

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

PAULO SÉRGIO GONÇALVES NUNES

Síntese de novas quinazolininas para tratamento de tumores sob hipóxia e nitroimidazol para diagnóstico por PET

Ribeirão Preto
2018

RESUMO

NUNES, P. S. G. **Síntese de novas quinazolininas para tratamento de tumores sob hipóxia e nitroimidazol para diagnóstico por PET.** 2018. 187 f. Tese. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

O tumor sob hipóxia apresenta resistência a terapia antitumoral convencional por diferentes mecanismos. O uso de métodos diagnósticos moleculares não invasivos, como imagem por PET, permite a identificação de tumores sob hipóxia e auxilia no delineamento da estratégia terapêutica mais adequada. Atualmente, diversas pesquisas têm demonstrado alternativas ao tratamento de tumores sob hipóxia, explorando características como, potencial redutor do tumor e inibição de mecanismos de adaptação celular para a sobrevivência sob essa condição. Assim, neste trabalho foi realizada a síntese e avaliação *in vivo* de novo derivado 2-nitroimidazol, contendo o grupo hidrofílico zwitteriônico amôniometil-trifluoroborato (AMBF₃), **¹⁸F-AmBF₃-bu-2NI**, com potencial para geração de imagens de tumores sob hipóxia. O composto **AmBF₃-bu-2NI** foi facilmente preparado em 4 etapas sintéticas. A marcação com ¹⁸F foi realizada via reação de troca isotópica ¹⁸F-¹⁹F e **¹⁸F-AmBF₃-bu-2NI** foi obtido em 14,8 ± 0,4% de rendimento radioquímico (*n* = 3) com decaimento corrigido, 24,5 ± 5,2 GBq/μmol de atividade específica e >99% de pureza radioquímica. Estudos de imagem e biodistribuição *ex vivo* em camundongos, portando tumores HT-29, demonstraram que **¹⁸F-AmBF₃-bu-2NI** possui rápido *clearance* do sangue, com excreção pelas vias hepatobiliar e renal. No entanto, o tumor não foi visualizado em imagens de PET até 3 h pós-injeção devido à baixa captação tumoral (0,54 ± 0,13 e 0,19 ± 0,04% AI/g em 1 e 3 h pós-injeção, respectivamente), devido à não difusão de **¹⁸F-AmBF₃-bu-2NI** através da membrana celular. Adicionalmente, compostos quinazolinicos com potencial aplicação em diagnóstico foram também sintetizados contendo unidades biorredutíveis, nitro-benzil e nitro-imidazol, além de grupo fluoroetil, inicialmente contendo ¹⁹F (frio), como padrão analítico para a síntese do radiotraçador. Entretanto, devido a formação de produtos voláteis durante a radio síntese da unidade 2-[¹⁸F]fluoroetil 4-metilbenzenosulfonato (**34***), para incorporação no anel quinazolinico, a obtenção do radiotraçador e os correspondentes estudos de biodistribuição e imagem não foram realizados. Em paralelo ao trabalho anterior, foi realizada a síntese de um conjunto de 12 compostos aminotriazolil-quinazolinicos com potencial atividade antitumoral, via reação de cicloadição CuAAC. Inicialmente todos derivados quinazolinicos obtidos no trabalho para aplicação no diagnóstico foram testados em uma série de linhagens de células tumorais sob condições de normóxia e hipóxia (MDA-MB-231, SKBR3, BT474, PC3, MKN45, U251, U87, MIA PaCa-2, Skmel37, e A549, na concentração de 10 μM), empregando cisplatina como referência. Neste estudo, apenas os derivados contendo grupo nitro-benzil-triazólico **61** e **63**, apresentaram cerca de 50% de inibição de células MKN45 em normóxia e 40% em células SKBR3 sob hipóxia, respectivamente. Na sequência, os 12 derivados aminotriazolil-quinazolinicos foram submetidos a avaliação da citotoxicidade *in vitro* sob as linhagens de células tumorais de mama (MDA-MB-231, SKBR3, BT474, na concentração de 30 μM), empregado os controles positivos Erlotinib e Lapatinib.

Apenas o derivado contendo a função ftalimida **9**, não substituído nas posições C-6 e C-7 do anel quinazolínico, apresentou cerca de 60% de inibição de células SKBR3 em hipóxia. Paralelamente, os derivados aminotriazolil-quinazolínicos foram submetidos à avaliação de triagem da atividade inibitória frente as quinases HER2, EGFR e PERK, na concentração de 10 μ M. Todavia, não houve inibição significativa nas enzimas avaliadas na concentração testada. Novos ensaios estão em andamento a fim de determinar a capacidade dos compostos atuarem como inibidores do crescimento de outras linhagens de células tumorais.

Palavras-chave: 1. Hipóxia tumoral, 2. Tomografia de Emissão de Póstron, 3. Síntese Orgânica, 4. AMBF₃, 5. Quinazolininas, 6. 2-nitroimidazol.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer: Características gerais

Câncer é um termo utilizado para denominar um conjunto de mais de 100 doenças, no qual células anormais ou que sofreram mutações apresentam uma capacidade de replicação intermitente (NCI, 2018). As alterações celulares levam ao comprometimento de tecidos adjacentes e também podem atingir outros tecidos, através da circulação sanguínea e/ou sistema linfático pelo processo de metástase (HANAHAN e WEINBERG, 2011).

O câncer origina-se de alterações genéticas ou epigenéticas resultantes de fatores externos ou internos. Os fatores externos são classificados em fatores físicos, químicos e biológicos tal como exposição à radiação ionizante, gases tóxicos e infecções virais, enquanto os internos referem-se a mutações herdadas (NCI, 2018; FLAVAHAN; GASKELL e BERNSTEIN, 2017). As mutações mais relevantes na progressão do câncer tendem a afetar três tipos principais de genes: proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo de DNA (NCI, 2018).

As principais características comuns à maioria dos cânceres, descritas em maiores detalhes por Douglas Hanahan e Robert A. Weinberg (2011), correspondem a: resistência a morte celular, indução de angiogênese, ativação de invasão e metástase, imortalidade replicativa, evasão da resposta imune, evasão de supressores tumorais, sinal de proliferação contínua e desregulação energética celular.

O método diagnóstico padrão-ouro de neoplasias sólidas é a biópsia, que é realizada por meio de análise histológica guiada por imuno-histoquímica com a avaliação de características morfológicas e da capacidade de invasão. Porém outras técnicas menos invasivas têm demonstrado alta relevância no auxílio do diagnóstico, tais como dosagem de biomarcadores sanguíneos (**Figura 1**) e exames de imagem. O uso dessas técnicas torna possível o acompanhamento da progressão dos tumores e a identificação de marcadores moleculares para direcionar o tratamento mais adequado (WEBER; HABERKORN e MIER, 2015).

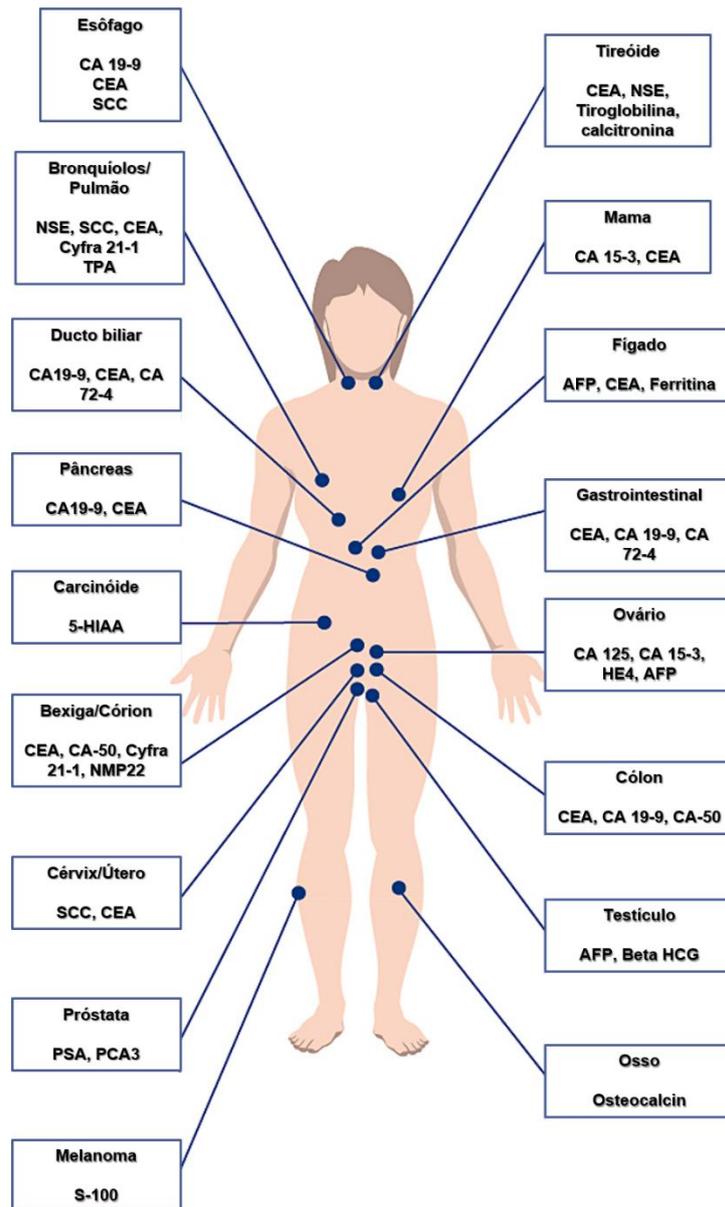


Figura 1. Exemplo de biomarcadores sanguíneos de tumores. Figura adaptada de https://tdlpathology.com/media/15854/tdl_tumourmarkers.jpg

Os exames de imagem por ultrassonografia, ressonância magnética nuclear (RMN), tomografia computadorizada (CT, do inglês: *Computed Tomography*) e tomografia de emissão de pósitron (PET, do inglês: *Positron Emission Tomography*), permitem a obtenção de informações anatômicas e funcionais auxiliando na realização da biópsia e no monitoramento do tratamento oncológico. Assim, estas ferramentas atuam de forma complementar ao diagnóstico e permitem a obtenção de dados que auxiliam nas abordagens terapêuticas (WEISSLEDER e PITTET, 2008).

Devido às próprias características do câncer, como instabilidade genômica, o mesmo tipo de tumor pode apresentar características diversificadas dentre elas mutações ou microambientes hipóxicos, os quais resultam em respostas diferentes a um determinado tratamento. Por exemplo, as mutações ativadoras do gene KRAS resultam em ativação constitutiva de KRAS, portanto independente da regulação normal pelo receptor do fator de crescimento epitelial (EGFR, do inglês: *epidermal grow factor receptor*). Os cânceres de cólon com esta mutação tornam-se resistentes a fármacos que inibem sua progressão via mecanismos *anti-EGFR* (MISALE et al., 2012).

Desta forma, a obtenção de métodos diagnósticos moleculares que permitam a identificação de características tumorais, como estágio, origem tecidual e mutações presentes, auxilia no delineamento da estratégia terapêutica com a escolha de uma abordagem farmacológica mais adequada. Sendo assim, o desenvolvimento de ferramentas para a diferenciação/estratificação tumoral se torna tão importante quanto a obtenção de novos fármacos para o tratamento.

1.2 Hipóxia e Câncer

A hipóxia ou tensão baixa de oxigênio, abaixo do valor basal do órgão ou tecido, é uma condição causada pela diminuição do aporte sanguíneo para a uma determinada região do organismo (MUZ et al., 2015). Essa condição pode surgir em tumores sólidos em resposta a alta proliferação celular, juntamente com a presença de uma vascularização ineficiente (EALES; HOLLINSHEAD e TENNANT, 2016).

Mesmo na presença de oxigênio, a célula cancerígena não o utiliza para obtenção de energia. Apesar de ser energeticamente desfavorável, o ATP é obtido preferencialmente por meio da glicólise aeróbica, fenômeno este definido como efeito Warburg (WARBURG, 1956). No entanto, a hipóxia tumoral é responsável por diferentes alterações na biologia do tumor, que contribuem tanto com a sobrevivência quanto com a agressividade do câncer (WILSON e HAY, 2011).

No tumor, a hipóxia seleciona células que expressem genes capazes de favorecer: sobrevivência após hipóxia seguida de reoxigenação, como mutações TP53, (GRAEBER et al., 1996); mudanças na expressão gênica que suprimem a

apoptose (ERLER et al., 2004) e permitem suportar a autofagia (ROUSCHOP et al., 2010); e alterações anabólicas no metabolismo central (CAIRNS et al., 2011).

Além disso, a hipóxia colabora com a metástase tumoral estimulando a angiogênese tumoral e promovendo a invasão celular, ainda suprime a resposta imunológica e aumenta a sinalização mediada por receptores de tirosina quinase (SEMENZA, 2000; YOTNDA et al., 2010; CHANG et al., 2011; PENNACCHIETTI et al., 2003; WANG e OHH, 2010; WILSON e HAY, 2011). Adicionalmente, o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) (GUZY et al., 2005) e a *downregulation* das vias de reparo de DNA (BRISTOW et al., 2008), presentes nas células em hipóxia, contribuem para a perda da estabilidade genômica.

As alterações causadas pela hipóxia conferem resistência a várias abordagens terapêuticas empregadas na terapia antitumoral convencional do câncer, como a radioterapia e antitumorais, por diferentes mecanismos (**Tabela 1**) (WILSON e HAY, 2011). Devido a estas características, a hipóxia está correlacionada com um mau prognóstico em tumores sólidos tais como relatado no carcinoma de colo do útero, sarcomas e cânceres de cabeça e pescoço (FYLES et al., 2002; BRIZEL et al., 1997; NORDSMARK et al., 2005; NORDSMARK et al., 2001; LIN e MAITY, 2015).

