry Letters, páginas 981 - 984 (1989); Marshall & Bourbeau, Tetrahedron Letters, Vol.44, páginas 1087 - 1089 (2003); e, Corriu, Geng, & Moreau, J. Org. Chem. Vol. 58, página 1443 (1993). A Figura 15 ilustra também um procedimento simples para converter as formas precursoras a suas formas finais contendo isótopo radioativo, descrito anteriormente por Zalutsky, página 96 do capítulo 4 intitulado: Radiohalogens

for Radioimmunotherapy, no livro: Radioimmunotherapy of Cancer, Ed. por Abrams e Fritzberg, Pub. por Marcel Dekker, Inc. (2000). Os procedimentos para preparar outros componentes de carga adequados e incorporar o isótopo radioativo para dar a forma final são descritos em: Zalutsky et al., Proc. Nat. Acad. Sci. EUA, Vol. 86, páginas 7149 - 7153 (1989); e, Vaidyanathan & Zalutsky, Nature Protocols, Vol. 1, páginas 1655 -1661 (2006).

c) Seleção de Carga de Isótopo Radioativo

10 Deve-se notar que é o isótopo radioativo ligado do instrumento oncológico que determina a aplicação desse instrumento oncológico. Caso o isótopo radioativo ligado emita um sinal que seja detectável de modo imediato fora do corpo então este instrumento oncológico pode convir para
15 detectar tumores que contêm áreas ácidas. Inversamente, caso o isótopo radioativo possua uma emissão que seja eficaz para destruir células então este instrumento oncológico pode convir para o tratamento de tumores que contêm áreas ácidas. Além disso, caso o instrumento
20 oncológico contenha um isótopo radioativo, tal como Iodo-131, que tanto emita um sinal que seja detectável de modo imediato fora do corpo (por exemplo, raio gama) quanto possua uma emissão que seja eficaz para destruir células (por exemplo, partícula beta) então que esse instrumento
25 oncológico pode convir tanto para diagnóstico quanto tratamento de tumores que contêm áreas ácidas.

i) para detecção de tumores

Nos instrumentos oncológicos usados para detecção de tumores um tem a latitude considerável na seleção do

isótopo radioativo que é para gerar o sinal adequado para detecção fora do indivíduo. Diversos isótopos radioativos com propriedades favoráveis para a aplicação diagnóstica incluem:

5	Isótopo radioativo	Meia vida
	Flúor-18	1,8 hora
	Bromo-75	1,7 hora
	Bromo-76	16 horas
	Bromo-77	2,4 dias
10	Iodo-123	13 horas
	Iodo-124	4 dias
	Iodo-125	60 dias
	Iodo-126	13 dias
	Iodo-131	8 dias

15 ii) para tratamento de tumores

O tratamento bem-sucedido de um tumor enfrenta dois desafios. Um desafio é destruir completamente todas as células de tumor de divisão rápida sensíveis a tratamento com pH quase normal próximas de vasos vaso capilares de tumor. O outro desafio severo é destruir completamente todas as células de tumor inativas resistentes a tratamento em áreas ácidas do tumor. Instrumentos oncológicos terapêuticos foram desenvolvidos inicialmente unicamente como meios para destruir células inativas resistentes a tratamento em áreas ácidas de tumores. Isto ocorreu porque instrumentos oncológicos foram projetados para serem isolados somente em áreas ácidas de tumores, e assim presumiu-se que tais instrumentos oncológicos teriam que ser usados conjuntamente com mais terapias de câncer

convencionais, tais como a radiação ou a quimioterapia, onde as terapias convencionais conviriam destruindo as células de tumor de divisão rápida sensíveis a tratamento em áreas mais neutras de tumores mais próximos de vasos capilares - porque tais áreas poderiam ser mais desprovidas de instrumentos oncológicos.

O inventor desenvolveu mais recentemente uma estratégia de isótopo radioativo duplo em que instrumentos oncológicos sozinhos podem ser usados para exterminar o tumor inteiro, prevenindo desse modo a necessidade de co-tratamento com terapias de câncer convencionais mais tóxicas e menos específicas. Esta estratégia de isótopo radioativo duplo envolve usar pelo menos duas formulações de instrumento oncológica eficaz para destruir células.

A formulação de instrumento oncológico usada para destruir as células de tumor inativas resistentes a tratamento deve conter um isótopo radioativo que emite radiação de transferência de energia linear elevada a fim de destruir todas as células de tumor inativas resistentes a tumor é posicionado dentro ou próximo de tal instrumento oncológica terapêutica de condução de isótopo radioativo.

Uma opção para se alcançar esta exigência de demanda é usar um isótopo radioativo que emita uma partícula alfa que libere uma quantidade vasta de energia sobre uma distância muito curta (alguns diâmetros da célula), tal que a energia liberada seja altamente eficaz para destruir mesmo as células que são altamente resistentes a maior parte das de radiações. O melhor isótopo radioativo para esta finalidade parece ser o

radiohalogen, Astatine 211. Este isótopo radioativo é gerado a partir de Bismuto natural 209 em um ciclotron de energia de meio equipado com um feixe de partícula alfa. Astatine-211 possui uma meia vida de 7,2 horas e emite duas
5 partículas alfa com potência de 5,87 e 7,45 milhões de elétron volts, que foram mostradas para devastar células dentro de aproximadamente 50 a 80 microns de comprimento de percurso das partículas alfa emitidas (alguns diâmetros da célula). Apenas algumas tais emissões alfa podem destruir
10 mesmo a maioria das células de tumor inativas resistentes a radiação.

Uma outra classe de isótopos radioativos que emitem a radiação elevada de transferência de energia linear é aquela que emite elétrons de Auger e/ou de Coster-Kronig.
15 Tais isótopos radioativos, caso posicionados dentro da célula a ser destruída, podem causar danos devastadores às células de DNA e dessa forma são extremamente citotóxicos quando localizados em grande proximidade ao núcleo da célula. Isótopos radioativos deste tipo que são
20 particularmente adequados para instrumentos oncológicos terapêuticos incluem: Bromo-77 (meia vida de 57 horas) e Iodo-123 (meia vida de 13 horas).

A formulação de instrumento oncológico usada para destruir as células de tumor de divisão rápida sensíveis a
25 tratamento mais próximas de vasos capilares deve conter um ou mais isótopos radioativos que emitem as partículas que liberam a energia suficiente ao longo de seu percurso para destruir células de tumor de divisão rápida sensíveis a tratamento. O mais importante é que aquelas partículas

emitidas devem ter um comprimento de percurso suficientemente longo para que sejam eficazes tanto contra as células quanto a várias centenas de microns a partir de onde o instrumento oncológico é isolado - permitindo que estes destruam as células de tumor de divisão rápida sensíveis a tratamento em áreas mais neutras do tumor, que pode ter até várias centenas de microns a partir de áreas ácidas onde instrumentos oncológicos são isolados. Isótopos radioativos de emissão beta satisfazem melhor a esta exigência. Quando houver um número de isótopos radioativos de emissão beta que puderem ser usados nesta estratégia de terapia de isótopo duplo, os seguintes radiohalogênios possuem as propriedades favoráveis para esta aplicação, incluindo comprimentos de percurso médios maiores do que 600 microns.

	Isótopo radioativo	Meia vida
	Bromo-82	36 horas
	Bromo-83	2,4 horas
	Iodo-126	13 dias
20	Iodo-130	12 horas
	Iodo-131	8 dias
	Iodo-132	2,3 horas
	Iodo-133	21 horas
	Iodo 135	7 horas

Comparado ao tratamento onde um instrumento oncológico é usado somente para destruir as células inativas em áreas ácidas de tumores, e é combinado com as terapias de câncer convencionais eficazes para destruir as células de tumor de divisão rápida em outras áreas dos tumores que possuem um

pH mais elevado, espera-se que esta nova estratégia de terapia de instrumento oncológica de isótopo radioativo duplo em que instrumentos oncológicos são usados sozinhos para destruir o tumor inteiro, terá recursos para um mais
5 simples, menos dispendioso, bem menos tóxico, e bem mais eficaz no tratamento.

3. Estruturas de instrumento oncológico

a) exigências estruturais

Cada instrumento oncológico deve conter dois ou
10 mais componentes seletores de pH. Estas "duas ou mais" exigências são essenciais para se alcançar uma especificidade que seja substancialmente maior (pelo menos sobre 20, e preferivelmente sobre 40) do que é provida tipicamente por terapias de câncer atuais (especificidades
15 estimadas para ser tipicamente na faixa de cerca de 2 a 8). Adicionalmente, cada instrumento oncológico deve ter uma estrutura tal como a pH 7,4 este eteja quase completamente em um forma hidrófila aniônica, mas a pH 6,4 uma porção significativa (preferivelmente 1% ou mais) transfere-se
20 para um forma lipofílica não iônica eficaz a ser isolada em áreas ácidas de tumores. Cada instrumento oncológico deve igualmente conter um componente de carga que seja eficaz para ligar um isótopo radioativo, ou que contenha um isótopo radioativo apropriado para relatar a presença do
25 instrumento oncológico e/ou apropriado para células destruidoras.

As três seções seguintes descrevem o instrumento oncológico com 2, 3, e 4 seletores de pH. No que refere-se a tais estruturas de instrumentos oncológicos, este deve

ser valorizado por qualquer combinação de componentes selecionada que exigirá geralmente a otimização dos grupos R a fim alcançar a eficácia adequada e um equilíbrio desejável entre a eficácia e a especificidade.

5 Procedimentos para tais otimizações dos grupos R são descritos e ilustrados mais adiante neste na Seção B e nas Figuras e nos Exemplos em relação a essa seção.

b) Instrumentos oncológicos com 2 seletores de pH

Estes instrumentos oncológicos possuem as
10 estruturas mais simples e são geralmente mais fáceis de sintetizar. Eles possuem tipicamente fatores de especificidade potencialmente variáveis dentre aproximadamente 20 a aproximadamente 80. A Figura 16 ilustra uma variedade de dois instrumentos oncológicos
15 seletores de pH representativos que satisfazem as exigências estruturais chave para instrumentos oncológicos. A figura 16a ilustra instrumentos oncológicos que contêm dois seletores de pH simples. A figura 16b ilustra instrumentos oncológicos que contêm dois seletores
20 de pH avançados. A figura 16c ilustra instrumentos oncológicos que contêm dois seletores de pH avançados projetados para formar ligações H de barreira baixa.

c) Instrumento oncológicos com 3 seletores de pH

Instrumento oncológicos que contêm 3 seletores de
25 pH são mais complexos do que os instrumentos oncológicos de 2 seletores de pH descritos acima, e são geralmente mais desafiantes para sintetizar. Entretanto, os instrumentos oncológicos de 3 seletores de pH possuem o mérito de ter recursos para fatores de especificidade elevada

valorizados, variando potencialmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 500. A Figura 17 ilustra uma variedade de instrumentos oncológicos de três seletores de pH representativos que satisfazem as exigências estruturais
5 chaves para instrumentos oncológicos. A figura 17a ilustra instrumentos oncológicos que contêm três seletores de pH avançados e a figura 17b ilustra instrumentos oncológicos que contêm três seletores de pH avançados projetados para formar ligações H de barreira baixa.

10 d) Instrumentos oncológicos com 4 seletores de pH

Instrumentos oncológicos que contêm 4 seletores de pH são ainda mais complexos do que os instrumentos oncológicos de 3 seletores de pH descritos acima, e são geralmente ainda mais desafiantes para sintetizar.

15 Entretanto, os instrumentos oncológicos de 4 seletores de pH possuem o potencial para até mesmo fatores de especificidade mais elevada, variando potencial de aproximadamente 400 a aproximadamente 2500. A Figura 18 ilustra dois instrumentos oncológicos representativos que
20 satisfazem as exigências estruturais chaves para instrumentos oncológicos e contêm quatro seletores de pH avançados projetados para formar uma ligação H de barreira baixa.

B. Síntese, Teste e Otimização de Componentes e

25 Instrumentos Oncológicos

1. Preparação de estruturas que contêm seletores de pH representativos

Antes de começar o desenvolvimento de qualquer tipo novo de instrumento oncológico é geralmente desejável

primeiramente preparar e avaliar as propriedades de uma variedade de tipos de seletores de pH, assim como variações dentro de um tipo em que variações do grupo R convêm para partilhar uma ampla faixa de substâncias lipofílicas com as estruturas.

a) Seletores de pH simples

A Figura 19 ilustra uma rota sintética representativa para as estruturas de instrumentos oncológicos que contêm seletores de pH simples, com lipofilicidade ajustada por variar do grupo R.

b) Seletores de pH avançados

A Figura 20 ilustra uma rota sintética para estruturas que contêm um tipo de seletor de pH avançado, com lipofilicidade ajustada por variar do grupo R1.

c) Seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte H de barreira baixa

As figuras 21 e 22 ilustram rotas sintéticas para estruturas que contêm um número de tipos de seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa.

A Figura 21 mostra intermediários éster amina e éster cetona úteis na preparação de seletores de pH e na preparação de instrumentos oncológicos. Procedimentos sintéticos para fazer os componentes de núcleo chaves de tais intermediários foram relatados nas seguintes fontes: 1) Goldman, Jacobsen, e Torssell, Synthesis in the Camphor Series. Alkylation of Quinones with Cycloalkyl Radicals. Attempted Synthesis of Lagopodin A and Desoxyhelicobasidin. Acta Chemica Scandinavica B 28 (1974) 492 -500; and, 2)

Brian Thomas Connell, Synthesis and Evaluation of a New Camphor-Derived Lactam as a General Chiral Auxiliary for the Asymmetric Diels-Alder and Aldol Reactions. A tese submeteu-se ao Departamento de Química, Universidade de
 5 Rochester, Rochester, Nova Iorque (1995).

Figura 22 ilustra em seguida rotas sintéticas representativas para converter diversos de tais intermediários aos vários seletores de pH projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa ácido específica.

10 2. Testando seletores de pH

Ensaaios simples de titulação provêm informação útil sobre as propriedades de solubilidade de pH dependente de estruturas de seletor de pH, assim como seus valores pKa. Exemplo 7 descreve os procedimentos de titulação que
 15 foram usados para estudar componentes de seletor de pH. A Figura 23 mostra resultados representativos a partir de uma variedade de titulações anteriores.

A figura 23a mostra uma curva de titulação convencional, onde a titulação foi carregada em metanol /
 20 água, 1:1 por volume, para um ácido carboxílico simples (ácido butírico) e um seletor de pH avançado (um derivado de amida de ácido de ácido canfórico). No gráfico concomitante os mesmos resultados de titulação são esboçados na forma mais informativa da primeira forma
 25 derivada.

A figura 23b mostra as curvas de titulação convencionais, onde a titulação foi carregada em água e cada espécie estava presente na concentração de 33 milliMolar. Resultados de Titulação são mostrados por três instrumentos

oncológicos de 2 seletores de pH relatados (mas com iodo estável em vez de iodo radioativo) os quais variam somente em seu grupo R.

Resultados de titulação são mostrados também para uma estrutura de três seletores de pH relatados onde o grupo R é metila.

A figura 23c mostra uma curva de titulação, esboçada como o primeiro derivado, para um seletor de pH avançado projetado para formar a uma ponte de H de barreira baixa. Esta titulação foi carregada em água e o seletor de pH, compreendendo um N-óxido / estrutura ácida derivados do ácido canfórico, estava presente em uma concentração de 5 milliMolar.

A Figura 24 mostra valores pKa experimentalmente determinados para estruturas de três seletores de pH, incluindo: um seletor de pH amida / ácido avançado derivado do ácido canfórico; um seletor de pH avançado N-óxido / ácido projetado para formar uma ponte de H de barreira baixa, derivado do ácido lsonipocótico; e, um seletor de pH N-óxido / ácido avançado projetado para formar uma ponte de H de barreira baixa, derivado do ácido canfórico (igualmente mostrado como estrutura i da figura 10c, e a estrutura mostrada na figura 23c).

3. Preparação de instrumentos oncológicos representativos e de conversão a forma final

a) Instrumentos oncológicos com seletor de pH simples

Figura 19 ilustra uma rota sintética para preparação de um instrumento oncológico representativo que contém seletor de pH simples.

5 b) Instrumentos oncológicos com seletores de pH avançados

A Figura 25 ilustra esquemas sintéticos para os instrumentos oncológicos representativos que contém seletores de pH avançados. A figura 25a mostra a um instrumento oncológico onde seus dois seletores de pH são
10 juntados por uma estrutura di-acilhidrazida. A figura 25b mostra um instrumento oncológico onde seus dois seletores de pH são juntados por uma estrutura di-amida.

15 c) Instrumentos oncológicos com seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa.

Figura 26 ilustra esquemas sintéticos para instrumentos oncológicos representativos que contém seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa.

20 A figura 26a mostra que um esquema sintético para um instrumento oncológico 2-seletor de 2 seletores de pH em que um grupamento de N-óxido simples como o grupamento aceitador de ponte de H para dois grupamentos doadores de ponte de H de ácido carboxílico. A Figura 26b mostra um
25 esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH, em que tanto os nitrogênios de um grupamento de hidrazina convenha como o grupamento aceitador de ponte de H para dois grupamentos doadores de ponte de H de ácido carboxílico. A Figura 26c mostra um

esquema sintético para um instrumento oncológico de 2 seletores de pH, em que grupamento de amina cianometila convenha como os grupamentos aceitadores de ponte de H para os grupamentos doadores de ponte de H de ácido carboxílico.. A Figura 26d mostra um esquema sintético para um instrumento oncológico de 4 seletores de pH, em que cada grupamento N-óxido convém como o grupamento aceitador de ponte de H para dois grupamentos doadores de ponte de H de ácido carboxílico.

Deve-se notar que nas sínteses antecedentes de instrumentos oncológicos que contêm seletores de pH avançados projetados para formar uma ponte de H de barreira baixa, quando uma cetona / éster intermediário, tal como estruturas b, d, e f ou Figura 21, é usada para redução de alquilação de uma amina / éster em que o grupamento de amina é cis para o grupamento de éster, tal como as estruturas a, c, e e da Figura 21, geralmente o produto resultante de seletores de 2 pH compreende 2 isômeros, um onde ambos os componentes seletores de pH são cis no que diz respeito à amina e ao éster, e o outro produto onde um dos componentes seletores de pH é cis e um dos componentes seletores de pH é trans no que diz respeito à amina e aos grupamentos de éster. Nesses casos é desejável purificar o produto cis / cis desejado, e rejeita o produto cis / trans. Uma maneira de efetuar isto é explorar o fato de que o componente seletor de pH trans não pode formar uma ponte de H de barreira baixa ácido específica. Conseqüentemente, pKa do mesmo aproxima-se tipicamente de 5,0 em uma solução aquosa.

Em contrapartida, o componente cis seletor de pH geralmente pode formar a ponte de H de barreira baixa ácido específica interna desejada, que aumenta tipicamente o pKa do grupamento carboxila contido para aproximadamente 6,0 ou
5 mais elevado. Como uma consequência, depois que os grupamentos de éster foram clivados para dar grupamentos de carboxila, forma cis / cis desejada deve geralmente ser de modo imediato separável a partir da forma cis / trans indesejada por divisão entre uma fase orgânica, tal como
10 Tetrahidrofuran, t- Butilmetiléter, ou Diclorometano, e uma fase aquosa tamponada a 6,0 redondos. Em um tal sistema de divisão a forma cis / cis desejada deve geralmente dividir preferencialmente dentro da fase orgânica, enquanto a forma cis / trans indesejada deve preferencialmente ser dividida
15 dentro da fase de tampão aquosa.

A mesma estratégia de separação básica pode igualmente ser usada para separar a forma todo-cis desejada do instrumento oncológico de seletor de 4 pH da figura 26d a partir das múltiplas formas que contêm pelo menos um
20 seletor de pH trans.

4. Teste e otimização de instrumentos oncológicos.

As seguintes fontes de informação convêm como um ponto de partida para projetar e desenvolver um instrumento
25 oncológico eficaz e específica. Os gráficos de eficácia e de especificidade na figura 12 provêm a orientação em valores desejáveis de pKa para os componentes seletor de pH como uma função de quantos componentes seletores de pH o instrumento oncológico selecionado está para conter. A

Figura 4 provê a orientação a respeito do impacto de alteração do coeficiente de divisão da forma não iônica do instrumento oncológico - onde o coeficiente de divisão é tipicamente ajustado por alteração da lipofilicidade dos grupos de R dos componentes seletores de pH. Além disso, síntese de vários tipos de seletores de pH em perspectiva e de variantes de grupo de R do mesmo, tais como descrito na Seção B.1 acima, e em estudos subseqüentes de titulação daqueles seletores de pH, como descrito na Seção B.2 acima, informação valiosa provida para seleção adequada de componentes seletor de pH para um instrumento oncológico em perspectiva. Finalmente, Figura 14 ilustra um número de componentes de carga adequados para incorporação dentro de instrumentos oncológicos.

Enquanto a informação antecedente nas partes de componentes provem uma base valiosa para o projeto e o desenvolvimento de um instrumento oncológico eficaz e específico, todavia, uma vez que aquelas partes estão reunidas dentro de um instrumento oncológico em perspectiva em sua forma contendo radioisótopo, a fim alcaçar a eficácia adequada e um equilíbrio desejável entre a eficácia e a especificidade é geralmente necessário para otimizar essa estrutura de instrumento oncológico.

a) Processo iterativo de otimização: síntese e teste em células que sofreram cultura

Um processo de otimização preferido envolve o seguinte:

i) Preparar o conjunto de instrumentos oncológicos que variam em lipofilicidade

O processo de otimização é começado por preparação de conjunto de estruturas de instrumentos oncológicos prospectivo que incorporam os componentes selecionados, em que instrumentos oncológicos do conjunto
5 exibem uma ampla faixa de lipofilicidades devido a seus grupos de R1 e R2. Cada instrumento oncológico do conjunto deve igualmente conter um isótopo radioativo adequado, tal como Iodo-131, que possui recursos para detecção e quantificação fáceis em sistemas biológicos.

10 ii) Avaliar entrada em células que sofreram cultura em pH 6,4 e pH 7,4

Cada uma daquelas estruturas de instrumento oncológico prospectivo devem ser testadas em um sistema biológico relativamente simples em que o instrumento
15 oncológico prospectivo é exposto aos ambientes e às estruturas biológicos principais, este será encontrado em um indivíduo vivo. Como descrito no exemplo 8, um sistema biológico preferido para tal teste inicial compreende células de mamíferos que sofreram cultura em meio contendo
20 soro tamponado a pH 7,4 para emular tecidos normais, e tamponado a pH 6,4 para emular áreas ácidas de tumores. Momentaneamente, duas cavidades diferentes de células que sofreram cultura são expostas por uma hora a um dado instrumento oncológico. Em uma cavidade de cultura o
25 instrumento oncológico está em meio a pH 6,4. Em outra cavidade de cultura o instrumento oncológico está em meio a pH 7,4. Após ser incubado por 1 hora a 37 graus Celsius, o meio contendo instrumento oncológico é removido e as células são lavadas de modo criterioso no mesmo pH, e em

seguida isótopo radioativo retido por células é contado para prover uma medida da quantidade relativa de instrumento oncológico que foi isolado sob cada uma das duas condições de pH.

