



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) BR 122022005149-9 B1**



**(22) Data do Depósito:** 11/04/2008

**(45) Data de Concessão:** 27/09/2022

**(54) Título:** COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTICÂNCER, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE OS COMPREENDE E SEUS USOS

**(51) Int.Cl.:** C07D 401/12; C07D 401/14; C07D 403/04; C07D 405/14; C07D 417/12; (...).

**(30) Prioridade Unionista:** 11/04/2007 US 60/911,258.

**(73) Titular(es):** CANBAS CO., LTD..

**(72) Inventor(es):** TAKUMI KAWABE; MACHIYO ISHIGAKI; TAKUJI SATO; SAYAKA YAMAMOTO; YOKO HASEGAWA.

**(86) Pedido PCT:** PCT IB2008003036 de 11/04/2008

**(87) Publicação PCT:** WO 2009/031040 de 12/03/2009

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 18/03/2022

**(62) Pedido Original do Dividido:** PI0810911-7 - 11/04/2008

**(57) Resumo:** A presente invenção fornece novas azol dionas substituídas que eliminam células, suprimem a proliferação celular, suprimem o crescimento celular, anulam a barreira do ciclo celular em G2 e/ou causam adaptação à interrupção do ciclo celular em G2. A presente invenção fornece métodos para fazer e usar os compostos da invenção. A presente invenção fornece azol dionas substituídas para tratar distúrbios proliferativos celulares. A presente invenção inclui o uso de azol dionas substituídas para eliminar ou suprimir seletivamente células cancerosas sem tratamento anticâncer adicional. A presente invenção inclui o uso de azol dionas substituídas que anulam a barreira do ciclo celular em G2 para sensibilizar seletivamente células cancerosas a reagentes lesionadores de DNA, tratamentos e/ou outros tipos de reagentes anticâncer.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para  
**"COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTICÂNCER, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE OS COMPREENDE E SEUS USOS".**

Dividido do PI0810911-7, depositado em 11.4.2008.

Pedidos Correlatos

[0001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade para o Pedido Provisório US Nº 60/911.258, depositado em 11 de abril de 2007. Aqui incorporado em sua integridade a título de referência.

Campo da Invenção

[0002] A presente invenção refere-se a novos compostos de azol diona substituída tendo atividade anticâncer e/ou atividade contra células proliferantes, e a métodos para fazer e usar esses compostos, em que os compostos de azol diona substituída anulam a barreira do ceclocelular em G2 e/ou causam adaptação à interrupção do ceclocelular. A invenção inclui o uso de compostos de azol diona substituída para suprimir ou eliminar seletivamente células cancerosas, com ou sem tratamento anticâncer adicional. A invenção inclui o uso de compostos de azol diona substituída que anulam a barreira do ceclocelular em G2 oferecidos nesta invenção, para seletivamente sensibilizar células cancerosas a agentes lesionadores de DNA, tratamentos lesionadores de DNA e/ou outros tipos de agentes anticâncer.

Antecedentes

[0003] O ceclocelular compreende a fase S (replicação de DNA), a fase M (mitose), e duas fases de hiato (fases G1 e G2) entre as fases S e M. Barreiras no ceclocelular garantem a progressão precisa através dos estágios do ceclocelular, e incluem monitoramento da integridade do DNA, da replicação do DNA, do tamanho das células, e do meio ambiente (Maller (1991) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 3:26). As barreiras no ceclocelular que monitoram o estado do genoma incluem

a barreira G1 antes do início da replicação do DNA e a barreira G2 antes do início da mitose. A barreira G1 possibilita a detecção e o reparo do DNA lesionado antes de ele entrar na fase S, oferecendo assim uma função protetora crucial porque, quando o DNA lesionado é replicado, ele geralmente ocasiona mutações (Hartwell (1992) *Cell* 71: 543). A barreira G2 possibilita a detecção e o reparo do DNA lesionado antes de ele entrar na fase de mitose (fase M), oferecendo assim uma função protetora crucial porque a mitose sem reparo do DNA pode propagar a lesão pelas células filhas com DNA lesionado, ou a mitose pode falhar totalmente. Progressão através das barreiras G1 e G2 sem amplo reparo da lesão no DNA normalmente resulta em morte celular.

[0004] Inibição da barreira G2 do ciclo celular por peptídeos, peptidomiméticos, e "moléculas pequenas" já foi usada para atacar seletivamente células cancerosas porque a maioria das células cancerosas são defeituosas em uma ou nas duas principais barreiras do ciclo celular que protegem as células contra os efeitos de lesão no DNA, de modo que a inibição da barreira G2 permite que células com DNA lesionado entrem novamente no ciclo celular sem reparo da lesão no DNA. (Kawabe T. (2004) "G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs" *Mol Cancer Ther* 3: 513-519). Embora o mecanismo molecular da barreira G2 do ciclo celular tenha sido bastante estudado, ainda não foi estabelecido nos estudos mais recentes um único alvo molecular para a anulação terapêutica da barreira G2. Foi desenvolvido um protocolo de rastreamento baseado em fenótipos para identificar de forma eficiente inibidores da barreira G2. (Suganuma M. & Kawabe T., EP Application No. 00964563; Sha *et al.* (2007) *Mol Cancer Ther* 6: 147-153), em que o rastreamento baseado em fenótipos do ciclo celular de peptídeos que anulam a barreira G2 identificou o CBP501 com um mecanismo de ação extraordinário na barreira G2 do ciclo celular. (Sha *et al.* (2007) *Mol Cancer Ther* 6: 147-

153).

### Sumário da Invenção

[0005] A presente invenção oferece compostos para tratar distúrbios proliferativos celulares. Em particular, a invenção oferece compostos que incluem: terc-butila 3-(1- {[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila-2,5-dioxazolin-3-il) propanoato (intercambiavelmente denominado S001860, S01860, ou S1860, *isto é*, S001860 = S01860 = S1860); 1-{[6-cloro-3-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}- 3,4- dimetilazolina-2,5-diona (S00109 = S0109 = S109); 3-(Butoximetil)- 1-{[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino}- 4-metilazolina- 2,5-diona (S03518); 1-{[6-Cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino}- 4-metila- 3-[(3-metilbutóxi) metila] azolina- 2,5-diona (S03405); 3-[(3,3-Dimetilbutóxi) metila]- 1-{[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino}- 4-metilazolina- 2,5-diona (S03747); e compostos relacionados, em que esses compostos, quando administrados a células ou a um indivíduo, têm efeitos que podem incluir a eliminação ou a supressão de células indesejavelmente proliferantes associadas a um distúrbio proliferativo celular.

[0006] A presente invenção oferece compostos que eliminam ou suprimem células indesejavelmente proliferantes associadas a um distúrbio proliferativo celular. A presente invenção oferece compostos que anulam a barreira G2 do ciclo celular e/ou causam adaptação à interrupção do ciclo celular em G2. A presente invenção oferece compostos que anulam a barreira G2 do ciclo celular e/ou causam adaptação à interrupção do ciclo celular, levando à morte ou supressão de células indesejavelmente proliferantes. A presente invenção oferece compostos que anulam a barreira G2 do ciclo celular e/ou causam adaptação à interrupção do ciclo celular, levando à morte ou supressão de células com DNA lesionado. A presente invenção oferece compostos tendo atividade citotóxica contra células

cancerosas. A presente invenção oferece compostos tendo atividade citotóxica contra células cancerosas, incluindo porém sem limitação Células cancerosas com DNA lesionado. A presente invenção oferece compostos tendo atividade citotóxica contra células cancerosas, incluindo porém sem limitação células cancerosas com o ciclo celular em G2 interrompido devido a um DNA lesionado. A presente invenção oferece compostos tendo atividade citotóxica contra células cancerosas, e pouca ou nenhuma atividade citotóxica contra células normais. A presente invenção oferece compostos que podem aumentar o efeito citotóxico de outros agentes e tratamentos anticâncer, especialmente agentes anticâncer lesionadores de DNA e tratamentos anticâncer lesionadores de DNA. A presente invenção oferece compostos que podem sensibilizar as células a outros agentes e tratamentos anticâncer, especialmente agentes anticâncer lesionadores de DNA e tratamentos anticâncer lesionadores de DNA. A presente invenção oferece métodos para fazer e usar os compostos apresentados neste relatório. A presente invenção oferece composições farmacêuticas contendo os compostos da invenção.

[0007] A presente invenção oferece compostos para uso no tratamento de um distúrbio proliferativo celular. A presente invenção oferece compostos para uso no tratamento de câncer, por exemplo, para o tratamento de proliferação celular indesejável associada a células de tumores benignos e malignos, células de leucemia, células de linfoma, ou células de mieloma múltiplo. A presente invenção oferece compostos para uso na anulação da barreira G2 do ciclo celular em células indesejavelmente proliferantes tais como células cancerosas, por exemplo, células de tumores benignos e malignos, células de leucemia, células de linfoma, ou células de mieloma múltiplo. A presente invenção oferece compostos para uso para causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 em

células indesejavelmente proliferantes such as células cancerosas, por exemplo, células de tumores benignos e malignos, células de leucemia, células de linfoma, ou células de mieloma múltiplo.

[0008] A presente invenção oferece métodos para tratar um distúrbio proliferativo celular por administração de uma quantidade eficaz de um composto da invenção in vivo, ex vivo, ou in vitro. A presente invenção oferece métodos para tratar um distúrbio proliferativo celular por administração de uma quantidade eficaz de um composto da invenção a um indivíduo. A presente invenção oferece métodos para tratar um distúrbio proliferativo celular em que o distúrbio proliferativo celular é câncer, incluindo porém sem limitação linfoma, mieloma, ou leucemia. A presente invenção oferece métodos para tratar câncer por administração de uma quantidade eficaz de um composto e administração de pelo menos um tratamento anticâncer adicional, por exemplo, um agente lesionador de DNA ou um tratamento lesionador de DNA.

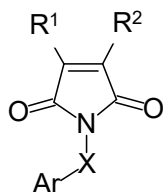
[0009] A invenção oferece métodos para eliminar ou suprimir células por meio de contato das células com um composto da invenção ou com uma composição farmacêutica da invenção, em combinação com um agente ou tratamento lesionador de DNA. A invenção oferece métodos para seletivamente sensibilizar as células a um agente e/ou tratamento lesionador de DNA, por meio de contato das células com um composto da invenção ou com uma composição farmacêutica da invenção, em combinação com o agente ou tratamento lesionador de DNA. A invenção oferece métodos para induzir apoptose, necrose, e/ou catástrofe mitótica em células indesejavelmente proliferantes, que compreendem administrar um composto da invenção ou uma composição farmacêutica da invenção às células, em uma quantidade suficiente para eliminar ou suprimir as células indesejavelmente proliferantes, com ou sem a administração

de outros tratamentos. A invenção oferece métodos para induzir apoptose, necrose, e/ou catástrofe mitótica em células indesejavelmente proliferantes em um indivíduo, que compreendem administrar um composto da invenção ou uma composição farmacêutica da invenção ao indivíduo, em uma quantidade suficiente para eliminar ou suprimir as células indesejavelmente proliferantes, com ou sem a administração de outros tratamentos.

[00010] Rastreamento baseado em fenótipos foi usado para medir a capacidade dos compostos da invenção para causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 em células com G2 interrompido. Adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 e reentrada no ciclo celular podem resultar em morte da célula com G2 previamente interrompido, ou supressão (inibição) de nova proliferação da célula com G2 previamente interrompido. Em uma modalidade não-limitativa, a capacidade para causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 foi medida por meio de contato das células nas quais a interrupção em G2 havia sido induzida por irradiação (por exemplo, radiação gama ( $\gamma$ ) ou radiação com raios X), com os compostos da invenção a várias concentrações e, para cada composto a cada concentração, foi determinada a percentagem de células que escaparam à interrupção em G2 e entraram novamente no ciclo celular, por meio da determinação da percentagem de células na fase G1. O valor de IC50 para cada composto foi calculado como a dosagem (normalmente em  $\mu\text{M}$ ) que causou aumento semimáximo da percentagem de células na fase G1 (incremento de G1) medida para cada composto. Certos compostos da invenção foram inicialmente identificados por rastreamento baseado em fenótipos de bibliotecas de moléculas pequenas para verificar a atividade contra células de G2 interrompido da maneira descrita acima.

[00011] A invenção oferece compostos tendo a fórmula de estrutura

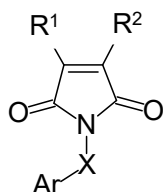
(I):



(I)

[00012] em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> são independentemente escolhidos de alquila, alquila substituída, alcóxi opcionalmente substituído, alquiltio opcionalmente substituído, halogênio, arila opcionalmente substituída, arilóxi opcionalmente substituído, ariltio opcionalmente substituído, ou H, em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> também podem fazer parte de uma cadeia alquileno cíclico que forma uma estrutura de anel cíclico, X é O, S, NR<sup>3</sup>, ou CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, Ar é arila ou arila substituída, incluindo arila carbocíclica, arila heterocíclica, arila monocíclica, arila policíclica, e arila fundida com anéis não-arila (não-aromáticas), R<sup>3</sup> é H, alquila, alquila substituída, acila opcionalmente substituída, ou como parte de uma estrutura de anel que liga o N ao anel Ar, R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup> são independentemente escolhidos de H, alquila, alquila substituída, ou ambos podem fazer parte de uma cadeia alquileno cíclico que forma uma estrutura de anel e R<sup>4</sup> ou R<sup>5</sup> também podem fazer parte de uma estrutura de anel que se liga ao anel Ar, ou um sal de qualquer um desses compostos.

[00013] A invenção oferece métodos para tratar um distúrbio proliferativo celular compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade eficaz de um composto tendo a fórmula de estrutura (I):



(I)

[00014] em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> são independentemente escolhidos de alquila, alquila substituída, alcóxi opcionalmente substituída, alquiltio



opcionalmente substituído, halogênio, arila opcionalmente substituída, arilóxi opcionalmente substituído, ariltio opcionalmente substituído, ou H, em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> também podem fazer parte de uma cadeia alquilenos cíclico que forma uma estrutura de anel cíclico, X é O, S, NR<sup>3</sup>, ou CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, Ar é arila ou arila substituída, incluindo arila carbocíclica, arila heterocíclica, arila monocíclica, arila policíclica, e arila fundida com anéis não-arila (não-aromáticas), R<sup>3</sup> é H, alquila, alquila substituída, acila opcionalmente substituída, ou como parte de uma estrutura de anel que liga o N ao anel Ar, R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup> são independentemente escolhidos de H, alquila, alquila substituída, ou ambos podem fazer parte de uma cadeia alquilenos cíclico que forma uma estrutura de anel e R<sup>4</sup> ou R<sup>5</sup> também podem fazer parte de uma estrutura de anel que se liga ao anel Ar, ou um sal de qualquer um desses compostos. A invenção oferece métodos para tratar um distúrbio proliferativo celular compreendendo administrar uma quantidade eficaz de um composto tendo a fórmula de estrutura (I) in vivo, ex vivo, ou in vitro.

[00015] A presente invenção oferece compostos que anulam a barreira do ciclo celular em G2 e/ou causam adaptação à interrupção do ciclo celular em G2, em que esses compostos quando administrados a células ou a um indivíduo têm efeitos que podem incluir eliminação ou supressão do crescimento de células indesejavelmente proliferantes, os compostos incluindo:

3-(1-{{6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)}amino}-4-metila-2,5-dioxazolin-3-il) propanoato (S01860) de terc-butila;

3-(1-{{6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)}amino}-4-metila-2,5-dioxazolin-3-il) propanoato (S01861) de etila;

3,4-dimetil-1-[(4,7,8-tricloro(2-quinolil))amino]azolina-2,5-diona (S01078);

1-[(8-bromo-4-cloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01247);

terc-butila 4-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil} metila) piperazinacarboxilato (S01589);

Metila 3-(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-dioxoazolin-3-il)propanoato (S01648);

3-(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-dioxoazolin-3-il)-N-metóxi-N-metilpropanamida (S01796);

1-{[7-bromo-4-({4-[(2-metoxifenil)carbonila]piperazinil}metila) (2-quinolil)] amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01879);

1-{[3-bromo-6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}- 3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01981);

1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina- 2,5-diona (S00109);

1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]metilamino}- 3,4-dimetilazolina-2,5- diona (S00170);

1-{[6-bromo-5-(trifluormetila)(2-piridil)]metilamino}- 3,4-dimetilazolina-2,5- diona (S01007);

1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 3-(3-metilbutil) azolina-2,5-diona (S01554);

1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3-(metoximetil)-4-metilazolina-2,5-diona (S01599);

1-{[7,8-dicloro-4-(trifluormetila)(2-quinolil)]amino}-3,4-dimetilazolina- 2,5-diona (S01455);

3-(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-dioxoazolin- 3-il)-N,N-dietilpropanamida (S01711);

Dietila 2-[(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-dioxoazolin-3-il)metila]propano-1,3-dioato (S01712);

N-(terc-butila)-3-(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}- 4-metila- 2,5-dioxoazolin-3-il)propanamida (S01758);

1-{[7-bromo-4-({4-[(3-

metoxifenil)carbonila]piperazinil}metila) (2-quinolil)] amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01925);

1-{{[6-bromo-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina- 2,5-diona (S00994);

1-[(4,8-dicloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01005);

3,4-dimetil-1-{{[6-fenila-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}azolina-2,5-diona (S01266);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3-(hidroximetil)-4-metilazolina-2,5-diona (S01470);

N-(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)-N-[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)] acetamida (S01473);

1-{{[7-bromo-4-({4-[(2-clorofenil)carbonila]piperazinil}metila)(2-quinolil)] amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01878);

3-(1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-dioxoazolin- 3-il)-N-metilpropanamida (S01883);

1-[(8-cloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00585);

3,4-dimetil-1-[(3,4,5-triclorofenil)amino]azolina-2,5-diona (S00832);

3,4-dimetil-1-{{[4-(trifluormetila)(2-quinolil)]amino}azolina-2,5-diona (S00873);

1-[(7-bromo-4-cloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01311);

1-{{[6-(3-cloro-4-fluorfenil)-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-(3,4-dimetil (3,4-dimetil metilazolina-2,5-diona (S01313);

3,4-dimetil-1-{{[6-(2-metilpropila)-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino} azolina- 2,5-diona (S01457);

1-{{[6-cloro-4-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01737);

Metila 3-(1-([4-({4-[(terc-butila)oxicarbonil]piperazinil}metila)-7-bromo (2-quinolil)] amino)-4-metila-2,5-dioxoazolin-3-il)propanoato (S01865);

1-({4-([4-(dimetilamino)fenila]carbonila}piperazinil)metila]-7-bromo (2-quinolil)}amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01880);

1-[(3-cloroisoquinolil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01098);

1-[[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]-3-etila-4-metilazolina-2,5-diona (S01553);

1-[[4-cloro-6-fenila-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]-3,4-dimetilazolina -2,5-diona (S01734);

N-[1-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo(4-quinolil)} metila) pirrolidin-3-il] (terc-butóxi)carboxamida (S01864);

1-[[7-bromo-4-({4-[(4-fluorfenil)carbonila]piperazinil}metila) (2-quinolil)] amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01877);

6-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-3-(trifluormetila)piridina- 2-carbonitrila (S01475);

2-[[6-cloro-5-(trifluormetila)-2-piridil]amino]-4,5,6,7-tetra-hidroisoindol-1,3-diona (S00186);

1-[[4-bromo-3-(trifluormetila)fenila]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00516);

1-[(4-cloronaftil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00738);

1-[(4-cloro-6-metila(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00935);

1-[(4-bromonaftil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00942);

1-[[7-bromo-4-(hidroximetil)(2-quinolil)]amino]-3,4-dimetilazolina- 2,5-diona (S01037);

{2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil}  
metilacetato (S01047);

1-[[8-cloro-4-(4-metoxifenil)(2-quinolil)]amino]-3,4-  
dimetilazolina- 2,5-diona (S01191);

1-[(4-clorobenzo[h]quinolin-2-il)amino]-3,4-dimetilazolina-  
2,5-diona (S01207);

1-[(7-bromo-4-{[4-benzilpiperazinil]metila}(2-quinolil))amino]-  
3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01268);

1-[[6-(4-clorofenil)-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]- 3,4-  
dimetilazolina- 2,5-diona (S01371);

3,4-dimetil-1-[[6-(4-metilfenil)-5-(trifluormetila)(2-  
piridil)]amino} azolina-2,5-diona (S01393);

1-[[6-(3-clorofenil)-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]- 3,4-  
dimetilazolina- 2,5-diona (S01474);

1-[[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]metilamino]- 3-  
(metoximetil)-4- metilazolina-2,5-diona (S01600);

Fenilmetil4-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-  
bromo- 4-quinolil} metila)piperazinacarboxilato (S01683);

1-[[6-cloro-2-fenila-3-(trifluormetila)(4-piridil)]amino]- 3,4-  
dimetilazolina- 2,5-diona (S01688);

3,4-dimetil-1-({6-[3-(trifluormetila)fenila](2-  
piridil)}amino)azolina- 2,5-diona (S01691);

1-[(7-bromo-4-{[4-(fenilcarbonil)piperazinil]metila}(2-  
quinolil))amino]- 3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01699);

3-(1-{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 2,5-  
dioxoazolin- 3-il)-N-metila-N-fenilpropanamida (S01759);

3,4-dimetil-1-[[6-benzil-5-(trifluormetila)(2-  
piridil)]amino}azolina- 2,5-diona (S01762);

1-{[4-({4-[(2,4-dimetilfenil)carbonila]piperazinil}metila)-7-  
bromo (2-quinolil)] amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01800);

1-[[7-bromo-4-({4-[(4-metoxifenil)carbonila]piperazinil}metila) (2-quinolil)] amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01801);

N-[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]-N-[4-(hidroximetil)-3-metila- 2,5-dioxoazolinil]acetamida (S01820);

1-[(7-bromo-4-{{4-(fenilsulfonil)piperazinil}metila}(2-quinolil))amino]- 3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01822);

1-[(4-cloro-8-metila(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S00871);

terc-butila 4-[(2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil} metila)amino] piperidinacarboxilato (S01862);

terc-butila 4-[4-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo- 4-quinolil}metila)piperazinil]piperidinacarboxilato (S01928);

1-[(4-{{4-(3,3-dimetilbutanoil)piperazinil}metila}-7-bromo(2-quinolil)) amino] -3,4-dimetilazolina-2,5-diona (S01929);

Metiletila 3-(1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]-4-metila- 2,5-dioxoazolin- 3-il) propanoato (S02022);

Metilpropila 3-(1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]-4-metila- 2,5-dioxoazolin- 3-il) propanoato (S02264);

terc-butila 2-(1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]-4-metila- 2,5-dioxoazolin- 3-il) acetato (S02225);

1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]-3-(etoximetil)-4-metilazolina- 2,5-diona (S02366);

3-butila- 1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]- 4-metilazolina- 2,5-diona (S03448);

1-[[6-cloro- 5-(trifluormetila) (2-piridil)] amino]- 4-metila- 3-[2-(2-metila (1,3-dioxolan-2-il)) etila] azolina-2,5-diona (S03456);

1-[[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]-3- [(2-metoxietóxi)metila]-4-metilazolina-2,5-diona (S03742);

1-[[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino]-4-(3-hidroxi-

hexila)- 3-metilazolina-2,5-diona (S03552);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-(3-hidroxipentil)- 3-metilazolina-2,5-diona (S03745);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 3-[(3-metilbutóxi)metila]azolina-2,5-diona (S03405);

3-(butoximetil)-1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metilazolina-2,5-diona (S03518);

3-[(3,3-dimetilbutóxi)metila]-1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila) (2-piridil)]amino}-4-metilazolina-2,5-diona (S03747);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3-(2-etoxietil)-4-metilazolina-2,5-diona (S03960);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 3-[(2-metilpropóxi)metila]azolina-2,5-diona (S03963);

3-[(2,2-dimetilpropóxi)metila]-1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila) (2-piridil)]amino}-4-metilazolina-2,5-diona (S03962);

4-[(1,3-dimetilbutóxi)metila]-1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila) (2-piridil)]amino}-3-metilazolina-2,5-diona (S03964);

4-[(terc-butóxi)metila]-1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}- 3-metilazolina-2,5-diona (S03873);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 3-[2-(2-metilpropóxi)etila]azolina-2,5-diona (S03955);

1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-4-metila- 3-[2-(3-metilbutóxi)etila]azolina-2,5-diona (S03956);

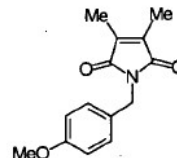
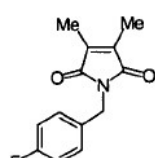
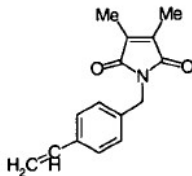
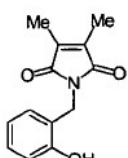
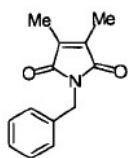
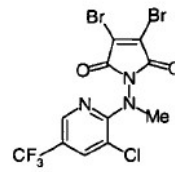
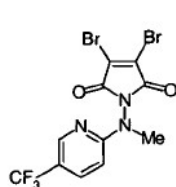
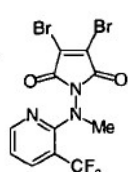
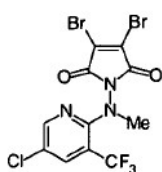
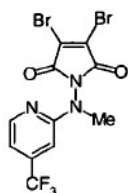
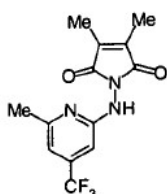
1-{{[6-cloro-5-(trifluormetila)(2-piridil)]amino}-3-metila- 4-(2-propoxietil)azolina-2,5-diona (S04034);

ou um sal de qualquer um desses compostos.

[00016] Modalidades adicionais da invenção foram sintetizadas e testadas, e os detalhes estão apresentados na descrição abaixo e nos exemplos, tabelas, e figuras (desenhos) apresentados neste relatório. Outros aspectos, objetivos, e vantagens da invenção ficarão aparentes

a partir da descrição, dos exemplos, das tabelas, dos desenhos, e das reivindicações.

[00017] Composições contendo compostos com qualquer uma das estruturas a seguir não estão sendo reivindicadas:



### Breve Descrição dos Desenhos

[00018] A Figura 1 mostra a percentagem de células na fase G1 depois de células Jurkat pré-interrompidas na fase G2 por irradiação com raios X (10 Gy) serem tratadas com os compostos S00109 (losângos vazios) e S01860 (losângos cheios), às dosagens indicadas, por 24 horas.

[00019] A Figura 2 mostra o nível de fosforilação da histona H3 (%) em células Jurkat pré-interrompidas na fase G2 por irradiação com raios X (10 Gy) e tratadas com o composto a 1  $\mu$ M (quadrados vazios) e 0,3  $\mu$ M (círculos cheios) para tempos de tratamnto de até 24 horas.

[00020] A Figura 3 é uma imagem de uma mancha imunoquímica mostrando os níveis de  $\gamma$ H2AX fosforilado depois de tratamento sequencial de células Jurkat com irradiação com raios X (dose total 10



Gy) e com o composto S00109 a 1  $\mu$ M e pelo número de vezes indicado, em que  $\gamma$ H2AX foi detectado usando antifosfo-histona H2AX e uma exposição de 10 minutos da mancha imunoquímica, da esquerda para a direita: M padrões de peso molecular marcado; a Faixa 1 mostra células que não receberam irradiação e não receberam tratamento com S00109 (células de controle); a Faixa 2 mostra células irradiadas 24 horas depois da irradiação e não receberam tratamento com S00109; a Faixa 3 mostra células irradiadas 48 horas depois da irradiação e não receberam tratamento com S00109; a Faixa 4 mostra células irradiadas depois de 0 horas de tratamento com S00109 (24 horas depois da irradiação); a Faixa 5 mostra células irradiadas depois de 3 horas de tratamento com S00109 (27 horas depois da irradiação); a Faixa 6 mostra células irradiadas depois de 9 horas de tratamento com S00109 (33 horas depois da irradiação); a Faixa 7 mostra células irradiadas depois de 15 horas de tratamento com S00109 (39 horas depois da irradiação); a Faixa 8 mostra células irradiadas depois de 21 horas de tratamento com S00109 (45 horas depois da irradiação); a Faixa 9 mostra células irradiadas depois de 24 horas de tratamento com S00109 (48 horas depois da irradiação).

[00021] A Figura 4 mostra a contagem de colônias (eixo y) depois do tratamento de células HCT 116 com o composto S00109 a concentrações de 0 a 4  $\mu$ M (eixo x) para células tratadas com o composto S00109 isolado e sem irradiação (0 Gy representada por círculos vazios) e células tratadas com o composto S00109 em combinação com irradiação com raios X (dose total 1 Gy, representada por círculos cheios; dose total 3 Gy, representada por quadros vazios), em que a redução na contagem de colônias é uma medida de supressão de crescimento celular e/ou de morte celular.

[00022] A Figura 5 mostra a percentagem de cells na fase subG1 (eixo y) depois de tratamento in vitro de ARH-77 com o composto

S00109 a concentrações de 0 a 10 µg/ml (eixo x) da seguinte maneira: células ARH-77 tratadas com o composto S00109 isolado às concentrações indicadas no eixo x ("S109Only" representado por losângos cheios, linha cheia); células ARH-77 tratadas com o composto S00109 às concentrações indicadas no eixo x, em combinação com dexametasona a 2ng/ml ("Dex2ng/ml" representado por quadrados vazios, linha tracejada curta); células ARH-77 tratadas com o composto S00109 às concentrações indicadas no eixo x, em combinação com dexametasona a 20ng/ml ("Dex20ng/ml" representado por triângulos vazios, linha pontilhada-tracejada); e células ARH-77 tratadas com o composto S00109 às concentrações indicadas no eixo x, em combinação com dexametasona a 200ng/ml ("Dex200ng/ml" representado por círculos vazios, linha tracejada longa); em que fase subG1 indica morte celular.

[00023] A Figura 6 mostra uma análise de sobrevivência para camundongos SCID que receberam transplante intraperitoneal de  $1,9 \times 10^6$  células ARH-77, por até 80 dias depois do transplante (eixo x, dias depois do transplante; eixo y, % de camundongos sobreviventes) para camundongos tratados por injeção intraperitoneal no dia 1, dia 2, e dia 3 depois do transplante da seguinte maneira: camundongos de controle tratados com veículo apenas ("Controle" linha tracejada); camundongos tratados com 50 mg/kg do composto S00109 ("S109" linha cheia); e camundongos tratados com 2 mg/kg de dexametasona ("Dexa" linha pontilhada-tracejada).

[00024] A Figura 7 mostra uma análise de sobrevivência para camundongos SCID que receberam transplante intraperitoneal de  $0,8 \times 10^6$  células ARH-77, por até 85 dias depois do transplante (eixo x, dias depois do transplante; eixo y, % de camundongos sobreviventes), para camundongos tratados com uma única administração oral de compostos no dia 1 depois do transplante da seguinte maneira:

camundongos de controle tratados por via oral com veículo apenas ("Controle" linha cheia); camundongos tratados por via oral com 750 mg/kg do composto S00109 ("S109" linha pontilhada); e camundongos tratados por via oral com 750 mg/kg do composto S001860 ("S1860" linha tracejada).

[00025] A Figura 8 mostra uma análise de sobrevivência para camundongos SCID que receberam transplante intraperitoneal de  $4,1 \times 10^6$  células ARH-77, por até 50 dias depois do transplante (eixo x, dias depois do transplante; eixo y, % de camundongos sobreviventes), para camundongos tratados por administração oral uma vez ao dia de compostos no dia 1 e no dia Day 2 depois do transplante da seguinte maneira: camundongos de controle tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com veículo apenas ("CONT" linha cheia); camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg do composto S003518 ("S3518" linha pontilhada); camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg do composto S003405 ("S3405" linha tracejada); e camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg do composto S003747 ("S3747" linha pontilhada-tracejada).

#### Descrição Detalhada da Invenção

##### Definições

[00026] A menos que de outra forma definido, os termos técnicos e científicos usados nesta invenção têm o significado comumente conhecido pelo versado na técnica à qual a invenção pertence. Conforme usado neste relatório, os termos a seguir têm os significados que lhes são atribuídos, a menos que de outra forma especificado.

[00027] Todas as publicações, patentes, e pedidos de patente e depósitos no ATCC citados neste relatório estão aqui expressamente incorporados a título de referência para todos os efeitos.

[00028] As expressões "tratamento lesionador de DNA" e "agente

lesionador de DNA" referem-se a qualquer agente ou tratamento que direta ou indiretamente lesione o DNA, incluindo porém sem limitação, fármacos (agentes) lesionadoras de DNA, irradiação com níveis lesionadores de DNA de radiação X, gama ( $\gamma$ ), ou UV, vários tipos de choque ambiental, entre outros. Deve ficar entendido que um tratamento lesionador de DNA ou agente lesionador de DNA pode agir diretamente no DNA, por exemplo, para romper a estrutura do DNA ou interferir na síntese do DNA, ou pode agir indiretamente no DNA por meio de seus efeitos em outros sistemas celulares envolvidos na síntese e replicação de DNA, por exemplo, para romper ou inibir as funções de microtúbulos ou DNA topoisomerase. Exemplos específicos de agentes lesionadores de DNA incluem porém sem limitação agentes alquilantes, nitrosoureas, antimetabólitos, alcalóides vegetais, extratos vegetais, radioisótopos, hormônios esteroides. Exemplos adicionais de agentes lesionadores de DNA também incluem porém sem limitação agentes conhecidos "fármacos lesionadores de DNA" ou "fármacos anticâncer" ou "agentes anticâncer" ou "agentes anticâncer lesionadores de DNA", por exemplo, 5-fluorouracila (5-FU), capecitabina, S-1 (Tegafur, 5-cloro-2,4-di-hidroxipiridina e ácido oxônico), 5-etiniluracila, arabinosil citosina (ara-C), 5-azacitidina (5-AC), 2',2'-difluór-2'-deoxicitidina (dFdC), antimetabólitos da purina (mercaptopurina, azatiopurina, tioguanina), gencitabina (Gemzar<sup>®</sup>), bortezomib (Velcade<sup>®</sup>) pentostatina, alopurinol, 2-flúor-arabinosil-adenina (2F-ara-A), hidroxiureia, mostarda de enxofre (biscloretilsulfeto), mecloretamina, melfalano, melfarano, vincristina, clorambucil, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, AZQ, mitomicina C, dian-hidrogallactitol, dibromoducitol, alquila sulfonato (busulfano), nitrosoureas (BCNU, CCNU, 4-metila CCNU ou ACNU), procarbazina, decarbazina, rebecamicina, antraciclinas tais como doxorubicina (adriamicina; ADR), daunorubicina (Cerubicina),

idarubicina (Idamicina) e epirubicina (Ellence), análogos da antraciclina tais como mitoxantrona, actinimicina D, inibidores da topoisomerase não intercalantes tais como epipodofilotoxinas (etoposida=VP16, teniposida=VM-26), podofilotoxina, bleomicina (Bleo), pepleomicina, taxanos, compostos que formam adutos com ácido nucleico incluindo derivados de platina, por exemplo, cisplatina (CDDP), trans análogos da cisplatina, carboplatina, iproplatina, tetraplatina e oxaliplatina, assim como camptotecina, topotecano, irinotecano (CPT-11), e SN-38. Exemplos específicos de tratamentos lesionadores de DNA incluem radiação por exemplo radiação ultravioleta (UV), infravermelha (IR), raios X,  $\alpha$ - (alfa),  $\beta$ - (beta), ou  $\gamma$ - (gama), assim como choque ambiental, por exemplo, hipertermia. O versado na técnica pode identificar e usar outros agentes lesionadores de DNA e tratamentos.

[00029] A expressão "composto da invenção" refere-se a uma molécula tendo a estrutura e a atividade apresentadas neste relatório. Um composto da invenção pode ser isolado, puro, substancialmente puro, ou pode estar em uma composição contendo uma mistura de outros componentes. A pureza de uma composição contendo um composto da invenção pode ser determinada, por exemplo, usando técnicas de química analítica tais como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), ou cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS) ou cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GS-MS), ou outras técnicas analíticas conhecidas pelo versado na técnica. Uma composição como a oferecida nesta invenção pode conter um ou mais compostos da invenção, em uma mistura com veículos, carreadores, excipientes e componentes inertes adequados, entre outros. Se desejado, uma composição como a oferecida nesta invenção pode conter componentes ativos adicionais incluindo agentes lesionadores de DNA entre outros, assim como um ou mais compostos da invenção, em uma mistura com veículos, carreadores, excipientes e

componentes inertes adequados, entre outros.

[00030] As expressões "composição farmacêutica" ou "medicamento" referem-se a uma composição adequada para uso farmacêutico em um indivíduo, por exemplo, como agente anticâncer. O indivíduo pode ser qualquer animal no qual os compostos da invenção anulam a barreira G2 do ciclo celular e/ou causam adaptação à interrupção em G2. Em particular, o indivíduo pode ser um mamífero, por exemplo, um cavalo, uma vaca, um cachorro, um gato, ou um ser humano. A composição farmacêutica da invenção é uma formulação que pode compreender uma quantidade farmacologicamente eficaz de pelo menos um composto da invenção e um carreador farmacêuticamente aceitável.

[00031] As expressões "distúrbio de proliferação celular" ou "distúrbio proliferativo" ou "distúrbio proliferativo" ou "condição proliferativa" ou "condição caracterizada por proliferação celular indesejável" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, referem-se a qualquer condição fisiológica patológica ou não patológica caracterizada por proliferação aberrante ou indesejável de pelo menos uma célula, incluindo porém sem limitação condições caracterizadas por proliferação celular indesejável ou desnecessária ou aberrante, condições caracterizadas por sobrevivência celular indesejável ou desnecessária ou aberrante, e condições caracterizadas por apoptose deficiente ou aberrante. A expressão "proliferação celular" e equivalentes gramaticais das mesmas, abrange tanto um aumento no número de células como resultado da divisão celular, assim como um aumento na massa total de células como resultado de crescimento celular, por exemplo, por crescimento de células filhas depois da mitose. Um exemplo não-limitativo de um "distúrbio de proliferação celular" ou "distúrbio proliferativo" ou "condição proliferativa" ou "condição caracterizada por proliferação celular indesejável" é câncer,

por exemplo, proliferação e sobrevivência indesejável ou desnecessária ou aberrante de células cancerosas tais como as células associadas a linfoma, mieloma, sarcoma, leucemia, ou outros distúrbios neoplásicos descritos neste relatório e conhecidos pelo versado na técnica.

[00032] As expressões "eliminar ou suprimir células" ou "eliminando ou suprimindo células" ou "eliminar ou suprimir células indesejavelmente proliferantes" ou "eliminar ou suprimir células alvo" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, referem-se a resultados do contato com uma quantidade eficaz de um composto da invenção. Os termos "eliminar" ou "eliminando" referem-se à morte celular resultante dos efeitos de um composto da invenção em uma célula, em particular morte de uma célula indesejavelmente proliferante tal como uma célula cancerosa, em que a morte pode ser devido à apoptose, catástrofe mitótica, necrose, ou uma outra causa, dependendo das circunstâncias da célula. Os termos "suprimir" ou "suprimindo" referem-se à supressão da proliferação celular resultante dos efeitos de um composto da invenção em uma célula, em que a supressão pode ser parcial ou total. Um composto da invenção pode causar supressão parcial de uma célula, de modo que a célula pode deixar de se dividir mas continuar a crescer, ou a célula pode se dividir muito mais devagar, ou a célula pode crescer muito mais devagar, ou uma célula cancerosa pode progredir de um estado pré-metastático a um estado metastático etc. Um composto da invenção pode causar supressão total em que uma célula não se divide nem cresce, em particular, em que uma célula indesejavelmente proliferante não se divide nem cresce.

[00033] As expressões "quantidade eficaz" ou "quantidade suficiente" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, referem-se a uma quantidade de um composto da invenção suficiente para

produzir pelo menos um efeito desejado. As quantidades eficazes são determinadas por qualquer uma de uma variedade de medidas que incluem porém sem limitação: morte celular; proliferação celular reduzida; número reduzido de células; inibição do crescimento celular; tamanho reduzido das células; sobrevivência celular reduzida; metabolismo celular reduzido; apoptose; catástrofe mitótica; adaptação à interrupção do ciclo celular (isto é, escapada da interrupção do ciclo celular, normalmente levando à reentrada no ciclo celular); marcadores de lesão celular ou citotoxicidade; indicadores indiretos de lesão celular ou citotoxicidade tal como encolhimento do tumor; sobrevivência prolongada de um indivíduo; ou desaparecimento de marcadores associados à proliferação celular indesejável, desnecessária, ou aberrante. Por exemplo, em que se deseja inibir a proliferação indesejável de uma célula ou tipo de célula particular, uma quantidade eficaz será uma quantidade que reduz de forma detectável a divisão celular, ou reduz o metabolismo celular, ou aumenta a morte celular, ou reduz a sobrevivência celular, daquela célula ou tipo de célula. Um efeito desejado pode ser um efeito seletivo, por exemplo, uma "quantidade eficaz" é uma quantidade que elimina ou suprime as células alvo ao mesmo tempo em que tem pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células não-alvo, ou uma quantidade que produz um benefício terapêutico desejado em um indivíduo que tenha um distúrbio proliferativo celular, ao mesmo tempo em que tem pouco ou nenhum efeito citotóxico no indivíduo. Um distúrbio proliferativo celular pode ser tratado por administração de uma quantidade eficaz de pelo menos um composto da invenção, em que a quantidade eficaz de pelo menos um composto pode ser administrada *in vitro* ou *ex vivo* para tratar as células, ou o composto pode ser administrado *in vivo* a um indivíduo que tenha um distúrbio proliferativo celular.

[00034] As expressões "barreira G2 do ciclo celular" ou "barreira



G2" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, referem-se à barreira G2 que ocorre no final da fase G2 do ciclo celular. Durante a fase de "hiato" G2 entre a síntese de DNA (fase S, replicação de DNA preparando-se para a mitose) e a mitose (fase M, divisão celular para produzir células filhas), a célula continua a crescer e produzir novas proteínas. A barreira G2 no final da fase G2 é uma barreira de controle em que inúmeros fatores são verificados para garantir que a célula está pronta para entrar na fase de mitose (fase M). As funções da barreira G2 incluem detectar lesão em DNA. Se a barreira G2 é superada, então inicia-se a entrada na fase M. Se a barreira G2 detecta alguma lesão no DNA, a barreira G2 pode gerar um sinal que leva à "interrupção do ciclo celular" ou "interrupção do ciclo celular em G2", que impede o início da mitose até que a replicação e o reparo do DNA estejam completos, dessa forma impedindo a transmissão da lesão do DNA para as células filhas. Deve ficar entendido que, como uma lesão no DNA pode disparar ou ativar a barreira G2 e certas atividades celulares associadas à barreira G2, a expressão "barreira G2 induzida por DNA lesionado" e equivalentes gramaticais da mesma, também pode ser usada em certos contextos. Deve ficar ainda entendido que a barreira G2 induzida por DNA lesionado pode ser induzida ou desencadeada por agentes ou tratamentos lesionadores de DNA.