Tabela 1. Mecanismos de resistência dos fármacos antitumorais devido à presença de hipóxia.

Efeito da hipóxia	Mecanismo	Agentes afetados	Exemplo	Referência
Falta de oxidação do DNA por radicais livres por O₂	Falha na indução de quebras no DNA	Radiação Ionizante	Requer um aumento de 2-3-vezes na dose de radiação para morte celular equivalente.	(GRAY et al., 1953)
		Antibióticos que quebram DNA	Bleomicina	(TEICHER et al., 1981)
Parada do ciclo celular na fase G1 ou G2	Reparar antes da progressão para a fase S ou M	Fármacos quimioterápicos ciclo-seletivos	5-fluorouracila	(CHAN et al., 2010)
Distância da vasculatura (indireta)	Exposição ao fármaco compromissada	Fármacos que se ligam extensivamente em células tumorais	Taxanas	(KYLE et al., 2007)
Acidificação extracelular (indireta)	Menor absorção	Fármacos básicos	Doxorubicina	(GERWECK et al., 1999)
Resistência à apoptose	Seleção genética de mutantes TP53	Vários	--	(GRAEBER et al., 1996)
Instabilidade genômica	Mutagêneses (BINDRA et al., 2005)	Vários	Metotrexato	(RICE et al., 1986)
Supressão de reparo ao DNA	<i>Downregulation</i> da MMR*	Agentes que metilam o DNA	--	(BINDRA et al., 2007)
Estabilização do HIF-1	Expressão de transportadores ABC	Substratos de transportadores ABC	Doxorubicina	(COMERFORD et al., 2002)
	<i>Downregulation</i> de NHEJ**	Agentes de quebra de fita dupla de DNA	Etoposida	(WIRTHNER et al., 2008)

*MMR, reparo de incompatibilidade de DNA (MMR, do inglês: *DNA mismatch repair*); ** NHEJ, união de extremidade não-homóloga (NHEJ, do inglês: *Non-homologous end joining*). Fonte: Adaptado de WILSON e HAY, 2011.

As abordagens terapêuticas que exploram características presentes em tumores sob hipóxia estão sobre intenso desenvolvimento com vários compostos

atualmente em ensaios clínicos (GUISE et al., 2014). Entre as estratégias mais estudadas, está o desenvolvimento de pró-fármacos biorredutíveis, que exploram o ambiente redutor que surge durante a hipóxia. Nesta abordagem são utilizados compostos contendo funções nitro-aromáticos, hidroquinonas, *N*-óxidos heteroaromáticos e *N*-óxidos alifáticos e metais de transição, como cobalto e cobre (**Figura 2**), os quais são alvos de diferentes redutases intracelulares (CHEN e HU, 2009).

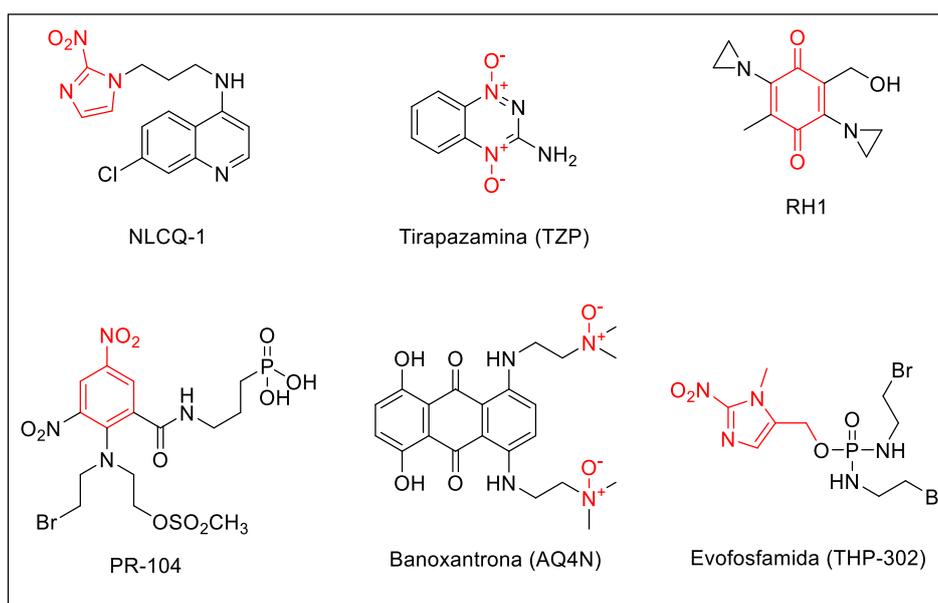


Figura 2. Pró-fármacos biorredutores estudados para seletividade em tumores sob hipóxia (Adaptado de WILSON e HAY, 2003).

Nas células em condições de normóxia esses compostos são reduzidos a intermediários, geralmente por redução monoelétrica, que são prontamente reoxidados pelo oxigênio molecular. Por outro lado, em células sob hipóxia após os compostos sofrerem redução, normalmente não há re-oxidação efetiva devido à baixa concentração de oxigênio. Assim, a redução prossegue até a geração de espécies citotóxicas ou liberação de compostos ativos (**Figura 3**) (ABRANTES et al., 2009; FAILES e HAMBLEY, 2006).

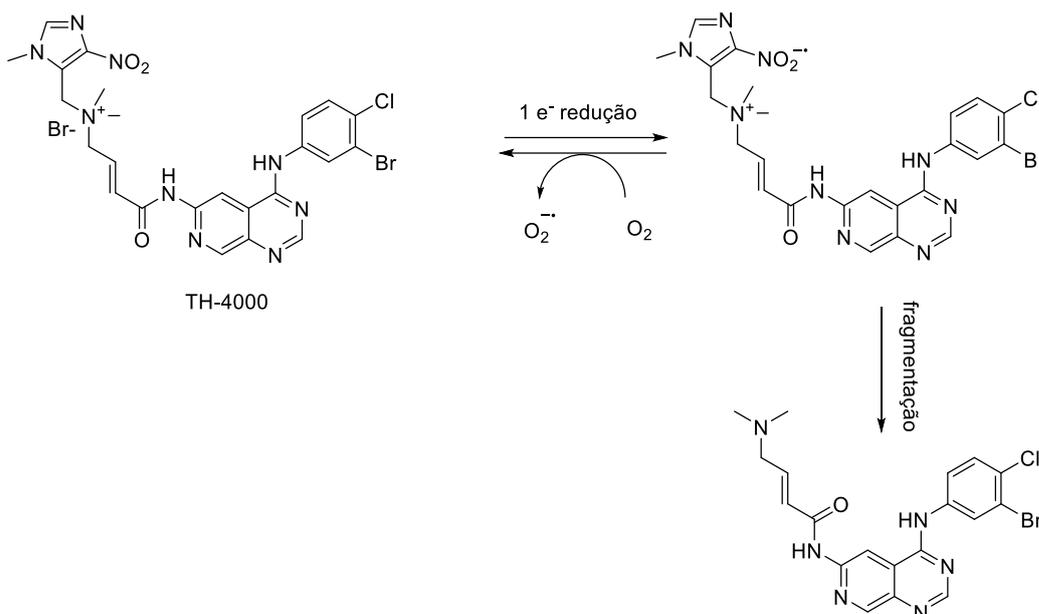


Figura 3. Mecanismo de ativação biorredutiva do inibidor de tirosina quinase EGFR TH-4000. Adaptado de Phillips, 2016.

Outras estratégias exploram mecanismos de resposta a hipóxia: inibição da via do fator induzido por hipóxia-1 (HIF-1, do inglês: *hypoxia-inducible factor 1*), resposta a proteínas mal enoveladas (UPR, do inglês: *unfolded protein response*) e da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês: *mammalian target of rapamycin*) (WILSON e HAY, 2003).

1.3 Mecanismos de resposta celular a hipóxia

Na ausência de oxigênio a principal via responsável pela sobrevivência da célula tumoral é a via HIF-1. O HIF-1 é uma proteína heterodimérica constituída por duas subunidades o HIF-1 α , regulada por oxigênio, e uma subunidade de HIF-1 β , constitutivamente expressa, presentes no citoplasma e núcleo, respectivamente. Sob condições de normóxia, a subunidade HIF-1 α sofre degradação proteossomal após hidroxilação por prolil hidroxilases (PHD), que requerem oxigênio como cofator, e ligação ao complexo E3-ubiquitina ligase von Hippel-Lindau (VHL) (SEMENZA, 2011) (**Figuras 4 e 5**).

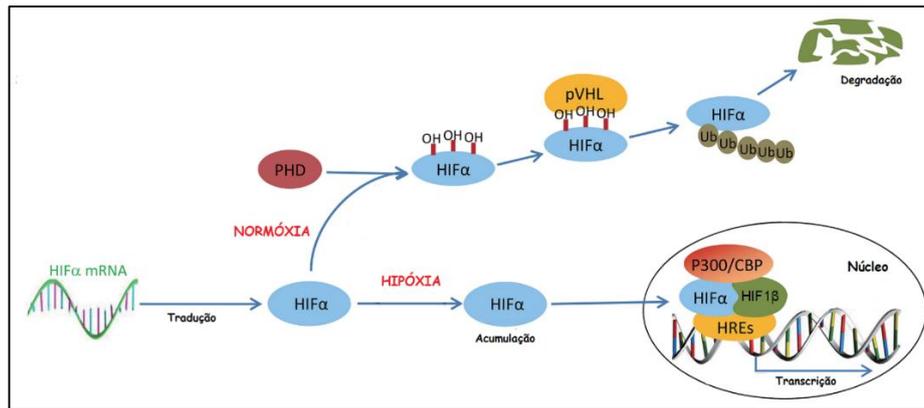


Figura 4. Respostas da via HIF-1 sob condições de hipóxia e normóxia. Elementos de resposta a hipóxia (HREs, do inglês: *Hypoxia Response Elements*). P300/CBP: fatores de transcrição.

Em condição de hipóxia, a hidroxilação do HIF-1 α é reduzida resultando em acúmulo e dimerização com o HIF-1 β , que leva a formação do HIF-1. O heterodímero HIF-1 liga-se ao DNA, recruta proteínas coativadoras e ativa a transcrição de mais de 30 genes, que codificam proteínas envolvidas na sobrevivência celular, angiogênese, reprogramação metabólica, imortalização, resistência a radiação e quimioterapia, invasão e metástase (**Figuras 4 e 5**) (VAUPEL e HARRISON, 2004). Embora alterações na via HIF-1 também tenham sido relatadas de forma independente da hipóxia, essa via é considerada uma das mais importantes na adaptação da célula tumoral à hipóxia (SEMENZA, 2011).

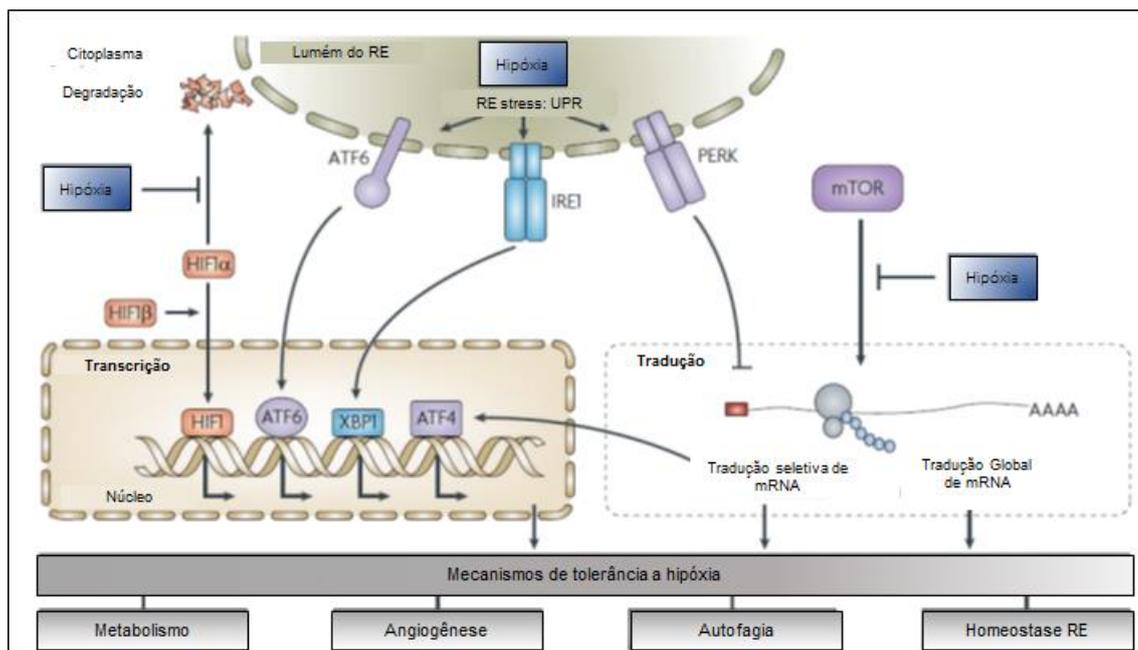


Figura 5. Esquema simplificado da participação das vias de adaptação da célula tumoral a hipóxia. Adaptado de WOUTERS e KORITZINSKY, 2008.