5 As estruturas de instrumento oncológico preferidas são aquelas que isoladas ao máximo pelas células a pH 6,4, mas isoladas minimamente pelas células a pH 7,4.

10 A primeira aplicação das duas etapas de otimização acima deve geralmente convir para identificar uma faixa razoavelmente estreita de substâncias lipofílicas de instrumento oncológico que fornecem a eficácia aceitável (relativa à quantidade isolada a pH 6,4) e especificidade (relativa à relação: quantidade isolada a pH 6,4 / quantidade isolada a pH 7,4) valores. Alternativamente, tal
15 teste inicial pode em vez disso convir para indicar que os componentes de instrumento oncológico selecionados são inadequados e os componentes de seletores de pH diferentes e/ou um componente de carga diferente devem ser usados em estruturas de instrumento oncológico em uma perspectiva.

20 iii) Repetir acima etapas como necessárias

Os ciclos de otimização adicionais dentro de taxas estruturais progressivamente mais estreitas podem conduzir para o melhoramento ainda maior de atividade de instrumento oncológico.

25 b) Avaliar disposição em camundongos normais

Os ensaios de cultura de célula acima são relativamente rápidos, simples, provêm resultados quantitativos, e são favoráveis a teste inicial de um número substancial de estruturas de instrumento oncológico

em perspectiva. Entretanto, deve-se valorizar este sistema de projeção inicial de cultura de célula não emula perfeitamente a complexidade verdadeira de um indivíduo vivo. Conseqüentemente, é desejável tomar em seguida um
5 número razoável das estruturas de instrumento oncológico em perspectiva mais promissoras, identificadas no processo de otimização iterativo acima, e testar as mesmas em mamíferos vivos. Como uma primeira etepa em tal teste de animal, é útil testar estas estruturas de instrumento
10 oncológico promissoras nem camundongos normais (pré-tratado para assegurar que sua urina esteja ligeiramente básica; vide Seção C.7 abaixo), como descrita no Exemplo 9. Tais testes em camundongos normais permitem que um descarte quaisquer dos instrumentos oncológicos que foram
15 encontrados para exibir uma afinidade excessiva para tecidos normais.

c) Avaliar disposição em camundongos portadores de tumor

Quando os testes acima relativamente simples em
20 camundongos sem tumor normais permitem que seja descartado aqueles instrumentos oncológicos que possuem uma afinidade excessiva para tecidos normais, o teste mais decisivo para uma estrutura em perspectiva de instrumento oncológico está para testar este em camundongos portadores de tumor, como
25 descrito no exemplo 10. Momentaneamente, este requer a injeção (preferivelmente de modo intravenoso) de cada um dos instrumentos oncológicos contendo Iodo-131 dentro de diversos camundongos portadores de tumor, e em seguida aguarda um período de tempo adequado (em torno de 5 a 24

horas) para permitir a excreção normal pelos rins dessa fração da dose administrada que não foi isolada em tecidos e/ou em tumores dos camundongos. Alguém em seguida executa os camundongos e extirpa os órgãos principais e qualquer dos tumores evidentes, a seguir faz-se dosagem pelas emissões de radiação a partir dos órgãos extirpados, dos tumores, e da carcaça restante.

Instrumentos oncológicos funcionarão melhor quando dois métodos auxiliares são usados. Um tal método envolve pré-tratamento dos camundongos para impedir a reabsorção de instrumento oncológico dentro das linhagens de células os dutos proximal dos rins. Esta reabsorção é obstruída tornando a urina ligeiramente básica, como descrito na seção C.7 abaixo. O outro método envolve pré-tratamento dos camundongos para aumentar adicionalmente a acidez (reduzir o pH) em áreas hipóxicas / ácidas dos tumores dos mesmos. Três pré-tratamentos são descritos com esta finalidade mais adiante neste na seção C.5. Pelo menos um, e preferivelmente uma combinação de dois ou três tais pré-tratamentos deve ser empregada a fim ajustar o microambiente de tumor para ser melhor adaptado a atividade eficaz e específica de instrumento oncológico.

d) Teste pré-clínico e clínico

Os procedimentos para teste contendo substâncias isótopo radioativas em animais vivos, incluindo seres humanos, são conhecidos no campo da medicina nuclear, e particularmente no sub-campo da radio-imunoterapia. Tais métodos conhecidos podem de modo imediato ser adaptados para testar instrumentos oncológicos por incorporação dos

métodos de utilização de instrumentos oncológicos descritos na seção C. abaixo.

C. Métodos de usar Instrumento oncológicos

1. Método diagnóstico

5 Devido ao fato de instrumentos oncológicos tirarem proveito da acidez que é uma característica de tumores quase universal, instrumentos oncológicos devem ser eficazes para detectar a maioria ou todos os tipos de tumores com tamanhos que variam de quase microscópico a
10 muito grandes. O método seguinte de utilização de instrumentos oncológicos para detectar tumores é adequado para muitas aplicações de pesquisa, assim como para a medicina veterinária e a medicina de seres humanos. O método diagnóstico inclui geralmente, mas não é limitado a,
15 as seguintes etapas:

Etapa 1. Prover um instrumento oncológico diagnóstico em sua forma final - tanto por contato com a forma precursora do instrumento oncológico com um isótopo radioativo adequado que seja eficaz para relatar sua
20 presença dentro de um tumor para um detector fora do indivíduo vivo, ou por obtenção de modo direto a partir de um fornecedor da forma final de um instrumento oncológico diagnóstico que já contém tal isótopo radioativo.

Etapa 2. Transferir esse instrumento oncológico diagnóstico dentro do indivíduo - tipicamente pela injeção
25 intravenosa.

Etapa 3. Aguardar um período de tempo adequado para que o instrumento oncológico seja isolado em áreas ácidas de qualquer tumor que puder estar presente (por

exemplo, de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 50 minutos). A sensibilidade consideravelmente aumentada pode ser obtida por espera de tempo adicional (horas) para a excreção através dos rins da maior parte dessa fração da dose de instrumento oncológico que não foi isolada em áreas ácidas de tumores. Aguardar este tempo adicional convir a sinal de fundo extremamente mais baixo a partir de tecidos normais e permitir a deteção mesmo de tumores bastante pequenos. Nesse aspecto, no curso de algumas poucas horas a maior parte da dose injetada de instrumento oncológico deve ser excretada pelos rins, com retenção significativa de instrumento oncológico somente ocorrendo caso um ou vários tumores estiverem presentes. É previsto que tipicamente em indivíduos que não possuem tumores a maior parte do instrumento oncológico será excretada em menos de 24 horas, e provavelmente em menos do que aproximadamente 4 horas. A taxa de excreção de instrumento oncológico não isolado pode ser aumentada pelo aumento da entrada de fluido do indivíduo, particularmente caso esse fluido contenha um diurético.

Etapa 4. A etapa final no método diagnóstico é fazer a varredura do indivíduo com o equipamento adequado para detectar a emissão a partir do componente de componente isótopo radioativo do instrumento oncológico a fim avaliar se o instrumento oncológico significativo foi isolado em um ou vários tumores. Com equipamento de imagem moderno, tal como escaneres de raio gama e escaneres PET, tumores devem aparecer como uma mancha de luz radioisotópica evidente no local de cada tumor.

2. Método terapêutico

Devido a instrumentos oncológicos tiram proveito da acidez que é uma característica quase universal de tumores, instrumentos oncológicos devem ser eficazes para
5 tratar a maioria ou todos os tipos de tumores com os tamanhos que variam de próximo ao microscópico a muito grande. Os seguintes métodos de utilização de instrumentos oncológicos para tratar tumores são adequados para muitas aplicações de pesquisa, assim como para a medicina
10 veterinária e a medicina de seres humanos. Os métodos terapêuticos incluem geralmente, mas não são limitados ao seguinte.

a) Método radioisótopo simples

Caso um indivíduo seja encontrado para ter um ou
15 vários tumores, aqueles tumores podem ser tratados com um instrumento oncológico terapêutico que contém um isótopo radioativo eficaz para destruir células. O método terapêutico inclui geralmente, mas não está limitado a, as seguintes duas etapas:

20 Etapa 1. Prover um instrumento oncológico terapêutico em sua forma final que contém um isótopo radioativo eficaz para destruir células. Isto pode ser feito por contato com a forma precursora do instrumento oncológico com um isótopo radioativo adequado, ou por
25 obtenção direta a partir de um fornecedor da forma final do instrumento oncológico terapêutico que já contém tal isótopo radioativo.

Etapa 2. Entregar esse instrumento oncológico terapêutico dentro do indivíduo - tipicamente por injeção intravenosa.

Neste método terapêutico o isótopo radioativo eficaz para destruir células pode ser qualquer um, cuja emissão possui transferência de energia linear elevada, tal como uma partícula alfa, ou uma que emita uma partícula beta. A virtude particular de utilizar um isótopo radioativo que possui uma emissão de transferência de energia linear, tal como o alfa emitindo o isótopo radioativo Astatine-211, que é consideravelmente mais eficaz do que isótopos radioativos de emissão beta para destruir as células inativas em áreas ácidas de tumores. Entretanto com respeito a utilização de instrumentos oncológicos que contêm tais isótopos radioativos, suas emissões têm geralmente um comprimento de percurso bastante curto (por exemplo, 80 microns ou menos). Assim, pode ser necessário usar tais instrumentos oncológicos em combinação com terapias convencionais de câncer a fim de assegurar também a destruição das células de divisão rápida de tumor em áreas de um pH mais normal perto de vasos capilares. Adicionalmente, deve ser estimado que o emissor alfa preferido, At-211, tenha uma meia vida curta (7 horas) e assim emitindo este isótopo radioativo, ou um instrumento oncológico que contém este isótopo radioativo, uma distância substancial a partir do local onde é gerada pode ser um problema. Ainda adicionalmente, At-211 deve ser gerado em um ciclotron de alta capacidade com uma potencialidade de feixe alfa, e neste momento há somente

relativamente poucos locais onde tal equipamento está disponível.

Um método alternativo de isótopo radioativo simples envolve prover um instrumento oncológico terapêutico que contém um isótopo radioativo de emissão beta. Enquanto emissões beta forem significativamente menos eficazes do que emissões alfa para destruir as células inativas em áreas ácidas de tumores, esta pouca eficácia de emissões beta pode ser compensada pela utilização de uma dose muito maior. Enquanto esta dose muito maior comprometerá a especificidade de alguma maneira, todavia, essa possui o potencial para fornecer resultados terapêuticos aceitáveis por causa do excepcional nível elevado de especificidade para tumores alcançáveis por instrumentos oncológicos. Nesse aspecto, o beta emissor, Iodo-131, possui diversas propriedades úteis: esse está prontamente disponível em grandes quantidades a preço moderado; por causa de sua meia vida relativamente longa (8 dias) esse pode ser enviado e armazenado por períodos de tempo razoáveis antes da utilização; e, enquanto esse possuir somente um comprimento de percurso médio moderado (aproximadamente 900 microns), que apesar disso seja suficiente para destruir células em todo o tumor, incluindo as células de divisão rápida de tumor nas regiões mais próximas de pH neutro próximo a vasos capilares - que serão relativamente desprovidos de instrumento oncológico isolados.

b) Método de isótopo radioativo duplo

Como foi notado anteriormente neste, isótopos radioativos que possuem emissões de transferência de energia linear elevada são ótimos para a destruição das células inativas resistentes a tumor em áreas ácidas de tumores, mas o comprimento de percurso curto de tais emissões faz com que um instrumento oncológico que contém tais isótopos radioativos especialmente ineficazes para destruir as células de divisão rápida em áreas distantes do ponto de origem dos tumores próximas de vasos capilares onde o pH é mais próximo do neutro - porque tais áreas serão relativamente desprovidas de instrumento oncológico isolado.

De modo oposto, um instrumento oncológico que contém um isótopo radioativo de emissão de beta é relativamente ineficaz contra às células inativas resistentes a radiação do tumor, mas esse instrumento oncológico que contém o isótopo radioativo de emissão beta pode ser bastante eficaz para destruir as células de divisão rápida sensíveis a radiação em áreas de tumores onde o pH é mais próximo da neutralidade - mesmo quando esse instrumento oncológico está somente presente nas áreas ácidas do tumor. Isto ocorre porque o comprimento de percurso maior de partículas beta permite que estas alcancem e destruam aquelas células mais sensíveis do tumor.

De acordo com isso, um método preferido para tratar tumores é utilizado como uma combinação de dois instrumentos oncológicos terapêuticos, onde um instrumento oncológico contém um isótopo radioativo que possui uma

emissão de transferência de energia linear elevada (selecionada preferivelmente de Astatine-211, Bromo-77 e Iodo-123) para destruir as células inativas resistentes à radiação proximal em áreas ácidas de tumor, e o outro
5 instrumento oncológico contém um isótopo radioativo de emissão beta para destruir as células de divisão rápida sensíveis a radiação em regiões de pH elevado próximo a vasos capilares de tumor, que são relativamente desprovidos de instrumento oncológico isolados.

10 3. Método Abrangente para Detecção e Tratamento de Tumores

Instrumentos oncológicos oferecem as propriedades altamente desejáveis por serem capazes tanto de detectar quanto de tratar a maioria ou todos os tipos e tamanhos de
15 tumores, variando de quase microscópico a muito grande. Por esse motivo, os instrumentos oncológicos diagnósticos e terapêuticos podem ser virtualmente idênticos - mas se diferem tipicamente somente no isótopo radioativo contido - em general caso uma estrutura de instrumento oncológico
20 fornecida seja eficaz para detectar um tumor, a seguir a mesma estrutura de instrumento oncológico, mas tipicamente com um isótopo radioativo diferente, deve igualmente ser eficaz para tratar este mesmo tumor. Estas propriedades especiais de instrumentos oncológicos facilitam um método
25 abrangente para detectar tumores em indivíduos vivos, seguido pelo tratamento de qualquer dos tumores assim que detectado. Este método abrangente é apropriado tanto para a medicina veterinária quanto para medicina de seres humanos. Esta inclui, mas não está ligada a, as seguintes etapas.

a) Detectando tumores

Etapa 1 A primeira etapa provê um instrumento oncológico diagnóstico em sua forma final que contém um isótopo radioativo que é eficaz para relatar sua presença dentro de um tumor a um detector fora do indivíduo vivo.

Etapa 2. A próxima etapa é para entregar esse instrumento oncológico diagnóstico dentro do indivíduo - tipicamente por injeção intravenosa.

Etapa 3. A etapa subsequente é para aguardar um período de tempo adequado para que o instrumento oncológico isolados em áreas ácidas de qualquer dos tumores que puderem estar presentes. Esta etapa pode igualmente incluir aguardar o tempo adicional para excreção através dos rins da maioria dessa fração da dose de instrumento oncológico que não foram isolados em áreas ácidas de tumores. Durante este período de tempo do indivíduo pode igualmente ser fornecido um fluido particular, fluido que contém um diurético, para aumentar a excreção dessa fração da dose de instrumento oncológico que não foram isolados em áreas ácidas de tumores.

Etapa 4 A última etapa no processo de detecção é fazer a varredura do indivíduo com equipamento adequado para detectar a emissão do isótopo radioativo do instrumento oncológico a fim avaliar se o instrumento oncológico significativo foi isolado em um ou vários tumores. Com equipamento de imagem moderno, tal como escaneres de raio gama e escaneres PET, tumores devem aparecer como uma mancha de luz radioisotópica evidente no local de cada tumor.

Na oportunidade em que um ou vários tumores são detectados na etapa 4, um prossegue em seguida para tratar dos tumores detectados.

b) Tratando de tumores detectados

5 Etapa 5. Para tratar do tumor detectado, um ou vários instrumentos oncológicos terapêuticos foram providos. Enquanto este puder ser um único instrumento oncológico que contém um isótopo radioativo de emissão beta, prefere-se geralmente prover dois ou mais
10 instrumentos oncológicos, onde um contém um isótopo radioativo que emite a radiação de transferência de energia linear elevada, e outro contém um isótopo radioativo de emissão beta.

Etapa 6. Um ou vários instrumentos oncológicos
15 providos são transferidos para dentro do indivíduo - geralmente por injeção intravenosa.

4. Estratégia para Lidar com as Micro-Metástases

Quando um tumor alcança um tamanho substancial (tal como um centímetro ou maior) este começa geralmente a
20 reproduzir-se por metástese (metastasis), em que as células de tumor simples ou agregados muito pequenos de células de tumor são liberados a partir do tumor original, e aquelas células liberadas podem formar colônias em locais distantes no corpo. Estas colônias de células, chamadas
25 micro-metástases, podem em seguida crescer dentro de novos tumores originais. A dificuldade destas apresentada para o método terapêutico de instrumento oncológico refere-se ao período de tempo entre a formação das micro-metástases e o tempo tomado por tais metástases para crescer até um

tamanho (de aproximadamente 1 milímetro de diâmetro) suficiente para gerar suas próprias áreas ácidas, aqueles tumores originais sub-milimétricos não podem ser tipicamente detectados ou destruídos por instrumentos oncológicos. Assim, enquanto o tumor original que contém áreas ácidas puder ser detectado e extinguido por instrumentos oncológicos, espera-se que quaisquer micro-metástases originais menores do que aproximadamente 1 milímetro de diâmetro sobrevivam a tratamento de instrumentos oncológicos e sejam conduzidas finalmente a um retorno de sintomas - embora tal retorno de sintomas não possa ocorrer por diversos anos após o tratamento inicial de instrumento oncológico.

Uma estratégia para resolver estes problemas de micro-metástases é definida pela espera de um período de tempo após a terapia inicial de instrumento oncológico (etapas 5 e 6 na Seção 3 acima) suficiente para quaisquer micro-metástases, que pudesse estar presente e tenha sobrevivido ao tratamento inicial, que cresceram até um tamanho onde elas desenvolvessem as áreas ácidas (tipicamente aproximadamente 1 milímetro de diâmetro). De modo contrário, aquelas micro-metástases originais não devem ser deixadas crescer até o tamanho muito maior (provavelmente por volta de 1 centímetro de diâmetro) onde elas começam demasiadamente a se reproduzir por metástese. Uma vez que as micro-metástases que puderam escapar do primeiro tratamento de instrumento oncológico estão nesta faixa adequada de tamanho (grande o suficiente para conter áreas ácidas, mas não tão grande para ter começado a fazer

a reprodução por metástese), executa outra vez a detecção de instrumento oncológico e o processo de tratamento (repetição de etapas 1 a 6 na seção 3 acima).

Uma complicação na estratégia acima é definida pela exibição de tumores uma ampla faixa de taxa de crescimento, e assim torna-se difícil prever quanto tempo levará para quaisquer das micro-metástases poderem escapar do primeiro tratamento para alcançar um tamanho em que contivessem regiões ácidas. Conseqüentemente, o curso prudente é definido por repetir as etapas diagnósticas 1 a 4 acima nos intervalos apropriados (talvez uma vez por ano) que continuam por uma duração suficiente (talvez 4 a 6 anos) para assegurar na prática que a possibilidade de que quaisquer micro-metástases não escapassem da extinção na terapia inicial de instrumento oncológico, a seguir tais micro-metástases cresceram até um tamanho suficiente para gerar regiões ácidas e assim que foram detectadas em um dos procedimentos diagnósticos de repetição subsequente (repetições das etapas 1 a 4 acima). Caso e quando um dos procedimentos diagnósticos de repetição detecte um ou vários tumores, a seguir o paciente poderia ser tratado outra vez pelas etapas 5 e 6 como acima. Parece provável que um tal segundo tratamento possua uma probabilidade elevada de extinguir completamente quaisquer tumores originis que pudessem ter escapado sob a forma de micro-metástases durante o curso do tratamento de instrumento oncológico inicial - desse modo, o tumor original e todo seu progênie do paciente foram exterminados completamente.

5. Tratar de Diminuir pH em Tumores para Aumentar Eficácia e Especificidade

Tanto a eficácia quanto a especificidade de um instrumento oncológico para áreas ácidas de tumores são uma
5 função forte do diferencial de pH entre as áreas ácidas do tumor e tecidos normais. Assim, caso um possa seletivamente reduzir o pH em áreas ácidas de tumores mesmo que seja encontrado na condição natural - sem redução concomitante do pH em tecidos normais, este terá recursos para a maior
10 sensibilidade em aplicações diagnósticas e maior eficácia e especificidade para aplicações terapêuticas de instrumentos oncológicos.

Durante a metade do século passado um número de tratamentos foram relatados para alterar o pH em tumores -
15 alguns que provocam o aumento do pH e alguns que provocam a diminuição do pH. No contexto de instrumentos oncológicos diagnósticos e terapêuticos, isto é, os tratamentos que diminuem seletivamente o pH em tumores, sem uma redução concomitante no pH em tecidos normais, que são de
20 interesse. A seguir são três de tais tratamentos que foram relatados para reduzir seletivamente o pH em tumores.

a) Há muito tempo se sabe que a introdução de glicose dentro de animais portadores de tumor atua na redução do pH no espaço intersticial em áreas hipóxicas dos
25 tumores, tipicamente por um período de aproximadamente 2 a 3 horas, ao ter quase nenhum ou nenhum efeito no pH do espaço intersticial em tecidos normais (Naeslund & Swenson (1953) Acta Obstet. Gyneocol. Scand. 32, 359 - 367). A entrada adicional de glicose por via oral pode

significativamente estender a duração de tempo enquanto o pH em tumores permanece assim reduzido.

b) O pH em áreas ácidas de tumores pode igualmente ser adicionalmente reduzido por tratamento com o inibidor mitocondrial, meta-iodobenzilguanidina, outra vez aparentemente sem efeito indevido no pH em tecidos normais (Jahde et. al., (1992) Cancer Research 52, 6209 - 6215)

Igualmente relatou-se que o pH em áreas ácidas de tumores pode ser adicionalmente reduzido por em torno de 0,7 unidades de pH por utilização de uma combinação de glicose e de meta-iodobenzilguanidina (Kuin et al., (1994) Cancer Research 54, 3785 - 3792).

c) Ainda adicionalmente, o pH em áreas ácidas de tumores pode ser adicionalmente reduzido por drogas vasodilatadoras que são usadas rotineiramente para tratar pessoas com a hipertensão (Adachi and Tannock (1999) Oncology Research 11, 179 - 185). Tais drogas são aparentemente eficazes porque a vasculatura anômala de tumores geralmente carece de células de músculo vasoconstrictoras e suas fibras de nervo. Conseqüentemente, quando é administrada uma droga vasodilatadora a um indivíduo, a resistência ao fluxo sanguíneo é inalterada em tumores, mas diminui em tecidos normais. Estes efeitos diferenciais do resultado de vasodilatador em um fluxo sanguíneo significativamente maior através de tecidos normais e uma redução concomitante em fluxo sanguíneo através do tumor. Por sua vez, este fluxo sanguíneo reduzido através do tumor reduz provavelmente o esmorecimento do ácido láctico produzido por células de

tumor em áreas hipóxicas do tumor - tendo por resultado a gota mediada vasodilatadora observada no pH em áreas ácidas do tumor.