[00035] As expressões "anular a barreira G2" ou "anular a barreira G2 do ciclo celular" ou "anulação da barreira G2" ou "anulação de G2" ou "anulação da barreira G2" ou "romper a barreira G2" ou "inibir a barreira G2" ou "suprimir a barreira G2" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, referem-se à capacidade dos compostos da invenção para anular, romper, inibir, reprimir, ou suprimir a barreira G2. Uma célula na qual a barreira G2 é anulada pode ter uma ausência completa da atividade da barreira G2 (interrupção da barreira G2, ou

anulação da barreira G2 completa). Uma célula na qual a barreira G2 é anulada pode apresentar uma redução no espaço de tempo em que a célula permanece na barreira G2, por exemplo uma barreira G2 com uma redução na duração de minutos, horas, dias, semanas ou mais em condições apropriadas. Por exemplo, uma redução no espaço de tempo da barreira G2 indicaria que uma célula que normalmente permanece em G2 por um dado espaço de tempo, por exemplo, 4 horas, quando contatada com um composto da invenção, fica na barreira G2 por menos de 4 horas, por exemplo, 3,5, 3, 2,5, 2, 1 horas ou menos. Assim sendo, "anulação da barreira G2" refere-se a qualquer quantidade de anulação da barreira G2. Deve ficar entendido que o resultado da anulação da barreira G2 é que a célula vai entrar na fase de mitose (fase M) sem reparo do DNA, o que deve ter pouco ou nenhum efeito nocivo nas células não lesionadas (normais), e que deve resultar em efeitos adversos nas células com DNA lesionado, geralmente levando à morte celular devido à apoptose, catástrofe mitótica, ou necrose.

[00036] "Interrupção do ciclo celular" ou "interrupção do ciclo celular em G2" ou "interrupção em G2" ou "interrupção do ciclo celular em G2-M" ou qualquer equivalente gramatical das mesmas, refere-se a um estado no qual uma célula não sai de G2 para entrar na mitose (fase M) de modo que a célula que é considerada 'interrompida' na fase G2. A interrupção do ciclo celular geralmente é observada em células com DNA lesionado tais como muitas células cancerosas. A interrupção do ciclo celular em G2 pode resultar de qualquer uma de inúmeras atividades celulares, incluindo porém sem limitação atividades da barreira G2. A lesão no DNA encontrada em muitas células cancerosas pode desencadear a interrupção do ciclo celular em G2. A interrupção do ciclo celular em G2 pode ser induzida ou intensificada por tratamento de uma célula com agentes lesionadores de DNA tais como

adriamicina, doxorubicina, ou bendamustina (um agente alquilante), ou tratamentos lesionadores de DNA tais como irradiação com uma dose desencadeadora de radiação X, gama ( $\gamma$ ), ou UV (às vezes chamada de "interrupção em G2 induzida por radiação").

[00037] "Adaptação" ou "adaptação à interrupção do ciclo celular" ou "adaptação à interrupção do ciclo celular em G2" ou "adaptação à interrupção em G2" refere-se à suspensão ou anulação da interrupção do ciclo celular em G2, de modo que as células previamente interrompidas entram novamente no ciclo celular. Adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 também se refere à escapada da interrupção do ciclo celular em G2. Os compostos da presente invenção podem causar a adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 nas células interrompidas em G2. De acordo com um aspecto da invenção, "adaptação" ou "adaptação à interrupção do ciclo celular" ou "adaptação à interrupção do ciclo celular em G2" ou "adaptação à interrupção em G2" podem referir-se à escapada de uma condição de interrupção do ciclo celular em G2 imposta pela ativação da barreira G2, em particular, interrupção do ciclo celular em G2 imposta pela ativação da barreira G2 induzida por DNA lesionado. Deve ficar entendido que a adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 resulta no fato de células previamente interrompidas em G2 entrarem novamente no ciclo celular sem reparo da lesão no DNA que desencadeou a interrupção em G2. A adaptação à interrupção do ciclo celular em G2, em que células com DNA lesionado entram novamente no ciclo, geralmente resulta em morte celular devido à apoptose, catástrofe mitótica, ou necrose. Como o mecanismo que promove a interrupção em G2 do ciclo celular depois da lesão no DNA parece ser conservado entre espécies que vão desde leveduras até seres humanos, deve ficar entendido que os compostos da presente invenção podem causar adaptação à interrupção do ciclo celular em

G2 em numerosas espécies, em particular em todas as espécies eucarióticas.

[00038] Embora a atividade de anulação da barreira G2 dos compostos da invenção possa ser associada à capacidade de causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2, também deve ficar entendido que os compostos da invenção podem causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 por outros mecanismos não associados à anulação da barreira G2. Portanto, dependendo das circunstâncias particulares e sem querer se ater a esta definição, anulação da barreira G2 pode referir-se, pelo menos em parte, à anulação da capacidade de uma célula para interromper o ciclo celular na barreira G2, levando à adaptação à interrupção do ciclo celular em G2. Em particular, anulação da barreira G2 induzida por DNA lesionado pelos compostos da invenção, em condições que normalmente desencadeariam a interrupção do ciclo celular em G2, pode incluir a anulação de um sinal gerado pela barreira G2 envolvido no desencadeamento da interrupção do ciclo celular em G2.

[00039] O termo "apoptose" refere-se à morte celular programada, e alterações associadas na fisiologia da célula, incluindo fragmentação de ácidos nucleicos, ativação da caspase, condensação de cromossomos etc., como conhecido na técnica.

[00040] O termo "catástrofe mitótica" refere-se à morte celular resultante de um ou mais erros no processo mitótico.

[00041] O termo "necrose" refere-se à morte celular, geralmente resultante de lesão ou acidente, geralmente caracterizada por intumescimento celular, digestão da cromatina, rompimento da membrana plasmática e membranas de organelas, hidrólise de DNA, vacuolação do retículo endoplasmático, divisão de organelas, e lise celular.

[00042] O termo "indivíduo" refere-se a animais, tipicamente

animais mamíferos, tais como primatas (seres humanos, macacos, gibões, chimpanzés, orangotangos, símio do gênero "Macacus"), animais domésticos (cães e gatos), animais de criação (cavalos, gado bovino, cabras, carneiros, porcos) e animais de laboratório (camundongos, ratos, coelhos, porquinhos-da-índia). Indivíduos incluem modelos de doenças animais (por exemplo, camundongos com tendência a tumor, camundongos portadores de tumor, ou camundongos que receberem tumores de xenoenxerto)).

[00043] Conforme usado neste relatório, as formas singulares "um", "uma", "o/a", e "é" incluem os equivalentes plurais a menos que o contexto indica claramente o contrário. Assim, por exemplo, qualquer referência feita a "um composto" inclui uma pluralidade de compostos e uma referência a "um resíduo" ou "um aminoácido" inclui uma referência a um ou mais resíduos e aminoácidos.

#### Terminologia Química

[00044] "Alquila" refere-se a um grupo hidrocarboneto alifático. Um grupo alquila pode ser opcionalmente substituído. "Alquila substituída" refere-se a um grupo alquila que é substituída por um ou mais substituintes tais como (Cl, Br, F, I), grupos C3 a C7 cicloalquila, arila opcionalmente substituída, heteroarila opcionalmente substituída, C1 a C6 alcóxi, arilóxi opcionalmente substituído, hidróxi, amino opcionalmente substituído, amino cíclico opcionalmente substituído, nitro, tio, ciano, oxo, C1 a C7 acila, C1 a C7 acilóxi, carbóxi, C1 a C6 alcóxicarbonila, carbamoíla opcionalmente substituída, aminocarbonila cíclica opcionalmente substituída,  $\beta$ -mercapto, C1 a C4 alquiltio, C1 a C4 alquilsulfinila, ou C1 a C4 alquilsulfonila. Grupos alquila substituída podem ter um, dois, três, quatro, cinco, ou mais substituintes, e vários grupos alquila substituída podem ser substituídos com os mesmos substituintes ou com substituintes diferentes. O grupo alquila pode

ser uma alquila saturada sem porções alqueno ou alquino, ou uma alquila insaturada tendo pelo menos uma porção alqueno ou alquino. Uma porção "alqueno" refere-se a um grupo que consiste em pelo menos dois átomos de carbono e pelo menos uma ligação dupla carbono-carbono, e uma porção "alquino" refere-se a um grupo que consiste em pelo menos dois átomos de carbono e pelo menos uma ligação tripla carbono-carbono. A porção alquila, seja ela substituída ou não-substituída, saturada ou insaturada, pode ser de cadeia ramificada, de cadeia reta, ou cíclica. Grupos alquila típicas incluem, porém sem limitação, metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, butila terciária, pentila, hexila, etenila, propenila, butenila, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, entre outros.

[00045] "Alcóxi" refere-se a um grupo OR, em que R é um alquila ou alquila substituída. Grupos alcóxi preferidos são "C1 a C6 alcóxi" tais como metóxi, etóxi, n-propóxi, isopropóxi, n-butóxi, t-butóxi, entre outros.

[00046] O termo "alquiltio" refere-se a grupos sulfeto tais como metiltio, etiltio, n-propiltio, isopropiltio, n-butiltio, t-butiltio, entre outros. O termo "alquilsulfóxido" indica grupos sulfóxido tais como metilsulfóxido, etilsulfóxido, n-propilsulfóxido, isopropilsulfóxido, n-butilsulfóxido, sec-butilsulfóxido, entre outros. O termo "alquilsulfonila" abrange grupos tais como metilsulfonila, etilsulfonila, n-propilsulfonila, isopropilsulfonila, n-butilsulfonila, t-butilsulfonila, entre outros.

[00047] "Acila" inclui grupos alquila, heteroalquila, alquenila, heteroalquenila, alquinila, heteroalquinila, arila, ou heteroarila acopladas a um grupo adicional via um grupo carbonila, por exemplo, -C(O)-alquila, ou -C(O)-arila. Grupos acila preferidas são C1 a C7 acila tais como formila, acetila, propionila, butirila, pentanoila, pivaloila,

hexanoila, heptanoila, benzoila, entre outros.

[00048] O termo "amida" refere-se a um grupo com a fórmula  $C(O)NHR$  ou  $NHC(O)R$ , em que R é opcionalmente substituído e é selecionado do grupo que consiste em alquila, cicloalquila, arila, heteroarila (ligado através de um átomo de carbono) e heteroalíclico (ligado através de um carbono do anel). Qualquer cadeia lateral amina, hidróxi, ou carboxila nos compostos da presente invenção podem ser amidados.

[00049] "Arila" ou "aromático" refere-se a um grupo com pelo menos uma estrutura de anel tendo um sistema de elétron pi conjugado, isto é, tendo as características de aromaticidade em termos de distribuição eletrônica pelo sistema de anel. Uma arila pode ser opcionalmente substituído. Tipicamente, os sistemas de anel contêm 5-12 átomos de anel em cada anel. Um grupo arila pode ser monocíclica ou um arila policíclica de anel fundido. Um grupo arila pode ser um arila carbocíclica em que todos os átomos do anel são carbono, por exemplo, fenila. Um grupo arila pode ser um heteroarila ou arila heterocíclica contendo pelo menos um heteroátomo no anel tal como oxigênio, enxofre e/ou nitrogênio. Os grupos arila heterocíclica podem ser monocíclicos ou policíclicos. Exemplos de grupos heteroarila incluem maleimidila, imidazolila, indolila, pirrolidinila, piridinila, pirimidinila, pirazinila, piridazinila, pirrolila, furanila, oxazolila, dioxazolila, isoxazolila, pftalimidila, tiazolila, entre outros. Os grupos arila podem ser fundidos a outros grupos arila ou a grupos não arila (não-aromáticas).

[00050] Como exemplos dos substituintes dos referidos "amino opcionalmente substituído" e "carbamoíla opcionalmente substituída," podem ser mencionados fenila, fenila substituída, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, C2 a C7 alquenila, C2 a C7 alquenila substituída, C2 a C7 alquinila, C2 a C7 alquinila substituída, C7 a C12

fenilalquila, C7 a C12 fenilalquila substituída, heteroarila, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, C1 a C7 acila, C1 a C7 alcóxicarbonila, carbamoíla opcionalmente substituída, C1 a C4 alquilsulfonila, entre outros. O "amino opcionalmente substituído" e o "carbamoíla opcionalmente substituída" podem ser monossustituídas ou dissustituídas, com os mesmos substituintes ou com substituintes diferentes.

[00051] "Alcóxicarbonila" refere-se a um grupo "alcóxi" preso a um grupo carbonila.

[00052] "Cicloalquila" refere-se a um radical monocíclica ou policíclica que contém somente carbono e hidrogênio, e pode ser saturado, parcialmente insaturado, ou totalmente insaturado. Um grupo cicloalquila pode ser opcionalmente substituído. Grupos cicloalquila preferidos incluem grupos com três a doze átomos no anel, mais preferivelmente de 5 a 10 átomos no anel.

[00053] "Amino cíclico" como em "amino cíclico opcionalmente substituído" refere-se a grupos cíclicos contendo pelo menos um nitrogênio no anel incluindo piperazino, morfolino, piperidino, pirrolidino, entre outros.

[00054] Exemplos de "aminocarbonila cíclica" como em "aminocarbonila cíclica opcionalmente substituída," incluem piperazinocarbonila, morfolinocarbonila, piperidinocarbonila, pirrolidinocarbonila, entre outros.

[00055] Substituintes de "alcóxi opcionalmente substituído," "alquiltio opcionalmente substituído," "arila opcionalmente substituída," "arilóxi opcionalmente substituído," "ariltio opcionalmente substituído," "acila opcionalmente substituída," "heteroarila opcionalmente substituída," "alquiltio opcionalmente substituído," "alquilsulfonila opcionalmente substituída," "alquilsulfonila opcionalmente substituída," "alcóxicarbonila opcionalmente substituída," "amino cíclico



opcionalmente substituído," e "aminocarbonila cíclica opcionalmente substituída" são definidos da mesma maneira que os substituintes de "alquila substituída."

[00056] "Halogênio" refere-se a átomos de flúor, cloro, bromo, ou iodo. Um ou mais halogênios podem estar presentes em um composto, em que os halogênios podem ser iguais ou diferentes.

[00057] As modalidades dos compostos da presente invenção podem possuir um ou mais centros quirais e cada centro pode existir na configuração R ou S, de modo que a presente invenção inclui todas as formas diastereoméricas, enantioméricas, e epiméricas assim como as misturas apropriadas dos mesmos. As modalidades da presente invenção podem existir como isômeros geométricos, de modo que a presente invenção inclui todos os isômeros cis, trans, syn, anti, entgegen (E), e zusammen (Z), assim como as misturas apropriadas dos mesmos.

[00058] Os compostos da presente invenção podem existir em formas não solvatadas assim como em formas solvatadas com solventes farmaceuticamente aceitáveis tais como água, etanol, entre outros. Em geral, as formas solvatadas são consideradas equivalentes às formas não solvatadas para os fins da presente invenção.

[00059] Qualquer sal descrito nesta invenção pode incluir sais com bases inorgânicas, sais com bases orgânicas, sais com ácidos inorgânicos, sais com ácidos orgânicos, e sais com aminoácidos básicos ou ácidos.

[00060] A menos que de outra forma indicado, quando um substituinte é considerado "opcionalmente substituído", isto significa que o substituinte é um grupo que pode ser substituído por um ou mais grupos mencionados neste relatório ou conhecidos pelo versado na técnica.

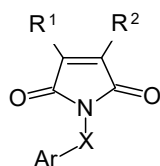
[00061] As descrições dos compostos da invenção estão de acordo

com os princípios de ligação química conhecidos pelos versados na técnica. Por conseguinte, em que um grupo pode ser substituído por um ou mais de inúmeros substituintes, tais substituições são selecionadas de maneira a obedecer os princípios de ligação química e a dar compostos que não sejam inerentemente instáveis, e/ou que o versado na técnica saiba que possivelmente não serão instáveis, em condições ambientes tais como condições aquosas, neutras, fisiológicas.

[00062] Deve ficar entendido que os compostos da invenção podem ser descritos pelo versado na técnica usando uma terminologia diferente daquela que os termos usados neste relatório, sem afetar a acuidade da descrição. Compostos, estruturas, substituintes, grupos, entre outros podem ser descritos usando qualquer uma das seguintes alternativas: nomenclatura IUPAC; nome químico; nome "trivial" ou "comum"; nome comercial; número de registro CAS; notação SMILES; ou outros termos. Por exemplo, os compostos da invenção descritos nesse relatório como "azol dionas substituídas" ou "azolina dionas substituídas" poderiam ser alternativamente descritas como "maleimidias substituídas" ou "2,5-pirroldionas substituídas" ou "pirróis substituídos" em combinação com outros termos, de preferência de acordo com a terminologia química padronizada, para oferecer uma descrição completa de um ou mais dos compostos da invenção.

#### Compostos do Tipo Azol Diona Substituída

[00063] A invenção oferece compostos do tipo azol (azolina) diona substituída que podem ser usados para eliminar ou suprimir células com DNA lesionado, ou para tratar distúrbios proliferativos celulares caracterizados por proliferação celular indesejável ou desnecessária, em que os compostos da invenção podem ser descritos pela fórmula de estrutura (I):



(I)

[00064] em que

[00065] a estrutura (I) contém um heterociclo azolina diona;

[00066] R1 e R2 são independentemente escolhidos de alquila, alquila substituída, alcóxi opcionalmente substituído, alquiltio opcionalmente substituído, halogênio, arila opcionalmente substituída, arilóxi opcionalmente substituído, ariltio opcionalmente substituído, ou H. R1 e R2 também podem fazer parte de uma cadeia alquilenos cíclico que forma uma estrutura de anel cíclico;

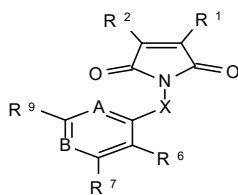
[00067] X é O, S, NR<sub>3</sub>, ou CR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>;

[00068] Ar é arila ou arila substituída, incluindo arila carbocíclica, arila heterocíclica, arila monocíclica, arila policíclica, e arila fundida com anéis não-arila (não-aromáticas);

[00069] R<sub>3</sub> é H, alquila, alquila substituída, acila opcionalmente substituída, ou como parte de uma estrutura de anel que liga o N ao anel Ar;

[00070] R<sub>4</sub> e R<sub>5</sub> são independentemente escolhidos de H, alquila, alquila substituída, ou ambos podem fazer parte de uma cadeia alquilenos cíclico que forma uma estrutura de anel; R<sub>4</sub> ou R<sub>5</sub> também podem fazer parte de uma estrutura de anel que se liga ao anel Ar; ou um sal do mesmo.

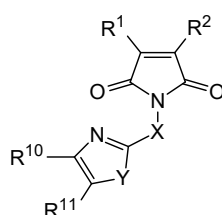
[00071] Em um aspecto, são fornecidos compostos da invenção tendo a estrutura (II):



(II)

[00072] em que

- [00073] a estrutura (II) contém um heterociclo azolina diona;
- [00074] R1, R2, e X são como definidos acima;
- [00075] A é N ou CH;
- [00076] B é CR8 ou N;
- [00077] R6, R7, R8, e R9 são independentemente escolhidos de H, alquila, alquila substituída, halogênio, arila opcionalmente substituída, heteroarila opcionalmente substituída, alcóxi opcionalmente substituído, arilóxi opcionalmente substituído, ciano, nitro, alquiltio opcionalmente substituído, alquilsulfinila opcionalmente substituída, alquilsulfonila opcionalmente substituída, ariltio opcionalmente substituído, acila opcionalmente substituída, amino opcionalmente substituído, carboxila, alcoxicarbonila opcionalmente substituída, carbamoíla opcionalmente substituída, etc. Também estão incluídas as estruturas em que duas substituições adjacentes (R6 e R7, R7 e R8, R8 e R9) fazem parte de um grupo alquilenos cíclico que forma uma estrutura de anel fundido; ou um sal do mesmo.
- [00078] Em um aspecto, são fornecidos compostos da invenção tendo a estrutura (III):



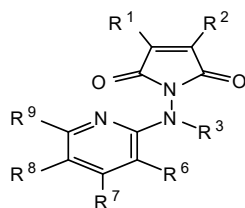
(III)

- [00079] em que
- [00080] a estrutura (III) contém um heterociclo azolina diona;
- [00081] R1, R2, e X são como definidos acima;
- [00082] Y é O, S, ou NR<sub>12</sub>;
- [00083] R10 e R11 são independentemente escolhidos de H, alquila, alquila substituída, halogênio, arila opcionalmente substituída, heteroarila opcionalmente substituída, alcóxi opcionalmente substituído, arilóxi

opcionalmente substituído, ciano, nitro, alquiltio opcionalmente substituído, alquilsulfonila opcionalmente substituída, alquilsulfonila opcionalmente substituída, ariltio opcionalmente substituído, acila opcionalmente substituída, amino opcionalmente substituído, carboxila, alcóxicarbonila opcionalmente substituída, carbamoila opcionalmente substituída, etc; R10 e R11 também poderiam ser um grupo alquilenos que forma um anel "fundido" com a estrutura de heterociclo;

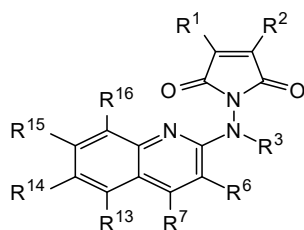
[00084] R12 é H, um grupo alquila, alquila substituída, arila, acila, ou sulfonila; ou um sal do mesmo.

[00085] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (II), X é NR<sup>3</sup>, A é N, e B é CR<sup>8</sup> e são oferecidos compostos tendo a estrutura (IV), em que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, e R<sup>9</sup> estão definidos acima:



(IV)

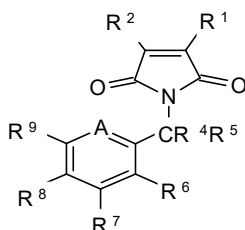
[00086] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (II), X é NR<sup>3</sup>, A é N, B é CR<sup>8</sup>; R<sup>8</sup> e R<sup>9</sup> formam um anel benzeno fundido e substituído, oferecendo compostos tendo a estrutura (V), em que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup> e R<sup>7</sup> estão definidos acima; R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>15</sup>, e R<sup>16</sup> estão como definidos para R<sup>6</sup> – R<sup>11</sup> acima:



(V)

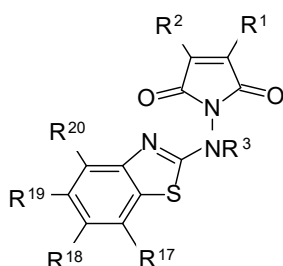
[00087] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (II), X é CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, A é N ou CH, e B é CR<sup>8</sup>, oferecendo

compostos tendo a estrutura (VI), em que  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ , e  $R^9$  estão definidos acima:



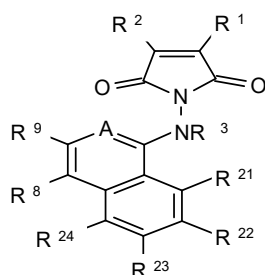
(VI)

[00088] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (III), X é  $NR^3$ , e Y é S;  $R^{10}$  e  $R^{11}$  formam um anel benzeno fundido substituído, oferecendo compostos tendo a estrutura (VII), em que  $R^1$ ,  $R^2$ , e  $R^3$  estão definidos acima;  $R^{17}$ ,  $R^{18}$ ,  $R^{19}$ , e  $R^{20}$  estão como definidos para  $R^6 - R^{11}$  acima:



(VII)

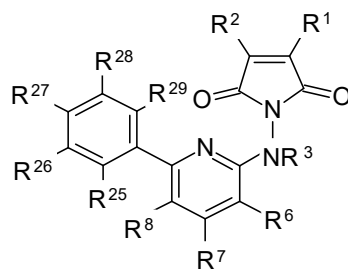
[00089] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (II), X é  $NR^3$ , A é N ou CH, e B é  $CR^8$ ;  $R^6$  e  $R^7$  formam um anel benzeno fundido e substituído, oferecendo compostos tendo a estrutura (VIII), em que  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^8$  e  $R^9$  estão definidos acima;  $R^{21}$ ,  $R^{22}$ ,  $R^{23}$ , e  $R^{24}$  estão como definidos para  $R^6 - R^{11}$  acima:



(VIII)

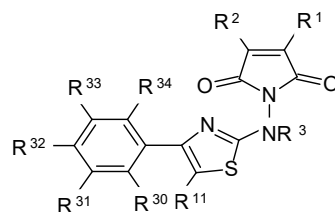
[00090] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos

tendo a estrutura (II), X é  $\text{NR}^3$ , A é N, e B é  $\text{CR}^8$ ;  $\text{R}^9$  é um anel benzeno substituído, oferecendo compostos tendo a estrutura (IX), em que  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^6$ ,  $\text{R}^7$  e  $\text{R}^8$  estão definidos acima;  $\text{R}^{25}$ ,  $\text{R}^{26}$ ,  $\text{R}^{27}$ ,  $\text{R}^{28}$ , e  $\text{R}^{29}$  estão como definidos para  $\text{R}^6 - \text{R}^{11}$  acima:



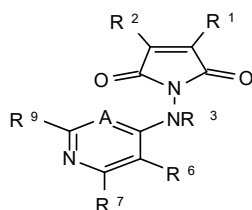
(IX)

[00091] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (III), X é  $\text{NR}^3$ , e Y é S;  $\text{R}^{10}$  é um anel benzeno substituído, oferecendo compostos tendo a estrutura (X), em que  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  e  $\text{R}^{11}$  estão definidos acima;  $\text{R}^{30}$ ,  $\text{R}^{31}$ ,  $\text{R}^{32}$ ,  $\text{R}^{33}$ , e  $\text{R}^{34}$  estão como definidos para  $\text{R}^6 - \text{R}^{11}$  acima:



(X)

[00092] Em certas modalidades não-limitativas dos compostos tendo a estrutura (II), X é  $\text{NR}^3$ , A é N ou CH, e B é N, oferecendo compostos tendo a estrutura (IV), em que  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^6$ ,  $\text{R}^7$ , e  $\text{R}^9$  estão definidos acima:



(XI)

[00093] Compostos representativos estão mostrados na Tabelas 1, 2, e 3 deste relatório. Deve ficar entendido de um modo geral que os

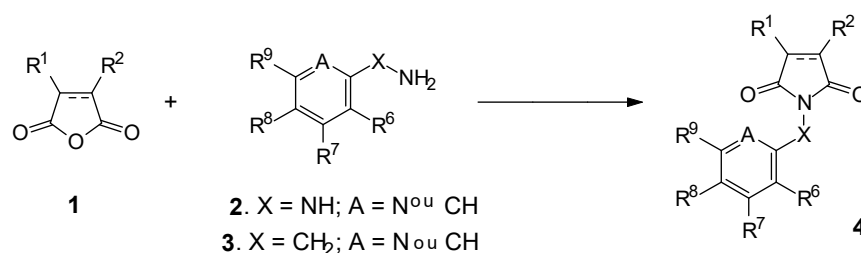
compostos apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3 são ilustrativos apenas, e de modo algum restringem o escopo da invenção.

### Esquemas de Síntese Representativos

[00094] Esquemas representativos para a síntese dos compostos da invenção tendo qualquer uma das estruturas (I) a (XI) estão apresentados abaixo. Os esquemas representativos aqui apresentados não restringem o escopo da invenção de forma alguma. Deve ficar entendido que o versado na técnica pode adaptar os métodos apresentados neste relatório, e/ou os diferentes métodos conhecidos na literatura, para sintetizar compostos adicionais dentro do escopo da invenção, inclusive análogos com substituições ou padrões de substituição diferentes. Deve ficar entendido ainda que, embora tenha sido observado que certas substituições produzem estruturas com atividade maior que a de outras estruturas, a presente invenção oferece compostos com todas as substituições tendo todos os níveis de atividade.

[00095] No método 1 (Esquema 1), um anidrido (1) é reagido com uma hidrazina substituída (2) ou uma benzilamina (3) para formar os compostos tendo a estrutura geral mostrada como (4) abaixo, :

### Esquema 1



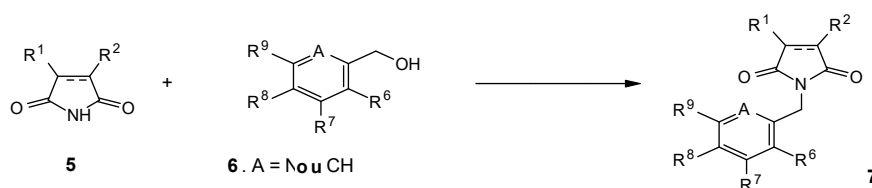
[00096] A reação pode ser realizada em solventes orgânicos comuns tais como THF, clorofórmio, DMF, ácido acético, etc., a temperaturas variando da temperatura ambiente a uma temperatura elevada, por períodos de tempo variando de várias horas a alguns dias. Geralmente, não são necessários outros aditivos. Os anidridos e hidrazinas/benzilaminas necessários são adquiridos de fontes comerciais, ou são sintetizados de acordo com procedimentos



conhecidos na literatura. Nos casos em que os materiais de partida não são conhecidos na literatura, são desenvolvidos métodos de síntese, como ilustrado por certas sínteses descritas nos Exemplos.

[00097] No método 2 (Esquema 2), uma imida (5) é reagida com um álcool benzílico (6) nas condições de Mitsunobu típicas para formar compostos tendo a estrutura geral mostrada como (7) abaixo:

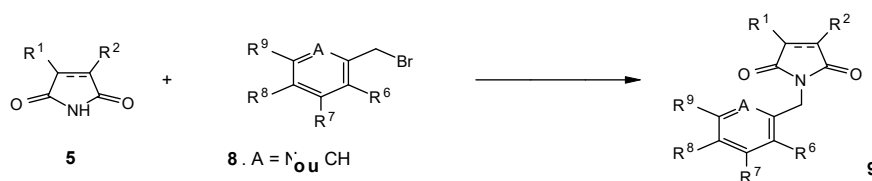
### Esquema 2



[00098] Condições de Mitsunobu típicas incluem o uso de uma fosfina (trifenilfosfina, tributilfosfina etc.), e um azo composto (dietila azo-dicarboxalato, di-isopropil azo-dicarboxilato, etc.). A reação pode ser realizada com uma base adicionada, geralmente trietilamina, ou sem base adicionada, em solventes tais como THF, à temperatura ambiente ou a uma temperatura elevada por várias horas. As imidas e álcoois benzílicos necessários são adquiridos em fontes comerciais, ou são sintetizados de acordo com procedimentos conhecidos na literatura. Nos casos em que os materiais de partida não são conhecidos na literatura, são desenvolvidos métodos de síntese, como ilustrado por certas sínteses descritas nos Exemplos.

[00099] No método 3 (Esquema 3), uma imida (5) é reagida com um brometo de benzil (8) em uma condição reacional típica de deslocamento nucleofílico para formar os compostos tendo a estrutura geral mostrada como (9) abaixo:

### Esquema 3

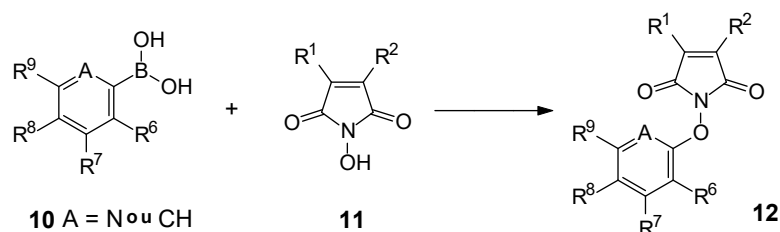


[000100] A condição reacional típica é: refluxo em um solvente

adequado (acetona, DMF, etc.) na presença de uma base adicionada (carbonato de potássio, carbonato de cézio, etc.) por um período de tempo de várias horas a alguns dias. As imidas e brometos de benzil necessários são adquiridos em fontes comerciais, ou são sintetizados de acordo com procedimentos conhecidos na literatura. Nos casos em que os materiais de partida não são conhecidos na literatura, são desenvolvidos métodos de síntese, como ilustrado por certas sínteses descritas nos Exemplos.

[000101] No método 4 (Esquema 4), um ácido arila borônico (10) é reagido com uma N-hidroxi-imida (11) em condições de acoplamento mediado por Cu(I) para formar os compostos tendo a estrutura geral mostrada como (12) abaixo:

#### Esquema 4



[000102] A condição reacional típica é: agitar à temperatura ambiente em solventes adequados (DCE, THF, DMF, etc.) na presença de uma base adicionada (piridina, trietilamina, etc.), com espécies de Cu(I) adicionadas tais como CuCl, por um período de várias horas a uma noite. Os ácidos arila borônicos e N-hidroxi-imidas necessários são adquiridos em fontes comerciais, ou são sintetizados de acordo com procedimentos conhecidos na literatura. Nos casos em que os materiais de partida não são conhecidos na literatura, são desenvolvidos métodos de síntese, como ilustrado por certas sínteses descritas nos Exemplos.

[000103] As sínteses de modalidades particulares estão apresentados nos Exemplos. Os compostos sintetizados representativos apresentados como modalidades nas Tabelas 1 e 2

estão dados a título ilustrativo apenas e de forma alguma restringe o escopo da invenção apresentada neste relatório.

#### Atividades Biológicas dos Compostos da Invenção

[000104] A presente invenção oferece compostos para tratar distúrbios proliferativos celulares. A presente invenção oferece compostos que podem ser usados para eliminar ou suprimir células indesejavelmente proliferantes. A presente invenção oferece compostos que podem ser usados para tratar distúrbios proliferativos celulares por eliminação ou supressão seletiva de células indesejavelmente proliferantes. A presente invenção oferece compostos que podem ser usados para tratar distúrbios proliferativos celulares por eliminação ou supressão seletiva de células indesejavelmente proliferantes que apresentam lesões no DNA ("células com DNA lesionado"). Em populações mistas de células normais e células indesejavelmente proliferantes, os compostos da invenção podem ser usados para eliminar ou suprimir seletivamente células indesejavelmente proliferantes ao mesmo tempo em que apresentam pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais. Em populações mistas de células normais e células com DNA lesionado indesejavelmente proliferantes, os compostos da invenção podem ser usados para eliminar ou suprimir seletivamente as células com DNA lesionado indesejavelmente proliferantes ao mesmo tempo em que apresentam pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais. Em particular, os compostos da invenção podem ser usados para eliminar seletivamente células cancerosas ou suprimir a proliferação de células cancerosas, ao mesmo tempo em que apresentam pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células não-cancerosas "normais". A presente invenção oferece métodos para atacar seletivamente células com DNA lesionado usando os compostos da invenção. A presente invenção oferece métodos para

atacar seletivamente células com uma barreira do ciclo celular G1 lesionada usando os compostos da invenção. A presente invenção oferece métodos para atacar seletivamente células cancerosas usando os compostos da invenção.

[000105] Os tratamentos convencionais para distúrbios proliferativos celulares frequentemente incluem agentes lesionadores de DNA e os tratamentos descritos neste relatório. Esses tratamentos convencionais, geralmente usados como tratamentos anticâncer, são selecionados para eliminar as células rapidamente ciclizantes (proliferantes) na expectativa de eliminar as células indesejavelmente proliferantes características do distúrbio proliferativo. Exemplos de tais tratamentos incluem, porém sem limitação, agentes citotóxicos e/ou irradiação com radiação  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , X e/ou UV. No entanto, os tratamentos convencionais frequentemente fazem com que os pacientes apresentem efeitos adversos nas células normais que também estão proliferando, por exemplo, diarreia devido à lesão nas células epiteliais intestinais, perda de cabelo devido à lesão nas células pilosas foliculares, e anemia devido à lesão nos progenitores de células sanguíneas, todas elas estando entre as células que proliferam mais rapidamente no corpo normal. Esses efeitos adversos geralmente dificultam os tratamentos. Por conseguinte, medicamentos que ataquem especificamente células indesejavelmente proliferantes tais como células cancerosas, sem prejudicar as células normais são há muito esperados na clínica.

[000106] Embora a invenção não esteja limitada por qualquer mecanismo de ação articular, e sem desejar se ater a essa teoria, os compostos da invenção podem eliminar ou suprimir células indesejavelmente proliferantes anulando a barreira G2 nas células proliferantes, e/ou causando adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 em células de G2 interrompido. Portanto, a invenção oferece

métodos para eliminar ou suprimir células indesejavelmente proliferantes por meio de contato das células com pelo menos um composto da invenção em uma quantidade suficiente para anular a barreira do ciclo celular em G2 e/ou causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2.

[000107] Sem desejar se ater a essa teoria, a anulação da barreira G2 em células com DNA lesionado levaria as células com DNA lesionado a progredir através do ciclo celular com ou sem reparo da lesão no DNA. Igualmente, a adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 em células com DNA lesionado levaria as células com DNA lesionado antes interrompidas a entrar na fase de mitose sem reparo da lesão no DNA. Em geral sabe-se que as células normais dependem da barreira G1 como a principal barreira para detectar lesões ou defeitos no DNA durante o ciclo celular, e não parecem usar tanto a barreira G2 para detectar lesões ou defeitos no DNA, ao passo que as células com uma barreira G1 lesionada ou defeituosa, por exemplo, a maioria das células cancerosas, precisam depender da barreira G2 para detectar lesões ou defeitos no DNA, e iniciar o reparo antes de a célula entrar na fase de mitose. Portanto, a anulação da barreira G2 em células com uma barreira G1 lesionada levaria as células a progredir através do ciclo celular com sem reparo de qualquer lesão acumulada no DNA. Igualmente, a adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 em células com uma barreira G1 lesionada levaria as células antes interrompidas a entrar na fase de mitose sem reparo de qualquer lesão acumulada no DNA. A expressão "lesão no DNA" abrange lesões no DNA não relacionadas à barreira G1, assim como lesões no DNA resultantes de uma barreira G1 lesionada, de modo que células com uma barreira G1 lesionada podem ser consideradas "células com DNA lesionado." Em todas as situações descritas acima, espera-se que a evolução através do ciclo celular sem reparo da lesão

no DNA resulte na supressão ou na morte das células com DNA lesionado.

[000108] Embora a invenção não esteja limitada a um mecanismo de ação particular, foi observado que os compostos da invenção podem anular a barreira G2 em células proliferantes, e podem causar a adaptação à interrupção do ciclo celular em G2. A anulação da barreira G2 em células proliferantes com DNA lesionado permite a células com DNA lesionado evolua através de G2 e entre na fase de mitose sem reparo suficiente da lesão no DNA. A adaptação à interrupção em G2 de células com DNA lesionado, que resulta na reentrada no ciclo celular das células com DNA lesionado antes interrompidas, permite que a célula com DNA lesionado entre na fase de mitose sem reparo suficiente da lesão no DNA. Sabe-se ainda que se uma célula com DNA lesionado ainda evolui no ciclo celular com uma barreira G1 lesionada e entra na fase S, mais lesões, defeitos, e erros são esperados. Em todas as situações descritas acima, o acúmulo de lesões poderia resultar em apoptose, catástrofe mitótica, necrose, ou supressão das células. Como maioria das células cancerosas têm lesões no DNA e/ou apresentam uma barreira G1 lesionada (defeituosa), os compostos da invenção podem ser usados para eliminar ou suprimir células cancerosas porque a anulação da barreira G2 ou a adaptação à interrupção em G2 terá efeitos citotóxicos nas células cancerosas, por exemplo, morte ou supressão das células cancerosas.

[000109] Para células normais sem lesão no DNA, espera-se que a anulação da barreira do ciclo celular em G2 pelos compostos da invenção tenha pouco ou nenhum efeito citotóxico. Além disso, como não é provável que células normais sem lesão no DNA sejam interrompidas em G2, espera-se que a capacidade dos compostos da invenção para causar adaptação à interrupção em G2 tenha pouco ou nenhum efeito

citotóxico. Portanto, em uma população de células que inclui células indesejavelmente proliferantes com DNA lesionado e células normais, os compostos da invenção podem ser usados para eliminar ou suprimir seletivamente células com DNA lesionado, ao mesmo tempo em que têm pouco ou nenhum efeito nas células normais. Em uma população de células que inclui células cancerosas indesejavelmente proliferantes e células normais, os compostos da invenção podem ser usados para eliminar ou suprimir seletivamente as células cancerosas, ao mesmo tempo em que têm pouco ou nenhum efeito nas células normais.

#### Uso dos Compostos da Invenção para Tratar Células

[000110] Qualquer célula cuja proliferação seja indesejável pode ser tratada in vitro, ex vivo ou in vivo com os compostos da invenção. Células candidatas podem ser identificadas por meio do contato de uma célula de teste com um composto da invenção isolado, ou em combinação com um tratamento lesionador de DNA ou outro tratamento anticâncer, e determinando-se então se a célula contatada apresenta proliferação reduzida, morte celular aumentada, ou adaptação à interrupção do ciclo celular. As células candidatas podem ser identificadas com base em aspectos que incluem, porém sem limitação, lesão no DNA, morfologia celular de crescimento ou proliferação aberta (in vivo ou in vitro), ou expressão de marcadores de câncer. O diagnóstico clínico de um distúrbio proliferativo tal como câncer pode basear-se na evidência de células a serem tratadas in vitro, ex vivo, ou in vivo com os compostos da invenção.

[000111] As células podem ser tratadas in vitro com os compostos da invenção. As células podem ser retiradas de um indivíduo, tratadas ex vivo usando os compostos da invenção, e devolvidas para o indivíduo. As células podem ser tratadas in vivo usando os compostos da invenção, em que os compostos da invenção podem ser administrados

sistemicamente a um indivíduo, por exemplo por via oral ou intravenosa, ou por um método de administração vetorizado, por exemplo, injeção no local do tumor, injeção intraperitoneal, ou por associando-se os compostos da invenção a dispositivos de distribuição tais como ligandos, anticorpos, gaiolas moleculares, ou lipossomas capazes de vetorizar pelo menos uma célula a ser tratada.