A via HIF-1 tem sido explorada para o desenvolvimento de novos compostos para o tratamento do câncer através de diferentes mecanismos: *i*) PT2385 inibe a dimerização HIF-1 α , atualmente em fase clínica I (NCT02293980); *ii*) os análogos da geldamicina 17-AAG (tanespimicina) e 17-DMAG (alvespimicina) promovem a degradação da HIF1 α independente da VHL ao inibirem a chaperona Hsp90 (do inglês: *Heat shock protein 90*); e *iii*) 2ME2 inibe a síntese do HIF-1 α , suprimindo a sua atividade de transcrição (**Figura 6**) (YU e TANG, 2017).

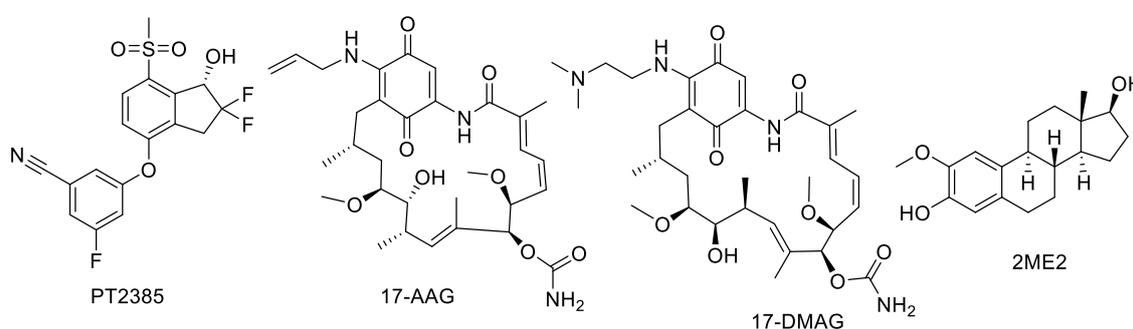


Figura 6. Compostos que atuam sobre a via HIF-1.

A hipóxia severa leva ao aumento dos níveis de proteínas desdobradas no retículo endoplasmático ativando a via UPR, que é responsável por coordenar a capacidade de uma célula de responder ao estresse do retículo endoplasmático (RE). O oxigênio atua como aceptor de elétrons terminal preferencial no processo de enovelamento de proteínas no RE, assim a falta de oxigênio é uma das causas da elevação de proteínas desenoveladas. De forma geral, a via UPR atua após o estresse do RE ativar os sensores de stress ATF6, IRE1 e PERK, que resultam na produção dos fatores de transcrição ATF6 (N), XBP1 e ATF4, respectivamente. Estes fatores são responsáveis pela ativação de genes para restabelecer a homeostase pela supressão da síntese ou estimulação da degradação de proteínas no RE, e ativação da apoptose e autofagia (WALTER e RON, 2011) (**Figura 5**).

O uso de inibidores de ATF6, IRE1, PERK e proteossomais levam ao aumento do estresse no RE, por exemplo, o bortezomibe (**Figura 7**), e podem ser empregados no tratamento dos tumores sob hipóxia, por meio da inibição da

via da UPR impedindo que as células tumorais se adaptem neste processo de hipóxia (**Figura 5**) (WILSON e HAY, 2003).

Outra via de crescente relevância corresponde a via mTOR, que atua como reguladora da energia celular e do status nutricional. Na hipóxia, a atividade da quinase mTOR do complexo 1 (mTORC1) é restrita por múltiplos mecanismos, resultando na supressão da síntese proteica em uma extensão que depende da severidade e duração da hipóxia. A restrição da mTORC1 leva a tradução seletiva de um subconjunto específico de mRNA, o qual está incluído o mRNA que traduz HIF1 α e o fator de crescimento endotelial e vascular A (VEGFA, do inglês: *Vascular Endothelial Growth Factor A*) (**Figura 5**) (WOUTERS e KORITZINSKY, 2008).

A modulação da mTORC1 devido a presença da hipóxia leva a inibição do crescimento do tumor, que pode ser uma resposta adaptativa frente às limitações energéticas favorecendo a sobrevivência de células hipóxicas e dificultando prever as consequências de sua inibição. No entanto, pesquisas realizadas com a rapamicina, um inibidor de mTORC1, e WYE 125132, inibidor da quinase de mTOR, (**Figura 7**) apresentaram bons resultados em células sob hipóxia ao exercerem efeitos antiproliferativos seletivos e bloquearem o acúmulo de HIF1 α , respectivamente (YU et al., 2010; PENCREACH et al., 2009).

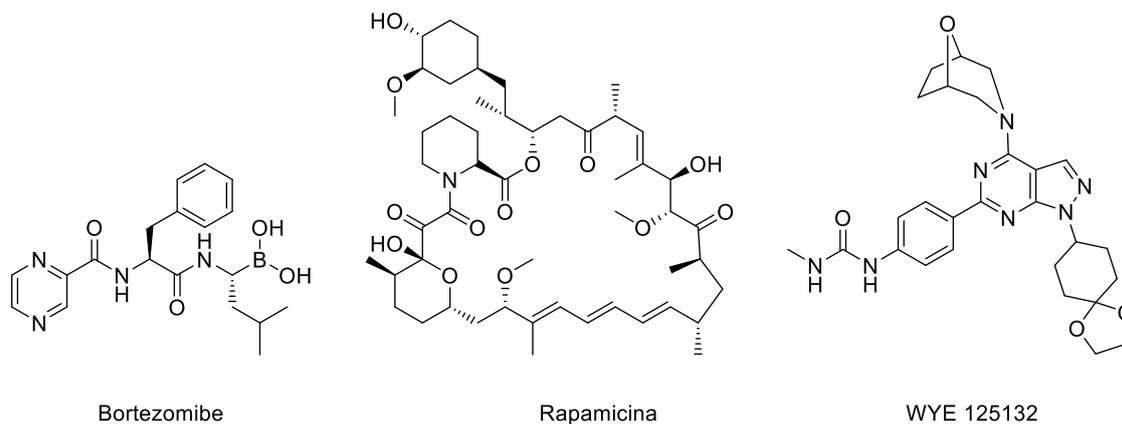


Figura 7. Inibidor proteossomal Bortezomibe e Inibidores da mTOR rapamicina e WYE125132.

1.4 Quinases e relevância na hipóxia

As quinases são enzimas que transferem grupos fosfato de moléculas de ATP para substratos específicos, por meio de uma reação de fosforilação (**Figura 8**). Os alvos mais conhecidos de quinases são os álcoois de resíduos de

serina e treonina, e o grupo fenol de resíduos de tirosina, presentes em proteínas. A fosforilação destes resíduos de aminoácidos por quinases promove uma alteração significativa na proteína alvo, devido a inserção de um grupo volumoso contendo oxigênios carregados negativamente, em pH fisiológico. Portanto, as quinases ativam ou desativam enzimas após promover mudanças em sua estrutura terciária, que irão causar a exposição ou fechamento do sítio ativo da enzima.

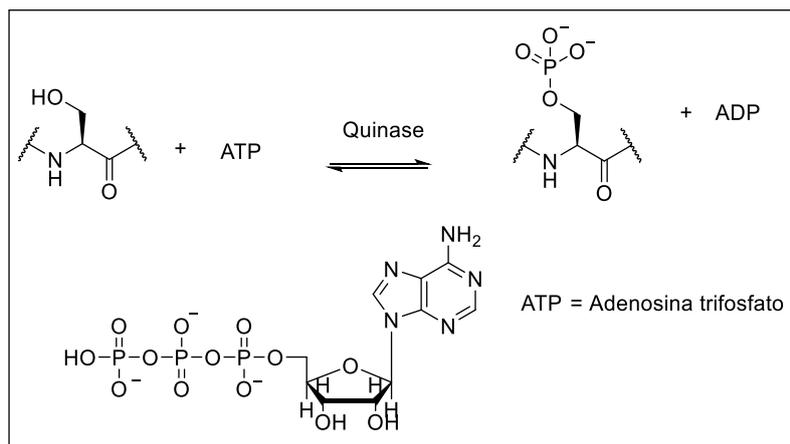


Figura 8. Exemplo de reação de fosforilação promovida por uma proteína quinase em um resíduo de serina. ADP: adenosina difosfato.

Em geral, os inibidores de quinases atuam no sítio de ligação do ATP. De acordo com o modo de ligação os inibidores são divididos em reversível ou irreversível. Os inibidores irreversíveis ligam-se covalentemente aos resíduos de cisteína próximos ao sítio de ligação do ATP. Enquanto os inibidores reversíveis têm diferentes modos de ligação sendo classificados em quatro tipos I-IV, de acordo com a conformação da cavidade de ligação e de uma sequência de aminoácidos denominada DFG (Aspartato (D), Fenilalanina (F) e Glicina (G)), que controla o acesso do sítio ativo.

Os inibidores do tipo I ligam-se a forma ativa das quinases, e competem com o ATP pelo sítio ativo. Os inibidores do tipo II ligam-se à forma inativa das quinases, assim atuam em cavidades específicas adjacentes ao sítio de ligação do ATP. Os inibidores do tipo III ligam-se às cavidades alostéricas próximas ao sítio de ATP, porém sem possuir nenhuma interação com o sítio de ligação do ATP. Por fim, os inibidores do tipo IV atuam em sítios alostéricos localizados distante da cavidade de ligação do ATP (WU, NIELSEN e CLAUSEN, 2015) (**Figura 9**).

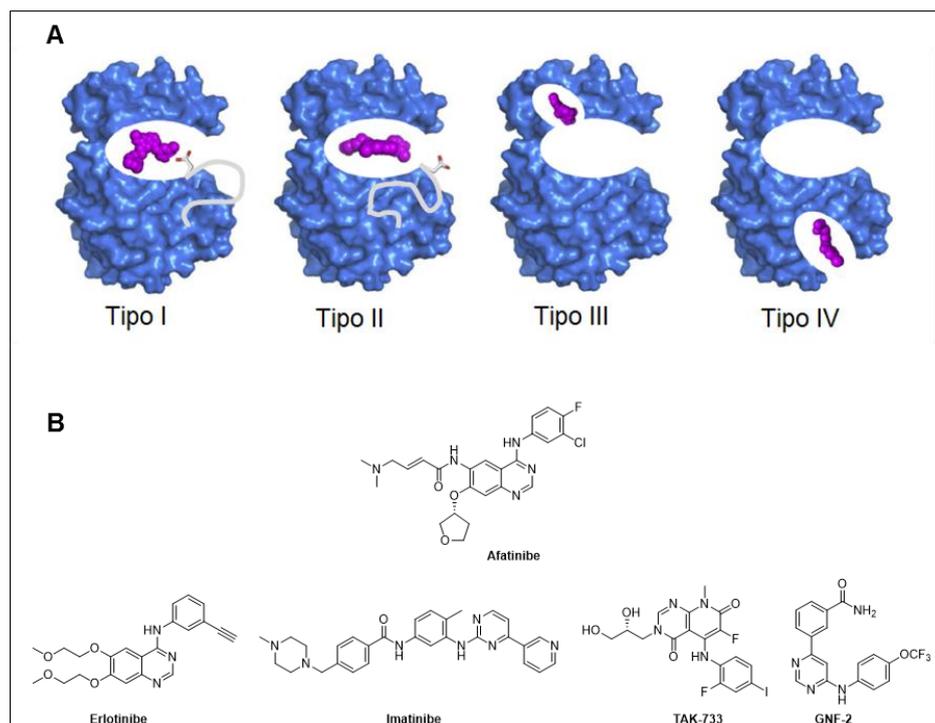


Figura 9. Características de Inibidores de quinases. **A.** Representação dos tipos de inibidores de quinases. **B.** Exemplos de inibidores de quinases, afatinibe, inibidor irreversível de da quinase EGFR; erlotinibe, inibidor do tipo I da proteína quinase EGFR; imatinibe, inibidor do tipo II da tirosina quinase ABL (Abelson proto-oncogene); TAK-733, inibidor do tipo III da proteína quinase MEK (Proteína-quinases ativadas por mitógenos); e GNF-2, inibidor do tipo IV o qual estabiliza a Bcr-Abl. Adaptado de WU, NIELSEN e CLAUSEN, 2015.

As quinases estão envolvidas em diferentes estágios de adaptação celular do câncer a ambientes de baixa oxigenação e participam de eventos chaves durante a hipóxia, sendo assim, é evidente que sua regulação promova relevantes resultados no tratamento antitumoral. Na literatura, existem relatos de que inibidores das quinases mTORC1, EGFR, PIM (do inglês: *Proviral Integration site for Moloney murine leukemia virus*), ataxia-telangiectasia mutada (ATM) e *Checkpoint 1* (CHK1), promovem a morte de células tumorais sob hipóxia por diferentes mecanismos (MIN et al., 2016; PORE et al., 2006, KARNTHALER-BENBAKKA et al., 2016; KARNTHALER-BENBAKKA et al., 2014; HASVOLD et al., 2013; WARFEL et al., 2016; CAZARES-KORNER et al., 2013; PHILLIPS, 2016).

Embora a inibição da quinase CHK1 tenha sido identificada como uma terapia promissora para tumores sob hipóxia a inibição de CHK1 tem potencial de induzir instabilidade genômica e contribui para a tumorigênese por afetar a replicação normal e causar danos no DNA. Desta forma o grupo de pesquisa de

Stuart J. Conway (CAZARES-KORNER et al., 2013) obteve um pró-fármaco biorredutível, que após ativação sob hipóxia libera seletivamente um inibidor das quinases CHK1/Aurora A, via uma reação espontânea de eliminação 1,6, protegendo o tecido normal da instabilidade genômica induzida pela terapia (Figura 10).