Tais tratamentos, mas preferivelmente uma
5 combinação de dois ou mais de tais tratamentos reduzir adicionalmente o pH em áreas ácidas de tumores deve aumentar o isolamento de instrumento oncológico nas áreas agora mais ácidas do tumor, assim como conduz a um aumento nas áreas do tumor que são suficientemente ácidas para
10 instrumento oncológico isolado. Ambos esses efeitos serviram para aumentar a eficácia e a especificidade do instrumento oncológico.

Fazer o tumor mais ácido igualmente deixar que
alguém utilize um instrumento oncológico com os seletores
15 de pH que possuem um pKa mais baixo - que pode resultar em um aumento significativo na especificidade dos instrumentos oncológicos.

6. Utilizar Múltiplos Instrumentos Oncológicos que variam em pKa para Aumentar a Eficácia e a 20 Especificidade

As medidas experimentais relatadas da acidez em tumores mostraram um gradiente de pH que varia de aproximadamente 7,0 próximo de vasos capilares de tumor e diminuição com aumento de distância de vasos capilares de
25 tumor, com valores tão baixos quanto aproximadamente 6,0 que estão sendo relatados para áreas mais distantes de vasos capilares de tumor. Para tumores possuindo uma ampla faixa de valores de pH ocorre o potencial em que os instrumentos oncológicos terapêuticos com demasiada

elevação de um pKa podem de modo rápido inserir células às áreas moderadamente ácidas próximas a vasos capilares de tumor para levar este instrumento oncológico inadequado a permanecer alcançando as áreas mais de pH mais baixo do tumor o mais distante dos vasos capilares. Alternativamente, instrumentos oncológicos terapêuticos com demasiado ponto baixo de um pKa podem estar demasiadamente mal isolados em áreas moderadamente ácidas mais próximas de vasos capilares no tumor, conduzindo desse modo ao tratamento inadequado de tais áreas. Uma estratégia para lidar com uma ampla faixa de pH dentro de um tumor é definida por utilizar uma combinação de dois ou mais instrumentos oncológicos, onde um instrumento oncológico com um pKa mais elevado é potencialmente eficaz em regiões de pH mais elevado do tumor mais próximo de vasos capilares, e onde outro instrumento oncológico com um pKa mais baixo é potencialmente eficaz em regiões de pH mais baixo do tumor que estão mais distantes de vasos capilares. O argumento para utilização de tal combinação de instrumentos oncológicos é definida pelo instrumento oncológico com o pKa mais elevado podendo ser mais isolado em áreas próximas de vasos capilares - deixando pouca disponibilidade para alcançar áreas de pH mais baixo mais distantes de vasos capilares. De outro modo, o instrumento oncológico com o pKa mais baixo deve estar mal isolado em áreas de pH mais elevado próximo de vasos capilares e assim que permanece disponível para difusão dentro de áreas de pH mais baixo mais próximos de vasos capilares onde estes podem ser então eficazmente isolados. Assim, juntos tal

como uma combinação de instrumentos oncológicos de pKa elevado e pKa baixo deve ser melhor alcançada a extinção completa do tumor.

7. Tratar para Aumentar pH na Urina para Proteger

5 Rins de Dano

Uma das funções dos rins é manter o pH no corpo a muito próximo a 7,4. Para executar esta função os rins podem excretar a urina variando de moderadamente básica a razoavelmente ácida. Neste processo uma substância é

10 filtrada a partir do sangue no glomérulo do rim, depois do qual essa substância (dissolvida na urina) passa através do ducto proximal onde os componentes críticos excretados no glomérulo reabsorvidos por células que alinham o ducto proximal. Caso a urina esteja ácida neste momento então um

15 instrumento oncológico neste ambiente ácido possui o potencial de ligação e inserção das células que alinham os ductos proximais dos rins, mais do que o instrumento oncológico insere células de tumor a partir de um ambiente extracelular ácido. Descrito diferentemente, caso a urina

20 excretada esteja suficientemente ácida o instrumento oncológico se transferirá da sua forma lipofílica não iônica. Caso esse seletor a uma forma lipofílica ocorra em uma região onde a urina esteja em contato direto com membranas de célula, tal como é no caso para as células que

25 alinham os dutos proximais dos rins, a seguir o instrumento oncológico pode inserir tais células. No caso de um instrumento oncológico diagnóstico esta entrada do instrumento oncológico dentro das células que alinham os dutos proximais podem conduzir ao sinal evidente que emana

dos rins, que poderia obscurecer um tumor próximo ou nos rins. No caso de um instrumento oncológico terapêutico esta entrada de instrumento oncológico nas células que alinham os dutos proximais pode conduzir a destruição das células que alinham os dutos proximais - eficazmente tornando os rins não funcionais.

Felizmente, há métodos bem-conhecidos nas áreas médicas para aumentar o pH da urina de um sujeito por tempo suficiente para efetuar diagnóstico ou terapia com instrumentos oncológicos. Através da utilização de uma droga adequada para manter a urina a um pH ligeiramente básico durante o período quando a maior parte do instrumento oncológico não está isolado está sendo excretada pelos rins, esse instrumento oncológico excretado na urina permanecerá em sua forma hidrófila aniônica e será passada com segurança do corpo para urina. Uma substância segura e eficaz para tornar a urina básica é a droga inibidora de anidrase carbônica, Acetazolamida. Assim, um curso prudente em qualquer diagnóstico ou tratamento com instrumentos oncológicos é de aproximadamente uma a duas horas antes de transferir o instrumento oncológico dentro do indivíduo, trata primeiramente o indivíduo com esta droga, ou a outra substância eficaz para aumentar e manter o pH da urina em um pH acima de aproximadamente 7,4.

25 8. Monitorar e Lavar Bexiga para Aumentar a Segurança

Por causa do dano potencial aos rins por instrumentos oncológicos terapêuticos caso os rins estejam excretando urina ácida, deve ser igualmente desejável

monitorar continuamente o pH da urina que entra na bexiga pela utilização de uma microsonda de pH na extremidade de um catéter. O período de tempo preferido para tal monitoramento é imediatamente antes da injeção do
5 instrumento oncológico até que tal momento que a maioria dos instrumentos oncológicos não estão isolados em áreas ácidas de tumores sejam excretados pelos rins (tipicamente aproximadamente 3 a 6 horas). Tal monitoramento permitirá a intervenção de emergência (tal como a injeção de uma dose
10 adicional de Acetazolamida) na oportunidade em que o pH da urina recentemente excretada começa a cair abaixo de aproximadamente de pH 7,4.

Durante o curso de algumas horas da dose injetada de um instrumento oncológico será excretada pelos rins e
15 será armazenada na bexiga do indivíduo até esvaziar pela liberação de urina. Para o exemplo de uma aplicação diagnóstica de instrumento oncológico, este acúmulo de instrumento oncológico radioativo na bexiga pode obscurecer a presença de tumores na grande proximidade da bexiga. Para
20 o exemplo de um instrumento oncológico terapêutico o acúmulo de instrumento oncológico radioativo na bexiga do paciente tem o potencial de danificar a bexiga. Caso o acúmulo de instrumento oncológico radioativo na bexiga provar ser um problema significativo, pode substancialmente
25 ser reduzido por utilização de um cateter de afluência / drenagem para irrigar a bexiga a partir do momento que o instrumento oncológico é injetado até tal momento que a maior parte da dose injetada estiver liberada do corpo do paciente.

A irrigação da bexiga durante o período de tempo, logo que a maior parte da dose de instrumento oncológico está sendo excretada pelos rins convém como uma finalidade adicional, que sendo a solução efetuada na bexiga pode
 5 passar dentro de um recipiente de armazenamento impedido onde esta possa ficar contida até que o isótopo radioativo tenha se decomposto a um nível seguro (tipicamente 10 meias vidas do isótopo radioativo). Isto sere para assegurar a segurança dos profissionais da área médica que atendem o
 10 indivíduo, evita amplamente a contaminação por negligência com relação aos lavabos e as outras áreas por instrumento oncológico radioativo eliminado pelo indivíduo.

EXEMPLOS:

Exemplo 1. Efeito da lipofilicidade no pH de transição
 15 entre formas iônica e não-iônica

Os sais de sódio do ácido propiônico (um ácido carboxílico hidrofílico) e do ácido octanóico (um ácido carboxílico lipofílico) em uma concentração de 33 miliMolar em água foi titulado com HCl 5 M. O ponto médio da
 20 transição entre sal e ácido (valor do pKa) foi encontrado para ser 4,83 previsto para ácido propiônico, porém surpreendentemente elevados 5,5 para o ácido octanóico. A primeira derivada da curva de titulação foi simétrica para o ácido propiônico, porém altamente assimétrico para o
 25 ácido octanóico. Além, gotas do ácido octanóico oleação da solução durante o curso da titulação do octanóico.

Ao contrário, quando os sais destes mesmos dois ácidos foram titulados em meio semi-aquoso: metanol/ água, 1:1 por volume, seus pontos médios de transição foram

vistos para serem virtualmente idênticos, e a primeira derivada de suas curvas de titulação foi agora simétrica para ambos. Finalmente, na titulação em meio semi-aquoso, metanol/ água, nenhum ácido octanóico oleação da solução.

5 Estes resultados sugerem que o ponto médio surpreendentemente elevado na titulação visto para ácido octanóico em solução aquosa foi devido simplesmente aos efeitos de solubilidade ilustrados nas Figuras 3 e 4. Os resultados mostram ainda que realizando as titulações em
10 solução semi-aquosa, metanol/ água, 1:1 por volume, evita-se estes efeitos de solubilidade nas curvas de titulação.

Exemplo 2. Comparação de pontes de H ácida específica e não ácido específica no pH de transição entre formas iônica e não-iônica

15 Trinta soluções miliMolar de sais de sódio dos compostos mostrados na Figura 6a (projetado para formar ponte de H interna ácido específica) e 6b (projetado para formar ponte de H não ácido específica) titulado com 5 M HCl na solução aquosa. A primeira derivada da curva de
20 titulação para o composto na Figura 6b foi simétrica e mostrava um valor esperado de pKa de 4,82 (típico para ácidos carboxílicos simples), e não havia nenhum material insolúvel aparente gerado durante a titulação. Em nítido contraste, a primeira derivada da curva de titulação para o
25 composto na Figura 6a foi altamente inclinada e mostrou um mínimo do valor surpreendentemente elevado de pH 5,8, com o ponto médio aproximado de titulação no pH 5,6. Mais adiante, havia precipitado maciço formado a cada adição de HCl, começando quando o pH desceu abaixo de 5,8.

Estas diferenças dramáticas em propriedades de titulação entre compostos de estrutura quase idêntica sustenta a conclusão que a estrutura na Figura 6a está formando uma ponte de H interna ácido específica prevista, e que ponte de H está atuando para aumentar o pH de transição entre as formas iônica e não-iônica. Inversamente, enquanto a estrutura na Figura 6b pode estar formando pontes de H internas, nesse caso então porque ponte de H pode formar ou com a forma de sal carboxilato ou a forma ácido carboxílico, tal ponte de H não favorecem significativamente a forma não-iônica sobre a forma iônica e assim não alteram significativamente o pH de transição entre as duas formas, relativo ao que se encontraria para um ácido carboxílico simples, tal como ácido propiônico.

15 Exemplo 3. Efeito da baixa liberdade conformacional da ponte de H no pH de transição entre formas iônica e não-iônica

Titulação em solução aquosa da estrutura acíclica da Figura 7b mostrou um valor esperado do pH de transição de 4,95 (típico de ácidos carboxílicos simples), sem precipitação da forma ácido. Em contraste, titulação de estrutura de anel de 5- elementos da Figura 7a mostrou um valor inesperadamente elevado de 5,6 para o pH de transição entre formas aniônica e não-iônica. Titulação dessa estrutura de anel também foi acompanhada de precipitação maciça quando o pH desceu abaixo de aproximadamente 5,8, e a forma da curva de titulação era altamente assimétrica.

Entretanto, quando estes dois compostos foram em vez de titulados em meio semi-aquoso, metanol/ água, 1:1

por volume, não havia nenhum sinal de insolubilidade e os esboços das curvas de titulação do primeiro derivado foram agora simétricos. Para o composto acíclico mostrado na Figura 7b o pH no ponto médio de titulação foi 5,8, enquanto o pH no ponto médio de titulação foi substancialmente mais alto 6,45 para a estrutura de anel na Figura 7a.

Assim, mesmo na ausência de inclinação da curva de titulação devido à precipitação da forma ácida lipofílica, no experimento de titulação semi-aquosa se vê um substancial aumento de 0,65 unidade de pH no ponto médio da curva de titulação para o composto cíclico na Figura 7a. A explanação mais razoável para isso parece ser que na solução semi-aquosa uma ponte de H interna ácida específica é formada apenas no caso de estrutura cíclica de anel, e essa ligação de H está guiando o equilíbrio em favor da forma ácido.

Exemplo 4. Importância do isolamento da carboxila de efeitos de remoção de elétron grupos ligantes

Modelagem molecular da estrutura 8b sugere que uma ponte de H interna deva ser fortemente favorecida pela geometria quase perfeita da dita ponte de H e a liberdade conformacional muito limitada entre a fração doadora de ponte de H e a aceitadora de ponte de H. Apesar destes fatores favoráveis à formação de uma ponte de H interna ácido específica, quando o sal da estrutura na Figura 8b foi preparado e titulado com HCl em solução aquosa, a curva de titulação indicou um valor do pKa abaixo de 3,0.

Conclui-se a partir deste resultado que os efeitos indutivos de amida, onde os efeitos ditos devem ser prontamente propagados através da intervenção da ligação dupla, causam provavelmente uma grande redução no pKa da carboxila, com esses efeitos indutivos negativos podem superar qualquer efeito positivo em uma ponte de H interna ácido específica que poderia elevar o pKa da carboxila.

Exemplo 5. Vantagem de impedir parcialmente o local da ponte de H do solvente aquoso

Os dois compostos na Figura 9 foram preparados e então titulados em solvente semi-aquoso, metanol/ água, 1:1 por volume. Este solvente semi-aquoso foi utilizado nestas titulações a fim de impedir que os efeitos de insolubilidade impactem os resultados de titulação. Nestes experimentos a primeira derivada dos esboços de titulação foi simétrica e não havia nenhum sinal visível de precipitação. Assim, o objetivo de evitar efeitos de insolubilidade foi satisfeito.

O que foi encontrado é que a estrutura (a) da Figura 9 mostrou um ponto médio para a curva de titulação em um pH de 5,6, enquanto estrutura (b) da Figura 9 mostrou um ponto médio significativamente mais elevado para a titulação em pH 6,14.

Outra vez, a explanação provável para o valor de pH de transição significativamente mais elevado para estrutura (b) nestas titulações é que nesta solução semi-aquosa a estrutura (b) está formando uma ponte de H interna ácido específica que está atuando para alterar o equilíbrio em favor da forma ácido, enquanto a estrutura intimamente

relacionada (a) não forma tal ponte de H interna ácido específica. Parece provavelmente que o impedimento moderado no local da ponte de H na estrutura (b) é o fator o qual favorece a formação da ponte de H na estrutura (b),
 5 enquanto a falta de tal impedimento no local da ponte de H na estrutura (a) é provavelmente responsável pela ausência aparente de uma ponte de H interna na estrutura (a).

Exemplo 6. Preparação e titulação de duas estruturas de seletores de pH projetadas para formar uma ponte de H
 10 interna ácido-específica de barreira baixa

O éster metílico do ácido isonipocótico foi por redução alquilado com 3-pentanona e então a amina terciária resultante convertida ao N-óxido com meta-clorobenzoilperóxido. Finalmente, o éster foi dividido com
 15 hidróxido de sódio aquoso para dar estrutura iii na Figura 10b. Este produto, em sua forma de carboxilato de sódio, foi então titulado em água. A primeira derivada de seu esboço de titulação mostra dois mínimos, um em pH 3,8 (o qual é aproximadamente aquele esperado para a porção N-
 20 óxido), e um outro mínimo em pH 6,0, o qual é substancialmente mais elevado que seria esperado para a porção N-óxido ou a porção ácido carboxílico. Entretanto, à luz dos resultados nos exemplos anteriores neste contexto, a explanação mais provável é que este valor de pKa 6,0 é
 25 devido a uma ponte de H interna de barreira baixa formada entre o doador de ponte de H carboxila e o aceitador de ponte de H N-óxido, e que ponte de H interna atua para guiar o equilíbrio para a forma ácido - i.e., elevar o pKa.

O derivado cis (3-amino-1-ácido) do ácido canfórico foi por redução alquilada com excesso de acetaldeído e produto amina terciária resultante convertida ao N-óxido com meta-clorobenzoilperóxido para dar a
5 estrutura na Figura 10b. Este produto, em sua forma de carboxilato de sódio, foi então titulado em água. A primeira derivada de seu esboço de titulação mostra dois mínimos, um em pH 4,2 (o qual é aproximadamente aquele esperado para o grupamento N-óxido), e um outro mínimo em
10 pH 6,5, o qual é substancialmente mais elevado que seria esperado para a porção N-óxido ou a porção ácido carboxílico. Outra vez à luz dos resultados a partir de exemplos anteriores neste contexto, a explanação mais provável para este valor excepcionalmente elevado de pKa de
15 6,5 é que uma ponte de H interna de barreira baixa está se formando entre o doador de ponte de H carboxila e o aceitador de ponte de H N-óxido, e que ponte de H interna atua fortemente para guiar o equilíbrio para a forma ácido, elevando desse modo o valor de pKa.

20 É notável que o derivado acima do ácido isonipocótico ligado internamente a H tem um valor apreciavelmente mais baixo de pKa (6,0) que o derivado um tanto similar do ácido canfórico ligado internamente a H - apesar da porção doadora de ponte de H e a porção
25 aceitadora de ponte de H serem virtualmente idênticos em ambas as estruturas. A explanação mais provável para esta diferença significativa entre valores de pKa é que a conformação de mais baixa energia para anéis alifáticos de 6 elementos, tal como a estrutura do isonipocótico acima, é

tipicamente a conformação em cadeira e geralmente leva algo como 5 Kcal para converter essa conformação em cadeira para a conformação mais estável seguinte, a forma de barco torcido. Porque a modelagem molecular do invertebrado mostrou
5 que somente a conformação de barco torcido do derivado isonipocótico pode formar a ponte de H interna ácida específica, é provável que a força dessa ponte de H seja atenuada pelo custo de energia de conversão da conformação em cadeira para a de barco torcido.

10 Ao contrário, o anel alifático de 5- elementos do derivado canfórico pode prontamente e com baixo custo de energia se alterar entre diferentes dobras de conformações, e assim há pequeno custo de energia para adotar a conformação apropriada para formar a ponte de H interna
15 ácido específica. Como consequência, essencialmente a energia completa dessa ponte de H está disponível para favorecer a forma ácida sobre a forma de sal - portanto elevando o pKa para o valor excepcionalmente elevado de 6,5.

20 O significado anterior é que demonstra que as propriedades estruturais sùtis podem ser exploradas para ajustar bastante precisamente o valor de pKa de um seletor de pH a fim de alcançar um equilíbrio desejável entre eficácia e especificidade, a importância da qual é
25 ilustrada em Figura 12.

Exemplo 7. Procedimentos de titulação para estudar estruturas de seletor de pH

a) Titulações aquosas

Estruturas tipicamente novas que podem ser apropriadas como componentes avançados de seletor de pH são avaliados primeiramente por seu valor de pT , isto é, o valor de pH no ponto médio de sua transição entre formas aniônica e não-iônica. Isto requer preparar a forma de sal de sódio da estrutura e dissolvê-lo em uma concentração de 5 miliMolar em 50 mL de 0,15 Molar NaCl (utilizado para minimizar o conteúdo do ácido carbônico). Uma pequena barra magnética de agitação é adicionada e o pH da solução é ajustado a aproximadamente 9 com uma pequena quantidade de NaOH 1 M. Ao agitar, frações de 5 microlitros de HCl 1 M são adicionadas e o pH é gravado 1 minuto após a adição de cada fração de HCl. Se a precipitação ou oleação do seletor de pH não ocorrerem durante a titulação, um esboço de pH versus volume de HCl adicionado proporciona a curva convencional de titulação. Entretanto, uma apresentação muito mais útil dos resultados de titulação, a qual permite uma medida bastante precisa do valor de pK_a , é obtida para delinear a primeira derivada desta curva de titulação. Isto requer esboçar no eixo X os valores para: $(pH_n + pH_{n+1}) / 2$, e esboçar no eixo Y os valores para: $(pH_n - pH_{n+1})$.

b) Titulações semi-aquosas

Se o seletor de pH precipitar ou oleação durante o curso da titulação então a curva de titulação será geralmente inclinada fortemente. Em tais casos é difícil para diferenciar entre efeitos de solubilidade e efeitos de pK_a no ponto médio de transição entre forma aniônica e não-iônica do seletor de pH. Em tais casos o efeito de solubilidade pode ser evitado por titulação em solvente

semi-aquoso onde as formas de sal e de ácido do seletor de pH sejam completamente solúveis. Uma mistura 1:1 de metanol e água convém geralmente para esta finalidade. Neste solvente a primeira derivada das curvas de titulação outra vez se torna simétrica. No caso de uma substância a qual não possa formar uma ponte de H interna estável, tal como ácido octanóico, o esboço da titulação mostra agora um valor clássico de pKa muito similar àquele visto para ácido carboxílico simples completamente solúvel em água, tal como ácido propiônico. Entretanto, no caso de uma substância projetada para formar ponte de H interna ácido específica estável, tal como as estruturas avançadas do seletor de pH descritas nos exemplos acima, enquanto o esboço de titulação se tornar simétrico em metanol/ água, apesar disso, o esboço de titulação pode também mostrar um valor substancialmente aumentado de pKa relativo a uma estrutura muito similar a qual não possa formar uma ponte de H interna ácido específica - e este valor aumentado de pKa é indicativo de formação de ponte de H interna ácido específica sob as condições de titulação.

Assim, em titulações em salina fisiológica o aumento total no aparente pH de transição, acompanhado por assimetria na curva de titulação, pode ser devido a uma combinação do efeito de uma ponte de H interna ácido específica mais um efeito de solubilidade. Entretanto, quando a titulação é realizado preferivelmente em um solvente semi-aquoso, tal como o metanol/ água, um crescimento substancial no valor de pKa para uma substância projetada para formar uma ponte de H interna ácido

específica, relativo ao pKa para uma substância muito similar a qual não possa formar a tal ponte de H, é principalmente atribuível apenas a ponte de H interna, e não a qualquer aumento de lipofilicidade na porção ácido o qual poderia ser uma consequência desse ponte de H interna. Entretanto, deve também ser apreciado que em certa medida o solvente de baixa polaridade metanol/ água favorece inerentemente a formação de uma ponte de H interna, e assim quando em todo o possível ao testar um novo tipo estrutural do seletor de pH é desejável confirmar a formação da ponte de H interna específica por titulação em solução completamente aquosa.