#### Uso dos Compostos da Invenção para Tratar Indivíduos

[000112] Indivíduos apropriados para tratamento usando os compostos da invenção incluem indivíduos que estejam fazendo algum tratamento para um distúrbio proliferativo celular, ou candidatos a um tratamento para um distúrbio proliferativo celular, por exemplo, indivíduos que estejam fazendo algum tratamento anticâncer, ou que sejam indicados como candidatos para um tratamento anticâncer. Indivíduos apropriados para tratamento incluem aqueles que tenham um distúrbio proliferativo celular, por exemplo, um diagnóstico de câncer. Indivíduos candidatos incluem indivíduos com risco de desenvolver um distúrbio proliferativo celular. Os métodos da invenção aplicam-se portanto ao tratamento de um indivíduo com risco de desenvolver um distúrbio proliferativo celular mas que ainda não apresentou abertamente sintomas do distúrbio e/ou que ainda não tenha sido diagnosticado com um distúrbio proliferativo celular.

#### Uso dos compostos da invenção para tratar distúrbios proliferativos celulares.

[000113] Distúrbios proliferativos celulares suscetíveis a tratamento usando as composições e métodos oferecidos por esta invenção incluem condições patológicas (doenças), tanto benignas quanto neoplásicas, e condições fisiológicas não-patológicas, caracterizadas por números de células, crescimento celular ou sobrevivência celular anormais ou indesejáveis. Distúrbios ou condições patológicas podem constituir uma doença, em particular todos os tipos de câncer, que



incluem crescimentos cancerosos, processos oncogênicos, metástases, células e tecidos metastáticos, e células, tecidos ou órgãos malignamente transformados. Os distúrbios proliferativos celulares podem ser não-patológicos, e incluem alguns tipo de crescimento de tecido fibótico (por exemplo, durante o reparo de uma ferida resultando em cicatriz), certos distúrbios proliferativos dos vasos sanguíneos, e certas hiperplasias benignas. O presente relatório oferece um guia suficiente e modalidades exemplificativas para permitir que o versado na técnica identifique os distúrbios proliferativos celulares adequados para tratamento usando as composições e os métodos oferecidos nesta invenção, e para permitir que ele desenvolva protocolos para tal tratamento.

[000114] As células compreendendo o distúrbio proliferativo podem ser agregadas em uma massa celular ou elas podem ser dispersadas. A expressão "tumor sólido" refere-se a hiperplasias, neoplasias ou metástases que tipicamente se agregam e formam uma massa. Exemplos particulares incluem tumores viscerais tais como câncer gástrico ou câncer de cólon, hepatomas, carcinomas venais, tumores/cânceres de pulmão e de cérebro. Um "tumor líquido" geralmente refere-se a neoplasias do sistema hematopoiético, tais como linfomas, mielomas e leucemias, ou neoplasias que são de natureza difusa, uma vez que tipicamente eles não formam uma massa sólida. Exemplos particulares de leucemias incluem mieloma linfoblástico crônico, mieloma mieloblástico e mieloma múltiplo.

[000115] Tais distúrbios incluem neoplasmas ou cânceres, que podem afetar virtualmente qualquer tipo de célula ou tecido, por exemplo, carcinoma, sarcoma, melanoma, distúrbios metastáticos ou distúrbios neoplásicos hematopoiéticos. Um tumor metastático pode ser decorrente de diversos tipos de tumores primários, que incluem, porém sem limitação, mama, pulmão, tireoide, cabeça e pescoço,

cérebro, linfóide, gastrointestinal (boca, esôfago, estômago, intestino delgado, cólon, reto), trato genitourinário (útero, ovário, cérvice, bexiga, testículo, pênis, próstata), rim, pâncreas, fígado, osso, músculo, pele etc.

[000116] Carcinomas referem-se a malignidades do tecido epitelial ou endócrino, e incluem carcinomas do sistema respiratório, carcinomas do sistema gastrointestinal, carcinomas do sistema genitourinário, carcinomas testiculares, carcinomas de mama, carcinomas de próstata, carcinomas do sistema endócrino, e melanomas. Carcinomas exemplificativos incluem aqueles que se formam na cérvice, no pulmão, na próstata, na mama, na cabeça e pescoço, no cólon, no fígado e no ovário. A expressão também inclui carcinossarcomas, por exemplo, que incluem tumores malignos compostos de tecidos carcinomatosos e sarcomatosos. Adenocarcinoma inclui um carcinoma de um tecido glandular, ou no qual o tumor forma uma estrutura semelhante a uma glândula.

[000117] Sarcomas referem-se a tumores malignos de origem nas células mesenquimatosas. Sarcomas exemplificativos incluem por exemplo linfossarcoma, lipossarcoma, osteossarcoma, e fibrossarcoma.

[000118] Conforme usado neste relatório, a expressão "distúrbio proliferativo hematopoiético" significa uma doença que envolve células hiperplásicas/neoplásicas de origem hematopoiética, por exemplo, que resultam de linhagens mielóides, linfóides ou eritroides, ou células precursoras das mesmas. Tipicamente, as doenças são decorrentes de leucemias agudas pobremente diferenciadas, por exemplo, leucemia eritroblástica e leucemia megacarioblástica aguda. Exemplos adicionais de distúrbios mielóides incluem, porém sem limitação, leucemia promieloide aguda (APML), leucemia mielogênica aguda (AML) e leucemia mielogênica crônica (CML); malignidades linfóides

incluem, porém sem limitação, leucemia linfoblástica aguda (ALL), que inclui ALL da linhagem B e ALL da linhagem T, leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemia prolinfocítica (PLL), leucemia de células pilosas (HLL) e macroglobulinemia de Waldenstrom (WM). Linfomas malignos adicionais incluem, porém sem limitação, linfoma não-Hodgkin e variantes do mesmo, linfomas de células T periféricas, leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL), linfomas de células T cutâneas (CTCL), leucemia linfocítica granular grande (LGF), doença de Hodgkin e doença de Reed-Sternberg.

[000119] A invenção oferece composições e métodos para tratar distúrbios proliferativos celulares usando os compostos da invenção. A invenção oferece composições e métodos para tratar câncer usando os compostos da invenção. A invenção oferece composições e métodos para eliminar ou suprimir células cancerosas usando os compostos da invenção. A invenção oferece compostos da invenção, para uso no tratamento de distúrbios proliferativos celulares in vivo, in vitro, e ex vivo. A invenção oferece compostos da invenção, para uso no tratamento de câncer in vivo, in vitro, e ex vivo. A invenção oferece compostos farmacêuticos da invenção, para uso na eliminação ou supressão de células cancerosas in vivo, in vitro, e ex vivo. A invenção oferece composições farmacêuticas (medicamentos) contendo compostos da invenção, para todos os usos descritos neste relatório, incluindo porém sem limitação, o tratamento de distúrbios proliferativos celulares, eliminação ou a supressão células cancerosas, e o tratamento de câncer.

[000120] A invenção oferece composições e métodos que incluem pelo menos um composto da invenção em combinação com pelo menos um componente ativo adicional. A invenção oferece composições farmacêuticas (medicamentos) incluindo pelo menos um composto da invenção em combinação com pelo menos um

componente ativo adicional, para uso no tratamento de distúrbios proliferativos celulares. Em particular, a invenção oferece composições e métodos que incluem compostos da invenção em combinação com pelo menos um tratamento anticâncer. A expressão "tratamento anticâncer" para uso em combinação com os compostos da invenção inclui qualquer tratamento anticâncer, antiproliferativo, lesionador de DNA, ou antitumoral descrito neste relatório, inclusive os "tratamentos lesionadores de DNA: e os "agentes lesionadores de DNA" mencionados acima, ou qualquer tratamento desse tipo conhecido na literatura. Por exemplo, um tratamento anticâncer (antiproliferativo celular, antitumoral) pode compreender tratamento com radiação ou ressecção tumoral, opcionalmente em combinação com um tratamento medicamentoso. O tratamento pode compreender a administração de uma substância química, tal como um radioisótopo, uma fármaco anticâncer tal como um agente quimioterapêutico, ou terapia genética, tal como um antioncogene (por exemplo, Rb, DCC, p53, etc.), um oncogene negativo dominante ou um antissentido para um oncogene. Os compostos da invenção podem ser administrados antes, simultaneamente ou depois de outros protocolos de tratamento. Por exemplo, um indivíduo candidato à terapia antiproliferativa celular (por exemplo, terapia com radiação, quimioterapia, terapia genética, ressecção cirúrgica etc.) pode receber um composto da invenção antes de iniciar a terapia antiproliferativa celular. Por conseguinte, a invenção oferece métodos de tratamento profilático.

[000121] Como demonstrado nas modalidades exemplificativas descritas nos Exemplos e discutidas abaixo, os compostos da invenção podem ser usados isolados ou em combinação, in vivo, ex vivo, e in vitro, para tratar distúrbios proliferativos celulares. Como demonstrado nas modalidades exemplificativas descritas nos Exemplos e discutidas abaixo, os compostos da invenção podem ser

usados isolados ou em combinação, in vivo, ex vivo, e in vitro, para tratar câncer. Como demonstrado nas modalidades exemplificativas descritas nos Exemplos e discutidas abaixo, os compostos da invenção podem ser usados isolados ou em combinação, in vivo e in vitro, para eliminar ou suprimir células cancerosas.

#### Efeitos dos Compostos da Invenção

[000122] Tipicamente é administrada uma "quantidade eficaz" ou uma "quantidade suficiente" de um composto da invenção, em que a quantidade é uma quantidade (concentração, dose, nível) suficiente para produzir um efeito desejado. As quantidades eficazes são determinadas por qualquer uma de uma variedade de medidas que incluem: morte celular (por exemplo, aumento na percentagem de células na fase subG1), proliferação celular reduzida, número reduzido de células, massa celular reduzida, apoptose aumentada, sobrevivência reduzida, ou adaptação à interrupção do ciclo celular (escapada da interrupção do ciclo celular). Por exemplo, em que se deseja inibir a proliferação celular, uma quantidade eficaz será uma quantidade que reduz de forma detectável a proliferação celular, ou aumenta a morte celular, ou diminui a sobrevivência celular. A quantidade portanto pode ser suficiente para reduzir o número de células alvo, para estabilizar o número de células alvo ou para inibir aumentos no número de células alvo. Uma quantidade eficaz pode ser uma quantidade suficiente para aumentar o tempo de vida de um indivíduo com um distúrbio proliferativo celular.

[000123] Por exemplo, em que o distúrbio compreende um tumor sólido, uma quantidade eficaz de um composto da invenção poderia reduzir o tamanho do tumor, estabilizar o tamanho do tumor, ou aumentar o tempo de vida de um indivíduo com o tumor. Como mostrado na modalidade exemplificativa do Exemplo 4, cinco (5) compostos representativos da invenção mostraram citotoxicidade

seletiva in vivo contra células cancerosas, e nenhuma citotoxicidade in vivo detectável contra células normais, como ilustrado por aumentos dramáticos no tempo de vida do hospedeiro do tumor.

[000124] Em que o distúrbio compreender um "tumor líquido" uma quantidade eficaz de um composto da invenção reduziria o número de células tumorosas, estabilizaria o número de células tumorosas, inibiria novos aumentos no número de células tumorosas, ou causaria a reentrada das células cancerosas de ciclo celular interrompido no ciclo celular (adaptação à interrupção do ciclo celular). Além disso, quantidades eficazes dos compostos da invenção poderiam prevenir ou inibir a evolução do distúrbio proliferativo, por exemplo, reduzir, inibir ou prevenir a metástase.

[000125] Uma quantidade eficaz de um composto da invenção pode ser uma quantidade que produza um efeito desejado sem produzir um efeito inaceitável ou indesejável. Uma quantidade eficaz de um composto da invenção pode ser uma quantidade que elimine ou suprima células alvo (por exemplo, células cancerosas) ao mesmo tempo em que tem pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células não alvo (por exemplo, células normais), ou uma quantidade que produza um benefício terapêutico desejado em um indivíduo com um distúrbio proliferativo celular, ao mesmo tempo em que tem pouco ou nenhum efeito adverso no indivíduo. Além disso, uma quantidade eficaz de um composto da invenção pode ser uma quantidade que, em combinação com outro tratamento, produz um efeito desejado sem produzir um efeito inaceitável e indesejável. Como mostrado nas modalidades exemplificativas do Exemplo 7 e ilustrado nas Tabelas 4-11 abaixo, o composto S00109 tem pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais a concentrações que podem eliminar ou suprimir células cancerosas. Além disso como mostrado nas modalidades exemplificativas do Exemplo 7 e ilustrado nas Tabelas 4-11 abaixo, o

composto S00109 pode ser usado em combinação com um outro tratamento anticâncer para eliminar ou suprimir células cancerosas, a uma concentração de S00109 que tem pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais.

[000126] Quantidades eficazes dos compostos da invenção podem objetiva ou subjetivamente reduzir ou diminuir a severidade ou a frequência de sintomas associados ao distúrbio ou condição. Por exemplo, uma quantidade eficaz de um composto da invenção poderia reduzir a dor, náusea ou outro desconforto, ou aumentar o apetite ou o bem-estar pessoal.

[000127] Quantidades eficazes dos compostos da invenção poderiam reduzir a quantidade (por exemplo, dosagem) ou a frequência do tratamento com um outro protocolo. Por exemplo, um paciente com câncer tratado com um composto da invenção pode requer menor quantidade de agente ou tratamento anticâncer lesionador de DNA para obter o nível desejado de inibição da proliferação de células cancerosas, isto é, um nível desejado de eliminação ou supressão das células cancerosas proliferantes.

[000128] Os métodos da invenção que levam a uma melhora na condição do indivíduo ou a um benefício terapêutico que pode ser permanente podem se estender por um período de tempo mais longo, por exemplo, meses ou anos, ou podem ser de duração relativamente curta, por exemplo, a melhora pode durar várias horas, dias ou semanas. Uma quantidade eficaz não precisa provocar uma eliminação completa de todos os sintomas ou de qualquer sintoma da condição ou distúrbio. Uma quantidade eficaz que proporciona um ou mais efeitos benéficos, como descrito neste relatório ou conhecido na literatura, é chamada de "melhora" da condição do indivíduo ou de "benefício terapêutico" para o indivíduo.

[000129] Uma quantidade eficaz de um composto da invenção pode

ser determinada com base em estudos animais ou opcionalmente com base em experiências clínicas em humanos. O versado na técnica vai apreciar os vários fatores que podem ter influência na dosagem e no tempo necessário para tratar um indivíduo particular que incluem, por exemplo, o estado geral de saúde, a idade, ou o sexo do indivíduo, a severidade ou o estágio do distúrbio ou condição, os tratamentos anteriores, a suscetibilidade a efeitos colaterais indesejáveis, o resultado clínico desejado e a presença de outros distúrbios ou condições. Tais fatores podem influenciar a dosagem e o tempo necessário para oferecer uma quantidade suficiente para o benefício terapêutico. O regime de dosagem também leva em consideração a farmacocinética, isto é, a taxa de absorção da composição farmacêutica, a biodisponibilidade, o metabolismo, e a depuração. Além disso, as doses ou os protocolos de tratamento devem ser especificamente ajustados ao indivíduo ou modificados com base em dados farmacogenômicos.

#### Adaptação à Interrupção do Ceclocelular G Induzida por Lesão no DNA

[000130] Embora a invenção não esteja limitada a um mecanismo de ação particular, foi determinado que os compostos da invenção podem causar adaptação à interrupção do ceclocelular em G2. Portanto, a invenção oferece composições e métodos para anular ou escapar da interrupção do ceclocelular em G2, em particular da interrupção do ceclocelular em G2 deflagrada por lesão no DNA. Sabe-se que em células com DNA lesionado, as funções da barreira G2 induzida por lesão no DNA incluem reconhecimento de lesão no DNA e geração de um sinal que produz a interrupção do ceclocelular, de modo que as células com DNA lesionado são interrompidas na fase G2 até o reparo ser terminado. Os compostos da invenção podem causar a reentrada das células na interrupção do ceclocelular em G2 no ceclocelular,



possivelmente anulando a barreira G2 induzida por dano no DNA nas células de G2 interrompido. Como demonstrado nas modalidades apresentadas nos exemplos, nas tabelas e nas figuras da presente descrição, os compostos da invenção podem induzir as células na interrupção do ciclo celular em G2 (isto é, células com lesão pré-existente no DNA) a reentrar no ciclo celular, prosseguindo pelas fases G2 e M e entrando nas fases G1 (duplicação de DNA) sem lesão não reparada no DNA, o que leva à morte celular ou à supressão celular, normalmente por catástrofe mitótica ou por apoptose.

[000131] Em uma modalidade exemplificativa descrita no Exemplo 1 e mostrada na Figura 1, células Jurkat (uma linhagem celular derivada de linfoma de células T humano) foram "pré-interrompidas" na fase G2 por irradiação de raios X e tratadas com S00109 ou S01860 a várias dosagens. A adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 foi determinada medindo-se a percentagem de células na fase G1, em que as células na fase G1 foram identificadas por terem 2N DNA. Nessas modalidades, as células expostas ao S00109 ou ao S01860 mostraram um aumento dose-dependente na percentagem de células na fase G1 ("incremento de G1"). Esses resultados indicaram que a exposição ao composto S00109 ou ao composto S01860 a concentrações de 0,019  $\mu$ M a 0,625  $\mu$ M fez as células interrompidas em G2 reentrarem no ciclo celular e prosseguirem pela fase M e entrarem na fase G1. Em contraste, apenas alguns por cento das células na população de células interrompidas em G2 (isto é, sem exposição ao composto S00109 ou ao composto S01860) entraram na fase G1.

[000132] Modalidades exemplificativas não-limitativas adicionais de adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 pelos compostos da invenção, estão apresentadas nos Exemplos 5 e 6, e ilustradas nas Tabelas 1, 2 e 3, apresentando as estruturas e os valores de IC50 (a

concentração que causa incremento G1 semi-máximo) para aproximadamente 144 compostos da invenção. Os vastos dados fornecidos nas Tabelas 1, 2 e 3 permitiram determinações das relações entre atividade-estrutura.

[000133] Outras medidas da atividade do ceclocelular também podem ser usadas para demonstrar a capacidade dos compostos da invenção para anular o ceclocelular em G2 e/ou para causar adaptação à interrupção do ceclocelular induzida por lesão no DNA. Em uma modalidade exemplificativa descrita no Exemplo 1 e ilustrada na Figura 2, foi medida a fosforilação da histona H3, em que fosforilação aumentada da histona H3 indicou adaptação (ou escapada) à interrupção do ceclocelular induzida por lesão no DNA. A interrupção do ceclocelular em G2 foi induzida em células Jurkat por lesão no DNA, isto é, distribuindo-se uma dose de 10 Gy de raios X para produzir células "pré-interrompidas". As células pré-interrompidas foram expostas ao composto S00109 (também chamado S109) a 0,3  $\mu$ M ou 1  $\mu$ M, e aumentos significativos na fosforilação da histona H3 foram observados durante um período de tratamento de 24 horas. Sem desejar se ater a essa teoria, os compostos da invenção presumivelmente causaram adaptação (ou escapada) à interrupção do ceclocelular induzida por lesão no DNA anulando a barreira G2 induzida por lesão no DNA.

#### Os Compostos da Invenção têm Efeitos Citotóxicos em Células Cancerosas

[000134] Os compostos da invenção podem ter um efeito citotóxico em células cancerosas, sem qualquer tratamento adicional. Por conseguinte, a invenção oferece composições e métodos para eliminar ou suprimir células cancerosas sem qualquer tratamento adicional. Em uma modalidade exemplificativa descrita no Exemplo 2 e mostrada na Figura 4, a exposição de células cancerosas humanas ao composto

S00109 isolado tem um efeito citotóxico dose-dependente nas células cancerosas conforme medido por um ensaio de formação de colônias (Figura 4, "0 Gy" círculos vazios, linha cheia, indicando que não houve tratamento com radiação).

[000135] Nas modalidades exemplificativas não-limitativas descritas no Exemplo 4 e mostradas nas Figuras 6, 7, e 8, são fornecidos compostos da invenção que têm um efeito citotóxico em células cancerosas, sem qualquer tratamento anticâncer adicional, e sem efeitos citotóxicos em on células normais. Nas modalidades exemplificativas da Figura 4, camundongos receberam xenoenxertos de células de mieloma humano por transplante intraperitoneal, e os efeitos dos compostos da invenção nos índices de sobrevivência foram medidos. Como descrito no Exemplo 4 e mostrado nas Figuras 6, 7, e 8, tratamento com S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747 isolado foi suficiente para prolongar a vida dos camundongos com xenoenxertos de células de mieloma humano, indicando que o composto S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747 teve efeitos citotóxicos nas células cancerosas transplantadas no xenoenxerto. Como mostrado na modalidade da Figura 6, tratamento com S00109 (por injeção intraperitoneal) teve um efeito terapêutico na sobrevivência muito maior do que o tratamento "tradicional" com dexametasona, ou nenhum tratamento. Como mostrado nas Figuras 7 e 8, a administração oral de vários compostos representativos da invenção produziu aumentos drásticos nos índices de sobrevivência, em que alguns tratamentos apresentaram índices de sobrevivência de 100% no final da experiência. Esses resultados demonstram que os compostos da invenção, ilustrados pelos cinco (5) compostos representativos e distintos testados no Exemplo 4, podem ter citotoxicidade seletiva contra células cancerosas, e nenhuma citotoxicidade detectável contra células normais (isto é, as células

normais do camundongo hospedeiro do enxerto de tumor). Esses resultados in vivo demonstram que os compostos da invenção, ilustrados pelos cinco (5) compostos representativos e distintos testados no Exemplo 4, podem ter citotoxicidade seletiva in vivo contra células cancerosas, e nenhuma citotoxicidade detectável in vivo contra células normais. Esses resultados demonstram que os compostos da invenção, ilustrados pelos cinco (5) compostos representativos e distintos da presente invenção administrados por vias diferentes no Exemplo 4, podem ser administrados a um indivíduo em uma quantidade eficaz para tratar um distúrbio proliferativo em um indivíduo.

#### Os Compostos da Invenção podem tornar as Células Sensíveis a Tratamentos Anticâncer

[000136] Os compostos da invenção podem aumentar, ou exacerbar, os efeitos citotóxicos de outros tratamentos. Por conseguinte, a invenção oferece composições e métodos para tornar as células sensíveis a tratamentos anticâncer, em particular para tornar as células sensíveis a agentes e tratamentos lesionadores de DNA. Nas modalidades exemplificativas descritas no Exemplo 2 e mostradas na Figura 4, quando células cancerosas humanas que foram "presente invenção-interrompidas" em G2 por irradiação de raios X também são expostas ao composto S00109, o tratamento combinado tem um efeito citotóxico muito maior nas células segundo medido por um ensaio de formação de colônias. Na Figura 4, o efeito sensibilizador dos compostos da invenção é ilustrado melhor para células que receberam uma dose de 1 Gy ("1 Gy" círculos cheios, linha tracejada) e tratamento com várias doses de S00109, em que S00109 mostrou um efeito aditivo dose-dependente na citotoxicidade. Em uma modalidade exemplificativa descrita no Exemplo 3 e mostrada na Figura 5, tratamentos combinados com S00109 e dexametasona têm uma

citotoxicidade muito maior que qualquer um desses tratamentos isolados, medida pela percentagem de células na fase subG1, isto é, a percentagem de células mortas.

[000137] Em uma modalidade exemplificativa descrita no Exemplo 2 e mostrada na Figura 3, a expressão de  $\gamma$ -H2AX fosforilado foi medida como um indicador da citotoxicidade. As células tratadas somente com irradiação de raios X mostrou expressão aumentada de  $\gamma$ -H2AX fosforilado durante um período de 48 horas. O efeito sensibilizador ou 'aditivo' dos compostos da invenção pode ser visto nas células tratadas com irradiação de raios X seguida de exposição a 1  $\mu$ M de S00109 (indicado por "S-109 +" na legenda da figura) resultando níveis significativamente mais altos de expressão de  $\gamma$ -H2AX fosforilado durante o mesmo período de 48 horas, indicando níveis significativamente mais altos de citotoxicidade devido à administração de S00109.

#### Os Compostos da Invenção têm Citotoxicidade Seletiva para Células Cancerosas

[000138] De acordo com ainda um outro aspecto da invenção, os compostos da invenção podem eliminar ou suprimir seletivamente células alvo, em particular células cancerosas, com pouco ou nenhum efeito nas células normais (não alvo). A maioria dos agentes anticâncer convencionais atacam células proliferantes independente de elas serem células cancerosas ou células normais, com o resultado de que a maioria dos medicamentos anticâncer convencionais dão origem a efeitos colaterais tais como náusea, diarreia, ou perda de cabelo. Em contraste, os compostos da invenção atacam seletivamente as células com condições tais como barreira G1 lesionada, interrupção do ciclo celular em G2, ou outros tipos de danos no DNA, eliminando ou suprimindo seletivamente as células alvo ao mesmo tempo em que têm pouco ou nenhum efeito em células normais.

[000139] Modalidades exemplificativas não-limitativas da seletividade dos compostos da invenção estão descritas no Exemplo 7 e mostradas nas Tabelas 4 a 11, em que os compostos da invenção não foram citotóxicos para células normais nas concentrações em que os compostos da invenção tiveram efeitos citotóxicos severos em células cancerosas e células com DNA lesionado (por exemplo, células irradiadas). Por conseguinte, a invenção oferece métodos para atacar seletivamente células com DNA lesionado tais como células cancerosas, com pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais (não lesionadas), por meio de contato das células com pelo menos um composto da invenção em uma quantidade suficiente para anular a barreira G2. A invenção oferece composições farmacêuticas contendo pelo menos um composto da invenção, adequadas para uso em métodos para atacar seletivamente células com DNA lesionado tais como células cancerosas, com pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais (não lesionadas).

#### Uso dos Compostos da Invenção para Rastreamento

[000140] Os compostos da invenção podem ser usados em protocolos de rastreamento baseados em um fenótipo do ciclo celular, por exemplo, como descrito por Sha et al. ((2007) Mol Câncer Ther, 6: 147-153) para identificar compostos candidatos que possam interagir com a barreira G2 e/ou com outros processos envolvidos na adaptação à interrupção do ciclo celular em G2. Os compostos da invenção podem ser usados em protocolos de rastreamento para identificar compostos candidatos para anulação terapêutica da barreira G2 e/ou para interrupção terapêutica da barreira G2. Estes protocolos de rastreamento pode ser usado para identificar compostos que tenham a atividade biológica desejada. Os compostos identificados dessa maneira podem ser ainda avaliados quanto à atividade citotóxica seletiva contra células cancerosas. Os compostos podem

ser avaliados em tratamentos combinados com agentes anticâncer convencionais tais como dexametasona.

Os Exemplos a seguir são oferecidos para ilustrar, e não para limitar a invenção reivindicada.

### EXEMPLOS

Exemplo 1: Efeitos dos compostos de teste S00109 e S01860 em células Jurkat interrompidas na fase G2.

[000141] Células Jurkat (uma linhagem celular derivada de linfoma de células T humano) foram interrompidas na fase G2 por irradiação de raios X a 10 Gy, e cultivadas por 24 horas em 10% de soro de bezerro fetal (FCS)/RPMI1640 a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>/ar. (FCS foi adquirido na Equitech-Bio, Kerrville, TX, e RPMI1640 foi adquirido na Sigma-Aldrich, St. Louis, MO.) Os compostos de teste foram adicionados ao meio nas doses indicadas, e as células foram cultivadas nas condições descritas acima, por mais 24 horas antes de serem coletadas.

[000142] As células coletadas foram coloridas com tampão de Krishan (0,1% de citrato de sódio, 50 µg/ml de iodeto de propídio, 20 µg/ml de RNase A, 0,5% de Nonidet P-40) e analisadas por citometria de fluxo (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) para identificar o estágio celular de cada célula na amostra. As células na fase G1 foram identificadas por terem um teor de DNA duas vezes maior (2N). A Figura 1 mostra a percentagem das células na fase G1 depois do tratamento com cada composto nas dosagens indicadas.

[000143] O valor de IC<sub>50</sub> para cada composto foi calculado como a dosagem que apresenta atividade semimáxima para induzir o aumento da percentagem das células na fase G1 (the G1 increment). Os valores de IC<sub>50</sub> foram usados para medir a atividade dos compostos e para determinar as relações entre estrutura-atividade.

[000144] Como mostrado na Figura 1, as populações de células

Jurkat pré-interrompidas tratadas com o composto S00109 ou S01860 por 24 horas apresentaram um aumento significativo no número de células G1, indicando que as células conseguiram entrar novamente no ciclo celular.

### Fosforilação da Histona H3

[000145] Números aumentados das células na fase G1 ("células G1" detectados por 2N DNA) depois de tratamento com raios X indicaram que a barreira G2 havia sido anulada e/ou que as células haviam se adaptado (ou escapado) à interrupção do ciclo celular em G2 imposta pela ativação da barreira G2 pelo tratamento com raios X (isto é, ativação da barreira G2 induzida por lesão no DNA pelo tratamento com raios X). O nível de fosforilação da histona H3 foi medido nas células pré-interrompidas tratadas com compostos de teste, para confirmar que as células pré-interrompidas haviam entrado novamente no ciclo celular e passado pela fase M antes de prosseguir para a fase G1. Fosforilação aumentada da histona H3 indica adaptação (escapada) à interrupção do ciclo celular induzido por lesão ou anulação da barreira G2/M.

[000146] Células Jurkat foram irradiadas com 10 Gy de raios X e cultivadas por 24 horas em 10% de FCS-RPMI. O composto de teste S00109 foi adicionado ao meio de cultura a 0,3 ou 1  $\mu$ M e as células foram cultivadas com o composto de teste por tempos de tratamento variando de 0 a 24 horas. As células foram fixadas com etanol frio, tratadas com 0,1% de saponina/PBS, coloridas com antifosfo-histona H3 (Ser10) (Upstate Biotechnology, Uppsala, Suécia) e analisadas por citometria de fluxo (BD Biosciences). Na Figura 2, o eixo X indica o tempo de tratamento, isto é, o tempo depois da adição de S00109, e o eixo Y indica a proporção (%) de células que foram positivas para fosfo-histona-H3. O nível de fosforilação da histona H3 (%) depois de tratamento sequencial das células Jurkat com irradiação de raios X (10



Gy) e com o composto S00109 a 1  $\mu$ M (quadrados vazios) e 0,3  $\mu$ M (círculos cheios) aumento com o aumento do tempo de tratamento até 24 horas.

Exemplo 2: Citotoxicidade do composto S00109 isolado ou em combinação com radiação

#### Expressão da histona H2AX fosforilada

[000147] A expressão da histona H2AX fosforilada ( $\gamma$ H2AX fosforilada em Ser139) foi medida como um indicador de citotoxicidade, em particular, citotoxicidade associada a DNA lesionado. Células Jurkat foram irradiadas com 10 Gy de raios X e cultivadas por 24 horas em 10% de FCS-RPMI como descrito acima. Em seguida, S00109 foi adicionado ao meio de cultura a 1  $\mu$ M por tempos de tratamento de até 24 horas. As células foram lisadas em um tampão (100 mM de NaCl, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM de DTT, 0,2% de NP-40, 10 mM de NaF, 10 mM de  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 500 nM de ácido ocadaico, e inibidores de proteinase). Alíquotas do lisado (30  $\mu$ g de proteína) foram analisadas por eletroforese em 15% SDS page gel e transferidas para uma membrana para análise da mancha do oeste. Antifosfo-histona H2AX (Ser 139) Ab (Cell Signaling Technology, Beverly, MA) foi usada para detectar a  $\gamma$ -H2AX na membrana manchada. Como mostrado na Figura 3, os níveis de  $\gamma$ H2AX aumentaram o tempo de tratamento com S00109, indicando que o S00109 causou lesão no DNA, além da lesão no DNA causada pela irradiação.

#### Análise da Formação de Colônias

[000148] A atividade citotóxica do composto S00109 foi ainda confirmada por análise da formação de colônias usando células HCT-116, uma linhagem celular de câncer de cólon humano, em que uma redução na contagem de colônias é uma medida de supressão de crescimento celular e/ou de morte celular. Células de câncer de cólon humano HCT-116 foram cultivadas em McCoy's 5A (Invitrogen,

Carlsbad, CA) com 10% de FCS, 5% de CO<sub>2</sub>/ar a 37°C. As células foram semeadas a 300 células por placa de 6 compartimentos em triplicata, irradiadas com raios X como mostrado na legenda da figura, e cultivadas por 24 horas, e em seguida tratadas com S00109 nas dosagens indicadas e cultivadas por 8 dias. No dia 8, as colônias foram fixadas e coloridas com cristal violeta (Sigma-Aldrich), e o número de colônias foi contado. A Figura 4 mostra o efeito na dose de S00109 dose (eixo x) no número de colônias (eixo y) contado no dia 8.

[000149] As células que não receberam radiação ("0 Gy" círculos vazios, linha cheia na legenda da Figura 4) foram cultivadas nas mesmas condições que as células irradiadas, e foram tratadas com S00109 para mostrar os efeitos do composto S00109 isolado. Por conseguinte, como mostrado na Figura 4, o composto S00109 isolado suprimiu a formação de colônias pelas células HCT-116 de maneira dose-dependente, indicando que o composto S00109 isolado pode suprimir o crescimento de células cancerosas e/ou eliminar células cancerosas em uma dosagem suficientemente alta.

[000150] A contagem "normal" de colônias para células de controle não tratadas está mostrado para 0 Gy e 0 µM S00109.

[000151] As células que receberam uma dose de radiação de 1 Gy (círculos cheios, linha pontilhada) mostraram uma inibição da formação de colônias devido à radiação isolada. As células que receberam uma dose de radiação de 1 e foram expostas ao composto S00109 mostraram maior inibição da formação de colônias, indicando que o composto S00109 pode aumentar a citotoxicidade do tratamento com radiação. Nessas condições de radiação e . tratamento com S00109, foi observado um forte efeito aditivo dose-dependente do composto S00109.

[000152] As células que receberam uma dose de radiação de 3 Gy ("3 Gy" quadrados vazios, linha cheia) mostraram forte inibição de

formação de colônias devido à radiação isolada. O composto S00109 parece ter um efeito inibitório adicional detectável à concentração mais alta (4  $\mu$ M), mais uma vez indicado que o composto S00109 pode aumentar a citotoxicidade do tratamento com radiação.

Exemplo 3: Citotoxicidade do composto S00109 isolado e em combinação com dexametasona.

[000153] A citotoxicidade do composto S00109 isolado e em combinação com dexametasona foi medida identificando-se o número de células na fase subG1 depois do tratamento, em que fase subG1 indica morte celular, de modo que o número de células na fase subG1 depois do tratamento indica eliminação das células pelo tratamento. Uma linhagem celular derivado de mieloma múltiplo humano, ARH-77, foi cultivada na presença ou ausência de S00109, com ou sem dexametasona, por 24 horas em 10% de soro de bezerro fetal (FCS)/RPMI1640 a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>/ar usando os materiais e condições descritos acima. As células coletadas foram coloridas com tampão de Krishan (0,1% de citrato de sódio, 50  $\mu$ g/ml de iodeto de propídio, 20  $\mu$ g/ml de RNase A, 0,5% de Nonidet P-40) e analisadas por citometria de fluxo (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ).

[000154] A Figura 5 mostra a percentagem de células ARH-77 na fase subG1 (eixo y) depois de tratamento com S00109 (eixo x) isolado ou em combinação com dexametasona. A percentagem 'normal' de células subG1 em uma população de células de controle não tratadas está mostrada pelo valor para S00109 isolado (losângos cheios, linha cheia, "S109 isolado" na legenda da figura) a 0  $\mu$ g/ml de S00109. Tratamento com S00109 isolado, a concentrações de até 10  $\mu$ g/ml, causaram morte celular de maneira dose-dependente. Tratamento com dexametasona isolada a 2 ng/ml (quadrados vazios, linha pontilhada), 20 ng/ml (triângulos vazios, linha pontilhada/tracejada) e 200 ng/ml (círculos vazios, linha tracejada) sem S00109 mostraram níveis

ligeiramente aumentados de células subG1, isto é, citotoxicidade ligeiramente aumentada, comparado com o controle. Entretanto, tratamento com S00109 em combinação com dexametasona resultou em um drástico aumento nos níveis de células subG1. O efeito da combinação mostrou uma forte dependência da concentração de S00109, demonstrando um efeito dose-dependente do S00109. A combinação de S00109 e dexametasona resultou em um nível de morte celular que foi significativamente mais alto que o nível visto com qualquer um dos compostos isolados. Portanto, o composto S00109 aumentou a citotoxicidade da dexametasona.

Exemplo 4: Efeitos de compostos representativos da invenção, isolados e em combinação, na sobrevivência de camundongos com xenoenxertos de células ARH-77

[000155] Camundongos com xenoenxertos de ARH-77 (uma linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano) foram tratados com S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747 ou com dexametasona, um tratamento "tradicional" reconhecido, e sua sobrevivência foi medida e comparada com a sobrevivência de camundongos com xenoenxertos tratados com veículo (controle). A capacidade de um tratamento para prolongar a vida foi considerada um indicador da citotoxicidade do tratamento para células cancerosas enxertadas, sem atividade adversa significativa nas células normais (camundongo) in vivo.

[000156] Camundongos machos com severa deficiência imunológica combinada (SCID) de 8 semanas de idade foram transplantados por via intraperitoneal com  $1,9 \times 10^6$  (Figura 6),  $0,8 \times 10^6$  (Figura 7),  $4,1 \times 10^6$  (Figura 8), células/animal de células ARH-77 ( $n = 10$ ).

[000157] Os animais foram alojados de acordo com as normas da Associação Internacional de Avaliação e Reconhecimento para Cuidados de Animais de Laboratório ("Association for the Assessment

e Accreditation of Laboratory Animal Care International"), e os protocolos foram aprovados pelo comitê institucional para cuidados de animais da CanBas Co. Ltd.

[000158] Para a experiência mostrada na Figura 6, os camundongos receberam  $1,9 \times 10^6$  células ARH-77 por transplante intraperitoneal. Os camundongos tratados com S00109 ("S109") receberam uma injeção intraperitoneal de 50mg/kg de S00109. Os camundongos tratados com dexametasona ("Dexa") receberam uma injeção intraperitoneal de 2mg/kg de dexametasona. Os animais de controle tratados com veículo receberam uma injeção intraperitoneal de veículo. Cada injeção foi dada no dia 1, no dia 2 e no dia 3 depois do transplante das células ARH-77. A sobrevivência (eixo y, % de camundongos que sobreviveram) foi medida por até 80 dias depois do transplante (eixo x) para os camundongos de controle tratados apenas com veículo ("Controle" linha tracejada); para os camundongos tratados com 50 mg/kg de composto S00109 ("S109" linha cheia); e para os camundongos tratados com 2 mg/kg dexametasona ("Dexa" linha pontilhada-tracejada). Os camundongos tratados com S00109 tiveram uma vida significativamente mais longa que a dos camundongos de controle não tratados. Apesar de os camundongos tratados com dexametasona terem uma vida mais longa que a dos camundongos de controle não tratados, o efeito terapêutico da dexametasona foi muito menor que o efeito terapêutico do composto S00109.

[000159] Para a experiência mostrada na Figura 7, os camundongos receberam  $0,8 \times 10^6$  células ARH-77 por transplante intraperitoneal. Os camundongos foram tratados por uma única administração oral de compostos no dia 1 depois do transplante da seguinte maneira: camundongos de controle tratados por via oral apenas com veículo ("Control" linha cheia); camundongos tratados por via oral com 750 mg/kg de composto S00109 ("S109" linha pontilhada); e camundongos

tratados por via oral com 750 mg/kg de composto S01860 ("S1860" linha tracejada). Embora os camundongos tratados com S00109 inicialmente mostrassem uma sobrevivência ligeiramente menor que os camundongos de controle, por volta de 64 dias, os camundongos tratados com S00109 mostraram sobrevivência significativamente mais alta que os camundongos de controle, com quase 70% de sobrevivência em 85 dias, comparado com apenas cerca de 20% dos camundongos de controle sobrevivendo em 85 dias. Os camundongos tratados com S01860 mostraram índices de sobrevivência drasticamente mais altos que os camundongos de controle ou que os camundongos tratados com S00109, em que a primeira diminuição na sobrevivência só foi vista 70 dias após o transplante, e quase 90% dos camundongos tratados com S01860 estavam vivos depois de 85 dias.

[000160] Para a experiência mostrada na Figura 8, os camundongos receberam  $4,1 \times 10^6$  células ARH-77 por transplante intraperitoneal. Os camundongos foram tratados por administração oral de compostos uma vez ao dia no dia 1 e por administração oral de compostos uma vez ao dia no dia 2 depois do transplante da seguinte maneira: camundongos de controle tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com veículo apenas ("CONT" linha cheia); camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg de composto S003518 ("S3518" linha partilhada); camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg de composto S003405 ("S3405" linha tracejada); e camundongos tratados por via oral uma vez ao dia por dois dias com 250 mg/kg de composto S003747 ("S3747" linha pontilhada-tracejada). Todos os camundongos tratados com S03518, S03405 ou S03747 mostraram índices de sobrevivência drasticamente mais altos que os camundongos de controle. Os camundongos de controle mostraram sobrevivência reduzida começando por volta de 29 dias após o transplante, e apenas cerca de

30% de sobrevivência nos 50 dias após o transplante. Em contraste, os camundongos tratados com S03518, S03405 ou S03747 mostraram uma redução muito pequena na sobrevivência, e ainda apresentaram índices de sobrevivência extremamente altos entre 80-100% 50 dias após o transplante.

[000161] Esses resultados demonstraram que os compostos S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747, administrados por via intraperitoneal ou oral, tiveram citotoxicidade seletiva in vivo contra células cancerosas (células ARH 77 do tumor de xenoenxerto) ao passo que não apresentaram citotoxicidade detectável contra células normais (o camundongo hospedeiro do enxerto ["the mouse graft host"]). Esses resultados demonstraram que cinco compostos diferentes da presente invenção foram administrados a um indivíduo em uma quantidade eficaz para tratar um distúrbio proliferativo no indivíduo.

Exemplo 5: Capacidade de compostos representativos para causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 e induzir células interrompidas em G2 a entrar novamente no ciclo celular

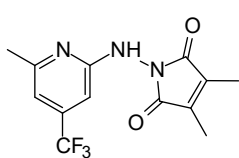
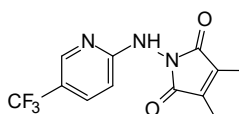
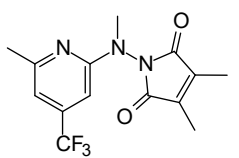
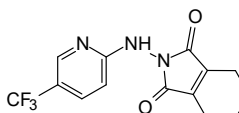
[000162] Compostos representativos foram sintetizados de acordo com os métodos oferecidos neste relatório. A estrutura e outras propriedades de cada composto foi determinada por espectroscopia de  $^1\text{H}$  RMN para cada composto sintetizado.

[000163] Células Jurkat pré-interrompidas foram preparadas da maneira descrita no Exemplo 1. Em resumo, células Jurkat foram submetidas à irradiação de raios X a uma dose de 10 Gy, e cultivadas por 24 horas em 10% de soro de bezerro fetal (FCS)/RPMI1640 a  $37^\circ\text{C}$  com 5% de  $\text{CO}_2/\text{ar}$ , e depois disso as células foram expostas a várias concentrações de compostos de teste, e cultivadas nas condições descritas acima por mais 24 horas antes de serem coletadas. As células coletadas foram coloridas com tampão de

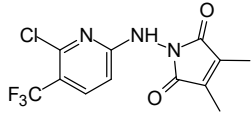
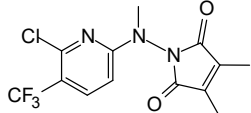
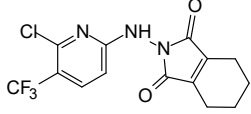
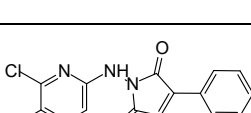
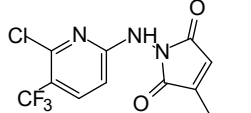
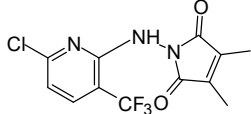
Krishan (0,1% de citrato de sódio, 50 µg/ml de iodeto de propídio, 20 µg/ml de RNase A, 0,5% de Nonidet P-40) e analisadas por citometria de fluxo (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) para identificar o estágio celular de cada célula na amostra. As células na fase G1 foram identificadas por terem um teor de DNA duas vezes maior (2N).

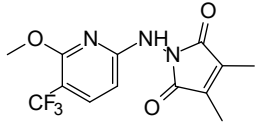
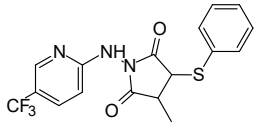
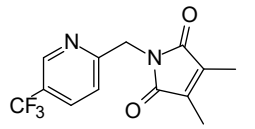
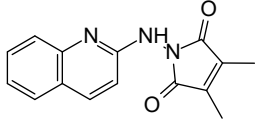
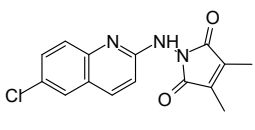
[000164] O valor de IC<sub>50</sub> para cada composto foi calculado como a dosagem (concentração em µM) que causou um aumento semimáximo da percentagem das células na fase G1 (incremento de G1) medido para aquele composto de teste. A Tabela 1 abaixo apresenta a estrutura, a massa, os valores de <sup>1</sup>H RMN, e os valores de IC<sub>50</sub> para compostos representativos.

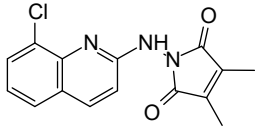
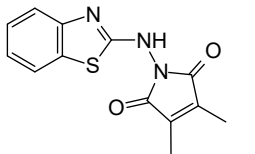
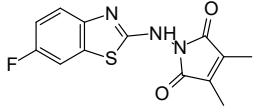
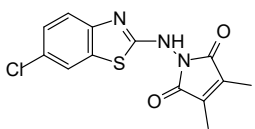
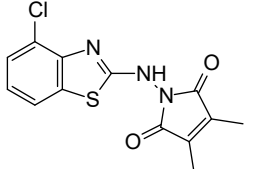
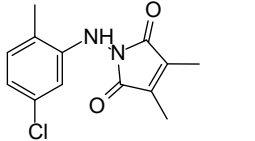
**Tabela 1:** Compostos Representativos e valores de IC<sub>50</sub>

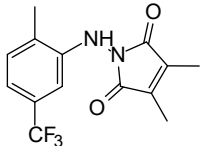
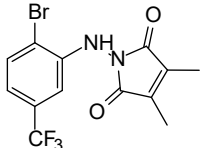
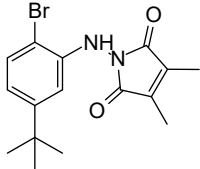
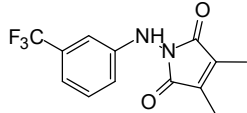
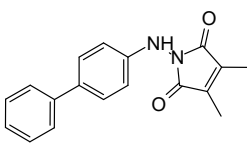
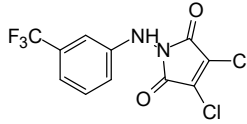
	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (µM)
1	S00069		300,5 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) δ: 6,89 (s, 1H), 6,55 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,07 (s, 6H)	5
2	S00073		286,4 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,37 (s, 1H), 7,70-7,60 (dd, J= 1,8, 8,7 Hz, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,60 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 2,05 (s, 6H)	2,5
3	S00084		314,4 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) δ: 6,79 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 3,42 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,06 (s, 6H)	5
4	S00200			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,37-8,39 (m, 1H), 7,64-7,67 (m, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,61-6,64 (d, J= 8,6 Hz, 1H), 2,41 (m, 4H), 1,80-1,84 (m, 4H)	5

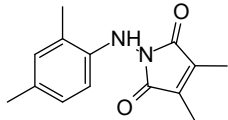
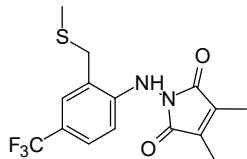
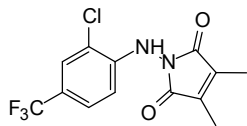
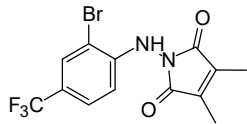
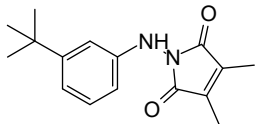
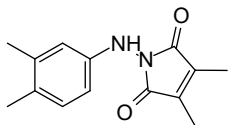


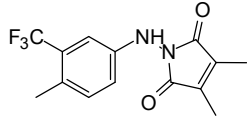
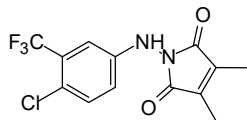
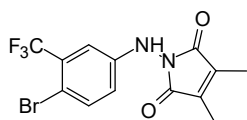
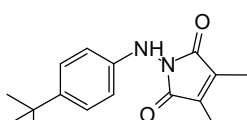
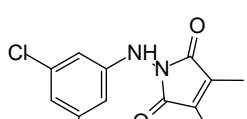
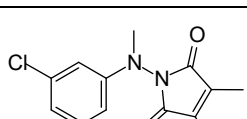
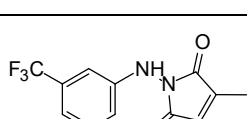
	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
5	S00109		318,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,70 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,45 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 2,07 (s, 6H)	0,12
6	S00170			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,70 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 6,40 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 3,44 (s, 3H), 2,08 (s, 6H)	0,12
7	S00186			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,70 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 6,45 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 2,50-2,30 (m, 4H), 1,90-1,75 (m, 4H)	0,63
8	S00257			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,79 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,65-7,62 (m, 2H), 7,53-7,48 (m, 3H), 7,14 (s, 1H), 6,56 (d, J=8,4 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H)	10
9	S00333		304,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,85-8,75 (br, 1H), 7,95-7,85 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,24 (s, 1H), 6,20-6,15 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), HPLC-MS (m/e): 304,2 (M-1),	15
10	S00108		319,7 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,80-7,70 (dd, J=0,6, 7,8 Hz, 1H), 6,95-6,85 (dd, J =0,6, 7,8 Hz, 1H), 6,82 (s, 1H), 2,07 (s, 6H), HPLC-MS (m/e): 318,0 (M-1, modo negativo)	20

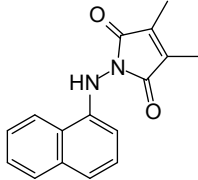
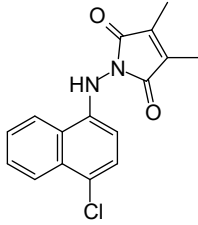
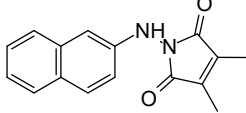
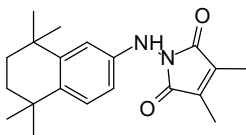
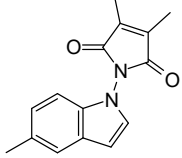
	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
11	S00451		314,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,63 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,26 (d, J=8,4 Hz, 1H), 3,61(s, 3H), 2,05 (s, 6H), HPLC-MS (m/e): 314,2 (M-1)	60
12	S00145	 Mistura de isômeros	382,1 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,30 (d, J=16,6Hz, 1H), 7,75-7,65 (m, 1H), 7,60-7,50 (m, 2H), 7,50-7,30 (m, 3H), 6,80-6,60 (br, 1H), 6,60-6,45 (dd, J=8,0, 18,4Hz, 1H), 3,70 (d, J=5,6 Hz, 0,5H), 3,20-2,95 (t, J=18,4, 46,4 Hz, 1H), 2,95-2,90 (t, J=5,6, 7,6 Hz, 0,5H), 1,72 (s, 1,5H), 1,55-1,45 (d, J=7,2 Hz, 1,5H), HPLC-MS (m/e): 382,1 (M++1)	30
13	S00110			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,79 (s, 1H), 7,85-7,89 (dd, J=2,2, 8,3 Hz, 1H), 7,33-7,36 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,87 (s, 2H), 2,01 (s, 6H)	60
14	S00362		268,2 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,91 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,69-7,62 (m, 2H), 7,58-7,55 (m, 1H), 7,34-7,29 (m, 1H), 6,79 (d, J=8,7 Hz, 1H), 2,08 (s, 6H)	5
15	S00622		302,15 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,88 (d, J= 8,7 Hz, 1H), 7,62 (m, 2H), 7,51 (d, J= 2,4 Hz, 1H), 6,84 (d, J= 9 Hz, 1H), 5,38 (m, 1H), 2,09 (s, 6H)	5

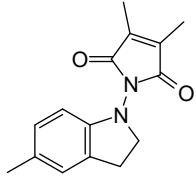
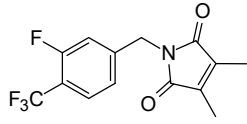
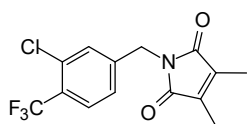
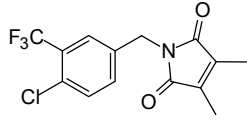
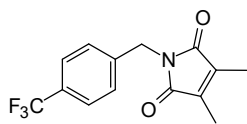
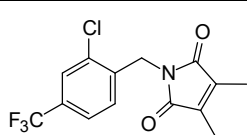
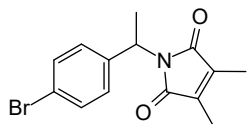
	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
16	S00585		302,13 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,90 (d, J=6,9 Hz, 1H), 7,64-7,66 (dd, J=0,8, 5,4 Hz, 1H), 7,53-7,56 (dd, J=0,8, 6,3 Hz, 1H), 7,19-7,23 (dd, J=5,7, 6 Hz, 1H), 6,86 (d, J=6,6 Hz, 1H), 2,10 (s, 6H)	0,45
17	S00295			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,51 – 7,55 (m, 2H), 7,29 – 7,35 (m, 1H), 7,12 – 7,17 (m, 1H), 2,07(s, 6H)	5
18	S00454		292,2 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,50 (dd, J= 4,8, 9,0 Hz, 1H), 7,28 (m, 1H), 7,05 (td, J= 2,1, 9,0, 17,7 Hz, 1H), 2,02 (s, 6H)	4
19	S00590		307,8 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,53 (d, J=1,2 Hz, 1H), 7,48 (d, J=6,3 Hz, 1H), 7,30 (d, J=1,5 Hz, 1H), 2,07 (s, 6H)	5
20	S00756			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 2,02 (s, 6H), 7,07 (d, J=12 Hz, 1H), 7,32 (d, J=6,9 Hz, 1H), 7,46(d, J=6,9 Hz, 1H)	1,25
21	S00319			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,05-6,95 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,90-6,80 (dd, J=2,1, 7,8 Hz, 1H), 6,50-6,45 (d, J=2,1 Hz, 1H), 5,77 (s, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,04 (s, 6H)	10

	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
22	S00512		297,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,18 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,10 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,70 (s, 1H), 5,87 (s, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,07 (s, 6H)	5
23	S00623			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,60 (dd, J=0,3, 6,3 Hz, 1H), 7,04-7,07 (m, 1H), 6,75 (d, J=1,8 Hz, 1H), 6,44 (s, 1H), 2,08 (s, 6H)	10
24	S00649		350,9 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,36 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,85-6,82 (dd, J=2,4, 8,4 Hz, 1H), 6,54 (d, J=2,4 Hz, 1H), 6,32 (s, 1H), 2,06 (s, 6H), 1,20 (s, 9H)	10
25	S00305			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,34 (t, J=8,1 Hz, 1H), 7,20 (d, J=8,1 Hz, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,90 (dd, J=2,4, 8,1 Hz, 1H), 6,02 (s, 1H), 2,06 (s, 6H)	5
26	S00515		292,9 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,52-7,37 (m, 6H), 7,39 (d, J=7,2 Hz, 1H), 6,83-6,80 (dd, J=2,1, 6,6 Hz, 2H), 5,98 (s, 1H), 2,05 (s, 6H), HPLC-MS (m/e): 292,9 (M+1),	20
27	S00406			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,30 (m, 1H), 7,26 (d, J=9,3 Hz, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,94 (d, J=8,1 Hz, 1H), 6,16 (s, 1H)	80

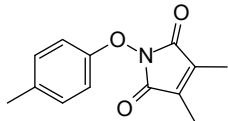
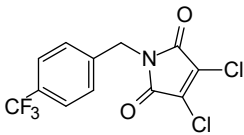
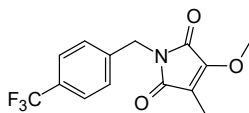
	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
28	S00294			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 6,91 (s, 1H), 6,87 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,44 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,75 (s, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,03 (s, 6H)	5
29	S00499			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,60 (s, 1H), 7,40 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,61 (d, J=8,4 Hz, 1H), 3,88 (s, 2H), 2,03 (s, 6H), 1,59 (s, 3H)	5
30	S00699			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 2,05 (s, 6H), 6,50 (s, 1H), 6,62 (d, J=8,7 Hz, 1H), 7,36 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H)	10
31	S00624			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,75 (d, J=1,2 Hz, 1H), 7,39-7,42 (m, 1H), 6,59 (d, J=8,7 Hz, 1H), 6,50 (s, 1H), 2,06 (s, 6H)	10
32	S00627		271,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,16-7,11 (t, J=8,1 Hz, 1H), 6,95 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,84-6,82 (t, J=7,8 Hz, 1H), 6,45 (d, J=8,1 Hz, 1H), 5,90 (s, 1H), 2,04 (s, 6H), 1,27 (s, 9H)	2
33	S00452		245,0 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 6,95 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,56 (d, J=2,4 Hz, 1H), 6,52-6,48 (dd, J=2,4, 7,8 Hz, 1H), 5,81 (s, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,03 (s, 6H)	10

	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
34	S00697			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,12 (d, J=8,1 Hz, 1H), 6,99 (d, J=2,4 Hz, 1H), 6,79 (d, J=8,4 Hz, 1H), 5,93 (s, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,05 (s, 6H)	2,5
35	S00405			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,33 (m, 1H), 7,04 (m, 1H), 6,82 (m, 1H), 6,01 (s, 1H), 2,05 (s, 6H)	2,5
36	S00516			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,50 (d, J=9,0 Hz, 1H), 7,05 (d, J=3,0 Hz, 1H), 6,76-6,72 (dd, J=2,7, 8,4 Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 2,05 (s, 6H)	1,25
37	S00479		273 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,24 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 6,70 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 5,87 (s, 1H), 2,03 (s, 6H), 1,25 (s, 9H)	2,5
38	S00456			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 6,90 (s, 1H), 6,59 (s, 2H), 6,05 (s, 1H), 2,05 (s, 6H)	2,5
39	S00587		296,9 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 6,86-6,85 (t, J=1,5 Hz, 1H), 6,55 (d, J=1,2 Hz, 2H), 3,24 (s, 3H), 2,03 (s, 6H)	2,5
40	S00474			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,42 (s, 1H), 7,11 (s, 2H), 6,24 (s, 1H), 2,08 (s, 6H)	2,5

	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
41	S00475		267,5 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,96-7,99 (t, J=4,5, 5,1 Hz, 1H), 7,82-7,85 (m, 1H), 7,46-7,52 (m, 3H), 7,27-7,32 (t, J=7,8, 8,1 Hz, 1H), 6,62 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 2,07 (s, 6H)	3,75
42	S00738			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 8,24-8,27 (dd, J=0,6, 8,1 Hz, 1H), 7,97-8,00 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,52-7,64 (m, 2H), 7,35-7,38 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,54-6,56 (d, J=8,4 Hz, 1H), 2,07 (s, 6H)	0,63
43	S00651			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,73 (d, J=8,7 Hz, 1H), 7,63 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,28-7,42 (m, 2H), 7,02-7,07 (dd, J=2,1, 8,7 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,07 (s, 1H), 2,07 (s, 6H)	10
44	S00698		326,9 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,13 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,46 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,82 (s, 1H), 2,03 (s, 6H), 1,63 (s, 4H), 1,20-1,24 (m, 12H)	5
45	S00663			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 9,96 (s, 1H), 6,84 (d, J=7,5 Hz, 1H), 6,33 (d, J=8,1 Hz, 1H), 3,80 (m, 2H), 3,09 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,02 (s, 6H)	40

	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
46	S00662			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,42 (d, J=0,9 Hz, 1H), 7,04 (d, J=8,4 Hz, 1H), 6,95 (d, J=14,7 Hz, 2H), 6,56 (d, J=4,2 Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,12 (s, 6H)	60
47	S00412			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,51-7,56 (m, 1H), 7,14-7,21 (m, 2H), 4,66 (s, 2H), 2,00 (s, 6H)	10
48	S00513			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,60 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,30 (d, J=8,1 Hz, 1H), 4,64 (s, 2H), 1,98 (s, 6H)	5
49	S00201			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,65 (s, 1H), 7,45 (d, J=3 Hz, 2H), 4,64 (s, 2H), 1,97 (s, 6H)	10
50	S00088			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,50 (d, J=8,1 Hz, 2H), 7,40 (d, J=8,7 Hz, 2H), 4,69 (s, 2H), 1,97 (s, 6H)	10
51	S00408			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,63 (s, 1H), 7,44-7,46 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,26-7,27 (d, J=6,2 Hz, 2H), 4,82 (s, 2H), 2,01 (s, 6H)	10
52	S00543			(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,43 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 5,25 (m, 1H), 1,92 (s, 6H), 1,77 (d, J=5,4 Hz, 3H)	60



	SCID	Estrutura	MS (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC50 (μM)
53	S00628		230,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,09 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,00 (d, J=9, 0Hz, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,02 (s, 6H), HPLC-MS (m/e): 230,0 (M-1),	60
54	S00409		324,1 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,60 (d, J=8,1 Hz, 2H), 7,48 (d, J=8,4 Hz, 2H), 4,78 (s, 2H)	20
55	S00410		299,3 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) δ: 7,56 (d, J=8,1 Hz, 2H), 7,44 (d, J=8,1 Hz, 2H), 4,67 (s, 2H), 4,16 (s, 3H), 1,98 (s, 3H)	10

**Exemplo 6:** Capacidade de compostos representativos para causar adaptação à interrupção do ciclo celular em G2 e induzir células interrompidas em G2 a entrar novamente no ciclo celular

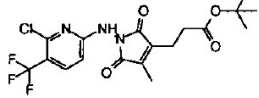
[000165] Compostos representativos foram sintetizados de acordo com os métodos oferecidos neste relatório. A estrutura e outras propriedades físico-químicas de cada composto foi determinada por espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN para cada composto sintetizado.

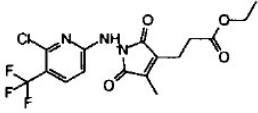
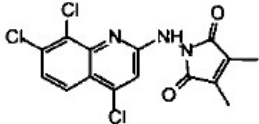
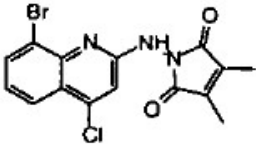
[000166] Células Jurkat pré-interrompidas foram preparadas da maneira descrita no Exemplo 1. Em resumo, células Jurkat foram submetidas à irradiação de raios X a uma dose de 10 Gy, e cultivadas por 24 horas em 10% de soro de bezerro fetal (FCS)/RPMI1640 a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>/ar, e depois disso as células foram expostas a várias concentrações de compostos de teste, e cultivadas nas condições descritas acima por mais 24 horas antes de serem coletadas. As células coletadas foram coloridas com tampão de Krishan (0,1% de citrato de sódio, 50 μg/ml de iodeto de propídio, 20 μg/ml de RNase A, 0,5% de Nonidet P-40) e analisadas por citometria de fluxo (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) para identificar o estágio

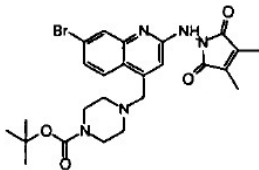
celular de cada célula na amostra. As células na fase G1 foram identificadas por terem um teor de DNA duas vezes maior (2N).

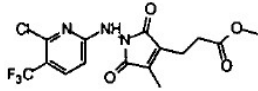
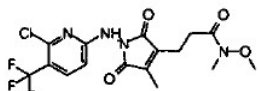
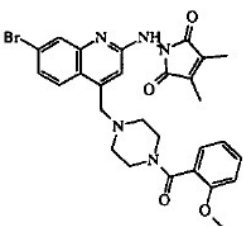
[000167] O valor de IC<sub>50</sub> para cada composto foi calculado como a dosagem (concentração em µM) que causou um aumento semimáximo da percentagem das células na fase G1 (incremento de G1) medido para aquele composto de teste. A Tabela 2 abaixo apresenta a estrutura, o nome IUPAC, a fórmula molecular, o número de ID ("SCID"), a massa, os valores de 1H RMN, e os valores de IC50 para compostos representativos. A Tabela 3 apresenta a estrutura, o nome IUPAC, a fórmula molecular, o número de ID ("SCID"), a massa, os valores de 1H RMN, e os valores de IC50 para outros compostos representativos.

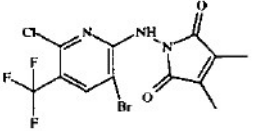
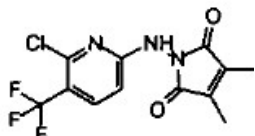
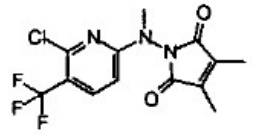
**Tabela 2: COMPOSTOS REPRESENTATIVOS E VALORES DE IC50**

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (µM)
S01860		3-((1{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridila)]amino}-4-metil]-2,5-dioxazolin-3-il)propanoato de terc-butila	432,2(M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,50 (d, J = 8,5 Hz, 1H) 2,75 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,58 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,43 (s, 9H).	0,03

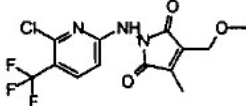
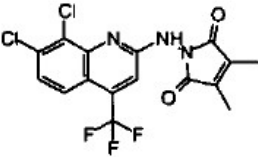
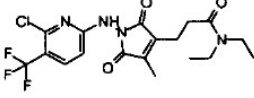
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01861		3-((1-((2-cloro-5-(trifluorometil-1)(2-piridil)]amino)-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)propanoato de etila	404,1(M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,88 (s, 1H), 6,50 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,14 (q, J = 7,2 Hz, 2H) 2,79-2,65 (m, 4H) 2,12 (s, 3H), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3H).	0,05
S01078		3,4-dimetil-1-[[[(4,7,8-tricloro(2-quinolil))amino]azolina-2,5-diona	370,2 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,88-7,84 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,45-7,41 (d, J= 9,3Hz, 1H), 6,94 (s, 1H) 2,10 (s, 6H)	0,078
S01247		1-[(8-bromo-4-cloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	380,1 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,00-7,96 (dd, J = 8,4 Hz, 1,2 Hz, 1H), 7,92-	0,078

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				7,89 (dd, J = 7,8 Hz, 1,2 Hz, 1H) 7,23-7,20 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,07 (br, 1H), 6,96 (s, 1H), 2,08 (s, 6H)	
S01589		4-([2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil]metil)piperazinecarboxilato de terc-butila	544,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,86-7,83 (d, J = 8,4Hz, 1H) 7,83 (s, 1H), 7,40-7,37 (dd, J = 8,7 Hz, 2,1 Hz, 1H) 7,00-6,80 (br, 1H), 6,85 (s, 1H), 3,65 (s, 2H), 3,41-3,38 (m, 4H), 2,40-2,35 (m, 4H), 2,09 (s, 6H), 1,46 (s, 9H)	0,078

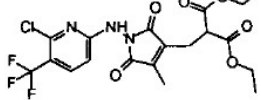
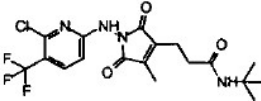
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01648		3-(1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metil-2,5-dioxoazin-3-il)propanoato de metila	390 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,50 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 2,81-2,66 (m, 4H), 2,11 (s, 3H).	0,078
S01796		3-(1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)-N-metóxi-N-metilpropanamida	419,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,76 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 6,51 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,17 (s, 3H), 2,81 (s, 4H), 2,11 (s, 3H).	0,078
S01879		1-([7-bromo-4-({4-[(2-metoxifenil)carb onil]piperazinil}metil)(2-quinolil)]amino-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	578 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,89-7,83 (m, 2H), 7,41-7,31 (m, 2H), 7,25-7,22 (m, 1H) 7,01-	0,078

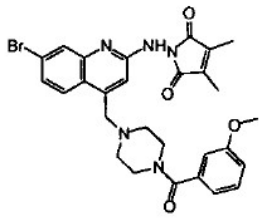
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6,98 (m, 1H), 6,96-9,87 (m, 2H) 3,86-3,72 (m, 7H), 3,26-3,20 (m, 2H) 2,63-2,52 (m, 2H), 2,42-2,31 (m, 2H), 2,10 (s, 6H).	
S01981		1-[[6-bromo-6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	396 (M <sup>-1</sup> )	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,97 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 2,07 (s, 6H)	0,078
S00109		1-[[6-cloro-3-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	318,0 (M <sup>-1</sup> )	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,70 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,55-6,45 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 2,07 (s, 6H)	0,12
S00170		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]metilamino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	1	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,70 (d, J = 8,4 Hz,	0,12

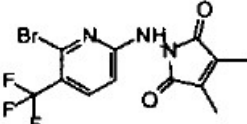
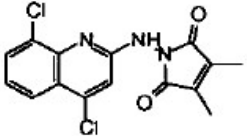
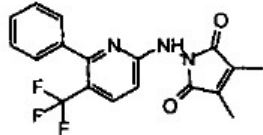
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		dimetilazolina-2,5-diona		1H), 6,40 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 3,44 (s, 3H), 2,08 (s, 6H)	
S01007		1-([6-bromo-5-(trifluorometil)(2-metilamino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	375,9 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,70-7,67 (d, J = 8,7Hz, 1H) 6,48-6,45 (d, J = 8,7 Hz, 1H) 3,44 (s, 3H), 2,06 (s, 6H)	0,12
S01554		1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-4-metil-3-(3-metilbutil)azolina-2,5-diona	374 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,81-7,77 (d, J = 8,7Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,51-6,47(d, J = 8,7Hz, 1H), 2,50-2,44 (m, 2H), 2,07(s, 3H), 1,50-1,42 (m, 3H), 0,97-0,94 (d, J	0,12

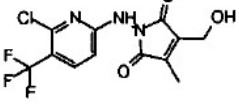
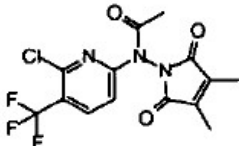
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				= 6,6 Hz, 6H)	
S01599		1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-3-(metoximetil)-4-metilazolina-2,5-diona	348 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,53-6,50 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 4,38 (s, 2H), 3,44 (s, 3H), 2,20 (s, 3H)	0,12
S01455		1-([7,8-dicloro-4-(trifluorometil)(2-quinolil)]amino)-3,4-dimetizolina-2,5-diona	404 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78-7,72 (m, 1H), 7,47-7,44 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,35 (br, 1H), 7,16 (s, 1H), 2,12 (s, 6H)	0,156
S01711		3-(1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-4-metil-2,5-dioxazolin-3-il)-N,N-dietilpropapana	431 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77(d, J = 8,7Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,52 (d, J	0,156

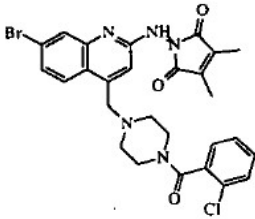
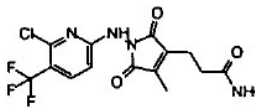


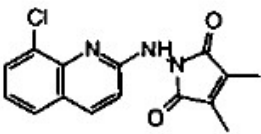
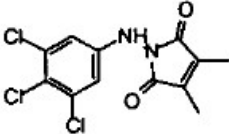
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		mida		= 8,4Hz, 1H), 3,40-3,26 (m, 4H), 2,84-2,67 (m, 4H), 2,13(s, 3H), 1,18-1,08 (m, 6H)	
S01712		2-[(1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)metil]propano-1,3-dioato de dietila	476 (M <sup>-</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,50 (d, J = 8,2 Hz, 1H) 4,25-4,16 (m, 4H), 3,86 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 3,05 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,27 (t, J = 7,1 Hz, 6H).	0,156
S01758		N-(terc-butil)-3-(1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)metil]propano-1,3-dioato de dietila	431,3 (M <sup>-</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H),	0,156

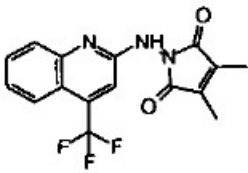
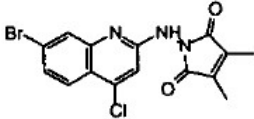
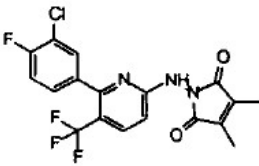
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		il)propanamida		6,53 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 5,33 (s, 1H), 2,79 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,32 (s, 9H).	
S01925		1-([7-bromo-4-({4-[(3-metoxifenil)carb onil]piperazinil}m etil)(2-quinolil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	576,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,87-7,83 (m, 2H), 7,41-7,37 (dd, J = 1,2Hz, 1,4Hz, 1H), 7,33-7,27 (m, 1H), 6,96-6,93(m, 3H), 6,85 (s, 1H), 3,90-3,60 (br, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,69 (s, 2H), 3,42 (br, 2H), 2,54- (br, 2H), 2,41 (br, 2H), 2,09	0,156

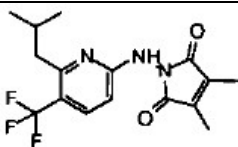
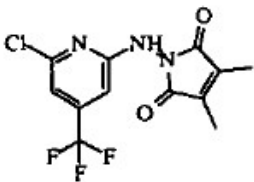
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				(s, 6H)	
S00994		1-[(6-bromo-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	362,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,76-7,73 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,77(br, 1H), 6,53-6,50(d, J = 8,7Hz, 1H), 2,08 (s, 6H)	0,2
S01005		1-[(4,8-dicloro(2-quinolil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	336,4 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,95-7,91 (dd, J = 8,4Hz, 1,5Hz, 1H), 7,73-7,69(dd, J = 7,8Hz, 1,5Hz, 1H), 7,33-7,29(d, J = 8,1Hz, 1H), 6,64(s, 1H), 2,11(s, 6H)	0,2
S01266		3,4-dimetil-1-[(6-fenil-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}azolina-2,5-diona	360,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,86-7,82 (d, J = 9,0Hz,	0,2

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1H), 7,45-7,35 (m, 5H), 6,48-6,44(d, J = 9,0Hz, 1H), 2,02(s, 6H)	
S01470		1-{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3-(hidroximetil)-4-metilazolina-2,5-diona	336 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,93-7,90(d, J = 8,5Hz, 1H), 7,69(s, 1H), 6,28-6,25(d, J = 8,5Hz, 1H), 3,69(s, 2H), 2,90-2,70(br, 1H), 2,14(s, 3H).	0,2
S01473		N-(3,4-dimetil-2,5-dioxazolinil)-N-[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]acetamida	360,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,28-8,25 m, 1H), 7,99-7,97(d, J = 6,6Hz, 1H), 2,28(s, 3H), 2,11(s,	0,2

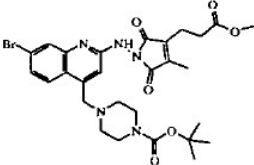
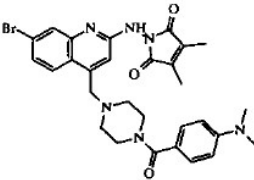
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6H)	
S01878		1-{{4-[(2-clorofenil)carbonil]amino}-3,4-dimetillazolina-2,5-diona	582 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,87-7,83 (m, 2H), 7,41-7,26 (m, 5H), 6,85 (s, 1H), 3,84-3,80 (m, 2H), 3,71 (s, 2H), 3,26-3,18 (m, 2H), 2,61-2,57 (m, 2H), 2,47-2,44 (m, 1H), 2,37-2,34 (m, 1H), 2,10 (s, 6H)	0,234
S01883		3-(1-{{6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)-N-metilpropanamida	389,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,77 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,56-6,53 (d, J = 8,4Hz, 1H), 5,60-5,50 (br, 1H), 2,90-2,75 (m,	0,234

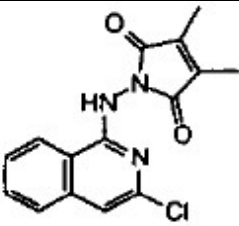
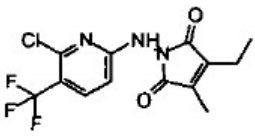
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				5H), 2,55-2,50(t, J = 7,2Hz, 2H), 2,10(s, 3H)	
S00585		1-[(8-cloro(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	302,1 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,92-7,89 (d, J = 6,9Hz, 1H), 7,66-7,63 (dd, J = 8,4Hz, 1,2Hz, 1H), 7,56-7,53 (dd, J = 6,3Hz, 1,2Hz, 1H), 7,24-7,19 (m, 1H), 6,87-6,84 (d, J = 6,6Hz, 1H), 2,10 (s, 6H)	0,3
S00832		3,4-dimetil-1-[(3,4,5-triclorofenil)amino]azolina-2,5-diona	Sem Massa	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 6,75 (s, 2H), 6,04 (s, 1H), 2,06 (s, 6H)	0,3

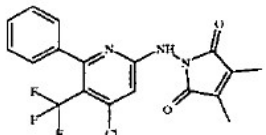
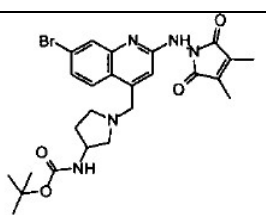
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S00873		3,4-dimetil-1-[[4-(trifluorometil)(2-quinolil)]amino}azolina-2,5-diona	336,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,97-7,73 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,78-7,74 (m, 1H), 7,67-7,61 (m, 1H), 7,47-7,41 (m, 1H), 7,13(s, 1H), 6,88 (s, 1H), 2,11 (s, 6H)	0,3
S01311		1-[(7-bromo-4-cloro(2-quinolil))amino-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	380,2 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,89-7,84 (m, 2H), 7,50-7,48 (m, 1H), 6,90 (s, 1H), 2,11 (s, 6H)	0,3
S01313		1-[[6-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	414,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,89-7,85 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,51-7,47 (dd, J = 7,5Hz, 2,1Hz,	0,3

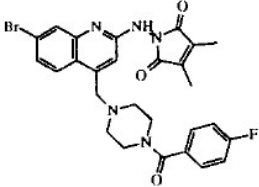
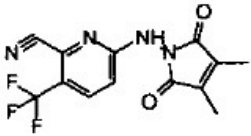
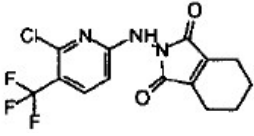
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1H), 7,40-7,35 (br, 1H), 7,18-7,12 (m, 1H), 6,82 (s, 1H), 6,62-6,58 (d, J = 8,7Hz, 1H), 2,05 (s, 6H).	
S01457		3,4-dimetil-1-[[6-(2-metilpropil)-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]azolina-2,5-diona	340,3 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,70-7,67 (d, J = 6,3Hz, 1H), 6,65 (br, 1H), 6,47-6,44 (d, J = 6,6Hz, 1H), 2,61 (d, J = 5,4Hz, 2H), 2,07 (s, 6H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H)	0,3
S01737		1-[[6-cloro-4-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	320 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,03 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 2,07	0,312

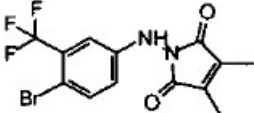
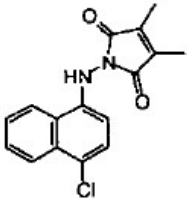


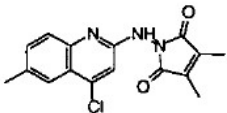
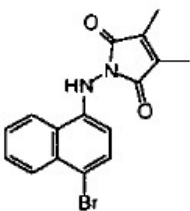
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				(s, 6H)	
S01865		3-(1-([4-({4-[(terc-butil) oxicarbonil] piperazinil}metil)-7-bromo(2-quinolil)}amino)-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)propanoato de metil	616 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,86-7,79 (m, 2H), 7,40-7,37 (d*d, J <sub>1</sub> = 8,7Hz, J <sub>2</sub> = 2,1Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 3,42-3,39 (m, 4H), 2,83-2,81 (t, 2H), 2,74-2,72 (t, 2H), 2,40 (m, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,46 (s, 9H)	0,312
S01880		1-({4-[(4-(dimetilamino)fenil]carbonil}piperazinil)metil]-7-bromo(2-quinolil)}amino)-3,4-dimetillazolina-2,5-diona	591 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,89-7,84 (m, 2H), 7,42-7,33 (m, 3H), 6,88 (s, 1H), 6,67-6,64 (d*d J <sub>1</sub> =	0,312

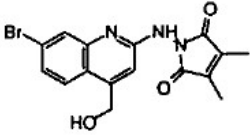
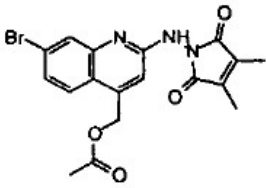
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				7,2Hz, J <sub>2</sub> = 1Hz, 2H), 3,74 (s, 2H), 3,63 (m, 4H), 2,99 (s, 6H) 2,50 (m, 4H), 2,10 (s, 6 H)	
S01098		1-[(3-cloroisoquinolil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	302,2 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78-7,74 (m, 2H), 7,56-7,47 (m, 2H), 7,38-7,32 (m, 1H), 7,04 (s, 1H), 2,10 (s, 6H)	0,45
S01553		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-3-etil-4-metilazolina-2,5-diona	332 (M <sup>+</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79-7,76 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,50-6,47 (d, J = 8,4Hz, 1H), 2,54-2,46 (m, 2H), 2,07 (s, 3H),	0,45

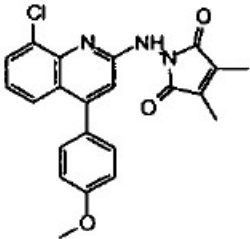
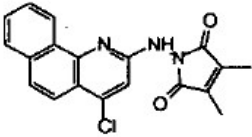
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1,27-1,17 (m, 3H)	
S01734		1-([4-cloro-6-fenil-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	396,3 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,52 (br, 1H), 7,37-7,33 (m, 5H), 6,49 (s, 1H), 2,02 (s, 6H)	0,45
S01864		N-[1-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolina)amino]-7-bromo(4-quinolil)}metil)pirrolidin-3-il](terc-butóxi)carboxamida	542,2 (M <sup>+</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,82-7,70 (m, 3H), 7,40-7,35 (dd, J = 9,0Hz, 2,1 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 4,90-4,80 (br, 0,5H), 4,20-4,10 (br, 0,5H), 3,80 (s, 2H), 2,90-2,80 (m, 1H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,40-2,20 (m, 2H), 2,00 (s, 6H), 1,70-1,50 (m, 2H),	0,468

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1,43 (s, 9H)	
S01877		1-[(7-bromo-4-({4-[(4-fluorofenil)carbonyl]piperazinil)methyl}(2-quinolil)]amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-dione	566 (M+1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,86-7,83 (m, 2H), 7,43-7,37 (m, 3H), 7,11-7,06 (m, 2H), 6,82 (s, 1H), 3,77-3,44 (m, 6H), 2,52-2,11 (m, 4H), 2,10 (s, 6H)	0,468
S01475		6-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolina)amino]-3-(trifluorometil)piridina-2-carbonitrila	309,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,83-7,81 (d, J = 6,6Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,86-6,84 (d, J = 6,6Hz, 1H), 2,08 (s, 6H)	0,5
S00186		2-[(6-cloro-5-(trifluorometil)-2-piridil]amino)-4,5,6,7-tetra-hidroisindol-1,3-dione		(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,70 (d, J = 8,7Hz, 1H), 6,55-	0,625

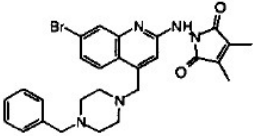
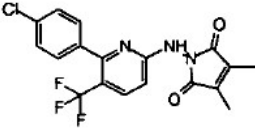
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6,45 (d, J = 8,7Hz, 1H), 2,50-2,30 (m, 4H), 1,90-1,75 (m, 4H)	
S00516		1-([4-bromo-3-(trifluorometil)fenil]amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	360,9 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,54-7,50 (d, J = 9,0Hz, 1H), 7,07-7,05 (d, J = 3,0Hz, 1H), 6,76-6,72 (dd, J = 8,7Hz, 2,7Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 2,08 (s, 6H)	0,625
S00738		1-[(4-cloronaftil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	Sem massa	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,27-8,23 (dd, J = 8,7Hz, 1,5Hz, 1H), 8,01-7,97 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,65-7,52 (m, 2H), 7,38-7,35 (d, J	0,625

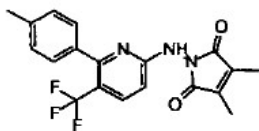
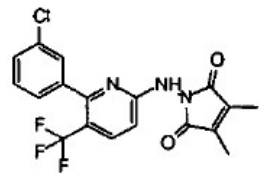
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				= 8,1Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,57-6,53 (d, J = 8,4Hz, 1H), 2,09 (s, 6H)	
S00935		1-[(4-cloro-6-metil(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	315,9 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79 (s, 1H), 7,61-7,57 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,45-7,42 (d, J= 8,7Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,08 (s, 6H)	0,625
S00942		1-[(4-bromonafil)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	342,9 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,25-8,21 (d, J= 8,1Hz, 1H), 7,99-7,95 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,65-7,52 (m, 3H), 6,56 (s, 1H), 6,52-6,49 (d, J =	0,625

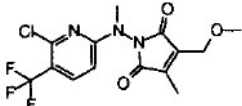
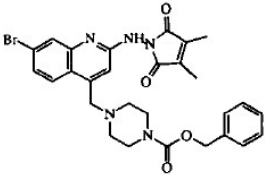
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				8,4Hz, 1H), 2,08 (s, 6H)	
S01037		1-([7-bromo-4-(hidroximetil)(2-quinolil)]amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	376,1 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,85-7,84 (d, J = 1,8Hz, 1H), 7,52-7,49 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,40-7,36 (dd, J = 8,7Hz, 1,8Hz, 1H), 6,99 (s, 1H), 4,99 (s, 2H), 2,11 (s, 1H), 2,10 (s, 6H).	0,625
S01047		Acetato de {2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil}metila	418,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,86-7,85 (d, J = 1,8Hz, 1H), 7,58-7,54 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,45-7,41 (dd, J = 9,0Hz, 2,1Hz, 1H), 6,85 (s, 1H),	0,625

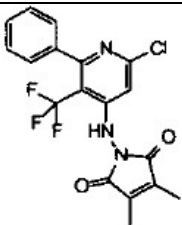
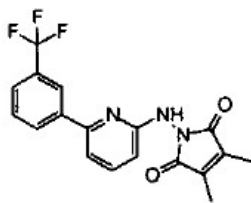
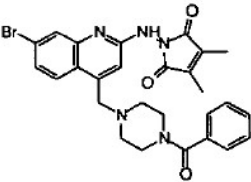
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				5,27 (s, 2H), 2,13 (s, 3H), 2,02 (s, 6H)	
S01191		1-([8-cloro-4-{4-metoxifenil}(2-quinolil)]amino)-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	408,2 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,67-7,60 (m, 2H) 7,37-7,32 (m, 2H), 7,18-7,13 (m, 1H), 7,05-7,01 (m, 2H), 6,84 (br, 1H), 6,78 (s, 1H), 3,88 (s, 1H), 2,10 (s, 6H)	0,625
S01207		1-[(4-clorobenzo[h]quinolin-2-il)amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	352,2 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,81-8,78 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,99-7,96 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,87-7,83 (d, 9,0Hz, 1H), 7,73-7,69 (d, J = 9,0Hz,	0,625

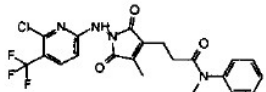
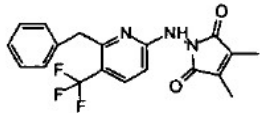


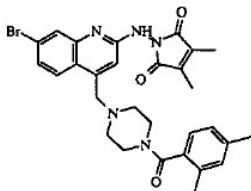
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1H), 7,67-7,55 (m, 2H), 7,00 (s, 1H), 6,84 (br, 1H), 2,02 (s, 6H)	
S01268		1-[(7-bromo-4-{[4-benzilpiperazinil]metil}(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	534,3 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,88-7,82 (m, 2H), 7,40-7,25 (m, 6H), 6,89 (s, 1H), 3,73 (s, 2H), 3,51 (s, 2H), 2,60-2,40 (m, 8H), 2,09 (s, 6H)	0,625
S01371		1-[[6-(4-clorofenil)-5-trifluorometil](2-piridil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	394,4 (M <sup>+</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,85-7,81 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,57 (br, 1H), 7,38-7,31 (m, 4H), 6,47-6,44 (d, J= 8,4Hz, 1H), 2,04 (d, 6H)	0,625

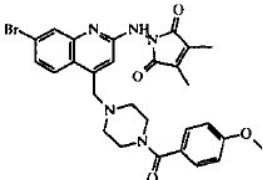
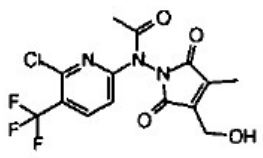
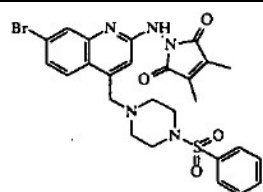
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01393		3,4-dimetil-1-[[6-(4-metilfenil)-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]azolina-2,5-diona	374,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,87-7,84 (d, J = 9,0Hz, 1H), 7,36-7,33 (d, J = 8,1Hz, 2H), 7,21-7,18 (d, J = 8,1Hz, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,54-6,51 (d, J = 8,7Hz, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,04 (s, 6H)	0,625
S01474		1-[[6-(3-clorofenil)-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-3,4-dimetillazolina-2,5-diona	394 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,87-7,84 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 7,41-7,31 (m, 4H), 7,21 (br, 1H), 6,56-6,54 (d, J = 6,6Hz, 1H), 2,04 (s, 6H)	0,625

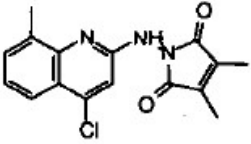
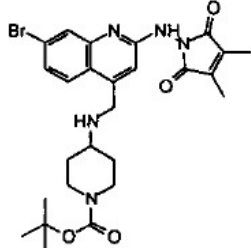
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01600		1-({[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]metilamino}-3-(metoximetil)-4-metilazolina-2,5-diona	362 (M <sup>-</sup> -1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77-7,74 (d, J = 8,6Hz, 1H), 6,47-6,44 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,37 (s, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,44 (s, 3H), 2,20 (s, 3H)	0,625
S01683		4-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinoli}metil)pireazinacarboxilato de fenilmetila	578 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,84 (m, 2H), 7,41 (m, 1H), 7,37-7,30 (m, 5H), 6,86 (s, 1H), 6,76 (br, 1H), 5,14 (s, 2H), 3,70 (s, 2H), 3,50 (m, 4H), 2,44 (m, 4H), 2,09 (s, 6H)	0,625

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01688		1-[[6-cloro-2-fenil-3-(trifluorometil)(4-piridil)]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	394,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,39-7,35 (m, 5H), 7,26 (s, 1H), 6,55 (d, J = 6,0Hz, 1H), 2,03 (s, 6H)	0,625
S01691		3,4-dimetil-1-([6-[3-(trifluorometil)fenil](2-piridil)]amino)azolina-2,5-diona	362,3 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,13 (br, 1H), 8,00-7,97 (d, J = 7,8Hz, 1H), 7,65-7,58 (m, 2H), 7,52-7,47 (t, 1H), 7,33-7,31 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,65-6,63 (t, 2H), 2,07, (s, 6H)	0,625
S01699		1-[(7-bromo-4-[[4-(fenilcarbonil)piperazinil]metil](2-quinolil)]amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	548 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,88-7,84 (m, 2H), 7,41-7,38 (m, 6H), 6,86 (s, 1H), 3,79-3,73	0,625

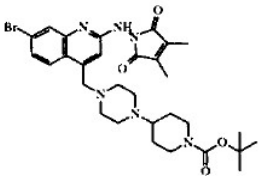
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				(m, 4H), 3,42 (m, 2H), 2,54 (m, 4H), 2,09 (s, 6H)	
S01759		3-(1-((6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metil-2,5-dioxazolin-3-il)-N-metil-N-fenilpropanamida	465,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,94 (s, 1H), 7,73 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,43-7,33 (m, 3H), 7,19-7,16 (m, 2H), 6,51 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,24 (s, 3H), 2,70 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,41 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,06 (s, 3H)	0,625
S01762		3,4-dimetil-1-((6-benzil-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}azolina-2,5-diona	374,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,67- 7,63 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,22- 7,12 (m, 5H), 6,84 (s, 1H),	0,625

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6,45-6,41 (d, J = 8,7Hz, 1H), 4,08 (s, 2H), 2,00 (s, 6H)	
S01800		1-([4-((2,4-dimetilfenil)carbo- nil)piperazinil]me- til)-7-bromo(2-quinolil)amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	576 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,87-7,83 (m, 2H), 7,41-7,33 (d*d, J <sub>1</sub> = 8,7Hz, J <sub>2</sub> = 2,1Hz, 1H), 7,05-7,00 (m, 3H), 6,85 (s, 1H), 3,81 (m, 2H), 3,72 (s, 2H), 3,22 (m, 2H), 2,58-2,55 (m, 2H), 2,36-2,33 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,10 (s, 6H)	0,625

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S01801		1-[[7-bromo-4-({4-[(4-metoxifenil)carb onil]piperazinil}m etil)(2-quinolil)]amino}-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	578 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,90-7,82 (m, 2H) 7,41-7,36 (m, 3H), 6,92-6,88 (m, 3H), 3,83 (s, 3H), 3,78 (s, 2H), 3,62 (m, 4H), 2,51 (m, 4H), 2,10 (s, 6H)	0,625
S01820		N-[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]-N-[4-(hidroximetil)-3-metil-2,5-dioxoazolinil]acetamida	376 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 8,27-8,26 (m, 1H), 8,02-7,99 (t, 1H), 4,69-4,67 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H)	0,625
S01822		1-[(7-bromo-4-{[4-(fenilsulfonil)pipe razinil]metil}(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-	584 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,71 (m, 4H), 7,62-7,52 (m, 3H), 7,34-	0,625

Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		2,5-diona		7,31 (d*d, J1 = 8,7Hz, J2 = 2,1Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 3,65 (s, 2H), 3,01 (m, 4H), 2,56-2,53 (m, 4H), 2,07 (s, 6H)	
S00871		1-[(4-cloro-4-metil(2-quinolil))amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	316,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,91- 7,88 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,78 (br, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,10 (s, 6H)	0,625
S01862		4-[(2-{3,4-dimetil-2,5-dioxazolinil}amino)-7-bromo-4-quinolil]metilamino]piperidinacarboxilato de terc-butila	556,2 (M- 1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,81- 7,80 (d, J = 1,8Hz, 1H), 7,60- 7,55 (d, J = 9,0Hz, 1H), 7,40- 7,35 (dd, J = 8,7Hz,	0,937



Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				2,1 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 4,10-3,90 (m, 2H), 3,76 (s, 2H), 2,90-2,80 (m, 2H), 2,70-2,55 (m, 1H), 2,09 (s, 6H), 1,90-1,80 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,40-1,30 (m, 2H)	
S01928		4-[4-({2-[(3,4-dimetil-2,5-dioxoazolinil)amino]-7-bromo-4-quinolil}metil)piperazinil]piperidinecarboxilato de terc-butila	627 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,88-7,83 (m, 2H), 7,40-7,36 (m, 1H), 6,87 (s, 1H), 4,15-4,08 (m, 1H), 3,68 (s, 2H), 2,73-2,65 (m, 2H), 2,54-2,52 (m, 8H), 2,36 (m, 2H), 2,06 (s,	0,9375

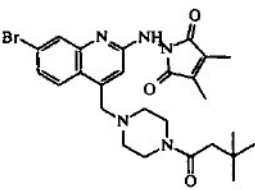
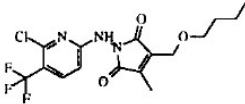
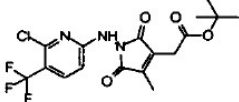
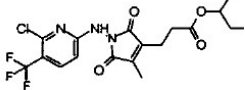
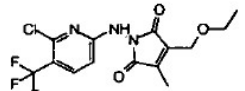
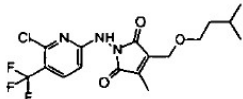
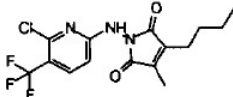
Características Físico-químicas					
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6H) 1,81-1,77 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,42-1,35 (m, 2H)	
S01929		1-[(4-{[4-(3,3-dimetilbutanoil)pi perazinil]metil}-7-bromo(2-quinolil)}amino]-3,4-dimetilazolina-2,5-diona	542 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,89-7,84 (m, 2H), 7,42-7,38 (m, 1H), 6,87 (s, 1H), 3,72 (s, 2H), 3,67-3,63 (m, 2H), 3,49-3,46 (m, 2H), 2,50-2,41 (m, 4H), 2,25 (s, 2H), 2,10 (s, 6H), 1,05 (s, 9H)	0,9375

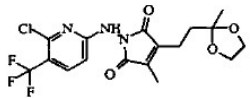
Tabela 3: COMPOSTOS REPRESENTATIVOS E VALORES DE IC<sub>50</sub>

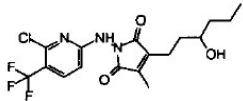
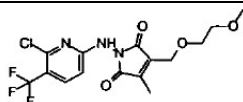
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S03518		3-(Butoximetil)-1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino]-4-metilazolina-2,5-diona	390,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 0,90-0,95 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,35-	0,02

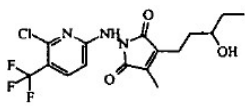
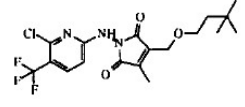
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1,43 (m, 2H), 1,54-1,63 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 3,50-3,55 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,41 (s, 2H), 6,49-6,52 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,88 (s, 1H), 7,77-7,79 (d, J = 8,4 Hz, 1H)	
S02225		2-(1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-4-metil-2,5-dioxoazolin-3-il)acetato de terc-butila	418,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,79-7,76 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,51-6,48 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,51-6,48 (d, J = 8,7Hz, 1H), 3,45 (s, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,25 (s, 9H)	0,03

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S02264		3-(1-((6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-2,5-dioxazolin-3-il)propanoato de 4-metilfenila	433,9 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78-7,75 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,50-6,47 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,85-4,83 (m, 1H), 2,79-2,66 (m, 4H), 1,59-1,52 (m, 2H), 1,21-1,18 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,90-0,86 (t, 3H).	0,04
S02366		1-((6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3-(etoximetil)-4-metilazolina-2,5-diona	364,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 1,23-1,28 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 2,21, (t, J = 1,2Hz, 3H), 3,56-3,63 (q, J = 6,9Hz, 2H), 4,4](q, J = 1,2Hz, 2H), 6,48-	0,04

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				6,51 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,0 (s, 1H), 7,75-7,78 (d, J = 8,4Hz, 1H)	
S03405		1-{{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-3-[(3-metilbutóxi)metil]azolina-2,5-diona	404,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 0,87-0,95 (m, 6H), 1,47-1,54 (m, 2H), 1,66-1,75 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 3,53-3,57 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,41 (s, 2H), 6,49-6,52 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 7,77-7,80 (d, J = 8,4 Hz, 1H)	<0,019
S03448		3-butil-1-{{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metilazolina-2,5-diona	360,0 (M <sup>+</sup> +1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78-7,74 (d, J = 9,0Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,50-6,46	0,156

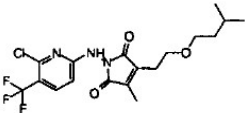
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				(d, J = 8,7Hz, 1H), 2,51-2,45 (t, J = 7,5Hz, 2H), 2,07 (s, 3H), 1,60-1,52 (m, 2H), 1,42-1,34 (m, 2H), 0,97-0,92 (t, J = 7,2 Hz, 3H)	
S03456		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-3-{2-(2-metil(1,3-dioxolan-2-il)etil]azolina-2,5-diona	418,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 1,35 (s, 3H), 1,98-2,03 (t, J = 7,2Hz, 2H), 2,07 (s, 3H), 2,56-2,61 (t, J = 7,2Hz, 2H), 3,88-4,00 (m, 4H), 6,47-6,50 (d, J = 8,7Hz, 1H), 6,78 (s, 1H), 7,76-7,79 (d, J = 8,7Hz, 1H)	0,156

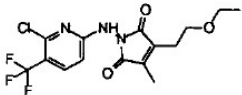
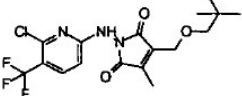
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
S03552		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-(3-hidroxiexil)-3-metilazolina-2,5-diona	404,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77-7,74 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,21 (br, 1H), 6,51-6,48 (d, J= 8,7Hz, 1H), 3,61-3,59 (m, 1H), 2,56-2,60 (t, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,77-1,62 (m, 3H), 1,47-1,25 (m, 4H), 0,94-0,90 (m, 3H)	0,06
S03742		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3-[(2-metoxietóxi)metil]-4-metilazolina-2,5-diona	392,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77-7,74 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,52-6,49 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,52-6,49 (d, J = 8,4Hz,	0,12

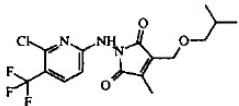
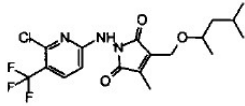
SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				1H), 4,48 (s, 1H), 3,72-3,69 (m, 2H), 3,60-3,56 (m, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,20 (s, 3H)	
S03745		1-[(6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-(3-hidroxi-pentil)-3-metilazolina-2,5-diona	390,0 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,76-7,73 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,36 (br, 1H), 6,51-6,48 (d, J = 8,7Hz, 1H), 3,52-3,51 (m, 1H), 2,64-2,59 (t, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,83-1,62 (m, 2H), 1,55-1,42 (m, 2H), 0,94-0,90 (m, 3H)	0,06
S03747		3-[(3,3-dimetilbutóxi)metil]-1-[(6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metilazolina-2,5-diona	418,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77-7,80 (d, J = 8,7Hz, 1H), 6,77	<0,019

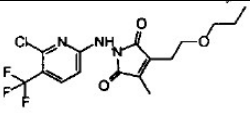


SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		2,5-diona		(s, 1H), 6,49-6,52 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,55-3,60 (t, J = 7,5Hz, 2H), 2,20 (s, 3H), 1,53-1,58 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 0,92-0,96 (s, 9H)	
S03873		4-[(terc-butóxi)metil]-1- {[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3-metilazolina-2,5-diona	390,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80- 7,77 (d, J = 8,4Hz, 1H), 6,85 (br, 1H), 6,51-6,49 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,37 (s, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,28 (s, 9H)	0,02
S03955		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-3-[2-(2-metilpropóxi)etil]azolina-2,5-	404,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 0,86- 0,88 (d, J = 8,4Hz, 6H), 1,79-	0,06

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		diona		1,83 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,72-2,76 (t, J = 6,6Hz, 2H), 3,17-3,19 (d, J = 6,6Hz, 2H), 3,60-3,64 (t, J = 6,6Hz, 2H), 6,45-6,48 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,75-7,78 (d, J = 8,4Hz, 1H)	
S03956		1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-4-metil-3-[2-(3-metilbutóxi)etil]azolina-2,5-diona	418,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 0,85-0,92 (d, J = 6,6Hz, 6H), 1,39-1,46 (m, 2H), 1,60-1,69 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,72-2,76 (t, J= 6,6Hz, 2H), 3,41-3,46 (d, J = 6,6Hz,	0,156

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				2H), 3,60-3,64 (t, J = 6,6Hz, 2H), 6,45-6,47 (d, J = 8,4Hz, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,73-7,76 (d, J= 8,4Hz, 1H)	
S03960		1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-3-(2-etoxietil)-4-metilazolina-2,5-diona	376,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,76-7,73 (d, J= 8,4Hz, 1H), 7,41 (s, 1H), 6,48-6,45 (d, J = 8,4Hz, 1H), 3,65-3,61 (t, 2H), 3,52-3,45 (q, 2H), 2,76-2,72 (t, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,19-1,14 (t, 3H)	0,04
S03962		3-[(2,2-dimetilpropóxi)m etil-1-([6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino)-4-metilazolina-2,5-	404,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,80-7,77 (d, J = 8,7Hz, 1H), 6,83	<0,019

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		diona		(s, 1H), 6,53-6,50 (d, J = 8,7Hz, 1H), 4,43 (s, 2H), 3,17 (s, 2H), 2,22 (s, 3H), 0,94 (s, 9H).	
S03963		1-{{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-3-[(2-metilpropóxi)metil]azolina-2,5-diona	390,2 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,78-7,75 (d, J = 8,7Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,51-6,48 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,41 (s, 2H), 3,30-3,28 (d, J = 6,6Hz, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,95-1,86 (m, 1H), 0,94-0,91 (d, J = 6,6Hz, 6H)	<0,019
S03964		4-[(1,3-dimetilbutóxi)metil]-1-{{[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-4-metil-3-[(2-metilpropóxi)metil]azolina-2,5-diona	418,1 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,77-7,74 (d, J	0,04

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
		piridil)]amino}-3-metilazolina-2,5-diona		= 8,4Hz, 1H), 7,15 (br, 1H), 6,50-6,47 (d, J = 8,4Hz, 1H), 4,51-4,30 (m, 2H), 3,64-6,47 (d, J= 8,4Hz, 1H), 4,51-4,30 (m, 2H), 3,64-3,57 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,76-1,69 (m, 1H), 1,56- 1,49 (m, 1H), 1,27-1,23 (m, 1H), 1,21-1,18 (m, 3H), 0,92-0,88 (m, 6H)	
S04034		1-[[6-cloro-5-(trifluorometil)(2-piridil)]amino}-3-metil-4-(2-propoxietil)azolina-2,5-diona	390,3 (M-1)	(CDCl <sub>3</sub> , 300MHz) δ: 7,73 (s, 1H), 7,70 (br, 1H), 6,47-6,44 (d, J = 8,7Hz, 1H), 3,64-3,60 (t,	0,04

SCID	Estrutura	Nome IUPAC	Massa (m/e)	<sup>1</sup> H RMN	IC <sub>50</sub> (μM)
				2H), 3,39-3,50 (t, 2H), 2,76-2,72 (t, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,61-1,49 (m, 2H), 0,91-0,86 (t, 3H)	

Exemplo 7: Efeitos de S00109 isolado, e S00109 em combinação com tratamentos anticâncer adicionais, em células normais e em células cancerosas

[000168] Os efeitos de S00109 isolado, e S00109 em combinação com tratamentos anticâncer bastante conhecidos, foram determinados para fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDF), e células endoteliais umbilicais humanas (HUVEC), e para células MIAPaCa2 (linhagem celular derivada de câncer de pâncreas), células HCT116 (linhagem celular derivada de câncer de cólon), células IM9 (linhagem celular derivada de mieloma múltiplo), células ARH-77 (linhagem celular derivada de mieloma múltiplo), células RPMI-8226 (linhagem celular derivada de mieloma múltiplo) e células NCI-H929 (linhagem celular derivada de mieloma múltiplo).

[000169] As células foram tratadas da maneira descrita nas Tabelas 4-11, e em seguida elas foram coletadas, coloridas com iodeto de propídio para permitir medir o teor de DNA, e foram analisadas por citometria de fluxo para determinar o estágio do ciclo celular de cada célula presente em cada população subsequente ao tratamento. Assim, um "fenótipo" ou "fenótipo predominante" ou "padrão de ciclo celular" é determinado com base na percentagem de células em vários estágios do ciclo celular (G1, S, G2, M, subG1 (mortas), e assim

por diane). As Tabelas 4-11 mostram o padrão de ceclocelular predominante, ou a alteração mais importante no padrão do ceclocelular, correspondente a cada tratamento combinado. Por exemplo, o resultado para um tratamento combinado pode ser relatado como um aumento no número de células na fase G2 após exposição a uma certa concentração de S00109, comparado ao fenótipo predominante resultante da exposição a uma concentração mais baixa de S00109, para o mesmo tratamento anticâncer. Similarmente, o resultado para um tratamento anticâncer, na ausência de tratamento com S00109, pode ser relatado como um aumento no número de células na fase S, comparado ao controle correspondente (sem tratamento anticâncer, sem S00109, mesmas condições de cultura).

[000170] Células humanas normais e células humanas cancerosas foram expostas ao composto S00109 (abreviado S109 nas Tabelas 4-11) a várias concentrações que variaram de 0  $\mu$ M de S00109, a 100  $\mu$ M de S00109, como mostrado no início de cada coluna.

[000171] Células humanas normais e células humanas cancerosas foram expostas a uma variedade de tratamentos anticâncer inclusive radiação de raios X, e aos agentes anticâncer ("fármacos anticâncer") metotrexato, CPT-11 (irinotecano, Camptosar®), 5-FU (5-fluorouracila), CDDP (cisplatina), adriamicina, Gemzar® (gencitabina), taxol, Velcade® (bortezomib), vincristina, dexametasona, e melfarano. Os tratamentos incluíram tratamento simultâneo com o agente anticâncer e a dose indicada de S00109, assim como tratamentos combinados gradativos, as células foram tratadas primeiro com um agente anticâncer e em seguida com a dose indicada de S00109. A explicação para os tratamentos descritos na legenda para cada linha das Tabelas 4-11 está dada abaixo.

[000172] As experiências de controle incluíram experiências nas quais as células foram tratadas com S109 à dose indicada , e sem

tratamento adicional, indicado como "isolado" nas Tabelas 4-11, em que "S109 à dose indicada " inclui sem S00109, ou S00109 a várias concentrações até 100  $\mu$ M, conforme indicado no cabeçalho de cada coluna. As experiências de controle incluíram experiências criadas para testar os efeitos de tempos de cultura de 24 horas e 48 horas, assim como os efeitos de etapas adicionais tais como uma alteração do meio de cultura depois de 3 horas, ou a adição de S00109 em uma etapa posterior.

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
isolado 24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas sem qualquer tratamento anticâncer adicional, em meio de cultura com a dose indicada de S109, em que "a dose indicada de S109" inclui tratamentos de controle "sem S109"
raios X 10Gy 24 horas simul.stim.	As células foram irradiadas com raios X até atingir uma dose total de 10Gy no início da experiência (requerendo cerca de 5-10 minutos), e cultivadas na presença da dose indicada de S109, por 24 horas
raios X 10Gy pre irradi.	As células foram irradiadas com raios X até atingir uma dose total de 10Gy (cerca de 5-10 minutos) e cultivadas em meio de cultura isolado por 24 horas, e então 24 horas depois da irradiação, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio de cultura e as células foram cultivadas por mais 24 horas
MTX 0,4 24 horas	As células foram cultivadas em meio contendo 0,4 $\mu$ g/ml de metotrexato e a dose indicada de S109 por 24 horass
MTX 2 24 horas	As células foram cultivadas em meio contendo 2 $\mu$ g/ml de metotrexato e a dose indicada de S109 por 24 horass



Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
MTX 10 24 horas	As células foram cultivadas em meio contendo 10µg/ml de metotrexato e a dose indicada de S109 por 24 horas
isolado 3 horas 24 horas de cultura	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo S109 à dose indicada, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem S109, e as células foram cultivadas no meio fresco por mais 24 horas
CPT-11 50	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 50µg/ml CPT-11 (irinotecano, Camptosar®) e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem CPT-11 ou S109, e as células foram cultivadas no meio fresco por mais 24 horas
5-FU 20	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 20µg/ml de 5-FU (5-fluorouracila) e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem 5-FU ou S109, e as células foram cultivadas no meio fresco por mais 24 horas
isolado 3 horas 48 horas de cultura	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem S109, e as células foram cultivadas no meio fresco por mais 48 horas

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
CDDP 3	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 3µg/ml de CDDP (cisplatina) e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem CDDP ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
CDDP 10	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 10µg/ml de CDDP e a dose indicada de S109, que em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem CDDP ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
ADR 1	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 1µg/ml de adriamicina e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem adriamicina ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Gemzar 0,016	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,016µg/ml de Gemzar® (Gemcitabina) e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura+ foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Gemzar 0,08	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,08µg/ml de Gemzar® e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Gemzar 0,4	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,04µg/ml de Gemzar® e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Gemzar 2	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,2µg/ml de Gemzar® e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Gemzar 10	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 10µg/ml de Gemzar® e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Gemzar 50	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 50µg/ml de Gemzar® e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Gemzar® ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Taxol 0,0032	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,0032µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então depois de 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Taxol 0,016	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,016µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Taxol 0,08	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,08µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Taxol 0,4	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 0,4µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Taxol 2	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 2µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
Taxol 10	As células foram cultivadas por 3 horas em meio contendo 10µg/ml de Taxol e a dose indicada de S109, e então em 3 horas, o meio de cultura foi substituído por meio fresco sem Taxol ou S109, e as células foram cultivadas por mais 48 horas
24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas sem tratamento anticâncer adicional (o mesmo que "isolado, 24 horas" acima)

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Velcade 3	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 3µg/ml de Velcade® (bortezomib) e S109 à dose indicada
Velcade 6	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 6µg/ml de Velcade® (bortezomib) e S109 à dose indicada
Vincristina 2	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 2µg/ml de vincristina e S109 à dose indicada
Vincristina 20	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 20µg/ml de vincristina e S109 à dose indicada
Dexametasona 2	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 2µg/ml de Dexametasona e S109 à dose indicada
Dexametasona 20	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 20µg/ml de vincristina e S109 à dose indicada
Dexametasona 200	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 200µg/ml de vincristina e S109 à dose indicada
Sim24 horas ADR0,1	As células foram cultivadas por 24 horas na presença de 0,1µg/ml de adriamicina e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Sim24 horas ADR0,5	As células foram cultivadas por 24 horas na presença de 0,5µg/ml de adriamicina e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Sim24 horas Melp 1	As células foram cultivadas por 24 horas na presença de 1µg/ml de melfarano e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Sim24 horas Melp 4	As células foram cultivadas por 24 horas na presença de 4µg/ml de melfarano e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
48hr	As células foram cultivadas por 48 horas sem qualquer tratamento anticâncer adicional e na presença da dose indicada de S109
Sim48hr ADR0,1	As células foram cultivadas por 48 horas na presença de 0,1µg/ml de adriamicina e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Sim48hr ADR0,5	As células foram cultivadas por 48 horas na presença de 0,5µg/ml de adriamicina e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Sim48hr Melp 1	As células foram cultivadas por 48 horas na presença de 1µg/ml de melfarano e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Sim48hr Melp 4	As células foram cultivadas por 48 horas na presença de 1µg/ml de melfarano e à dose indicada de S109 (isto é, simultaneamente)
Adicionar em 24 hr	As células foram cultivadas por 24 horas em meio apenas, e então em 24 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio de cultura e as células foram cultivadas por mais 24 horas

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Pre ADR0,1 Adicionar 24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 0,1µg/ml de adriamicina, e então em 24 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio contendo adriamicina e as células foram cultivadas na presença de adriamicina e S109 por mais 24 horas
Pre ADR0,5 Adicionar 24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 0,5µg/ml de adriamicina, e então em 24 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio contendo adriamicina e as células foram cultivadas na presença de adriamicina e S109 por mais 24 horas
Pre Mel 1 Adicionar 24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 1µg/ml de melfarano, e então em 24 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio contendo melfarano e as células foram cultivadas na presença de melfarano e S109 por mais 24 horas
Pre Mel 4 Adicionar 24 horas	As células foram cultivadas por 24 horas em meio contendo 4µg/ml de melfarano, e então em 24 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada ao meio contendo melfarano e as células foram cultivadas na presença de melfarano e S109 por mais 24 horas
Adicionar em 48 hr	As células foram cultivadas em meio apenas por 48 horas, e então em 48 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada e as células foram cultivadas por mais 24 horas

Explicação para os Tratamentos nas Tabelas 4-11	
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	As células foram cultivadas em meio contendo 0,1µg/ml de adriamicina por 48 horas, e então em 48 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada e as células foram cultivadas na presença de adriamicina e S109 por mais 24 horas
Pre ADR0,5 Adicionar 48hr	As células foram cultivadas em meio contendo 0,5µg/ml de adriamicina por 48 horas, e então em 48 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada e as células foram cultivadas na presença de adriamicina e S109 por mais 24 horas
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	As células foram cultivadas em meio contendo 1µg/ml de melfarano por 48 horas, e então em 48 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada e as células foram cultivadas na presença de melfarano e S109 por mais 24 horas
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	As células foram cultivadas em meio contendo 4µg/ml de melfarano por 48 horas, e então em 48 horas, a dose indicada de S109 foi adicionada e as células foram cultivadas na presença de melfarano e S109 por mais 24 horas

Nas Tabelas 4-11, os resultados foram apresentados da seguinte maneira.

Explicação para os Resultados nas Tabelas 4-11	
seta horizontal →	O padrão do ceclocelular (fenótipo) visto depois deste tratamento é o mesmo padrão visto para as células de controle (não tratadas) em condições correspondentes, OU o padrão para esta dose de S00109 dose é o mesmo padrão visto na dose mais baixa seguinte de S00109



Explicação para os Resultados nas Tabelas 4-11	
ligeiramente G2↑ ou leve G2↑	A percentagem das células na fase G2 (a população de células G2) é ligeiramente aumentada, de cerca de 5-10%
ligeiramente morta ou morte leve↑	A percentagem das células na população de células subG1 (em que subG1 é o fenótipo da célula morta) é ligeiramente aumentada, isto é, um aumento em cerca de 5-10% na população subG1
G2↑	A percentagem de células na população de células G2 é aumentada (10%-20%)
Rombudo G1	Quando os resultados da classificação das células por citometria de fluxo são representados graficamente, o formato do pico representando a população de células G1 ficou "rombudo" (mais redondas, distribuídas de forma mais difusa, normalmente com caudas mais longas) comparado com o pico "pronunciado" visto nas outras populações de células
S atraso	A percentagem de células na fase S (a população na fase S) aumentou
G2↑Morte↑	A população de células G2 é aumentada em cerca de 10%-20%, e a população subG1 (isto é, células mortas) também é aumentada
Congelando ou Congelando?	O padrão do ciclo celular observado para este tratamento combinado foi o mesmo que para o tratamento de controle não tratado (sem tratamento anticâncer e sem S00109, mesmas condições de cultura) embora essas células tenham sido submetidas ao tratamento combinado especificado.

Explicação para os Resultados nas Tabelas 4-11	
Rombudo G1 G2↓	O formato do pico representando a população de células G1 ficou "rombudo" (vide acima) e a percentagem de células na fase G2 ("população de células G2") é diminuída
G2↓	A população de células G2 é reduzida
G2	A população de células G2 é ligeiramente aumentada
S/G2	A percentagem de células na fase S/G2 ("população de células S/G2") é ligeiramente aumentada
S/G2↑	A percentagem de células na fase S/G2 phase ("população de células S/G") é ligeiramente aumentada
Morte	A população de células subG1 (células mortas) é aumentada
NON ou Ciclo	O padrão do ceclocelular para esta população de células é o mesmo padrão das células de controle não tratadas correspondentes, apesar do fato de esta população de células ter sido tratada da maneira indicada.
Rombudo	Quando os resultados da classificação das células por citometria de fluxo são representados graficamente, o formato de todos os picos correspondentes às células nas diferentes fases do ceclocelular é "rombudo" (redondas, distribuídas de forma difusa, não "pronunciado")

### Resultados

[000173] Os resultados mostram que o composto S00109 teve efeitos citotóxicos mais severos nas células cancerosas e pouco ou nenhum efeito citotóxico nas células normais. Em outras palavras, os resultados mostram que a maioria das células cancerosas são mais

sensíveis ao composto S00109 e do que a maioria das células normais. Esses resultados são consistentes com os resultados das experiências de transplante de tumor de xenoenxerto ARH-77 do Exemplo 4, em que o tratamento de camundongos contendo tumor de xenoenxerto com os compostos S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747 resultou em aumentos drásticos nos índices de sobrevivência dos camundongos contendo tumor, indicando que o composto S00109, S01860, S03518, S03405 ou S03747 eliminou ou suprimiu especificamente as células ARH-77 (mieloma múltiplo) nos tumores de xenoenxerto sem ter efeitos citotóxicos nas células normais ou nos órgãos do camundongo hospedeiro.

A. Fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDF)

[000174] Fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDF) foram tratados da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 4, e não foram expostos a S00109 (coluna 2) ou foram expostos a S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-9. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

Tabela 4: Fenótipo de fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDF) tratados com S00109 isolado, ou em combinação com tratamentos anticâncer

Tratamento de NHDF	Sem S109	0,0064 $\mu$ M S109	0,032 $\mu$ M S109	0,16 $\mu$ M S109	0,8 $\mu$ M S109	4 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109	100 $\mu$ M S109
isolado 24 horas		→	→	→	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	Ligeiramente morta
raios X 10Gy 24 horas simul.stim.	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
MTX 0,4 24 horas	rombudo G1	→	→	→	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑
MTX 2 24 horas	rombudo G1	→	→	→	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑

Tratamento de NHDF	Sem S109	0,0064 $\mu$ M S109	0,032 $\mu$ M S109	0,16 $\mu$ M S109	0,8 $\mu$ M S109	4 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109	100 $\mu$ M S109
MTX 10 24 horas	rombudo G1	→	→	→	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑
isolado 3 horas 24 horas de cultura		→	→	→	→	→	→	Ligeiramente morta
CPT-11 50	S atraso	→	→	→	→	→	→	→
5-FU 20	Leve G2↑	→	→	→	→	→	→	→
isolado 3 horas 48 horas de cultura		→	→	→	→	G2↑Morte?	G2↑Morte?	G2↑Morte?
CDDP 3	Leve G2↑	→	→	→	G2↑	G2↑	G2↑Morte?	G2↑Morte?
CDDP 10	G2↑	→	→	→	G2↓	Congelando	Congelando	Congelando
ADR 1	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 0,016	Rombudo G1 G2↓	→	→	→	→	Congelando	Congelando	G2↑
Gemzar 0,08	G2↓	→	→	→	→	→	→	G2↑
Gemzar 0,4	S/G2	→	→	→	→	→	→	G2
Gemzar 2	S/G2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 10	S/G2↑	→	→	→	→	→	→	→
Gemzar 50	S/G2↑	→	→	→	→	→	→	→
Taxol 0,0032	Morte	→	→	→	→	→	M↑	M↑
Taxol 0,016	Morte	→	→	→	→	→	M↑	M↑
Taxol 0,08	Morte	→	v	→	→	→	M↑	M↑
Taxol 0,4	Morte	→	→	→	→	Congelando	Congelando	
Taxol 2	Morte	→	→	→	→	Congelando	Congelando	
Taxol 10	Morte	→	→	→	→	Congelando	Congelando	

#### B. Células endoteliais umbilicais humanas normais (HUVEC)

[000175] Células endoteliais umbilicais humanas normais (HUVEC) foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 5, e não foram expostas a S00109 (Coluna 2) ou foram expostas a S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-9. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

**Tabela 5:** Fenótipo de células endoteliais umbilicais humanas normais (HUVEC) tratadas com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer

Tratamento de HUVEC	Sem S109	0,006 4 $\mu$ M S109	0,032 $\mu$ M S109	0,16 $\mu$ M S109	0,8 $\mu$ M S109	4 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109	100 $\mu$ M S109
isolado 24 horas		→	→	→	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	ligeiramente G2↑	Ligeiramente morta
raios X 10Gy 24 horas simul.stim.	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑	→	→	→	→	→	→	→
MTX 0,4 24 horas	S/G2↑	→	→	Ciclo?	Ciclo?	Ciclo?	Ciclo?	Ligeiramente morta
MTX 2 24 horas	S/G2↑	→	→	→	Ciclo?	Ciclo?	Ciclo?	Ligeiramente morta
MTX 10 24 horas	S/G2↑	→	→	→	→	→	→	→
isolado 3 horas 24 horas de cultura		→	→	→	→	→	→	→
CPT-11 50	S atraso	→	→	→	→	→	→	→
5-FU 20	Leve G2↑	→	→	→	→	→	→	→
isolado 3 horas 48 horas de cultura		→	→	→	→	→	→	→
CDDP 3	Leve G2↑	→	→	→	→	G2↑	G2↑	G2↑
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	→	Congelando?	Congelando?
ADR 1	Morte G2↑	→	→	→	→	→	→	Morte
Gemzar 0,016	Morte	→	→	→	→	Congelando?	Congelando?	Congelando?
Gemzar 0,08	Morte	→	→	→	→	→	Congelando?	Congelando?

Tratamento de HUVEC	Sem S109	0,006 4 µM S109	0,032 µM S109	0,16 µM S109	0,8 µM S109	4 µM S109	20 µM S109	100µM S109
Gemzar 0,4	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Gemzar 2	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Gemzar 10	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Gemzar 50	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Taxol 0,0032	Morte	→	→	→	→	→	→	→
Taxol 0,016	Morte	→	→	→	→	→	→	→
Taxol 0,08	Morte	→	→	→	→	→	→	Congel ando?
Taxol 0,4	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Taxol 2	Morte	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?
Taxol 10	M arrest	→	→	→	→	→	Congel ando?	Congel ando?

C. Linhagem celular derivada de câncer de pâncreas humano MIAPaCa2

[000176] Células da linhagem celular derivada de câncer de pâncreas humano MIAPaCa2 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 6, e não foram expostas a S00109 (Coluna 2) ou foram expostas a S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-7. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

Tabela 6: Fenótipo da linhagem celular de câncer de pâncreas humano (MIAPaCa2) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer

Tratamento de MIAPaCa2	Sem S109	0,032 µM S109	0,16 µM S109	0,8 µM S109	4 µM S109	20 µM S109
isolado 24 horas	NON	NON	NON	SG2↓	SG2↓	SG2↓
raios X 2Gy 24 horas simul.stim.	NON	NON	NON	SG2↓	SG2↓	SG2↓
raios X 10Gy 24 horas simul.stim.	G2↑	→	→	→	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓
raios X 2Gy pre irrad.	G2↑	→	SG2↓	SG2↓	SG2↓	SG2↓
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑	→	G1↑	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓	G1↑ G2↓
MTX 0,12 24 horas	SG2↓	→	→	→	→	→
MTX 0,6 24 horas	SG2↓	→	→	→	→	→
MTX 3 24 horas	SG2↓	→	→	→	→	→
isolado 3 horas 24 horas de cultura	NON	NON	NON	NON	NON	SG2↓
CPT-11 50	G2↑	→	→	→	→	G1↑ G2↓
5-FU 20	SG2↓	→	→	→	→	→
isolado 3 horas 48 horas de cultura	NON	NON	NON	NON	NON	NON
CDDP 3	Leve G2↑	→	→	→	→	→
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	G2↓
ADR 1	SG2↑	→	→	→	→	G2?Morte ↑
Gemzar 2	SG2↓	→	→	→	→	SG2↓
Gemzar 10	G1↓	→	→	→	→	SG2↓
Gemzar 50	Rombudo	→	Dead	→	→	SG2↓
Taxol 0,4	Morte	→	→	→	G2↑	G2↑
Taxol 2	Morte	→	→	→	→	G2↑
Taxol 10	Morte	→	→	G2↑	G2↑	G2↑

**D. Linhagem celular derivada de câncer de cólon humano HCT116**

[000177] Células da linhagem celular derivada de câncer de cólon humano HCT116 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 7, e não foram expostas a S00109 (Coluna 2) ou foram expostas a S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-8. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

**Tabela 7:** Fenótipo da linhagem celular de câncer de cólon humano (HCT116) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer

Tratamento de HCT116	Sem S109	0,032 $\mu$ M S109	0,16 $\mu$ M S109	0,8 $\mu$ M S109	4 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109	100 $\mu$ M S109
isolado 24 horas	NON	NON	NON	S↓	G2↑	G2↑Morte ↑	ND
raios X 2Gy 24 horas simul.stim.	NON	NON	NON	S↓	G2↑↑	G2↑Morte ↑	
raios X 10Gy 24 horas simul.stim.	G2↑	→	→	→	→	→	
raios X 2Gy pre irradi.	NON	NON	NON	Morte↑	G2↑Mor te↑	G2↑Morte ↑	
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑	→	→	→	Morte	Morte	
MTX 0,12 24 horas	G2↓	→	→	→	→	→	
MTX 0,6 24 horas	G2↓	→	→	→	→	→	
MTX 3 24 horas	G2↓	→	→	→	→	→	
isolado 3 horas 24 horas de cultura	NON	NON	NON	G2↑	G2↑	S↓	
CPT-11 50	G2↑	→	→	→	G1	G1↑	
5-FU 20	NON	NON	NON	NON	NON	NON	



Tratamento de HCT116	Sem S109	0,032 $\mu$ M S109	0,16 $\mu$ M S109	0,8 $\mu$ M S109	4 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109	100 $\mu$ M S109
isolado 3 horas 48 horas de cultura	NON	NON	NON	NON	NON	NON	
CDDP 3	Leve G2↑	→	→	→	→	→	
CDDP 10	G2↑	→	→	→	→	Morte	
ADR 1	G2↑			Morte↑	G2↓Morte↑	G2↓Morte↑	
Gemzar 2	Morte G2↓	→	→	→	→	Morte	
Gemzar 10	Morte G2↓	→	→	→	Morte	Morte	
Gemzar 50	Morte G2↓	→	→	→	Morte	Morte	
Taxol 0,4	Morte			Morte↑	M↓Morte↑	M↓Morte↑	
Taxol 2	Morte			M↓Morte↑	M↓Morte↑	M↓Morte?	
Taxol 10	Morte				M↓Morte↑	M↓Morte↑	

**E. Linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano IM9**

[000178] Células da linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano IM9 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 8, e não foram expostas a S00109 (Column 2, Tabela 8A) ou S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-7 da Tabela 8A e nas colunas 2-7 da Tabela 8B. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

**Tabela 8:** Fenótipo de linhagem celular de mieloma múltiplo humano (IM9) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer

**Tabela 8A: Resultados para sem S00109, e 0,02 a 0,3125µM S00109**

Tratamento de IM9	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑Morte	→	→	→	→	→
24 horas			S/G2↓	S/G2↓	S/G2↓	S/G2↓Morte↑
Velcade 3	→	→	→	→	→	G1↑S↓
Velcade 6	→	S/G2↓	S/G2↓	S/G2↓	S/G2↓	S/G2↓
Vincristina 2	→	→	G1↑	G1↑S↓	G1↑S↓	G1↑S↓
Vincristina 20	Morte S↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
Dexametasona 2	→	→	→	→	→	S/G2↓Morte↑
Dexametasona 20	→	→	→	G1↑	G1↑S↓	S↓Morte↑
Dexametasona 200	→	→	→	→	G1↑S↓	S↓Morte↑
Sim24 horas ADR0,1	G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas ADR0,5	G2↑Morte		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas Melph 1	S/G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas Melph 4	S/G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
48hr			→	→	Morte↑	Morte↑
Sim48hr ADR0,1	G2↑Morte		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↓	S/G2↓Morte↑
Sim48hr ADR0,5	G2↑Morte		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
Sim48hr Melph 1	→		G2↑	G2↑Morte↓	G2↑Morte↓	S/G2↓Morte↑
Sim48hr Melph 4	G2↑Morte		S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Adicionar em 24 hr			→	→	G1↑	G1↑
Pre ADR0,1 Adicionar 24 horas	G2↑Morte		→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 24 horas	Morte		→	G2↓	G2↓	↓

Tratamento de IM9	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109
Pre Mel 1 Adicionar 24 horas	→		→	G2↑	G2↑	G2↑
Pre Mel 4 Adicionar 24 horas	G2↑Morte		→	→	→	S/G2↓Morte↑
Pre S109 Adicionar 24 horas ADR0,1	G2↑Morte		→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas ADR0,5	Morte		→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas Mel 1	→		→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas Mel 4	→		→	→	→	→

**Tabela 8B: Resultados para 0,625 a 20 µM S00109**

Tratamento de IM9	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	→	→	→	→	→	→
24 horas	S/G2↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑
Velcade 3	G1↑S↓Morte↑	G1↑S↓Morte↑	G1↑S↓Morte↑	G1↑S↓Morte↑	G1↓S↓Morte↑	G1↓S↓Morte↑
Velcade 6	S↓Morte↑	S↓Morte?	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑
Vincristina 2	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑
Vincristina 20	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑
Dexametasona 2	S/G2?Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Dexametasona 20	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑
Dexametasona 200	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑	S↓Morte↑
Sim24 horas ADR0,1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas ADR0,5	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑

Tratamento de IM9	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
Sim24 horas Melph 1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas Melph 4	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
48hr	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑
Sim48hr ADR0,1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2?Morte↑
Sim48hr ADR0,5	G1↓S/G2↑	G1↓S/G2↑	G1↓S/G2↑	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑
Sim48hr Melph 1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim48hr Melph 4	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Adicionar em 24 hr	G1↑	non	non	non	G1↓G2↑Morte↑	G1↓G2↑Morte↑
Pre ADR0,1 Adicionar 24 horas	→	→	→	→	→	G2↓
Pre ADR0,5 Adicionar 24 horas	→	→	→	Morte↑	Morte↑	Morte↑
Pre Mel 1 Adicionar 24 horas	G2↑Morte↑	→	→	→	→	→
Pre Mel 4 Adicionar 24 horas	→	→	→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas ADR0,1	→	→	→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas ADR0,5	→	→	→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas Mel 1	→	→	→	→	→	→
Pre S109 Adicionar 24 horas Mel 4	→	→	→	→	→	Morte

#### F. Linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano ARH-77

[000179] Células da linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano ARH-77 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 9 , e não foram expostas a S00109 (Tabela

9A, Coluna 2) ou foram expostas a S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-7 da Tabela 9A e 2-7 da Tabela 9B. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

Tabela 9: Fenótipo de linhagem celular de mieloma múltiplo humano (ARH-77) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer.

Tabela 9A: Resultados para sem S00109, e 0,02 a 0,3125µM S00109

Tratamento de ARH-77	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑Morte	→	→	→	→	→
24 horas			G1↑G2↓	G1↑G2↓	G1↑G2↓	Morte↑G2↓
Velcade 3	→	→	→	G1↑G2↓	G1↑G2↓	S/G2↓Morte↑
Velcade 6	Morte	→	→	→	→	Morte↑G2↓
Vincristina 2	Morte	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
Vincristina 20	Morte M↓	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	Morte↑
Dexametasona 2	Morte	→	→	→	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Dexametasona 20	Morte	→	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Dexametasona 200	Morte	→	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Sim24 horas ADR0,1	G2↑		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas ADR0,5	G2↑Morte		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas Melph 1	S/G2↑		→	G1↑S/G2↓	S/G2↑Morte↑	S/G2↓Morte↑
Sim24 horas Melph 4	S/G2↑		→	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑
48hr	G2↑		→	→	S/G2↑Morte↑	S/G2↑Morte↑
Sim48hr ADR0,1			→	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑

Tratamento de ARH-77	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109
Sim48hr ADR0,5	G2↑Morte		G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
Sim48hr Melp 1			→	→	S/G2?Morte?	S/G2?Morte?
Sim48hr Melp 4	G2↑Morte		S/G2↓Morte e↑	S/G2↓Morte e↑	S/G2↓Morte e↑	S/G2↓Morte e↑
Adicionar em 24 hr	→		→	→	→	→
Pre ADR0,1 Adicionar 24 horas	G2↑Morte		→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 24 horas	G2↑Morte		→	→	G2?	→
Pre Mel 1 Adicionar 24 horas	→		→	G2↑	G2↑	G2↑Morte ↑
Pre Mel 4 Adicionar 24 horas	G2↑Morte		G2↓Morte ↑	→	→	→
Adicionar em 48 hr	→		→	→	→	→
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	G2↑Morte		→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 48hr	G2↑Morte		→	→	→	→
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	→		→	→	→	→
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	G2↑Morte		→	→	→	→

**Tabela 9B:** Resultados para 0,625 a 20 µM S00109

Tratamento de ARH-77	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	→	→	→	→	Morte	Morte
24 horas	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Velcade 3	S/G2↓Morte ↑	S/G2↓Morte e↑	S/G2↓Morte ↑	S/G2↓Morte ↑	S/G2?Morte e↑	S/G2↓Morte ↑

Tratamento de ARH-77	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
Velcade 6	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ 2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓ ↓
Vincristina 2	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑
Vincristina 20	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑	Morte↑
Dexametasona 2	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ 2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓ ↓
Dexametasona 20	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ 2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓ ↓
Dexametasona 200	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓ 2↓	Morte↑G2↓ ↓	Morte↑G2↓ ↓
Sim24 horas ADR0,1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim24 horas ADR0,5	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim24 horas Melph 1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim24 horas Melph 4	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
48hr	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim48hr ADR0,1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim48hr ADR0,5	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓ 2↓	G1↑S/G2↓	S/G2↓Morte↑
Sim48hr Melph 1	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Sim48hr Melph 4	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑ e↑	S/G2↓Morte↑ rte↑
Adicionar em 24 hr	→	→	G2↑Morte↑	G2↑Morte↑ e↑	G2↑Morte↑	G2↑Morte↑
Pre ADR0,1 Adicionar 24 horas	→	G1↓Morte↑	→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 24 horas	→	→	→	→	→	→
Pre Mel 1 Adicionar 24 horas	→	→	→	→	→	→

Tratamento de ARH-77	0,625 $\mu$ M S109	1,25 $\mu$ M S109	2,5 $\mu$ M S109	5 $\mu$ M S109	10 $\mu$ M S109	20 $\mu$ M S109
Pre Mel 4 Adicionar 24 horas	→	→	→	→	→	→
Adicionar em 48 hr	→	→	→	→	→	→
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	→	→	→	→	Morte↑	Morte↑
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	→	→	Morte↑	→	→	→

**G. Linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano RPMI-8226**

[000180] Células da linhagem celular derivada de mieloma múltiplo humano RPMI-8226 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 10, e não foram expostas a S00109 (Column 2, Tabela 10A) ou S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-7 da Coluna 10A e Colunas 2-7 da Coluna 10B. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente.

**Tabela 10:** Fenótipo de linhagem celular de mieloma múltiplo humano (RPMI-8226) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer

**Tabela 10A:** Resultados para sem S00109, e 0,02 a 0,3125 $\mu$ M S00109

Tratamento de RPMI-8226	Sem S109	0,02 $\mu$ M S109	0,039 $\mu$ M S109	0,078 $\mu$ M S109	0,156 $\mu$ M S109	0,3125 $\mu$ M S109
raios X 10Gy pre irradi.	G2↑Morte	→	→	→	→	→
24 horas			→	G2↓	G1↑G2↓	G1↑G2↓
Sim 24 horas ADR0,1	→		→	→	G2↓	G2↓
Sim 24 horas Melph 1	Interrupção em S		→	→	→	G1↑S/G2↓



Tratamento de RPMI-8226	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109	
Sim 24 horas Melfh 4	Interrupção em S		→	→	→	G1↑	
48hr			→	G1↑S/G2↓	MorteG1↑ S/G2↓	S/G2↓Morte↑	
Velcade 3	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	
Velcade 6	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	
Vincristina 2	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	
Vincristina 20	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	
Dexametasona 2	S/G2↓Morte↑		Morte↑	Morte↑	S/G2 ↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	
Dexametasona 20			G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	
Dexametasona 200			S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	S/G2↓Morte↑	
Sim48hr ADR0,1			G2↑	→	→	→	G1↑S/G2↓
Sim48hr Melfh 1	→	G2↑	→	→	→	→	
Sim48hr Melfh 4	G2↑		→	→	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	
Adicionar em 48 hr	G2↑		→	→	→	→	
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr			→	→	→	→	
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	→		→	→	→	→	
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	G2↑		→	→	→	→	

Tabela 10B: Resultados para 0,625 a 20 µM S00109

Tratamento de RPMI-8226	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	→	→	→	→	→	→
24 horas	G1↑G2↓	G1↑G2↓	G1↑G2↓	G1↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Sim24 horas ADR0,1	G2↓	G2↓	G2↑	G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Sim24 horas Melfh 1	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓

Tratamento de RPMI-8226	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
Sim24 horas Melfh 4	G1↑	G1↑	G1↑	G1↑	G1?	G1↑
48hr	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑
Velcade 3	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Velcade 6	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Vincristina 2	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Vincristina 20	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Dexametasona 2	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑
Dexametasona 20	G1↑	G1↑	G1↑Morte↑	G1↑Morte↑	G1?Morte↑	G1↑Morte↑
Dexametasona 200	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑	S/G2↓Mort e↑
Sim48hr ADR0,1	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
Sim48hr Melfh 1	→	→	Morte	Morte	Morte	Morte
Sim48hr Melfh 4	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Adicionar em 48 hr	→	→	→	→	→	→
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→

#### H. Linhagem celular derivada de mieloma humano NCI-H929

[000181] Células da linhagem celular derivada de mieloma humano NCI-H929 foram tratadas da maneira descrita na primeira célula de cada linha da Tabela 11, e não foram expostas a S00109 (Column 2, Tabela 11A) ou S00109 às concentrações listadas nas colunas 3-7 da Tabela 11A e Colunas 2-7 da Tabela 11B. O fenótipo predominante para cada tratamento combinado está descrito na célula correspondente

Tabela 11: Fenótipo de linhagem celular de mieloma múltiplo humano

(NCI-H929) tratada com S00109 isolado ou em combinação com tratamentos anticâncer.

**Tabela 11A: Resultados para sem S00109, e 0,02 a 0,3125µM S00109**

Tratamento de NCI-H929	Sem S109	0,02 µM S109	0,039 µM S109	0,078 µM S109	0,156 µM S109	0,3125 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	Leve G2↑Morte	→	→	→	→	→
24 horas			→	→	→	→
Sim24 horas ADR0,1	G2↑		→	→	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
Sim24 horas ADR0,5	SG2↑		→	→	→	→
Sim24 horas Meph 0,25	→		→	→	→	→
Sim24 horas Meph 1	→		→	→	→	→
Sim24 horas Meph 4	SG2↑		→	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓
48hr			→	→	Morte	Morte
Sim48hr ADR0,1	G2↑		→	→	→	S/G2↓
Sim48hr ADR0,5	Morte		→	→	→	→
Sim48hr Meph 0,25	→		→	→	→	Morte
Sim48hr Meph 1	→		→	→	→	Morte
Sim48hr Meph 4	G2↑		→	→	→	Morte
Adicionar em 48 hr			→	→	→	→
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	Morte G2↑		→	→	→	S/G2↓Morte↑
Pre ADR0,5 Adicionar 48hr	Morte		→	→	→	→
Pre Mel0,25 Adicionar 48hr	→		→	→	→	→
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	→		→	→	→	→
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	SG2↑		→	→	→	→

**Tabela 11B: Resultados para Resultados para 0,625 a 20 µM S00109**

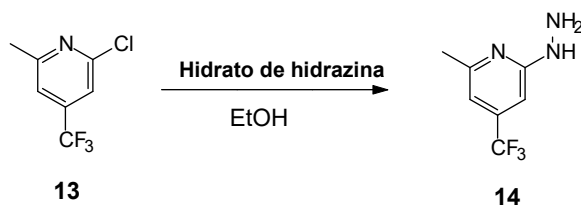
Tratamento de NCI-H929	0,625 µM S109	1,25 µM S109	2,5 µM S109	5 µM S109	10 µM S109	20 µM S109
raios X 10Gy pre irradi.	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
24 horas	→	→	→	Morte	Morte	Morte
Sim24 horas ADR0,1	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	G1? ↑/G2↓
Sim24 horas ADR0,5	→	→	→	→	→	→
Sim24 horas Melf 0,25	→	→	Morte	Morte	Morte	Morte
Sim24 horas Melf 1	→	→	→	→	Morte	Morte
Sim24 horas Melf 4	G1↑S/G2↓	G1↑S/G2↓	Morte	Morte	Morte	Morte
48hr	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Sim48hr ADR0,1	S/G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓	Morte↑G2↓
Sim48hr ADR0,5	→	→	→	→	→	→
Sim48hr Melf 0,25	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Sim48hr Melf 1	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Sim48hr Melf 4	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Adicionar em 48 hr	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Pre ADR0,1 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	→
Pre ADR0,5 Adicionar 48hr	→	→	→	→	→	Morte
Pre Mel0,25 Adicionar 48hr	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Pre Mel 1 Adicionar 48hr	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte	Morte
Pre Mel 4 Adicionar 48hr	→	→	→	→	Morte	Morte

**Exemplo 8: Síntese de Compostos Representativos**

[000182] Os exemplos a seguir servem como ilustrações, e todos os

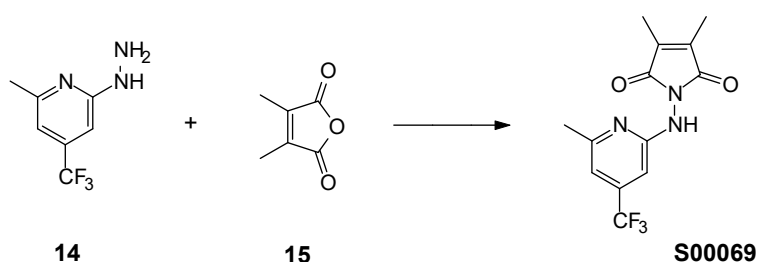
compostos desta invenção podem ser sintetizados usando-se métodos similares àqueles descritos nesses exemplos.

Procedimento geral para a síntese de 2-piridil hidrazinas substituídas

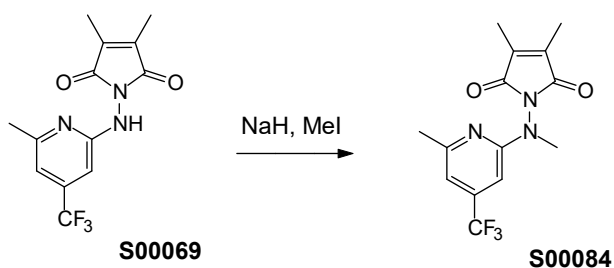


[000183] O procedimento geral para a síntese de 2-piridil hidrazinas substituídas está representado na síntese de 4-(trifluormetila)-6-metila-2-piridil hidrazina (14). Um equivalente de 2-cloro-4-(trifluormetila)-6-metilpiridina (13) e 1,5 equivalente de hidrazina hidratada foram misturados em etanol. A solução ficou amarela depois de ser agitada por vários minutos. A mistura reacional foi refluxada até que análise por TLC não mostrou qualquer material de partida restante. O solvente foi então removido a vácuo, e a pasta resultante foi extraída com éter três vezes. A solução de etérea combinada foi secada em MgSO<sub>4</sub> anidro e evaporada para dar o produto bruto, que foi então recristalizado a partir de etanol para dar o composto 14.

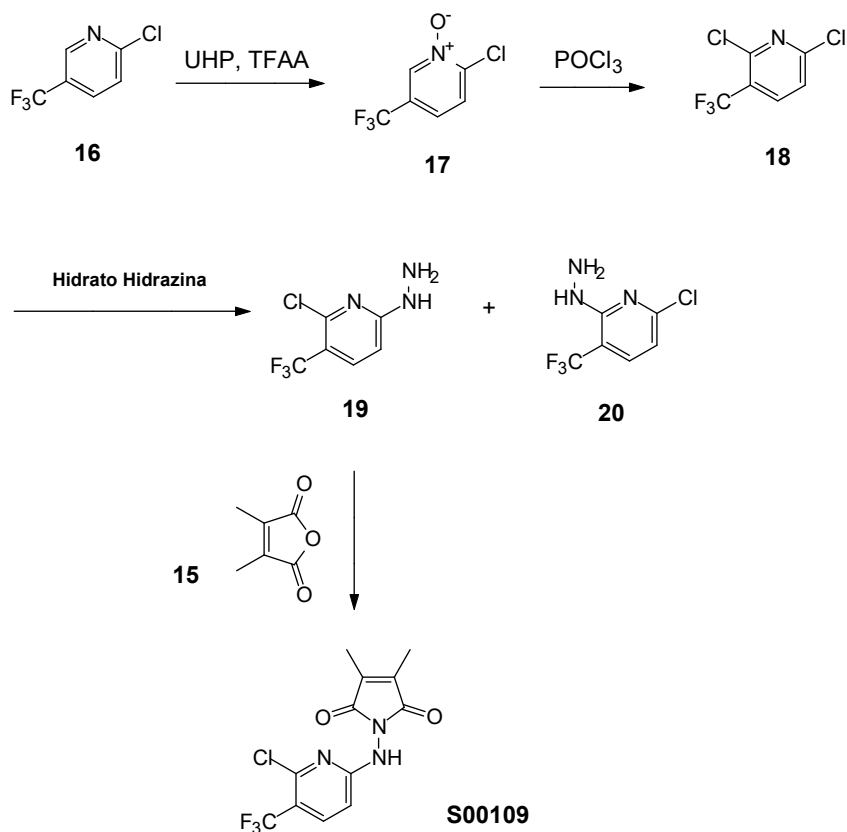
Síntese de S00069



[000184] O anidrido 15 (1 eq.) foi adicionado a uma solução da hidrazina 14 (1,0mmol) em clorofórmio e a mistura foi agitada ao refluxo por 4 horas. A reação foi determinada completa por TLC (éter de petróleo : acetato de etila = 3:1). O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por cromatografia rápida (éter de petróleo : acetato de etila = 2 : 1) para dar o produto.

Síntese de S00084

[000185] A uma solução de S00069 (35mg, 0,117mmol) em THF (6mL) a 0°C foi adicionado NaH (60% em óleo mineral, 8mg, 0,12mmol). A mistura foi agitada por 30 minutos, e em seguida MeI (20mg) foi adicionado. A mistura reacional foi agitada por 2 horas à temperatura ambiente, e em seguida despejada em NH<sub>4</sub>Cl aquoso saturado. Esta mistura foi extraída com CHCl<sub>3</sub>. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido e o resíduo foi purificado por TLC preparatória (5:1 éter de petróleo/éter dietílico) para dar S00084 (3mg).

Síntese de S00109

Etapa 1: Síntese de 2-Cloro-5-trifluormetila-piridina-N-óxido (17):

[000186] 2-Cloro-5-trifluormetila-piridina (16, 10mmols) foi dissolvida em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20mL) e UHP (composto de adição ureia-peróxido de hidrogênio, 21mmols) foi adicionado. A mistura foi resfriada para 0°C, anidrido trifluoracético (20mmols) foi então lentamente adicionado à mistura reacional. A mistura foi deixada esquentar até a temperatura ambiente e foi agitada até a reação ser considerada completa por TLC. A reação foi resfriada bruscamente com  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  aquoso, agitada por 4 horas, lavada com  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado, e secada em  $\text{MgSO}_4$  anidro. Cromatografia em coluna deu 1,8g de composto 17 como um óleo.

Etapa 2: Síntese de 2,6-Dicloro-5-trifluormetila-piridina (18):

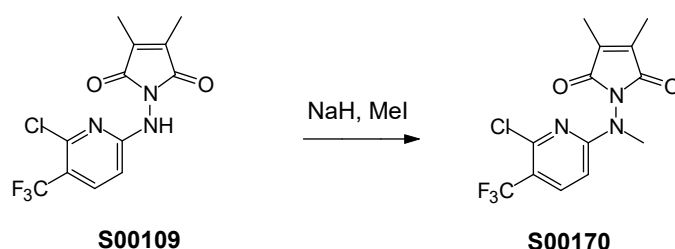
[000187] 2-Cloro-5-trifluormetila-piridina-N-óxido (17, 4mmols) foi dissolvido em  $\text{POCl}_3$  (4,5mL) recém-destilado. A mistura reacional foi aquecida até 80°C por 17 horas. Depois de esfriar para a temperatura ambiente, o solvente foi removido à pressão reduzida. Gelo foi adicionado, e a mistura foi deixada repousar por 4 horas. A mistura foi distribuída entre  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50mL) e  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado. Cromatografia em coluna deu o composto 18 como um óleo amarelo (rendimento: 50%).

Etapa 3: Síntese de 6-Cloro-5-trifluormetila-2-piridil hidrazina (19)

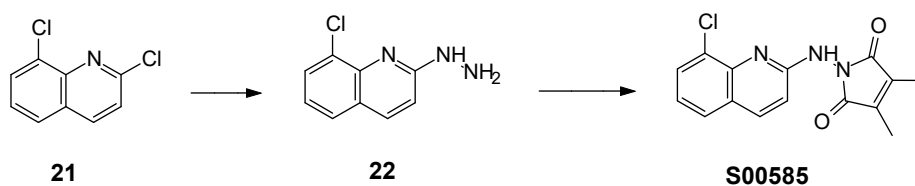
[000188] À solução de 2,6-Dicloro-5-trifluormetila-piridina (18, 2g, 9,26mmols) em etanol (30mL) foi adicionada hidrazina hidratada (2,9g, 46mmols). A mistura reacional foi agitada por 4 horas à temperatura ambiente, e em seguida concentrada para remover o solvente, e acetato de etila foi adicionado, e a mistura foi lavada com água. A camada orgânica foi secada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Cromatografia em coluna (Sílica, éter de petróleo/acetato de etila = 4/1~3/1) deu o composto 19 como um sólido branco (rendimento: 56%) e um outro isômero 20 (rendimento: 18%).

Etapa 4: Síntese de S00109

[000189] Anidrido 2,3-Dimetilmaleico (15, 0,126g, 1,0mmol) foi adicionado a uma solução de 6-cloro-5-trifluormetila-2-piridil hidrazina (19, 0,211g, 1,0mmol) em 5ml de clorofórmio e a mistura foi refluxada por 4 horas. O solvente foi removido e o resíduo foi purificado por cromatografia rápida (5:1 a 2:1 éter de petróleo/acetato de etila) para dar S00109 (0,21 g).

Síntese de S00170

[000190] O composto S00109 (40mg, 0,125mmol) e NaH (60 % em óleo mineral, 7mg, 0,188mmol) foram suspensos em 2ml de THF anidro e a mistura foi agitada a 0°C por 30 minutos. Iodeto de metila (21mg, 0,150mmol) foi lentamente adicionado à solução à mesma temperatura e a mistura foi então aquecida até 25~30°C e agitada por uma noite. O solvente foi evaporado, e ácido acético foi adicionado para levar a solução a um pH=4. Esta mistura foi extraída com clorofórmio três vezes, e a fase orgânica combinada foi lavada com HCl 1 N, e em seguida NaHCO<sub>3</sub> aquoso saturado. Ela foi então secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido e o resíduo foi purificado por TLC preparatória (4:1 éter de petróleo/éter dietílico) para dar o composto S00170 (4,2mg).

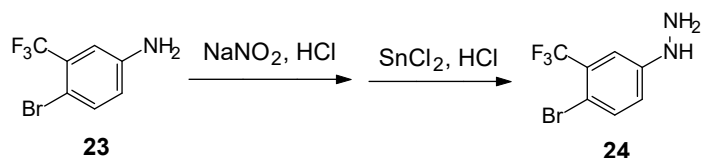
Síntese de S00585

[000191] O composto 21 foi convertido no composto 22 usando um procedimento similar àquele descrito no Exemplo 1. O composto 22 foi



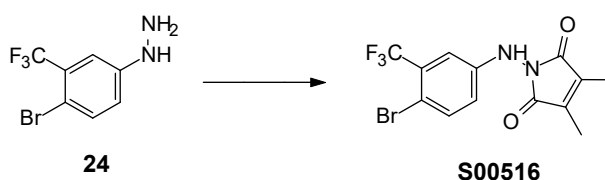
convertido no composto S00585 usando um procedimento similar àquele descrito no Exemplo 2.

#### Procedimento geral para a síntese de fenila hidrazinas substituídas



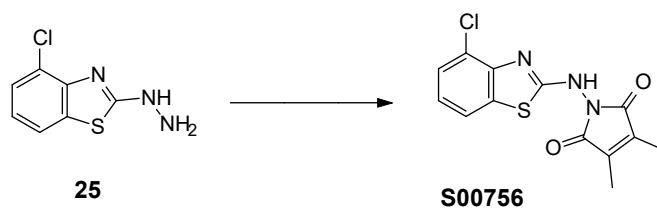
[000192] O procedimento geral para a síntese de fenila hidrazinas substituídas está representado na síntese de 3-(trifluormetila)-4-bromofenil hidrazina (24). A benzilamina 23 correspondente (0,08mol) foi adicionada a HCl concentrado (40mL). A mistura foi resfriada para -5°C com gelo e sal e com agitação. Em seguida nitrito de sódio (5,52g, 0,08mol) dissolvido em água (20mL) foi adicionado. A agitação continuou por 1 hora, e cloreto estanoso (30g) em HCl concentrado (30mL) foi adicionado lentamente durante um período de duas horas, enquanto a temperatura era mantida abaixo de 0°C. A mistura foi agitada por mais uma hora depois da adição e foi filtrada. O sólido filtrado foi tratado com hidróxido de sódio aquoso diluído e em seguida extraído com éter. A camada etérea foi lavada com água, e secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido e o resíduo foi cristalizado a partir de hexano para dar o composto 24.

#### Síntese de S00516



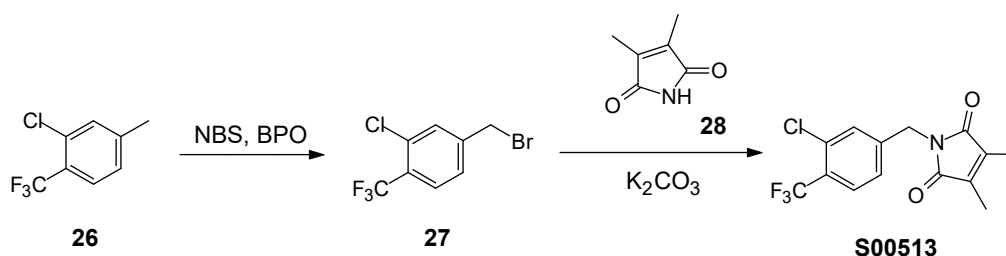
[000193] O composto S00516 foi sintetizado a partir da hidrazina 24 correspondente usando um procedimento similar àquele descrito no Exemplo 2.

#### Síntese de S00756



[000194] O composto 25 foi sintetizado de acordo com um procedimento da literatura (Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 1997, 32(5), 397-408). Ele foi convertido no composto S00756 usando um método similar àquele descrito no Exemplo 2.

#### Síntese de S00513



#### Etapa 1: Brometo de 3-Cloro-4-trifluormetilbenzila 27

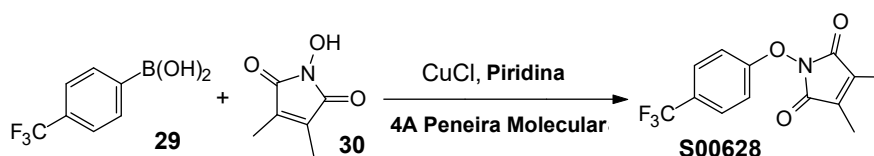
[000195] Uma mistura de 2-cloro-4-metila-1-trifluormetilbenzeno 26 (0,20g, 1mmol), N-bromossuccinimida (0,17g, 1mmol) e peróxido de benzoíla (7,4mg, 0,03mmol) em tetracloreto de carbono (2mL) foi aquecida até o refluxo por 2 horas. Mais uma porção de peróxido de benzoíla (20mg, 0,08mmol) foi adicionada. A mistura foi aquecida até o refluxo por mais 0,5 hora. A mistura reacional foi ainda agitada à temperatura ambiente por 16 horas. O sólido foi removido por filtração. O solvente foi removido à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia rápida sobre sílica, usado éter de petróleo como eluente, para dar 0,22g (80%) de composto 27.

#### Etapa 2: Composto S00513

[000196] A uma solução de 3,4-dimetilmaleimida 28 (43mg, 0,34mmol) em 1,3mL de acetona foi adicionado carbonato de potássio anidro (50mg, 0,37mmol) e composto 27 (100mg, 0,37mmol). A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por uma noite.

Água foi adicionada e a mistura foi extraída com acetato de etila. O extrato orgânico foi lavado com salmoura, secado ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), e concentrado à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia sobre sílica, usando éter de petróleo/acetato de etila (10:1) como eluente, para dar 70mg (60%) de composto S00513.

#### Síntese de S00628



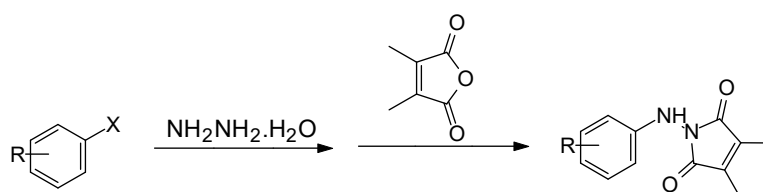
[000197] A uma solução de 1-hidróxi-3,4-dimetilazolina-2,5-diona 30 (56mg, 0,39mmol, 1 equiv) em 1,2-dicloroetano (2,5mL), CuCl (39mg, 0,39mmol, 1 equiv), peneiras moleculares 4 Å recém-ativadas (~100 mg), e ácido 4-trifluormetilfenilborônico 29 (150 mg, 0,78mmol, 2 equiv) foram adicionados, seguidos de piridina (34mg, 0,43mmol, 1,1 equiv). A suspensão castanho-claro resultante foi agitada por 16 horas. A mistura reacional foi filtrada. Cromatografia do filtrato (éter de petróleo/acetato de etila = 7: 1) deu o composto S00628 como um sólido branco (65 mg, 59%).

#### Exemplo 9: Procedimentos de síntese

[000198] Todos os compostos listados nas Tabelas 1, 2 e 3 foram sintetizados usando-se métodos idênticos ou similares àqueles descritos nos exemplos abaixo.

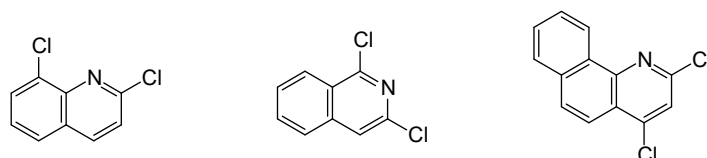
Procedimento geral para a síntese de compostos alvo a partir de análogos de piridina haleto-substituída

#### Esquema 1



[000199] O material de partida dissolvido em etanol e hidrazina

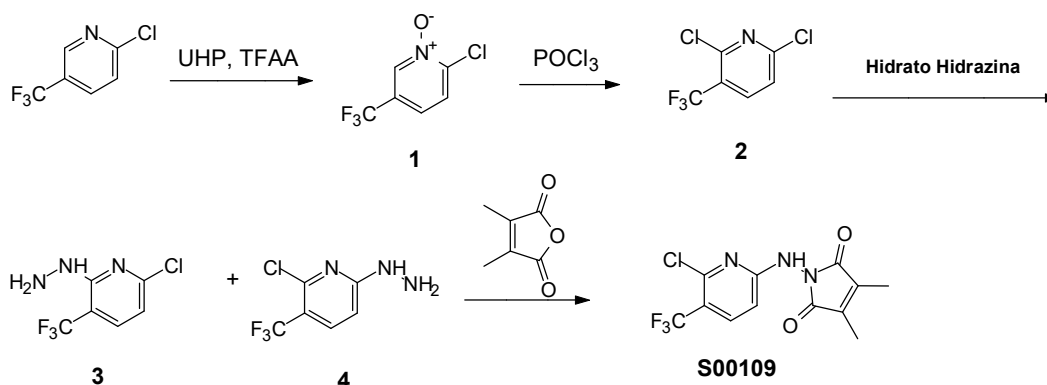
hidratada (10,0eq) foi adicionado para formar uma mistura, a mistura foi agitada a 50-60°C (temperatura do óleo) por várias horas (o término foi verificado por TLC), o solvente foi evaporado, água foi adicionada e a mistura resultante foi extraída com acetato de etila, secada e concentrada para formar uma preparação bruta que foi usada sem purificação posterior para a etapa seguinte. A preparação bruta foi dissolvida em clorofórmio (ou tolueno, ácido acético, ou um outro solvente adequado), anidrido foi adicionado (1,0eq), a mistura foi aquecida a 50-60°C (temperatura do óleo) por várias horas (o término foi verificado por TLC), o solvente foi evaporado, e a preparação foi purificado por Prep-TLC para dar o composto-alvo.



[000200] Os materiais de partida eram compostos comercialmente disponíveis, de modo que a via de síntese dos compostos S00585, S01098, S01207 foi similar ao procedimento geral.

### Composto S00109

#### Esquema 2



#### Intermediário 1

[000201] 2-Cloro-5-trifluormetila-piridina (10mmols) foi dissolvida em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20mL) e UHP (composto de adição ureia-peróxido de hidrogênio, 21mmols) foi adicionado. A mistura foi resfriada para 0°C,

anidrido trifluoracético (20mmols) foi então lentamente adicionado à mistura reacional. A mistura foi deixada esquentar até a temperatura ambiente e foi agitada até a reação estar completa monitorada por TLC. A reação foi resfriada bruscamente com Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aquoso, agitada por 4 horas, lavada com NaHCO<sub>3</sub> aquoso saturado, e secada em MgSO<sub>4</sub> anidro. Cromatografia em coluna deu 1,8g de composto 1 como um óleo.

#### Intermediário 2

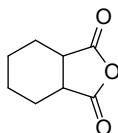
[000202] 1 (4mmols) foi dissolvido em POCl<sub>3</sub> recém-destilado (4,5mL). A mistura reacional foi aquecida até 80°C por 17 horas. Depois de esfriar para a temperatura ambiente, o solvente foi removido à pressão reduzida. Gelo foi adicionado, e a mistura foi deixada repousar por 4 horas. A mistura foi distribuída entre CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) e NaHCO<sub>3</sub> aquoso saturado. Cromatografia em coluna deu o composto 2 como um óleo amarelo (rendimento: 50%).

#### Intermediário 4

[000203] À solução de 2 (2g, 9,26mmols) em etanol (30mL) foi adicionada hidrazina hidratada (2,9g, 46mmols). A mistura reacional foi agitada por 4 horas à temperatura ambiente, e em seguida concentrada para remover o solvente, e acetato de etila foi adicionado, e a mistura foi lavada com água. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Cromatografia em coluna (Sílica, éter de petróleo/acetato de etila = 4/1~3/1) deu o composto 4 como um sólido branco (rendimento: 56%) e um outro isômero 3 (rendimento: 18%).

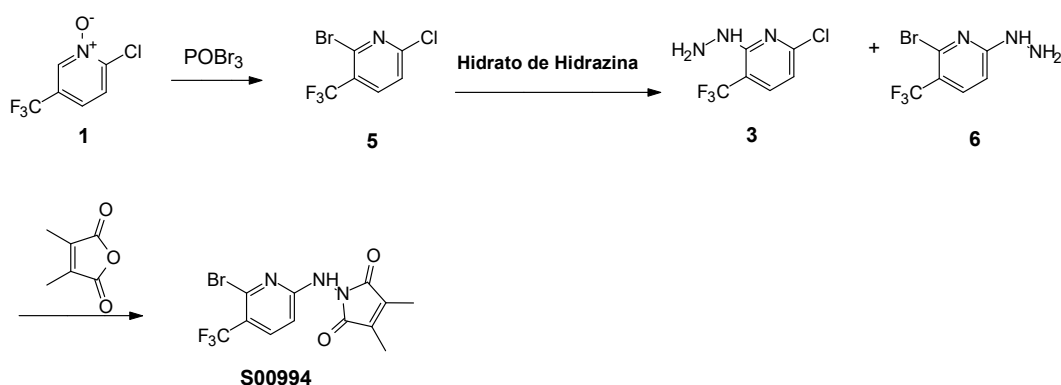
#### Composto S00109

[000204] O procedimento de síntese foi similar ao procedimento geral.



Composto S00186

[000205] O material de partida (anidrido) foi um material comercialmente disponível, de modo que a via de síntese dos compostos S00186 foi similar ao procedimento geral (o anidrido reage com o intermediário 4).

Composto S00994Esquema 3Intermediário 5

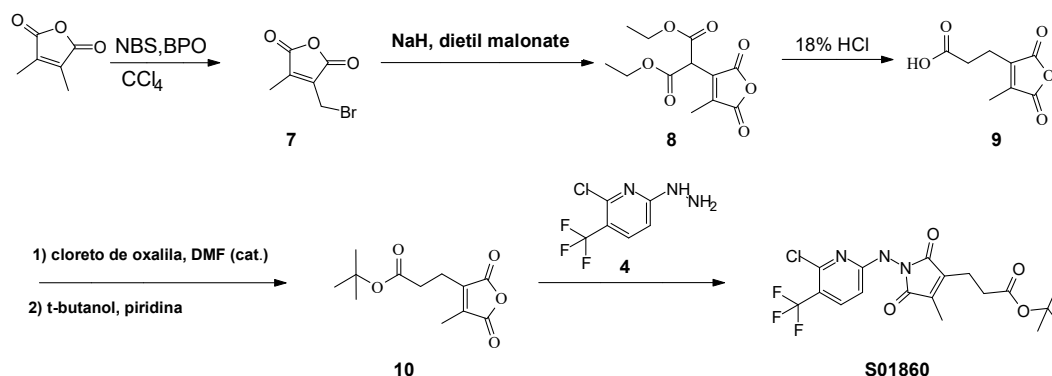
[000206] 1 (4mmols) foi dissolvido em POBr<sub>3</sub> recém-destilado (4,5mL). A mistura reacional foi aquecida até 80°C por 17 horas. Depois de esfriar para a temperatura ambiente, o solvente foi removido à pressão reduzida. Gelo foi adicionado, e a mistura foi deixada repousar por 4 horas. A mistura foi distribuída entre CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50mL) e NaHCO<sub>3</sub> aquoso saturado. Cromatografia em coluna deu o composto 5 como um óleo amarelo (rendimento: 50%).

Intermediário 6

[000207] Hidrazina hidratada foi adicionada à solução de 5 em etanol. A mistura reacional foi agitada por 4 horas à temperatura ambiente, e em seguida concentrada para remover o solvente, acetato de etila foi adicionado, e a mistura foi lavada com água. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Cromatografia em coluna (Sílica, éter de petróleo/acetato de etila = 4/1~3/1) deu o composto 6 como um sólido branco.

Composto S00994

[000208] O procedimento de síntese foi similar ao procedimento geral.

Composto S01860Esquema 4Intermediário 7

[000209] Uma solução de material de partida (5,0g, 0,040mol), NBS (10,6g, 0,059mol), BPO (296mg) em 300ml de  $\text{CCl}_4$  foi agitada ao refluxo por 5 horas. A mistura reacional foi então resfriada para a temperatura ambiente, e mais uma porção de BPO (296mg) foi adicionada, e a reação foi agitada ao refluxo por mais 5 horas. A mistura reacional foi então mantida à temperatura ambiente por uma noite. Em seguida ela foi filtrada e o resíduo foi lavado (3) três vezes com  $\text{CCl}_4$ , e a camada orgânica combinada foi lavada com água e salmoura, e em seguida secada e concentrada e purificada por cromatografia em coluna (PE:EA=4:1) para dar o produto bruto que foi então purificação por destilação. A segunda fração obtida a  $128^\circ\text{C}\sim 135^\circ\text{C}$  (3mmHg) foi o intermediário 7.

Intermediário 8

[000210] À pasta fluida de hidreto de sódio (60mg, 1,5mmol) em benzeno (5mL), dietilmalonato (320mg, 2,0mmols) foi adicionado em gotas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi agitada por 5 minutos, e em seguida uma solução de 7 (210mg, 1,0 mmol) em benzeno (5mL) foi adicionada. A mistura foi agitada à temperatura

ambiente por mais 8 horas. Em seguida a mistura foi acidificada com HCl diluído e extraída com EtOAc(2×15mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água, salmoura e secadas em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Concentração das camadas orgânicas a vácuo seguida de purificação do resíduo por cromatografia em coluna de sílica-gel (éter de petróleo : EtOAc = 4:1) deu o produto como um óleo grosso. O rendimento foi de 200mg,(74,0%).

#### Intermediário 9

[000211] Uma solução de 8 (80mg, 0,3mmol) em cloridrato diluído (2mL, 18%) foi refluxada com agitação por 12 horas. A mistura reacional foi resfriada para a temperatura ambiente, e saturada pela adição de cloreto de sódio sólido. A camada aquosa filtrada foi extraída com EtOAc, secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada para dar um ácido puro. O rendimento foi de 50mg (90,6%).

#### Intermediário 10

[000212] A uma solução agitada de 9 (0,46g, 2,5mmols) e duas gotas de DMF em DCM(10ml) foi adicionado cloreto de oxalil (0,48g, 3,75mmols) em gotas. A mistura foi agitada à temperatura ambiente (temperatura do óleo 20-30°C) por duas horas, e em seguida o solvente foi evaporado. O resíduo e terc-butanol (0,22g, 3mmols) foram dissolvidos em 10ml de DCM, piridina (0,3g, 3,75mmols) foi adicionada a esta solução em gotas à temperatura ambiente. A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente por uma hora. NH<sub>4</sub>Cl saturado foi adicionado para resfriar bruscamente a reação, o pH foi ajustado em 2 com HCl 1N e a reação foi extraída com acetato de etila, e a camada orgânica combinada foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada e evaporada. O resíduo foi purificado por cromatografia rápida para dar 10 como um sólido branco (0,42g, 70%).

#### Composto S01860

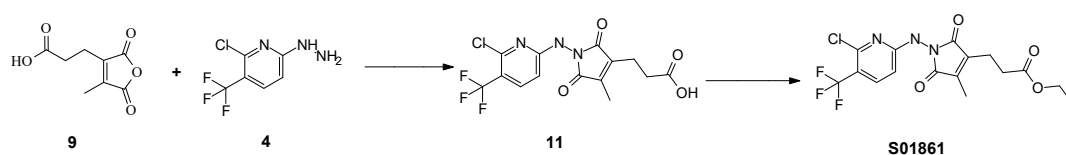
[000213] Os Intermediários 10 (119mg, 0,45mmol) e 4 (95mg,



0,49mmol) foram adicionados a 5ml de DCM e a mistura foi refluxada por uma noite, e em seguida o solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por Prep-TLC para dar o produto. (Rendimento = 150mg, 77%)

### Composto S01861

#### Esquema 5



#### Intermediário 11

[000214] 9 (1,0g, 5,43mmols) e 4 (1,15g, 5,43mmols) foram dissolvidos em 20ml de clorofórmio e refluxados por 48 horas, e em seguida o solvente foi evaporado e o resíduo foi recristalizado para dar 11 (1,4g, 68,2%).

### Composto S01861

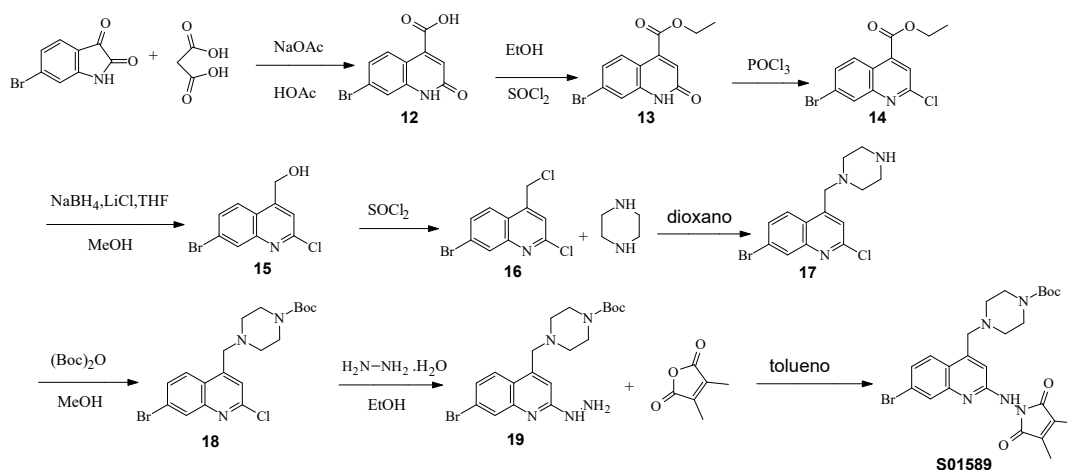
[000215] O Intermediário 11 (15mg, 0,04mmol), EDCI (45mg, 0,24mmol), Et<sub>3</sub>N (1 drop) e etanol (1mL) foram agitados à temperatura ambiente por cerca de 3 horas. Em seguida o solvente foi removido a vácuo. O produto foi separado por Prep-TLC. O rendimento foi de 12mg (76,7%).

### Compostos S01648, S01796, S01711, S01758, S01883, e S01759

[000216] A via de síntese dos compostos S01648, S01796, S01711, S01758, S01883, e S01759 foi similar àquela do composto S01861, isto é, intermediário 11 acoplado a diferentes compostos químicos).

### Composto S01589

#### Esquema 6



### Intermediário 12

[000217] A mistura de material de partida (6,5g, 28,7mmols), ácido malônico (3,3g, 31,7mmols), HOAc (60ml), NaOAc (2,95g, 36mmols) foi agitada à temperatura ambiente. Depois de 6 - 7 horas, NaOAc (2,95g, 36mmols) foi adicionado, e em seguida a mistura foi refluxada por uma noite. Depois de esfriar, a mistura foi filtrada e o filtrado foi lavado com água e acetato de etila, e então secado à pressão reduzida. Foram coletados 5g de sólido castanho fino (rendimento = 65,4%).

### Intermediário 13

[000218] Quatro (4) ml de SOCl<sub>2</sub> foram adicionados em gotas a uma suspensão de composto 12 e EtOH, em um banho de gelo, e a mistura foi agitada por 30 minutos à temperatura ambiente, e em seguida refluxada por 6 horas. Depois de esfriar, a mistura foi filtrada e lavada com EtOH gelado, e secada a vácuo para obter 5,25 g de um pó cinza pálido (rendimento = 95%)

### Intermediário 14

[000219] Uma mistura de composto 13 e POCl<sub>3</sub> (15ml) foi agitada à temperatura ambiente por 15 minutos, e em seguida refluxada por 2 horas. A mistura foi concentrada a vácuo. O resíduo foi resfriado bruscamente com água fria e extraído com acetato de etila, lavado com NaHCO<sub>3</sub> saturado e salmoura, secado em MgSO<sub>4</sub>, concentrado e

4,68 g de um sólido castanho e fino foram coletados.

#### Intermediário 15

[000220] A uma solução de THF e MeOH, composto 14 (4,68g, 14,9mmols) e LiCl foram adicionados com um banho de sal gelado, e NaBH<sub>4</sub> foi adicionado aos poucos. Depois da adição, a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente, verificada por TLC, concentrada a vácuo, e HCl diluído foi adicionado lentamente ao resíduo em um banho de gelo até a mistura atingir o pH 7. A mistura foi então extraída com acetato de etila e lavada com soluções saturadas de NaHCO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, NaCl (em sequência), secada em MgSO<sub>4</sub>, concentrada, e 4,15g de um sólido castanho e fino foram coletados.

#### Intermediário 16

[000221] O composto 15(4,15g) foi dissolvido em SOCl<sub>2</sub> e a refluxado durante a noite. O solvente foi evaporado, água foi adicionada ao resíduo, a mistura foi extraída com acetato de etila, a camada orgânica combinada foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, o solvente foi evaporado, e 4,0 g de composto 16 foram coletados.

#### Intermediário 17

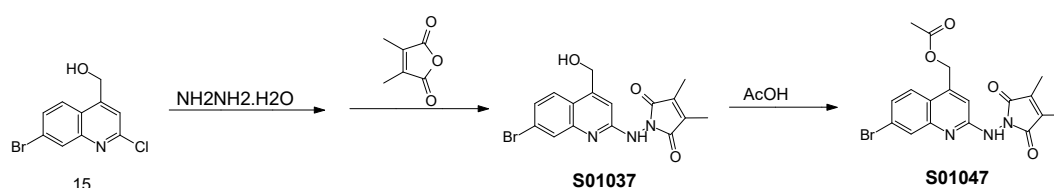
[000222] O composto 16(200mg, 0,69mmol) foi dissolvido em dioxano, e piperazina anidra (177mg, 2,05mmols) foi adicionada, e a mistura foi agitada por uma noite. A mistura foi filtrada, o filtrado foi concentrado a vácuo, e 250 mg de produto bruto foram coletados.

#### Intermediário 18

[000223] Uma solução de dicarbonato de di-terc-butila (0,246g, 1,13mmol) em MeOH foi adicionada em gotas ao composto 17 (0,35g, 1,03mmol) em MeOH à temperatura ambiente. A mistura reacional foi agitada por uma noite à temperatura ambiente. O solvente foi evaporado, o resíduo foi extraído da maneira usual descrita acima, e o extrato foi purificado por cromatografia em coluna (EA:PE=1:10). O produto foi obtido como um sólido branco.

Composto S01589

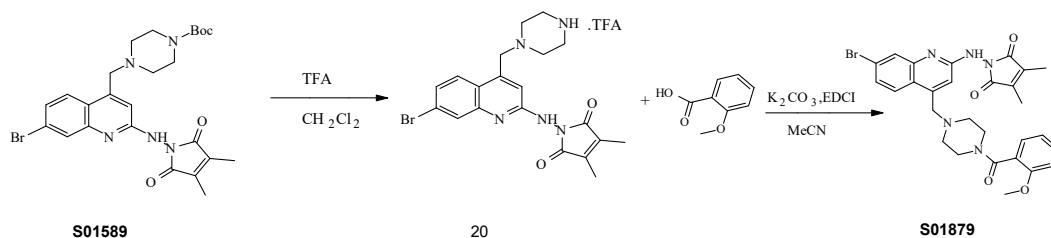
[000224] O procedimento de síntese a partir do intermediário 18 para dar o composto S01589 foi similar ao procedimento geral descrito neste relatório.

Compostos S01037 e S01047Esquema 7Composto S01037

[000225] O procedimento de síntese a partir do intermediário 15 para dar o composto S01037 é similar ao procedimento geral.

Composto S01047

[000226] O material de partida (0,145g, 0,54mmol) foi dissolvido em 5ml de ácido acético e a mistura foi aquecida com refluxo por 1 hora, e em seguida evaporada e purificada por Prep-TLC (éter de petróleo: acetato de etila=1:1) para dar o produto.

Composto S01879Esquema 8Intermediário 20

[000227] O material de partida (50mg, 0,09mmol) foi dissolvido em 5ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e TFA (5ml) foi adicionado em gotas à mistura agitada em um banho de gelo. A mistura resultante foi agitada por 1 hora à temperatura ambiente e verificada por TLC. O solvente foi evaporado para dar o produto como um sólido amarelo que foi usado sem

purificação posterior. (40mg).

#### Composto S01879

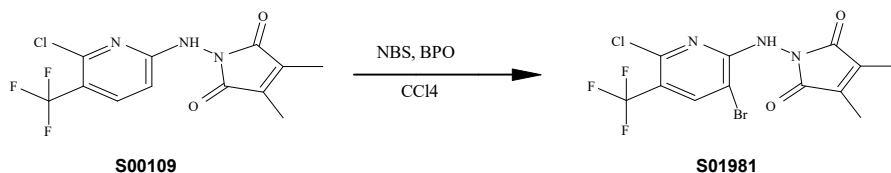
[000228] O composto 20 foi dissolvido em MeCN, e  $K_2CO_3$ (3eq) foi adicionado, e depois disso a mistura foi agitada por cerca de 30 minutos, e ácido benzoico (1 eq.) e EDCI (2eq) foram adicionados e a mistura foi agitada por uma noite, e em seguida concentrada e tratada da maneira usual descrita acima. A preparação final foi purificada em placa de TLC preparatória e o produto foi obtido como um sólido amarelo e fino.

Compostos S01925, S01878, S01877, S01699, S01800, S01801, S01822, S01880, S01683, S01928, S01929

[000229] A via de síntese dos compostos S01925, S01878, S01877, S01699, S01800, S01801, S01822, S01880, S01683, S01928, S01929 foi similar àquela do composto S01879 (intermediário 20 acoplado a diferentes compostos químicos).

#### Composto S01981

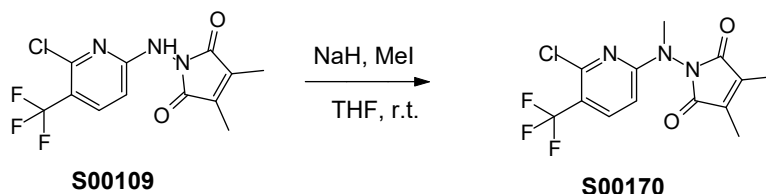
##### Esquema 9



[000230] O material de partida (100mg, 0,314mmol) foi dissolvido em  $CCl_4$ , NBS (112mg, 0,629mmol) e BPO (1,5mg, 0,0062mmol) foram adicionados, e a mistura foi refluxada por cerca de 4 horas. A mistura reacional foi resfriada bruscamente com água, extraída com acetato de etila, a camada orgânica foi lavada com salmoura, secada em  $MgSO_4$  e concentrada a vácuo, e em seguida purificada em placa de TLC preparatória para obter o produto.

#### Composto S00170

##### Esquema 10



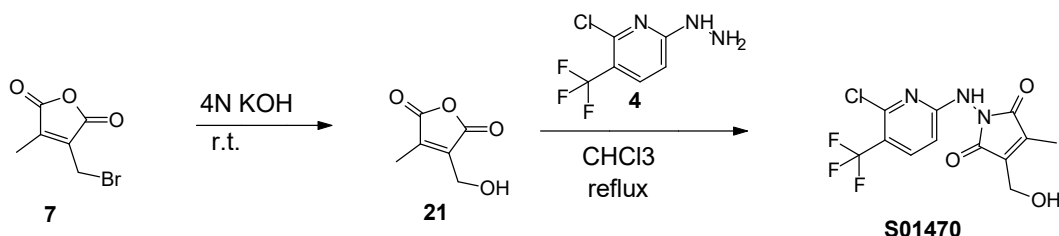
[000231] NaH (8mg, 0,12mmol) foi adicionado em gotas a uma solução de hidrazina (35mg, 0,117mmol) em THF (6mL), a 0°C. A mistura foi agitada por 30 minutos, e em seguida MeI (20mg) foi adicionado. A mistura reacional foi agitada por 2 horas à temperatura ambiente, e em seguida despejada em NH<sub>4</sub>Cl aquoso saturado; e extraída com CHCl<sub>3</sub>. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e em seguida cromatografia (PE/AE, 5/1) para obter o produto (3mg).

#### Compostos S01007, S01473

A via de síntese dos compostos S01007, S01473 foi similar àquela do composto S00170.

#### Composto S01470

#### Esquema 11

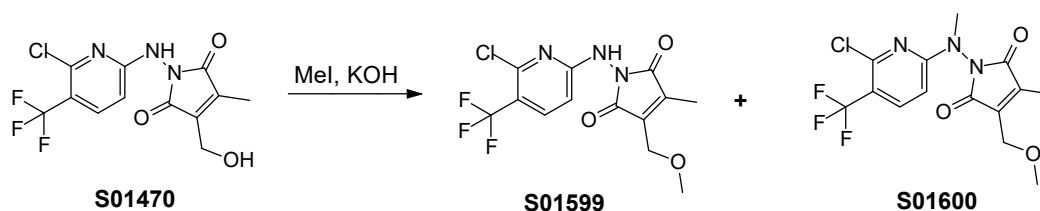


#### Intermediário 21

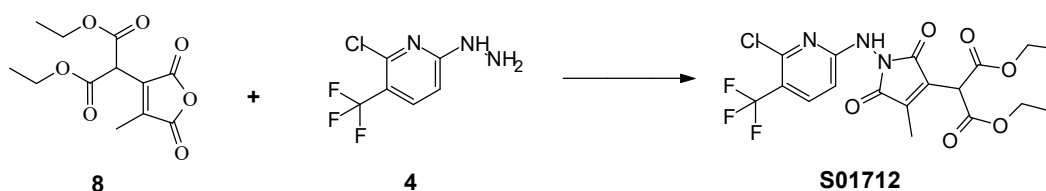
[000232] O composto 2 (1g, 4,9mmols) foi adicionado a uma solução gelada de KOH aquoso 4 N (5ml), e a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 5 horas. A mistura foi lentamente acidificada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N (5ml), e em seguida saturada com NaCl sólido e agitada à temperatura ambiente por 30 minutos. A camada aquosa foi extraída com acetato de etila e a camada orgânica foi lavada com salmoura e secada. A camada orgânica foi concentrada a vácuo e o concentrado foi aplicado à sílica-gel (PE:EA=1:1) para dar 355mg de produto.

Composto S01470

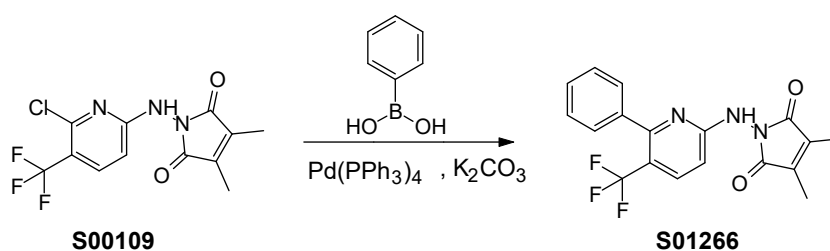
[000233] O procedimento de síntese foi similar ao procedimento geral.

Compostos S01599 e S01600Esquema 12

[000234] O material de partida (80mg, 0,24mmol), MeI (40uL, 0,64mmol), e KOH (30mg, 0,54mmol) em DMSO (5mL) foram agitados à temperatura ambiente por 1 hora, e em seguida a mistura foi diluída com EtOAc, lavada com água, salmoura, e secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido a vácuo e o resíduo foi purificado por Prep-TLC para obter dois compostos desejados.

Composto S01712Esquema 13

[000235] O procedimento de síntese foi similar ao procedimento geral.

Composto S01266Esquema 14

[000236] Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (16mg) foi adicionado a uma mistura de material

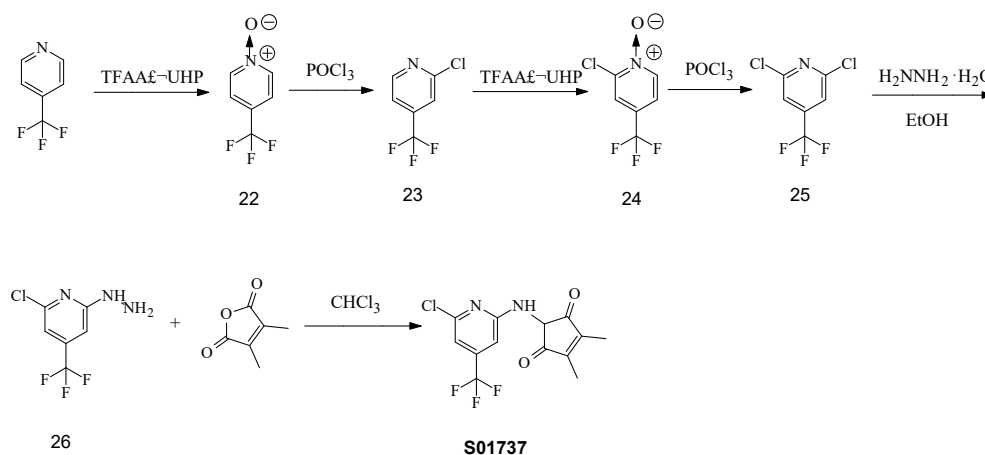
de partida (50mg, 0,14mmol), ácido benzenoborônico (19mg, 0,15mmol), carbonato de potássio (59mg, 0,43mmol) em 10ml de tolueno em uma atmosfera de nitrogênio. A mistura resultante foi refluxada por 16 horas, e depois disso o solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por TLC preparatória para dar 4mg de produto.

#### Compostos S01313, S01457, S01691, S01371, S01393, S01474

[000237] A via de síntese dos compostos S01313, S01457, S01691, S01371, S01393, S01474 foi similar àquela do composto S01266.

#### Composto S01737

##### Esquema 15



#### Intermediário 22

[000238] A piridina (500mg, 3,4mmols) foi dissolvida em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e UHP (700mg, 7,4mmols) foi adicionado, que foi resfriado para 0°C, e TFAA (1,43g, 6,8mmols) foi então lentamente adicionado à mistura reacional. Depois que TLC indicou que o material de partida havia sido consumido, seguiu-se tratamento de maneira usual para dar 420mg do composto-alvo.

#### Intermediário 23

[000239] O composto 22(420mg, 2,57mmols) foi dissolvido em POCl<sub>3</sub> (3ml), e em seguida aquecido a 90°C por uma noite. A mistura reacional foi resfriada bruscamente com água com cautela, extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavada com salmoura e secada em MgSO<sub>4</sub>, concentrada



a vácuo. Purificada por cromatografia sobre sílica-gel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :PE=1:3) e em seguida foram obtidos 300mg do composto-alvo.

#### Intermediário 24

[000240] A reação e o procedimento de tratamento foram os mesmos que aqueles para o intermediário 22, e 170mg composto-alvo foram obtidos.

#### Intermediário 25

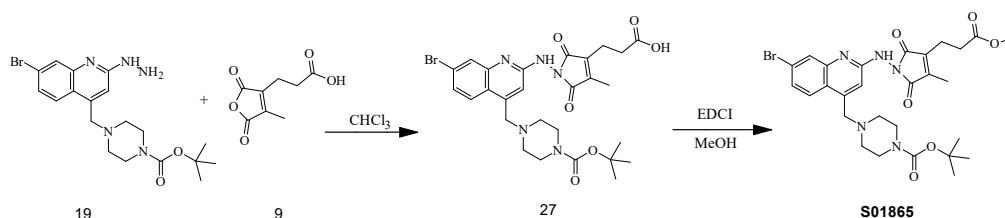
[000241] A reação e o procedimento de tratamento foram os mesmos que aqueles para o intermediário 23, e 120mg composto-alvo foram obtidos.

#### Composto S01737

[000242] O procedimento de síntese a partir do intermediário 25 para dar o composto-alvo foi similar ao procedimento geral.

#### Composto S01865

#### Esquema 16



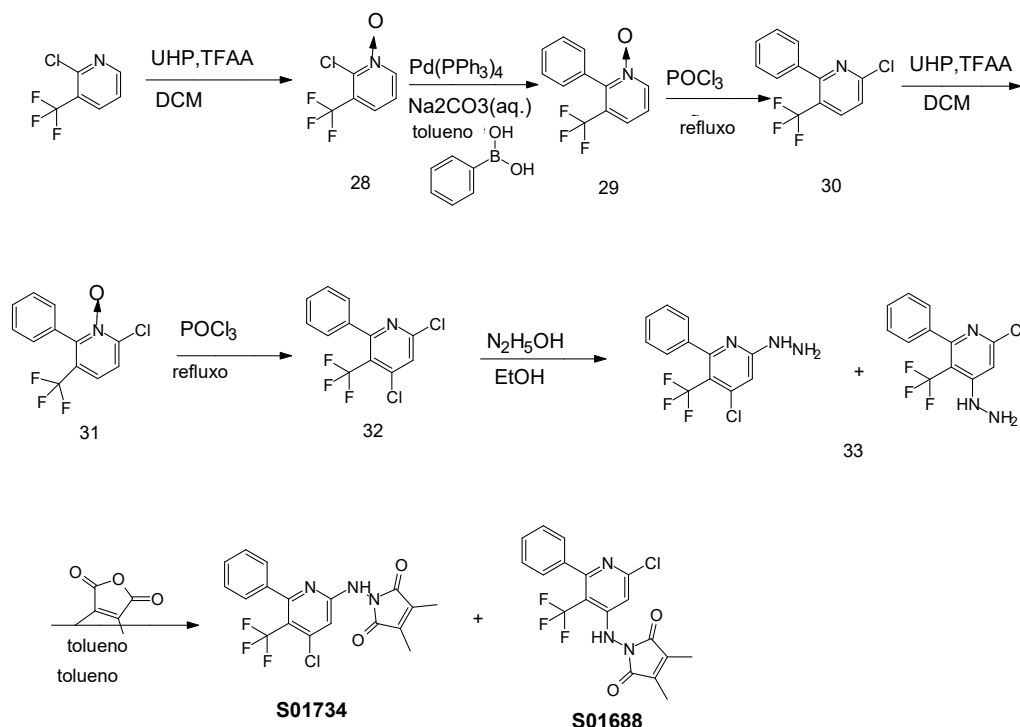
#### Intermediário 27

[000243] Dois materiais de partida foram dissolvidos em  $\text{CHCl}_3$  e refluxados por uma noite, e em seguida concentrados e purificados por cromatografia em coluna (EA:PE=1:1). O produto foi obtido como um sólido amarelo claro.

#### Composto S01865

[000244] O composto 27 foi dissolvido em MeOH anidro, EDCI foi adicionado, e em seguida a mistura foi agitada por uma noite. Concentrada a vácuo, tratada de maneira usual e purificada por Prep-TLC para dar o produto final como um sólido amarelo claro.

#### Compostos S01734 e S01688

Esquema 17Intermediário 28

[000245] A uma solução de material de partida (9,26g, ,05mol), UHP(9,9g,0,105mol) foi adicionado. Com banho gelado, TFAA (21g,0,100mol) foi adicionado em gotas. Depois da adição, a reação foi mantida à temperatura ambiente por 4 horas. Neutralizar a reação com Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (aq.) e a mistura foi extraída com DCM 3 vezes. A camada orgânica foi recolhida, secada e concentrada e purificada por cromatografia rápida (PE:EA=3:1) para dar o produto puro 8,1g.

Intermediário 29

[000246] Uma solução de composto 28(0,8g, 4,07mmols) e em 2ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(aq. 2N) e 3ml de tolueno foi agitada em uma atmosfera de N<sub>2</sub> e à temperatura ambiente. Em seguida Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> foi adicionado. A mistura foi agitada ao refluxo em uma atmosfera de N<sub>2</sub> por 3 horas. Em seguida o solvente foi removido a vácuo. O resíduo foi tratado com água e extraído com EA, e a fase orgânica foi recolhida, secada e concentrada para ser purificada por recristalização para dar,0,75g de um pó amarelo pálido.

Intermediário 31

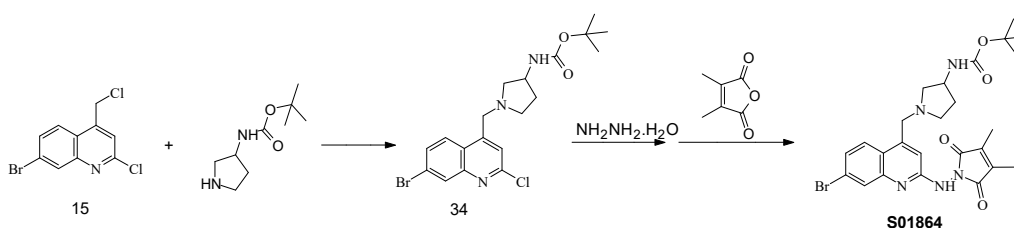
[000247] Uma solução de composto 29 (0,75g, 3,15mmols) em 5ml  $\text{POCl}_3$  e a mistura foi agitada ao refluxo por 5 horas. Em seguida a mistura reacional foi despejada em gelo e a camada aquosa foi extraída com acetato de etila 3 vezes. Em seguida a fase orgânica foi recolhida, lavada com solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e em seguida secada, concentrada e purificada por cromatografia em coluna para dar 800mg de intermediário 30, que foi dissolvido em 5ml de DCM e UHP, seguido de TFAA que foi adicionado à mistura acima em um banho de gelo. Em seguida a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por uma noite. Em seguida a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e a fase aquosa foi extraída com DCM 3 vezes. A fase orgânica foi recolhida, secada, concentrada e purificada por cromatografia em coluna (PE:EA=5:1) para dar 350mg de composto 31 puro.

Intermediário 32

[000248] Uma solução de composto 31(350mg, 1,28mmol) em 5ml de  $\text{POCl}_3$  foi agitada ao refluxo por 4 horas. Em seguida a mistura foi despejada em água gelada e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi lavada com uma solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e secada, concentrada e purificada para dar 180mg de composto 32 puro.

Compostos S01734 e S01688

[000249] O procedimento de síntese a partir do intermediário 32 para dar os compostos desejados foi similar ao procedimento geral.

Composto S01864Esquema 18

Intermediário 34

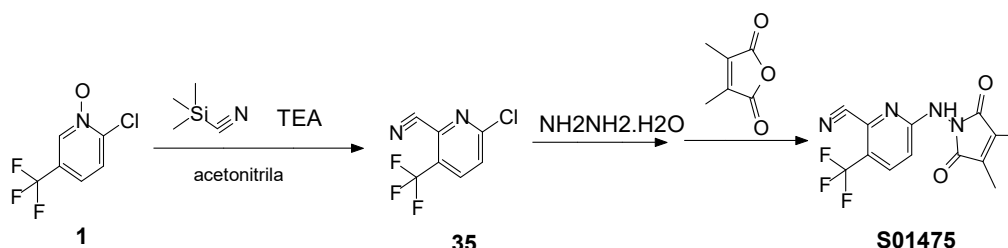
[000250] O material de partida e o intermediário 15 foram dissolvidos em acetonitrila e a mistura foi agitada à temperatura ambiente por uma noite, e em seguida filtrada e o solvente foi evaporado. O resíduo foi purificado por TLC preparatória para dar o produto.

Composto S01864

[000251] O procedimento de síntese a partir do intermediário 34 para dar o composto-alvo é similar ao procedimento geral.

Compostos S01268 e S01862

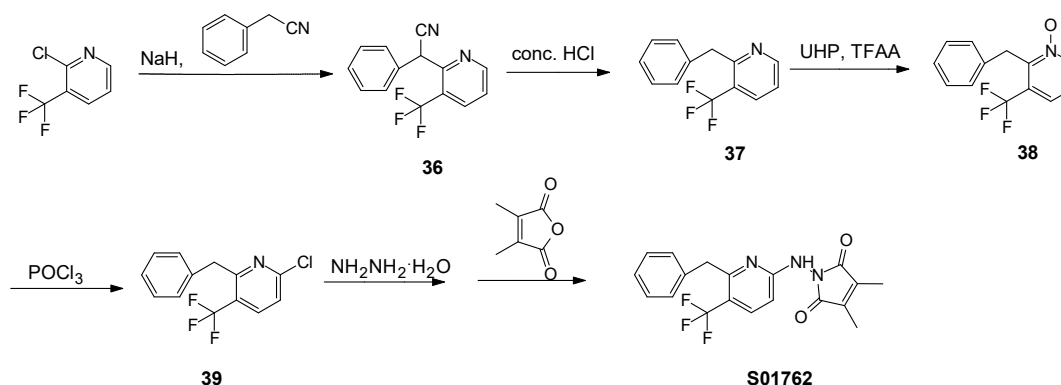
[000252] A via de síntese para os compostos S01268 e S01862 foi similar àquela para o composto S01864

Composto S01475Esquema 19Intermediário 35

[000253] Cianeto de trimetilsililo (7,44g, 75mmols, 10ml) foi adicionado a uma solução agitada de intermediário 35 (5,92g, 30mmols) e TEA (4,55g, 45mmols, 6,3ml) em 25ml de acetonitrila à temperatura ambiente. A mistura foi então aquecida até 110°C (temperatura do banho de óleo) por 12 horas, resfriada para a temperatura ambiente, e o solvente foi evaporado. DCM e NaHCO<sub>3</sub> saturado (aq.) foram adicionados e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporada. O resíduo foi lavado com éter e filtrado, e em seguida foi evaporado para dar o produto bruto como um óleo preto que foi então purificado por cromatografia rápida para dar o produto como um óleo amarelo. O rendimento foi de 4,4g (71%).

Composto S01475

[000254] O procedimento de síntese a partir do intermediário 35 para dar o composto S01475 foi similar ao procedimento geral.

Composto S01762Esquema 20Intermediário 36

[000255] Hidreto de sódio (0,264g, 6,6mmols, 60%) foi adicionado a uma solução agitada de cianeto de benzila (0,645g, 5,5mmols) em 10ml de DMF à temperatura ambiente. O material de partida (1,0g, 5,5mmols) foi adicionado à mistura depois de 30 minutos e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente por 2 horas. Salmoura foi adicionada para resfriar bruscamente a reação e a mistura foi extraída com acetato de etila. A camada orgânica combinada foi secada em sulfato de sódio anidro e evaporada. O resíduo foi purificado por cromatografia rápida (eluído com éter de petróleo:acetato de etila=8:1 a 5:1) para dar 0,475g de produto (rendimento = 33%).

Intermediário 37

[000256] O Intermediário 36 (0,15g, 0,57mmol) foi misturado com 5ml de HCl concentrado e a mistura foi refluxada por uma noite. Em seguida a mistura foi resfriada para a temperatura ambiente, 15 ml de água foram adicionados, o pH foi ajustado em 8-9 com carbonato de sódio, e a mistura foi extraída com acetato de etila (10ml). A camada

orgânica combinada foi secada em sulfato de sódio anidro e evaporada para dar 0,14g gramas de produto (rendimento = 100%), que foi usado sem purificação posterior na etapa seguinte.

#### Intermediário 38

[000257] O Intermediário 37 (0,14g, 0,57mmol) foi dissolvido em 5ml de DCM, em seguida UHP (0,17g, 1,77mmols) foi adicionado e depois disso, TFAA (0,36g, 1,71mmol, 0,24ml) foi adicionado em gotas com resfriamento em um banho de gelo. A mistura foi então aquecida até a temperatura ambiente e agitada por uma noite à mesma temperatura. Cinco (5 ml) de água foram adicionados e a mistura foi neutralizada com carbonato de sódio até pH 8-9 e em seguida extraída com DCM. A camada orgânica combinada foi secada em sulfato de sódio anidro e evaporada para dar 0,14g do produto bruto (rendimento = 95%), que foi usado sem purificação posterior na etapa seguinte.

#### Intermediário 39

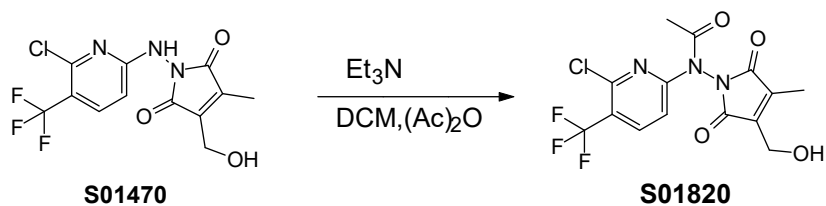
[000258] O Intermediário 38 (0,14g, 0,55mmol) foi dissolvido em 5ml de  $\text{POCl}_3$  e a mistura foi aquecida até 80-90°C por 2 horas. A mistura foi então resfriada para a temperatura ambiente, despejada em água gelada, e extraída com acetato de etila. A camada orgânica combinada foi lavada com  $\text{NaHCO}_3$  saturado, secada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e evaporada. O resíduo foi purificado por TLC preparatória para dar 0,13g de produto (rendimento = 87%).

#### Composto S01762

[000259] O procedimento de síntese a partir do intermediário 39 para dar o composto S01762 foi similar ao procedimento geral.

#### Composto S01820

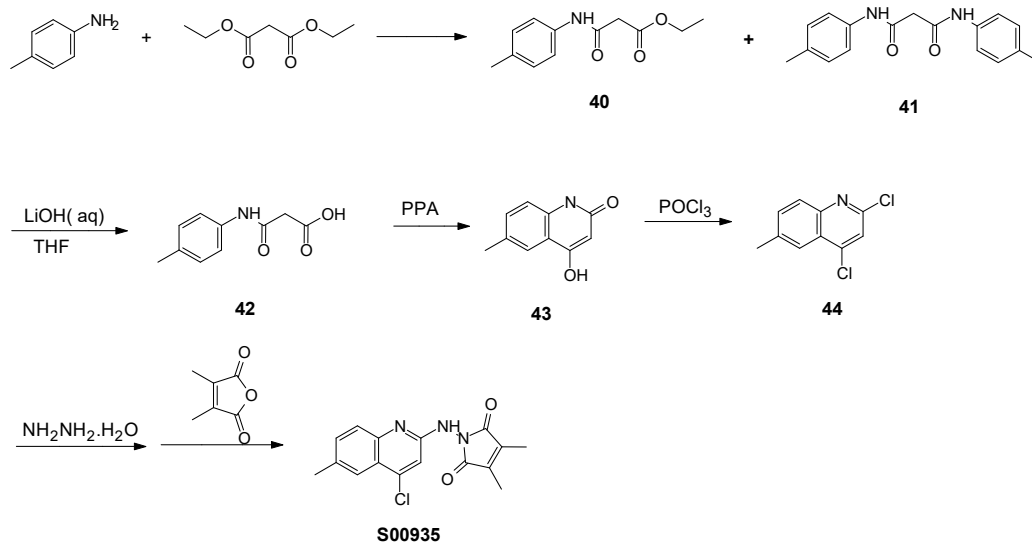
#### Esquema 21



[000260] Uma solução de S01470 em 3ml de DCM foi agitada à temperatura ambiente e Et<sub>3</sub>N foi adicionado. Em seguida Ac<sub>2</sub>O foi adicionado em um banho de gelo. A mistura reacional foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por uma noite. A reação foi então resfriada bruscamente e tratada da maneira usual como descrito acima. O resíduo foi purificado por prep-TLC (PE:EA=3:1) para dar o composto S01820 puro.

### Composto S00935

#### Esquema 22



#### Intermediário 40

[000261] O material de partida (9,08g, 84,4mmols) foi adicionado a 19,2ml de malonato de dietila, a mistura foi aquecida até 150°C (temperatura do banho de óleo) por 6 horas, evaporada, filtrada e lavada com acetato de etila para dar 3,7g de um sólido branco, que era o intermediário 41 (verificado por LC-MS), o filtrado foi evaporado, o resíduo foi resfriado para dar uma segunda batelada de sólido, lavado com uma solução de éter de petróleo: acetato de etila igual a

5:1, verificado por LC-MS, era o intermediário 40 (5,42g).

#### Intermediário 42

[000262] A uma solução agitada de intermediário 40(5,42g, 24,5mmols) em THF, 60ml de LiOH 2N foram adicionados e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente por 3 horas. O solvente foi evaporado, o resíduo foi lavado com acetato de etila, filtrado, e a torta foi adicionada a 10ml de HCl concentrado e agitada por 30 minutos, e em seguida a torta foi filtrada e secada para dar 3,1g de produto.

#### Intermediário 43

[000263] O Intermediário 42(3,1g, 16mmols) foi adicionado a 20ml de PPA e a mistura foi aquecida até 150°C por 4 horas. A mistura reacional foi despejada em água gelada com agitação, e em seguida filtrada, e a torta foi lavada com água e secada para dar 2,92g de produto.

#### Intermediário 44

[000264] O Intermediário 43(0,47g, 2,7mmols) foi adicionado a 10ml de POCl<sub>3</sub>, e a mistura foi aquecida com refluxo por 5 horas. A mistura resultante foi resfriada para a temperatura ambiente e despejada em água gelada, e em seguida extraída com acetato de etila. A camada orgânica combinada foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e evaporada para dar o produto bruto (0,45g) que foi usado sem purificação posterior.

#### Composto S00935

[000265] Do intermediário 43 ao composto S00935, o procedimento de síntese foi similar ao procedimento geral.

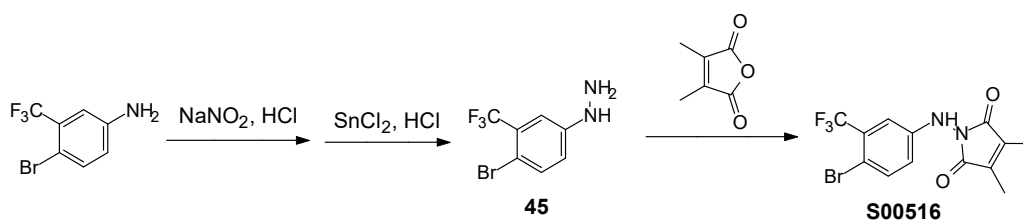
#### Compostos S00871, S01005, S01078, S01247, e S01311

[000266] A via de síntese dos compostos S00871, S01005, S01078, S01247, e S01311 é similar àquela do composto S00935.

#### Composto S00516

#### Esquema 23



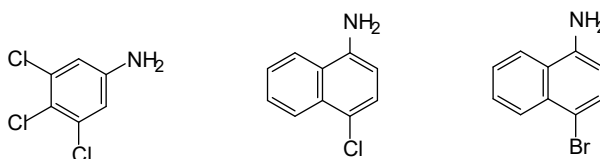


### Intermediário 45

[000267] O material de partida (0,08mol) foi adicionado a HCl concentrado (40mL). A mistura foi resfriada para  $-5^{\circ}\text{C}$  por gelo e sal com agitação. Em seguida nitrito de sódio (5,52g, 0,08mol) dissolvido em água (20mL) foi adicionado. A agitação continuou por 1 hora, e cloreto estanoso (30g) em HCl concentrado (30mL) foi adicionado lentamente durante um período de duas horas, enquanto a temperatura era mantida abaixo de  $0^{\circ}\text{C}$ . A mistura foi agitada por mais uma hora depois da adição e filtrada. O sólido filtrado foi tratado com hidróxido de sódio aquoso diluído e em seguida extraída com éter. A camada de éter foi lavada com água, e secada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. O solvente foi removido e o resíduo foi cristalizado a partir de hexano para dar o composto 45.

### Composto S00516

[000268] O procedimento de síntese é similar ao procedimento geral.

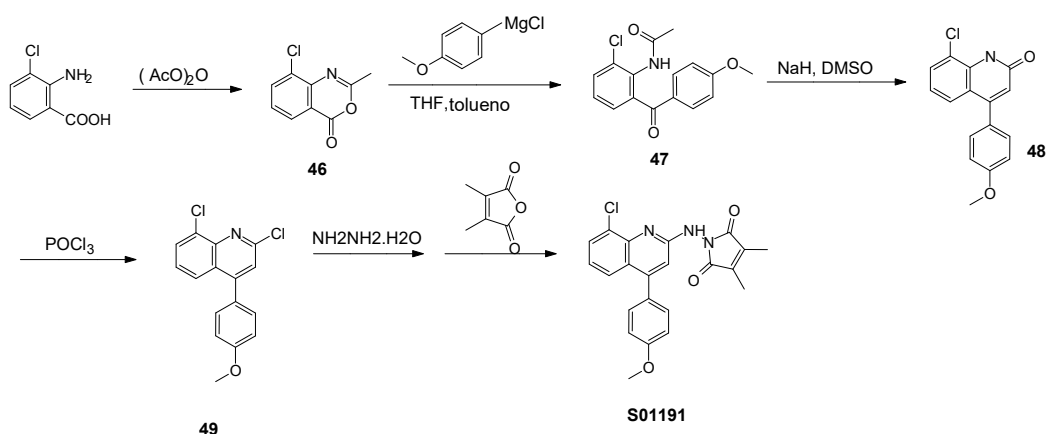


### Compostos S00738, S00832, S00942

[000269] Os materiais de partida encontram-se comercialmente disponíveis, de modo que a via de síntese dos compostos S00738, S00832, S00942 foi similar àquela do composto S00516.

### Composto S01191

### Esquema 24



### Intermediário 46

[000270] Uma mistura de ácido 2-amino-3-clorobenzoico (500 mg, 2,91 mmols) e anidrido acético (1,2 mL) foi aquecida com refluxo por 1 hora, e o excesso de anidrido acético foi removido a vácuo. O resíduo foi resfriado e tratado com éter dietílico para dar um precipitado em massa, que foi removido por filtração, lavado com éter frio e secado para dar 550 mg do produto desejado como um sólido amarelo pálido (rendimento = 97%).

### Intermediário 47

[000271] Em um frasco de três gargalos, que foi secado em forno e purgado com N<sub>2</sub>, foi adicionada uma pequena quantidade de I<sub>2</sub> a uma mistura de magnésio (59 mg, 2,47 mmols) em 0,5 mL de THF seco. Quando a mistura reacional ficou incolor, uma solução de 4-bromoanisol (440 mg, 2,35 mmols) em 1,5 mL de THF seco foi adicionada à mistura. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente até o Mg ser eliminado.

[000272] O reagente de Grignard de 4-bromoanisol em 2 mL de THF foi tratado com o composto 46 (460 mg, 2,35 mmols) em 4,5 mL tolueno seco a 0° C por 1 hora e a 30° C por mais 1 hora. A solução foi cuidadosamente acidificada com ácido sulfúrico diluído, e lavada com NaHCO<sub>3</sub> aquoso e água. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporada para dar um óleo. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica-gel (éter de petróleo/ acetato de etila = 4:1)

para dar 450 mg do produto desejado como um sólido marrom pálido (rendimento = 63%).

#### Intermediário 48

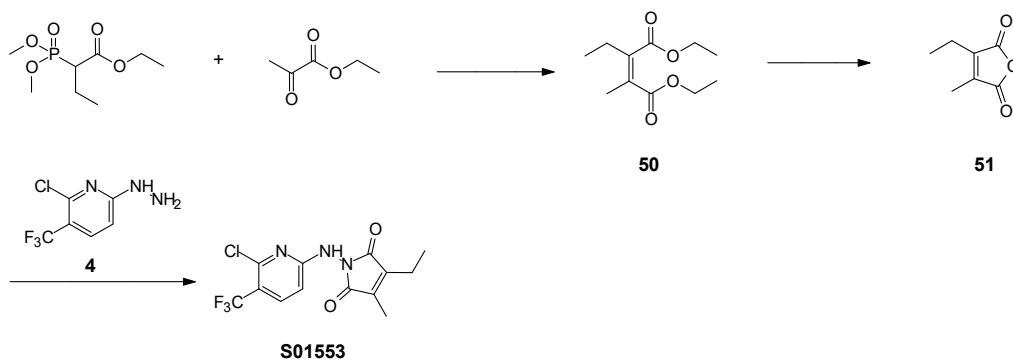
[000273] Uma mistura de composto 47 (400 mg, 1,32 mmol), NaH (60% em óleo, 316 mg, 13,20 mmols) em 1 mL de DMSO foi aquecida a 60-70°C por uma noite. A mistura reacional foi despejada em água gelada e extraída com acetato de etila, e em seguida lavada com água e salmoura. A camada orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporada até a secura. O resíduo foi recristalizado a partir de etanol para dar 80 mg do composto 48 desejado como um sólido castanho (rendimento = 21%).

#### Composto S01191

[000274] O procedimento de síntese a partir do intermediário 48 para dar o composto-alvo foi similar ao procedimento geral.

#### Composto S01553

#### Esquema 25



#### Intermediário 50

[000275] Uma solução de etila 2-(dimetoxifosforil)butanonato (1,0 g, 4,0 mmols) em 1,2-dimetoxietano (5 mL) foi adicionada a uma pasta fluida agitada de hidreto de sódio em 1,2-dimetoxietano (10 mL). Quando o desprendimento de hidrogênio cessou, piruvato de etila (480mg, 4,1mmols) em 1,2-dimetoxietano (5 mL) foi adicionado à solução. A mistura foi agitada a 50°C por uma noite. Em seguida a solução foi diluída com EtOAc (100 mL), lavada com água e salmoura,

e lavada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. O solvente foi removido a vácuo, e o resíduo foi purificado por cromatografia para dar o produto. O rendimento foi de 710 mg (87,2%)

#### Intermediário 51

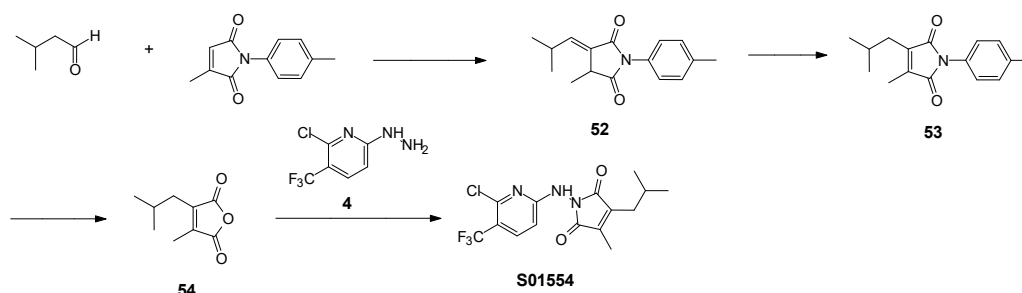
[000276] Uma solução de 2-etila-3-metilmaleato de dietila (75 mg, 0,35 mmol) em etanol (0,8 mL) foi adicionada em gotas a NaOH aquoso (2M, 0,4mL) em gotas. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 minutos, e em seguida diluída com água (10 mL) e lavada com éter (5 mL). A camada aquosa foi acidificada com HCl aq. a 5%, e em seguida extraída com EtOAc. A camada orgânica foi lavada com salmoura e secada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. O solvente foi removido a vácuo, e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. O rendimento foi de 41 mg (83,7%)

#### Composto S01553

[000277] O procedimento de síntese a partir do intermediário 51 para dar composto S01553 foi similar ao procedimento geral.

#### Composto S01554

#### Esquema 26



#### Intermediário 52

[000278] Uma mistura de citraconimida (200 mg, 1,0 mmol) e  $\text{PPh}_3$  (320 mg, 1,2 mmol) em AcOH glacial (7mL) foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora. Isovaleraldeído (160  $\mu\text{L}$ , 1,5 mmol), foi adicionado e a mistura reacional foi refluída com agitação por 24 horas. HOAc foi removido por destilação a vácuo, o resíduo foi dissolvido em EtOAc (30mL), e a camada orgânica foi lavada com  $\text{H}_2\text{O}$ , salmoura e secada em

NaSO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido a vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. Rendimento: (90 mg, 35,0%)

#### Intermediário 53

[000279] A uma solução agitada de 52 (90 mg) em THF (2 mL) foi adicionado Et<sub>3</sub>N (0,4 mL). A mistura reacional foi refluxada por 48 horas, e em seguida foi concentrada a vácuo. O resíduo foi dissolvido em EtOAc e a camada orgânica foi lavada com água, salmoura e secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido a vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. Rendimento: (85 mg, 94,4%).

#### Intermediário 54

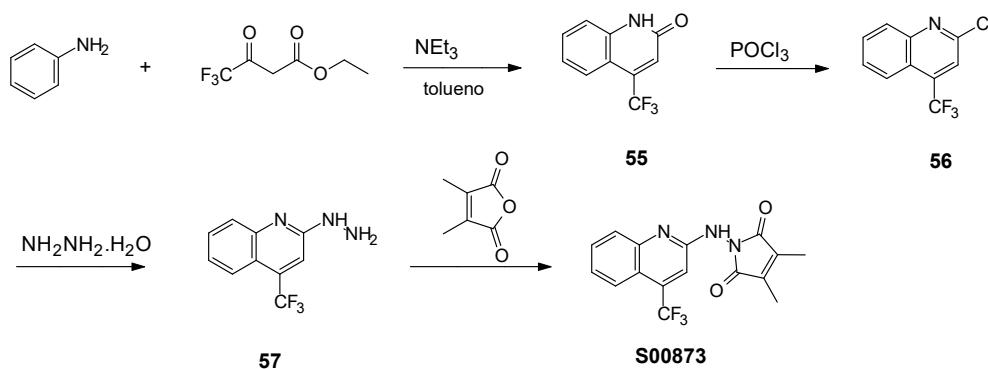
[000280] À solução de 53 (50 mg, 0,19 mmol) em THF (0,3 mL) e MeOH (0,6 mL) foi adicionado KOH aq. (1mL, 30%) e a mistura reacional foi refluxada por 12 horas com agitação. Em seguida a mistura resultante foi concentrada a vácuo, o resíduo obtido foi acidificado com HCl aquoso diluído e extraído com EtOAc (20 mL). A camada orgânica foi lavada com água, salmoura e secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O solvente foi removido a vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. Rendimento: (26 mg, 81,3%).

#### Composto S01554

[000281] O procedimento de síntese a partir do intermediário 54 para dar o composto S01554 foi similar ao procedimento geral.

#### Composto S00873

#### Esquema 27



Intermediário 55

[000282] A uma solução do éster (5,46 mmols) e trietilamina (101 g, 10,86 mmols) em tolueno (5 mL) foi adicionada uma solução de anilina (6,52mmols) em tolueno (2 mL) à temperatura ambiente. A mistura reacional foi refluxada até a reação terminar. Depois de tratamento, foi obtido o composto 56, que era suficientemente puro para ser usado na etapa seguinte.

Intermediário 57

[000283] A mistura de 55 e  $\text{POCl}_3$  (5 mL) foi refluxada por 5 horas, e em seguida despejada em água gelada. O extrato de étere foi lavado com salmoura e secado em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, e em seguida concentrado para dar o composto 56, que foi usado diretamente na etapa seguinte.

[000284] A mistura de 56 e hidrazina hidratada em 5 mL de etanol foi refluxada por várias horas até o material de partida desaparecer. Depois de tratamento, foi obtido o composto 57.

Composto S00873

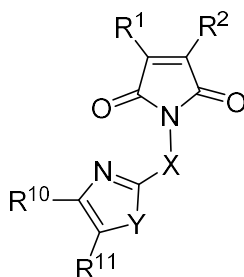
[000285] O procedimento de síntese a partir do intermediário 57 para dar o composto S00873 foi similar ao procedimento geral.

Composto S01455

[000286] A via de síntese do composto S01455 é similar àquela do composto S00873.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula de estrutura (III):



(III)

em que:

$R^1$  e  $R^2$  são independentemente selecionados de C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, C1 a C6 alcóxi opcionalmente substituído, C1 a C6 alquiltio opcionalmente substituído, halogênio, arila opcionalmente substituída, arilóxi opcionalmente substituído, ariltio opcionalmente substituído, e H;

X é  $NR^3$ ;

Y é S;

$R^3$  é H, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, ou C1 a C6 acila opcionalmente substituída; e

$R^{10}$  e  $R^{11}$  são independentemente selecionados a partir de H, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, halogênio, arila opcionalmente substituída, heteroarila opcionalmente substituída, C1 a C6 alcoxi opcionalmente substituído, ariloxi opcionalmente substituído, ciano, nitro, C1 a C6 alquiltio opcionalmente substituído, C1 a C6 alquilsufinila opcionalmente substituída, C1 a C6 alquilsulfonila opcionalmente substituída, ariltio opcionalmente substituído, C1 a C7 acila opcionalmente substituída, amino opcionalmente substituído, carboxila, C1 a C6 alcoxicarbonila opcionalmente substituída, e carbamoila opcionalmente substituída, ou  $R^{10}$  e  $R^{11}$  são parte de um grupo alquilenos cíclico que forma um anel fundido com a estrutura

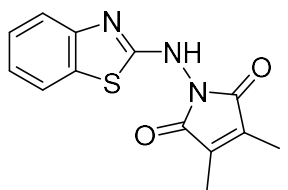
heterociclada,

em que exceto para "carbomoila opcionalmente substituída", "substituído" ou "opcionalmente substituído" refere-se à substituição por um ou mais substituintes selecionados dentre grupos halo, C3 a C7 cicloalquila, arila, heteroarila, C1 a C6 alcoxi, ariloxi, hidroxí, amino opcionalmente substituído, amino cíclico opcionalmente substituído, nitro, tio, ciano, oxo, C1 a C7 acila, C1 a C7 aciloxi, carboxi, C1 a C7 alcóxicarbonila, carbamoila opcionalmente substituída, aminocarbonila cíclica,  $\beta$ -mercapto, C1 a C4 alquiltio, C1 a C4 alquilsulfinila, ou C1 a C4 alquilsulfonila;

em que "arila" e "arila substituída" incluem arila carbocíclica, arila heterocíclica, arila monocíclica, arila policíclica e arila fundida com anéis não arila, em que os sistemas de anel contêm 5-12 átomos de anel em cada anel e o grupo heterocíclico contém pelo menos um heteroátomo de anel selecionado de oxigênio, enxofre e nitrogênio, e

em que "carbomoila opcionalmente substituída" inclui substituição por um ou dois substituintes independentemente selecionados de fenila, fenila substituída, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, C2 a C7 alquenila, C2 a C7 alquenila substituída, C2 a C7 alquinila, C2 a C7 alquinila substituída, C7 a C12 fenilalquila, C7 a C12 fenilalquila substituída, heteroarila, C1 a C6 alquila, C1 a C6 alquila substituída, C1 a C7 acila, C1 a C7 alcóxicarbonila, carbamoila opcionalmente substituída, C1 a C4 alquilsulfonila.

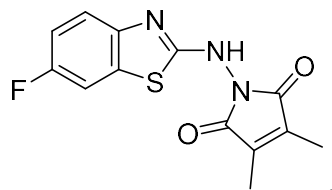
2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é:



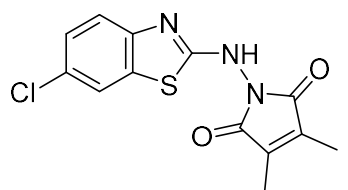
3. Composto, de acordo com a reivindicação 1,



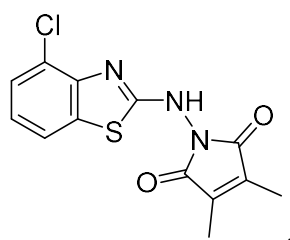
caracterizado pelo fato de que é:



4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é:



5. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é:



6. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, em combinação com um excipiente farmaceuticamente aceitável.

7. Uso de um composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que é na preparação de um medicamento para tratar câncer.

8. Uso de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o câncer é um linfoma.

9. Uso de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o câncer é um mieloma.

10. Uso de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a célula cancerígena é uma leucemia.

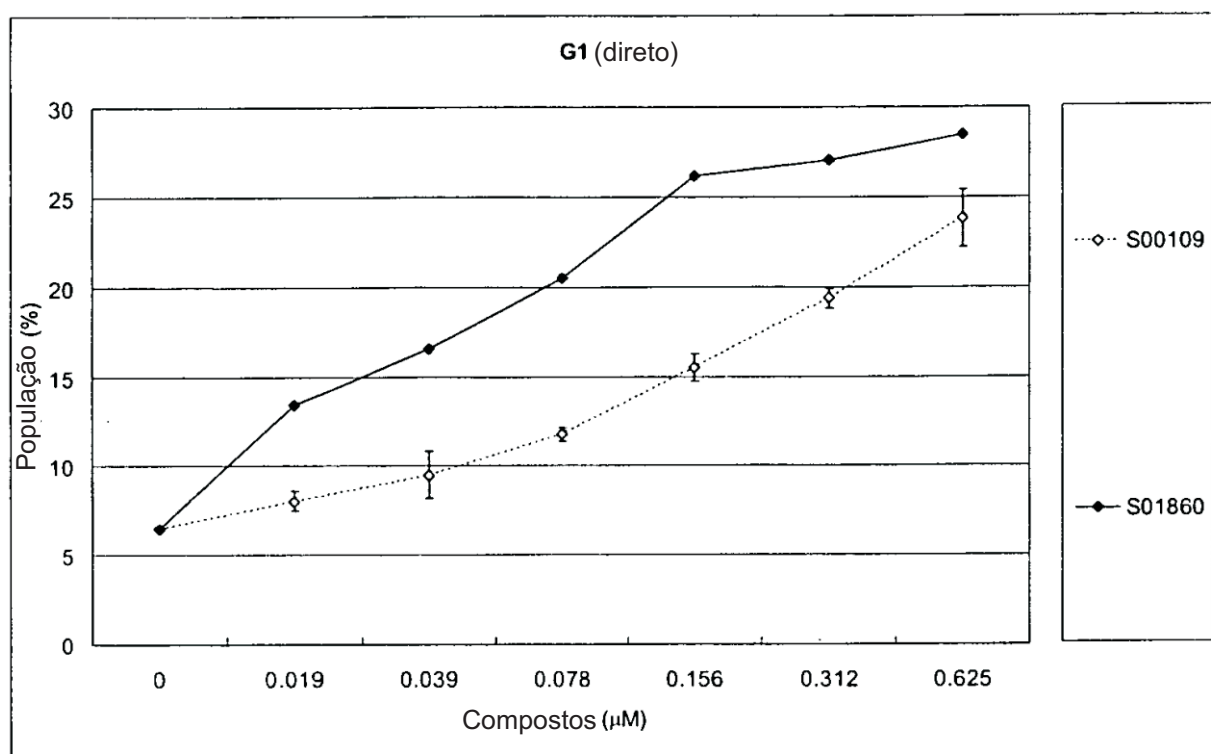


FIG. 1

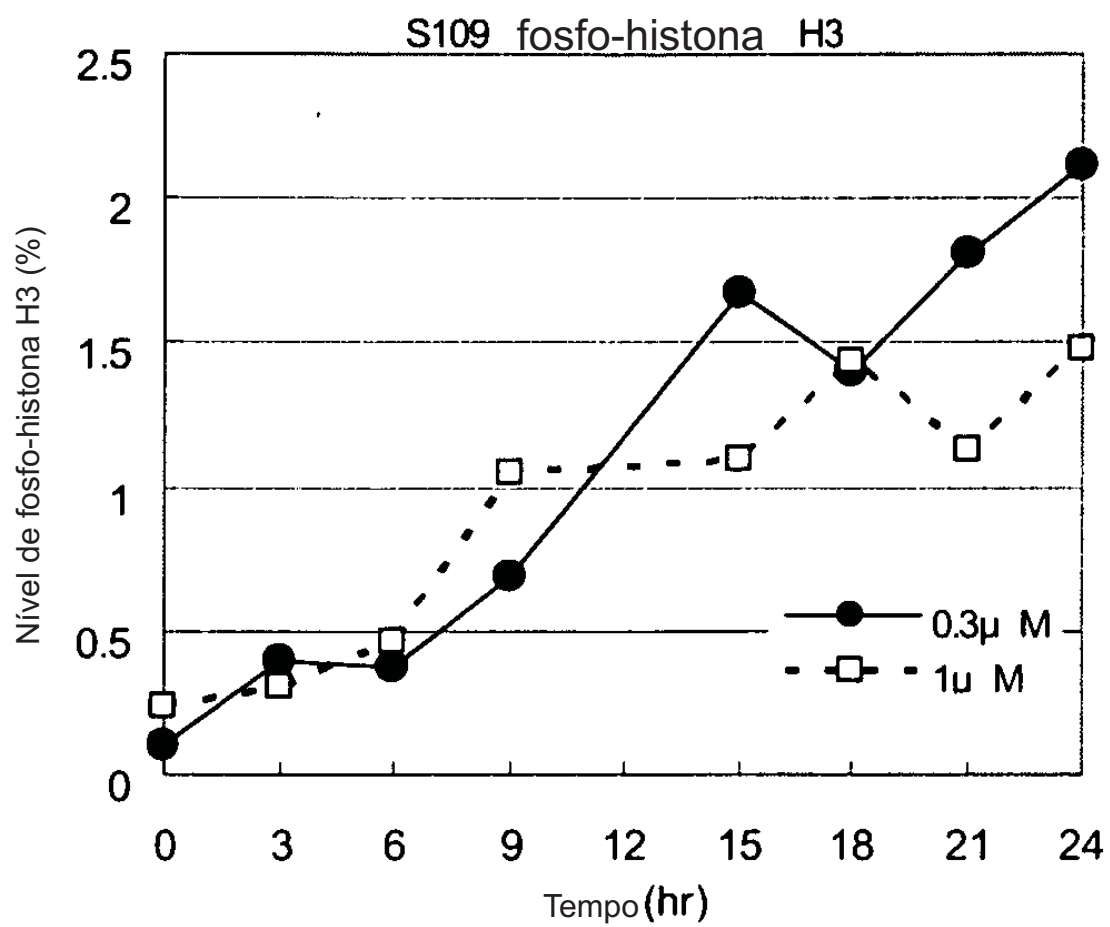


FIG. 2

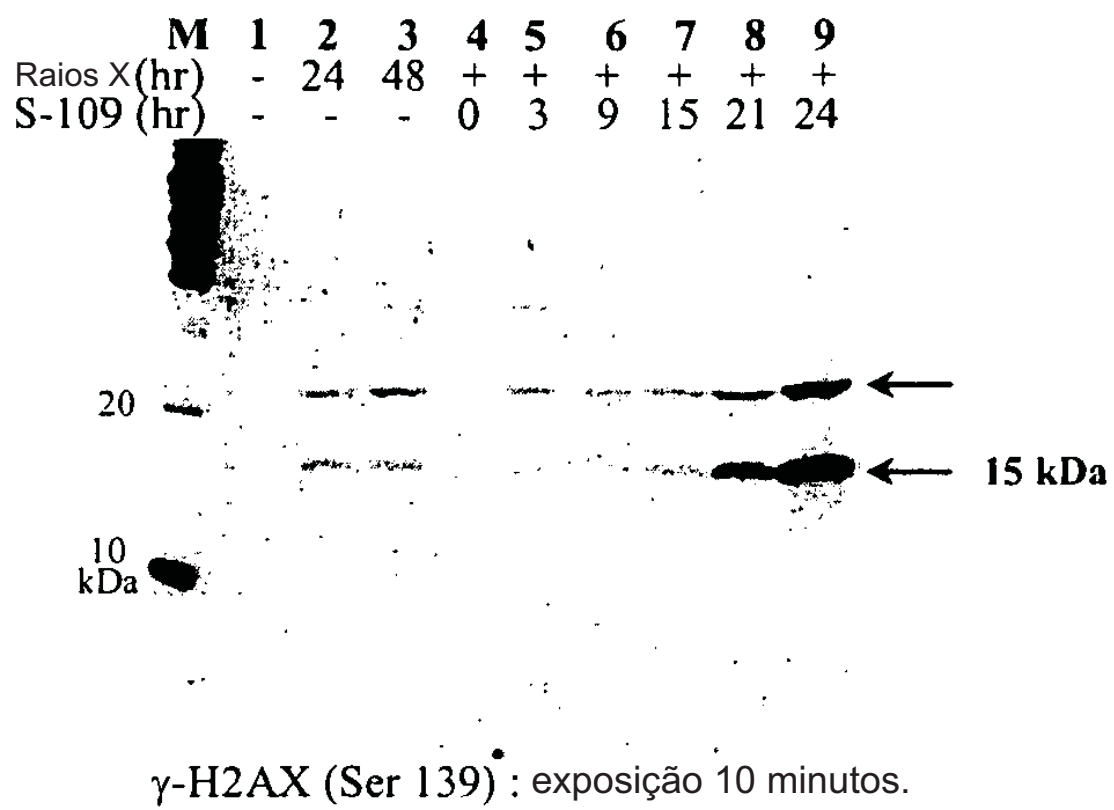


FIG. 3

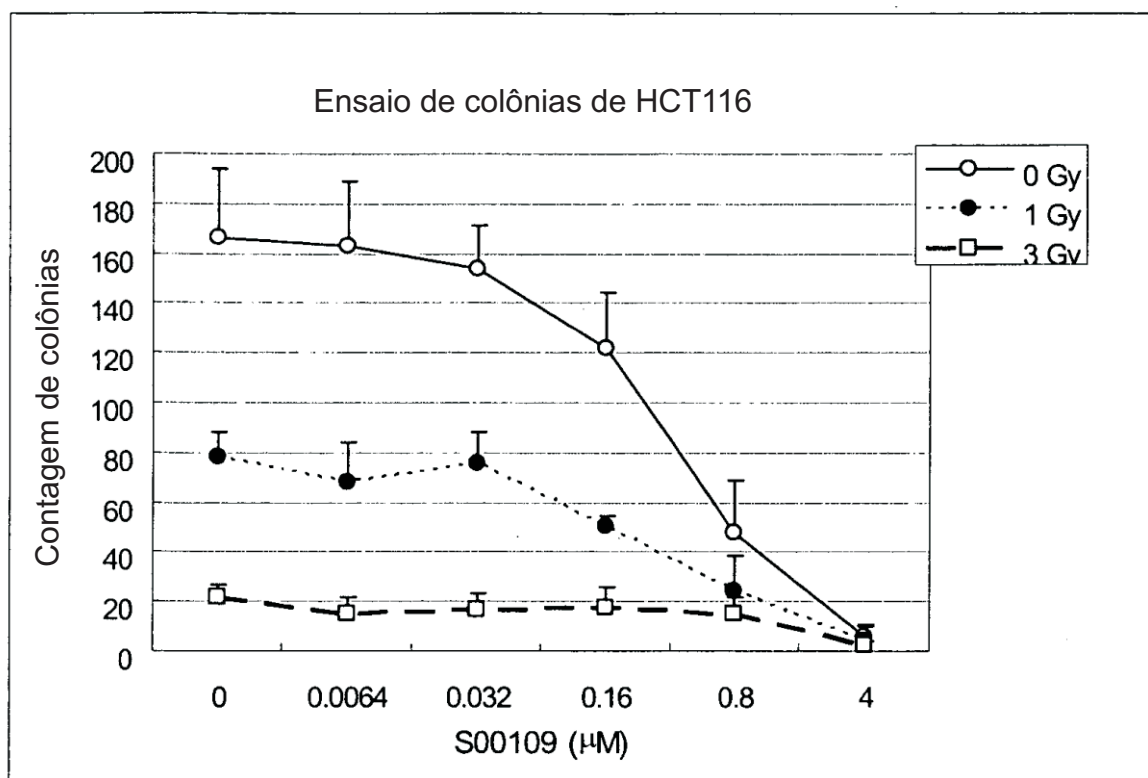


FIG. 4

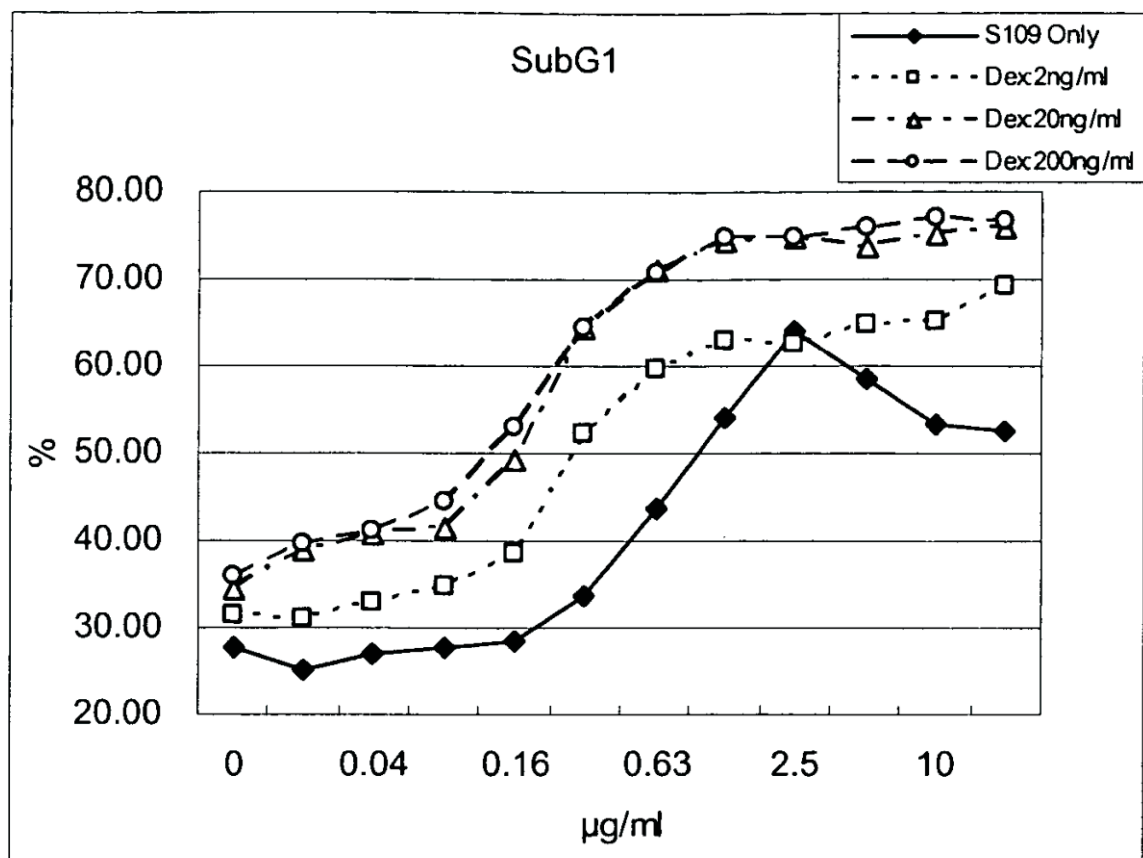


FIG. 5

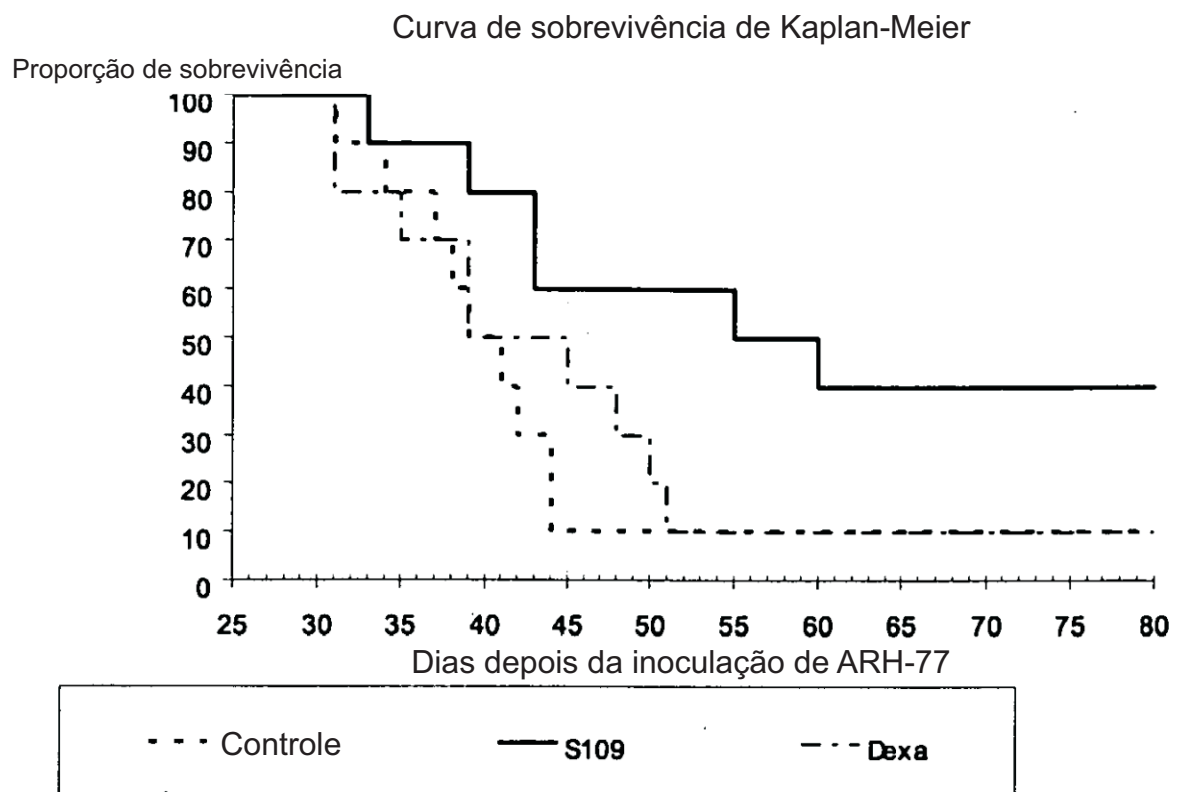


FIG. 6

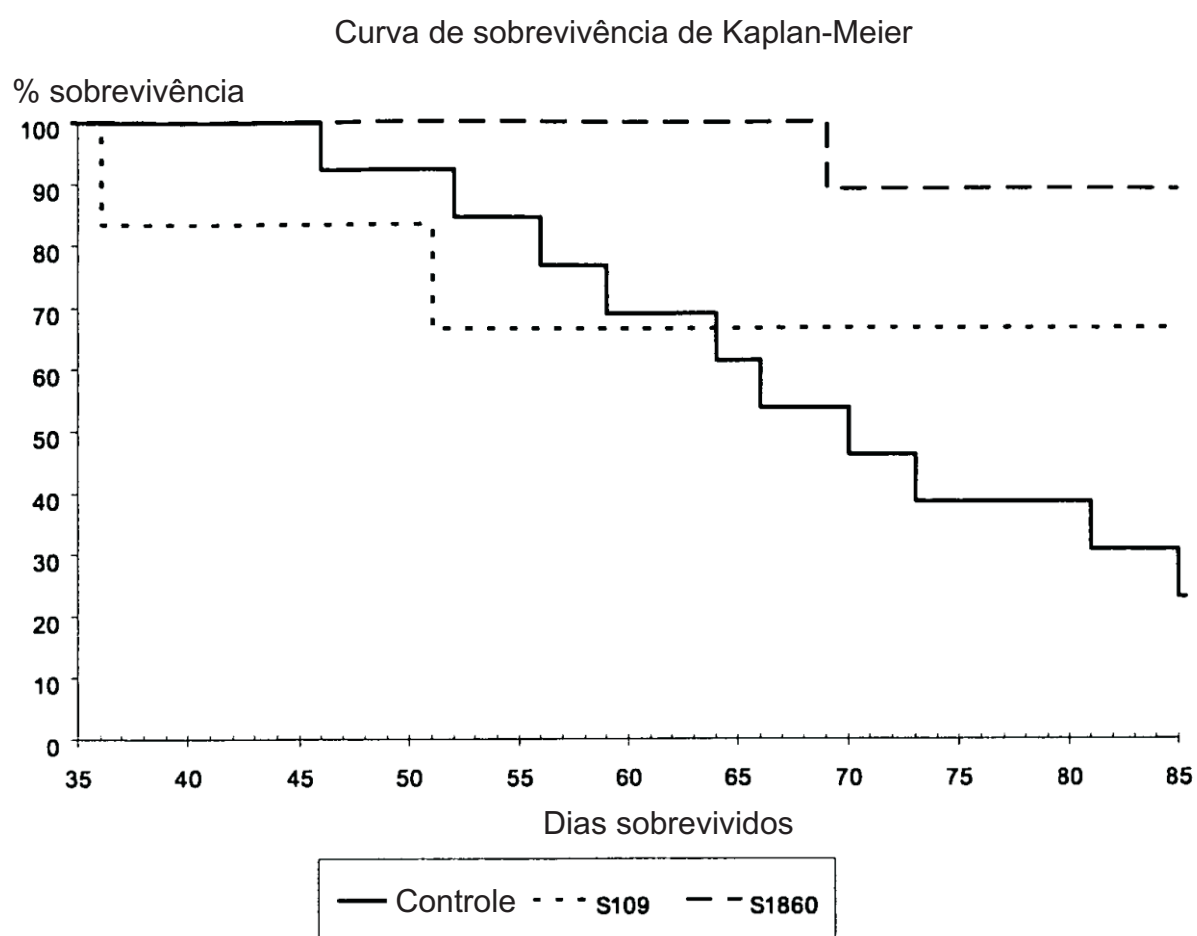


FIG. 7



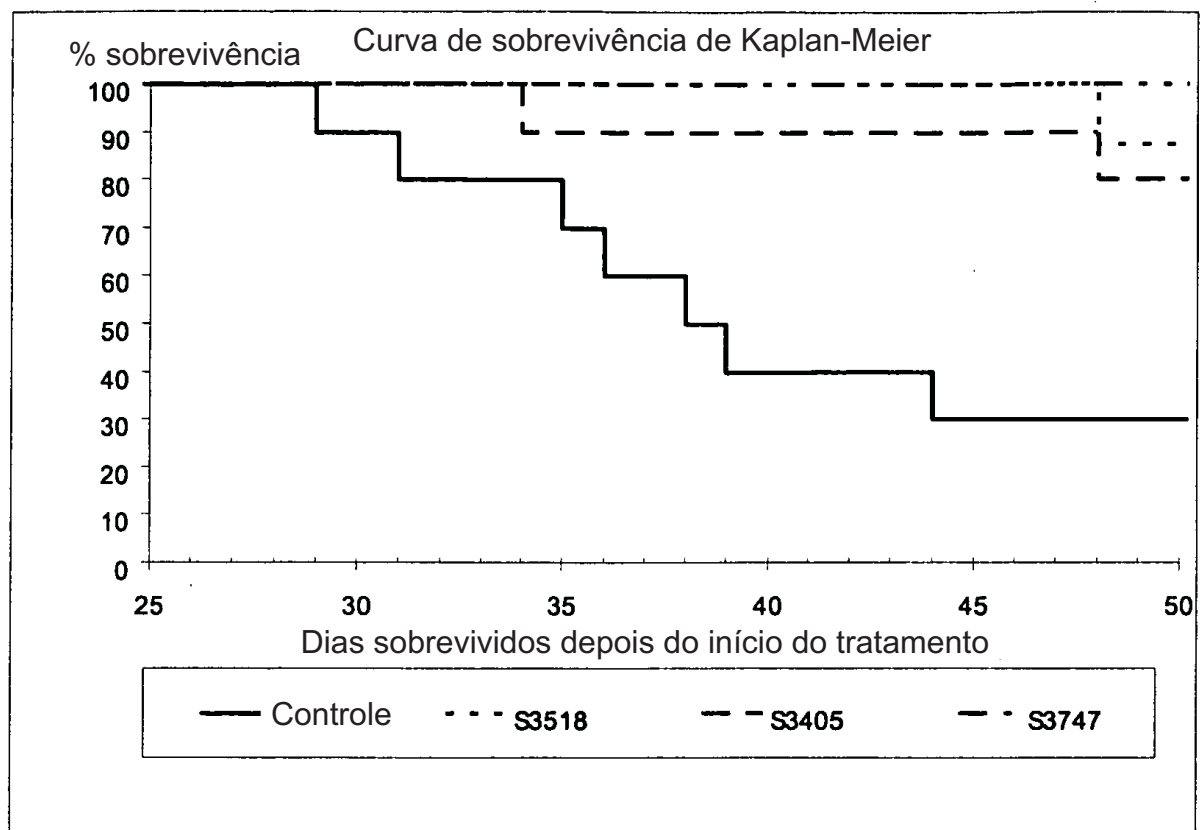


FIG. 8