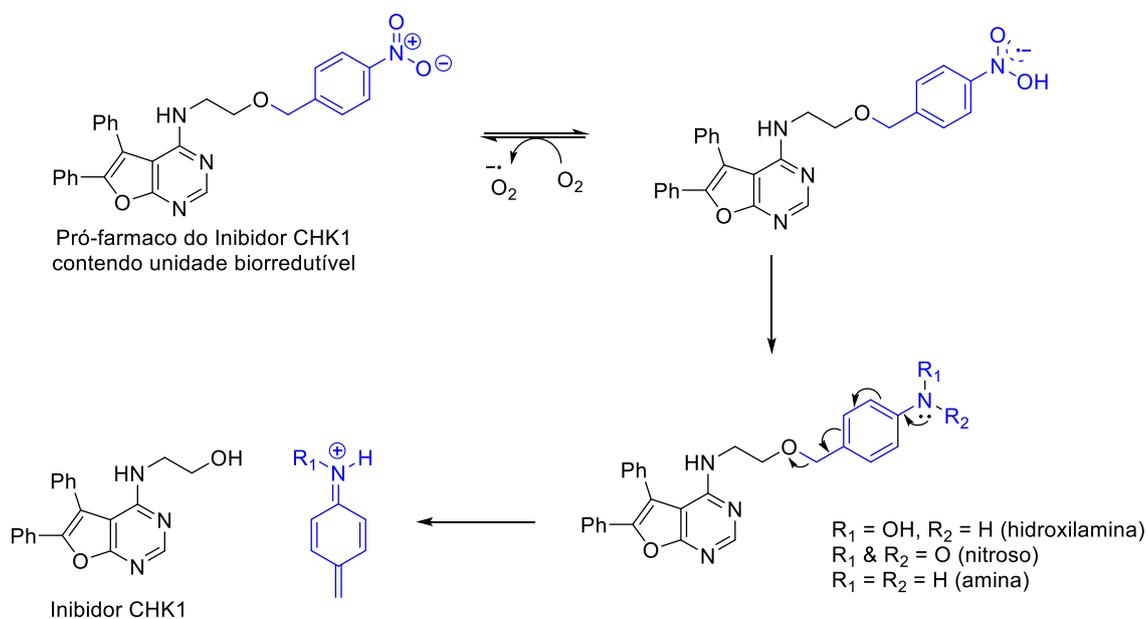


Figura 10. Mecanismo do inibidor de CHK1 CH-01 ativado por hipóxia.

Inibidores da tirosina quinase EGRF que atuam na hipóxia ao induzir a síntese de fatores de crescimento (EGF e VEGF), dependente e independente da via HIF1 (PORE et al., 2006), tem sido latenciados para ativação após biorredução em tumores sob hipóxia levando a obtenção do composto TH4000 atualmente em estudos clínicos (Figura 3) e outros derivados como I e II (Figura 11) (PHILLIPS, 2016).

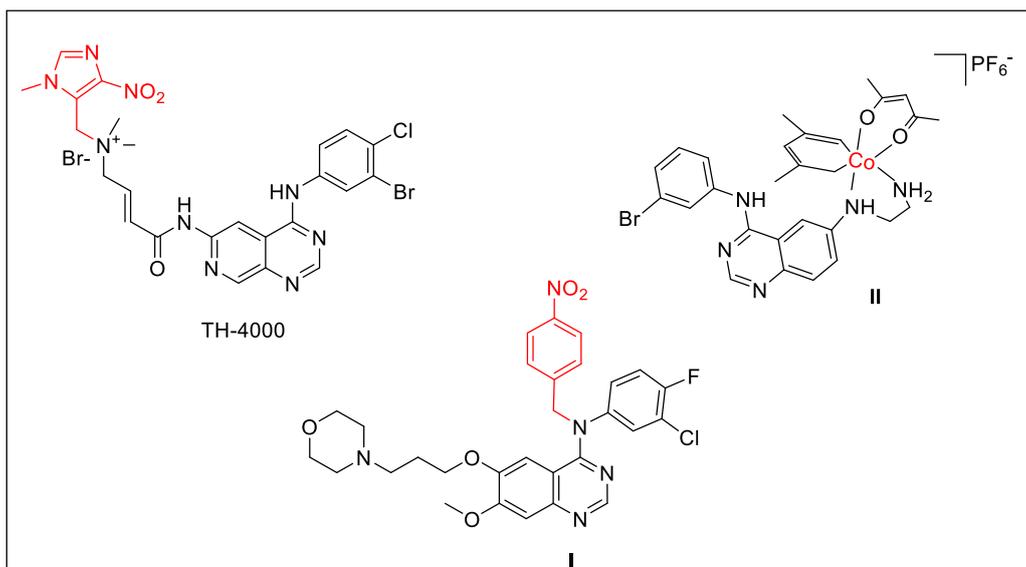


Figura 11. Pró-fármacos ativados sob hipóxia para a inibição da EGFR e CHK1.

1.5 Diagnóstico da hipóxia tumoral

Atualmente, existem diversas técnicas disponíveis para obter um valor absoluto ou relativo do estado de oxigenação dos tumores. Em uma revisão recentemente, publicada por Amarnath Challapalli, Laurence Carroll e Eric O. Aboagye (2017), são apresentadas as vantagens e desvantagens de cada técnica questionando diferentes aspectos do microambiente hipóxico e fornecendo informações sobre a hipóxia em diferentes locais. Os eletrodos de oxigênio (*Eppendorf probes*), considerados atualmente como padrão ouro, e amostragem por *OxyLite* (técnica que emprega fibra ótica) medem predominantemente a hipóxia intersticial. Os marcadores extrínsecos, como PET e SPECT (do inglês: *Single Photon Emission Computed Tomograph*), caracterizam a hipóxia intracelular, sendo que estes dois últimos permitem a quantificação e obtenção de dados em escala macroscópica em regiões tumorais. As técnicas de imagem por ressonância magnética, BOLD (do inglês: *Blood oxygen dependent level*) e fração *Oxy-R*, permitem a avaliação da oxigenação sanguínea, enquanto os métodos indiretos de adaptações moleculares induzidos por hipóxia, expressão de GLUT1 e CA9, também têm sido utilizados como marcadores de oxigenação tumoral (CHALLAPALLI; CARROLL e ABOAGYE, 2017).

1.5.1 Identificação da hipóxia tumoral por PET

PET é uma ferramenta que possibilita a visualização e quantificação de processos celulares e moleculares de forma não invasiva com a obtenção de imagens, a partir de radiofármacos/radiotraçadores contendo radionuclídeos emissores de pósitrons, utilizados em concentrações picomolar. De maneira geral, esses radionuclídeos ao decair emitem partículas de pósitrons (β^+), antieletrón, os quais, após encontrarem com um elétron próximo, sofrem uma reação de aniquilação e emitem radiação gama, que por sua vez é captada e traduzida em imagem, demonstrando a localização do radiotraçador após biodistribuição *in vivo* (WEISSLEDER et al., 2010).

Devido à possibilidade de rastrear a localização da molécula marcada e avaliar sua cinética *in vivo*, PET tem demonstrado ampla aplicação na prática clínica, pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. A técnica PET usando fármacos antitumorais marcados (**Figura 12**), possibilita a realização de tratamentos personalizados com indicação da presença e expressão de determinado alvo, sua possível interação com o fármaco e a cinética da ligação do composto *in vivo*. Por outro lado, quando aplicado na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, PET permite obtenção de informações sobre toxicidade, capacidade de transpor a barreira hematoencefálica e indicar a presença de mecanismos de resistência, por meio da observação das imagens de captação do composto *in vivo* (SLOBBE et al., 2012).

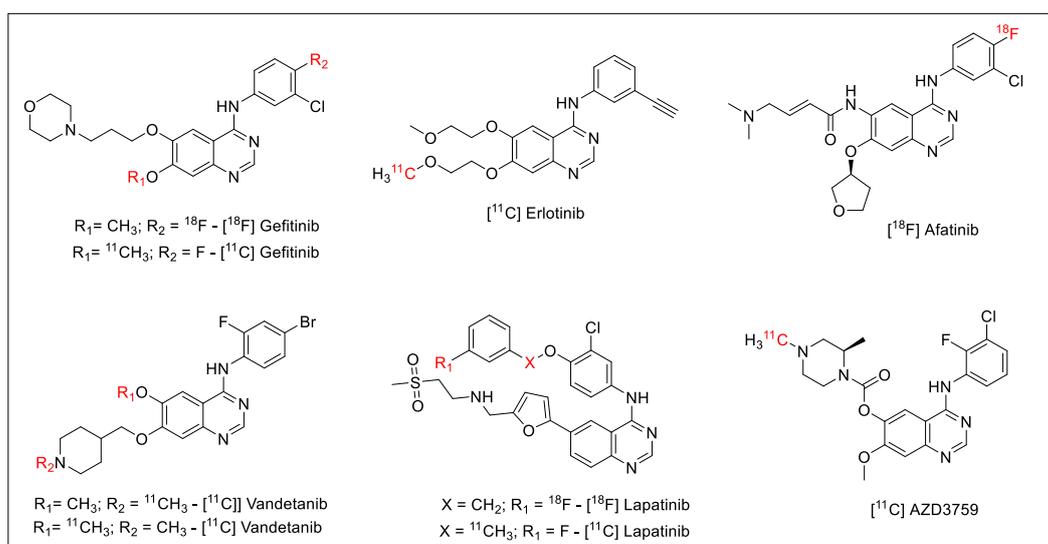


Figura 12. Alguns exemplos de fármacos inibidores de tirosina quinase (EGFR) marcados com radionuclídeos emissores de pósitron ${}^{11}\text{C}$ e ${}^{18}\text{F}$ (SLOBBE et al., 2012).

Apesar de existir uma vasta lista de radionuclídeos emissores de pósitron (WEISSLEDER et al., 2010), as características intrínsecas de tumores sob hipóxia requerem que radionuclídeos empregados para marcação da hipóxia tumoral apresentem tempo de meia-vida que permitam longos períodos de avaliação/biodistribuição, geralmente até de 4 h. Assim, atualmente têm sido explorados os radionuclídeos ^{18}F , ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{124}I , os quais possuem 109,7 min, 12,7 h, 68 min, 4,176 dias de tempo de meia vida, respectivamente (WUEST e WUEST, 2013).

De forma semelhante ao tratamento, os marcadores exógenos contendo ^{64}Cu e ^{18}F , empregados para a identificação da hipóxia por PET, exploram o potencial redutor de ambientes hipóxicos. Alguns exemplos são o ^{64}Cu -ATSM, contendo o radionuclídeo ^{64}Cu , e derivados nitroimidazólicos ^{18}F FMISO, ^{18}F HX4, ^{18}F EF5, ^{18}F FAZA e ^{18}F FETNIM (**Figura 13**). Desta forma, sob condições de hipóxia os radiofármacos, contendo o grupo 2-nitroimidazol biorredutível, acumula-se no ambiente intracelular devido a ocorrência sequencial da redução do grupo nitro, presente no anel, a grupos nitroso, hidroxiamina e amina por enzimas nitroredutases (**Figura 14**), levando a formação de espécies reativas que são covalentemente ligadas a proteínas intracelulares. Em contrapartida, na presença de oxigênio, o radical anion do grupo nitro é re-oxidado e permite sua saída da célula para posterior excreção (LOPCI et al., 2014).

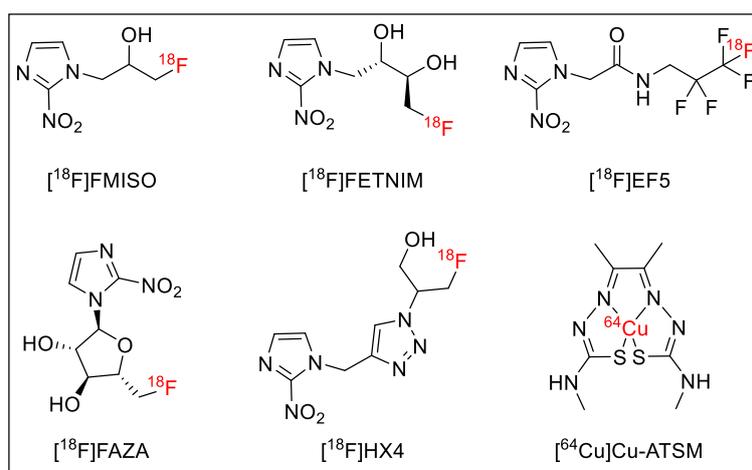


Figura 13. Radiofármacos utilizados para geração de imagens hipóxia tumoral com PET. Abreviações: ^{18}F FMISO: ^{18}F -fluoromisonidazol; ^{18}F EF5: ^{18}F -2-2-(nitro-1 [H]-imidazol-1-il)-N-(2,2,3,3,3-pentafluoropropilo)-acetamida; ^{18}F FAZA: ^{18}F -Fluoroazomicinarabinofuranosídeo; ^{18}F FETNIM: ^{18}F fluoroeritronitroimidazol;

[¹⁸F]HX4: ¹⁸F-3-fluoro-2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol; [⁶⁴Cu]Cu-ATSM: Cobre (Cu)-diacetil-bis (N4-metiltiosemicarbazona) (WUEST e WUEST, 2013).

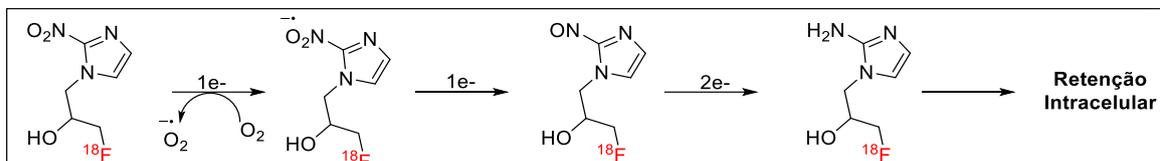


Figura 14. Mecanismos de retenção do derivado [¹⁸F]FMISO em células em hipóxia. Adaptada de WUEST e WUEST (2013).