Exemplo 8. Sistema de teste da cultura de célula para instrumentos oncológicos

Recomenda-se que inicialmente cada estrutura de instrumento oncológico em perspectiva deve ser testada em um sistema biológico relativamente simples em que o instrumento oncológico é exposto aos principais ambientes biológicos e às estruturas que encontrará em um indivíduo vivo - incluindo particularmente as células de mamíferos expostas ao soro que contém meio tamponado em pH 7,4 para imitar o sangue e tecidos normais, e tamponado em pH 6,4 para imitar áreas ácidas de tumores.

Um sistema de teste tão apropriado requer elaborar duas preparações de meio de cultura isotônico. Um deve conter 10% de soro e ser fortemente tamponado em pH 7,4 com 50 miliMolar de tampão HEPES (pKa 7,5). O outro deve conter 10% de albumina de soro e ser fortemente tamponado em pH 6,4 com 50 miliMolar de tampão BisTRIS (pKa

6,5). O instrumento oncológico que contém iodo- 131 deve ser adicionado em concentração igual a cada meio de cultura.

Antes do experimento, células Hela devem
5 primeiramente ser crescidas por confluência de placas de cultura com 12 cavidades. Em seguida, o meio de cultura é removido de quatro cavidades de células e substituído com o meio tamponado que contém o instrumento oncológico em pH 7,4. Adicionalmente, meio de cultura é removido de outras
10 quatro cavidades de células e substituído com o meio tamponado com instrumento oncológico em pH 6,4. As placas são incubadas então a 37 °C por uma hora. Após a incubação, o meio que contém instrumento oncológico é removido e substituído com meio livre de instrumento oncológico no
15 mesmo pH, rotacionado brevemente, e removido. Este procedimento de lavagem é repetido um total de 4 vezes. Em seguida, as células são lisadas com 1 mL de solução detergente e essa solução de lise removida e contada em um contador de cintilação ou gama para fornecer uma medida da
20 quantidade relativa de instrumento oncológico o qual foi isolada sob cada uma das duas condições do pH.

A estrutura preferida de instrumento oncológico é aquela que é isolada ao máximo pelas células em pH 6,4, mas apenas minimamente isolada pelas células no pH 7,4.

25 Exemplo 9. Testando instrumentos oncológicos em camundongos normais

O sistema de teste de cultura de célula acima para instrumentos oncológicos permite uma avaliação inicial rápida e quantitativa das propriedades prováveis de

eficácia e especificidade de um número importante de instrumentos oncológicos em perspectiva. Entretanto, esta avaliação inicial deve em seguida ser continuada para as estruturas mais promissoras de instrumento oncológico com
5 testes em camundongos vivos. Recomenda-se que os camundongos sejam primeiramente pré-tratados com um inibidor da anidrose carbônica, tal como acetazolamida, para assegurar que sua urina permaneça básica por várias horas. Em seguida, uma quantidade apropriada de instrumento
10 oncológico que contém iodo- 131 em salina tamponada com fosfato deve ser injetada, preferivelmente intravenosa, tal como dentro da veia da cauda. Depois disso os camundongos devem ser periodicamente monitorados por um período até de aproximadamente 24 horas (tal como pelo breve
15 posicionamento sob um apropriado contador gama ou câmera gama) para determinar a taxa de excreção do instrumento oncológico identificado.

A finalidade principal deste teste em camundongos normais é identificar quaisquer instrumentos oncológicos o
20 qual estão isolados de modo desnecessário nos tecidos normais - presumivelmente devido a lipofilicidade excessiva, ou possivelmente devido a algum elemento estrutural que tem uma afinidade inesperada para tecidos normais ou algum órgão particular, etc. Instrumentos
25 oncológicos que são excretadas rápida e completamente a partir de camundongos normais, e assim passar neste teste animal preliminar, deve em seguida ser testado em camundongos portadores de tumor, como descrito no exemplo seguinte.

Exemplo 10. Testando instrumentos oncológicos em camundongos portadores de tumor

Enquanto os testes relativamente simples acima em camundongos normais livres de tumor permitiram descartar
5 esses instrumentos oncológicos os quais têm uma afinidade excessiva para tecidos normais, o teste mais decisivo para uma estrutura de instrumento oncológico em perspectiva é testá-lo em camundongos portadores de tumor.

Em tais experimentos é recomendado um primeiro
10 pré-tratamento nos camundongos: a) com um inibidor da anidrose carbônica, tal como acetazolamida, para elevar o pH na urina; e, b) com uma ou uma combinação de substâncias eficazes para reduzir seletivamente o pH nos tumores. Tais substâncias incluem: i) glicose (Naeslund & Swenson (1953)
15 Acta Obstet. Gyneocol. Scand. 32, 359 - 367); ii) o inibidor mitocondrial, meta-iodobenzilguanidina (Jahde et al., (1992) Cancer Research 52, 6209 - 6215); e, iii) drogas vasodilatadoras utilizadas rotineiramente para tratar pessoas com hipertensão (Adachi and Tannock (1999)
20 Oncology Research 11, 179 - 185).

Após um período de tempo apropriado seguindo tais pré-tratamentos, os camundongos portadores de tumor são injetados (preferivelmente intravenosa) com instrumento oncológico que contém iodo- 131. Depois de um período de
25 hora apropriado (na ordem de 5 a 24 horas) para permitir a excreção normal pelos rins dessa fração da dose administrada a qual não é isolada em tecidos e/ ou tumores de camundongos, os camundongos são mortos e os órgãos principais e quaisquer tumores óbvios são extirpados. Cada

órgão e tumor e o carcaça restantes são então contados em contador gama.

Em consideração ao pré-tratamento de camundongos, deve ser enfatizado que os instrumentos oncológicos funcionarão melhor quando ambos os tipos de pré-tratamento são utilizados, onde um tipo convém para impedir a reabsorção do instrumento oncológico dentro de células revestindo os túbulos proximais dos rins. Esta reabsorção é bloqueada tornando a urina ligeiramente básica. O outro tipo convém para aumentar mais a acidez (reduz o pH) em áreas hipóxicas/ ácidas de tumores. Preferivelmente uma combinação de dois ou três tais pré-tratamentos para reduzir seletivamente o pH em tumores deve ser empregada a fim de ajustar o microambiente do tumor para ser melhor adaptado a atividade eficaz e específica do instrumento oncológico.

A descrição acima apresentada o melhor modo de contemplar as composições e métodos da presente invenção, e a maneira e processo de preparação e utilização tais composições e métodos em termos tão completos, claros, concisos e exatos que permitam qualquer pessoa habilitada na técnica a que pertencem fazer e utilizar as composições e métodos. Estes composições e métodos são, entretanto, suscetíveis a modificações e construções alternativas a partir das incorporações ilustrativas discutidas acima as quais são inteiramente equivalentes. Conseqüentemente, essa não é a intenção de limitar as composições e os métodos divulgados para incorporações particulares divulgadas. Ao contrário, a intenção é cobrir todas as modificações e

construções alternativas que vêm dentro do espírito e alcance das composições e métodos como expressado geralmente pelas seguintes reivindicações, as quais particularmente indicam e reivindicam distintamente o

5 tópico do assunto das composições e métodos divulgados.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição que contém componente de seletor de pH avançado, dito componente de seletor de pH avançado **caracterizada** pelo fato de compreender:

5 a) uma estrutura de anel alifático selecionada proveniente de um grupo que consiste em um anel com 4 elementos, um anel com 5 elementos, e um anel com 6 elementos;

b) uma porção de um ácido carboxílico
10 diretamente ligada à dita estrutura de anel alifático, a dita porção de um ácido carboxílico é separada AM partir de qualquer ligação do grupo com remoção de elétron para pelo menos dois carbonos; e

c) uma porção aceitadora de ponte de H
15 selecionada proveniente de um grupo que consiste em uma parte da estrutura de anel alifático, diretamente ligado à estrutura de anel alifático, e ligado através de um átomo à estrutura de anel alifático;

em que, a dita porção aceitadora de ponte de H em
20 sua forma não iônica tem uma estrutura que não pode servir como a dita porção doadora de ponte de H, e a dita porção de ácido carboxílico e a dita porção aceitadora de ponte de H são posicionadas e orientadas tais como as que são compatíveis com a formação de uma ponte de H ácido
25 específico interna.

2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que uma forma independente da porção aceitadora de ponte de H do componente seletor de pH

avanzado tem um valor de pKa na faixa de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 6,5.

3. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que uma porção aceitadora de ponte de H do componente seletor de pH avanzado é selecionado a partir do grupo que consiste em:

- (a) uma cianometil amina;
- (b) uma trifluoroetil amina;
- (c) uma alcoxi amina;
- 10 (d) uma hidrazina;
- (e) um N-óxido;
- (f) um imidazol;
- (g) uma anilina;
- (h) um amido;
- 15 (i) uma fosforamida;
- (j) uma tiofosforamida;
- (k) uma uréia; e,
- (l) um éter.

4. Composição de instrumento oncológico, **caracterizada** pelo fato de compreender:

(a) pelo menos dois componentes de seletor de pH, cada componente de seletor de pH sendo eficaz para submeter-se a uma transição mediada por pH entre uma forma hidrofílica aniônica a um pH mais elevado e uma forma lipofílica não iônica a um pH mais baixo; e,

(b) pelo menos uma carga de componente selecionada proveniente de um grupo consistindo em:

i) uma estrutura eficaz para ligar um isótopo radioativo, e

ii) uma estrutura que contenha um isótopo radioativo.

5. Composição de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada** pelo fato de
5 compreender adicionalmente um isótopo radioativo selecionado proveniente do grupo que consiste em:

(a) um isótopo radioativo eficaz para relatar a presença da composição;

(b) um isótopo radioativo eficaz para matar
10 células; e,

(c) um isótopo radioativo eficaz para relatar a presença da composição e eficaz para matar células.

6. Composição de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada** pelo fato de
15 que tem um fator de especificidade maior que 20.

7. Composição de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada** pelo fato de que porções carboxil de seletores de pH têm valores de pKa na faixa de 5,4 a 6,8.

20 8. Composição de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizada** pelo fato de que dois dos componentes de seletor de pH compartilham porção aceitadora de ponte de H simples.

9. Composição de instrumento oncológico, de
25 acordo com a reivindicação 8, **caracterizada** pelo fato de que a porção aceitadora de ponte de H compartilhado é um átomo de oxigênio de um N-óxido.

10. Composição de instrumento oncológico, **caracterizada** pelo fato de compreender:

(a) pelo menos dois componentes de seletor de pH avançados, cada um compreendendo:

i) uma estrutura de anel alifático selecionada a partir do grupo que consiste em um anel com 4 elementos,
5 um anel com 5 elementos, e um anel com 6 elementos;

ii) uma porção de ácido carboxílico diretamente ligada a uma estrutura de anel alifático, a porção de ácido carboxílico sendo separada a partir de qualquer grupo com remoção de elétron ligado pelo menos a dois carbonos; e

10 iii) uma porção aceitadora de ponte de H selecionado a partir do grupo que consiste em parte da estrutura de anel alifático, diretamente ligada a uma estrutura de anel alifático, e ligada através de um átomo à estrutura de anel alifático;

15 em que, a porção aceitadora de ponte de H em sua forma não iônica possui uma estrutura que não pode servir como uma porção doadora de ponte de H, e a porção de ácido carboxílico e a porção aceitadora de ponte de H são posicionadas e orientadas tais como as que são compatíveis
20 com a formação de uma ponte de H de ácido específico interna; e,

(b) pelo menos um componente de carga selecionado a partir de um grupo consistindo em:

i) uma estrutura eficaz para ligar um isótopo
25 radioativo, e

ii) uma estrutura que contém um isótopo radioativo.

11. Diagnóstico de composição de instrumento oncológico para detectar um tumor contendo áreas ácidas, **caracterizado** pelo fato de compreender:

5 (a) pelo menos dois componentes de seletores de pH eficazes para submeter-se a uma transição mediada por pH entre uma forma hidrofílica aniônica a um pH mais elevado e uma forma lipofílica não iônica a um pH mais baixo; e,

(b) pelo menos um isótopo radioativo cuja emissão a partir de dentro de um tumor em um indivíduo pode ser
10 detectado fora do indivíduo.

12. Diagnóstico de composição de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que o isótopo radioativo é um radiohalogeno.

13. Composição terapêutica de instrumento
15 oncológico para tratar um indivíduo que possui um tumor que contém áreas ácidas, **caracterizada** pelo fato de compreender:

(a) pelo menos dois componentes de seletores de pH eficazes para submeter-se a uma transição mediada por pH
20 entre uma forma hidrofílica aniônica a um pH mais elevado e uma forma lipofílica não iônica a um pH mais baixo; e,

(b) pelo menos um isótopo radioativo cuja emissão é eficaz para matar células.

14. Composição terapêutica de instrumento
25 oncológico, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizada** pelo fato em que o isótopo radioativo é um radiohalogeno.

15. Composição terapêutica de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizada**

pelo fato de que o isótopo radioativo emite radiação de transferência de energia linear elevada.

16. Composição terapêutica de instrumento oncológico de acordo com a reivindicação 15, **caracterizada** pelo fato de que o isótopo radioativo é selecionado a partir de um grupo que consiste em Astat-211, Bromo-77, e Iodo-123.

17. Composição terapêutica de instrumento oncológico de acordo com a reivindicação 13, **caracterizada** pelo fato de que o isótopo radioativo emite uma partícula beta.

18. Combinação de composições terapêutica de instrumento oncológico, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizada** pelo fato de compreender:

(a) pelo menos uma primeira composição de um instrumento oncológico que contenha um primeiro isótopo radioativo que emita a radiação de transferência de energia linear elevada; e,

(b) pelo menos uma segunda composição de instrumento oncológico que contenha um segundo isótopo radioativo que emita uma partícula beta.

19. Método diagnóstico para detectar um tumor em um indivíduo que contenha áreas ácidas, o método **caracterizado** pelo fato de compreender as etapas de:

(a) prover um diagnóstico de composição de instrumento oncológico, conforme descrito na reivindicação 11;

(b) introduzir o diagnóstico de composição de instrumento oncológico dentro do indivíduo;

(c) aguardar aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 48 horas; e,

(d) realizar varredura do indivíduo com equipamento eficaz para detectar emissões a partir da
5 composição diagnóstica de instrumento oncológico no indivíduo.

20. Método diagnóstico, de acordo com a reivindicação 19, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

10 pré-tratamento do indivíduo com pelo menos uma substância selecionada proveniente de um grupo que consiste em:

(a) uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina de indivíduo, e

15 (b) uma segunda substância eficaz para diminuir o pH em tumores.

21. Método terapêutico para tratar tumores em um indivíduo, o método **caracterizado** pelo fato de compreender as etapas de:

20 (a) prover uma composição terapêutica de instrumento oncológico conforme descrito na reivindicação 13; e,

(b) introduzir a composição terapêutica de instrumento oncológico dentro do indivíduo.

25 22. Método terapêutico, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

pré-tratamento do indivíduo com pelo menos uma substância selecionada de um grupo que consiste em:

(a) uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina de um indivíduo, e

(b) uma segunda substância eficaz para diminuir o pH em tumores.

5 23. Método terapêutico, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

10 irrigar a bexiga do indivíduo por pelo menos uma hora para em seguida introduzir a composição terapêutica de instrumento oncológico dentro do indivíduo.

24. Método terapêutico para tratar tumores em um indivíduo, o método **caracterizado** pelo fato de compreender as etapas de:

15 (a) prover uma combinação das composições terapêuticas de acordo com a reivindicação 18; e,

(b) introduzir as composições terapêuticas dentro do indivíduo.

20 25. Método terapêutico, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

pré-tratamento de um indivíduo com pelo menos uma substância selecionada proveniente de um grupo que consiste em:

25 (a) uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina de indivíduo, e

(b) uma segunda substância eficaz para diminuir o pH em tumores.

26. Método terapêutico, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

5 irrigar a bexiga do indivíduo por pelo menos uma hora para em seguida introduzir a composição terapêutica dentro do indivíduo.

27. Método para detectar um tumor em um indivíduo que contenha uma área ácida, e tratar alguns dos tumores detectados, **caracterizado** pelo fato de compreender as
10 etapas de:

(a) prover uma composição diagnóstica eficaz por estar isolada em uma área ácida de um tumor e conter um isótopo radioativo que emite um sinal que pode ser detectado fora do indivíduo;

15 (b) introduzir uma composição de diagnóstico dentro do indivíduo;

(c) aguardar aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 48 horas;

20 (d) realizar varredura do indivíduo com o equipamento eficaz para detectar o sinal emissor da composição diagnóstica; e, para o indivíduo onde a varredura indica a presença do tumor;

(e) prover pelo menos uma composição terapêutica de instrumento oncológico eficaz para ser isolado de modo
25 seletivo em área ácida do tumor e conter um isótopo radioativo eficaz para matar células; e

(f) introduzir pelo menos uma das composições terapêuticas de instrumento oncológico dentro do indivíduo.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

5 pré-tratamento do indivíduo com pelo menos uma substância selecionada proveniente de um grupo que consiste em:

 (a) uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina de indivíduo; e

 (b) uma segunda substância eficaz para diminuir o
10 pH em tumores,

 em que, a etapa de pré-tratamento é realizada antes da introdução da composição diagnóstica dentro do indivíduo e outra vez antes da introdução de composições terapêuticas de instrumento oncológico dentro do indivíduo.

15 29. Método, de acordo com a reivindicação 27, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente a etapa de:

 irrigar a bexiga do indivíduo por pelo menos uma hora para em seguida introduzir a composição terapêutica de
20 instrumento oncológico dentro do indivíduo.

 30. Método, de acordo com a reivindicação 27, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente uma etapa de:

 repetir etapas (a) até (d) após um período de
25 tempo estimado para que seja suficiente para crescimento de micrometástases dentro de um novo tumor com o tamanho suficiente para conter áreas ácidas; e

 repetir etapas (e) e (f) caso pelo menos um tumor seja detectado na etapa (d).

31. Método de detectar e tratar um tumor em um indivíduo que contenha uma área ácida, **caracterizado** pelo fato de compreender as etapas de:

5 (a) introduzir dentro do indivíduo uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina em um indivíduo;

(b) introduzir dentro do indivíduo uma segunda substância eficaz para diminuir o pH no tumor;

10 (c) prover uma composição diagnóstica eficaz por estar isolada de modo seletivo na área ácida do tumor e conter um isótopo radioativo que emita um sinal que pode ser detectado a partir do exterior do indivíduo;

(d) introduzir a composição diagnóstica dentro do indivíduo;

15 (e) realizar varredura do indivíduo com um dispositivo eficaz para detectar o sinal emitido a partir da composição diagnóstica;

(f) prover pelo menos uma composição terapêutica eficaz para estar isolada de modo seletivo nas áreas ácidas
20 do tumor e conter um isótopo radioativo eficaz para matar células; e

(g) introduzir pelo menos uma das composições terapêuticas dentro do indivíduo.

32. Método, de acordo com a reivindicação 31,
25 **caracterizado** pelo fato de que a composição diagnóstica é um instrumento oncológico.

33. Método, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de que a composição terapêutica é um instrumento oncológico.

34. Método, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de que a composição diagnóstica e a composição terapêutica são um instrumento oncológico.

5 35. Método, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de compreender adicionalmente as etapas de:

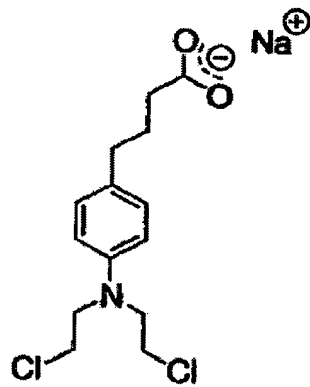
(a) aguardar pela composição diagnóstica para estar isolada em uma área ácida do tumor após a introdução da composição diagnóstica dentro do indivíduo;

10 (b) introduzir dentro do indivíduo uma quantidade adicional de uma primeira substância eficaz para aumentar o pH da urina no indivíduo; e

(c) introduzir dentro do indivíduo uma quantidade adicional de uma segunda substância eficaz para diminuir o
15 pH no tumor.

FIGURA 1. CLORAMBUCIL

FORMA ANIÔNICA



FORMA NÃO-IÔNICA

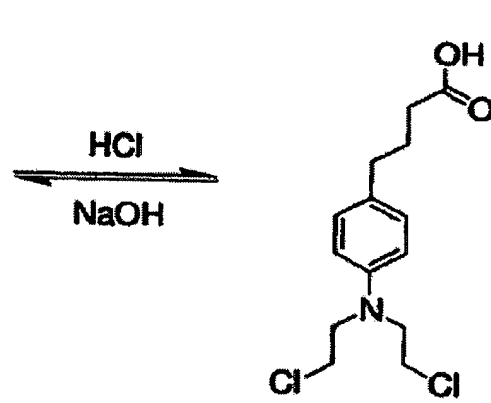


FIGURA 2. DISTRIBUIÇÃO DE ACIDEZ EM TUMORES

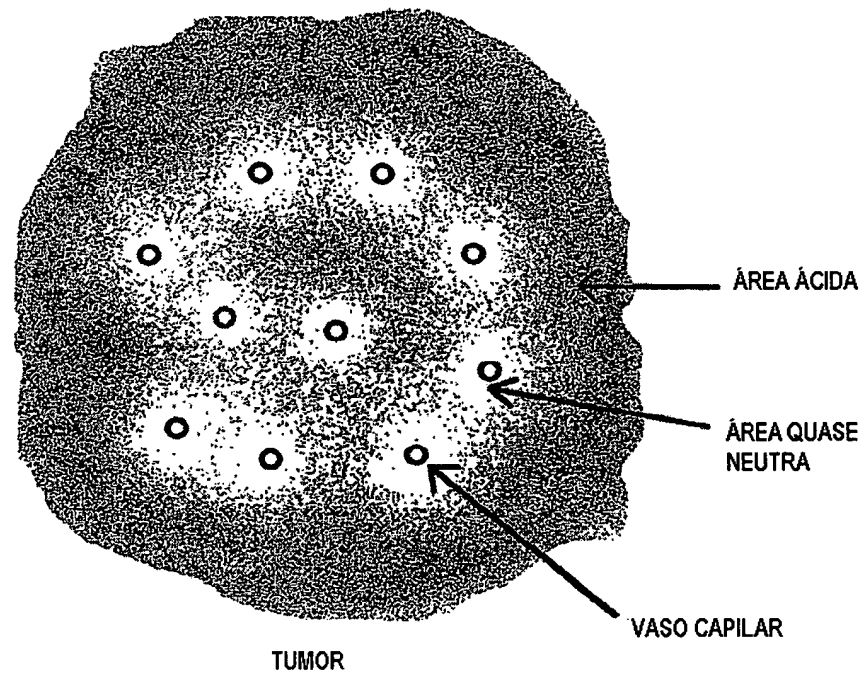
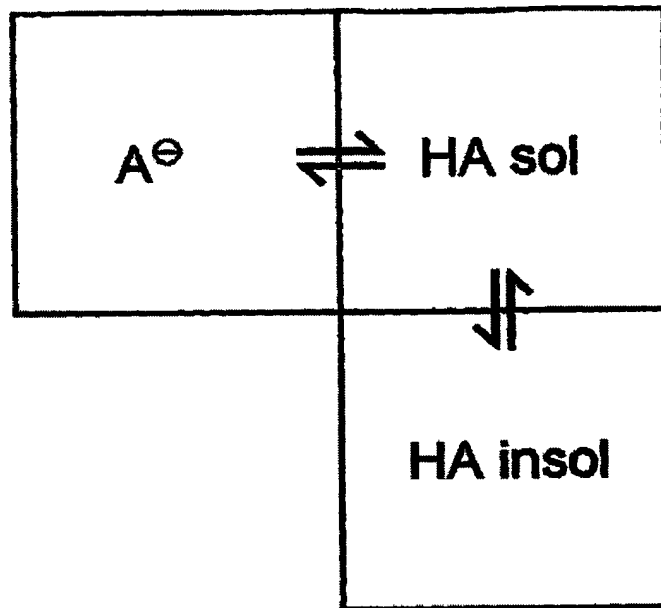


FIGURA 3. TRANSIÇÃO DE pH MEDIADO ENTRE FORMAS



$$pH = pK_a + \log \frac{[A^{\ominus}]}{[HA \text{ sol}]}$$

$$[A^{\ominus}] + [HA \text{ sol}] + [HA \text{ insol}] = 1$$

$$P = \frac{[HA \text{ insol}]}{[HA \text{ sol}]}$$

P É COEFICIENTE DE DIVISÃO DE ÁGUA / OCTANOL

FIGURA 4. TITULAÇÕES CALCULADAS COMO FUNÇÃO DE LIPOFILICIDADE DE FORMA ÁCIDA

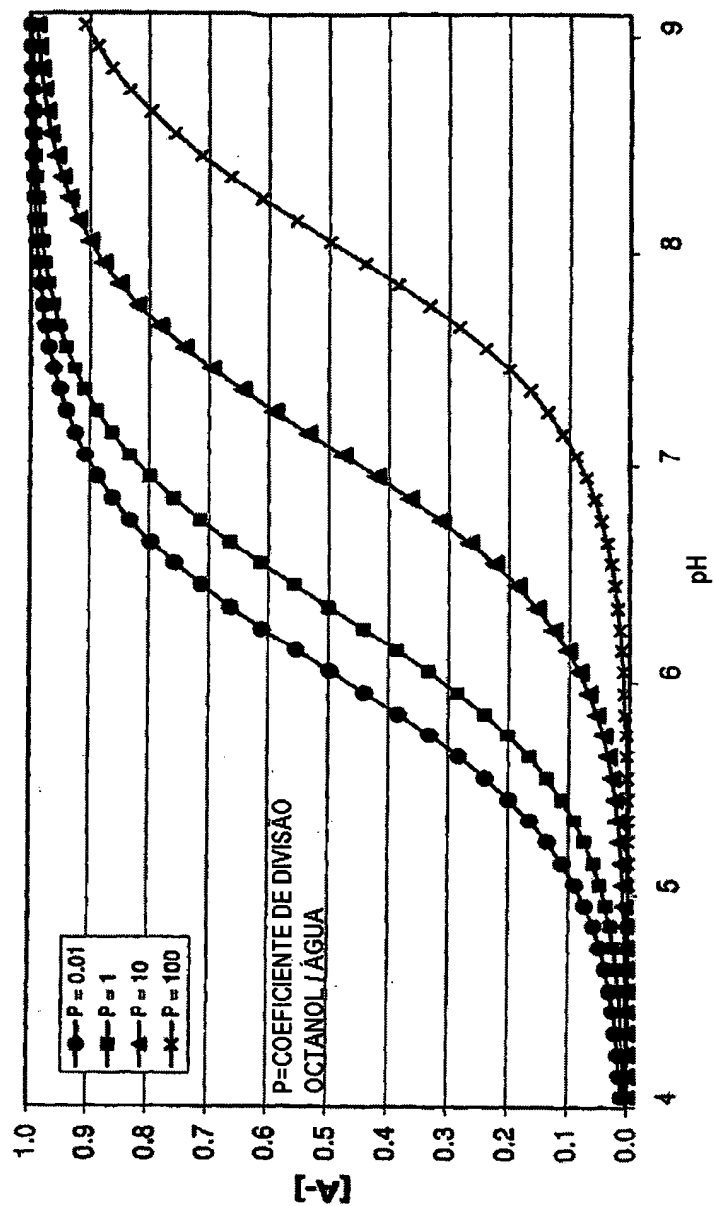
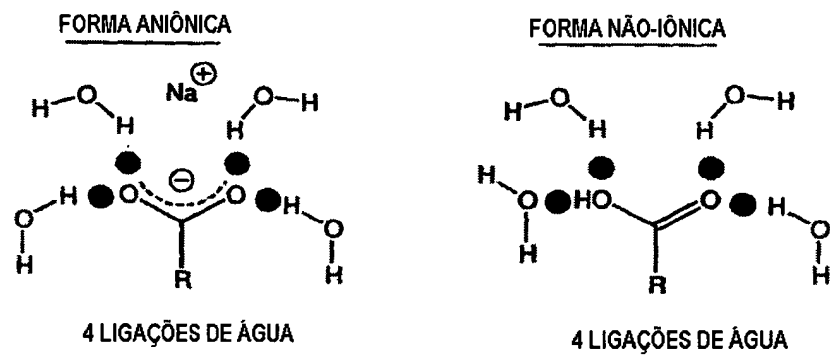


FIGURA 5. ÁGUAS DE HIDRATAÇÃO ESPERADAS

A) ÁCIDO CARBOXÍLICO CONVENCIONAL



B) ÁCIDO CARBOXÍLICO LIGADO A PONTE H INTERNAMENTE

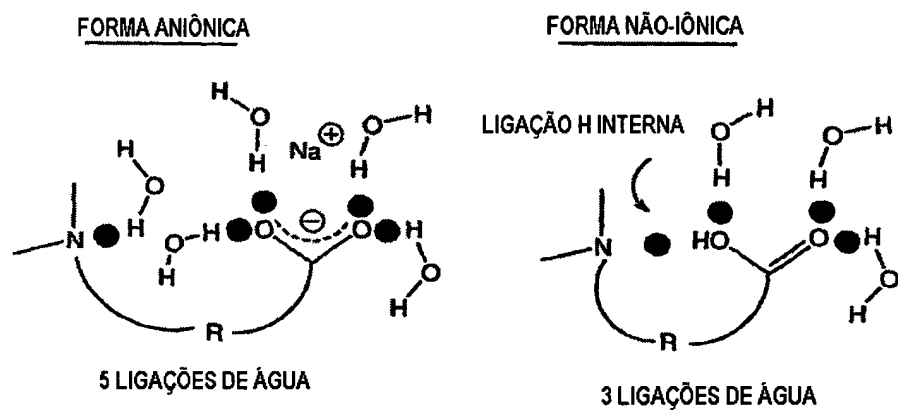
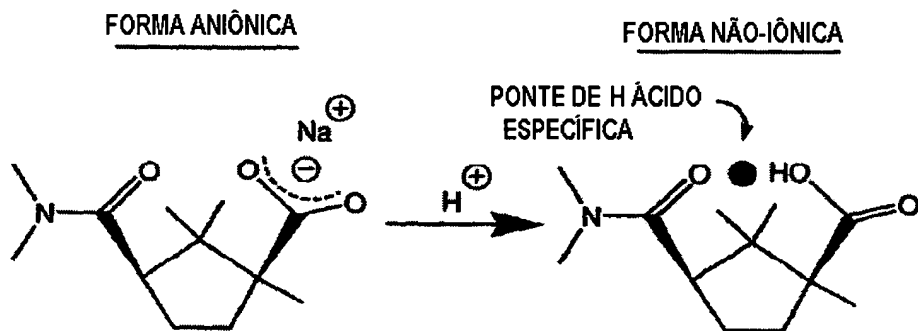


FIGURA 6. PONTE DE H ÁCIDO ESPECÍFICA

A) ESTRUTURA QUE FORMA PONTE DE H ÁCIDO ESPECÍFICA



B) ESTRUTURA QUE FORMA PONTES DE H NÃO ÁCIDO ESPECÍFICAS

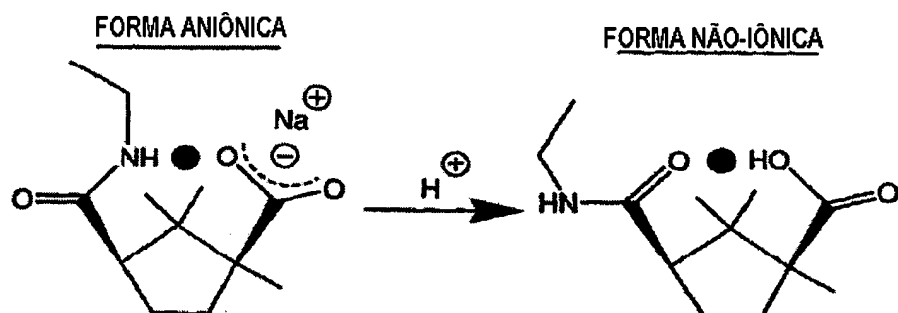
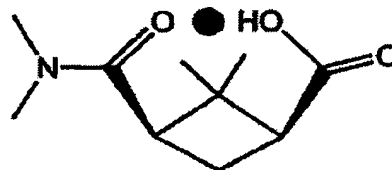


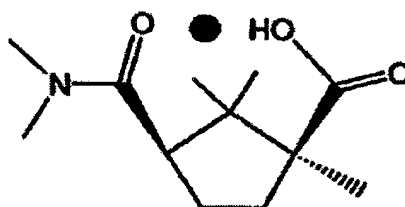
FIGURA 7. ESTRUTURAS DE ANEL REPRESENTATIVAS ADEQUADAS
PARA SELETORES DE pH AVANÇADOS

A)

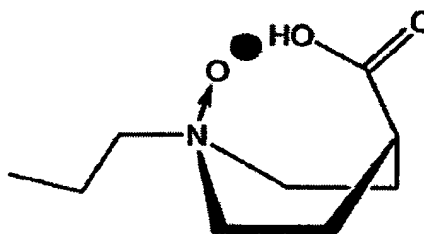
ANEL DE 4 ELEMENTOS



ANEL DE 5 ELEMENTOS



ANEL DE 6 ELEMENTOS



B)

ESTRUTURA INACEITÁVEL

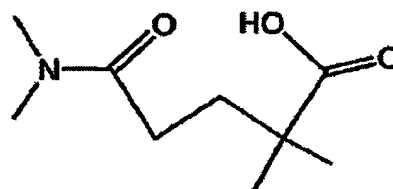
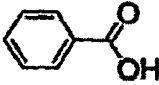
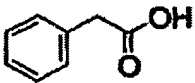
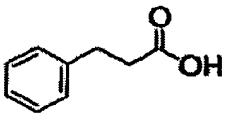
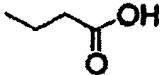


FIGURA 8. ISOLAMENTO DE CARBOXILA A PARTIR DE EFEITOS INDUTIVOS

A) AUMENTO DE ISOLAMENTO A PARTIR DE EFEITOS INDUTIVOS

ESTRUTURAS	NÚMERO DE CARBONOS DE CARBOXILA DE SEPARAÇÃO E ANEL FENILA	pKa
	0	4,20
	1	4,31
	2	4,66
	3	4,75
	SEM ANEL FENILA	4,87

B) ISOLAMENTO INADEQUADO DE CARBOXILA A PARTIR EFEITOS INDUTIVOS

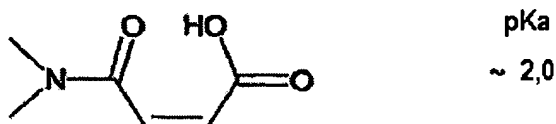


FIGURA 9. IMPEDIMENTO PARCIAL DE LOCAL DE PONTE DE H

A) LOCAL DE PONTE DE H ABERTO PARA SOLVENTE

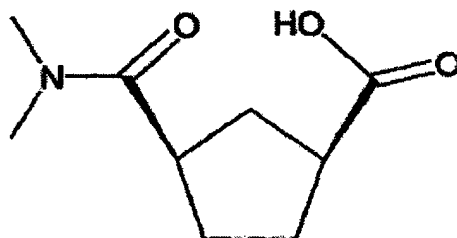
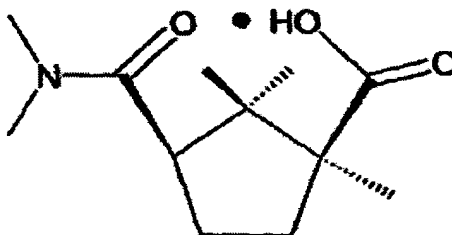
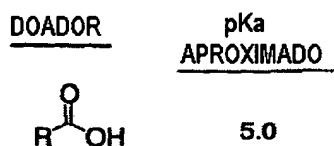
B) LOCAL DE PONTE DE H PARCIALMENTE IMPEDIDO
POR SOLVENTE

FIGURA 10. PONTES DE H DE BARREIRA BAIXA

A) DOADOR DE PONTE DE H



B) ACEITADORES DE PONTE DE H REPRESENTATIVA

<u>ACEITADOR</u>	<u>pKa</u> <u>APROXIMADO</u>	<u>ACEITADOR</u>	<u>pKa</u> <u>APROXIMADO</u>
	4,60		6,3
	4,75		4,6
	3,65		5,5
			5,0

C) SELETORES DE pH REPRESENTATIVOS PROJETADOS PARA FORMAR PONTES DE H DE BARREIRA BAIXA

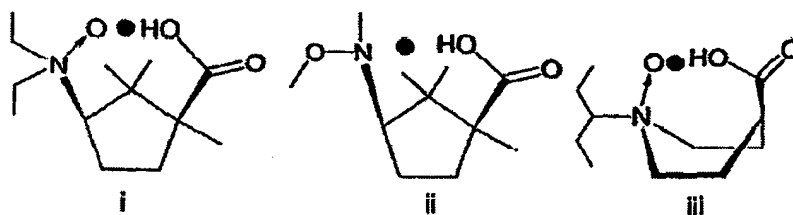
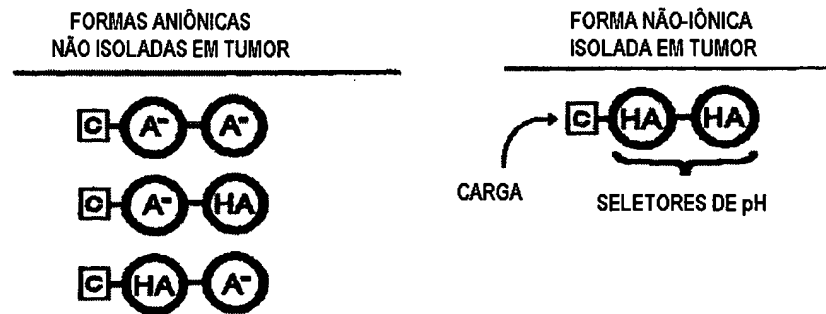


FIGURA 11. BASE ESTATÍSTICA PARA AUMENTO DE ESPECIFICIDADE DE INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS MULTISELETORES DE pH

A) INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS COM DOIS SELETORES DE pH



B) INSTRUMENTO ONCOLÓGICO COM TRÊS SELETORES DE pH

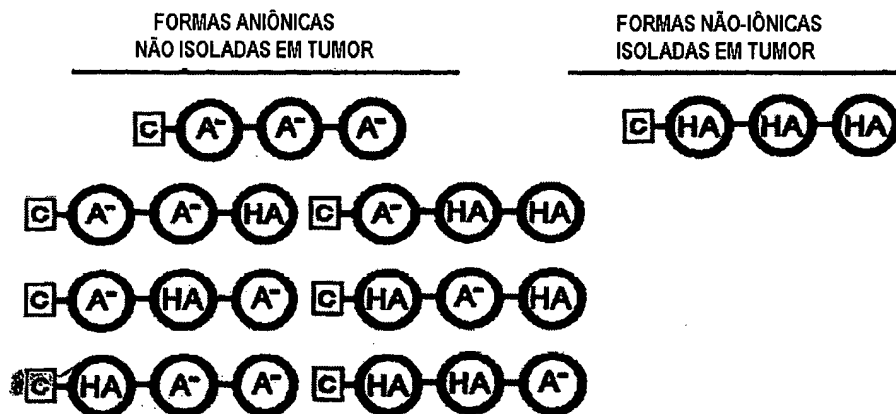


FIGURA 12. FATORES DE ESPECIFICIDADE E EFICÁCIA CALCULADOS

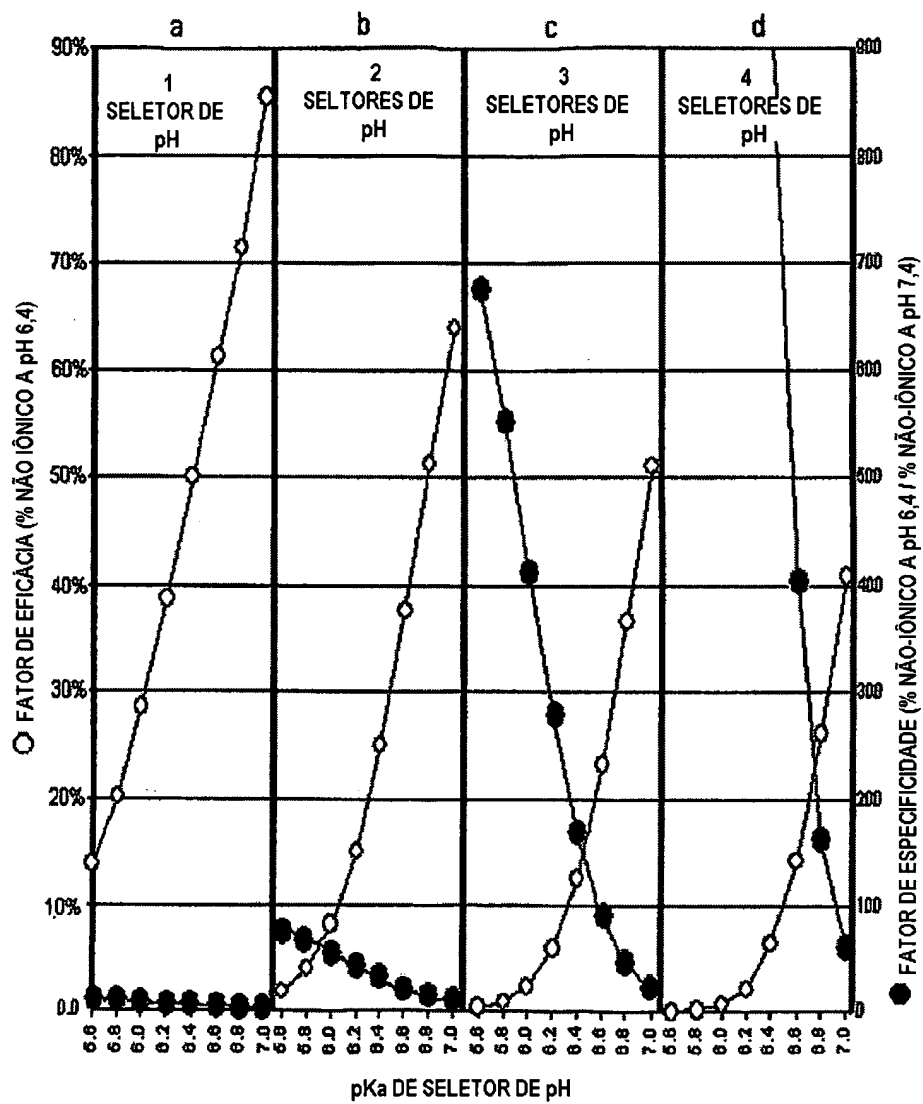


FIGURA 13. COMPOSIÇÃO CONTENDO 2 SELETORES DE pH

A) ESTRUTURA

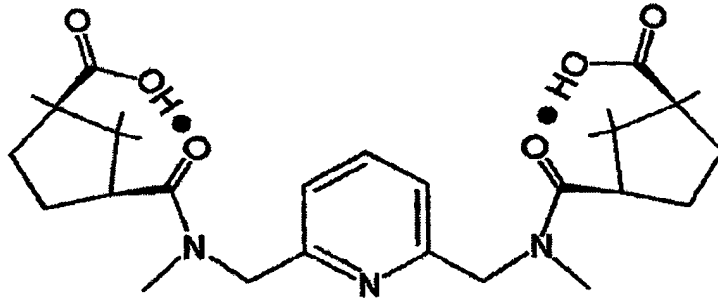
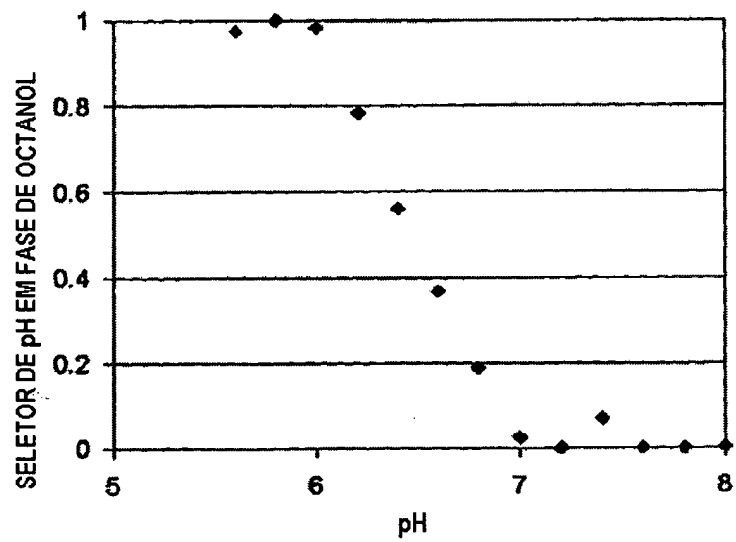
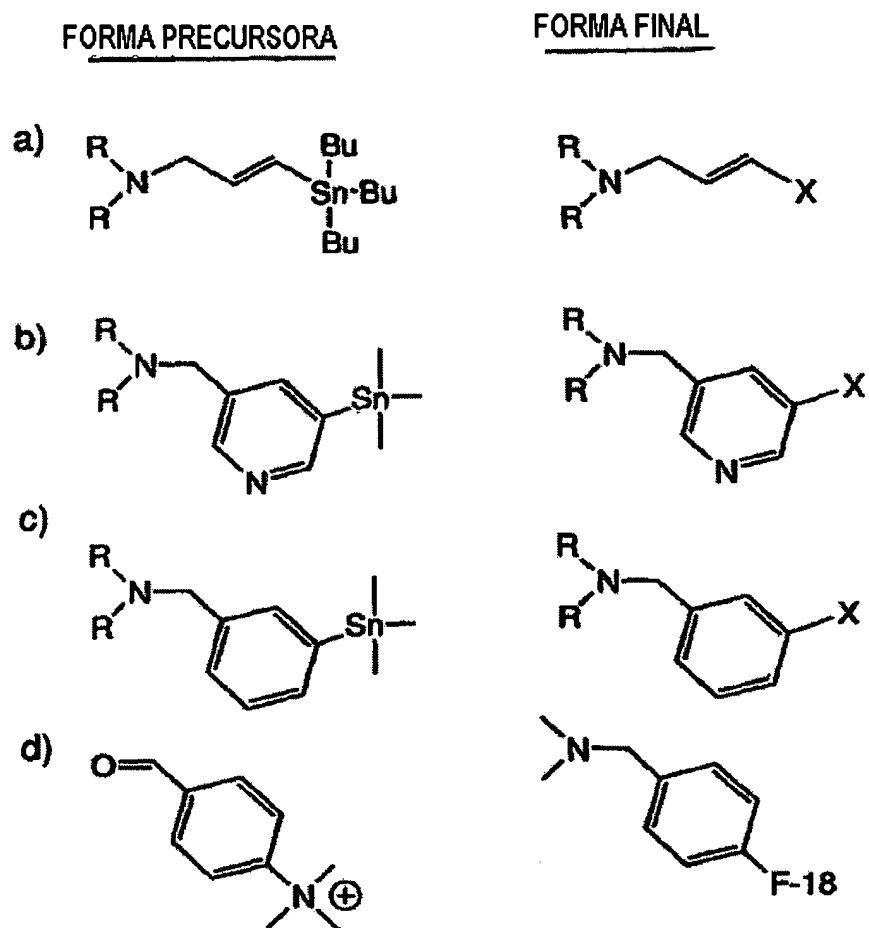
B) DIVISÃO *n*-OCTANOL / TAMPÃO