Primeiramente relatado pelo grupo de Welch em 1986, o derivado de 2-nitroimidazol [¹⁸F]FMISO (**Figura 13**) ainda é considerado o traçador padrão-ouro para imagens de hipóxia empregando PET (JERABEK et al., 1986).

No entanto, o [¹⁸F]FMISO é excretado lentamente do sangue e tecidos normais e, portanto, as imagens são normalmente adquiridas em até 4 h após a injeção (ABOLMAALI et al., 2011). O *clearance* lento do [¹⁸F]FMISO dos tecidos também leva a um menor contraste de fundo para o tumor.

Conseqüentemente, uma baixa razão tumor-para-fundo (1,2-1,4) é usada como corte para identificar a presença de hipóxia (RASEY et al., 1996.; LEE et al., 2008). A otimização farmacocinética levou à descoberta de novos traçadores, incluindo FAZA e HX4 marcados com ¹⁸F (**Figura 13**) (PIERT et al., 2005; DUBOIS et al., 2011). Esses novos traçadores foram projetados para obtenção de uma depuração/*clearance* mais rápida dos tecidos de fundo, melhorar o contraste entre tumor e o fundo e possibilitar a geração de imagens com menor tempo de aquisição.

1.6 Justificativa

A preparação de derivado biorredutor de 2-nitroimidazol, para o diagnóstico da hipóxia tumoral por PET, deve explorar novo radiotraçador que apresente menor tempo para a aquisição de imagem e maior facilidade sintética. Assim, a recente descrição do método de marcação por meio de reação de troca isotópica de ¹⁸F-¹⁹F em 1 etapa (LIU et al., 2015; LIU et al., 2014), empregando um derivado contendo função trifluorborato, tornou-se atrativa, considerando que o precursor trifluorborato, necessário para geração do produto marcado, também

atua como padrão não radioativo para os devidos fins analíticos. Adicionalmente, a função AmBF_3 é um zwitterion e a incorporação da porção zwitterion num marcador aumentaria a hidrofiliicidade total da molécula resultante e poderia facilitar sua eliminação do sangue e dos tecidos de fundo. Portanto, neste estudo, foi investigado o derivado de AmBF_3 de 2-nitroimidazol (**Figura 15**) que poderia ser marcado com ^{18}F em 1 etapa, via reação de troca isotópica ^{18}F - ^{19}F .

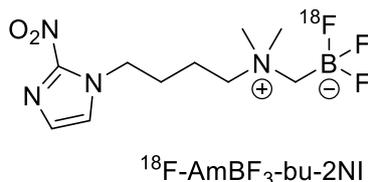


Figura 15. Derivado de AmBF_3 de 2-nitroimidazol proposto ^{18}F -AmBF₃-bu-2NI.

Com base na importância da marcação de moléculas com ^{18}F para obtenção de compostos com finalidade diagnóstica por PET e na utilização de unidades biorredutíveis para direcionamento e retenção de radiomarcadores em tumores em hipóxia, no presente trabalho foi explorando a inclusão do flúor, via inserção da unidade etileno flúor e a avaliação de diferentes unidades biorredutíveis introduzidas em um esqueleto comum de quinazolina. As unidades biorredutíveis, como: (i) derivado *p*-nitro-benzílico, com decomposição via eliminação 1,6 ou (ii) nitroimidazol, degradado a subprodutos polares e reativos, atuariam promovendo a liberação e retenção de quinazolina marcada no interior da célula tumoral sob hipóxia (BOLTON e MCCLELLAND, 1989; KIZAKA-KONDOH e KONSE-NAGASAWA, 2009; HALL e WILKINSON, 2012) (**Figura 16**).

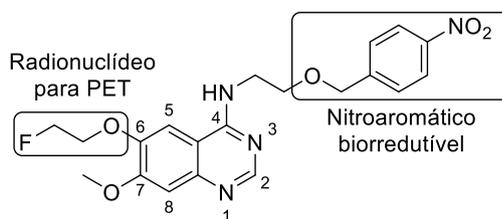


Figura 16. Estrutura geral da cadeia de quinazoliná com substituintes em C-4, C-6 e C-7, contendo o grupo biorredutor 2-([4-nitrobenzil]oxi)etanamina em C-4 e fluoroetil em C-6.

Desta forma, a evidente contribuição das quinazolininas como estrutura base de compostos com propriedades antitumorais, observados em inibidores de quinases, nos levou não apenas ao desenvolvimento de novos compostos para o diagnóstico da hipóxia tumoral por imagem por PET, mas também à preparação de derivados quinazolinínicos com potencial atividade antitumoral.

Neste contexto, um novo perfil estrutural para inibição de quinases, relevantes no tratamento da hipóxia tumoral foi explorado substituindo o grupo anilina, presente na posição C-4 do anel quinazolina dos fármacos inibidores de quinases, por grupo 4-aminometileno-1,2,3-triazólico, como possível bioisómero (**Figura 17**). A ausência de um padrão estrutural estabelecido para a inibição da quinase PERK e a versatilidade da reação de cicloadição catalisada por cobre (I) (CuAAC, do inglês: *Copper(I)-catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition*), conhecida como estratégia de “Click Chemistry”, para obtenção de anéis triazólicos 1,4-dissubstituídos, podem justificar as modificações propostas na **Figura 17**.

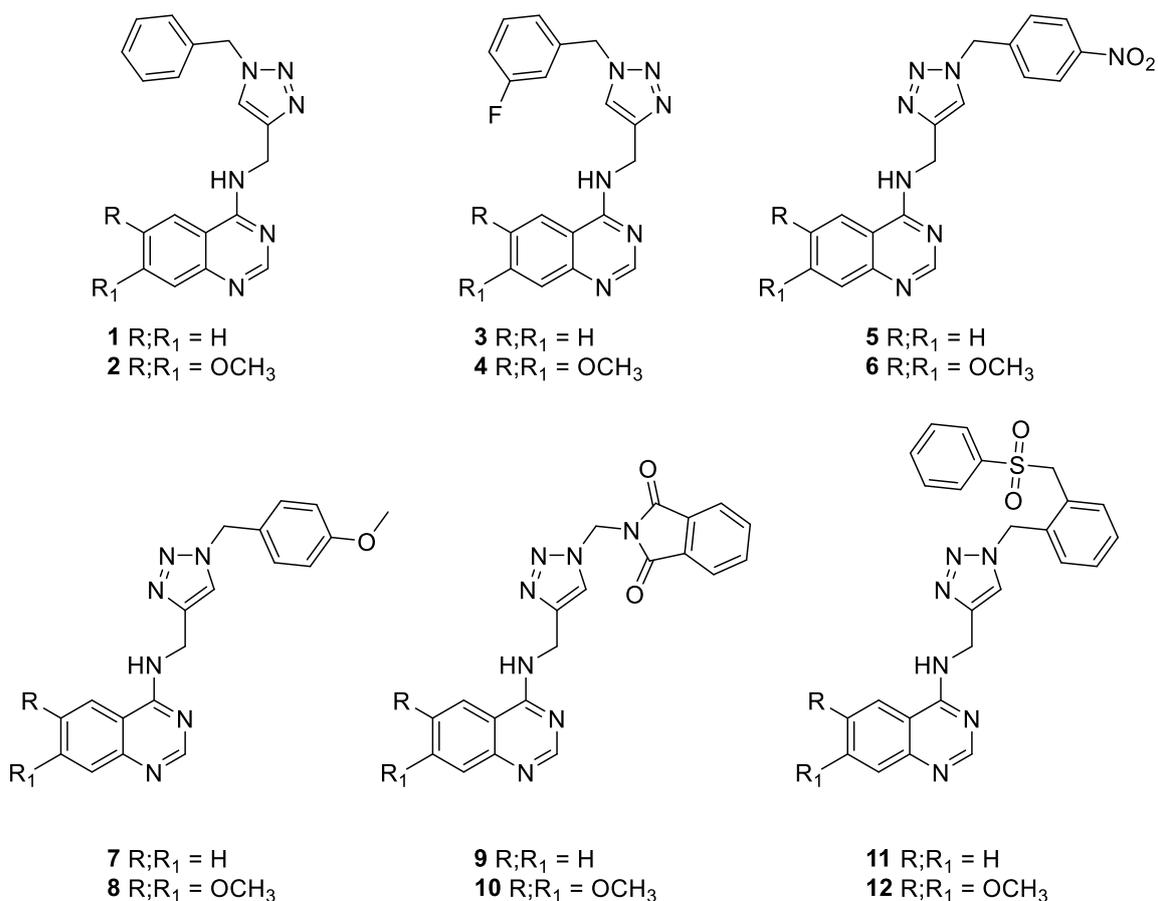


Figura 17. Série de novos derivados 4-aminoquinazolinina sintetizados.

Nestes estudos, a identificação de compostos quinazolínicos capazes de promover a morte de células tumorais sob hipóxia, via inibição da quinase PERK e a marcação destes compostos com radionuclídeos emissores de pósitron poderão fornecer uma ferramenta para a diferenciação/estratificação tumoral por PET e identificação da hipóxia tumoral de forma indireta.

5. CONCLUSÃO

A síntese e avaliação de novo derivado 2-nitroimidazol, contendo o grupo hidrofílico zwitteriônico amôniometil-trifluoroborato (AmBF_3), $^{18}\text{F-AmBF}_3\text{-bu-2NI}$, com potencial para geração de imagens de tumores em hipóxia, assim como a obtenção de derivados quinazolínicos para o tratamento e diagnóstico por PET de tumores sob hipóxia foram adequadamente desenvolvidas no Canadá e Brasil, respectivamente.

O composto **AmBF₃-bu-2NI** foi sintetizado com sucesso em 4 etapas de síntese como intermediário e padrão frio, a partir do reagente 2-nitroimidazol comercial, e este foi convertido no correspondente derivado radiotraçador $^{18}\text{F-AmBF}_3\text{-bu-2NI}$ em uma etapa de radio síntese com a reação de troca isotópica $^{18}\text{F-}^{19}\text{F}$ em bom rendimento radioquímico e atividade específica. Estudos de imagem e biodistribuição *ex vivo* demonstraram farmacocinética favorável com rápido *clearance*/depuração de órgãos/tecidos de fundo. No entanto, a captação tumoral e o contraste tumoral com a radiação de fundo foram insatisfatórios devido, possivelmente, a presença da unidade hidrofílica **AmBF₃**. Desta forma, como perspectivas do trabalho, outros radiotraçadores poderão ser explorados para adequada penetração e retenção em células tumorais sob hipóxia para, de fato, alcançar os alvos intracelulares relacionados a nitro-redutases.

Visando a obtenção de compostos quinazolínicos para o diagnóstico, foram obtidos os intermediários de quinazolinonas chave, necessários para a obtenção dos padrões frios, contendo ^{19}F e como precursor para a radio síntese do radiotraçadores para tumores sob hipóxia. A síntese de cada bloco foi realizada em quatro etapas a partir do ácido 4,5-dimetoxi-2-nitrobenzóico, o qual foi submetido a desmetilação seletiva na posição C-5 e posterior funcionazilação com a cadeia de etileno flúor, para obtenção do padrão ^{19}F (frio, **18**) ou grupo protetor benzil, para obtenção do radiotraçador com ^{18}F (intermediário **32**), seguido de reação de ciclização redutiva na presença de cloreto de índio. A quinazolinona **18**, contendo unidade fluoretileno, foi empregada na obtenção de derivados aminoquinazolínicos **54** (contendo grupo nitro-benzílico) e **65** (contendo grupo 2-nitroimidazol), com os compostos biorredutíveis previamente sintetizados **37** (nitro-benzílico) e **38** (2-nitroimidazol), via substituição nucleofílica aromática ativada por fosfônio. A mesma abordagem foi empregada, adequadamente, para obtenção do precursor da radiomarcção **53**, a partir da

quinazolinona **32** e a unidade biorredutível **37**. Para etapa final de obtenção do radiotraçador para diagnóstico de tumores sob hipóxia foi avaliada a obtenção do 2-[¹⁸F]fluoroetil 4-metilbenzenosulfonato (**34***), entretanto, devido a formação de subprodutos voláteis, não foi possível, ainda, realizar a radiosíntese.

Com relação à obtenção de compostos quinazolínicos com atividade antitumoral, uma série de 12 derivados aminotriazolil-quinazolínicos **1** à **12** foi sintetizada com sucesso, usando a reação de CuAAC, via acoplamento de alcinos e derivados azidos. Desta forma, todos os compostos aminoquinazolínicos obtidos no trabalho, tanto para diagnóstico quanto tratamento, foram avaliados em relação à atividade antitumoral. Inicialmente, foram avaliados os derivados propostos para o diagnóstico **52-54**, **65**, **61** e **63** em ensaios de viabilidade de diversas células tumorais sob condição de hipóxia e normóxia (MDA-MB-231, SKBR3, BT474, PC3, MKN45, U251, U87, MIA PaCa-2, Skmel37, e A549, usando cisplatina como referência). No entanto, a atividade observada foi moderada, uma vez que apenas os derivados contendo grupo nitro-benziltriazolico **61** e **63**, apresentaram, na concentração de 10 µM, cerca de 50% de inibição de células MKN45 em normóxia e 40% em células SKBR3 sob hipóxia, respectivamente.