FIGURA 14. COMPONENTES DE CARGA REPRESENTATIVOS



X = Br, I, OU At RADIOHALO'GÊNIO

FIGURA 15. ROTAS SINTÉTICAS PARA COMPONENTES DE CARGA REPRESENTATIVOS

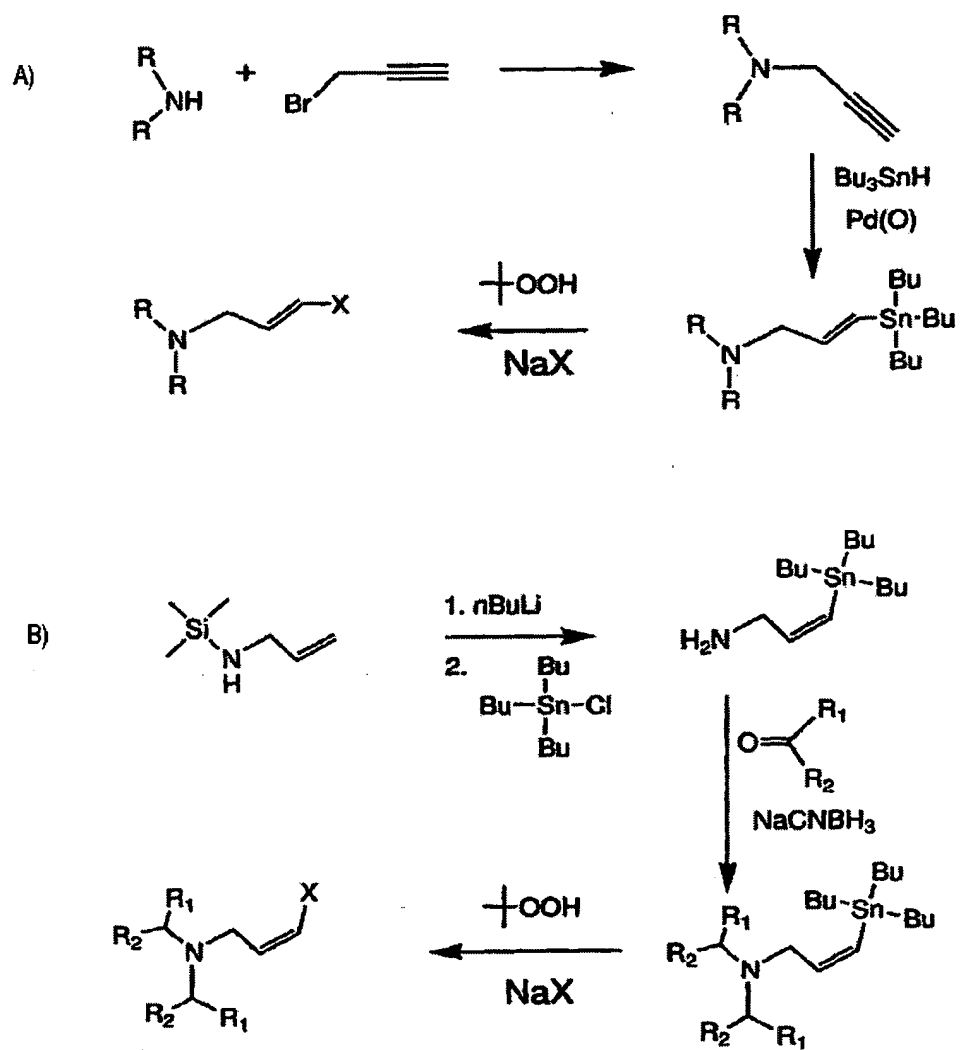
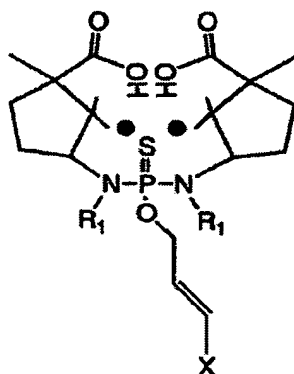


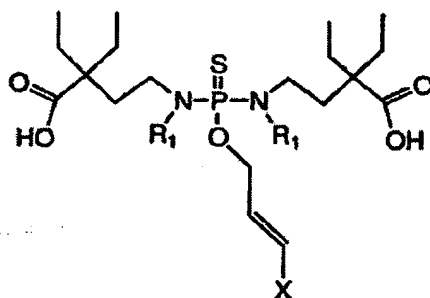
FIGURA 16. INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS DE DOIS SELETORES DE pH REPRESENTATIVOS

16a. CONTENDO SELETORES DE pH SIMPLES

1.



2.

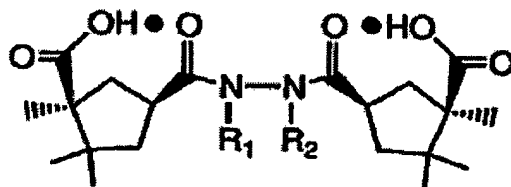


R_1 = ALCANO PARA AJUSTE DE SUBSTÂNCIAS LIPOFÍLICAS

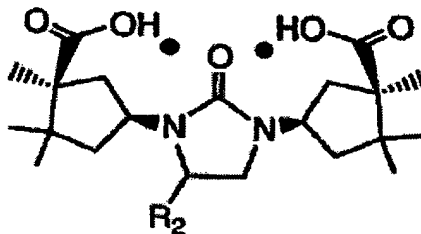
X = RADIOHALOGENÍO SELECIONADO A PARTIR DE F, Br, I E At

16.B. CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS

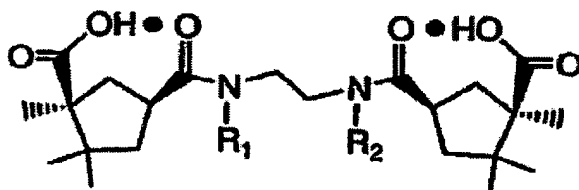
1.



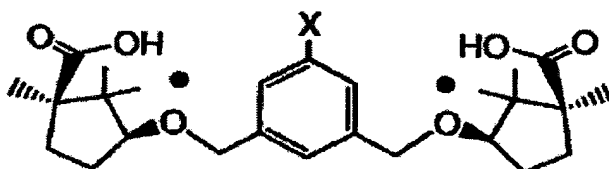
2.



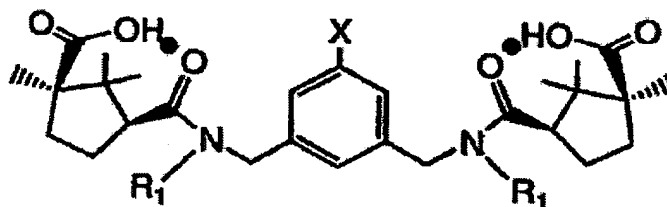
3.



4.



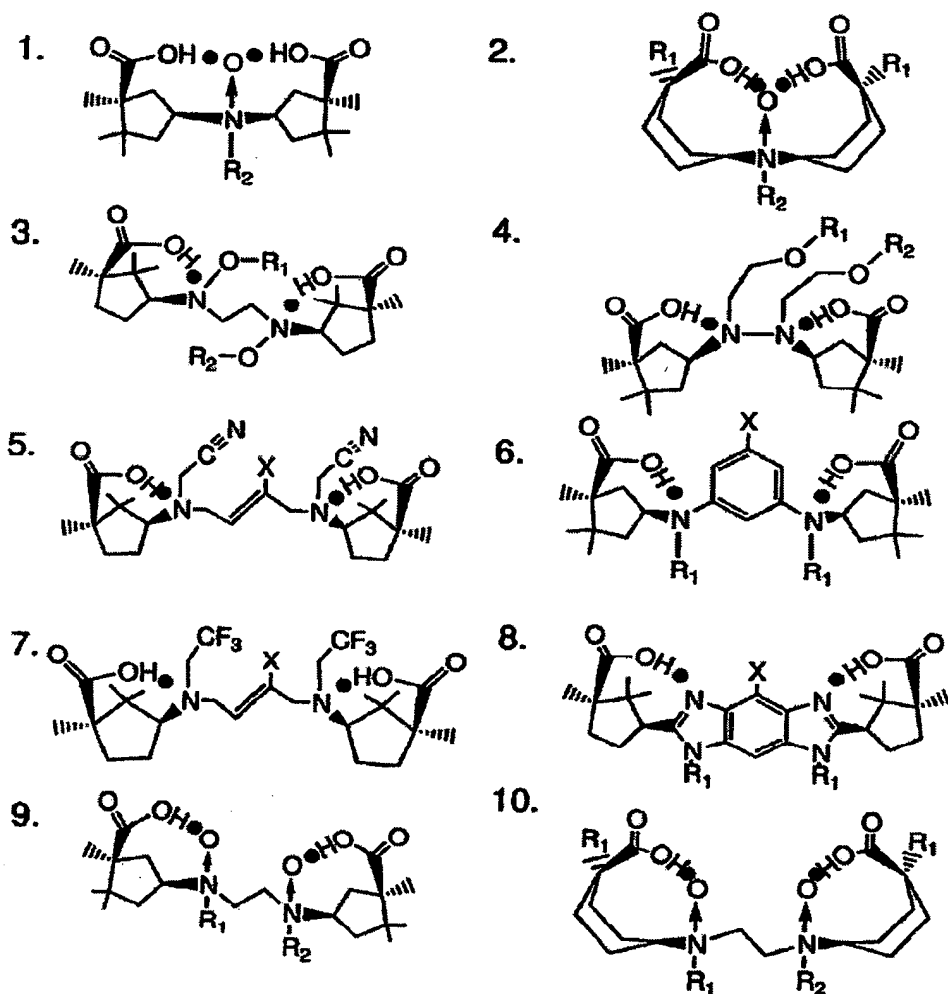
5.



R_1 = ALCANO PARA AJUSTE DE SUBSTÂNCIAS LIPOFÍLICAS
 R_2 = COMPONENTE DE CARGA CONTENDO RADIOHALOGÊNIO
 (FIG. 4)

X = RADIOHALOGÊNIO SELECIONADO A PARTIR DE F, Br, I E At

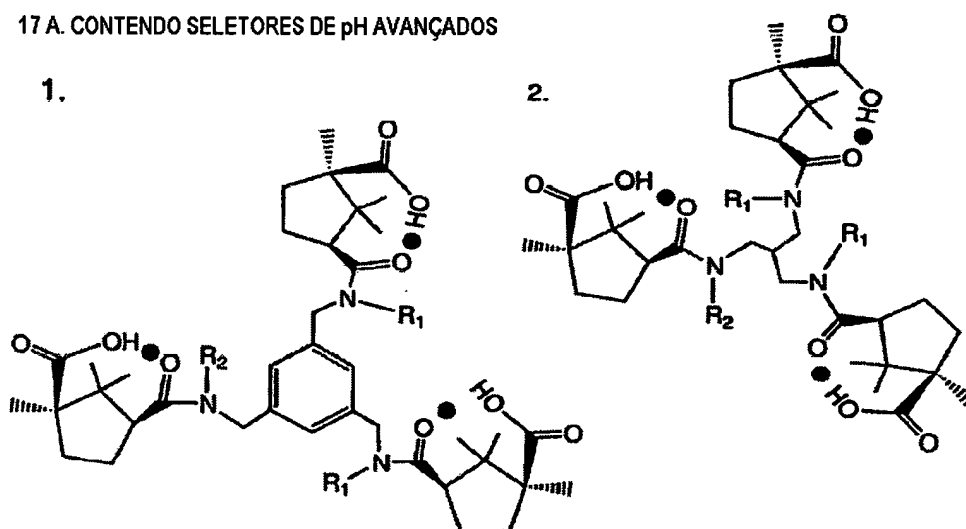
16C. CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS PROJETADOS PARA FORMAR PONTES DE H DE BARREIRA BAIXA



R₁ = ALCANO PARA AJUSTE DE SUBSTÂNCIAS LIPOFÍLICAS
R₂ = COMPONENTE DE CARGA CONTENDO RADIOHALOGENÍO
(FIG. 14)
X = RADIOHALOGENÍO SELECIONADO A PARTIR DE F, Br, I E At

FIGURA 17. INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS DE TRÊS SELETORES DE pH REPRESENTATIVOS

17 A. CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS



17B. CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS PROJETADOS PARA FORMAR PONTES DE H DE BARREIRA BAIXA

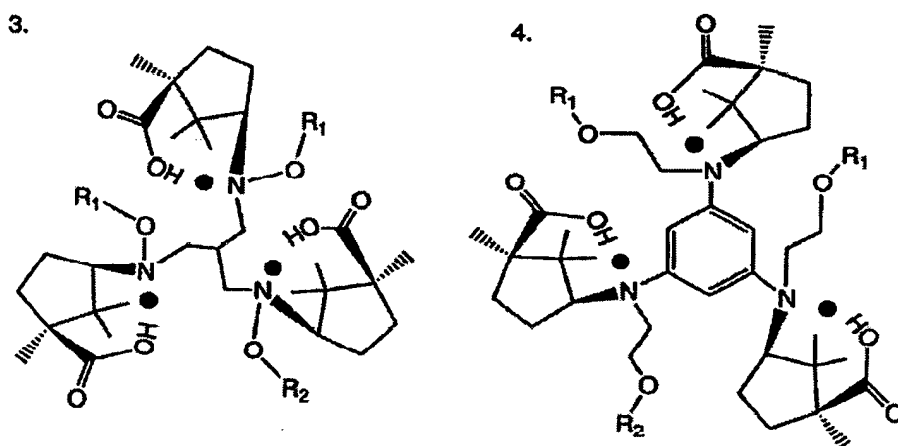


FIGURA 18. INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS DE QUATRO SELETORES DE pH REPRESENTATIVOS

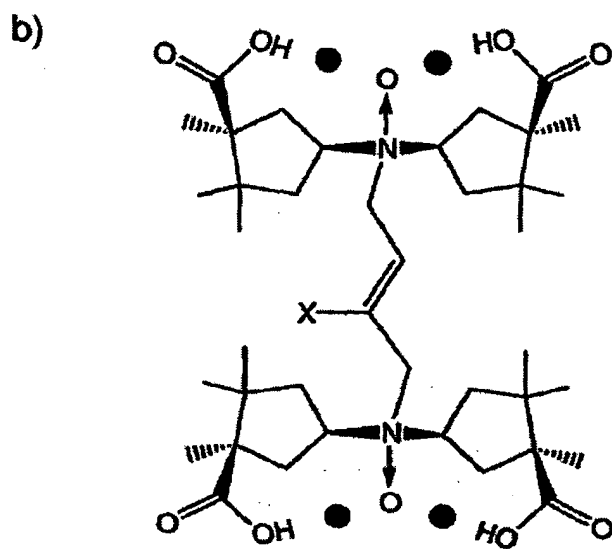
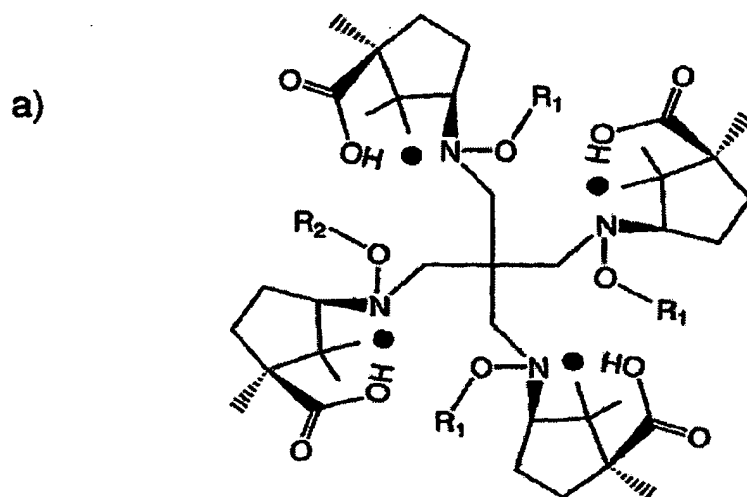


FIGURA 19. SÍNTESE DE INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS CONTENDO SELETORES DE pH SIMPLES

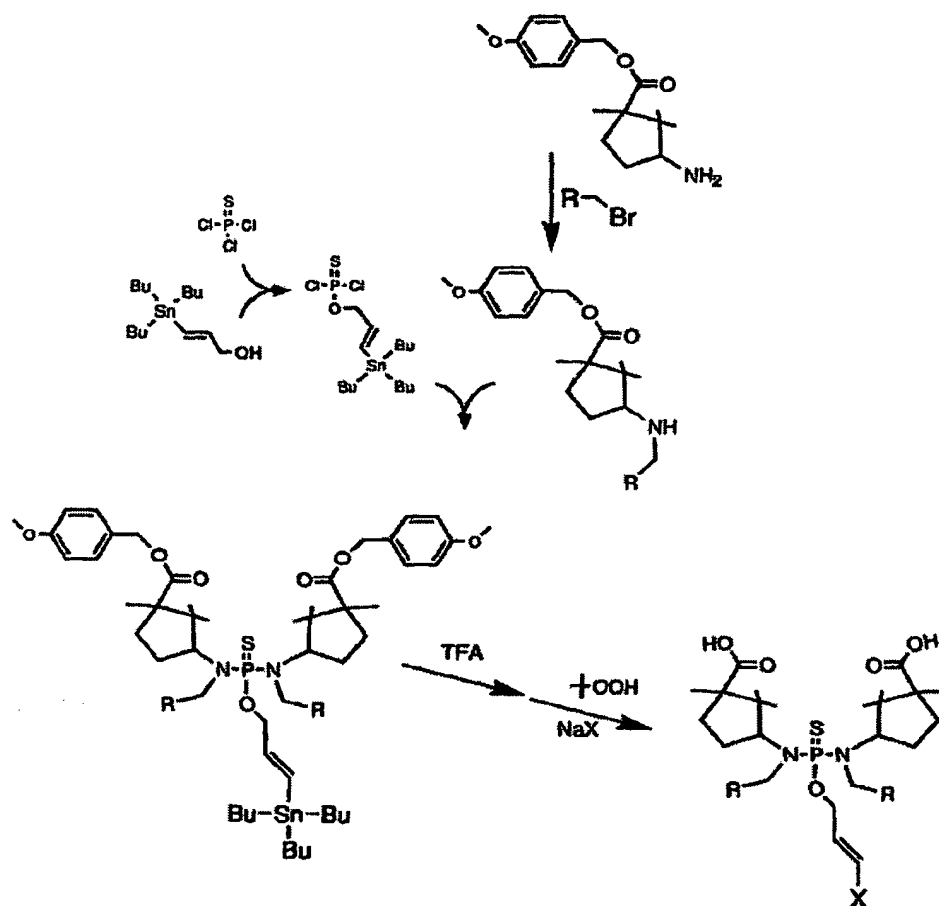
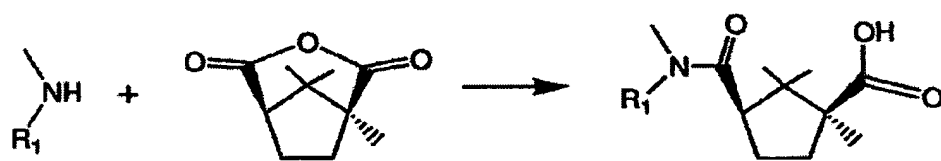