Em contrapartida, a série de aminotriazolil-quinazolininas proposta para o tratamento, **1-12**, foi avaliada em ensaios antitumorais contra linhagens de células tumorais de mama (MDA-MB-231, SKBR3, BT474, na concentração de 30 µM), empregado os fármacos de referência Erlotinib e Lapatinib. Desta série, apenas o derivado contendo a função ftalimida **9**, não substituído nas posições C-6 e C-7, apresentou cerca de 60% de inibição de células SKBR3 em hipóxia. Paralelamente, a estes ensaios antitumorais, os derivados aminotriazolil-quinazolínicos foram também submetidos a avaliação de triagem da atividade inibitória frente as quinases HER2, EGFR e PERK, na concentração de 10 µM. Novos ensaios serão realizados afim de avaliar a citotoxicidade dos derivados aminoquinazolínicos frente a outras linhagens de células tumorais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOLMAALI, N.; HAASE, R.; KOCH, A.; ZIPS, D.; STEINBACH, J.; BAUMANN, M.; KOTZERKE, J.; ZOEPHEL, K. Two or four [^{18}F]FMISO-PET in HNSCC. When is the contrast best? **Nuklearmedizin**, v. 50, p. 22-27, 2011.

ABRANTES, A. M.; SERRA, M. E.; MURTINHO, D.; GONSALVES, A. R.; BOTELHO, M. F. An insight into tumoral hypoxia: the radiomarkers and clinical applications. **Oncology Reviews**, v. 3, p. 3-18, 2009.

AERTGEERTS, K.; SKENE, R.; YANO, J.; SANG, B. C.; ZOU, H.; SNELL, G.; JENNINGS, A.; IWAMOTO, K.; HABUKA, N.; HIROKAWA, A.; ISHIKAWA, T.; TANAKA, T.; MIKI, H.; OHTA, Y.; SOGABE, S. Structural analysis of the mechanism of inhibition and allosteric activation of the kinase domain of HER2 protein. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 286, p. 18756-65, 2011.

AI, Z.; LU, Y.; QIU, S.; FAN, Z. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeting HIF-1-regulated cancer metabolism. **Cancer Letters**, v. 373, p. 36-44, 2016.

ALEXANDRE, F. R.; BERECEBAR, A.; BESSON, T. Microwave-assisted Niementowski reaction. Back to the roots. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 3911-3913, 2002.

AMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. **Purification of Laboratory Chemicals**, 6th ed., Butterworth-Heinemann, Oxford, 2009.

ASHTON, T. D.; SCAMMELLS, P. J. Microwave-assisted direct amination: Rapid access to multi-functionalized N-6-substituted adenosines. **Australian Journal of Chemistry**, v. 61, p. 49-58, 2008.

AXTEN, J. M. et al. Discovery of 7-Methyl-5-(1-([3-(trifluoromethyl)phenyl]acetyl)-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine (GSK2606414), a Potent and Selective First-in-Class Inhibitor of Protein Kinase R (PKR)-like Endoplasmic Reticulum Kinase (PERK). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 7193-7207, 2012.

BAE, S.; LAKSHMAN, M. K. O6-(benzotriazol-1-yl)inosine derivatives: easily synthesized, reactive nucleosides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, p. 782-9, 2007.

BAI, S.; LI, S.; XU, J.; PENG, X.; SAI, K.; CHU, W.; TU, Z.; ZENG, C.; MACH, R. H. Synthesis and structure-activity relationship studies of conformationally flexible tetrahydroisoquinoliny triazole carboxamide and triazole substituted benzamide analogues as sigma2 receptor ligands. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 4239-4251, 2014.

BERNARD, A. M.; GHIANI, M. R.; PIRAS, P. P.; RIVOLDINI, A.. Dealkylation of Activated Alkyl Aryl Ethers Using Lithium-Chloride in Dimethylformamide. **Synthesis-Stuttgart**, p. 287-289, 1989.

BERNARD-GAUTHIER, V.; ALIAGA, A.; ALIAGA, A.; BOUDJEMELINE, M.; HOPEWELL, R.; KOSTIKOV, A.; ROSA-NETO, P.; THIEL, A.; SCHIRRMACHER, R. Syntheses and Evaluation of Carbon-11- and Fluorine-18-Radiolabeled pan-Tropomyosin Receptor Kinase (Trk) Inhibitors: Exploration of the 4-Aza-2-oxindole Scaffold as Trk PET Imaging Agents. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 6, p. 260-276, 2015.

BINDRA, R. S.; GLAZER, P. M. Genetic instability and the tumor microenvironment: towards the concept of microenvironment-induced mutagenesis. **Mutation Research**, v. 569, p. 75-85, 2005.

BINDRA, R. S.; GLAZER, P. M. Co-repression of mismatch repair gene expression by hypoxia in cancer cells: role of the Myc/Max network. **Cancer Letters**, v. 252, p. 93-103, 2007.

BOLTON, J. L.; MCCLELLAND, R. A. Kinetics and mechanism of the decomposition in aqueous solutions of 2-(hydroxyamino)imidazoles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, p. 8172-8181, 1989.

BOYD, M. R.; PAULI, K. D. Some Practical Considerations and Applications of the National-Cancer-Institute in-Vitro Anticancer Drug Discovery Screen. **Drug Development Research**, v. 34, p. 91-109, 1995.

BRISTOW, R. G.; HILL, R. P. Hypoxia, DNA repair and genetic instability. **Nature Reviews Cancer**, v. 8, p. 180-192, 2008.

BRIZEL, D. M.; SIBLEY, G. S.; PROSNITZ, L. R.; SCHER, R. L.; DEWHIRST, M. W. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. **Journal of Radiation Oncology and Biology Physics**, v. 38, 285-289, 1997.

CAIRNS, R. A.; HARRIS, I. S.; MAK, T. W. Regulation of cancer cell metabolism. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, p. 85-95, 2011.

CARDWELL, D.; ROBINSON, R. XXVIII.-Note on the nitroguaiacols. **Journal of the Chemical Society**, Transactions, v. 107, p. 255-259, 1915.

CAZARES-KORNER, C., PIRES, I. M., SWALLOW, I. D., GRAYER, S. C., O'CONNOR, L. J., OLCINA, M. M., CHRISTLIEB, M., CONWAY, S. J., HAMMOND, E. M. CH-01 is a Hypoxia-activated prodrug that sensitizes cells to hypoxia/reoxygenation through inhibition of Chk1 and Aurora A. **Acs Chemical Biology**, p. 1451-1459, 2013.

CHALLAPALLI, A.; CARROLL, L.; ABOAGYE, E. O. Molecular mechanisms of hypoxia in cancer. **Clinical and Translational Imaging**, v. 5, p. 225-253, 2017.

CHAN, N.; PIRES, I. M.; BENCOKOVA, Z.; COACKLEY, C.; LUOTO, K. R.; BHOGAL, N.; LAKSHMAN, M.; GOTTIPATI, P.; OLIVER, F. J.; HELLEDAY, T.; HAMMOND, E. M.; BRISTOW, R. G. Contextual synthetic lethality of cancer cell

kill based on the tumor microenvironment. **Cancer Research**, v. 70, p. 8045-8054, 2010.

CHANDREGOWDA, V.; KUSH, A. K.; CHANDRASEKARA R. G. Synthesis and in vitro antitumor activities of novel 4-anilinoquinazoline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3046-3055, 2009.

CHANG, Q.; JURISICA, I.; DO, T.; HEDLEY, D. W. Hypoxia predicts aggressive growth and spontaneous metastasis formation from orthotopically grown primary xenografts of human pancreatic cancer. **Cancer Research**, v. 78, p. 3110-3120, 2011.

CHEN, Y.; HU, L. Design of anticancer prodrugs for reductive activation. **Medicinal Research Reviews**, v. 29, p. 29-64, 2009.

CHENG, W. Y.; YUAN, Y. T.; QIU, N.; PENG, P.; SHENG, R.; HU, Y. Z. Identification of novel 4-anilinoquinazoline derivatives as potent EGFR inhibitors both under normoxia and hypoxia. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 6796-6805, 2014.

COMERFORD, K. M.; WALLACE, T. J.; KARHAUSEN, J.; LOUIS, N. A.; MONTALTO, M. C.; COLGAN, S. P. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. **Cancer Research**, v. 62, p. 3387-3394, 2002.

CONNOLLY, D. J.; CUSACK, D.; O'SULLIVAN, T. P.; GUIRY, P. J. Synthesis of quinazolinones and quinazolines. **Tetrahedron**, v. 61, p. 10153-10202, 2005.

CRUZ-GONZALEZ, D. Y.; GONZÁLEZ-OLVERA, R.; NEGRÓN-SILVA, G. E., LOMAS-ROMERO, L., GUTIÉRREZ-CARRILLO, A.; PALOMAR-PARDAVÉ, M. E.; ROMERO-ROMO, M. A.; SANTILLAN, R.; URUCHURTU, J. One-Pot Three-Component Synthesis of New Mono- and Bis-1,2,3-triazole Derivatives of 2-Benzimidazolethiol with a Promising Inhibitory Activity against Acidic Corrosion of Steel. **Synthesis**, v. 46, p. 1217-1223, 2014.

DUBOIS, L. J.; LIEUWES, N. G.; JANSSEN, M. H.; PEETERS, W. J.; WINDHORST, A. D.; WALSH, J. C.; KOLB, H. C.; OLLERS, M. C.; BUSSINK, J.; VAN DONGEN, G. A.; VAN DER KOGEL, A.; LAMBIN, P. Preclinical evaluation and validation of [¹⁸F]HX4, a promising hypoxia marker for PET imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, p. 14620-14625, 2011.

EALLES, K. L.; HOLLINSHEAD, K. E.; TENNANT, D. A. Hypoxia and metabolic adaptation of cancer cells. **Oncogenesis**, v. 5, p. e190, 2016.

ERLER, J. T.; CAWTHORNE, C. J.; WILLIAMS, K. J.; KORITZINSKY, M.; WOUTERS, B. G.; WILSON, C.; MILLER, C.; DEMONACOS, C.; STRATFORD, I. J.; DIVE, C. Hypoxia-mediated down-regulation of Bid and Bax in tumors occurs via hypoxia-inducible factor 1-dependent and -independent mechanisms

and contributes to drug resistance. **Molecular and Cellular Biology**, v.24, p. 2875-2889, 2004.

FLAVAHAN, W. A.; GASKELL, E.; BERNSTEIN, B. E. Epigenetic plasticity and the hallmarks of cancer. **Science**, v. 357, 2017.

FAILES, T. W.; HAMBLEY, T. W. Models of hypoxia activated prodrugs: Co(iii) complexes of hydroxamic acids, **Dalton Transactions**, v. 15, p. 1895-1901, 2006.

FANG, Z., ZHOU, G. C., ZHENG, S. L., HE, G. L., LI, J. L., HE, L., BEI, D. Lithium chloride-catalyzed selective demethylation of aryl methyl ethers under microwave irradiation. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 274, p. 16-23, 2007.

FISCHER, C.; LEITHNER, K.; WOHLKOENIG, C.; QUEHENBERGER, F.; BERTSCH, A.; OLSCHIEWSKI, A.; OLSCHIEWSKI, H.; HRZENJAK, A. Panobinostat reduces hypoxia-induced cisplatin resistance of non-small cell lung carcinoma cells via HIF-1 α destabilization. **Molecular Cancer**, v. 14, 2015.

FORCELLINI, E.; BOUTIN, S.; LEFEBVRE, C. A.; SHAYHIDIN, E. E.; BOULANGER, M. C.; RHÉAUME, G.; BARBEAU, X.; LAGÜE, P.; MATHIEU, P.; PAQUIN, J. F. Synthesis and biological evaluation of novel quinazoline-4-piperidinesulfamide derivatives as inhibitors of NPP1. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 147, p. 130-149, 2018

FYLES, A.; MILOSEVIC, M.; HEDLEY, D.; PINTILIE, M.; LEVIN, W.; MANCHUL, L.; HILL, R. P. Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 20, 680–687, 2002.

GERWECK, L. E.; KOZIN, S. V.; STOCKS, S. J. The pH partition theory predicts the accumulation and toxicity of doxorubicin in normal and low-pH-adapted cells. **The British Journal of Radiology**, v. 79, p. 838-842, 1999.

GHILARDI, A.; PEZZOLI, D.; BELLUCCI, M. C.; MALLOGGI, C.; NEGRI, A.; SGANAPPA, A.; TEDESCHI, G.; CANDIANI, G.; VOLONTERIO, A. Synthesis of multifunctional PAMAM-aminoglycoside conjugates with enhanced transfection efficiency. **Bioconjugate Chemistry**, v. 24, p. 1928-1936, 2013.

GIBSON, H. K. PCT Int. Appl. WO 9633980, 1996.

GRAEBER, T. G.; OSMANIAN, C.; JACKS, T.; HOUSMAN, D. E.; KOCH, C. J.; LOWE, S. W.; GIACCIA, A. J. Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. **Nature**, v. 379, p. 88-91, 1996.

GRAY, L. H.; CONGER, A. D.; EBERT, M.; HORNSEY, S.; SCOTT, O. C. Concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. **The British Journal of Radiology**, v. 26, p. 638-648, 1953.

GRUNBAUM, Z.; FREAUFF, S. J.; KROHN, K. A.; WILBUR, D. S.; MAGEE, S.; RASEY, J. S. Synthesis and characterization of congeners of misonidazole for imaging hypoxia. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 28, p. 68-75, 1987.

GUISE, C. P.; MOWDAY, A. M.; ASHOORZADEH, A.; YUAN, R.; LIN, W. H.; WU, D. H.; SMAILL, J. B.; PATTERSON, A. V.; DING, K. Bioreductive prodrugs as cancer therapeutics: targeting tumor hypoxia. **Chinese Journal of Cancer**, v. 33, p. 80-86, 2014.

GUZY, R. D.; HOYOS, B.; ROBIN, E.; CHEN, H.; LIU, L. P.; MANSFIELD, K. D.; SIMON, M. C.; HAMMERLING, U.; SCHUMACKER, P. T. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing. **Cellular Metabolism**, v. 1, p. 401-408, 2005.

HALL, B. S.; WILKINSON, S. R. Activation of benznidazole by trypanosomal type I nitroreductases results in glyoxal formation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, p. 115-123, 2012.

HAMEED, A.; AL-RASHIDA, M.; UROOS, M.; ALI, S. A.; ARSHIA; ISHTIAQ, M.; KHAN, K. M. Quinazoline and quinazolinone as important medicinal scaffolds: a comparative patent review (2011-2016). **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 28, p. 281-297, 2018.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, p. 646-674, 2011.

HASVOLD, G.; NAHSE-KUMPF, V.; TKACZ-STACHOWSKA, K.; ROFSTAD, E. K.; SYLJUASEN, R. G. The efficacy of CHK1 inhibitors is not altered by hypoxia, but is enhanced after reoxygenation. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 12, p. 705-716, 2013.

HELAL, C. J.; KANG, Z. H.; XINJUN, P.; JAYVARDHAN, C.; THOMAS A.; HUMPHREY, J. M.; MARR, E. S.; FENNELL, K. F.; CHENARD, L. K.; FOX, C.; SCHMIDT, C. J.; WILLIAMS, R. D.; CHAPIN, D. S.; SIUCIAK, J. LABEL, L.; MENNITI, F.; CIANFROGNA, J.; FONSECA, K. R.; NELSON, F. R., O'CONNOR, R.; MACDOUGALL, M., MCDOWELL, L.; LIRAS, S. Use of structure-based design to discover a potent, selective, in vivo active phosphodiesterase 10A inhibitor lead series for the treatment of schizophrenia. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 4536-4547, 2011.

HENNEQUIN, L. F.; THOMAS, A. P.; JOHNSTONE, C.; STOKES, E. S. E.; PLE, P. A.; LOHMANN, J. J. M.; OGILVIE, D. J.; DUKES, M.; WEDGE, S. R.; CURWEN, J. O.; KENDREW, J.; LAMBERT-VAN DER BREMPT, C. Design and Structure-Activity Relationship of a New Class of Potent VEGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 5369-5389, 1999.

HIMMELSBACH, F. et al. Bicyclic heterocycles, pharmaceutical compositions containing these compounds, and processes for preparing them. **WO 2000055141 A1**, 2000.

HUANG, Y. C.; CAO, C.; TAN, X. L.; LI, X.; LIU, L. Facile solid-phase synthesis of PNA-peptide conjugates using pNZ-protected PNA monomers. **Organic Chemistry Frontiers**, v. 1, p. 1050-1054, 2014.

HUGHES, R. A.; THOMPSON, S. P.; ALCARAZ, L.; MOODY, C. J. Total synthesis of the thiopeptide antibiotic amythiamicin D. **Journal of the Chemical Society**, v. 127, p. 15644-15651, 2005.

IRIE, H.; FUJII, N.; OGAWA, H.; YAJIMA, H.; FUJINO, M.; SHINAGAWA, S. Role of methionine in the facilitated cleavage of aromatic ethers by methanesulphonic acid. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, p. 922-923, 1976.

JOSHI, B. S.; DESAI, H. K.; PELLETIER, S. W. Synthesis of Pratorimine. **Journal of Natural Products**, v. 49, p. 445-448, 1986.

JIN, H.; DAN, H. G.; RAO, G. W. Research progress in quinazoline derivatives as multi-target tyrosine kinase inhibitors. **Heterocyclic Communications**, v. 24, p. 1-10, 2018.

JERABEK, P. A.; PATRICK, T. B.; KILBOURN, M. R.; DISCHINO, D. D.; WELCH, M. J. Synthesis and biodistribution of ¹⁸F-labeled fluoronitroimidazoles: potential in vivo markers of hypoxic tissue. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 37, p. 599-605, 1986.

KAGADIS, G.; FORD, N. L.; KARNABATIDIS, D. N.; LOUDOS, G. K. **Handbook of Small Animal Imaging: Preclinical Imaging, Therapy, and Applications**. Editors. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016.

KARNTHALER-BENBAKKA, C.; GROZA, D.; KOBLMULLER, B.; TERENCE, A.; HOLSTE, K.; HAIDER, M.; BAIER, D.; BERGER, W.; HEFFETER, P.; KOWOL, C. R.; KEPPLER, B. K. Targeting a Targeted Drug: An Approach Toward Hypoxia-Activatable Tyrosine Kinase Inhibitor Prodrugs. **ChemMedChem**, v. 11, p. 2410–2421, 2016.

KARNTHALER-BENBAKKA, C.; GROZA, D.; KRYEZIU, K.; PICHLER, V.; ROLLER, A.; BERGER, W.; HEFFETER, P.; KOWOL, C. R. Tumor-targeting of EGFR inhibitors by hypoxia-mediated activation. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 53, p. 12930-12935, 2013.

KHAN, I.; IBRAR, A.; ABBAS, N.; SAEED, A. Recent advances in the structural library of functionalized quinazoline and quinazolinone scaffolds: synthetic approaches and multifarious applications. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 76, p. 193-244, 2014.

KISO, Y.; NAKAMURA, S.; ITO, K.; UKAWA, K.; KITAGAWA, K.; AKITA, T.; MORITOKI, H. Deprotection of O-methyltyrosine by a 'push-pull' mechanism using the thioanisole-trifluoromethanesulphonic acid system. Application to the

convenient synthesis of a potent *N*-methylenekephalin derivative. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, p. 971-972, 1979.

KIZAKA-KONDOH, S.; KONSE-NAGASAWA, H. Significance of nitroimidazole compounds and hypoxia-inducible factor-1 for imaging tumor hypoxia. **Cancer Science**, v. 100, p. 1366-1373, 2009.

KNIESS, T.; LAUBE, M.; BRUST, P.; STEINBACH, J. 2-[¹⁸F]Fluoroethyl tosylate - a versatile tool for building ¹⁸F-based radiotracers for positron emission tomography. **MedChemComm**, v. 6, p. 1714-1754, 2015.

KUMAR, P.; STYPINSKI, D.; XIA, H.; MCEWAN, A. J. B.; MACHULLA, H. J. A simple and highly efficient process for synthesis of gefitinib and its intermediate. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 53B, p. 1269-1274, 2014.

KUNDU, S. K.; MAHINDARATNE, M. P. D.; QUINTERO, M. V.; BAO, A.; NEGRETE, G. R. One-pot reductive cyclization to antitumor quinazoline precursors. **Archive for Organic Chemistry**, p. 33-42, 2008.

KYLE, A. H.; HUXHAM, L. A.; YEOMAN, D. M.; MINCHINTON, A. I. Limited tissue penetration of taxanes: a mechanism for resistance in solid tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 13, p. 2804-2810, 2007.

LAU, J.; LIU, Z. B.; LIN, K. S.; PAN, J. H.; ZHANG, Z. X.; VULLO, D.; SUPURAN, C. T.; PERRIN, D. M. ; BENARD, F. Trimeric Radiofluorinated Sulfonamide Derivatives to Achieve In Vivo Selectivity for Carbonic Anhydrase IX-Targeted PET Imaging. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 56, p. 1434-1440, 2015.

LEE, N. Y.; MECHALAKOS, J. G.; NEHMEH, S.; LIN, Z.; SQUIRE, O. D.; CAI, S.; CHAN, K.; ZANZONICO, P. B.; GRECO, C.; LING, C. C.; HUMM, J. L.; SCHODER, H. Fluorine-18-labeled fluoromisonidazole positron emission and computed tomography-guided intensity-modulated radiotherapy for head and neck cancer: a feasibility study. **International Journal of Radiation Oncology * Biology * Physics**, v. 70, p. 2-13, 2008.

LEE, L. V.; MITCHELL, M. L.; HUANG, S. J.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; WONG, C. H. A potent and highly selective inhibitor of human alpha-1,3-fucosyltransferase via click chemistry. **Journal of American Chemical Society**, v. 125, p. 9588-9589, 2003.

LI, F.; FENG, Y.; MENG, Q.; LI, W.; LI, Z.; WANG, Q.; TAO, F. An efficient construction of quinazolin-4(3H)-ones under microwave irradiation. **Arkivoc**, p. 40-50, 2007.

LIN, A.; MAITY, A. Molecular Pathways: A Novel Approach to Targeting Hypoxia and Improving Radiotherapy Efficacy via Reduction in Oxygen Demand. **Clinical Cancer Research**, v. 21, p. 1995-2000, 2015.

LIU, Z.; AMOUROUX, G.; ZHANG, Z.; PAN, J.; HUNDAL-JABAL, N.; COLPO, N.; LAU, J.; PERRIN, D. M.; BENARD, F.; LIN, K. S. (18)F-trifluoroborate derivatives of [des-arg(10)]kallidin for imaging bradykinin b1 receptor expression with positron emission tomography. **Molecular pharmaceuticals**, v. 12, p. 974-982, 2015.

LIU, Z., LIN, K. S., BENARD, F., POURGHASIAN, M., KIESEWETTER, D. O., PERRIN, D. M. AND CHEN, X. One-step ¹⁸F-labeling of biomolecules using organotrifluoroborates. **Nature Protocols**, v. 10, p. 1423-1432, 2015.

LIU, Z.; POURGHASIAN, M.; RADTKE, M.; A.; LAU, J.; PAN, J.; DIAS, G. M.; YAPP, D.; LIN, K. S.; BÉNARD, F.; PERRIN, D. M. An organotrifluoroborate for broadly applicable one-step ¹⁸F-labelling. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, p. 11876-11880, 2014.

LOCKMAN, J. W.; KLIMOVA, Y.; ANDERSON, M. B.; WILLARSEN, J. A. Synthesis of Substituted Quinazolines: Application to the Synthesis of Verubulin. **Synthetic Communications**, v. 42, p. 1715-1723, 2012.

LOPCI, E., GRASSI, I., CHITI, A., NANNI, C., CICORIA, G., TOSCHI, L., FONTI, C., LODI, F., MATTIOLI, S., FANTI, S. PET radiopharmaceuticals for imaging of tumor hypoxia: a review of the evidence. **American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 4, p. 365-384, 2014.

LUESCHER, M. U.; VO, C. V. T.; BODE, J. W. SnAP reagents for the synthesis of piperazines and morpholines. **Organic Letters**, v. 16, p. 1236-1239, 2014.

LÜTH, A.; LÖWE, W. Syntheses of 4-(indole-3-yl)quinazolines – A new class of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1478-1488, 2008.

MARZARO, G.; GUIOTTO, A.; CHILIN, A. Quinazoline derivatives as potential anticancer agents: a patent review (2007-2010). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 22, p. 223-252, 2012.

MIN, J.; GUO, K.; SURYADEVARA, P. K.; ZHU, F.; HOLBROOK, G.; CHEN, Y.; FEAU, C.; YOUNG, B. M.; LEMOFF, A.; CONNELLY, M. C.; KASTAN, M. B.; GUY, R. K. Optimization of a Novel Series of Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase Inhibitors as Potential Radiosensitizing Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 559-77, 2016.

MISALE, S. et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. **Nature**, v. 486, p. 532-536, 2012.

MUZ, B.; PUENTE, P.; AZAB, F.; AZAB, A. K. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. **Hypoxia (Auckland)**, p. 83-92, 2015.

NCI - National Cancer Institute. "What Is Cancer?. Disponível em <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>> Acessado em 10 de Julho de 2018.

NAGAOKA, H.; SCHMID, G.; IIO, H.; KISHI, Y. A synthesis of the aromatic segment of rifamycin s. **Tetrahedron Letters**, v. 22, p. 899-902, 1981.

NORDSMARK, M.; BENTZEN, S. M.; RUDAT, V.; BRIZEL, D.; LARTIGAU, E.; STADLER, P.; BECKER, A.; ADAM, M.; MOLLS, M.; DUNST, J.; TERRIS, D. J.; OVERGAARD, J. Prognostic value of tumor oxygenation in 397 head and neck tumors after primary radiation therapy. An international multi-center study. **Radiotherapy and Oncology**, v. 77, 18–24, 2005.

NORDSMARK, M.; ALSNER, J.; KELLER, J.; NIELSEN, O. S.; JENSEN, O. M.; HORSMAN, M. R.; OVERGAARD, J. Hypoxia in human soft tissue sarcomas: adverse impact on survival and no association with p53 mutations. **British Journal of Cancer**, v. 84, p. 1070–1075, 2001.

PENCREACH, E.; GUERIN, E.; NICOLET, C.; LELONG-REBEL, I.; VOEGELI, A. C.; OUDET, P.; LARSEN, A. K.; GAUB, M. P.; GUENOT, D. Marked activity of irinotecan and rapamycin combination toward colon cancer cells in vivo and in vitro is mediated through cooperative modulation of the mammalian target of rapamycin/hypoxia-inducible factor-1alpha axis. **Clinical Cancer Research**, v. 15, p. 1297-307, 2009.

PENNACCHIETTI, S.; MICHELI, P.; GALLUZZO, M.; MAZZONE, M.; GIORDANO, S.; COMOGLIO, P. M. Hypoxia promotes invasive growth by transcriptional activation of the met protooncogene. **Cancer Cell**, v. 3, p. 347-361, 2003.