FIGURA 20. ESQUEMA SINTÉTICO DE SELETORES DE pH AVANÇADOS



R_1 = METILA, ETILA, PROPILA, BUTILA

FIGURA 21. INTERMEDIÁRIOS ÚTEIS PARA SÍNTESES DE INSTRUMENTO ONCOLÓGICO

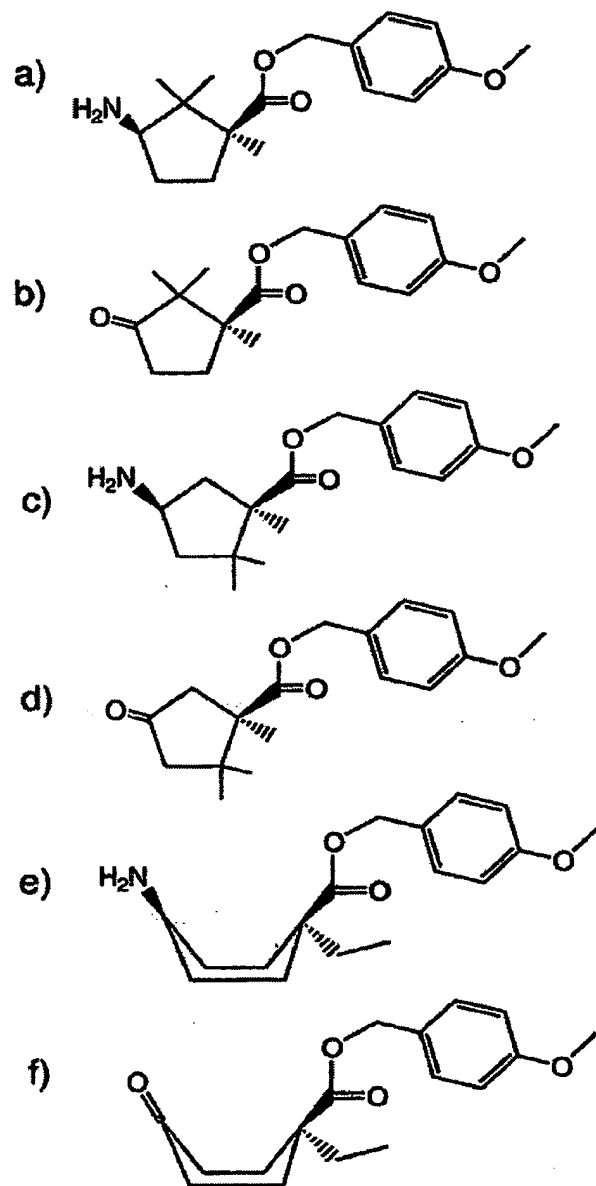


FIGURA 22. SÍNTESIS REPRESENTATIVAS DE SELETORES DE pH

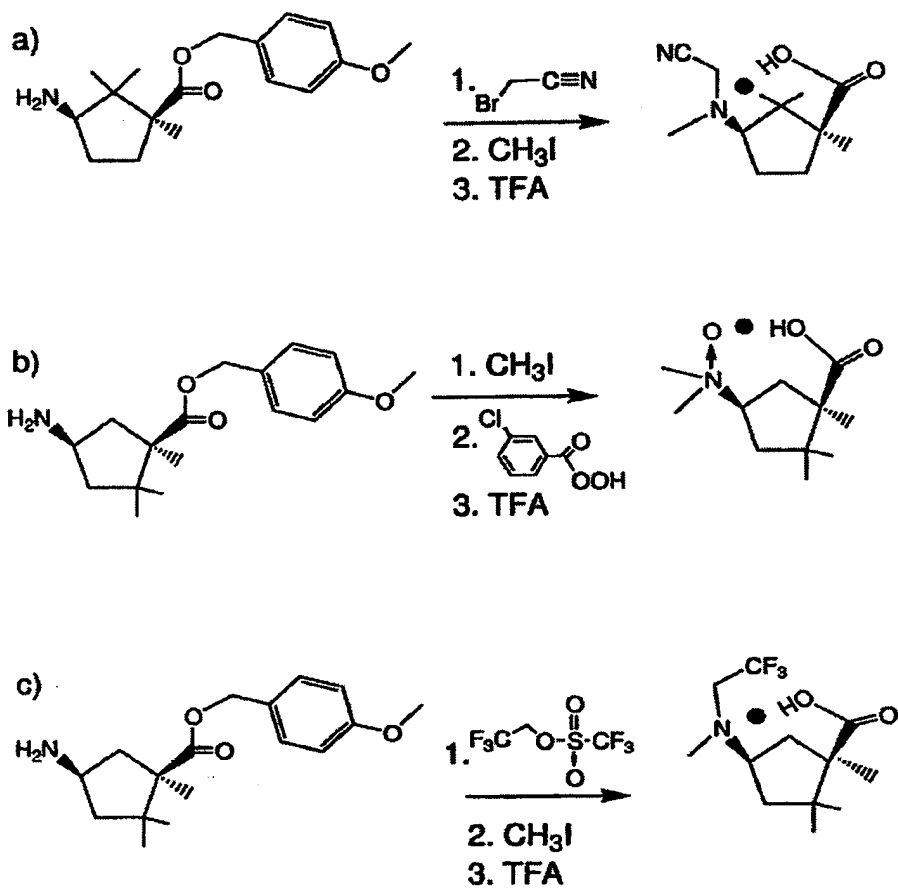
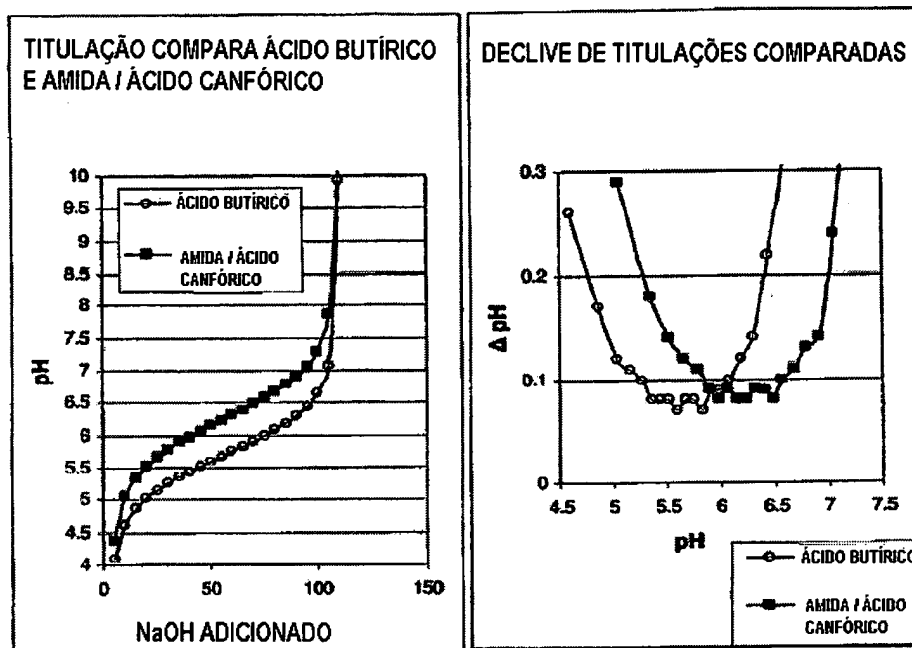
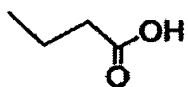


FIGURA 23. RESULTADOS DE TITULAÇÃO

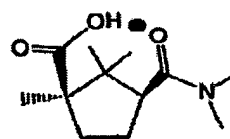
A) ÁCIDO CARBOXÍLICO SIMPLES E SELETOR DE pH AVANÇADO



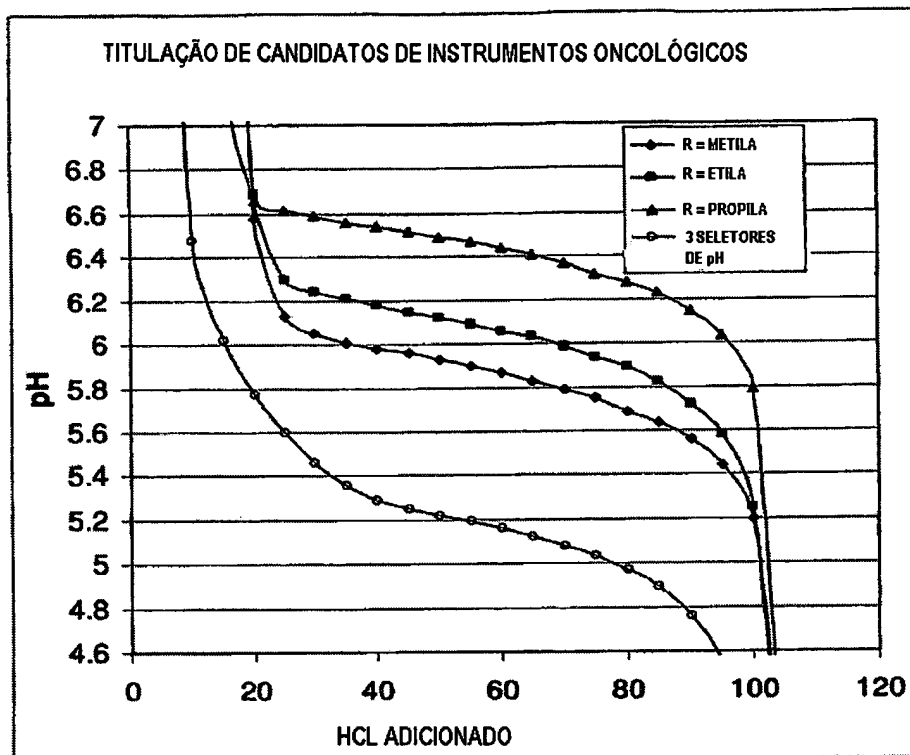
ÁCIDO BUTÍRICO



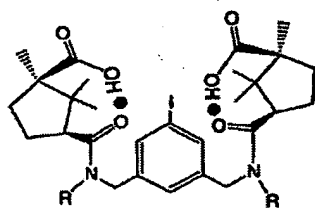
AMIDA / ÁCIDO CANFÓRICO



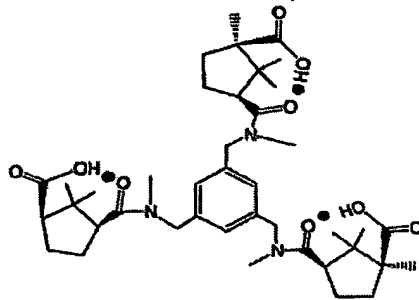
B) ESTRUTURAS DE 2 SELETORES DE pH E 3 SELETORES DE pH



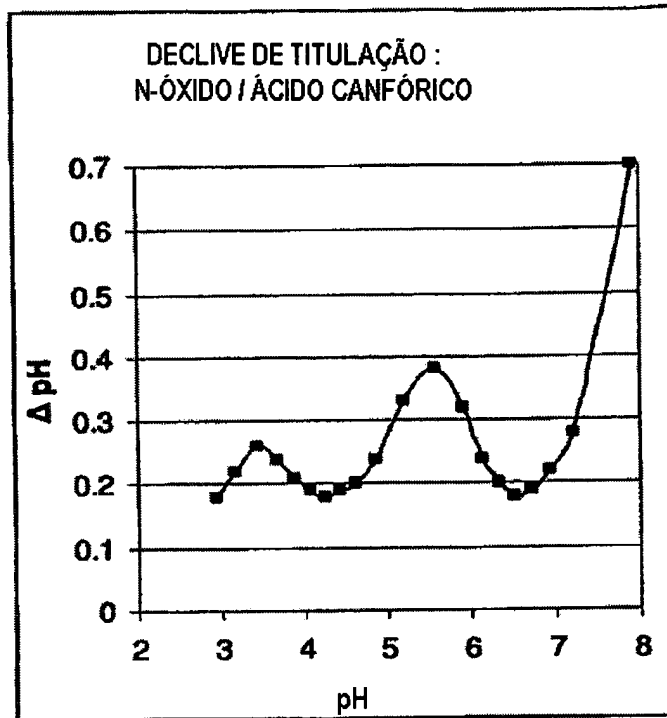
2 SELETORES DE pH



3 SELETORES DE pH



C) SELETOR DE pH AVANÇADO PROJETADO PARA FORMAR PONTE DE H DE BARREIRA BAIXA



N-ÓXIDO / ÁCIDO CANFÓRICO

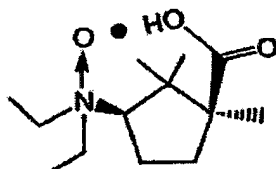


FIGURA 24. VALORES pKa DETERMINADOS EXPERIMENTALMENTE

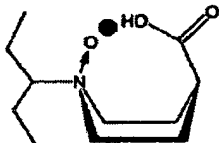
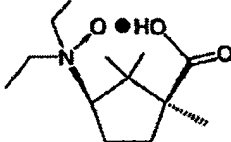
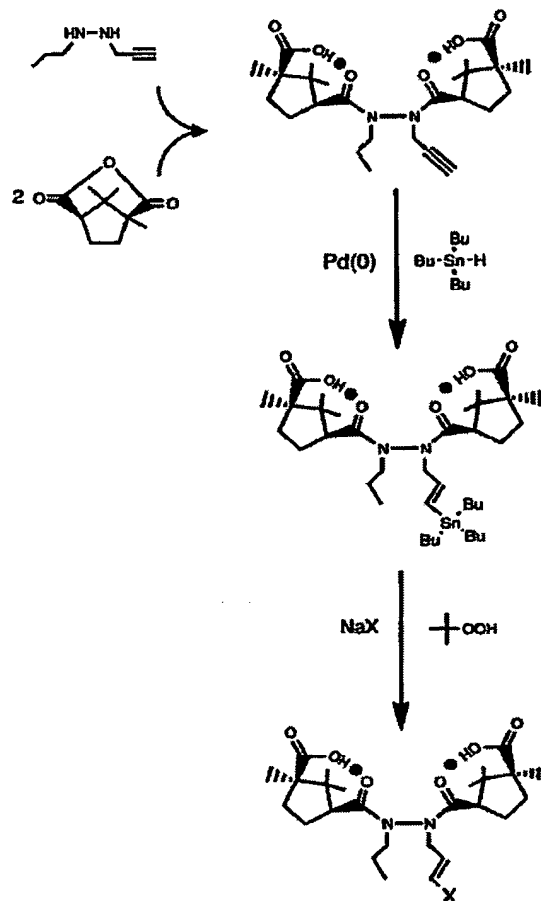
ESTRUTURA DE SELETOR DE pH	TIPO DE SELETOR DE pH	AUMENTO EM pKa RELATIVO A ÁCIDO PROPIONICO	SOLVENTE PARA TITULAÇÃO
	AVANÇADO	0,5 pH UNIDADE	METANOL : H ₂ O 1:1
		0,0 pH UNIDADE	H ₂ O
	BARREIRA BAIXA AVANÇADA	1,0 pH UNIDADE	H ₂ O
	BARREIRA BAIXA AVANÇADA	1,5 pH UNIDADE	H ₂ O

FIGURA 25. ESQUEMAS SINTÉTICOS PARA INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS REPRESENTATIVOS CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS

a)



b)

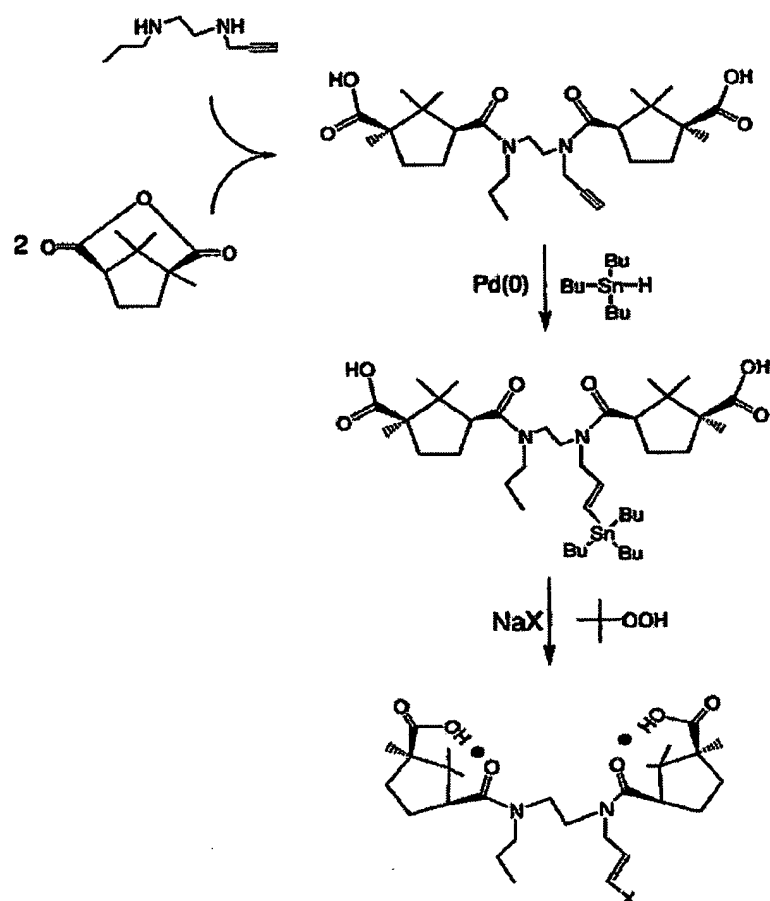
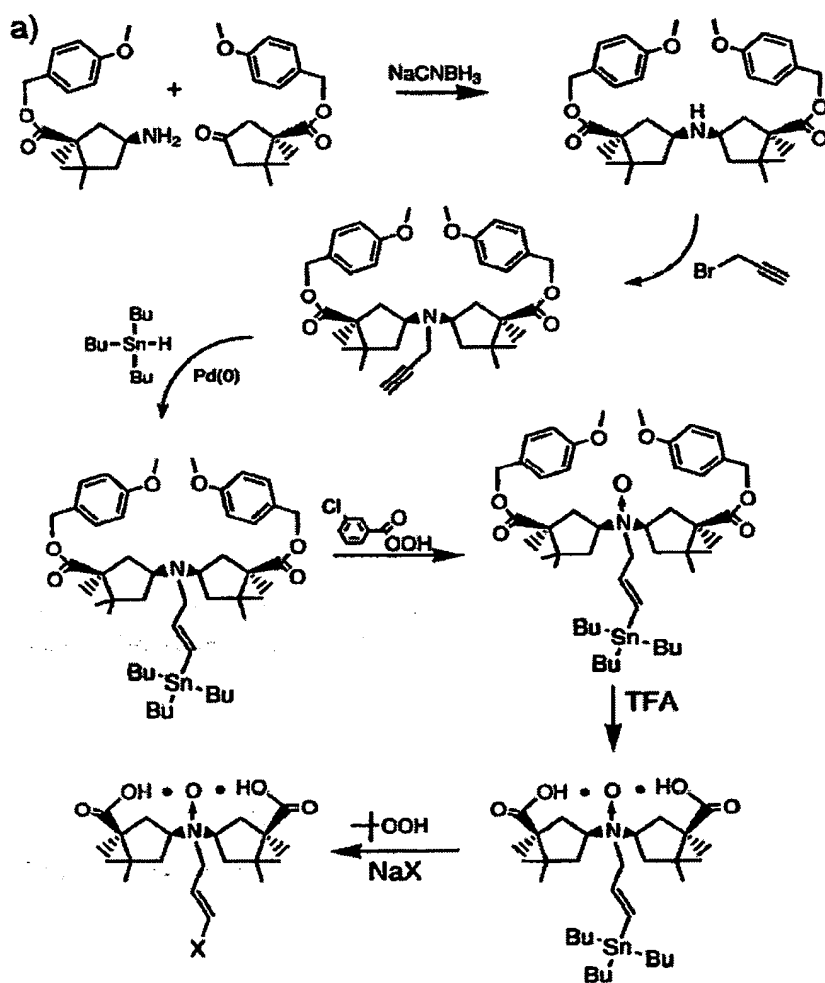
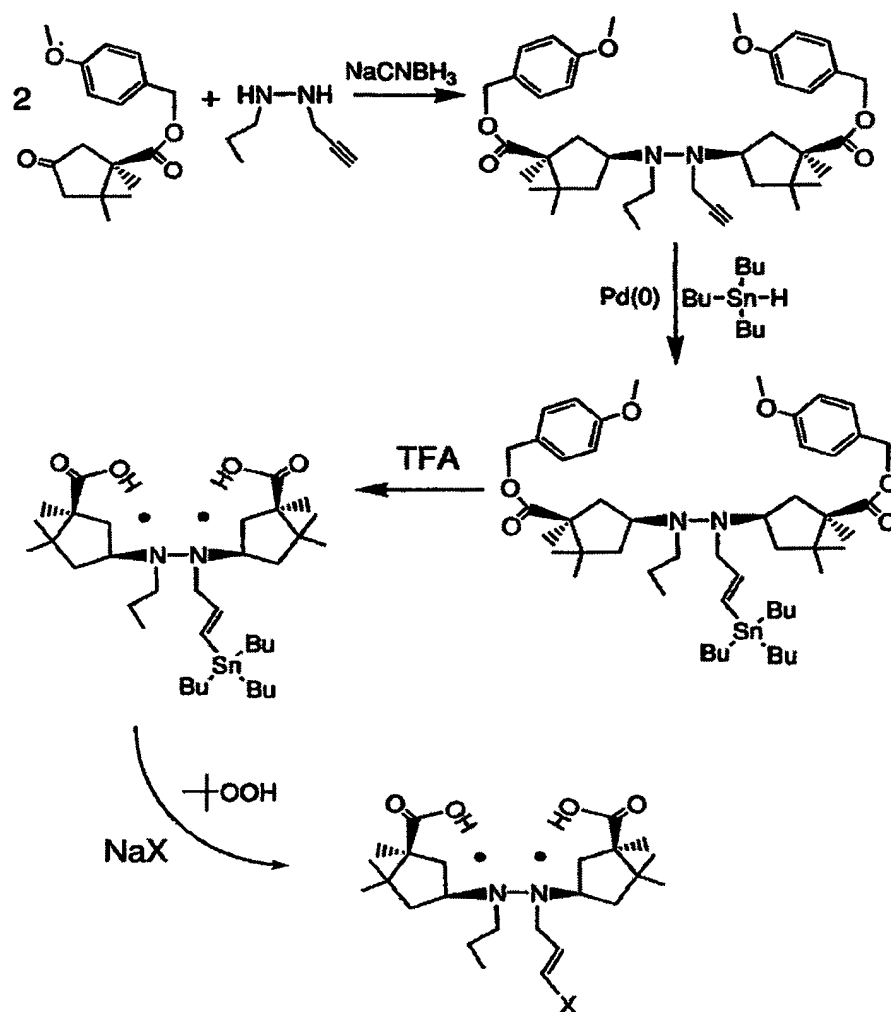
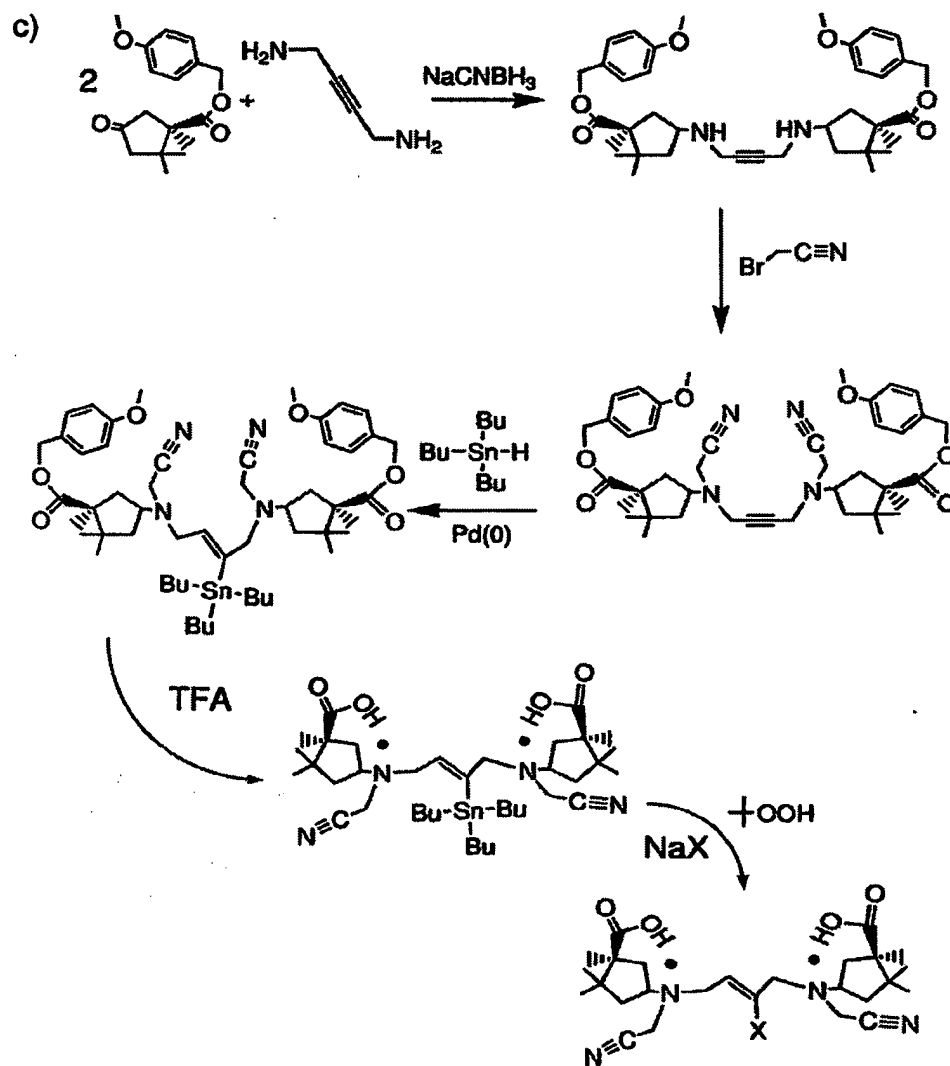