PIERT, M.; MACHULLA, H. J.; PICCHIO, M.; REISCHL, G.; ZIEGLER, S.; KUMAR, P.; WESTER, H. J.; BECK, R.; MCEWAN, A. J.; WIEBE, L. I.; SCHWAIGER, M. Hypoxia-specific tumor imaging with ¹⁸F-fluoroazomycin arabinoside. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 46, p. 106-113, 2005.

PITTS, M. R.; HARRISON, J. R.; MOODY, C. J. Indium metal as a reducing agent in organic synthesis. **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1**, p. 955-977, 2001.

PHILLIPS, R. M. Targeting the hypoxic fraction of tumours using hypoxia-activated prodrugs. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 77, p. 441-457, 2016.

PORE, N.; JIANG, Z.; GUPTA, A.; CERNIGLIA, G.; KAO, G. D.; MAITY, A. EGFR tyrosine kinase inhibitors decrease VEGF expression by both hypoxia-inducible factor (HIF)-1-independent and HIF-1-dependent mechanisms. **Cancer Research**, v. 66, n. 6, p. 3197-31204, 2006.

POURGHASIAN, M; LIU, Z.; PAN, J.; ZHANG, Z; COLPO, N.; LIN, K. S.; PERRIN, D. M. BÉNARD, F. ¹⁸F-AmBF3-MJ9: a novel radiofluorinated bombesin

derivative for prostate cancer imaging. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 1500-1506, 2015.

PYTA, K.; KLICH, K.; DOMAGALSKA, J.; PRZYBYLSKI, P. Structure and evaluation of antibacterial and antitubercular properties of new basic and heterocyclic 3-formylrifamycin SV derivatives obtained via 'click chemistry' approach. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 84, p. 651-676, 2014.

RASEY, J. S.; KOH, W. J.; EVANS, M. L.; PETERSON, L. M.; LEWELLEN, T. K.; GRAHAM, M. M.; KROHN, K. A. Quantifying regional hypoxia in human tumors with positron emission tomography of [¹⁸F]fluoromisonidazole: a pretherapy study of 37 patients. **International Journal of Radiation Oncology * Biology * Physics**, v. 36, p. 417-428, 1996.

RICE, G. C.; HOY, C.; SCHIMKE, R. T. Transient hypoxia enhances the frequency of dihydrofolate reductase gene amplification in Chinese hamster ovary cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, v. 83, p. 5978-5982, 1986.

RICE, K.; MARKBY, D. Benzoxazepines as inhibitors of pi3k/mtor and methods of their use and manufacture.. **WO 2012068096 A2**, 2012.

ROHILLA, S., PATEL, S. S., JAIN, N. Copper Acetate Catalyzed Regio-selective Synthesis of Substituted 1,2,3-Triazoles: A Versatile Azide-Alk-ene Cycloaddition/Oxidation Approach. **European Journal of Organic Chemistry**, p. 847-854, 2016.

ROUSCHOP, K. M. A.; BEUCKEN, T.; DUBOIS, L.; NIESSEN, H.; BUSSINK, J.; SAVELKOULS, K.; KEULERS, T.; MUJCIC, H.; LANDUYT, W.; VONCKEN, J. W.; LAMBIN, P.; KOGEL, A. J.; KORITZINSKY, M.; WOUTERS, B. G. The unfolded protein response protects human tumor cells during hypoxia through regulation of the autophagy genes *MAP1LC3B* and *ATG5*. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, p. 127-141, 2010.

SCHIRRMACHER, R.; WEBER, M.; SCHMITZ, A.; SHIUE, C.; ALAVI, A. A.; FEILEN, P.; SCHNEIDER, S.; KANN, P.; ROSCH, F. Radiosynthesis of 1-(4-(2-[¹⁸F] fluoroethoxy) benzenesulfonyl)-3-butyl urea: a potential β -cell imaging agent. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, v. 45, p. 763-774, 2002.

SCHOULTZ, B. W.; REED, B. J.; MARTON, J.; WILLOCH, F.; HENRIKSEN, G. A Fully Automated radiosynthesis of [¹⁸F] fluoroethyl-diprenorphine on a single module by use of SPE cartridges for preparation of high quality 2-[¹⁸F] fluoroethyl tosylate. **Molecules**, v. 18, p. 7271-7278, 2013.

SCHWAN, G.; BARBAR ASSKAR, G.; HOFGEN, N.; KUBICOVA, L.; FUNKE, U.; EGERLAND, U.; ZAHN, M.; NIEBER, K.; SCHEUNEMANN, M.; STRATER, N.; BRUST, P.; BRIEL, D. Fluorine-containing 6,7-dialkoxybiaryl-based inhibitors for phosphodiesterase 10A: synthesis and in vitro evaluation of inhibitory potency, selectivity, and metabolism. **ChemMedChem**, v. 9, p. 1476-1487, 2014.

SEMENZA, G. L. Hypoxia, clonal selection, and the role of HIF-1 in tumor progression. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 71-103, 2000.

SEMENZA, G. L. Regulation of metabolism by hypoxia-inducible factor 1. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 76, p. 347-353, 2011.

SHINKARUK, S.; LAMOTHE, V.; SCHMITTER, J. M.; FRUCTUS, A.; SAUVANT, P.; VERGNE, S.; DEGUEIL, M.; BABIN, P.; BENNETAU, B.; BENNETAU-PELISSERO, C. Synthesis of haptens and conjugates for ELISA of glycitein: Development and validation of an immunological test. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6809-6817, 2008.

SLOBBE, P.; WINDHORST, A. D.; WALSUM, M. S.; SCHUIT, R. C.; SMIT, E. F.; NIESSEN, H. G.; SOLCA, F.; STEHLE, G.; VAN DONGEN, G. A. M. S.; POOT, A. J. Development of [¹⁸F]afatinib as new TKI-PET tracer for EGFR positive tumors. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 41, p. 749-57, 2014.

SUN, J.; LI, D. D.; LI, J. R.; FANG, F.; DU, Q. R.; QIAN, Y.; ZHU, H. L. Design, synthesis, biological evaluation, and molecular modeling study of 4-alkoxyquinazoline derivatives as potential VEGFR2 kinase inhibitors. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 11, p. 7676-7686, 2013.

SLOBBE, P.; POOT, A. J.; WINDHORST, A. D.; DONGEN, G. A. PET imaging with small-molecule tyrosine kinase inhibitors: TKI-PET. **Drug Discovery Today**, v. 17, p. 1175-87, 2012.

TEICHER, B. A.; LAZO, J. S.; SARTORELLI, A. C. Classification of antineoplastic agents by their selective toxicities toward oxygenated and hypoxic tumor cells. **Cancer Research**, v. 41, p. 73-81, 1981.

VAUPEL, P.; HARRISON, L. Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response. **The oncologist**, v. 9, p. 4-9, 2004.

VICHAI, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature Protocols**, v. 1, p. 1112, 2006.

WALTER, P.; RON, D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. **Science**, v. 334, p. 1081-1086, 2011.

WAN, Z. K.; WACHARASINDHU, S.; BINNUN, E.; MANSOUR, T. An efficient direct amination of cyclic amides and cyclic ureas. **Organic Letters**, v. 8, p. 2425-2428, 2006.

WAN, Z. K.; WACHARASINDHU, S.; LEVINS, C. G.; LIN, M.; TABELI, K.; MANSOUR, T. S. The scope and mechanism of phosphonium-mediated S(N)Ar reactions in heterocyclic amides and ureas. **Journal of Organic Chemistry**, v. 72, p. 10194-10210, 2007.

WANG, Y.; OHH, M. Oxygen-mediated endocytosis in cancer. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, p. 496-503, 2010.

WARBURG, O. On the Origin of Cancer Cells. **Science**, v. 123, p. 309, 1956.

WARFEL, N. A.; SAINZ, A. G.; SONG, J. H.; KRAFT, A. S. PIM Kinase Inhibitors Kill Hypoxic Tumor Cells by Reducing Nrf2 Signaling and Increasing Reactive Oxygen Species. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 15, p. 1637-47, 2016.

WEBER, C.; BIELIK, A.; DEMETER, A.; BORZA, I.; SZENDREI, G. I.; KESERU, G. M.; GREINER, I. Solid-phase synthesis of 6-hydroxy-2,4-diaminoquinazolines. **Tetrahedron**, v. 61, p. 9375-9380, 2005.

WEBER, J.; HABERKORN, U.; MIER, W. Cancer stratification by molecular imaging. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 4918-4946, 2015.

WEISSLEDER, R.; PITTET, M. J. Imaging in the era of molecular oncology. **Nature**, v. 452, p. 580-589, 2008.

WEISSLEDER, R.; ROSS, B. D.; REHEMTULLA, A.; GAMBHIR, S. S. **Molecular Imaging: Principles and Practice**, ed. 1, 2010.

WILSON, W. R.; HAY, M. P. Targeting hypoxia in cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, p. 393-410, 2011.

WIRTHNER, R.; WRANN, S.; BALAMURUGAN, K.; WENGER, R. H.; STIEHL, D. P. Impaired DNA double-strand break repair contributes to chemoresistance in HIF-1 alpha-deficient mouse embryonic fibroblasts. **Carcinogenesis**, v. 29, p. 2306-2316, 2008.

WOHLKOENIG, C.; LEITHNER, K.; DEUTSCH, A.; HRZENJAK, A.; OLSCHIEWSKI, A.; OLSCHIEWSKI, H. Hypoxia-induced cisplatin resistance is reversible and growth rate independent in lung cancer cells. **Cancer Letters**, v. 308, p. 134-143, 2011.

WOOD, E. R.; TRUESDALE, A. T.; MCDONALD, O. B.; YUAN, D.; HASSELL, A.; DICKERSON, S. H.; ELLIS, B.; PENNISI, C.; HORNE, E.; LACKEY, K.; ALLIGOOD, K. J.; RUSNAK, D. W.; GILMER, T. M.; SHEWCHUK, L. A Unique Structure for Epidermal Growth Factor Receptor Bound to GW572016 (Lapatinib). Relationships among Protein Conformation, Inhibitor Off-Rate, and Receptor Activity in Tumor Cells. **Cancer Research**, v. 64, p. 6652-6659, 2004.

WOUTERS, B. G.; KORITZINSKY, M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 8, p. 851-864, 2008.

WUEST, M.; WUEST, F. Positron emission tomography radiotracers for imaging hypoxia. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, v. 56, p. 244-50, 2013.

WU, P.; NIELSEN, T. E.; CLAUSEN, M. H. FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, p. 422-39, 2015.

YAMASAKI, F.; ZHANG, D.; BARTHOLOMEUSZ, C.; SUDO, T.; HORTOBAGYI, G. N.; KURISU, K.; UENO, N. T. Sensitivity of breast cancer cells to erlotinib depends on cyclin-dependent kinase 2 activity. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 6, p. 2168-2177, 2007.

YANG, D.; COMEAU, A.; BOWEN, W. D.; MACH, R. H.; ROSS, B. D.; HONG, H.; VAN DORT, M. E. Design and investigation of a [¹⁸F]-labeled benzamide derivative as a high affinity dual sigma receptor subtype radioligand for prostate tumor imaging. **Molecular pharmaceuticals**, v. 14, p. 770-780, 2017.

YOTNDA, P.; WU, D.; SWANSON, A. M. Hypoxic tumours and their effect on immune cells and cancer therapy. **Methods in Molecular Biology**, v. 651, p.1-29, 2010.

YU, K.; SHI, C.; TORAL-BARZA, L.; LUCAS, J.; SHOR, B.; KIM, J. E.; ZHANG, W. G.; MAHONEY, R.; GAYDOS, C.; TARDIO, L.; KIM, S. K.; CONANT, R.; CURRAN, K.; KAPLAN, J.; VERHEIJEN, J.; AYRAL-KALOUSTIAN, S.; MANSOUR, T. S.; ABRAHAM, R. T.; ZASK, A.; GIBBONS, J. J. Beyond Rapalog Therapy: Preclinical Pharmacology and Antitumor Activity of WYE-125132, an ATP-Competitive and Specific Inhibitor of mTORC1 and mTORC2. **Cancer Research**, v. 70, p. 621-631, 2010.

YU, T.; TANG, B.; SUN, X. Development of Inhibitors Targeting Hypoxia-Inducible Factor 1 and 2 for Cancer Therapy. **Yonsei Medical Journal**, v. 58, n. 3, p. 489-496, 2017.

ZHANG, D. W.; PAL, A.; BORNMANN, W. G.; YAMASAKI, F.; ESTEVA, F. J.; HORTOBAGYI, G. N.; BARTHOLOMEUSZ, C. UENO, N. T. Activity of lapatinib is independent of EGFR expression level in HER2-overexpressing breast cancer cells. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 7, p. 1846-1850, 2008.

ZHA, Z.; ZHU, L.; LIU, Y.; DU, F.; GAN, H.; QIAO, J.; KUNG, H. F. Synthesis and evaluation of two novel 2-nitroimidazole derivatives as potential PET radioligands for tumor imaging. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 38, p. 501-508, 2011.

ZHANG, Z.; LAU, J.; KUO, H. T.; ZHANG, C.; HUNDAL-JABAL, N.; COLPO, N.; BÉNARD, F.; LIN, K. S. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled 4-nitrobenzyl derivatives for imaging tumor hypoxia with positron emission tomography: comparison of 2-[¹⁸F]fluoroethyl carbonate and 2-[¹⁸F]fluoroethyl carbamate. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 584-588, 2016.