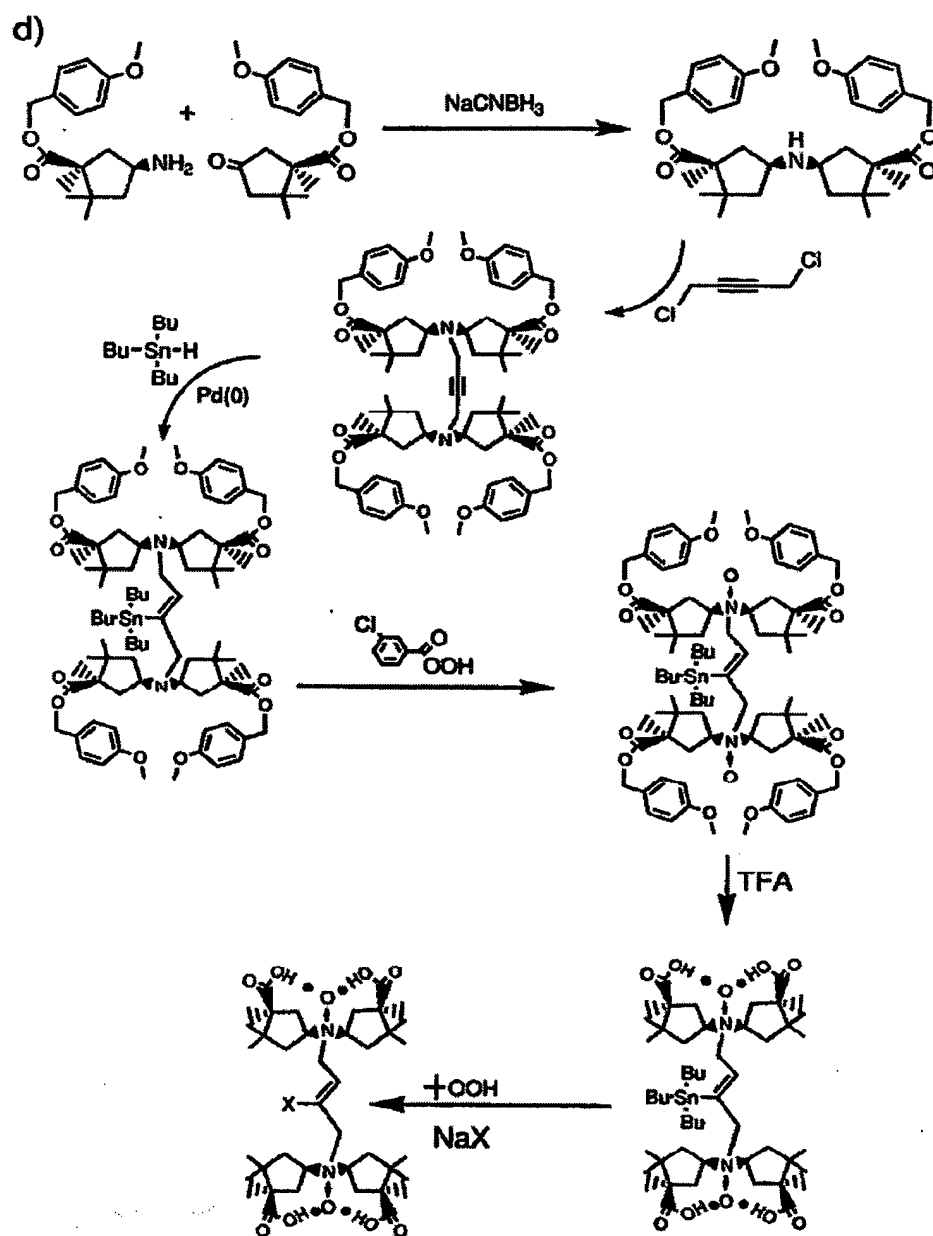
FIGURA 26. ESQUEMAS SINTÉTICOS PARA INSTRUMENTOS ONCOLÓGICOS REPRESENTATIVOS CONTENDO SELETORES DE pH AVANÇADOS PROJETADOS PARA FORMAR UMA PONTE DE H DE BARREIRA BAIXA



b)







ESTRUTURA PRECURSORA, COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA DETECTAR E
TRATAR ÁREAS ÁCIDAS EM UM INDIVÍDUO

RESUMO

Uma das muitas características universais do
5 tumor maligno é sua acidez. Os instrumentos oncológicos são
pequenas moléculas sintéticas de não peptídios designados
para explorar a acidez na detecção precoce e destruição de
um tumor. Cada instrumento oncológico tem uma estrutura que
é aniônica e hidrofílica em pH 7,4 e desse modo repele
10 superfícies provenientes de carga negativa de células em
tecidos normais. Quando um instrumento oncológico associa-
se a um ambiente ácido, tal como um tumor, uma fração das
moléculas dos instrumentos oncológicos muda para sua forma
lipofílica não iônica que é designada para associar-se a
15 células, tal como células em áreas ácidas de um tumor.
Previamente ao uso de um instrumento oncológico, uma
seleção de isótopo radioativo é ligado ao instrumento
oncológico. Se o isótopo radioativo emitir radiação que
podê ser detectada externamente ao corpo, então o
20 instrumento oncológico pode servir para detectar tumores.
Se o isótopo radioativo emitir radiação eficaz para
destruir células, então o instrumento oncológico pode servir
para tratar tumores.

NOVO QUADRO REIVINDICATÓRIO ALTERADO VOLUNTARIAMENTE

REIVINDICAÇÕES

1. Estrutura precursora que pode ser prontamente convertida para uma composição que está isolada preferencialmente em áreas ácidas, a qual pode estar em tumores em um indivíduo vivo, **caracterizada** pelo fato de que a composição (i) possui a propriedade de ocorrer amplamente em uma forma solúvel em água negativamente carregada em solução aquosa a pH 7,4, porém em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas da composição transfere-se para uma forma não iônica eficaz para inserir uma fase lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular, e (ii) inclui um componente de carga o qual pode relatar essa presença por emissão de um fóton, um raio gama (fóton de energia elevada), ou um pósitron, e/ou que possa causar dano para células na área onde este está isolado,

em que o aprimoramento compreende:

uma estrutura precursora aprimorada que por adição de um radiohalogênio pode ser convertida para uma composição aprimorada que é isolada preferencialmente com especificidade aprimorada em áreas ácidas,

a qual contém

(a) pelo menos duas porções de ácidos;

(b) pelo menos uma das porções de ácidos está incorporada em um componente de ponte de H realizável internamente que possui as características

i) a porção de ácido é uma porção de ácido carboxílico diretamente interligada a uma estrutura de anel,

ii) a estrutura de anel é não aromática e é selecionada a partir de um grupo que consiste em um anel com 4 elementos, um anel com 5 elementos, e um anel com 6 elementos,

5 iii) também unido à estrutura de anel está uma porção aceitadora de ponte de H que possui um pKa menor que 7 e o qual em sua forma não iônica possui uma estrutura que não pode servir como uma porção doadora de ponte de H e onde o átomo que serve como o aceitador na ponte de H é
10 selecionado a partir de um grupo que consiste em estar diretamente ligado à estrutura de anel, e ligado através de um átomo à estrutura de anel,

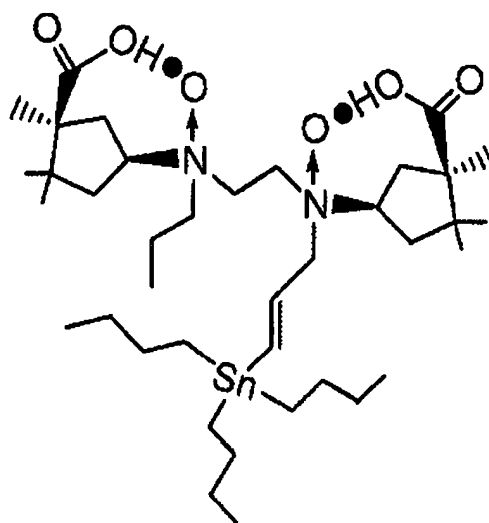
em que a porção de ácido carboxílico e a porção aceitadora de ponte de H estão posicionadas e
15 orientadas de tal modo que estas sejam compatíveis com a formação de uma ponte de H interna; e,

(c) pelo menos um componente de carga em uma forma precursora o qual é eficaz para prontamente e estavelmente ligar um radiohalogênio;

20 E o qual carece de

(d) uma porção sulfonamida ($R_1SO_2NR_2R_3$).

2. Estrutura precursora aprimorada, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que o melhor modo de estrutura é:



3. Composição que está isolada preferencialmente em áreas ácidas, a qual pode estar em tumores em um indivíduo vivo, **caracterizada** pelo fato de que a composição
- 5 (i) possui a singularidade de ocorrer amplamente em uma forma solúvel negativamente carregada em água em solução aquosa a pH 7,4, porém em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas da composição transfere-se para uma forma não iônica eficaz para inserir uma fase
- 10 lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular, e (ii) incluindo um componente de carga o qual pode relatar essa presença por emissão de um fóton, um raio gama (fóton de energia elevada), ou um pósitron, e/ou que possa causar dano para células na área onde este está isolado,
- 15 em que o aprimoramento compreende:
- uma composição aprimorada que é isolada preferencialmente com especificidade aprimorada em áreas ácidas, a qual contém
- (a) pelo menos duas porções de ácidos;

(b) pelo menos uma das porções de ácidos está incorporada a um componente de ponte de H internamente realizável que possui as características

5 i) a porção de ácido é uma porção de ácido carboxílico diretamente ligada a uma estrutura de anel,

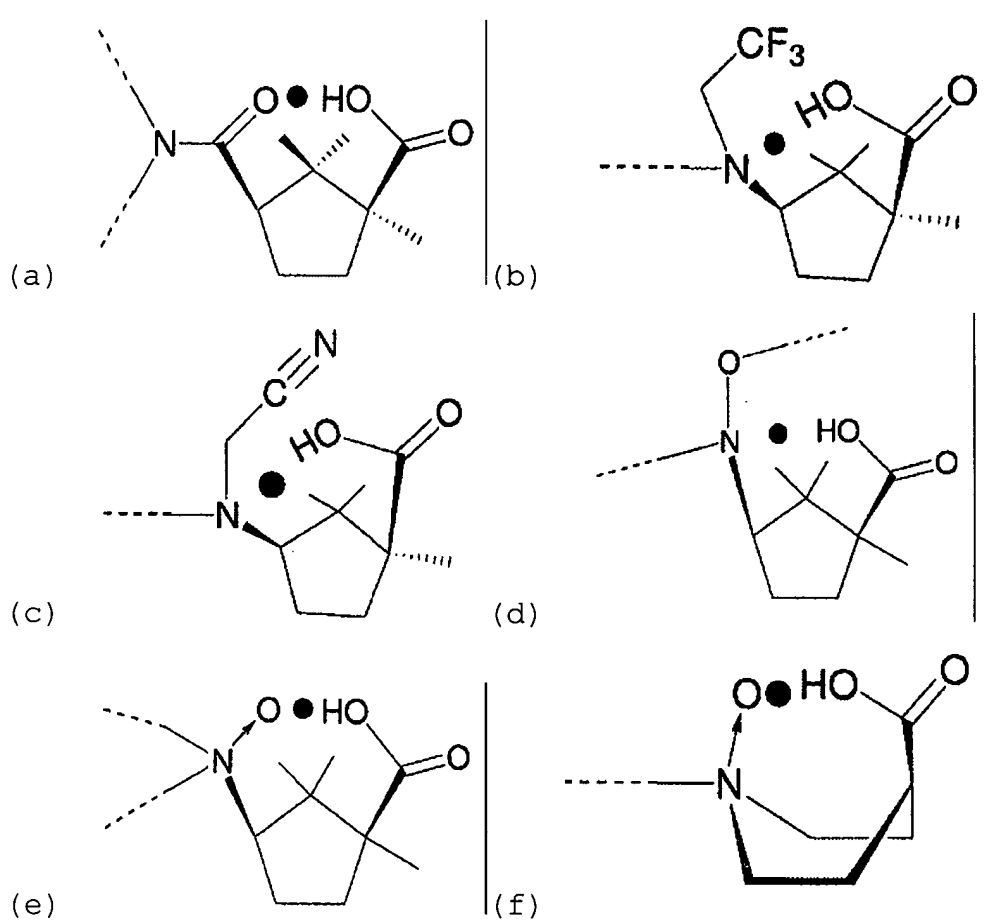
ii) a estrutura de anel é não aromática e é selecionada a partir de um grupo que consiste em um anel com 4 elementos, um anel com 5 elementos, e um anel com 6 elementos,

10 iii) também unido à estrutura de anel está uma porção aceitadora de ponte de H a qual possui um pKa menor que 7 e o qual em sua forma não iônica possui uma estrutura que não pode servir como uma porção doadora de ponte de H e onde o átomo que serve como o aceitador na
15 ponte de H é selecionado a partir de um grupo que consiste em estar diretamente ligado à estrutura de anel, e ligado através de um átomo à estrutura de anel,

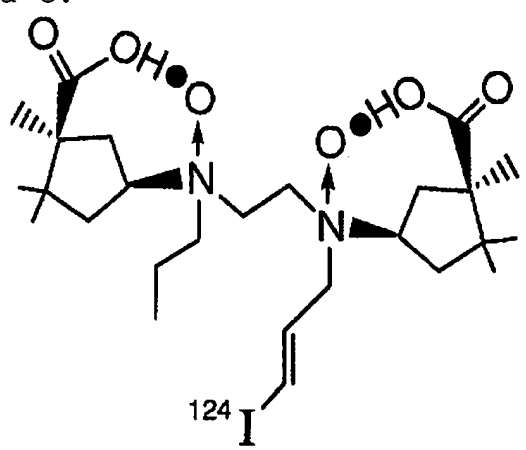
em que a porção de ácido carboxílico e a porção aceitadora de ponte de H são posicionadas e orientadas de
20 tal modo que tais estejam compatíveis com a formação de uma ligação de H interna; e,

(c) pelo menos um componente de carga que contenha um radiohalogênio.

4. Composição aprimorada, de acordo com a
25 reivindicação 3, **caracterizada** pelo fato de que pelo menos um componente de ponte de H realizável internamente tenha uma estrutura selecionada proveniente do grupo que consiste em:



5. Composição aprimorada, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizada** pelo fato de que o melhor modo de estrutura é:



6. Composição para detectar a presença de áreas ácidas, a qual pode estar em tumores em um indivíduo vivo, **caracterizada** pelo fato de que a composição (i) possui a

singularidade de ocorrer amplamente em uma forma solúvel em água negativamente carregada em solução aquosa a pH 7,4, porém em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas da composição transfere-se para
5 uma forma não iônica eficaz para inserir uma fase lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular em um tecido biológico, e (ii) inclui um componente de carga o qual pode relatar essa presença por emissão de um fóton, um raio gama (fóton de energia elevada), ou pósitron a partir
10 da área onde este está isolado,

em que o aprimoramento compreende:

uma composição aprimorada para detectar com especificidade aprimorada a presença de áreas ácidas, a qual contém

15 (a) pelo menos duas porções de ácidos;

(b) pelo menos uma das porções de ácidos está incorporada a um componente de ponte de H realizável internamente que possui as características

20 i) a porção de ácido é uma porção de ácido carboxílico diretamente ligada a uma estrutura de anel,

25 ii) a estrutura de anel é não aromática e é selecionada a partir do grupo que consiste em um anel com 4 elementos, um anel com 5 elementos, e um anel com 6 elementos,

iii) também unido à estrutura de anel está uma porção aceitadora de ponte de H que possui um pKa menor que 7 e o qual em sua forma não iônica possui uma estrutura que não pode servir como uma porção doador de

ponte de H e onde o átomo que serve como o aceitador na ponte de H é selecionado a partir de um grupo que consiste em estar diretamente ligado à estrutura de anel, e interligado através de um átomo à estrutura de anel,

5 em que a porção de ácido carboxílico e a porção aceitadora de ponte de H são posicionadas e orientadas de tal modo que estas sejam compatíveis com a formação de uma ponte de H interna; e,

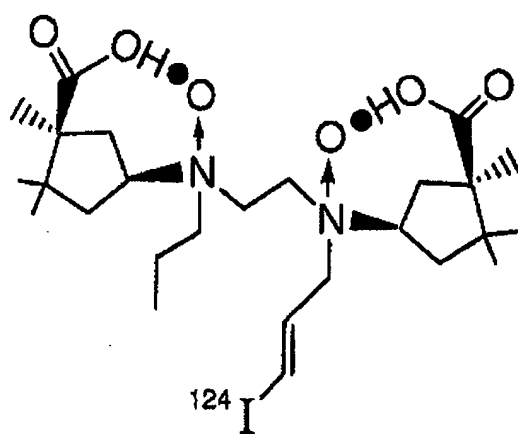
(c) pelo menos um componente de carga o qual
10 contenha um radiohalogênio que emita radiação de um tipo selecionado proveniente de um grupo que consiste em:

i) um raio gama,

ii) um pósitron, e

iii) um pósitron e um raio gama.

15 7. Composição aprimorada, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada** pelo fato de que o melhor modo de estrutura é:



8. Método para detectar áreas ácidas em um
20 indivíduo, **caracterizado** pelo fato de as áreas ácidas poderem estar em tumores, por

(a) prover uma composição a qual

(i) possui a característica de ocorrer amplamente em uma forma solúvel em água negativamente carregada em solução aquosa a pH 7,4, porém em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas de
5 composição transfere-se para uma forma não iônica eficaz para inserir uma fase lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular em um tecido biológico, e

(ii) inclui um componente de carga o qual pode relatar essa presença por emissão de um fóton, um raio gama
10 (fóton de energia elevada), ou um pósitron a partir da área onde este é isolado,

(b) introduzir a composição provida dentro do indivíduo,

(c) aguardar por um período de tempo na faixa de
15 10 minutos a 48 horas, e

(d) avaliar o indivíduo com equipamento eficaz para detectar a emissão proveniente de um componente de carga da composição provida,

em que o aprimoramento compreende:

20 um método aprimorado para detecção com especificidade aprimorada de áreas ácidas em um indivíduo, onde a composição provida é a composição de acordo com a reivindicação 6, e o indivíduo é avaliado com equipamento eficaz para detectar raios gama.

25 9. Composição para tratar áreas ácidas, a qual pode estar em tumores em um indivíduo vivo, **caracterizada** pelo fato de que a composição (i) possui a singularidade de ocorrer amplamente em uma forma solúvel em água negativamente carregada em solução aquosa a pH 7,4, porém

em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas de composição transfere-se para uma forma não iônica eficaz para inserir uma fase lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular em um tecido biológico, e (ii) inclui um componente de carga o qual pode causar dano para células na área onde este é isolado,

em que o aprimoramento compreende:

uma composição aprimorada para tratar com especificidade aprimorada áreas ácidas, a qual contém

10 (a) pelo menos duas porções de ácidos;

(b) pelo menos um das porções de ácidos está incorporada a um componente de ponte de H realizável internamente que possui as características

i) a porção de ácido é uma porção de
15 ácido carboxílico diretamente ligada a uma estrutura de anel,

ii) a estrutura de anel é não aromática e é selecionada a partir de um grupo que consiste em um anel com 4 elementos, um anel com 5 elementos, e um anel
20 com 6 elementos,

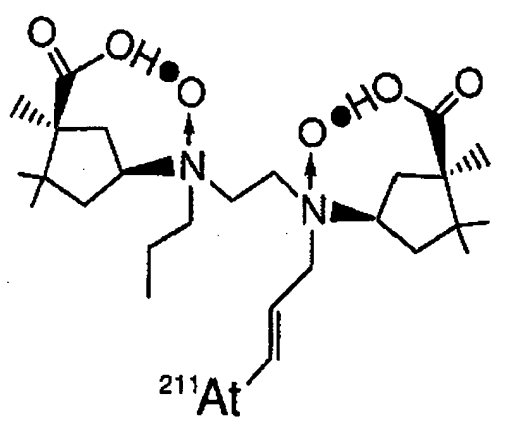
iii) também unido à estrutura de anel está uma porção aceitadora de ponte de H que possui um pKa menor do que 7 e o qual em sua forma não iônica possui uma estrutura que não pode servir como uma porção doadora de
25 ponte de H e onde o átomo que serve como o aceitador na ponte de H é selecionado a partir de um grupo que consiste em estar diretamente ligado à estrutura de anel, e ligado através de um átomo à estrutura de anel,

em que a porção de ácido carboxílico e uma porção aceitadora de ponte de H são posicionadas e orientadas de tal modo que estas sejam compatíveis com a formação de uma ligação de H interna; e,

- 5 (c) pelo menos um componente de carga contenha um radiohalogênio que emita radiação de um tipo selecionado proveniente de um grupo que consiste em:

- i) uma partícula alfa, e
- ii) uma partícula beta.

- 10 10. Composição aprimorada, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** pelo fato de que o melhor modo de estrutura é:



- 15 11. Método para tratamento de áreas ácidas em um indivíduo, **caracterizado** pelo fato de que as áreas ácidas possam estar nos tumores, por

- (a) prover uma composição

- (i) com a característica de ocorrer amplamente em uma forma solúvel em água negativamente carregada em solução aquosa a pH 7,4, porém em áreas ácidas abaixo de pH 7,0 uma fração significativa das moléculas da
20 composição transfere-se para uma forma não iônica eficaz

para inserir uma fase lipofílica, a qual pode ser uma membrana celular em um tecido biológico, e

(ii) que inclui um componente de carga o qual pode causar dano para células na área onde este é isolado, e

(b) introduzir a composição provida dentro do indivíduo,

em que o aprimoramento compreende:

um método aprimorado para tratar com especificidade aprimorada áreas ácidas em um indivíduo, onde a composição provida é a composição conforme descrito na reivindicação 9.

12. Método aprimorado, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que o método aprimorado adicionalmente compreende:

primeiro tratamento do indivíduo com

(a) pelo menos uma substância eficaz para aumentar o pH da urina do indivíduo; e,

(b) pelo menos uma substância eficaz para diminuir o pH em tumores.

13. Método aprimorado, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos uma substância eficaz para diminuir o pH em tumores é selecionada a partir de um grupo que consiste em:

(a) glicose;

(b) o inibidor mitocondrial meta-iodobenzilguanidina; e,

(c) o vasodilator captopril.

14. Método aprimorado, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos duas composições conforme descrito na reivindicação 9 sejam providas e sejam introduzidas dentro do indivíduo, onde uma
5 composição provida conforme descrito na reivindicação 9 contenha o radiohalogênio Astato-211, e onde uma segunda composição provida conforme definido na reivindicação 9 contenha um radiohalogênio que emita uma partícula beta.

15. Método aprimorado, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato em que os melhores modos das composições providas são:

