

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и энергетики

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль)/специализация)

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)**

на тему Синтез ингибиторов РІЗК на основе пиримидинового скаффолда

Студент

Н.А. Попов

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

к.б.н. Д.А. Хоченков

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Тольятти 2021

Аннотация

Объектом исследования в представленной работе является синтез ингибиторов PI3K на основе пиримидинового скаффолда.

Путь PI3K/Akt/mTOR отвечает за 2 взаимосвязанных процесса: уход от апоптоза клетки и активацию пролиферации. Данный путь особенно важен, так как отвечает за развитие онкологии. Ингибиторы PI3K на основе пиримидинового скаффолда наиболее распространены и имеют ряд клинически испытываемых соединений, таких как бупарлисиб, иделалисиб и т.д. С учётом роста онкобольных во всем мире, вопрос поиска новых, эффективных, и недорогих, в плане синтеза, ингибиторов PI3K остаётся актуальным по сей день.

В работе была получена серия из 4 соединений, аналогов ВКМ-120, охарактеризованная методами ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопии. По полученной серии были получены результаты их ингибирующей способности PI3K α .

Выпускная квалификационная работа состоит из страниц 74, содержит 51 схему синтеза, 4 рисунка, 1 таблицу, а также 56 литературных источников.

Содержание

Принятые сокращения	3
Введение.....	5
1 Литературный обзор	6
1.1 Синтез ингибиторов РІЗК	6
1.1.1 Селективные РІЗК α ингибиторы.....	6
1.1.2 Селективные РІЗК β ингибиторы.....	17
1.1.3 Селективные РІЗК γ ингибиторы	23
1.1.4 Селективные РІЗК δ ингибиторы	31
1.1.5 Рап-ингибиторы РІЗК	43
2 Результаты и их обсуждение.....	54
2.1 Синтез аналогов ВКМ-120	54
2.2 Исследование ингибирования РІЗК α	58
3 Экспериментальная часть.....	60
3.1 Реагенты и оборудование	60
3.2 Получение исходных соединений	61
3.3 Синтез целевых соединений	63
3.4 Исследование ингибирования РІЗК α	65
Заключение	66
Список используемых источников.....	67

Принятые сокращения

1,2-DME	1,2-диметоксиэтан
ADDP	1,1'-(азодикарбонил)дипиперидин
BINAP	2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил
BrettPhos	2-(дициклогексилфосфино)3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил
Pd G3	2-(2'-амино-1,1'-бифенил)метансульфонат палладия (II)
CDI	<i>N,N'</i> -Карбонилдиимидазол
cod	циклоокта-1,5-диен
dba	(1 <i>E</i> , 4 <i>E</i>)-1,5-дифенилпента-1,4-диен-3-он
DCE	1,2-дихлорэтен
DCM	дихлорметан
DIPEA	<i>N,N</i> -диизопропилэтиламин
DMA	диметоксиамфетамин
DMAP	4-диметиламинопиридин
DMF	<i>N,N</i> -диметилформаид
DMSO	диметилсульфоксид
dppf	1,1'-бис(дифенилфосфанил)ферроцен
EDC	1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
HATU	гексафторфосфат 1-[бис(диметиламино)метиле́н]-1 <i>H</i> -1,2,3-триазоло[4,5- <i>b</i>]пиридиния-3-оксид
HOBT	1-гидроксибензотриазол
IC ₅₀	концентрация полумаксимального ингибирования
<i>in situ</i>	в реакционной смеси
<i>in silico</i>	компьютерное моделирование
<i>in vitro</i>	в пробирке
<i>in vivo</i>	внутри живого организма
LiHMDS	бис(триметилсилил)амид лития
m-CPBA	<i>мета</i> -хлорпербензойная кислота
NBS	<i>N</i> -бромсукцинимид
NIS	<i>N</i> -йодсукцинимид
NMP	<i>N</i> -метилпирролидон
PBS	фосфатно-буферный физиологический раствор
PI3K	фосфатидилинозитол-3-киназа
PTEN	2,4,6-трипропил-1,3,5,2 ^{λ5} ,4 ^{λ5} ,6 ^{λ5} -триоксатрифосфинан-2,4,6-триоксид
PuVor	гексафторфосфат (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония
Red-Al	натрия бис(2-метоксиэтокси)алюминия гидрид
STAB	триацетоксиборгидрид натрия
T3P	2,4,6-трипропил-1,3,5,2 ^{λ5} ,4 ^{λ5} ,6 ^{λ5} -триоксатрифосфинан-2,4,6-триоксид
TEA	триэтиламин

TFA	трифторуксусная кислота
TFSI	бис(трифторметан)сульфонимид
THF	тетрагидрофуран
THP	тетрагидропиран
TSTU	2-(2,5-диоксопирролидин-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилизуроний тетрафторборат
XantPhos	4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен
XPhos	2-(дициклогексилфосфинил)-2',4',6'-триизопропилбифенил

Введение

Особую роль в регулировании апоптоза, метаболизма и пролиферации клетки играет сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR. Данный путь преобладает в клетках организма человека и механизмы катализа в клетках схожи [1]. Начало данному регулированию клетки дают PI3-киназы, как факторы роста, активирующие различные «сценарии» развития клетки в зависимости от условий: по AKT – ингибирование процесса апоптоза клетки, по mTOR – активация контроля клеточного цикла. Подавление этого сигнального пути особенно важно для сокращения пролиферации клеток при различных онкологических заболеваниях. В частности, PTEN, как биологический ингибитор киназы, в раковых клетках может не производиться в достаточных количествах.

На данный момент хорошо изучены 4 различные изоформы PI3-киназы (α , β , γ , δ). Разделение на изоформы связано с различным строением каталитических центров субъединицы p110.

Вызвать снижение пролиферации клеток и активацию апоптоза, в условиях нарушенной работы сигнального пути, можно действием различных синтетических лиганд-ингибиторов PI3-киназы, как селективных, так и неселективных (rap).

Цель работы: разработка синтетического подхода к получению аналогов rap-ингибитора PI3K ВКМ-120 на основе 5-цианопиримидинового скаффолда и исследование их ингибирующей способности PI3K α .

Задачи работы:

- Разработать синтетический подход для получения 4-замещённых аналогов ВКМ-120.
- Синтезировать серию соединений, включающих пиримидиновый скаффолд.
- Исследовать полученные соединения на ингибирующую способность PI3K α

1 Литературный обзор

1.1 Синтез ингибиторов P13K

1.1.1 Селективные P13Kα ингибиторы

Большинство изоформно-селективных ингибиторов P13K имеют доминирующее связывающее взаимодействие определённого скаффолда (или структурных аналогов данного скаффолда) связывающего участка ингибитора с областью сайта связывания исследуемой киназы.

К числу селективных ингибиторов альфа-киназы можно относить различные морфолино-содержащие соединения, их поли-, моногетероциклические производные, а также их структурные аналоги. В основном, ключевое взаимодействие для селективных ингибиторов P13Kα определяется связыванием эфирного участка морфолина с валином в сайте связывания киназы. Из-за схожести сайта связывания с бета-киназой множество, казалось бы, селективных скаффолдов могут проявлять дуальный характер.

Соединения 6-арил-2-морфолинозамещённых пиримидинов показали неожиданно отличную селективность по альфа-киназе совместно с высокой ингибирующей активностью [2].

На схеме 1 представлена методология синтеза данных производных на примере синтеза пиримидинового фрагмента реакцией морфолинового производного мочевины **2** с сложноэфирным арильным производным **1**. Последующие аминопроизводные **4a-b** присоединяли в положение 4 пиримидинового кольца в присутствии BINAP.

В 2013 году появились сообщения о ряде эффективных селективных ингибиторов P13Kα на основе 5,6-дигидропирроло[2,3-*d*]пиримидинов [3].

Данный синтез представлен на схеме 2 на примере получения эффективных ингибиторов из этого ряда. Сборку 5,6-дигидропирроло[2,3-*d*]пиримидинового каркаса проводили последовательно, сначала

циклизацией 1,3-дикарбонильного соединения **8** с морфолиновым производным мочевины **9** с последующем получением галогензамещённого продукта **10** под действием POCl_3 , после присоединением аминов **11a-b** к стабилизированному аниону с образованием ключевых соединений **12a-b**.

Значения IC_{50} для **12a** и **12b** по РІЗК α составили 26 и 33 нмоль соответственно. При этом наблюдалась хорошая устойчивость обоих соединений в *in vitro* исследовании.

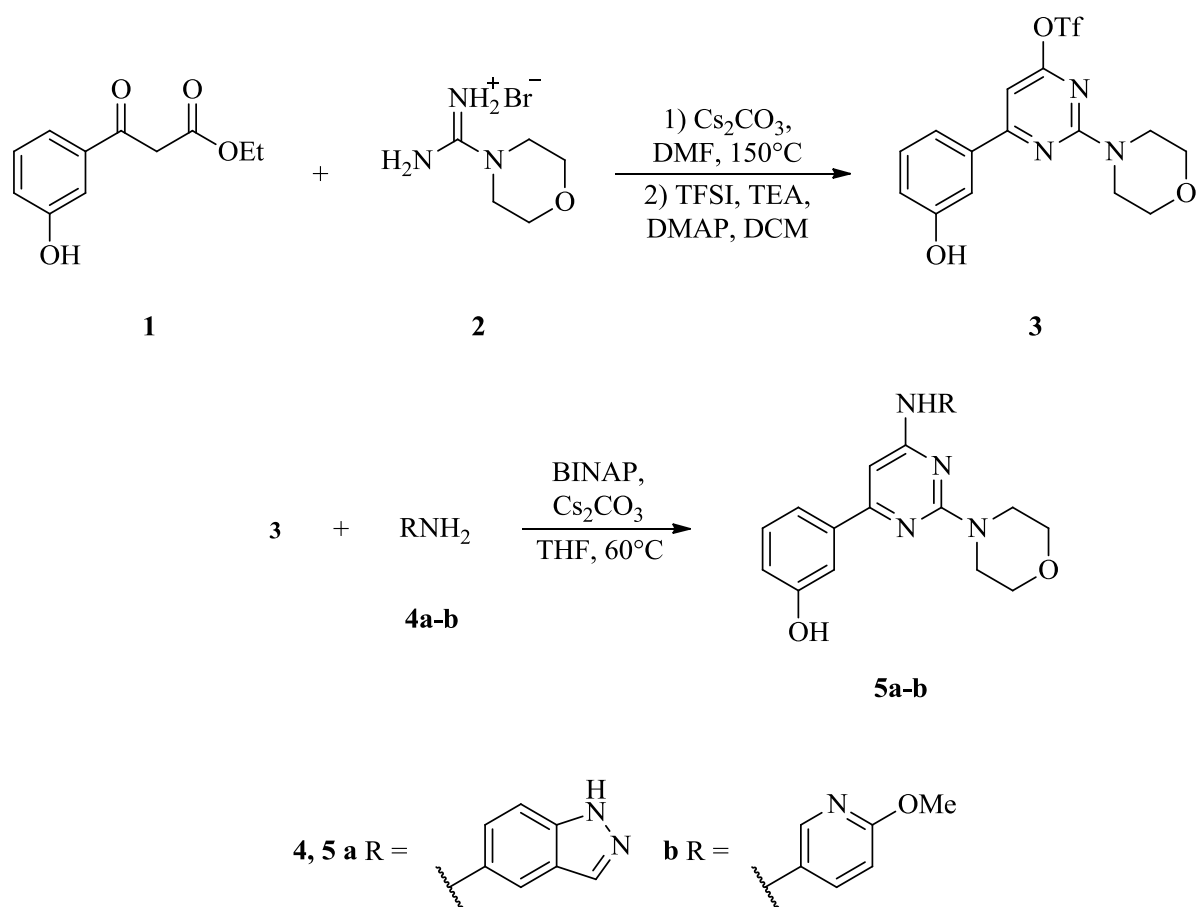


Схема 1 – Синтез 6-арил-2-морфолинозамещённых пиридина

К 2015 году были сообщения о скаффолде на основе соединения-хита ряда 5,6-дигидропирроло[2,3-d]пиримидинов, описанного в работе 3 [4]. Был проверен ряд различных пиридиновых и других арильных производных линкера.

На схеме 3 представлен пример получения эффективного ингибитора **17**, полученного в результате исследований. В условиях реакции Бухвальда-Хартвига к пиррольному атому азоту присоединяли ряд арильных фрагментов. Дополнительно были получены морфолиновые и пиперазиновые линкеры.

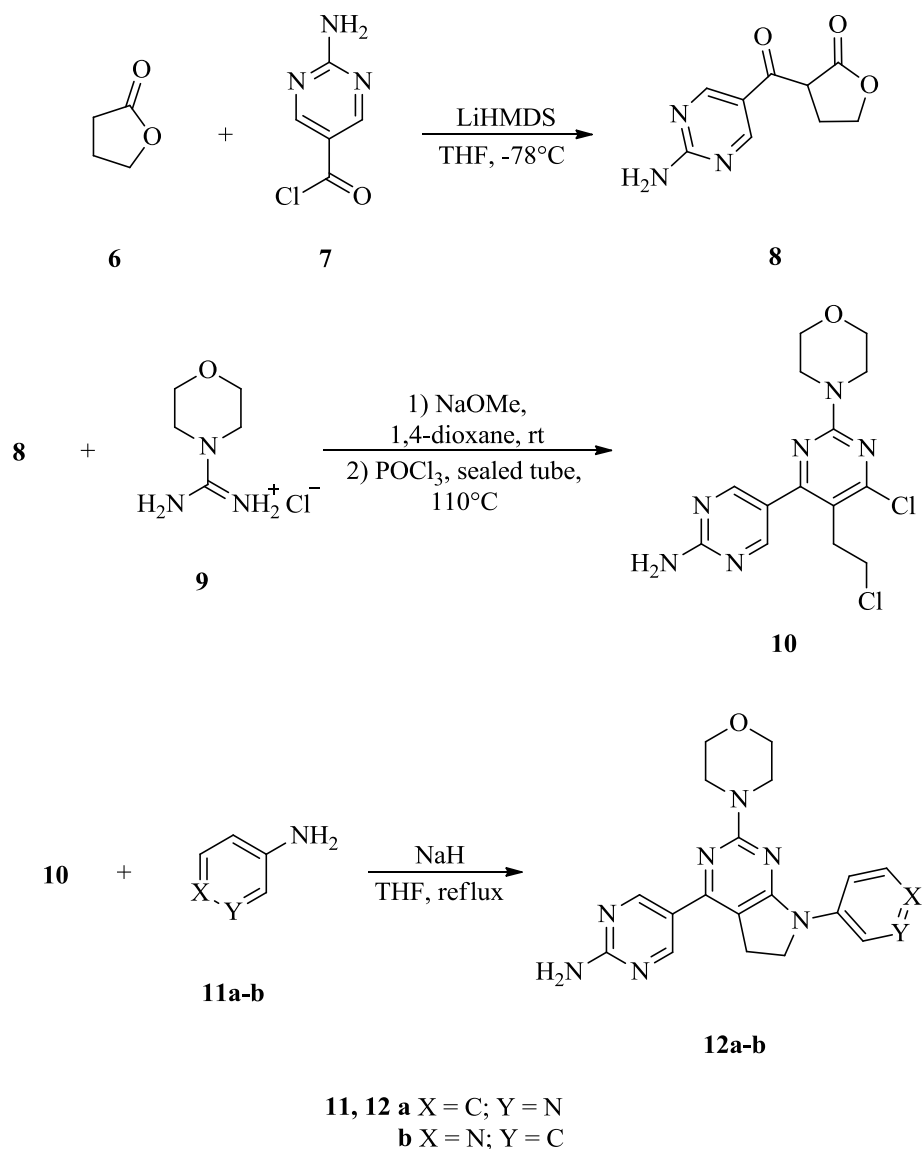


Схема 2 – Синтез 4-морфолинозамещённых пирроло[2,3-*d*]пиримидинов

Соединение **17** примечательно тем, что исследуемая биодоступность F соединения, т.е. часть от общего количества вещества, доходящая до места

непосредственного действия, составляет 47%, что примерно в 8 раз выше соединения **12a**. Значение IC₅₀ составляет 42 нмоль.

Производные 2-арил-6,7-диметокси-4-морфолинохиназолинов, полученные том же году, показали хорошую селективность по отношению к альфа-киназе [5].

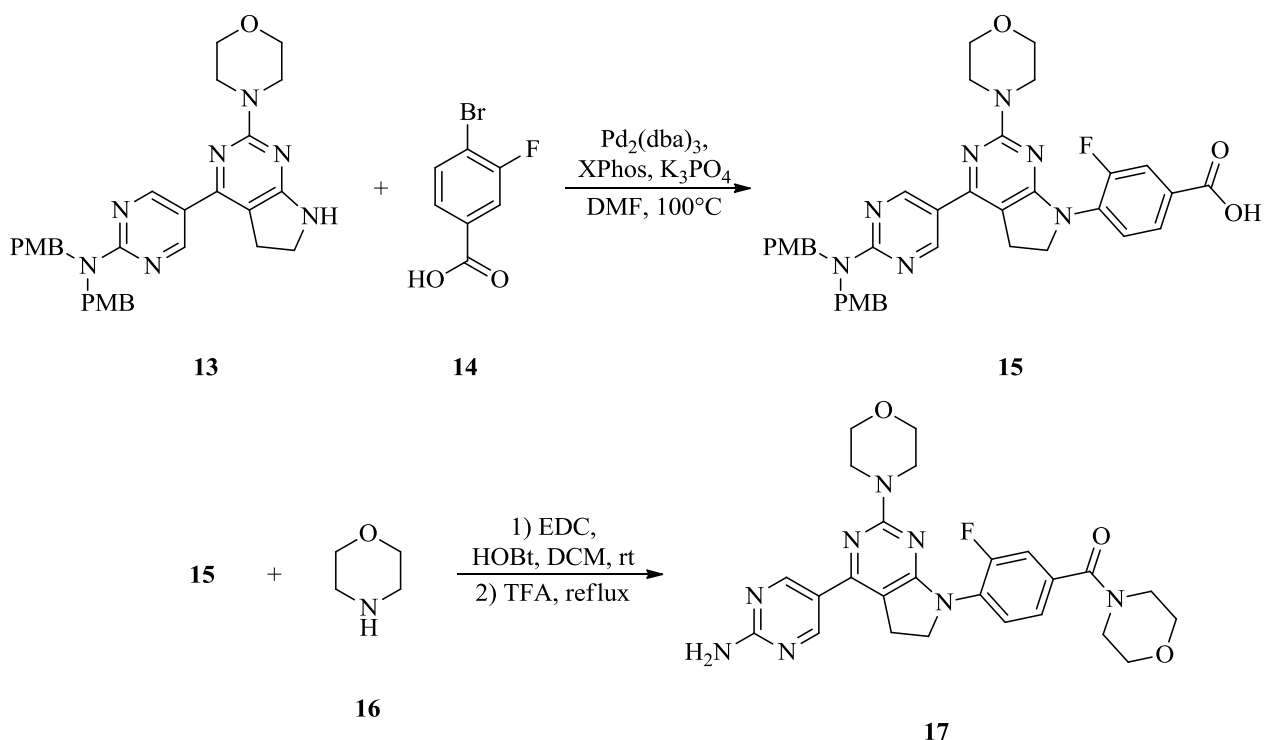


Схема 3 – Синтез 4-морфолинозамещённых пирроло[2,3-*d*]пиримидинов

Морфолин в 4 положении вводили в мягких условиях с добавлением триэтиламина, а надстройку арильного фрагмента во 2 положение хиначолина проводили действием борных эфиров **17a-c** с применением Pd нанесённого на мелкодисперсный уголь, что можно подробнее увидеть на схеме 4.

Соединения **21a-b** показали отличное снижение пролиферативной активности клеток, причём введение -OCF₃ заместителя снижало селективность по альфа-киназе вплоть до смешанной селективности в

отношении с бета-киназой, но уменьшало селективность по гамма- и дельта-киназам. Значения IC_{50} по P13Ka для соединений **21a** и **21b** составили 53 и 96 нмоль соответственно.

К их числу ряд 2,7-замещённых 4-морфолинопирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазинов также проявляли хорошую ингибирующую активность, в особенности соединение **26** [6].

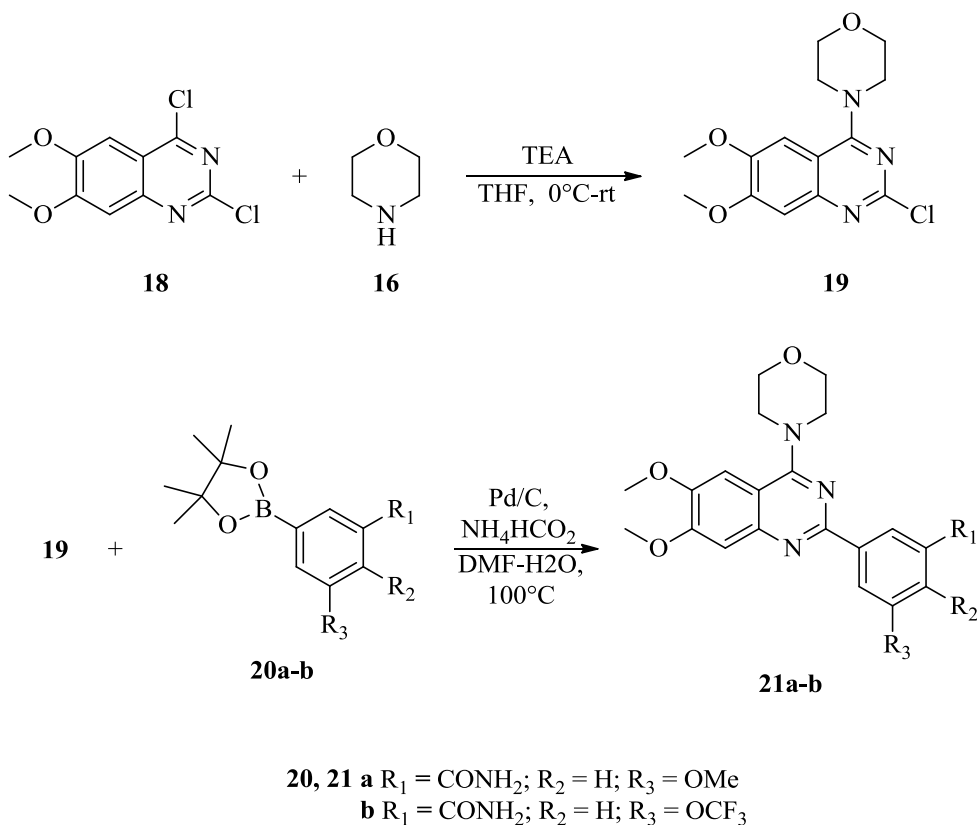


Схема 4 – Синтез 2-арил-4-морфолинохиназолинов

Синтез исследуемого скаффолда проводили последовательно из 2,4-дихлорпроизводного пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазина присоединением морфолина **16** в присутствии DIPEA и пиримидин-2-амина **26** после ацелирования и формирования аминового линкера. Модификацию линкера проводили действием ацетилгалогенидов, в частности полученный производное **27** предварительно мезилилировали.

Соединение **29** эффективно ингибировало исследуемую альфа-киназу ($IC_{50} = 20$ нмоль). При чём в *in vitro* исследовании на клетках печени человека данное соединение показало отличную метаболическую стабильность (>85% после 120 мин).

Совершенно хорошую активность и селективность продемонстрировали соединения 6-тиоксо-5,6,8,9,10,10а-гексагидропиримидо[5,4-*e*]пирроло[1,2-*c*]пиримидинов [7].

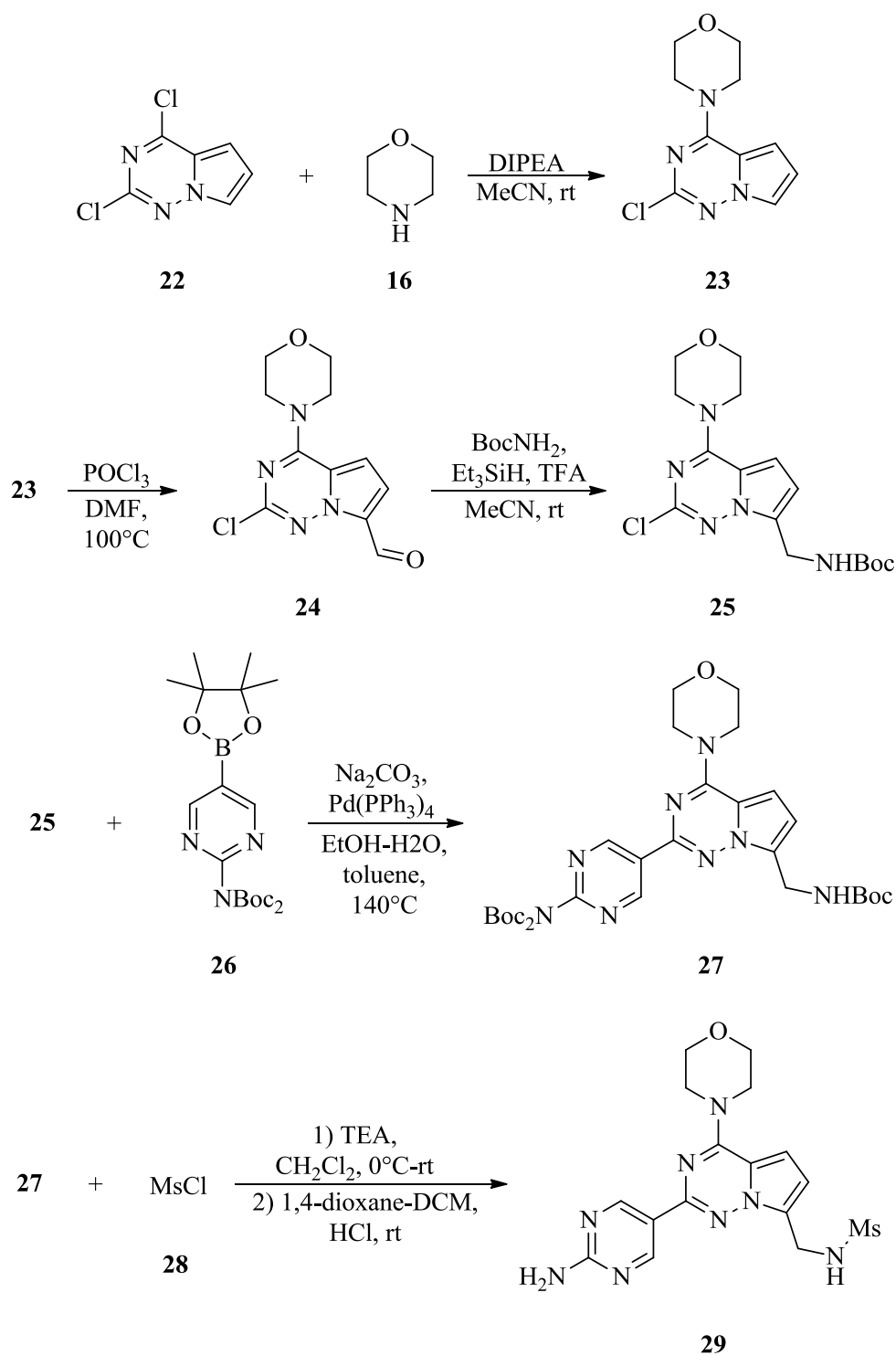
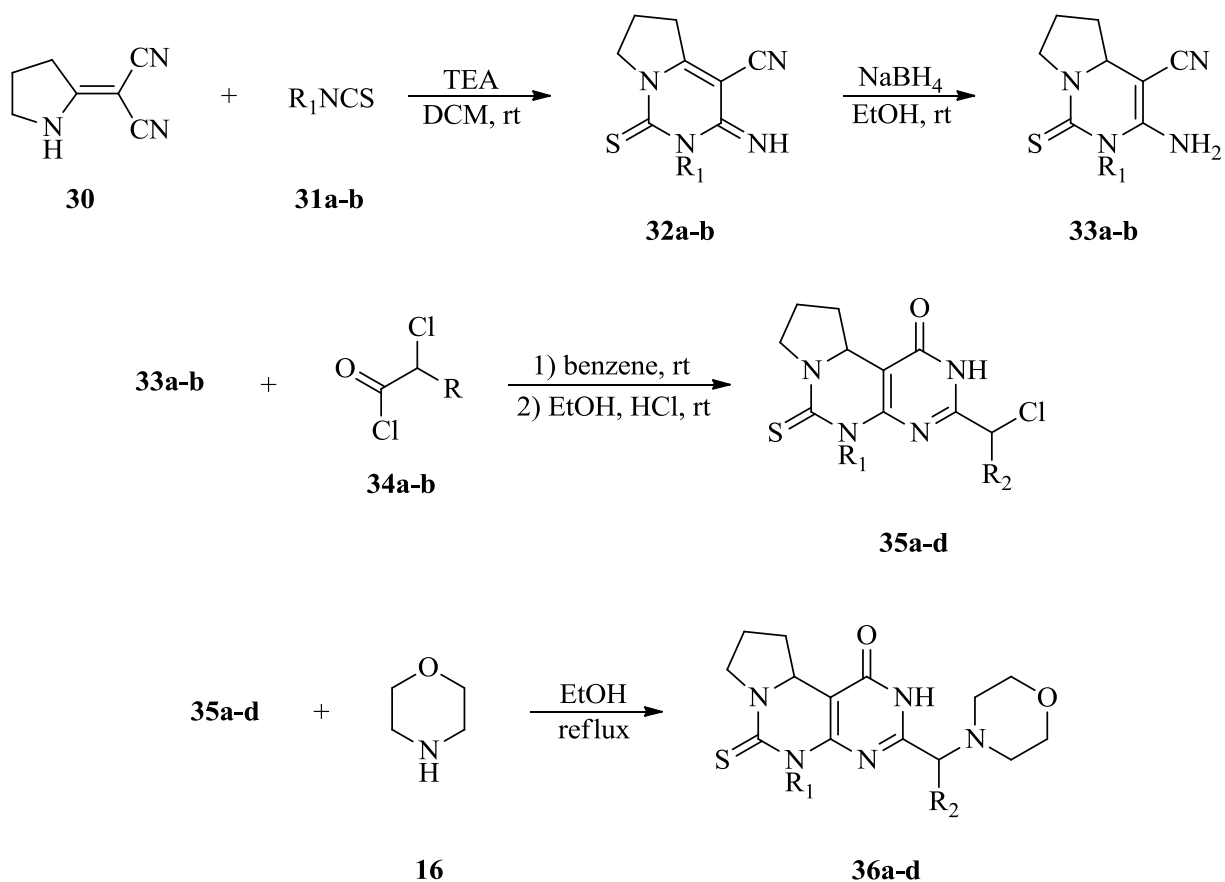


Схема 5 – Синтез 4-морфолинопирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазинов

Синтез ряда соединений отображен на схеме 6. Синтез пирроло[1,2-*c*]пиримидина **32a-b** проводили циклизацией тиоцианатов **31a-b** с 2-(пирролидин-2-илиден)малоннитрилом **30**. В дальнейшем второй пиримидиновый цикл получали циклизацией с *α*-галогенкетонами **34a-b**.

Морфолиновый фрагмент присоединили при длительном кипячении в этаноле.



28-30 a $R_1 = \text{Et}$ **31 a** $R = \text{H}$ **32, 33 a** $R_1 = \text{Et}; R_2 = \text{H}$
b $R_1 = \text{Ph}$ **b** $R = \text{Me}$ **b** $R_1 = \text{Et}; R_2 = \text{Me}$
c $R_1 = \text{Ph}; R_2 = \text{H}$
d $R_1 = \text{Ph}; R_2 = \text{Me}$

Схема 6 – Синтез пиридино[5,4-*e*]пирроло[1,2-*c*]пиридин-4-онов

Соединения **36a-d** показывали стократную разницу в селективности по сравнению с другими изоформами РІЗК. При этом стоит отметить высокую эффективность ингибирования ($IC_{50}(\mathbf{36d}) = 0.1$ нмоль) всего ряда.

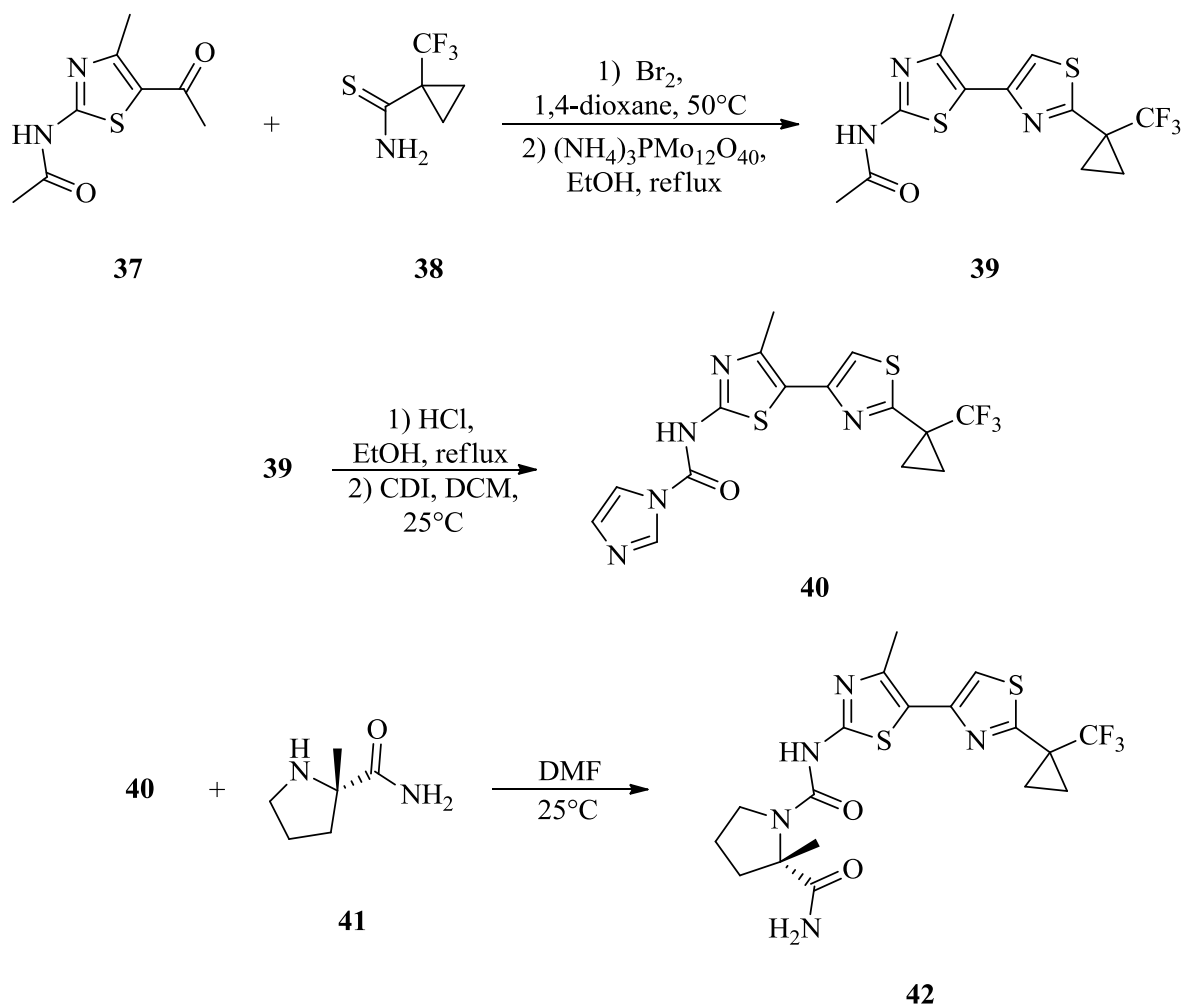


Схема 7 – Синтез производного 4,5'-бистиазола

Примерно в то же время был получен целый ряд соединений, включающих в себя 4,5'-бистиазолиновый скаффолд [8]. Скаффолды проанализировали на селективность и качество ингибирования альфа-изоформы, в сравнении с клинически применяемым алпелисибом.

На схеме 7 показана общая методология синтеза на примере получения наиболее эффективного ингибитора **42** из данной работы. Второй тиазольный цикл был получен межмолекулярной циклизацией α -галогенкетона **37** с тиаамидом **38**. После генерирования и активации карбоновой кислоты, присоединяли ряд производных (*S*)-пирролидин-2-карбоксамидов.

Соединение **42** имело более высокую селективность по альфа-изоформе, однако наличие второго тиазольного фрагмента существенно

снизило эффективность ингибирования ($IC_{50} = 0.4$ мкмоль), для алпелисиба $IC_{50} = 0,074$ мкмоль.

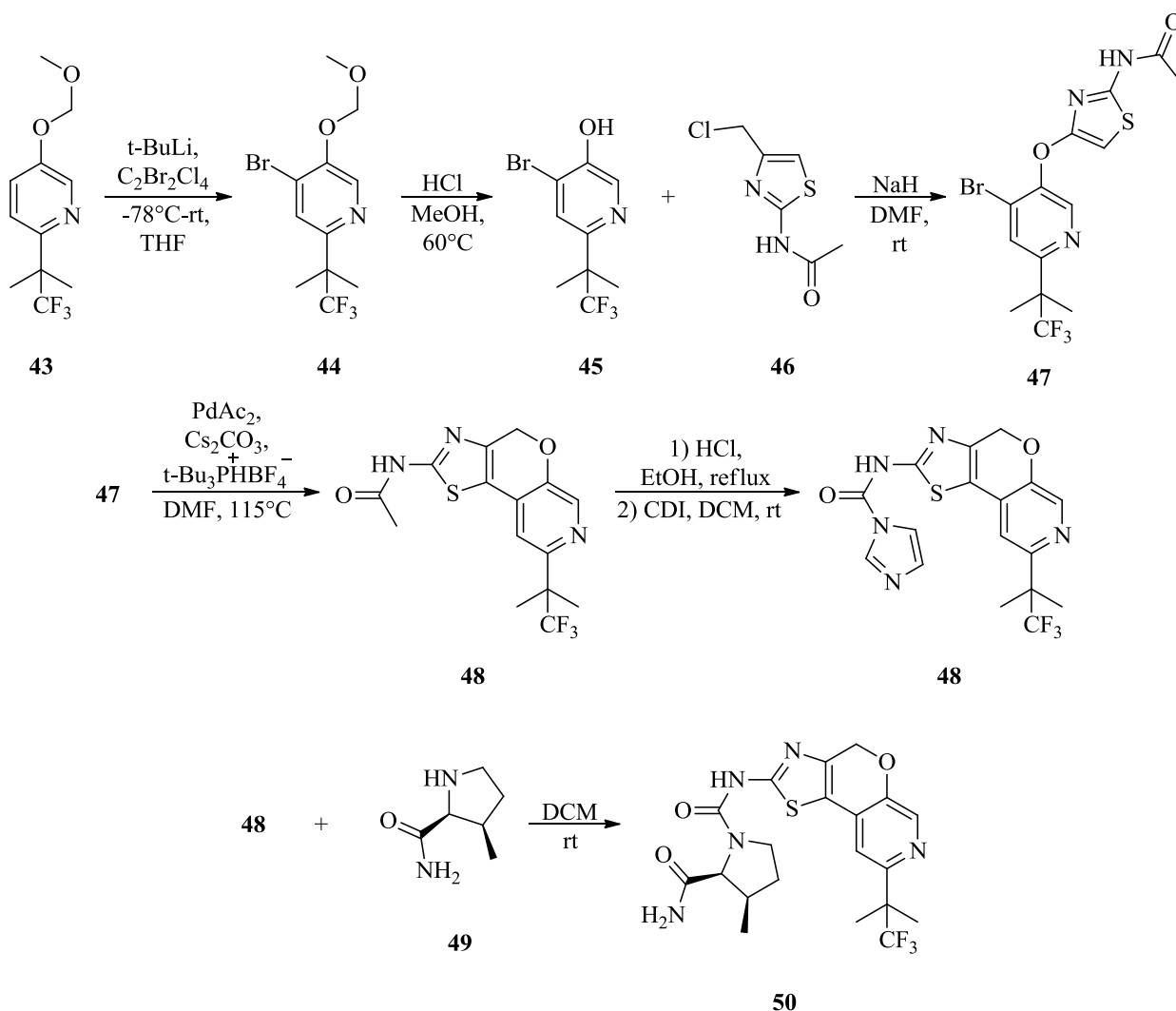


Схема 8 – Синтез производного тиазоло[5',4':4,5]пирано[2,3-с]пиридина

Аналогично предыдущему случаю, тиазольный скаффолд был оптимизирован до трициклической прочной структуры через пирановый цикл, в сравнении с алпелисибом [9].

В частности, соединение **50**, полученное в результате синтеза, представленном на схеме 8, показывало хорошую активность по альфа-изоформе, как и алпелисиб, селективность по остальным изоформам выросла. Пирановый фрагмент, выступающий аналогом морфолина, был получен

внутримолекулярной Pd-катализируемой циклизацией эфира **47**. После генерирования и активации карбоновой кислоты, также был присоединён (*S*)-пирролидин-2-карбоксамид **49**.

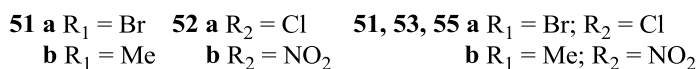
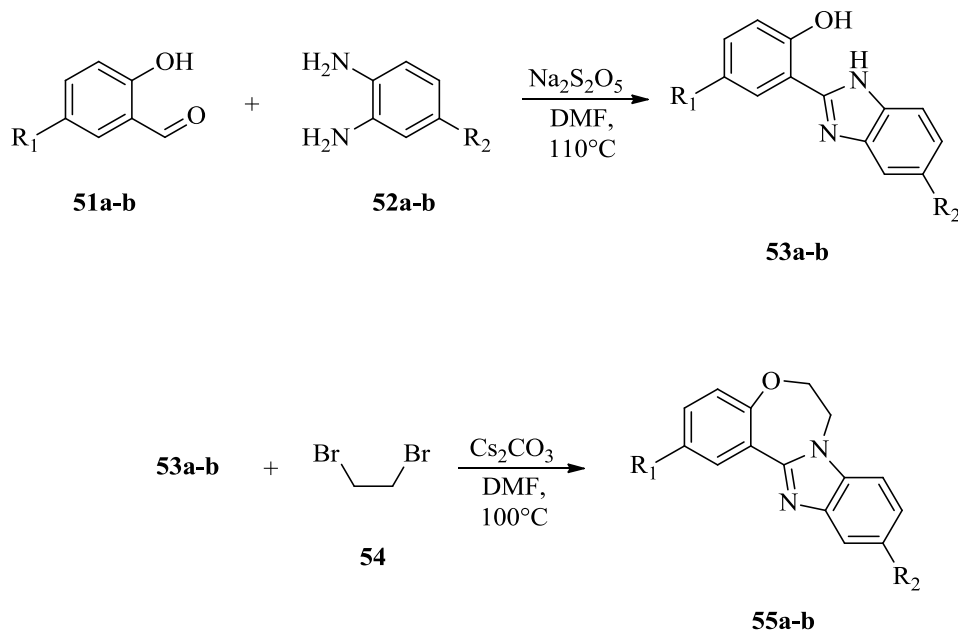


Схема 9 – Синтез дигидробензо[*f*]бензо[4,5]имидазо[1,2-*d*][1,4]оксазепинов

Относительно простыми методами синтеза были получены производные 6,7-дигидробензо[*f*]бензо[4,5]имидазо[1,2-*d*][1,4]оксазепинов, в качестве селективных ингибиторов PI3K α [10].

2-Замещённые бензимидазольные фрагменты получали циклизацией бензо-1,2-диаминов **52a-b** с бензальдегидами **51a-b**. Оксоазепиновое кольцо получали действием 1,2-дибромэтана **54** в присутствии карбоната цезия, что показано на схеме 9.

Соединения **55a-b** показали хорошую ингибирующую активность относительно PI3K α , в особенности **55b** (IC₅₀ = 16 нмоль).

На схеме 10 представлен обобщённый синтез на примере получения 6-арилпроизводных 4-(4-цианометил)фениламинохиназолинов **60a-b** [11].

Из антраниловой кислоты **56** под действием формамида синтезировали хиназолин **57**, к которому в положение 4 селективно присоединили 4-(аминофенил)ацетонитрил **59**. В положение 6 по реакции Сузуки действием борных кислот **61a-b** присоединяли различные арильные фрагменты (схема 10).

Соединения **62a-b** показали наилучшее снижение пролиферации P13K α , однако имеются проблемы с моноселективностью и лишь соединение **62a** хорошее ингибирование p110 α (IC₅₀ = 0.2 мкмоль).

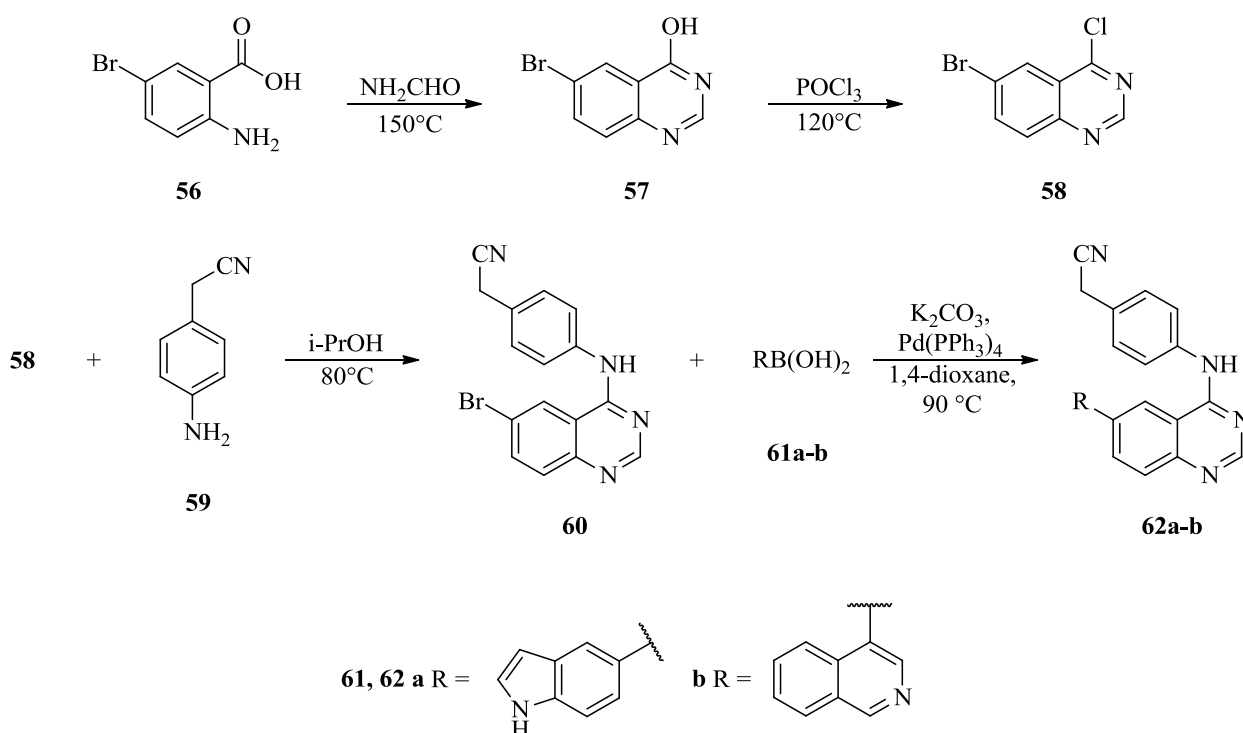


Схема 10 – Синтез 4-(4-цианометил)фениламинохиназолинов

Совершенно неожиданные ингибиторы на основе хромено[4,3-*c*]пиразол-4-онов [12]. При этом был проанализирован 1-(арилсульфонил)пиперазиновый скаффолд.

Исходное производное пиперазина **65** получали действием сульфонилхлорида **63** на пиперазин **64** в присутствии основания.

Добавлением формальдегида к смеси соединения **65** и хромено[4,3-*c*]пиразол-4-она **66** получали быстро и в стандартных условиях исследуемое соединение **67**, что можно увидеть на схеме 11.

Примечательно данное соединение **67** тем, что продемонстрировало отличное ингибирование РІЗК α *in vitro* (IC₅₀ = 0.009 мкмоль) с повышенной моноselectивностью.

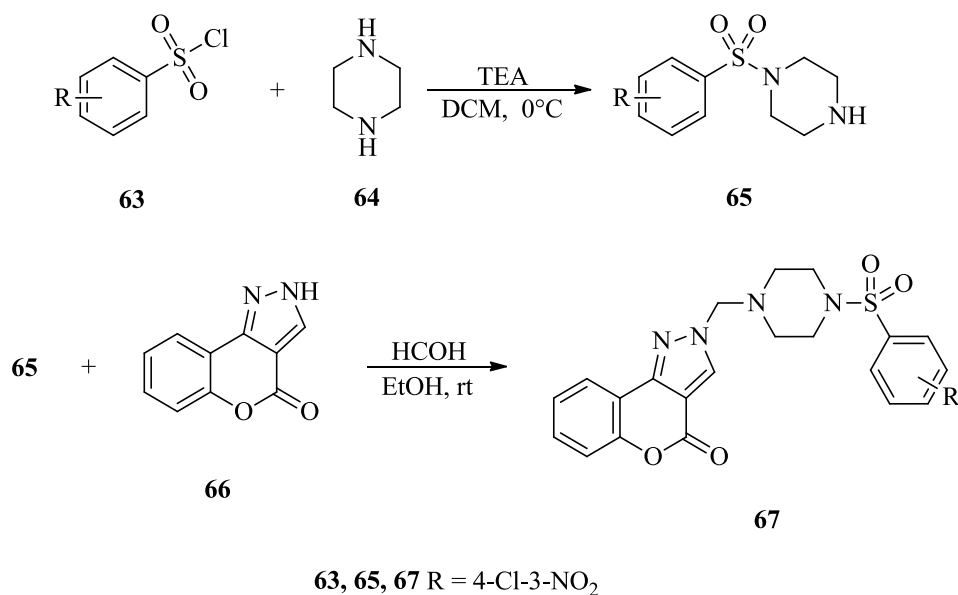


Схема 11 – Синтез производного хромено[4,3-*c*]пиразол-4-она

1.1.2 Селективные РІЗК β ингибиторы

Из-за схожести в структуре сайта связывания бета- и альфа-изоформ очень трудно достичь чистой селективности для РІЗК β и множество ингибиторов РІЗК α также может проявлять смешанную селективность. Поэтому требуется наличие дополнительных связывающих взаимодействий для целевого ингибитора в сайте связывания бета-изоформы [13].

Довольно хорошие ингибиторы РІЗК β были найдены на основе 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-онов [14].

Синтез триазол[1,5-*a*]пиримидина **70a-b** проводили с 3-амино-1,2,4-триазолами **68a-b** под действием диэтилмалоната **69**. Ряд галогенарильных

производных, как например соединение **73**, присоединяли к пиррольному атому триазольного кольца. В положение 7 ввели морфолиновый линкер, что показано на схеме 12.

Соединения **75a-b** выделяются сильным ингибированием Р13К β при этом не теряют селективность, а значение $\alpha/\beta > 1000$. Данные IC₅₀ для **75a** и **75b** составляют 0.6 и 0.4 нмоль соответственно.

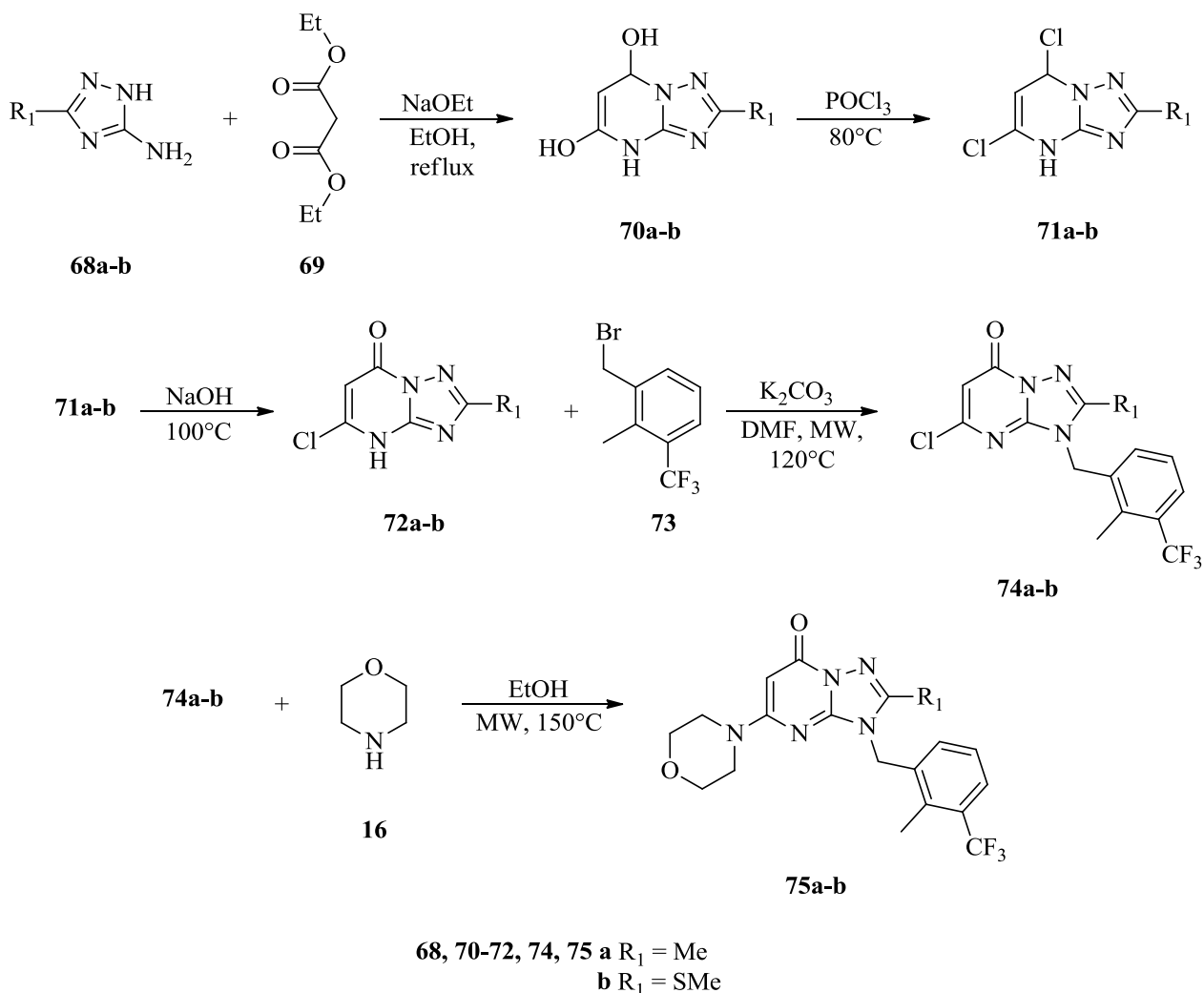


Схема 12 – Синтез 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-онов

В начале 2012 года был описан синтез серии триазоло[4,5-*d*]пиримидин-7-оновых с сохранением заместителей селективных ингибиторов Р13К β [15].

В частности, соединение **79**, которое было получено в ходе синтеза, изображенного на схеме 13.

Синтез пиримидинового кольца производили с применением PBS после ацилирования в DMAP и *N*-алкилирования действием 1-(бромметил)-2-метил-3-(трифторметил)бензола **73**. Значение IC₅₀ для соединения **79** составило 0,6 нмоль.

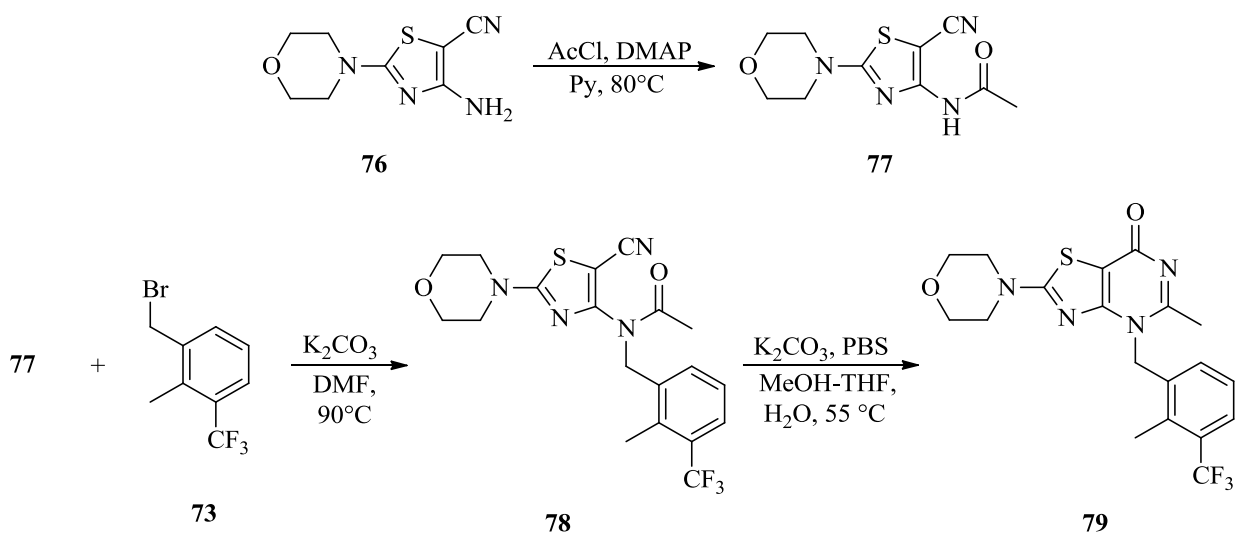


Схема 13 – Синтез производного тиазоло[4,5-*d*]пиримидин-7-она

В том же году появились сообщения о ещё одной серии, аналогов TGX-221 [16].

Пример синтеза лучшего, по результатам исследования, ингибитора показан на схеме 14. К исходной коммерчески доступной натриевой соли пиримидина **80** присоединяли 4-фтор-3-фторанилин **81** в присутствии EDC.

IC₅₀ для соединения **82** составило 42 нмоль при этом разница с ингибированием других изоформ отличалась в 1000 и более раз.

В 2014 году появились сообщения о синтез оксопиридо[1,2-*a*]пиримидин-7-карбоксамидов в качестве селективных ингибиторов PI3Kβ [17].

На схеме 15 показана методология синтеза. Добавление гидрата соли церия позволило получить продукт восстановления по ацетильному

фрагменту. Ацетамид получали действием защищённого аминспирта **88** в присутствии TSTU. Ряд арильных фрагментов получали их производных **90a-c** этерификацией с добавлением ADDP. В дальнейшем проводили снятие TBS-защиты.

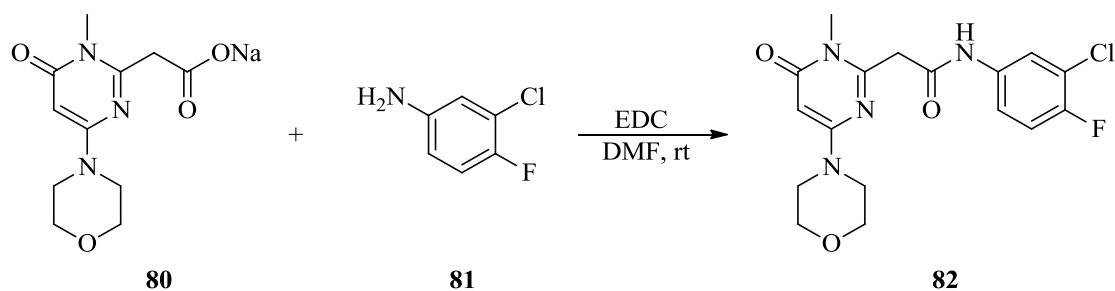


Схема 14 – Синтез аналога TGX-221

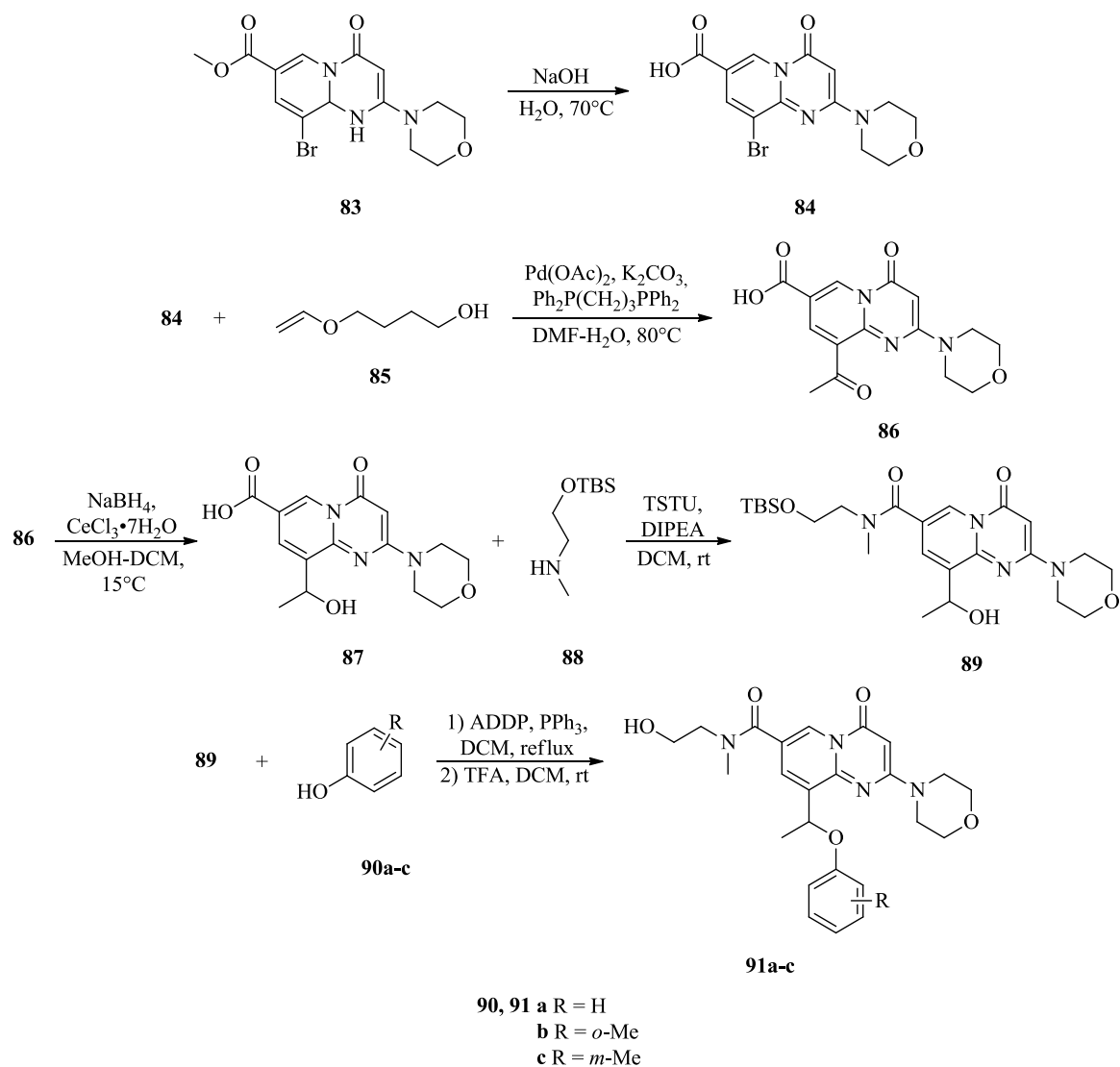


Схема 15 – Синтез 4-оксопиродо[1,2-*a*]пиримидин-7-карбоксамидов

Соединение **91a** в отличие от остальных продуктов давало наилучшую селективность ($\alpha/\beta = 53$). Чуть хуже проявляли себя *m*-замещённые, плохой результат давали *o*-замещённые производные.

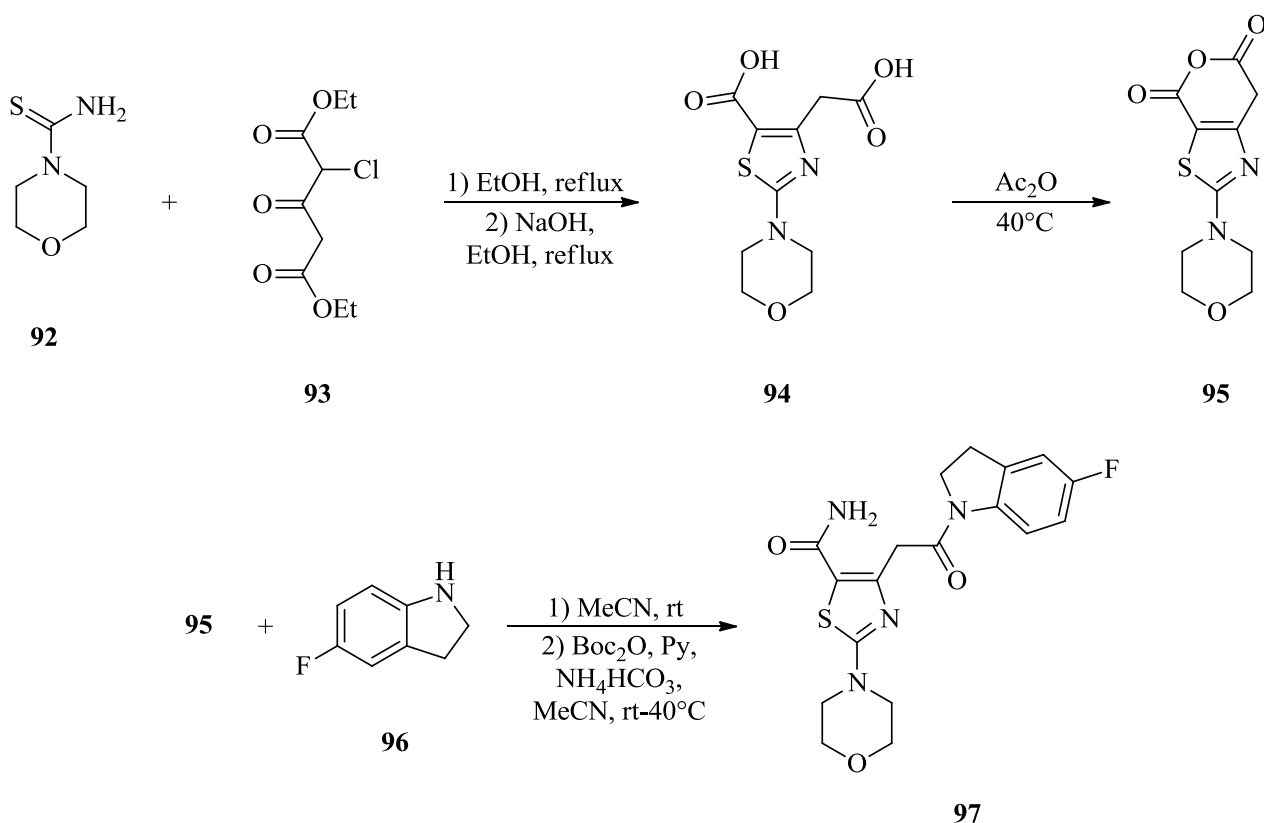


Схема 16 – Синтез 2-морфолинотиазол-5-амида

Продолжая работу над морфолинотиазолами была получена серия селективных ингибиторов, содержащий индолильные заместители [18].

На схеме 16 обобщена методология получения на примере производного **97**. Тиазольный цикл был получен циклизацией диэтил 3-оксо-2-хлоропентадиата **93** с морфолиновым производным тиоамида **92**. *N*-замещённые индолильные участки были получены при раскрытии пиранового цикла, а после проводили восстановление до ацетамида **97**.

Селективные ингибиторы были также обнаружены на основе бензоимидазольного скаффолда [19].

На схеме 17 показан пример получения соединения **104**. Из исходного бензамина **98** в ацетангидриде получали дигидробензо[*d*]имидазольный цикл. После генерирования борного эфира, по реакции Сузуки вводили пиридиновые производные **101**. Сложноэфирную группу восстановили до

амидной и в дальнейшем проводили синтез триазольного цикла с гидразином в кислой среде.

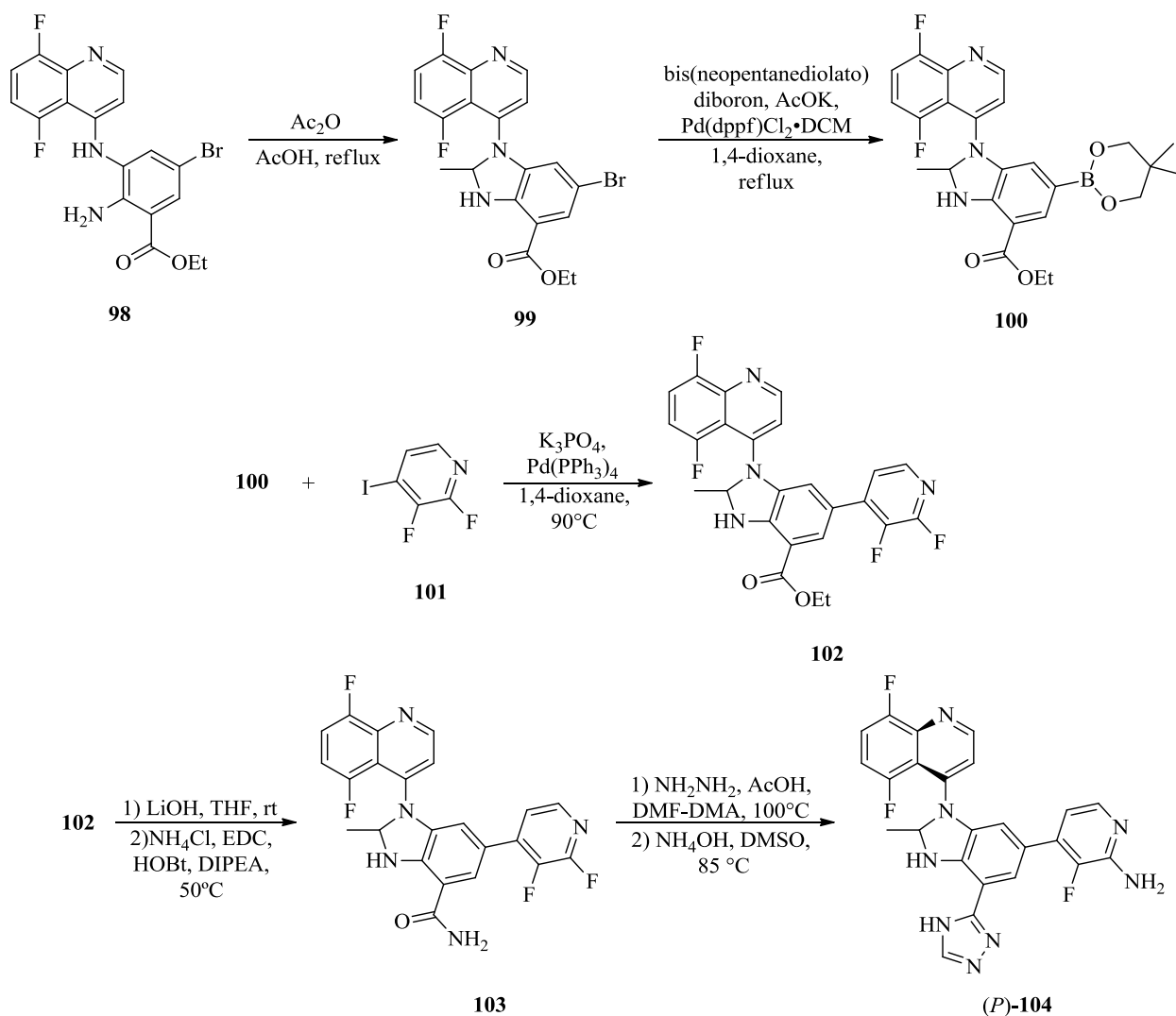


Схема 17 – Синтез 4-(2,3-дигидробензо[d]имидазол-5-ил)-3-фторпиридина

В итоге была получена рацематная смесь соединения **104**, при чём (*P*)-**104** был гораздо селективнее, чем (*M*)-**104**. Значение IC_{50} для (*P*)-**104** составило 2 нмоль.

1.1.3 Селективные РІЗКу ингибиторы

На данный момент не так много научных работ, посвящённых чисто селективным ингибиторам РІЗКу, ввиду соблюдения большого количества

факторов для эффективного связывания с гамма-изоформой. Чаще всего ингибиторы данной киназы проявляют смежную селективность и ингибируют дельта-изоформы (иделалисиб). Преимущественно для повышения селективности модифицируют целевой ингибитор, содержащий сульфаниламидные, пиридиновые и др. скаффолды, для гидрофобных участков сайта связывания [20].

Серия модифицированных пиазин-2-карбоксамидов была продемонстрирована в качестве селективных ингибиторов РІЗК γ [21].

Из исходного 5-фтор-2-хлоранилина **105** получали сульфонилхлорид **106** действием смеси SO₂ и CuCl после генерирования соли диазония. Следующий анилиновый фрагмент присоединял в мягких условиях. После получения борного эфира **109**, по реакции Сузуки присоединяли пиазин **110**. Данные превращения показаны на схеме 18.

По результатам исследования, именно соединение **110** имело хороший набор селективности и ингибирования киназы (IC₅₀ (**110**) = 18 нмоль).

В 2013 году ряд *N*-ацетамидов 5-(1,2,4-оксадиазол-5-ил)тиазолов, оптимизированных под РІЗК γ , были получены исследовательской группой Ока [22].

На схеме 19 представлена обобщённая методология синтеза на примере получения соединения. *N*-защищённый 3-гидроксипиперидин ацилировали для защиты гидроксильной группы. После снятия Вос-группы, получали 1-цианопиперидин **114**, из которого после образовали оксим **115** действием гидроксиламина. В дальнейшем из оксима **115** формировали 1,2,4-оксадиазолиновый цикл под действием тиазолкарбоновой кислоты **116**.

Полученное оптимизированный ингибитор **117** проявлял повышенную селективность по РІЗК γ (IC₅₀ = 29 нмоль).

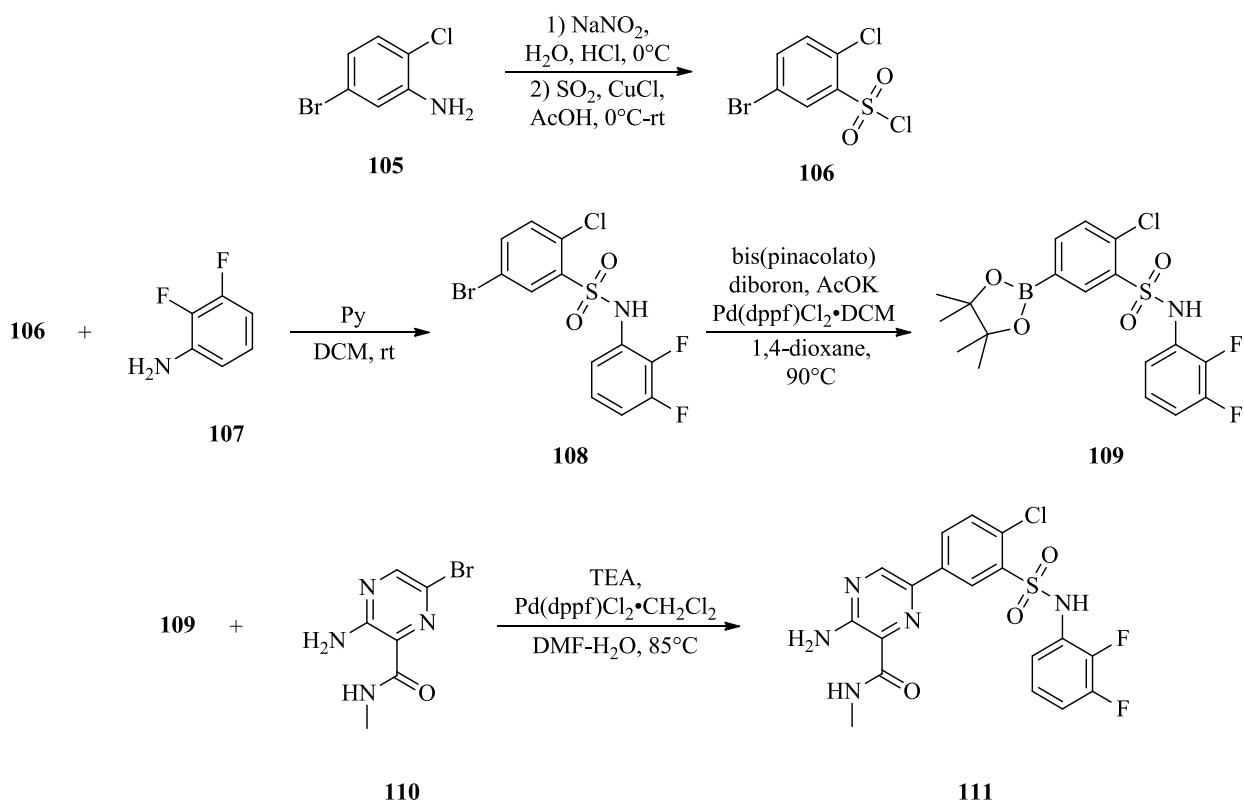


Схема 18 – Синтез производного пиразин-2-карбоксамид

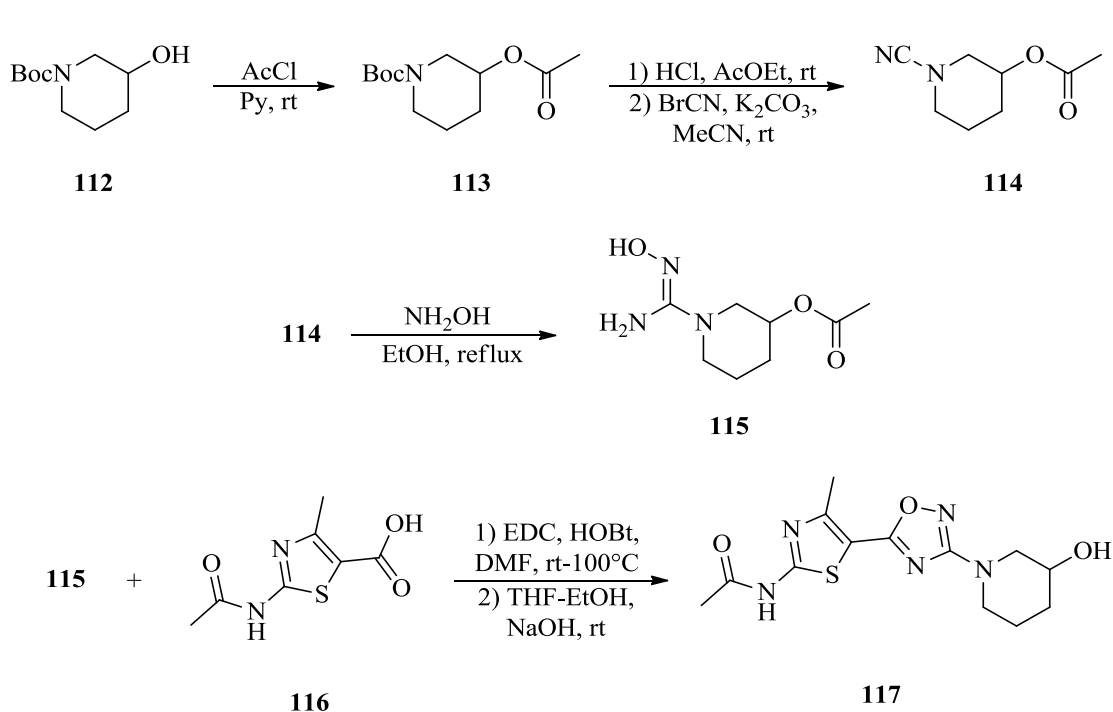


Схема 19 – Синтез *N*-ацетида 5-(1,2,4-оксадиазол-5-ил)тиазола

1,4-Дигидрохиолин-3-карбоновых кислоты также могут стать перспективными лигандами гамма-киназы [23].

На схеме 20 представлен синтез ряда селективных ингибиторов. Ряд арильных фенолкарбоновых кислот **118a-c** после образования хлорангидридов **119a-c** пустили в реакцию нуклеофильного замещения с готовым хиолином **120**.

Образовавшиеся соединения **121a-c** показали хорошую селективность по РІЗКγ, а **121c** показало лучшие результаты ингибирования при IC₅₀ = 56 нмоль.

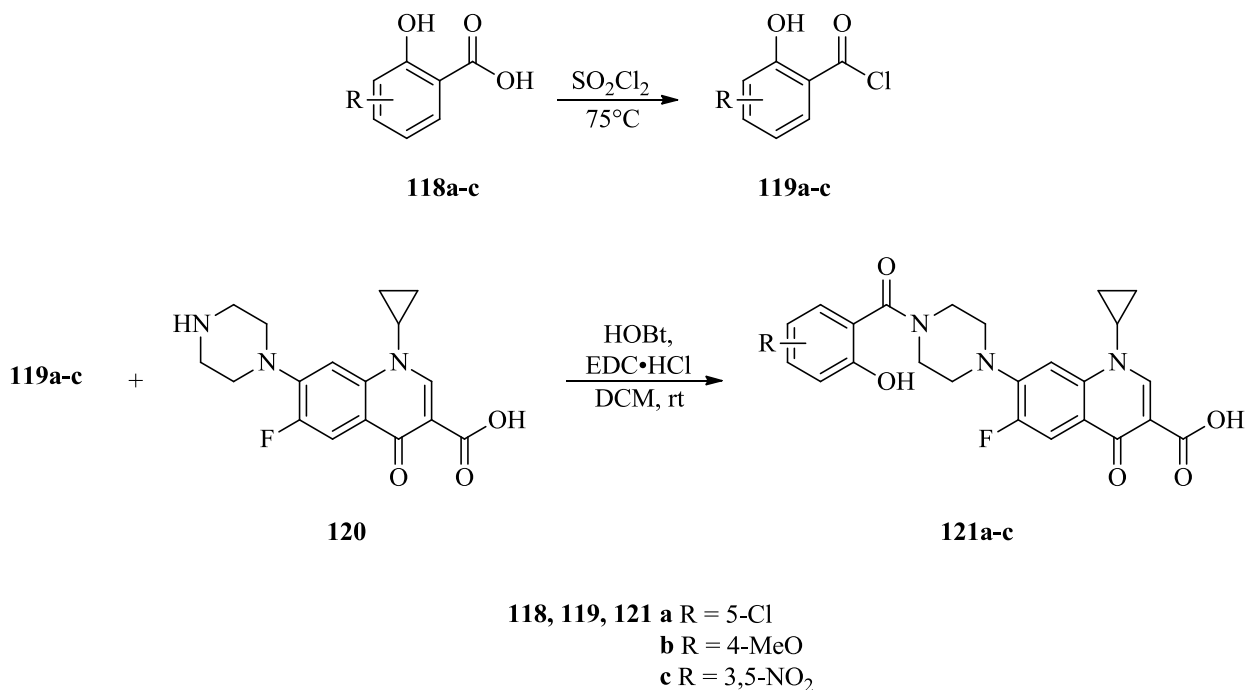


Схема 20 – Синтез производного 7-(пиперазин-1-ил)-1,4-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты

Модификация ранее рассмотренного тиазольного скэффолда позволила получить селективную серию тиазоло[5,4-с]пиридинов [24].

На схеме 21 продемонстрирована методика синтеза. *N*-замещённые пиперидин-4-оны **124a-b** получали по реакции Бухвальда-Хартвига с последующим снятием защитной группы. Синтез тиазольного кольца

проводили под действием цианамида и серы. После активации под действием CDI, присоединяли аминопроизводные имидазола **126**.

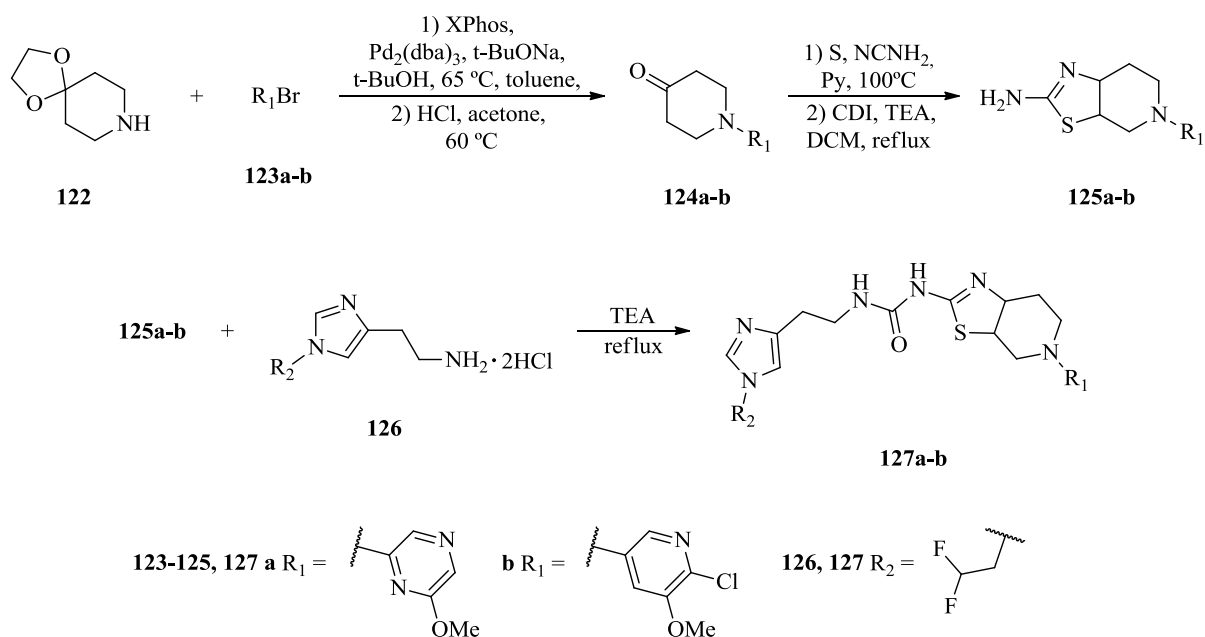


Схема 21 – Синтез производных тиазоло[5,4-*c*]пиридинов

Продукты **127a-b** в *in vitro* исследовании показали хорошую селективность, а **127a** показало наилучшие результаты ингибирования ($IC_{50} = 4$ нмоль).

Довольно простую методику синтеза 3,4-дизамещённых пиразолов в качестве ингибиторов PI3K γ [25] можно увидеть на схеме 22.

Пиразольное кольцо получали действием гидразина на полученный действием смеси DMF-DMA аминпропенон **129**. К проацелированному пиразолу **131** в присутствии STAB в кислой среде присоединяли ряд аминов **132a-b**.

Соединения **133a-b** ингибировали PI3K γ (при 10 мкмоль) на 61% (**133a**) и 73% (**133b**).

На схеме 23 представлен синтез селективного ингибитора 139, на основе изоиндолинового скэфолда [26].

Синтез изоиндолинового фрагмента проводили из сложноефирного производного **134** действием (*R*)-1-циклопропилэтанамин **135**. В присутствии Pd-катализатора довольно легко присоединили тиазольное производное **137** к бензольному циклу. Мезилированный продукт **139** был получен окислением сульфана под действием mCPBA.

Продукт **139** показал хорошую селективность, при этом значение pIC_{50} составило 8,1 (7,94 нмоль).

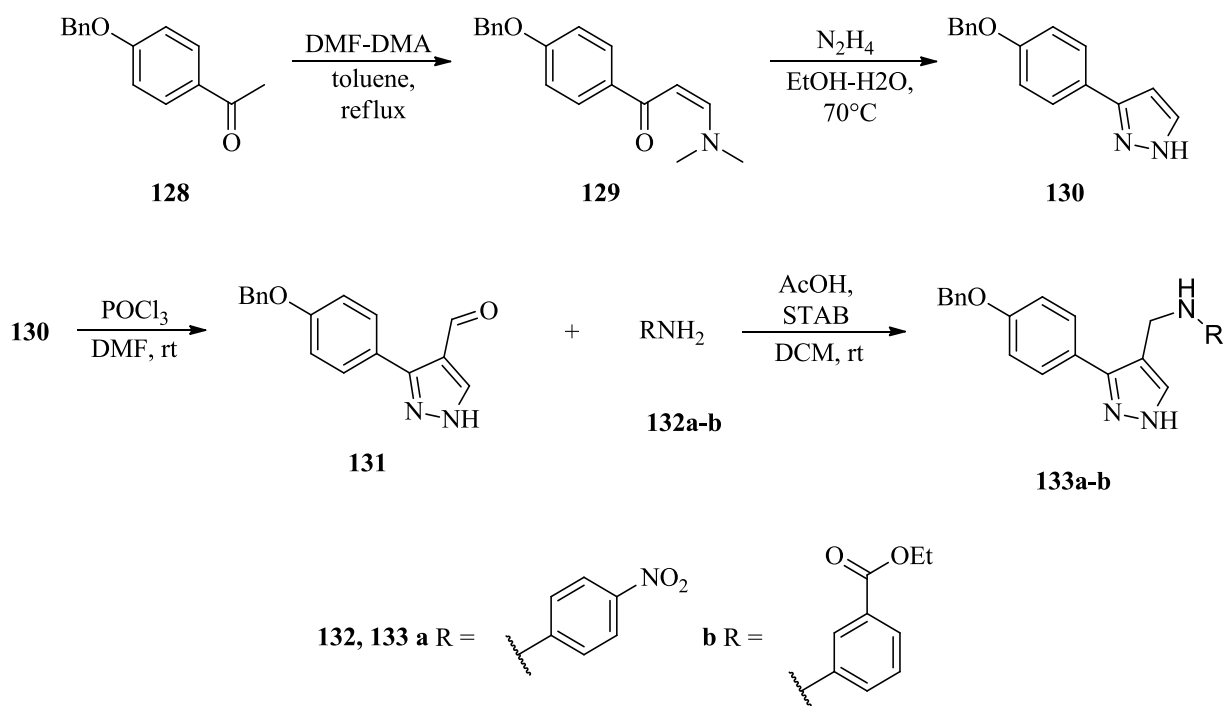


Схема 22 – Синтез 3-(4-(бензилокси)фенил)-4-арилзамещённых пиразолов

Ещё одна работа была посвящена оптимизация скаффолда изоиндалина до пирроло[3,4-*b*]пиридинового [27].

По общей методологии синтеза, представленном на схеме 24, синтез пиррольного кольца проводили в присутствии основания Хунига из никотината **140** с пиразол-4-амином **141**. По реакции Сузуки действием борного эфира **143** в положение 2 присоединяли арильный фрагмент.

Соединение **144** модифицировали *N*-алкилированием пиразольного участка и *S*-алкилированием α -положение пиррола.

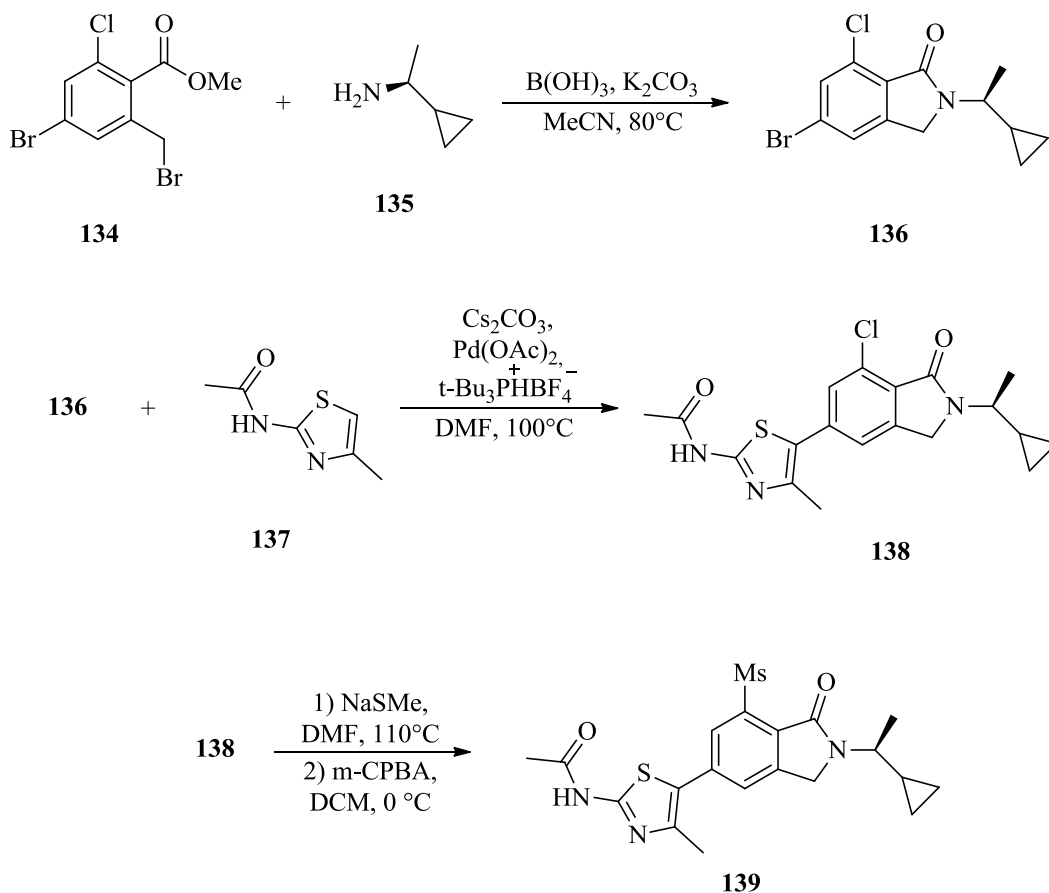


Схема 23 – Синтез производного 5-(тиазол-5-ил)изоиндолин-1-она

Выделенный продукт (*S*)-**147** высокую селективностью и отличное ингибирование *in vitro* ($\text{IC}_{50} = 7$ нмоль).

Не так давно, коллектив Drew в продолжение разработки изоиндолинового скаффолда получили ряд высокоселективных ингибиторов P13K γ [28].

На первой стадии синтеза к 2-бром-5-хлорпиразоло[1,5-*a*]пиримидину **148** по реакции Сузуки в 5 положение присоединяли производное изоиндола **149**. Ацетамидный фрагмент во 2 положении получали в присутствии реагента Бухвальда с соответствующим Pd-катализатором. *N*-

йодсукцинимидом получали соответствующее йод производное **154**, к которому по реакции сочетания Сузуки присоединяли ряд арильных производных **156a-c** (схема 25).

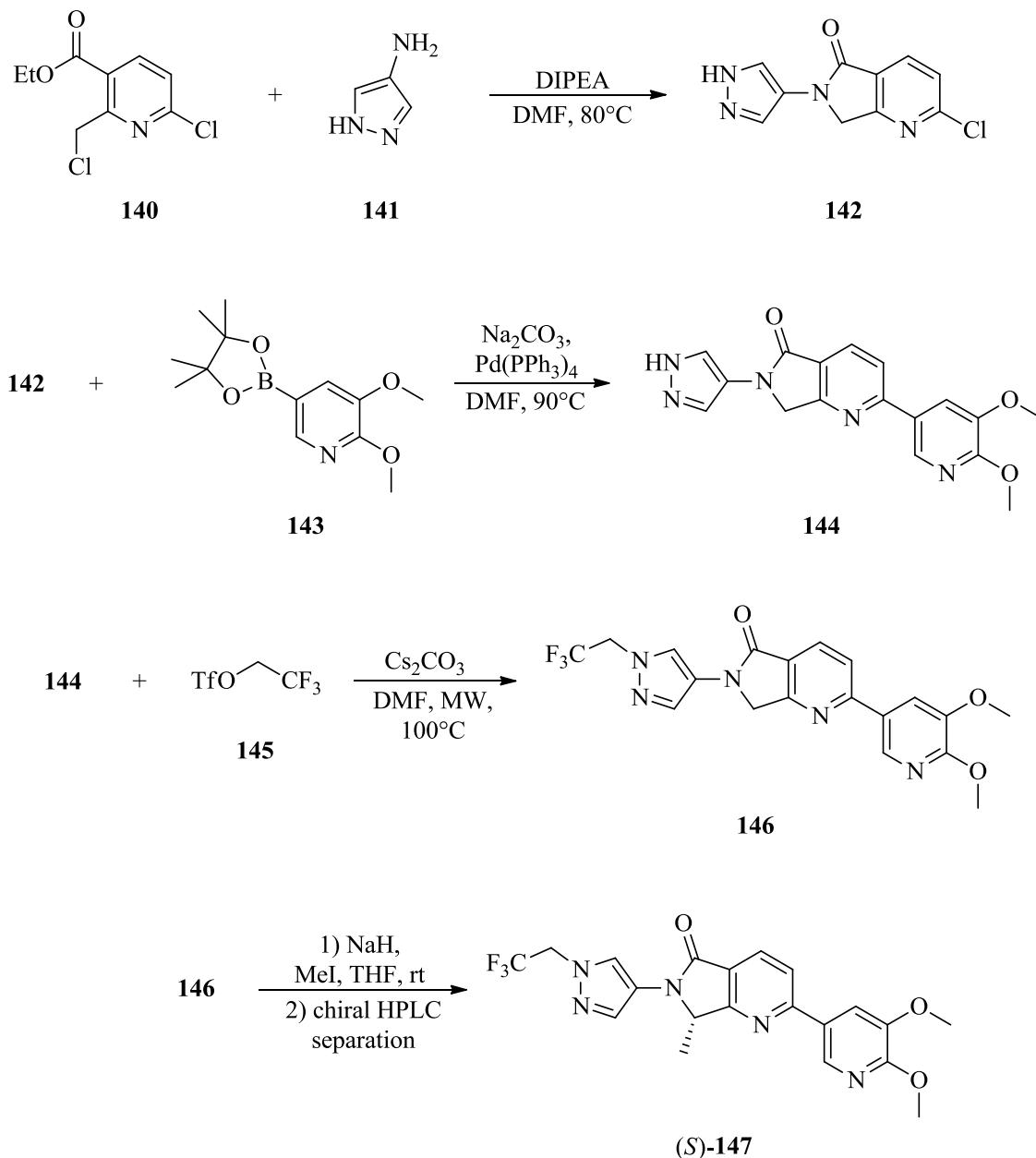


Схема 24 – Синтез 6-(пиразол-4-ил)-6,7-дигидропирроло[3,4-*b*]пиридин-5-она

Соединение **157a** ингибировало гамма-изоформу ($\text{IC}_{50} = 1.9$ нмоль) с высокой селективностью (>1000). При этом добавление дополнительного

метильного заместителя у цикла пиразола приводит к резкому падению по ПЗК α и ПЗК δ .

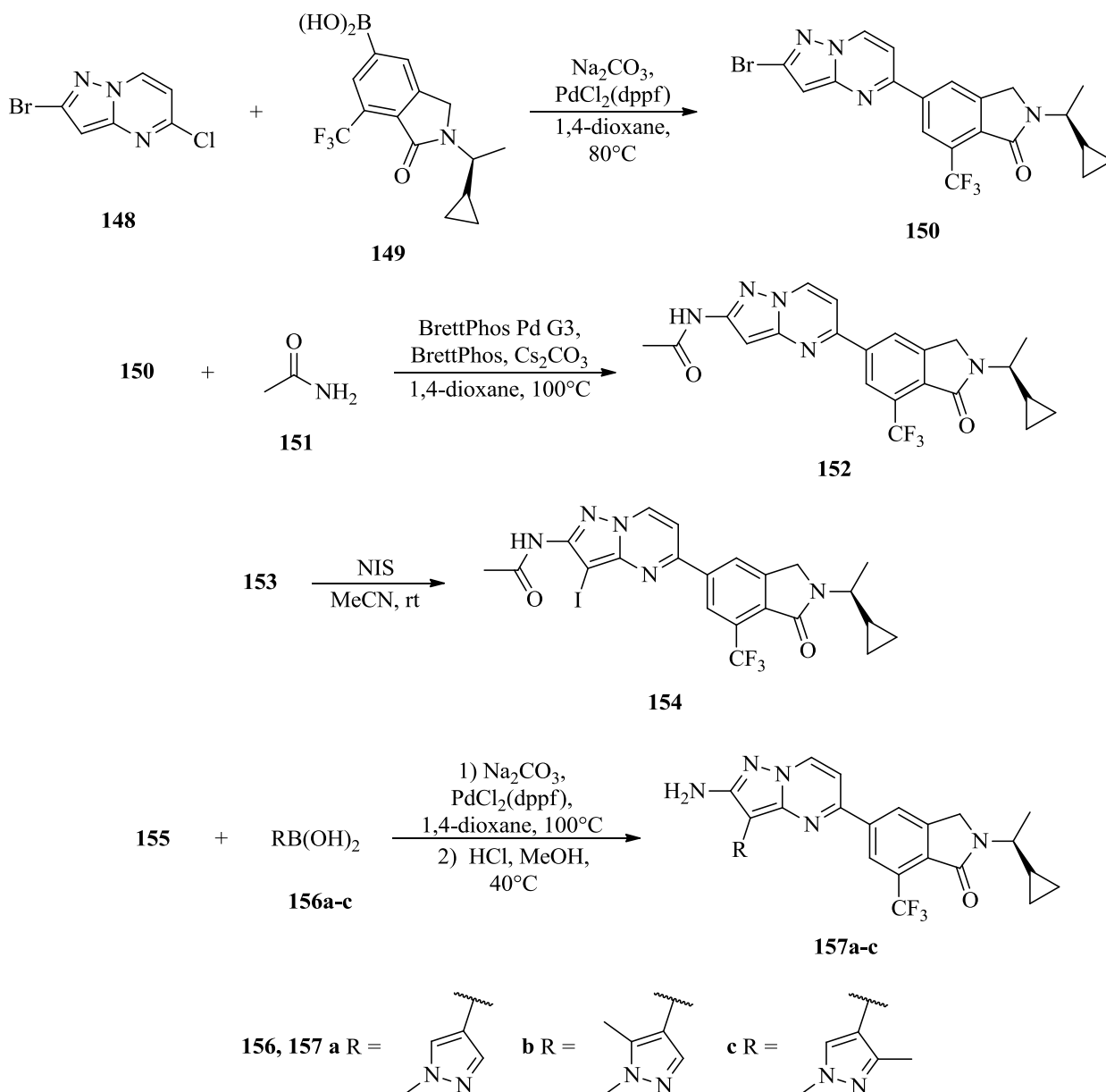


Схема 25 – Синтез производных изоиндолина

1.1.4 Селективные ПЗК δ ингибиторы

Класс селективных ингибиторов ПЗК δ в последние года приобрёл классификацию в зависимости от расположения участков ингибитора в сайте связывания дельта-изоформы: пропеллерный тип (объемные заместители по одну сторону), плоский тип (заместители по разные стороны) [29]. Для

ингибиторов РІЗКδ характерны вторичное связывание через линкер на основе пуринов, триазинов и их биоизостеров.

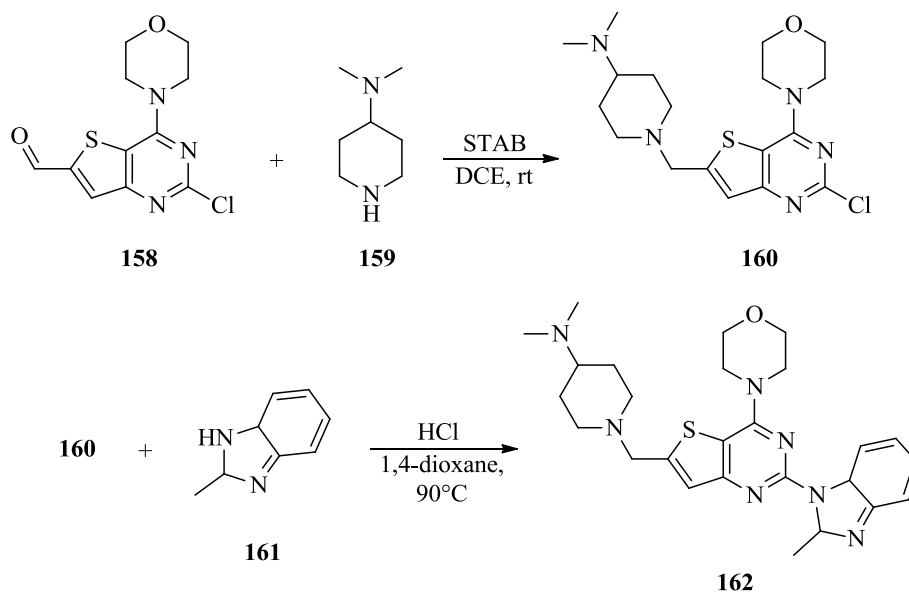


Схема 26 – Синтез 2-бензимидазол-4-мофолинтиено[3,2-*d*]пиримидина

Скаффолд тиено[3,2-*d*]пиримидина, наподобие пиктилисиба, является хорошей мишенью для синтеза ингибиторов РІЗКδ [30].

На схеме 26 представлен обобщённый синтез на примере получения 2-бензимидазол-4-мофолинтиено[3,2-*d*]пиримидина **162**. Восстановительным аминированием в присутствии STAB присоединяли соответствующий пиперидиновый цикл **159** в положение 6. Бензимидазол **161** и пиридинмидазолов вводили по реакции Бухвальда-Хартвига селективно в 2 положение морфолинозамещённого тиено[3,2-*d*]пиримидина **160**. Также применялся кислотный катализ.

Соединение **162** показало наилучшую селективность в отношении РІЗКδ ($IC_{50} = 2.7$ нмоль).

Пример получения серия пропеллерно-замещённых хинолинов, аналогичных иделалисибу показан на схеме 27 [31].

Хинолиновый фрагмент получали циклизацией *N*-защищённого 3-амино-1-(пиридин-2-ил)бутан-2-она **163** с 5-фториндолин-2,3-дионом **164** при

щелочном катализе. Карбамат получали действием амина **166** с использованием PyBop при основном катализе. В оптимизированных условиях присоединяли 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбонитрил **169**.

Соединение **170** показало высокую эффективность по дельта-киназе ($IC_{50} = 0.0024$ мкмоль).

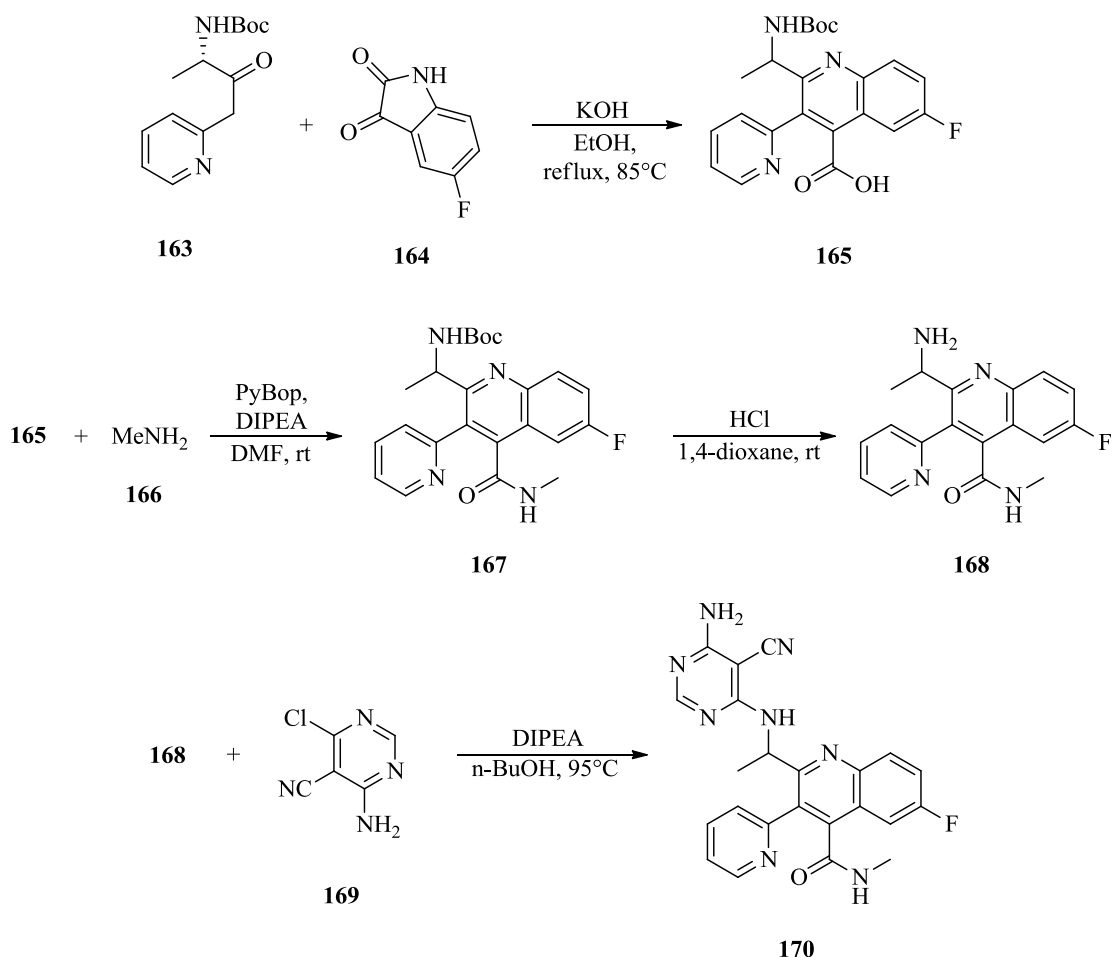


Схема 27 – Синтез производного 4-замещённого 6-фторхинолина

В 2016 году был проведён ряд синтезов по получению новых алкин-содержащих аналогов идедалисиба [32].

Так, на схеме 28, показан общий синтез на примере производного ряда 5-алкинилзамещённого хиназолин-4-она **178**. Синтез исходного хиназолин-4-она **174** проводили трёх компонентному синтезу *in situ* из 2-амино-6-бромбензойной кислоты **171**, защищённой α -аминомасляной кислотой **172** и

анилина **173** с добавлением трифенил фосфита. После снятия защиты, по реакции Соногаширы, действием терминального производного алкина **175**, синтезировали соответствующий 5-алкинилзамещенное производное **176**. Обработкой галоген производным пиридина **177** в присутствии основания получали итоговый хиназолин-4-он.

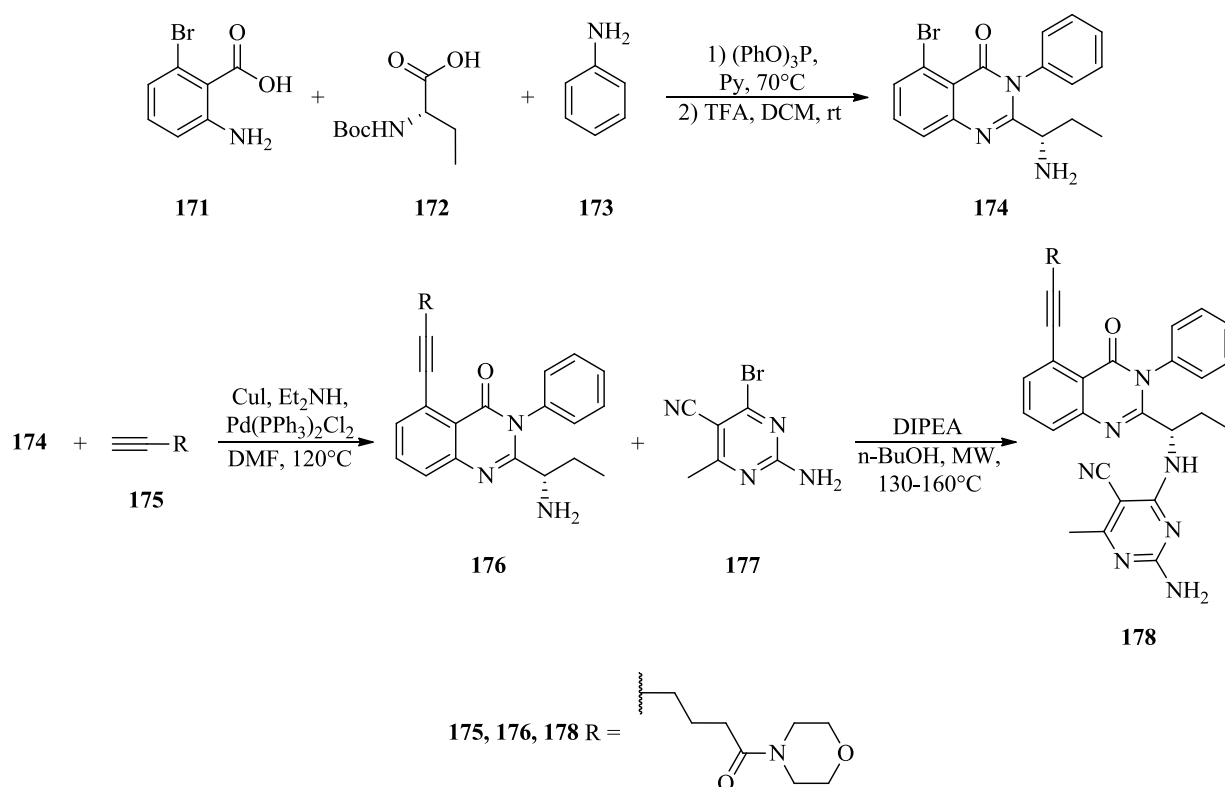


Схема 28 – Синтез производного 5-алкинилзамещенного хиназолин-4-она

Соединение **178** показало хорошую активность в оценке *in vitro* ($\text{IC}_{50} = 3.64$ нмоль).

В том же году были сообщения о синтез специфической серии 5,7-замещённых пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-аминов [33].

На схеме 29 по общей методологии синтеза описано получение наиболее эффективного ингибитора. 5-Пиразол производное **181** получали последовательно действием кислой соли *N,O*-диметилгидроксиламина **180** на соответствующий карбоксилат **179** с последующей присоединением

триметилсилилацетилену и образованием цикла **183** под действием диметиламина с добавлением замещённого гидразина. Действием борного эфира **160** присоединяли арильные фрагменты в положение 7 в условиях реакции Сузуки.

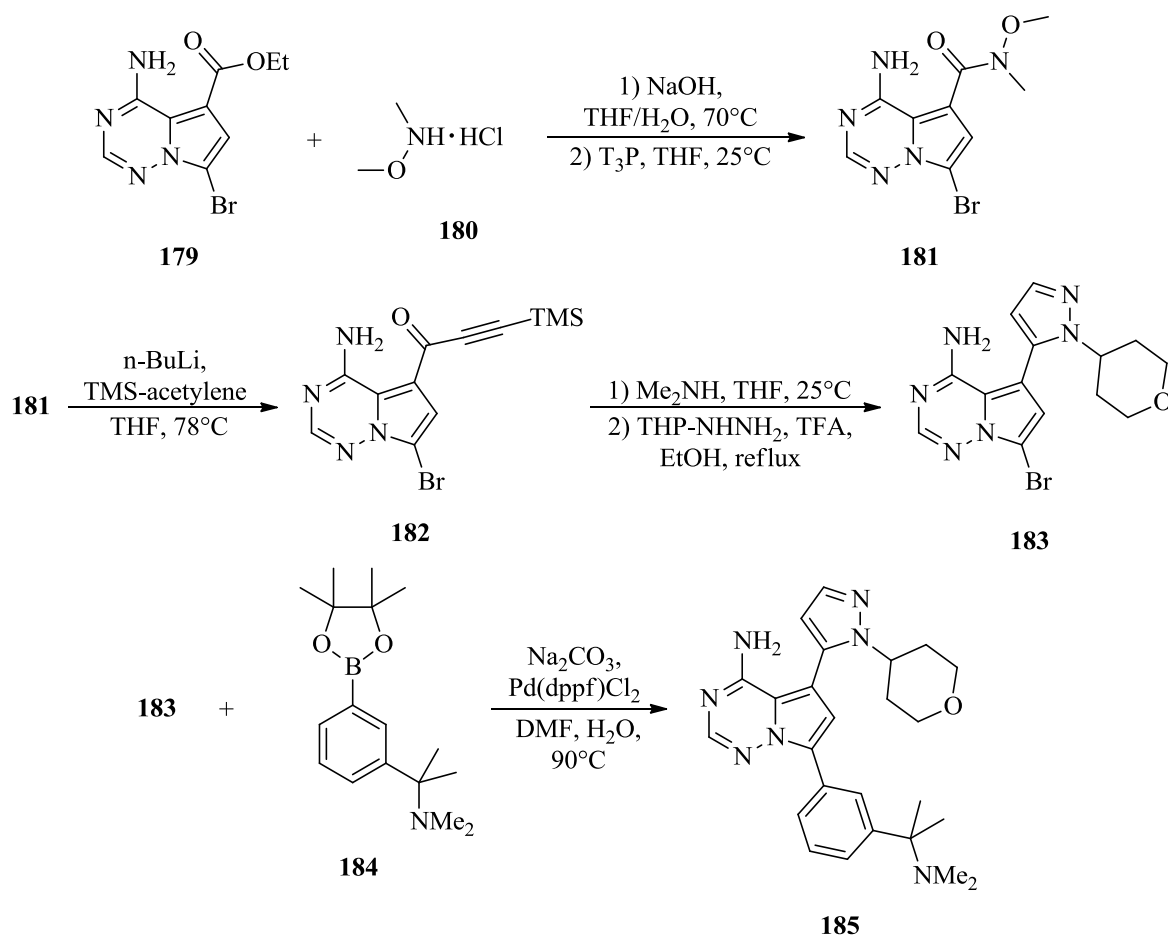


Схема 29 – Синтез 5,7-замещённых пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-аминов

Соединение **185** показало наилучшие результаты в подавлении дельта-киназы (IC₅₀ = 2 нмоль) с учётом высокой селективности *in vitro*.

Примерно в то же время появились данные о синтезе ряда 4,6-замещённых аналогов индазольных ингибиторов на бензоизофуранового скаффолде [34].

На схеме 30 показан синтез эффективного ингибитора из данного ряда. Сборку бензоизофурана проводили под действием симметричного эфира **190**

на исходный *N*-(5-этинил-2-метоксипиридин-3-ил)метансульфонамид **189** в присутствии рутениевого катализатора. Карбоксамид **169** получали действием карбоновых кислоты **194** в присутствии HATU на соответствующий амин **193** в мягких условиях.

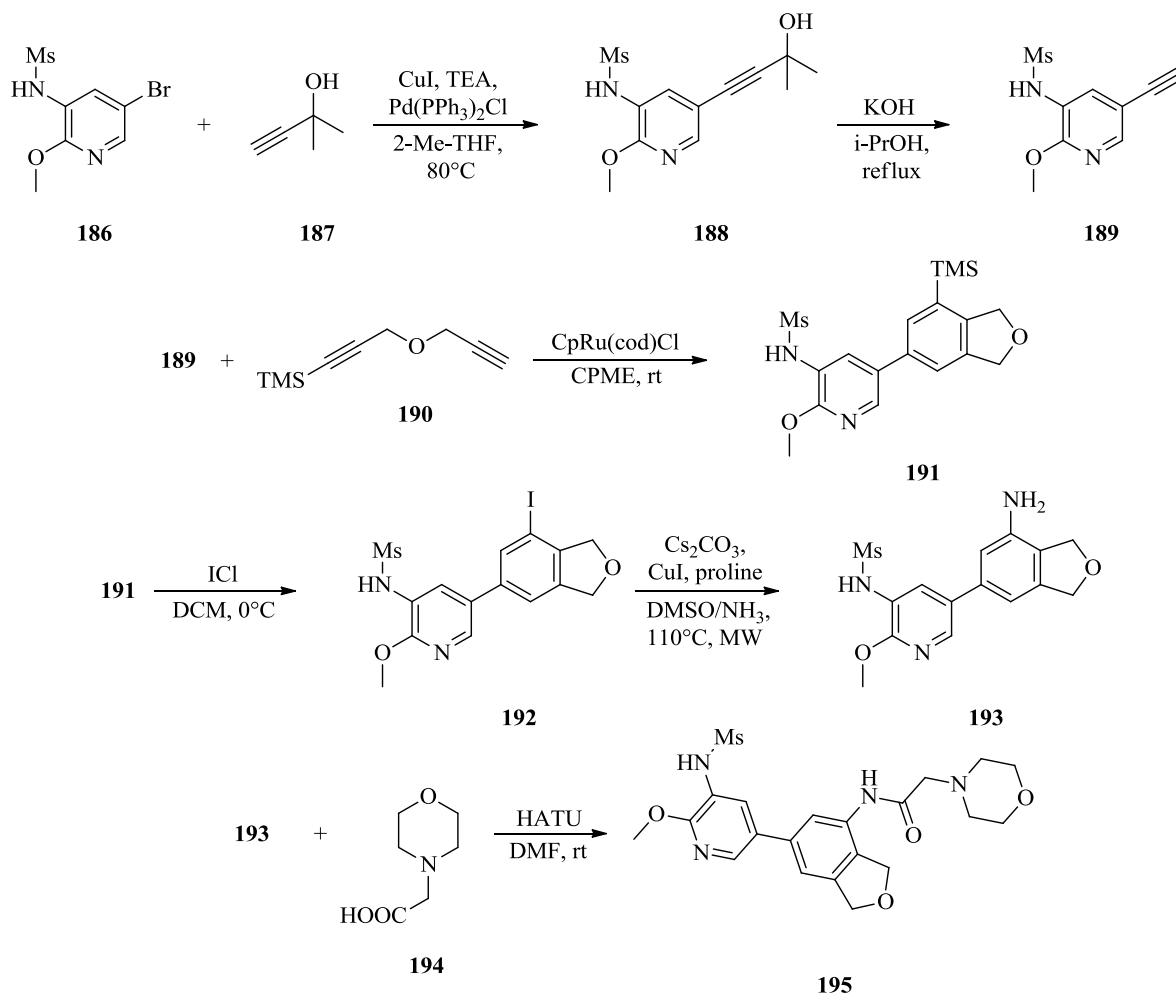


Схема 30 – Синтез 4,6-замещённого бензоизофурана

К сожалению, соединение **195** проявило слабую ингибирующую активность ($IC_{50} = 15.8$ мкмоль),

Дизайн на основе пиктилисиба и иделалисиба привёл к исследованию серии 7-арилзамещённых 3-метилтиазоло[3,2-*a*]пиридин-5-онов [35].

Так, на схеме 31 показан синтез одного из потенциальных ингибиторов данного ряда. После снятия защитной группы с аминогруппы, эффективный

аминовый линкер получали действием карбонитрила аминопиримидина **169**. Введение арильных заместителей в 6 положение проводили по реакции Сузуки с соответствующей борной кислотой **199**.

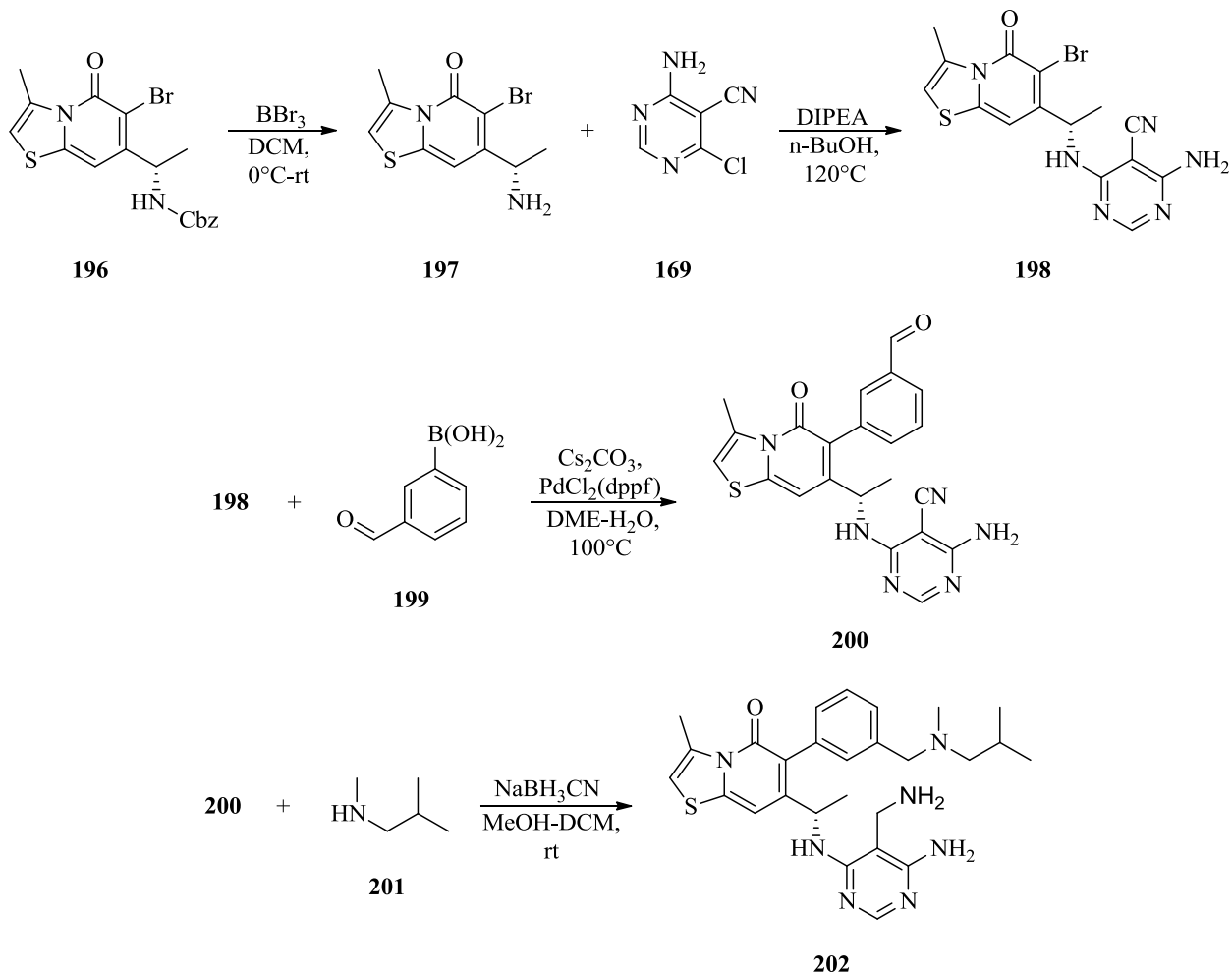


Схема 31 – Синтез 7-арилзамещённого 3-метилтиазоло[3,2-*a*]пиридин-5-она

Соединение **202** показало высокую противокиназную активность ($\text{IC}_{50} = 8.9$ мкмоль)

В 2017 году ряд исследователей получили высокоселективные ингибиторы на основе 1,2,4-триазолилзамещённых пиазин-2-аминов [36].

Так, на схеме 32 представлен синтез соединений из данного ряда. Сборка триазольного фрагмента проводилась последовательно: по реакции

Бухвальда-Хартвига с галогенозамещённым пиразин-2-амином **203** с генерацией нитрила **204**, который с метилгидразином **205** и активированной карбоновой кислотой **207** дал соответствующий аннелированный продукт **208**. Присоединение ряда схожих арильных скаффолдов в положение 3 проводили в условиях реакции Сузуки действием борных кислот **211a-b**.

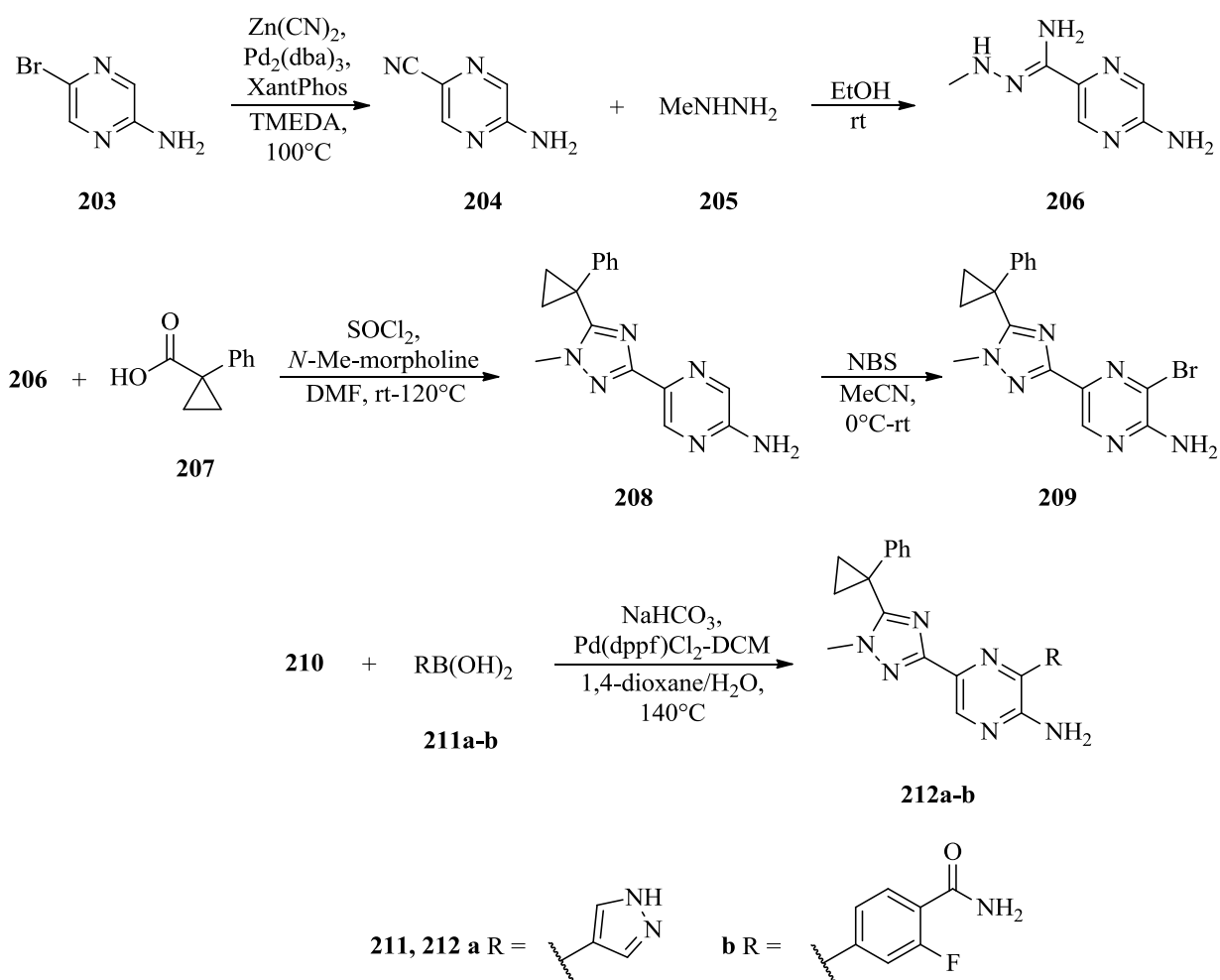


Схема 32 – Синтез 1,2,4-триазолилзамещённых пиразин-2-аминов

Соединения **212a-b** показали высокую специфичность ингибирования (более чем в 1000 раз эффективнее по дельта-изоформе) и высокие результаты ингибирования ($\text{IC}_{50} = 0.9$ нмоль).

В 2018 году группа исследователей сообщила об исследовании целого ряда *N*-ацетамидов 5-аминоарилзамещённых 4-метилтиазолов в качестве селективных ингибиторов PI3Kδ [37].

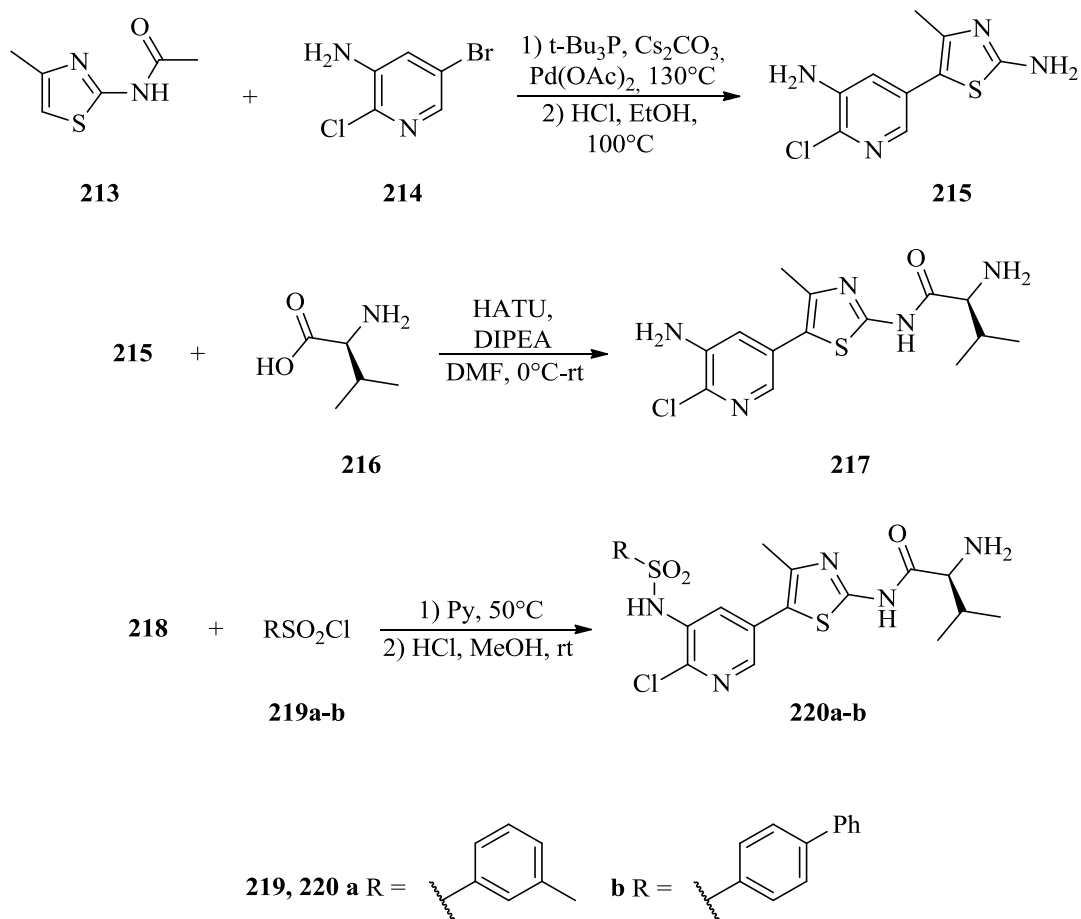


Схема 33 – Синтез *N*-ацетамидов 5-аминоарилзамещённых 4-метилтиазолов

На схеме 33 представлен общий подход к синтезу соединений данного ряда. Арилзамещённые производные **214** вводили в условиях реакции Хека. Ряд *N*-ацетамидов **217** получали действием карбоновых кислот, в данном случае валином **216**. Действием сульфонилахлоридов **219a-b** получали ряд сульфоаминозамещённых арильных фрагментов в итоговых соединениях **220a-b**.

Соединение **220a** показало наилучшие результаты в подавлении пролиферации ($IC_{50} = 6.0$ нмоль). Наличие объемных арильных фрагментов снижало эффективность связывания и, соответственно, активность.

В работе команды J.L. Methot, о которой было сообщено в 2019 году, на основе 8-(1-этил-5-метилпиразол-4-ил)-9-метилпуринового патента был получен ряд его аналогов, как потенциальных ингибиторов P3K δ [38].

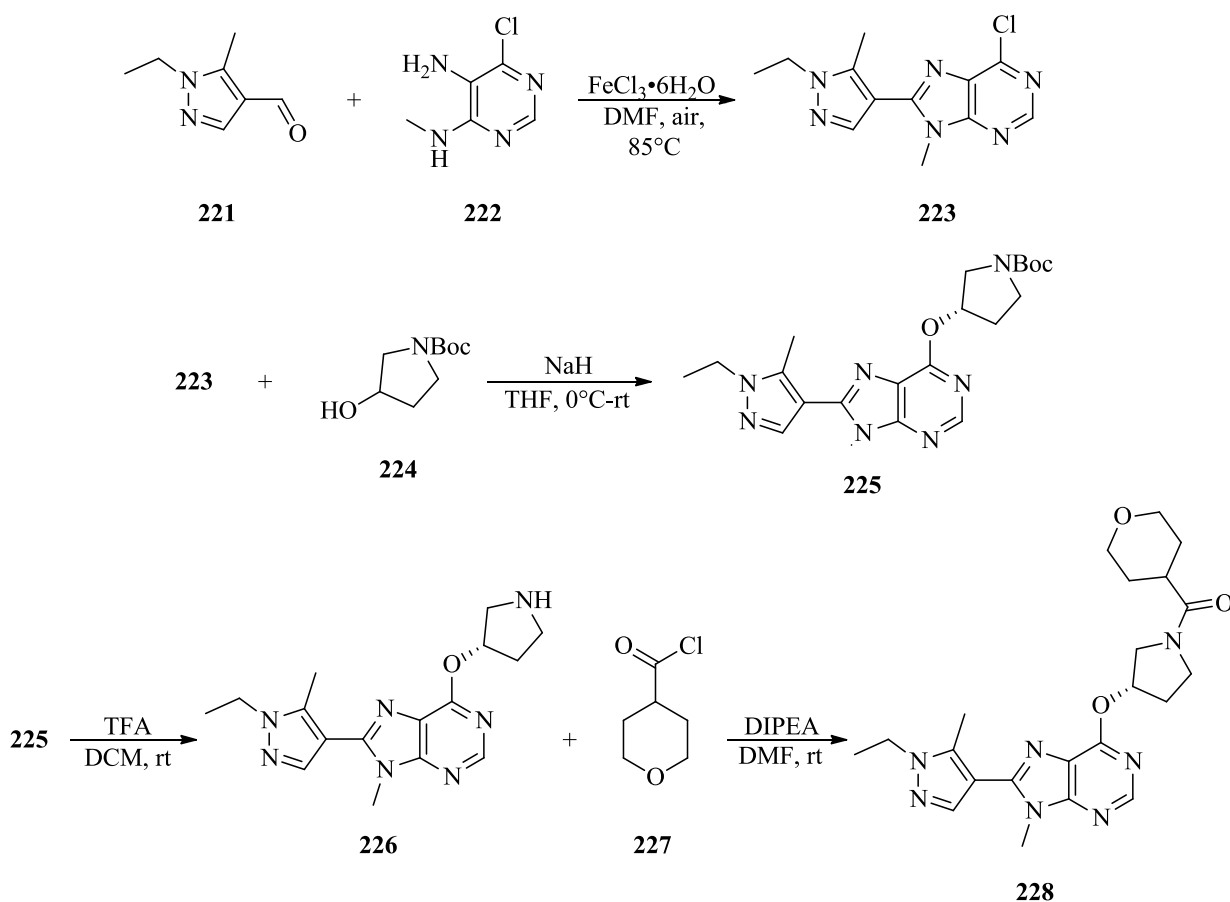


Схема 34 – Синтез производного 6,8-замещённого 9-метилпурина

На схеме 34 представлен обобщённый синтез данного ряда на примере получения соединения **228**. Синтез 8-(1-этил-5-метилпиразол-4-ил)-9-метилпурина **123** проводили циклизацией карбальдегида **221** с аминопиримидином **222**. В положение 6 вводили пиперидиновые аналоги, в данном случае 3-гидроксипирролидин **224**. После снятия защиты с

аминогруппы, к ней присоединяли галогенангидрид **227**, как химический эквивалент имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-она.

Соединение **228** в условиях *in vitro* продемонстрировало отличное ингибированием PI3Kδ (IC₅₀ = 3.9 нмоль) с высокой селективностью.

Команда М. Егга в 2018 году провели качественную работу по синтезу ряда 5-метил-3-фенил-2-аминопирролопиримидинилзамещённых и 5-метил-3-фенил-2-аминопиримидинилзамещённых пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-онов [39]. Данные соединения можно сопоставить по свойствам с некоторыми бициклическими пирролопиримидинами.

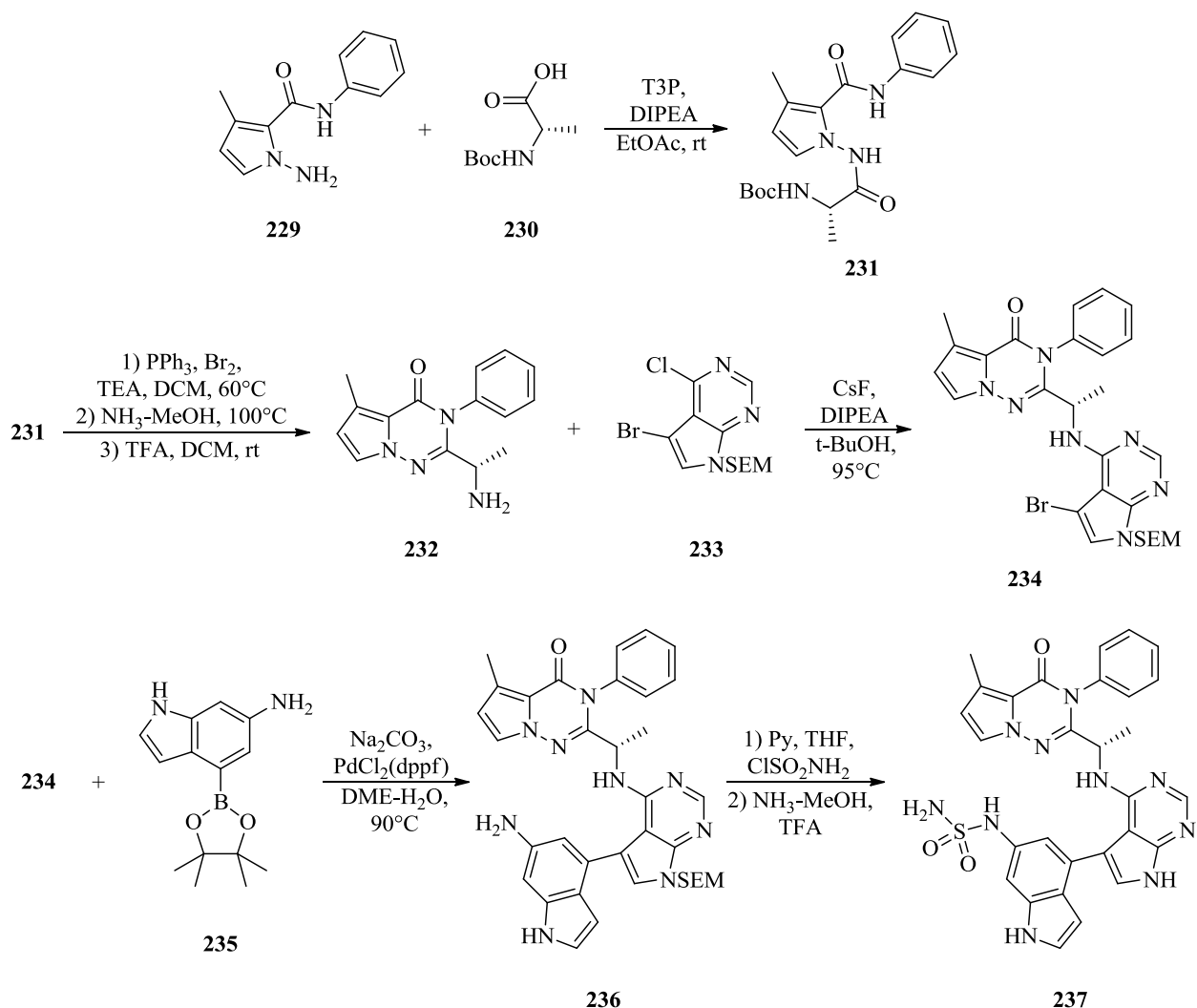


Схема 35 – Синтез 2,3,5-замещённого пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-она

На схеме 35 показан общий синтез на примере получения соединения **237**. Синтез замещённого триазинового фрагмента получали внутримолекулярной циклизацией карбамата **231**. После снятия защиты, получали продукт замещения **234** действием галогенпроизводного пирролопиримидина **233**. По Сузуки производили сочетание соединения **235** с пиррольным циклом.

Соединение **237** показало отличные свойства *in vitro* ($IC_{50} = 0.5$ нмоль)

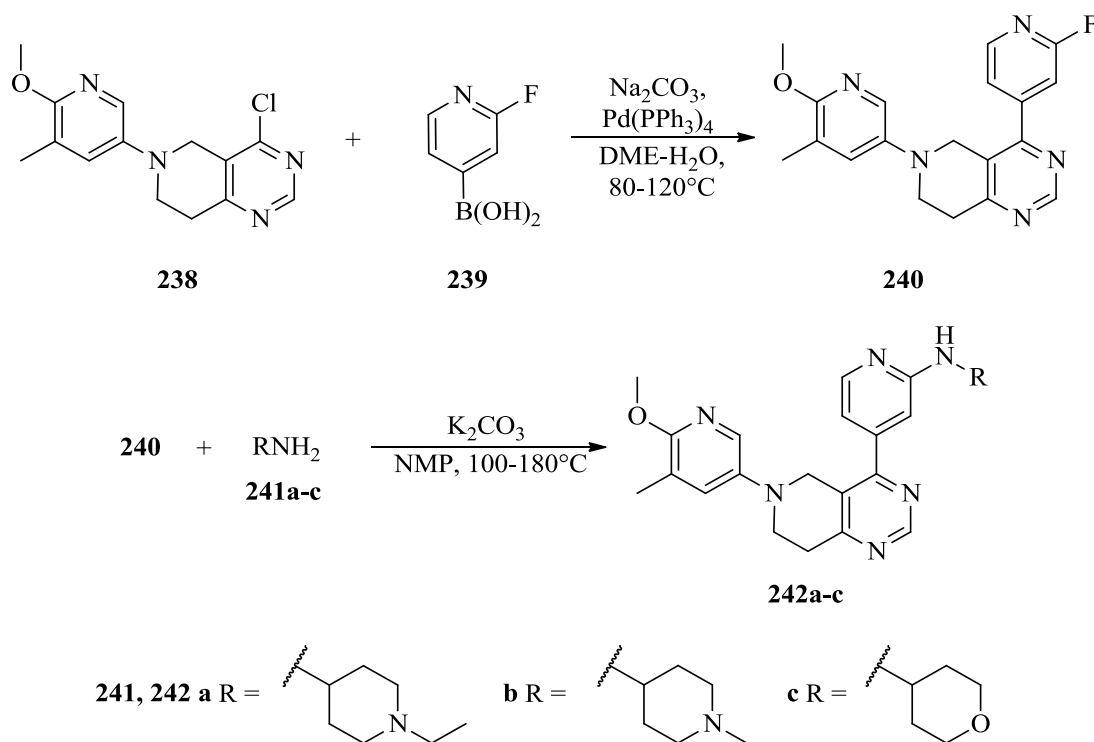


Схема 36 – Синтез 4-арилзамещённых тетрагидропиридо[4,3-*d*]пиримидинов

В начале 2019 года был опубликован синтез ряда потенциально селективных ингибиторов PI3Kδ на основе тетрагидропиридо[4,3-*d*]пиримидинов [40].

Синтез наиболее активных ингибиторов киназы представлен на схеме 36. В положение 4 пиримидинового фрагмента присоединяли анилиновые производные при кислотном катализе, а также ряд пиридиновых **239** и

пиразольных борных кислот по Сузуки. Для ряда пиридиновых замещённых в положение 2 пиридинового фрагмента присоединяли ряд аминов **241a-c**.

Соединения **242a-c** показали наилучшие результаты ($IC_{50} = 7-14$ нмоль) в ингибировании РІЗКδ. Соединение **242a** было более эффективным ингибитором в *in vitro* исследовании ($IC_{50} = 7.0$ нмоль).

В 2020 году появились сообщения о синтезе серии производных 6-пиридинхиназолинов и 6-хинолинхиназолинов с фрагментами акриламиданилина в 4 положении, как селективных ингибиторов РІЗКδ, наподобие дактолисиба [41].

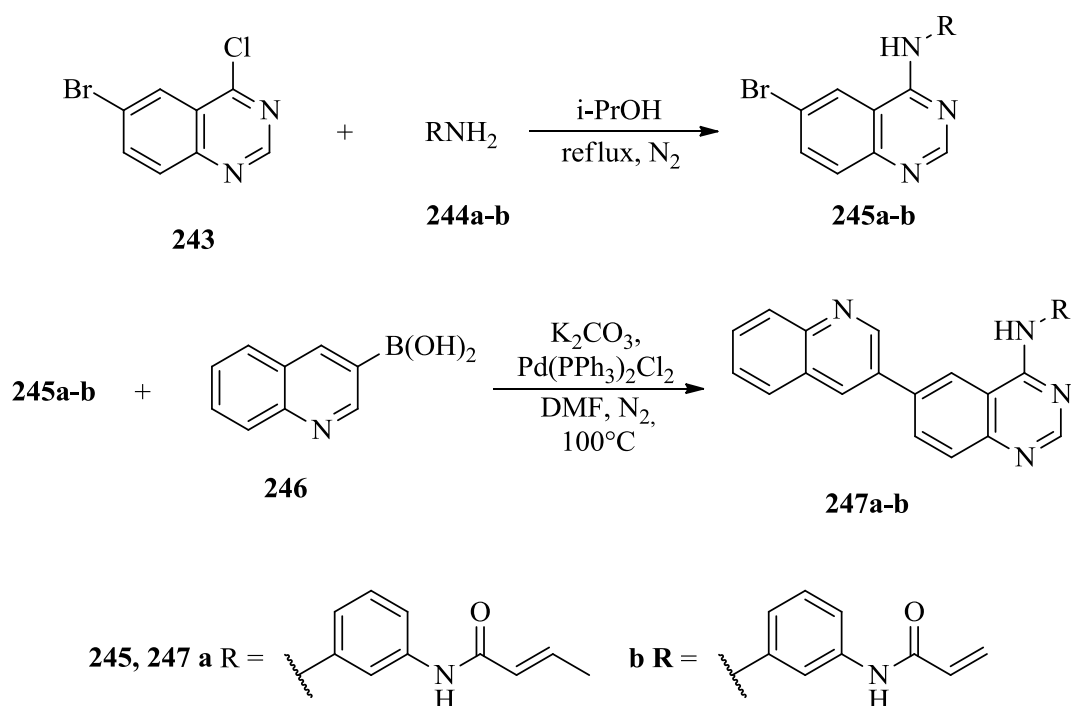


Схема 37 – Синтез 4,6-замещённых хиназолинов

На схеме 37 представлен синтез пары соединений данного ряда. Как и в предыдущих случаях, присоединение производных анилина **244a-b** проводили кипячением в изопропанол. По реакции Сузуки действием пиридиновых и хинолиновых борных кислот **246** получали исследуемые 4,6-замещённые хиназолины **247a** и **247b**.

Соединение **247b** показало наилучшую селективную активность по дельта-киназе. Более чем в 2 раза лучше, чем дактолисиб ($IC_{50} = 27.5$ нмоль) и при этом имеет повышенную селективность.

1.1.5 Ран-ингибиторы P13K

Большое количество работ по исследованию киназных ингибиторов включает в себя получения хоть и не моноселективных, но крайне специфичных по отношению к 2-м и более изоформам P13K. Особую препаративную значимость имеют соединения проявляющие антипролиферативную активность по 2-м изоформам, реже по 3-м изоформам P13K. Особенностью данных ингибиторов является наличие основных связывающих областей в структуре (например, морфолин для альфа-киназы и бета-киназы), характерных для различных изоформ [42].

Из работы команды Conzalez в 2012 году стало ясно, что ряд индазольных производных 8-морфолиноимидазо[1,2-*a*]пиразины способны проявлять высокую селективность по отношению к альфа-киназе и дельта-киназе и также показывать хороший ингибирующий отклик [43].

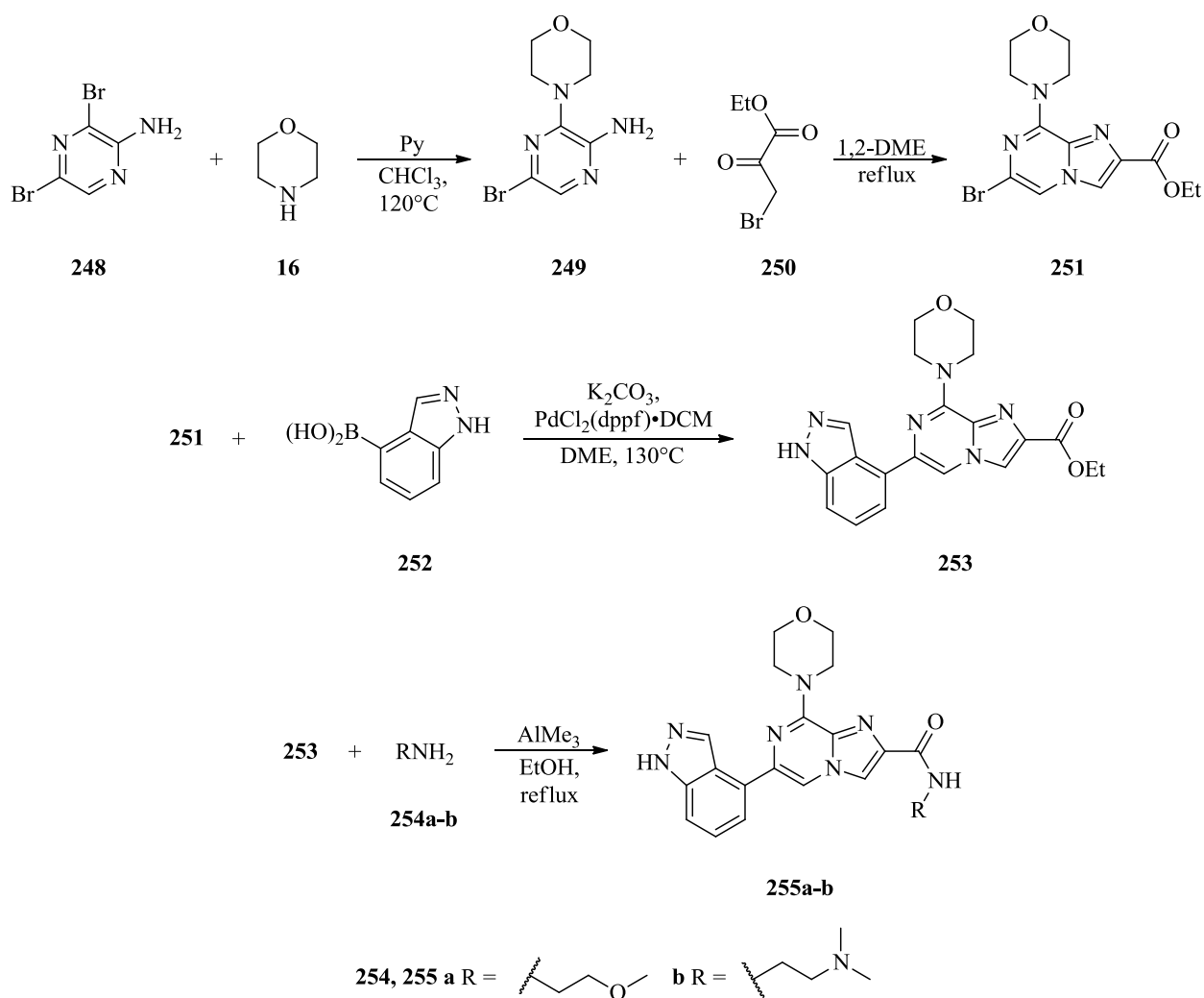


Схема 38 – Синтез 8-морфолиноимидазо[1,2-*a*]пирозинов

Синтез целевых молекул проводили последовательной надстройкой цикла имидазо[1,2-*a*]пиразина из аминопроизводного пиразина **249** действием *a*-галогенкетона **250**. В условиях Сузуки, селективно в 6 положение вводили индазольный фрагмент. Часть активных целевых соединений синтеза была получена путём аминирования первичными аминами **254a-b** (схема 38).

Итоговые соединения **255a-b** продемонстрировали отличное селективное ингибирование альфа- и дельта-киназы. Соединение **255a**, в особенности, по фармакокинетическому профилю показало хорошую

метаболическую стабильность в клетках печени человека (75% после 30 мин).

В 2012 году группа F. Gonzalez-Lopez de Turiso опубликовала синтез потенциальных дуальных ингибиторов PI3K δ и PI3K β на основе 4-пирроло[3,2-*b*]пиридинилзамещённых 2-арил-3-метилхинолинов [44].

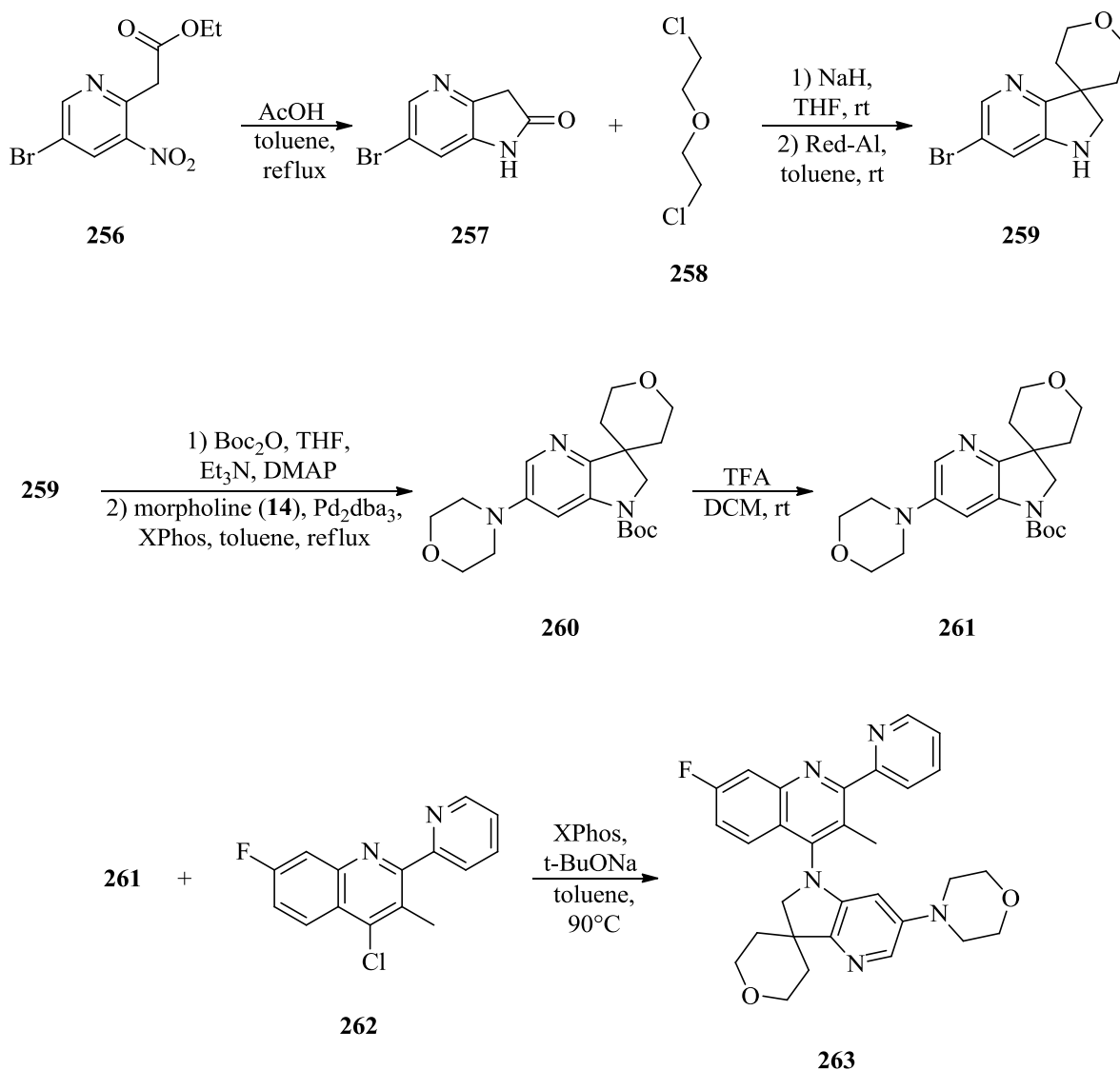


Схема 39 – Синтез 4-замещённых 2-арил-3-метилхинолинов

На схеме 39 показана обобщенная методология синтеза на примере получения соединения **263**. Так, исходный 6-бромпирроло[3,2-*b*]пиридин-2-он **257** получали кислотнo катализируемой циклизацией 2-(5-бром-3-нитропиридин-2-ил)этилацетата **256**. Spiроциклический фрагмент в 3

положении получали действием симметричного дигалогена **258** в присутствии ненуклеофильного основания с добавлением Red-Al. После введения морфолина в 6 положение и последующего снятия защитной группы, присоединяли замещённый хинолин **262** условиях реакции Бухвальда-Хартвига.

Соединение **263** проявило отличные ингибирующие свойства по РІЗКδ (IC₅₀ = 11 нмоль) и показало предпосылки для оценки эффективности *in vivo*.

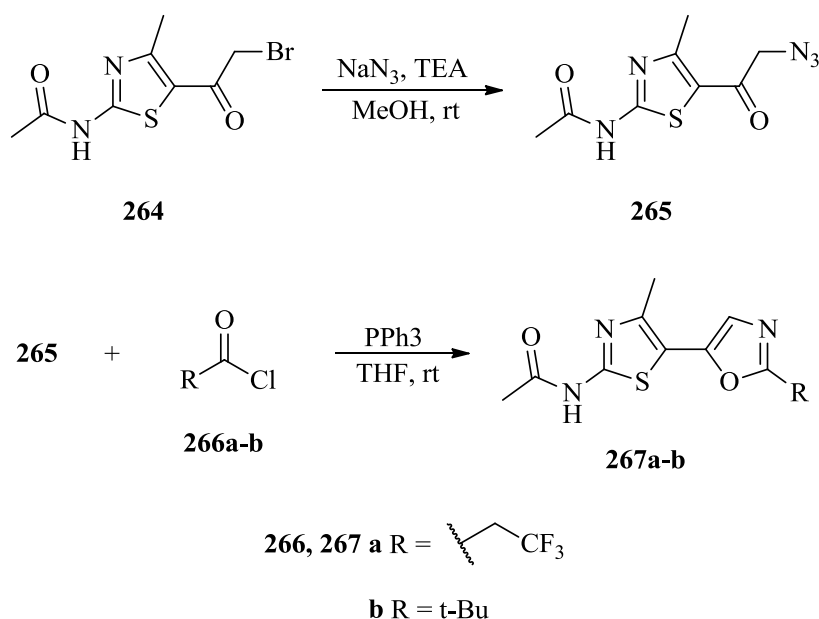


Схема 40 – Синтез *N*-ацетамидов 5-(оксазол-5-ил)тиазолов

Группа Ока в своей работе, опубликованной в 2012 году, рассмотрели ряд тиазол-оксазолов скаффолдов в качестве дуальных ингибиторов РІЗК α/γ [45].

На схеме 40 из исходного *N*-(5-(2-бромацетил)-4-метилтиазол-2-ил)ацетамида **264** под действием азиды натрия получали азид **265**. Под действием хлорангирида **266a-b** получали оксазолиновый цикл в условиях реакции аза-Виттига.

Соединения **267a-b** отлично проявляли дуальную селективность. Для соединения **267a** наблюдалось наилучшее сочетание ингибирования (PI3K α IC₅₀ = 10 нмоль, PI3K γ IC₅₀ = 43 нмоль) и селективности.

В 2016 году, Varlaam и коллеги опубликовали работу по синтезу потенциальных дуальных ингибиторов дельта- и бетта-киназ на основе замещённых хроменов [46].

На схеме 41 показана общая методология синтеза. Карбоксамидный фрагмент в положении 6 получали действием кислой соли амина **269** на соответствующий карбоксилат **268**. Бензоксазин **276** присоединяли в положение 8 в присутствии DIPEA после генерирования спиртов с последующим селективным галогенированием.

Соединение **277** показало хорошие результаты *in vitro* (IC₅₀ = 47 нмоль).

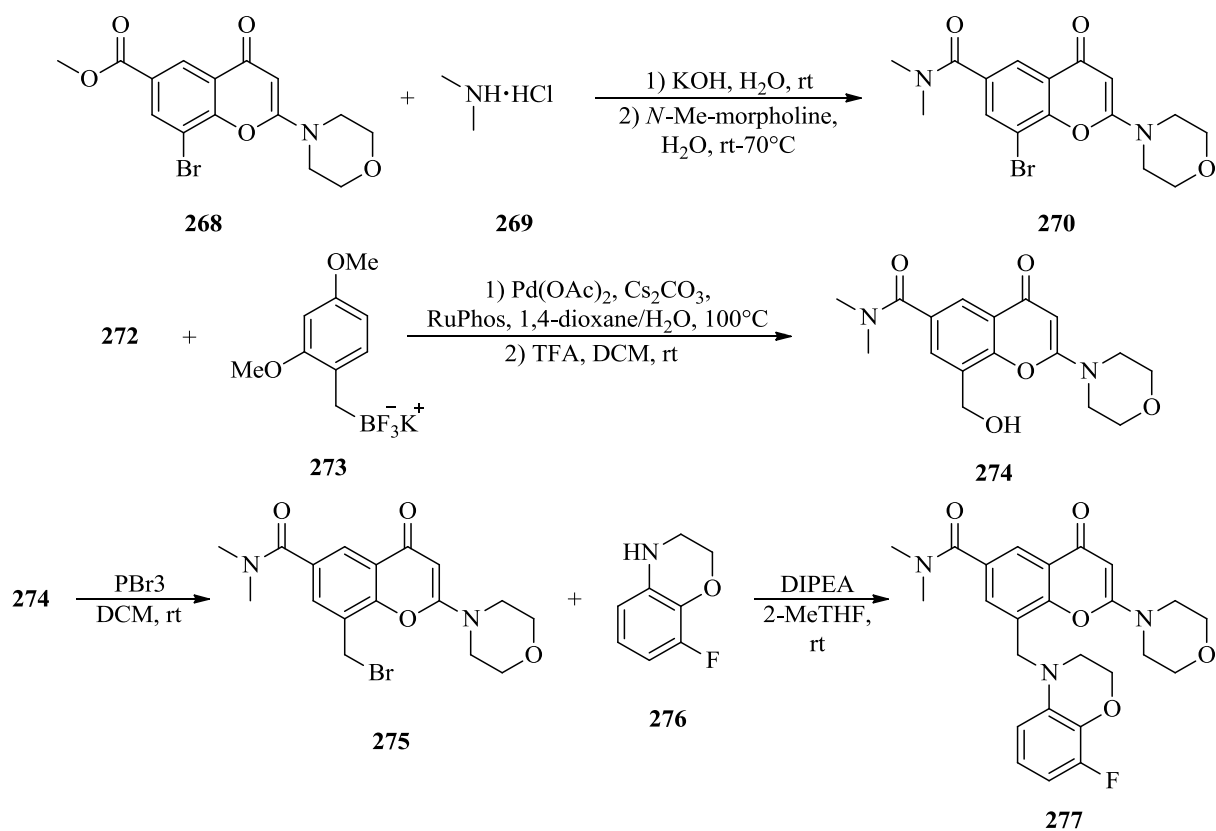


Схема 41 – Синтез производного 2,6,8-замещённого хромена

Также в 2017 сообщили о работе по анализу скаффолда 3-пиразолилзамещённых хиназолин-4-онов [47].

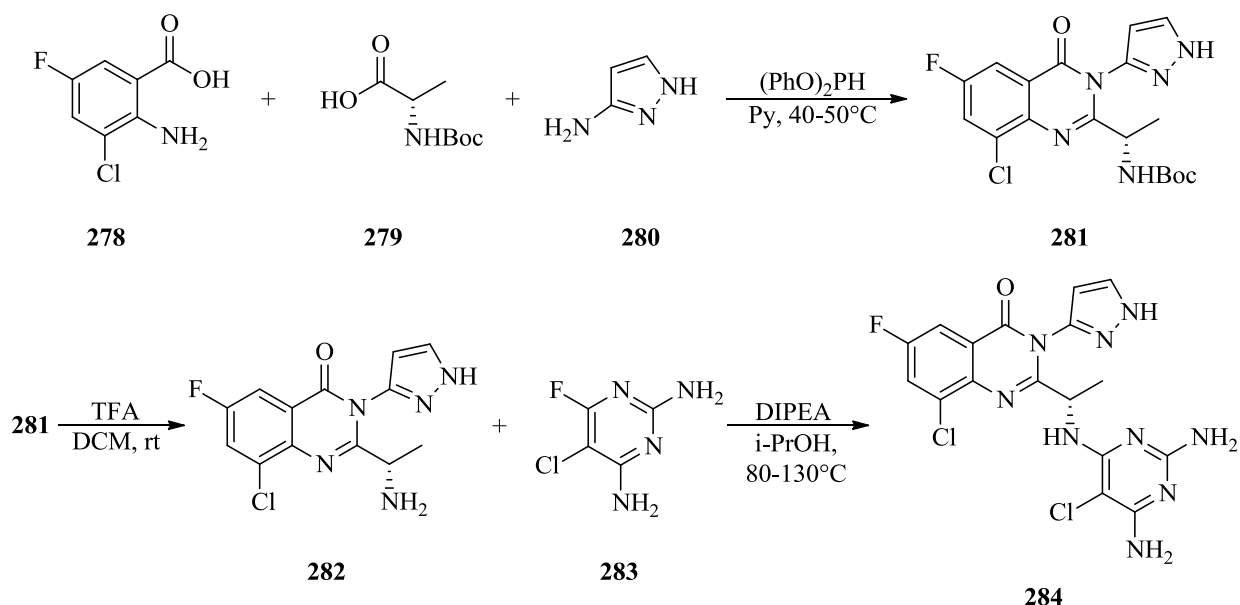


Схема 42 – Синтез 3-пиразолилзамещённого хиназолин-4-она

На схеме 42 представлен синтез активного ингибитора из данного ряда. По трёх компонентному синтезу получали 2,3-замещённый хиназолин-4-он действием на 2-аминобензойную кислоту **278** защищённой аминокислотой **279** и аминопирразолом **280**. После снятия защиты, к аминovому спэйсеру присоединяли пиримидиновое производное **283** с использованием DIPEA в качестве основания.

Соединение **284** в *in vitro* исследовании проявляло смешанную активность к Р1ЗК β ($\text{IC}_{50} = 7.8$ нмоль) и Р1ЗК δ ($\text{IC}_{50} = 5.3$ нмоль).

В следующем году, появились сообщения о синтезе ряда производных пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-онов через циклический аминовый спэйсер [48].

На схеме 43 представлена общая методология синтеза. Получение триазинового фрагмента проводили из защищённого карбамата **286**. Арильный фрагмент присоединяли в положение 3 действием борной кислоты

245 по реакции сочетания. После снятия защиты, к продукту **290** присоединяли пиридиновое производное **291**.

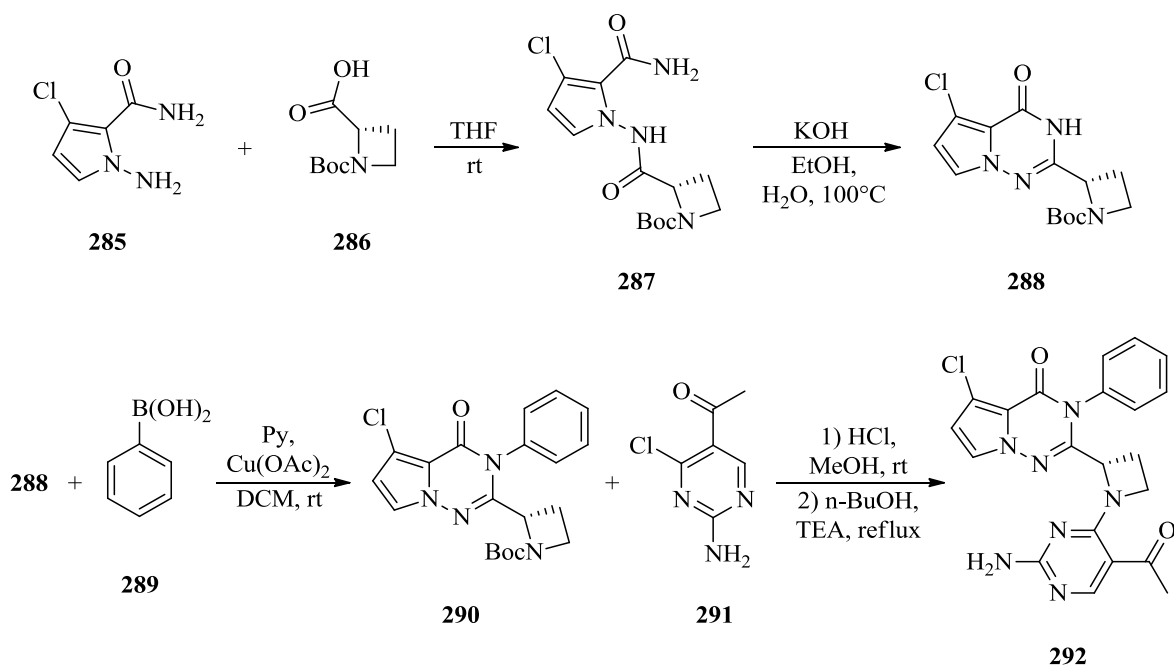


Схема 43 – Синтез 2,3,5-замещённых пирроло[2,1-*f*][1,2,4]триазин-4-онов

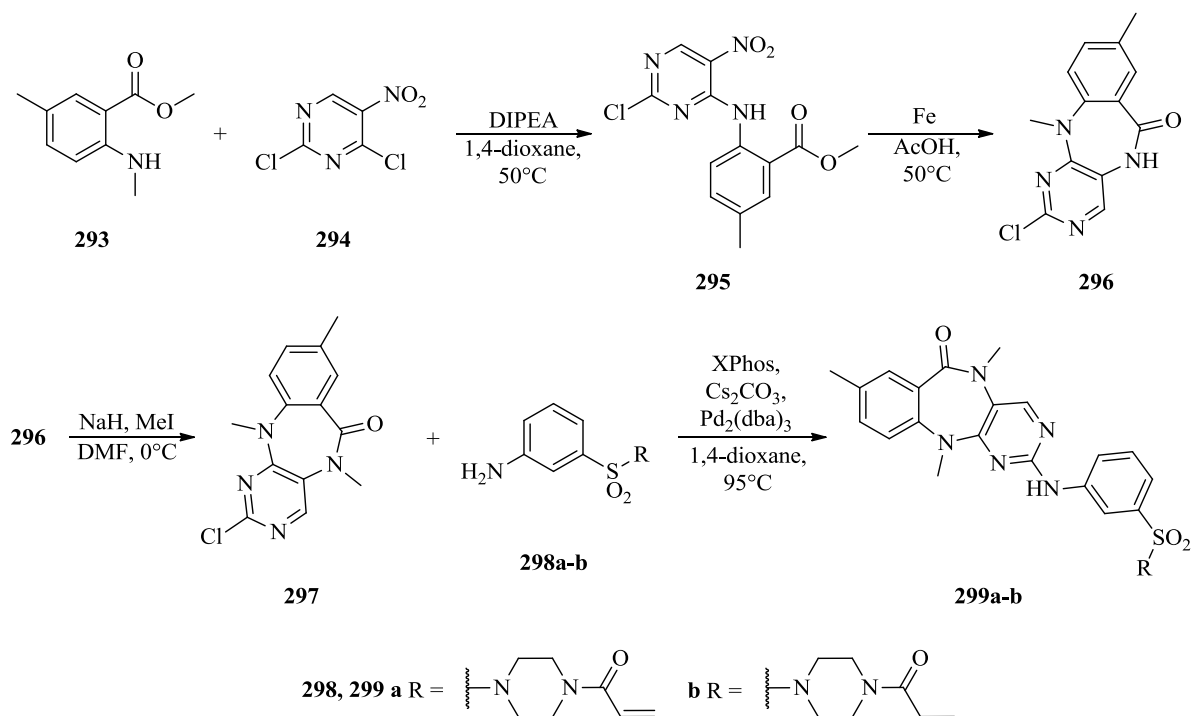


Схема 44 – Синтез бензо[*e*]пиримидо[5,4-*b*][1,4]дiazепин-6-онов

Соединение **292** показало хорошую дуальную активность по гамма-киназе и дельта-киназе ($IC_{50} = 0.005 \pm 0.003$ мкмоль).

Аналогично рассмотренным оксазепинам была получена серия ряда бензо[*e*]пиримидо[5,4-*b*][1,4]дiazепин-6-онов, аналогов скаффолдов изохинолин-1-онов и хиназолин-4-онов [49].

Методология синтеза представлена на схеме 44. Так, diaзепин-6-оновый фрагмент получали последовательно из производных аминокбензоата **293**, 5-нитропиримидина **294** с последующим восстановлением. Ряд сульфонилалининовых производных **298a-b** присоединяли в положение 2 по реакции Бухвальда-Хартвига.

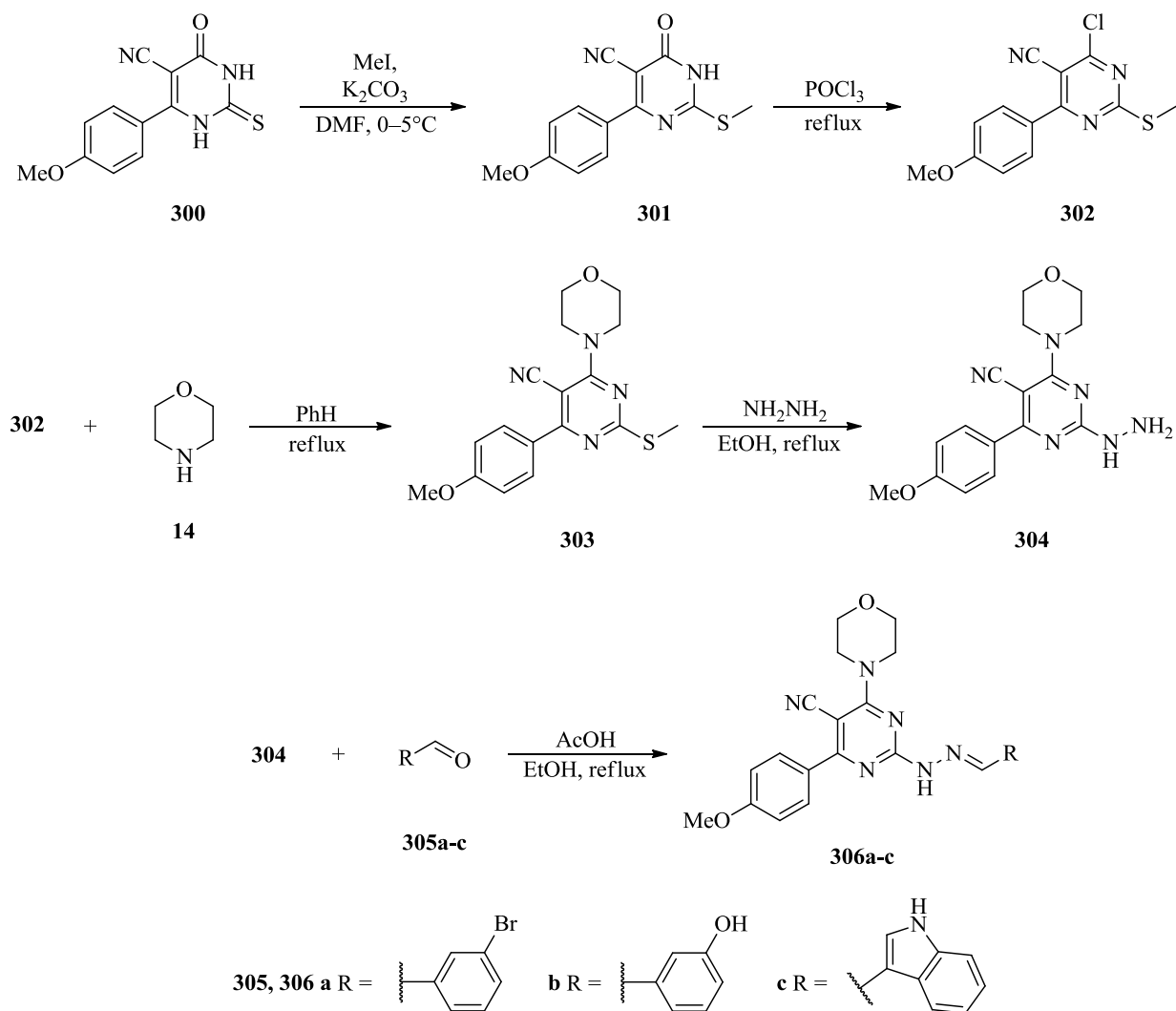


Схема 45 – Синтез 2-арилгидразильных производных 5-цианопиримидинов

Соединения **299a-b** показали высокую дуальную селективность по P13K δ и P13K γ . Производное **299b** показало наилучшую селективность по дельта-изоформе (IC₅₀ = 1.7 \pm 1.5 нмоль).

В качестве неселективных ингибиторов P13K, аналогов ВКМ-120, был предложен синтез ингибиторов производных 5-цианопиримидинов [50].

К циклическому производному тиомочевины **300** полученному по 3-х компонентному синтезу под действием MeI провели *S*-алкилирование. В положение 4 пиримидинового кольца, после галогенирования, присоединили морфолин **14**. Арилгидразиновые фрагменты были получены последовательно действием гидразина, а после кипячением в кислой среде с арилальдегидами **305a-c** (схема 45).

Полученные производные **306a-c** показали хорошую ингибирующую активность по всем трём изоформам (α , β , δ) P13K.

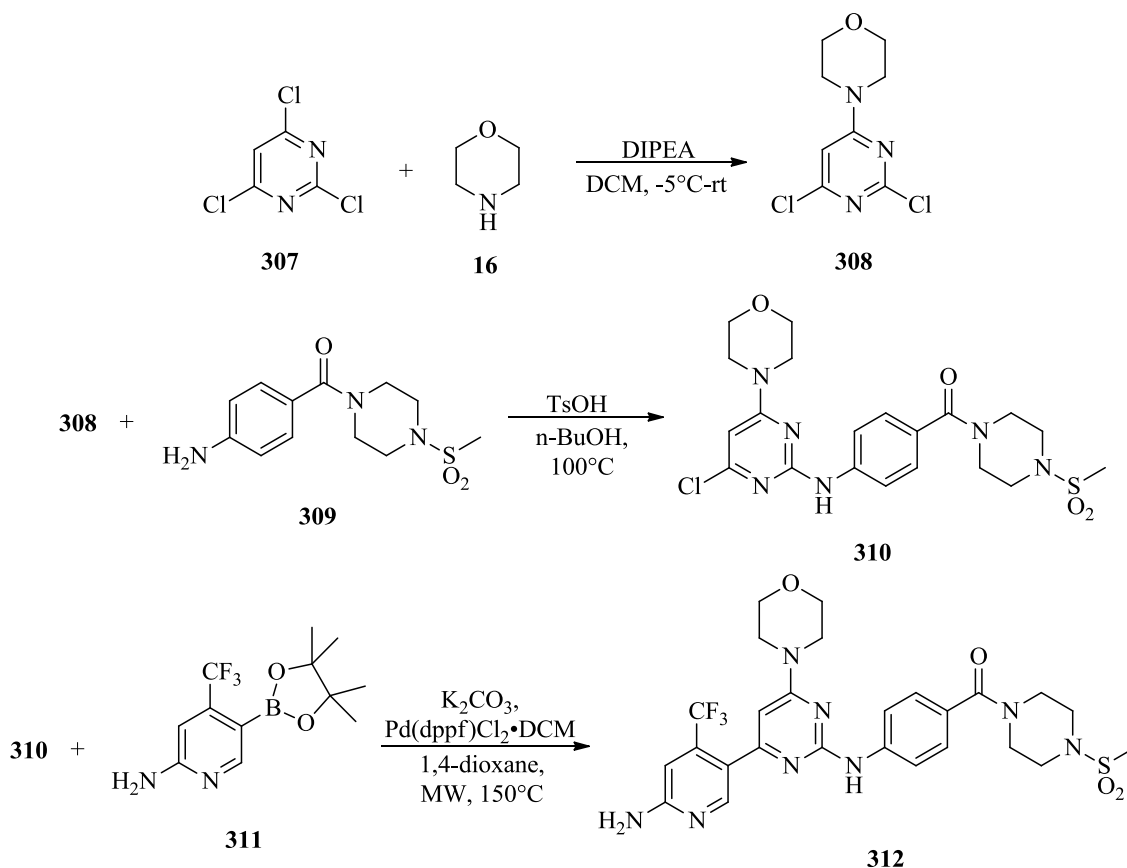


Схема 46 – Синтез ингибитора 2-морфолинопиримидина

Из доступного трихлорпиримидина **112** последовательно присоединяли морфолин **12**, амин **114** и пиридин **116** по реакции Сузуки [51] (схема 46) для получения аналога ВКМ-120.

Полученное соединение **312** было активно по 2-м изоформам ($IC_{50}(\alpha) = 18$ нмоль и $IC_{50}(\delta) = 13$ нмоль)

Была получена серия пиримидинов, ориентированная *in vivo* [52]. К пиримидину **118** во 2 положение присоединяли морфолин **119**. После восстановления, реагент мезилировали и формировали пропановый цикл у альфа-углеродного атома мезильной группы дибромэтаном **124**. По реакции Сузуки присоединяли гетероарил **126**.

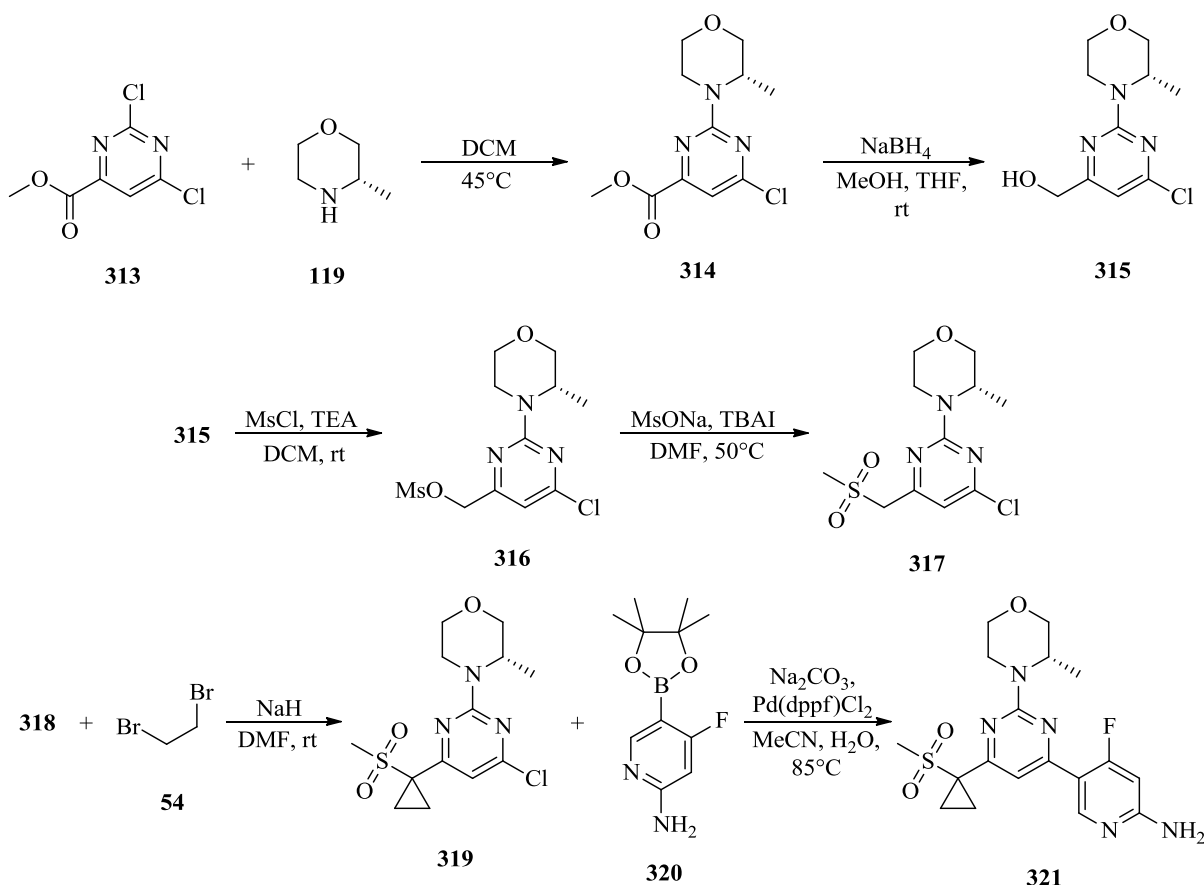


Схема 47 – Синтез ингибитора 2-морфолинопиримидина\

Полученный продукт **321** был активен к тем же киназам ($IC_{50}(\alpha) = 0.04$ мкмоль и $IC_{50}(\delta) = 13$ мкмоль), однако селективность по β -изоформе выше.

2 Результаты и их обсуждение

2.1 Синтез аналогов ВКМ-120

В научной литературе описано большое множество синтезов различных ингибиторов РІЗК. С каждым годом всё больший уклон делается на таргетно-ориентированные соединения, а также на ряд неселективных ингибиторов РІЗК, такие как ВКМ-120, PI-103, ZSTK474 и другие. На основе одного из них, а именно ВКМ-120, мы построили дальнейшую методику работы. В качестве мишени исследования мы взяли его аналоги и произвели модификацию структуры путём введения циано-группы в 5 положении пиримидинового скаффолда и упрощения гетарильных и арильных заместителей в 6 положении в плане связывания с сайтом (рис. 1). К данному дизайну мы пришли на основе того, что 5-цианопиримидины заметно повышали селективность по всем изоформам в случае ингибиторов РІЗК пропеллерного типа, а также нам интересен момент с влиянием ориентации молекулы в сайте связывания при введении цианогруппы в пиримидиновый цикл. Для этого мы также упростили структуру арильных заместителей для лучшей корреляции результатов с 5-цианопиримидинами.

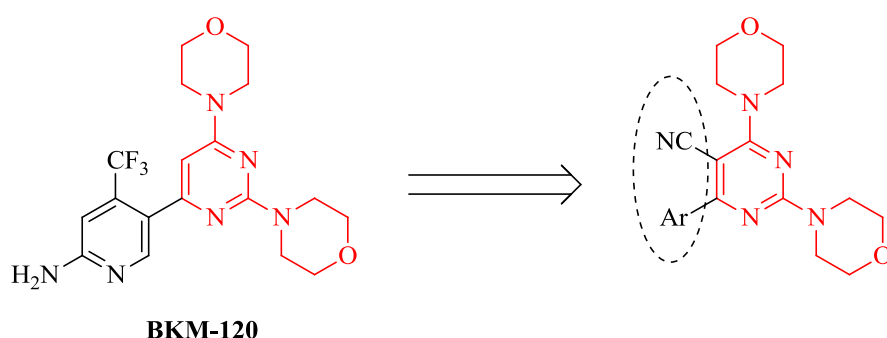


Рисунок 1 – Модификация ВКМ-120

Исходное для синтеза соединение морфолиноформамидина **9** было получено по следующей методике: на тиомочевину **322** подействовали метилсульфатом и кипятили с обратным холодильником в течение часа,

выделенный сульфат *S*-метилтиомочевины **323** вместе с морфолином **16** кипятили 30 минут, после добавлении соли бария **325** при кипячении 30 минут получали требуемый реагент.

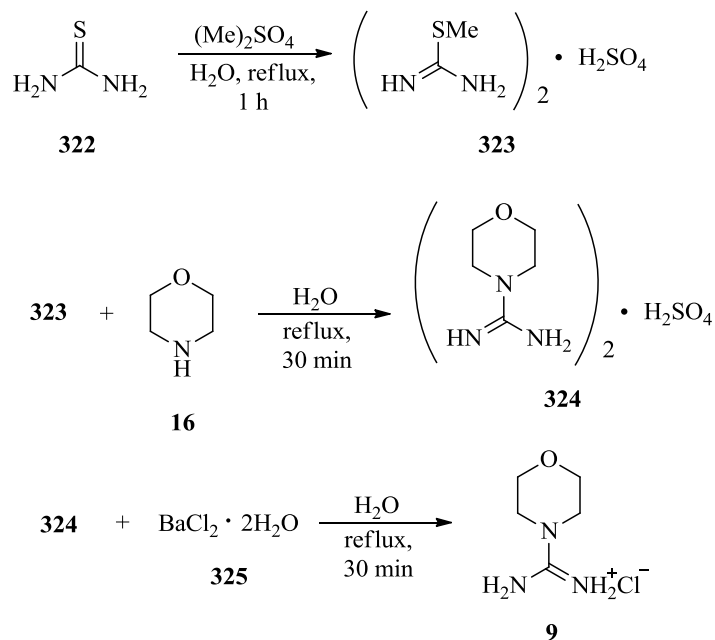
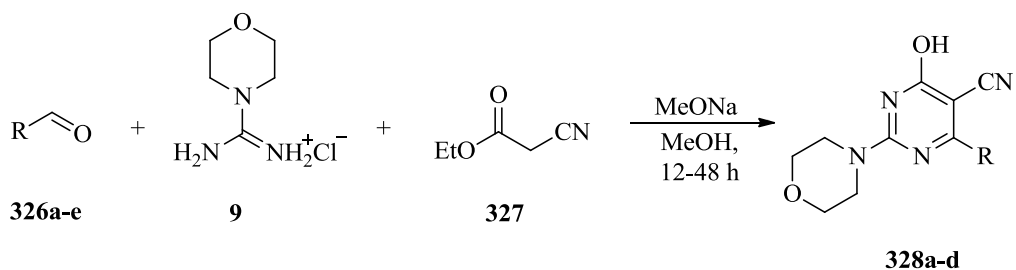


Схема 48 – Синтез гидрохлорида морфолинформамидина

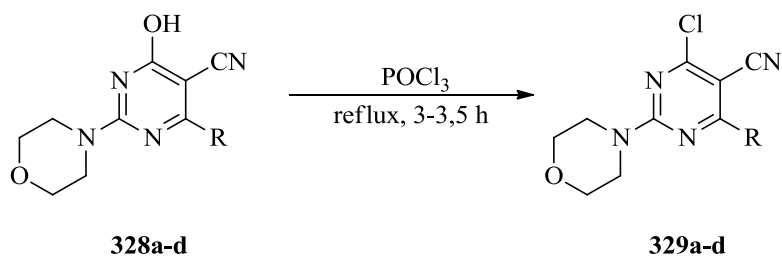
Пиримидин-5-карбонитрилы **328a-d** были получены по 3-х компонентному синтезу добавлением гидрохлорида морфолиноформамидина **9**, ароматического альдегида **325a-d** и этилцианоацетата **326** с метилатом натрия в метаноле при перемешивании и отстаивании смеси до 2 суток.



326, 328 a R = 4-MeOC₆H₄; **b** R = 2-Py; **c** R = 3-Py; **d** R = 4-Py

Схема 49 – Трехкомпонентный синтез 4-гидрокси-пиримидин-5-карбонитрилов

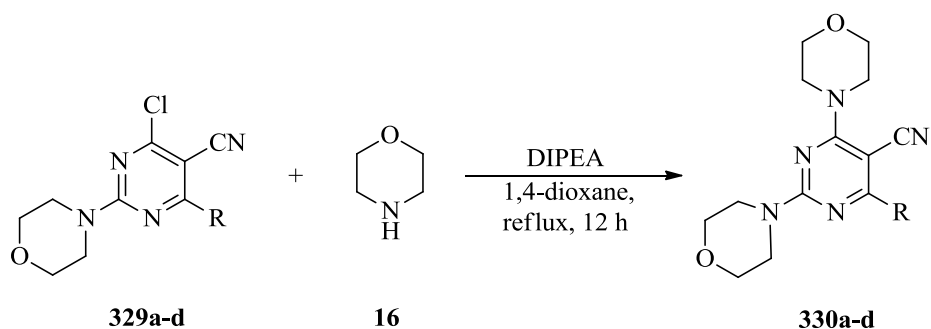
Синтез 4-хлорзамещённых 5-цианопиримидинов **329a-d** проводили в избытке POCl₃ при кипячении с обратным холодильником в течение 3-3,5 ч.



328, 329 a R = 4-MeOC₆H₄; **b** R = 2-Py; **c** R = 3-Py; **d** R = 4-Py

Схема 50 – Синтез 4-хлорпипириимидин-5-карбонитрилов

Целевые пиримидин-5-карбонитрилы **330a-d** были получены по реакции нуклеофильного замещением хлора на морфолин **16** в 1,4-диоксане при кипячении с обратным холодильником примерно в течение ночи.



329, 330 a R = 4-MeOC₆H₄; **b** R = 2-Py; **c** R = 3-Py; **d** R = 4-Py

Схема 51 – Синтез целевых соединений

Ход реакции и чистоту продуктов оценивали методами ВЭЖХ. Строение пиримидинов **330a-d** подтверждено спектроскопией ЯМР.

На спектрах ЯМР ¹H наблюдаются сигналы протонов ядра пиридина в диапазоне 7.56 – 9.06 м.д. для соединений **330b-d**, в сравнении с *para*-метоксизамещённым **330a** в диапазоне 7.06 – 7.84 м.д. на спектре (рис. 2).

Сигналы морфолиновых водородов наблюдаются в диапазоне 3.04 –3.90 м.д. для всех соединений **330a-d**. Результаты ЯМР ^{13}C спектров также подтверждают строение соединений **330a-d** (рис. 3).

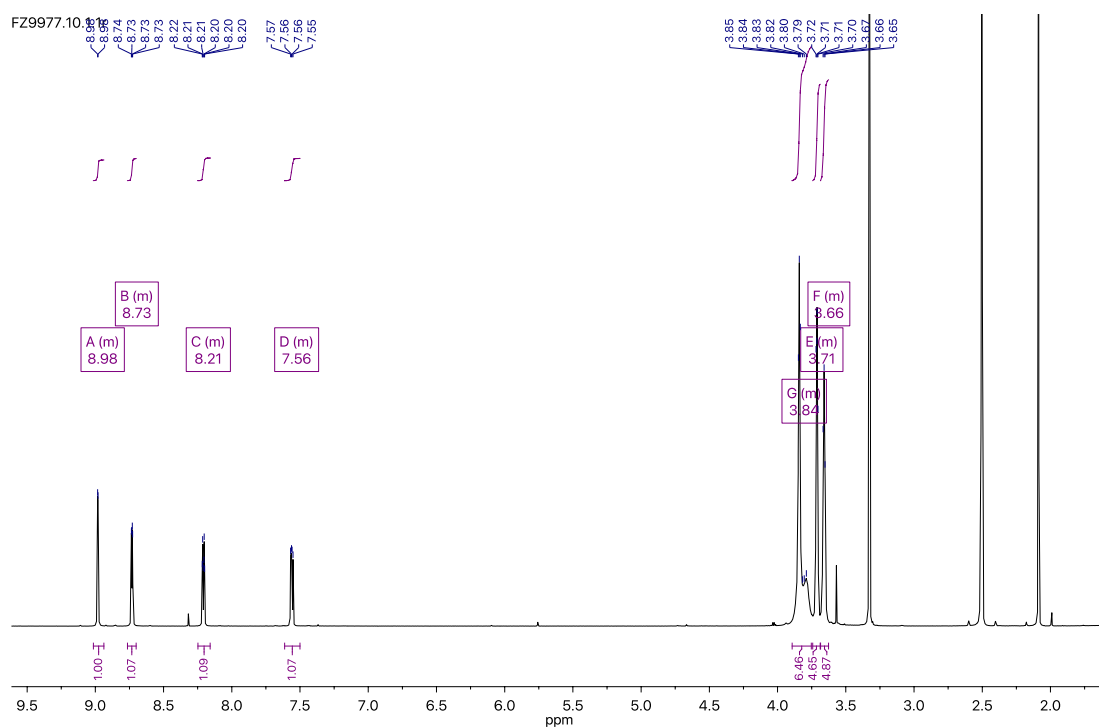


Рисунок 2 – Спектр ЯМР ^1H соединения **330c**

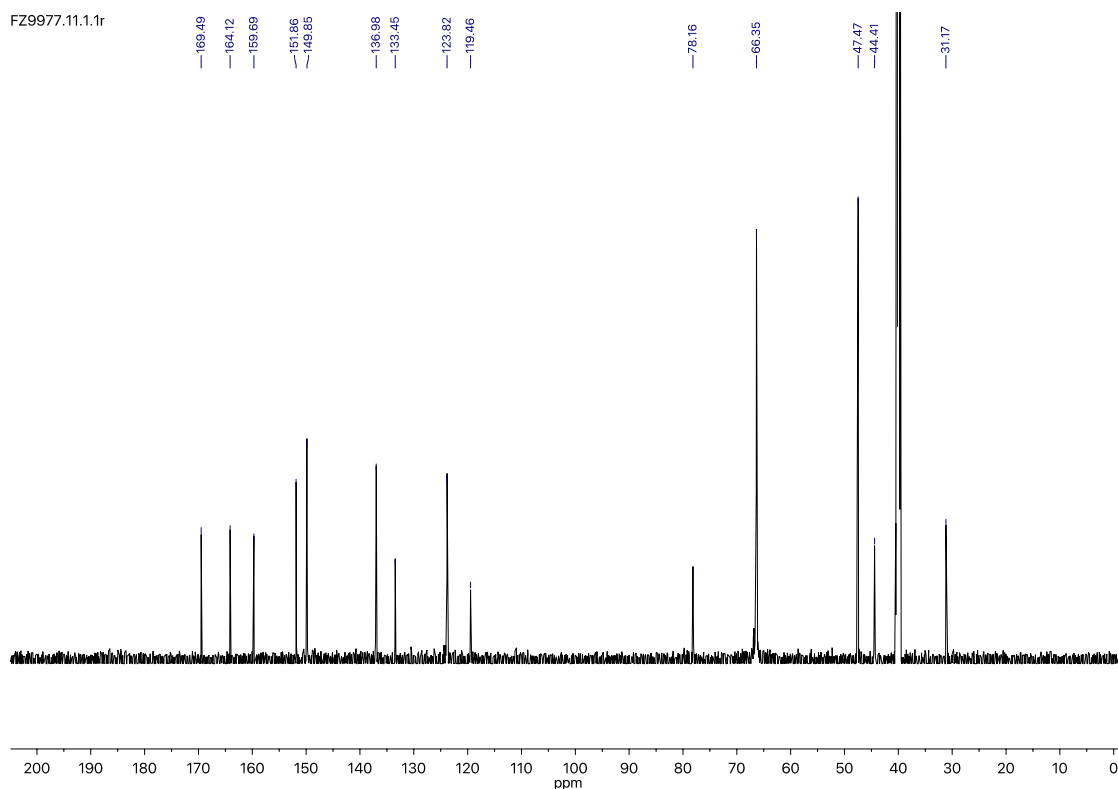


Рисунок 3 – Спектр ЯМР ^{13}C соединения **330c**

2.2 Исследование ингибирования PI3K α

Получив серию соединений, мы оценили её путём ингибирования альфа-изоформы и построили график «доза-эффект» (рис. 4) на основе которого рассчитали значения IC₅₀ (табл. 1)

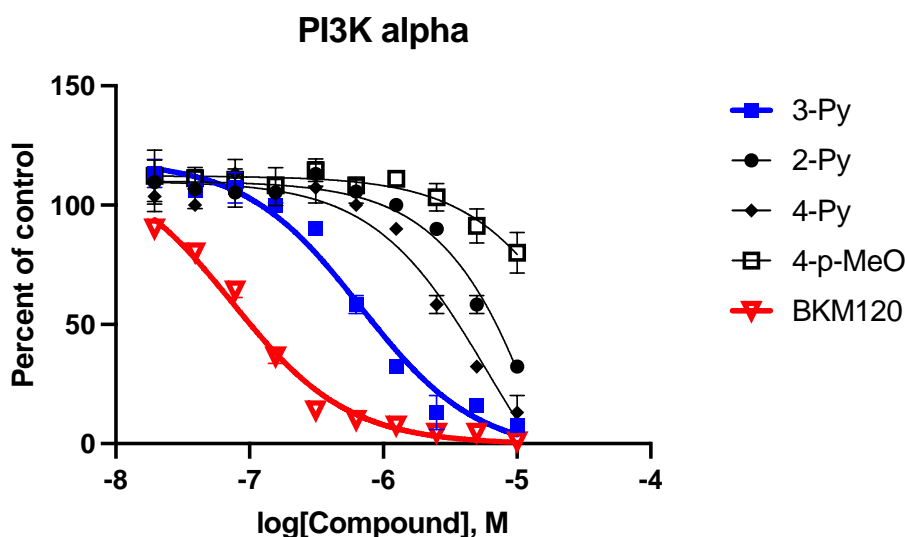
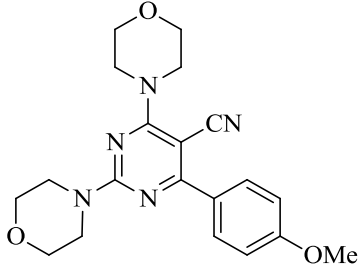
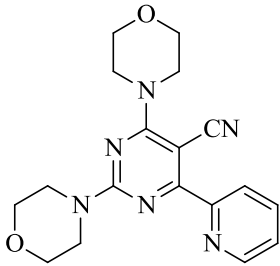
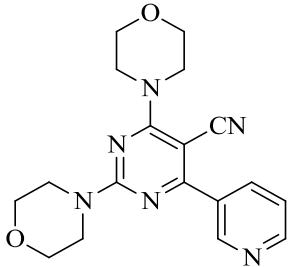
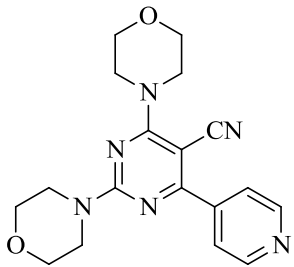
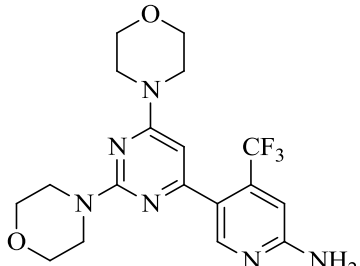


Рисунок 4 – График «доза-эффект» ингибирования PI3K α

Эффективность ингибирования нашей серии по PI3K α определяли по методу детектирования интенсивности биolumинесценции, проводимому в системе люцифераза/люцефирин с участием восстановленного АТФ из АДФ, полученного в результате липид-киназной реакции PI3K, субстрата, а также АТФ. Оценку проводили в сравнении с ВКМ-120 при различных концентрациях ингибиторов.

Соединение **330c** с 3-пиридиновым фрагментом ожидаемо показало выше активность в сравнении с *para*-метоксизамещённым и другими гетарилами. Однако эффективность полученного соединения хита **329c** оказалась примерно в 10 раз ниже ВКМ-120, что даёт нам возможность к последующей модификации данного соединения для повышения эффективности связывания.

Таблица 1 – Значения IC₅₀ соединений **330a-d** и ВКМ-120 по РІЗК α

Номер соединения	Структура соединения	IC ₅₀ , нмоль
330a		>10000
330b		>10000
330c		701±180
330d		>5000
ВКМ-120		76±18

3. Экспериментальная часть

3.1 Реагенты и оборудование

Ход реакций синтеза исходных соединений оценивали посредством тонкослойной хроматографии с применением пластинок с закрепленным слоем марки «Силуфол». В качестве элюентов применялась смесь растворителей следующего состава: гексан:этилацетат 3:7. Обнаружение веществ (проявление пятен) проводили в парах йода, в концентрированном растворе перманганата калия и при УФ-облучении.

Контроль за ходом реакций окисления и чистоту полученных соединений оценивали при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии. Анализ проводили на хроматографе «Agilent 1220 м» со спектрофотометрическим детектором. Колонка ZORBAX C-18, элюент: MeCN:H₂O в соотношении 8:2; скорость потока элюента 1 мл/мин. Обработка данных на выходе проводилась с применением программы OpenLab фирмы Agilent.

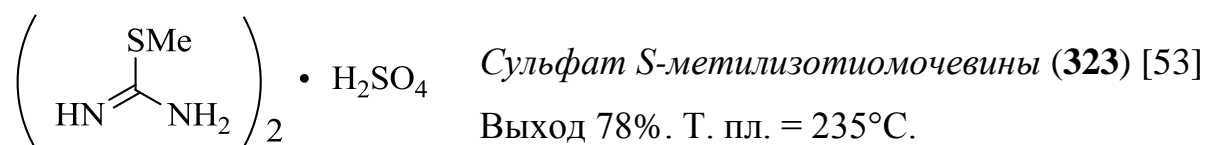
Данные ЯМР спектроскопии получены при комнатной температуре в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMCO-*d*₆) на спектрометре Bruker Ascend NEO-700 с рабочей частотой 700 и 176 МГц для ядер ¹H и ¹³C соответственно. Сигналы химических сдвигов ядер ¹H и ¹³C приведены в миллионных долях относительно сигнала тетраметилсилана.

Температуры плавления определены на нагревательном столике Boetius.

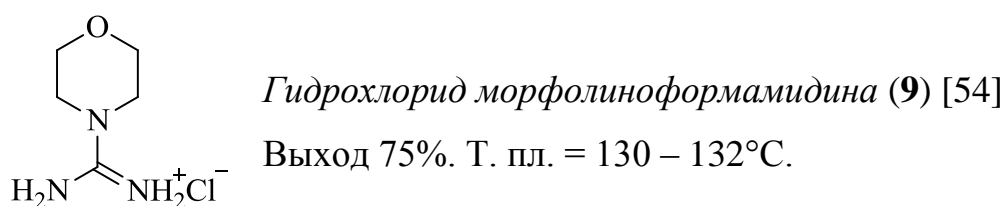
Все реагенты и растворители были приобретены из коммерческих источников и использовались без дальнейшей очистки.

3.2 Получение исходных соединений

Получение исходных соединений проводили по общеизвестным методикам синтеза.



В литровую колбу внесли тиомочевину (2 моль, 152 г), воду (70 мл). К данной смеси прикапывали 2/3 от общего объема охлаждённого диметилсульфата (1.1 моль, 103.8 мл, 138 г) и наблюдали бурную, но не взрывную, экзотермическую реакцию. После её окончания, смесь нагрели до растворения большей части тиомочевины, смесь кипятили и прикапывали оставшийся объем диметилсульфата. Кипячение проводили 1 ч, поочерёдно шла кристаллизация. Затем смесь остудили до комнатной температуры, добавили 95% этиловый спирт (200 мл), а затем отфильтровали. Остаток промывали дважды в этаноле (по 100 мл) и оставили на сушку.

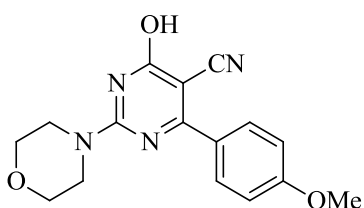


В колбу внесли морфолин (0.532 моль, 46.4 г), воду (172 мл) и сульфат *S*-метилизотиомочевины (0.269 моль, 65 г). Поставили на магнитную мешалку и кипятили смесь 30 минут. Затем в горячий раствор прилили свежеприготовленный раствор BaCl₂ в 133 мл воды и кипятили в течении 30 минут. Смесь отфильтровывали от сульфата бария и маточный раствор упаривали на ротаторе с добавлением раствора толуола и этанола. К смолистой

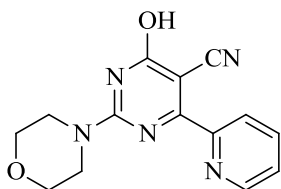
смеси добавили ацетон и этанол, и оставили на ночь при -20°C . Выпавший осадок отфильтровали.

4-Гидрокси-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрилы 328a-d. Общая методика синтеза [55]

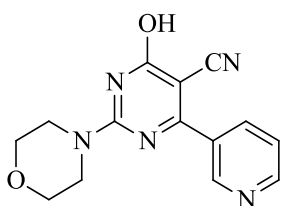
В колбу при комнатной температуре вносили метанол (20 мл), гидрохлорид морфолиноформадина (10 ммоль, 1.66 г), метилат натрия (15 ммоль, 0.81 г). Смесь выдерживали 15 мин. Затем к смеси добавляли ароматический альдегид (10 ммоль, 1.07 г) и этилцианоацетат (10.5 ммоль, 1.19 г). После добавления эфира смесь приобрела характерный желтый оттенок. Оставили на 12-48 ч. Нейтрализовали смесь раствором уксусной кислоты и воды до слабо-кислой среды при этом наблюдали выпадение осадка.



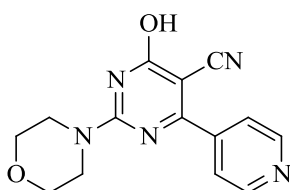
4-Гидрокси-6-(4-метоксифенил)-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрил (**328a**)
Выход 49% (1.54 г). Т. пл. $>260^{\circ}\text{C}$.



4-Гидрокси-2-морфолино-6-(пиридин-2-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**328b**)
Выход 36% (1.03 г). Т. пл. $>260^{\circ}\text{C}$.



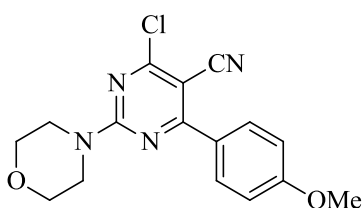
4-Гидрокси-2-морфолино-6-(пиридин-3-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**328c**)
Выход 45% (1.27 г). Т. пл. $>260^{\circ}\text{C}$.



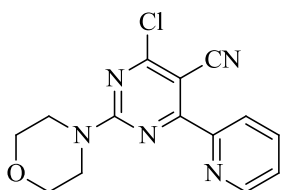
4-Гидрокси-2-морфолино-6-(пиридин-4-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**328d**)
Выход 43% (1.22 г). Т. пл. $>260^{\circ}\text{C}$.

4-Хлор-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрилы **329a-d.** *Общая методика синтеза* [55]

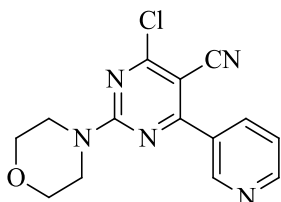
Смешали исходный 6-замещённый 4-гидрокси-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрил (2,75 ммоль, 0.87 г) в избытке POCl₃ (83.5 ммоль, 7.81 мл, 12.8 г) и поставили кипятиться с обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой в течение 3-3,5 ч. Смесь вылили на 200 г льда и нейтрализовали раствором соды до выпадения осадка.



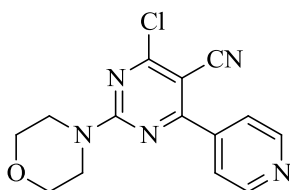
4-Хлор-6-(4-метоксифенил)-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрил (**329a**)
Выход 85% (1.27 г). Т. пл. = 218 – 220°C.



4-Хлор-2-морфолино-6-(пиридин-2-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**329b**)
Выход 48% (0.51 г). Т. пл. = 200 – 202°C.



4-Хлор-2-морфолино-6-(пиридин-3-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**329c**)
Выход 68% (0.73 г). Т. пл. = 175 – 176°C.



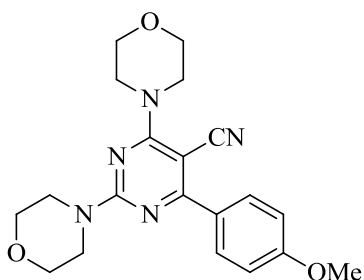
4-Хлор-2-морфолино-6-(пиридин-4-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**329d**)
Выход 54% (0.65 г). Т. пл. = 184 – 186°C.

3.3 Синтез целевых соединений

2,4-Диморфолинопиримидин-5-карбонитрилы **330a-d.** *Общая методика синтеза*

В колбу на 100 мл загружали исходный 4-хлор-6-арил-2-морфолинопиримидин-5-карбонитрил (0.828 ммоль, 0.25 г), растворяли его в

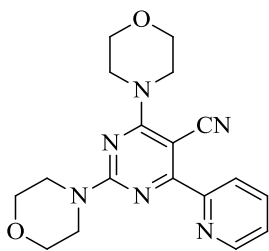
30 мл 1,4-диоксана (растворялся не полностью), добавили к раствору основание Хунига (1.66 ммоль, 288.6 мл, 0.214 г) и морфолин (1.66 ммоль, 142.9 мл, 0.144 г). Ход реакции оценивали методами ВЭЖХ. После растворения, смесь кипятили в течении 24 ч. По завершению реакции, реакционную смесь разбавили водой, добавили brine (50 мл) и этилацетат (50 мл) и интенсивно перемешивали 15 мин, затем отделили органический слой и просушили Na₂SO₄ (6-7 г). К водному слою добавили этилацетата (50 мл), интенсивно перемешивали в течение 15 мин, затем отделили органический слой и добавили для просушки. Далее упаривали на роторном испарителе. Продукты представляли собой светло-коричневые порошки.



4-(4-Метоксифенил)-2,6-диморфолинопириимидин-5-карбонитрил (**330a**)

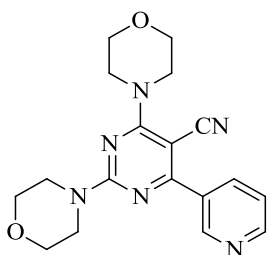
Выход 84%. Т. пл. = 184-186°C.

ЯМР ¹H (700 МГц, ДМСО-*d*₆) δ: 7.84 (д, *J* = 8.8 Гц, 2H), 7.06 (д, *J* = 8.8 Гц, 2H), 3.90 – 3.75 (м, 9H), 3.73 – 3.68 (м, 5H), 3.68 – 3.64 (м, 5H).



2,4-Диморфолино-6-(пиридин-2-ил)пириимидин-5-карбонитрил (**330b**)

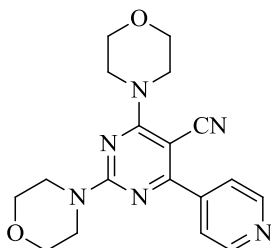
Выход 83%. Т. пл. = 168-170°C.



2,4-Диморфолино-6-(пиридин-3-ил)пириимидин-5-карбонитрил (**330c**)

Выход 98%. Т. пл. = 196-198°C.

ЯМР ^1H (700 МГц, ДМСО- d_6) δ : 9.06 – 8.90 (м, 1H), 8.80 – 8.64 (м, 1H), 8.28 – 8.14 (м, 1H), 7.56 (дд, $J = 7.9, 4.8$ Гц, 1H), 3.89 – 3.75 (м, 6H), 3.74 – 3.69 (м, 5H), 3.68 – 3.63 (м, 5H). ЯМР ^{13}C (176 МГц, ДМСО- d_6) δ : 169.5, 164.1, 159.7, 151.9, 149.8, 137.0, 133.5, 123.8, 119.5, 77.82, 66.4, 47.5, 44.4, 31.2.



2,4-Диморфолино-6-(пиридин-4-ил)пиримидин-5-карбонитрил (**330d**)

Выход 75%. Т. пл. = 205-207°C.

ЯМР ^1H (700 МГц, ДМСО- d_6) δ : 8.78 – 8.70 (м, 2H), 7.83 – 7.67 (м, 2H), 3.87 – 3.75 (м, 8H), 3.74 – 3.69 (м, 4H), 3.11 – 3.04 (м, 4H).

3.4 Исследование ингибирования PI3K α

Синтезированные соединения были протестированы в диапазоне концентраций 10 мкмоль – 19.5 нмоль в 10 различных концентрациях с помощью набора PI3K-Glo™ Class I Profiling Kit (Promega, USA) в соответствии с протоколом производителя [56].

Заключение

Благодаря анализу научной литературы по различным методикам получения множества селективных и рап-ингибиторов РІЗК, можно с уверенностью констатировать, что для хорошо связывающегося лиганда характерно наличие пиримидинового скаффолда с морфолиновым заместителем во 2 или 4 положении (повышение селективности по α - и β -изоформам РІЗК). Этот вывод также коррелирует с уже известными представителями клинически исследуемых ингибиторов РІЗК, таких как ВКМ-120, ZSTK474 и др.

На основе проведённой практической части работы можно сделать следующие выводы:

- Сравнивая с методикой получения аналогов ВКМ-120, включающей Pd-катализируемую реакцию сочетания по Сузуки, в результате которой продукты требуют дополнительной очистки от примесей палладия, показанный трёхкомпонентый синтез позволяет сразу получать 5-цианопиримидины замещённые по 4 положению без дополнительной очистки и относительно недорогим, с точки зрения коммерции, способом.

- Нами была получена серия из 4 структур 2,6-диморфолинопиримидин-5-карбонитрилов **330a-d**. Строение соединений из данной серии было описано спектроскопией ЯМР ^1H и ^{13}C . Выходы целевых соединений умеренно-высокие (75-98%).

- Среди всей серии, полученное соединение **330c** является соединением хитом, показало наилучшие показатели ингибирования РІЗК альфа-киназы при различных концентрациях ингибитора. По всей видимости это связано с возможностью связывания как через циано-группу, так и через пиридин в сайте киназы. Однако, в сравнении с ВКМ-120, почти с 10-кратной разницей ($\text{IC}_{50}(\mathbf{330c}) = 701$ нмоль и $\text{IC}_{50}(\text{ВКМ-120}) = 76$ нмоль) в эффективной

концентрации, соединение **330c** требует дальнейшей оптимизации структуры по пиридиновому циклу.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Lien, E.C. PI3K signaling in cancer: beyond AKT / E.C Lien, C.C Dibble, A. Toker // *Curr. Opin. Cell Bio.* – 2017. – Vol. 45. – P. 62-71.
2. Identification and structure–activity relationship of 2-morpholino 6-(3-hydroxyphenyl) pyrimidines, a class of potent and selective PI3 kinase inhibitors / S. Pecchi, P.A. Renhowe, C. Taylor et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 20, № 23. – P. 6895-6898.
3. Lead optimization of a dihydropyrrolopyrimidine inhibitor against phosphoinositide 3-kinase (PI3K) to improve the phenol glucuronic acid conjugation / H. Kawada, H. Ebiike, M. Tsukazaki et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – Vol. 23, № 3. – P. 673-678.
4. Synthesis and antitumor activities evaluation of m-(4-morpholinoquinazolin-2-yl)benzamides *in vitro* and *in vivo* / X.-M. Wang, M.-H. Xina, J. Xu et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 96. – P. 382-395.
5. Synthesis and evaluation of pyrrolotriazine based molecules as PI3 kinase inhibitors / S. Dugara, F.P. Hollinger, B. Kuila et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – Vol. 25, № 16. – P. 3142-3146.
6. Modification of a dihydropyrrolopyrimidine phosphoinositide 3-kinase (PI3K) inhibitor to improve oral bioavailability / H. Kawada, H. Ebiike, M. Tsukazaki et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 23, № 24. – P. 7650-7660.
7. Design, synthesis and biological evaluation of novel condensed pyrrolo[1,2-*c*]pyrimidines featuring morpholine moiety as PI3K α inhibitors / M.A. Ibrahim, S.M. Abou-Seri, M.M. Hanna et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 99. – P. 1-13.
8. Identification and optimisation of a 4',5-bisthiazole series of selective phosphatidylinositol-3 kinase alpha inhibitors / R.A. Fairhurst, P. Imbach-Weese, M. Gerspacher et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – Vol. 25, № 17. – P. 3569-3574.

9. Discovery of a novel tricyclic 4H-thiazolo[5',4':4,5]pyrano[2,3-c]pyridine-2-amino scaffold and its application in a PI3K α inhibitor with high PI3K isoform selectivity and potent cellular activity / M. Gerspacher, R.A. Fairhurst, R. Mah et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – Vol. 25, № 17. – P. 3582-3584.
10. 6,7-Dihydrobenzo[*f*]benzo[4,5]imidazo[1,2-*d*][1,4]oxazepine derivatives as selective inhibitors of PI3K α / Y. Yin, Y.-Q. Zhang, B. Jin et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 23, № 6. – P. 1231-1240.
11. 6-Aryl substituted 4-(4-cyanomethyl) phenylamino quinazolines as a new class of isoform-selective PI3K- α inhibitors / R.R. Yadav, S.K. Guru, P. Joshi et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 122. – P. 731-743.
12. Novel antiproliferative agents bearing morpholinopyrimidine scaffold as PI3K inhibitors and apoptosis inducers; design, synthesis and molecular docking / A.A. Helwaa, N.M. El-Dydamonyb, R.A. Radwan et al. // *Bioorg. Chem.* – 2020. – Vol. 102.
13. Feedback Suppression of PI3K α Signaling in PTEN-Mutated Tumors Is Relieved by Selective Inhibition of PI3K β / S. Schwartz, J. Wongvipat, C.B. Trigwell et al. // *Cancer Cell.* – 2014. – Vol. 27, № 1. – P. 109-122.
14. Synthesis and structure–activity relationships of 1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7(3*H*)-ones as novel series of potent β isoform selective phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors / R.M. Sanchez, K. Erhard, M.A. Hardwicke et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – Vol. 22, № 9. – P. 3198-3202.
15. Rational Design, Synthesis, and SAR of a Novel Thiazolopyrimidinone Series of Selective PI3K- β Inhibitors / H. Lin, M.J. Schulz, R. Xie et al. // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2012. – Vol. 3, № 7. – P. 524-529.
16. Preparation and optimization of new 4-(morpholin-4-yl)-(6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-yl)amide derivatives as PI3K β inhibitors / V. Certal, F. Halley, A. Virone-Oddos et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – Vol. 22, № 20. – P. 6381-6384.

17. Discovery of 9-(1-phenoxyethyl)-2-morpholino-4-oxo-pyrido[1,2-*a*]pyrimidine-7-carboxamides as oral PI3K β inhibitors, useful as antiplatelet agents / F. Giordanetto, B. Barlaam, S. Berglund et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – Vol. 24, № 16. – P. 3936-3943.

18. Preparation and optimization of new 4-(2-(indolin-1-yl)-2-oxoethyl)-2-morpholinothiazole-5-carboxylic acid and amide derivatives as potent and selective PI3K β inhibitors / V. Certal, F. Halley, A. Virone-Oddos et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – Vol. 24, № 6. – P. 1506-1510.

19. Atropisomerism by Design: Discovery of a Selective and Stable Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) β Inhibitor / J. Chandrasekhar, R. Dick, J.V.Veldhuizen et al. // *J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 61, № 15. – P. 6558-6868.

20. Recent development of ATP-competitive small molecule phosphatidylinositol3-kinase inhibitors as anticancer agents / Y. Liu, W.-Z. Wan, Y. Li et al. // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – P. 7181-7200.

21. Discovery of a Novel Series of Potent and Orally Bioavailable Phosphoinositide 3-Kinase γ Inhibitors / J.W. Leahy, C.A. Buhr, H.W.B. Johnson et al. // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, № 11. – P. 5467-5482.

22. Discovery of *N*-{5-[3-(3-hydroxypiperidin-1-yl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-4-methyl-1,3-thiazol-2-yl}acetamide (TASP0415914) as an orally potent phosphoinositide 3-kinase γ inhibitor for the treatment of inflammatory diseases / Y. Oka, T. Yabuuchi, T. Oi et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 21, № 24. – P. 7578-7583.

23. Discovery of Fluoroquinolone derivatives as potent, selective inhibitors of PI3K γ / S. Sha, H.-W. Han, F. Gao et al. // *Med. Chem. Commun.* – 2015. – Vol. 6, № 11. – P. 2029-2035.

24. Discovery of Highly Isoform Selective Thiazolopiperidine Inhibitors of Phosphoinositide 3-Kinase γ / P.N. Collier, D. Messersmith, A. Le Tiran et al. // *J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 58, № 14. – P. 5684-5688.

25. Bepary, S. Synthesis and evaluation of PI3K γ enzyme inhibitory activity of Novel (1*H*-pyrazol-4-yl)methanamines / S. Bepary, I.K. Youn, H.-J. Lim, G.H. Lee et al. // *Thai J. Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 40, № 2. – P. 82-86.
26. Discovery of Highly Isoform Selective Orally Bioavailable Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K)- γ Inhibitors / N. Pemberton, M. Mogemark, S. Arlbrandt et al. // *J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 61, № 12. – P. 5435-5441.
27. Design and Synthesis of a Novel Series of Orally Bioavailable, CNS-Penetrant, Isoform Selective Phosphoinositide 3-Kinase γ (PI3K γ) Inhibitors with Potential for the Treatment of Multiple Sclerosis (MS) / J.H. Come, P.N. Collier, J.A. Henderson et al. // *J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 61, № 12. – P. 5245-5256.
28. Discovery of Potent and Selective PI3K γ Inhibitors / S.L. Drew, R. ThomasTran, J.W. Beatty et al. // *J. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 63, № 19. – P. 11235-11257.
29. Research advances on selective phosphatidylinositol 3 kinase δ (PI3K δ) inhibitors / J. Sun, Y. Feng, Y. Huanget al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2020. – Vol. 30, № 19.
30. Discovery of Novel PI3-Kinase δ Specific Inhibitors for the Treatment of Rheumatoid Arthritis: Taming CYP3A4 Time-Dependent Inhibition / B.S. Safina, S. Baker, M. Baumgardner et al. // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, № 12. – P. 5887-5900.
31. Synthesis and SAR study of potent and selective PI3K δ inhibitors / M. Bui, X. Hao, Y. Shin et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – Vol. 25, № 5. – P. 1104- 1109.
32. SAR study of 5-alkynyl substituted quinazolin-4(3*H*)-ones as phosphoinositide 3-kinase delta (PI3K δ) inhibitors / M. Wei, X. Zhang, X. Wang et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 125. – P. 1156-1171.
33. Discovery and SAR of pyrrolo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-4-amines as potent and selective PI3K δ inhibitors / R.S. Bhide, J. Neels, L.-Y. Qin et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – Vol. 26, № 17. – P. 4256-4260.

34. Evolution of a Novel, Orally Bioavailable Series of PI3K δ Inhibitors from an Inhaled Lead for the Treatment of Respiratory Disease / A. Amour, N. Barton, A.W.J. Cooper et al. // *J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 59, № 15. – P. 7239-7251.
35. Design and Synthesis of Soluble and Cell-Permeable PI3K δ Inhibitors for Long Acting Inhaled Administration / M.W.D. Perry, K. Bjorhall, B. Bonn et al. // *J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 60, № 122. – P. 5057-5071.
36. Discovery of triazole aminopyrazines as a highly potent and selective series of PI3K δ inhibitors / I. Terstiege, M. Perry, J. Petersen et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. – Vol. 27, № 3. – P. 679-687.
37. Discovery of CHMFL-PI3KD-317 as a potent and selective phosphoinositide 3-kinase delta (PI3K δ) inhibitor / X. Liang, F. Li, C. Chen et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 156. – P. 831-846.
38. Structure Overhaul Affords a Potent Purine PI3K δ Inhibitor with Improved Tolerability / J.L. Methot, H. Zhou, S.D. Kattar et al. // *J. Med. Chem.* – 2019. – Vol. 62, № 9. – P. 4370-4382.
39. Discovery of a Novel Inhaled PI3K δ Inhibitor for the Treatment of Respiratory Diseases / M. Erra, J. Taltavull, F.J. Bernal et al. // *J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 61, № 21. – P. 9551-9567.
40. Optimization of 5,6,7,8-tetrahydropyrido[4,3-*d*]pyrimidines to generate a highly selective PI3K δ inhibitor / T. Hamajima, F. Takahashi, K. Kato et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2019. – Vol. 27, № 6. – P. 1056-1064.
41. Synthesis and biological evaluation of 4-(piperid-3-yl)amino substituted 6-pyridylquinazolines as potent PI3K δ inhibitors / Y. Feng, W. Duan, S. Fan et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2019. – Vol. 208, № 19.
42. Wang, X. PI3K isoform-selective inhibitors: next-generation targeted cancer therapies / X. Wang, J. Ding, L.-H. Meng // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 36, № 10. – P. 1170-1176.

43. Imidazo[1,2-*a*]pyrazines as novel PI3K inhibitors / S.M. González, A.I. Hernandez, C. Varela et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – Vol. 22, № 5. – P. 1874-1878.
44. Discovery and in Vivo Evaluation of Dual PI3K β/δ Inhibitors / F.GonzalezLopez de Turiso, Y. Shin, M. Brown et al. // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, №17. – P. 7667-7685.
45. Discovery and optimization of a series of 2-aminothiazole-oxazoles as potent phosphoinositide 3-kinase γ inhibitors / Y. Oka, T. Yabuuchi, Y. Fujii et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – Vol. 22, № 24. – P. 7534-7538.
46. Discovery of a series of 8-(2,3-dihydro-1,4-benzoxazin-4-ylmethyl)-2-morpholino-4-oxo-chromene-6-carboxamides as PI3K β/δ inhibitors for the treatment of PTEN-deficient tumours / B. Barlaam, S. Cosulich, S. Degorce et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – Vol. 26, № 9. – P. 2318-2323.
47. Discovery of a Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) β/δ Inhibitor for the Treatment of Phosphatase and Tensin Homolog (PTEN) Deficient Tumors: Building PI3K β Potency in a PI3K δ -Selective Template by Targeting Nonconserved Asp856 / S. Perreault, J. Chandrasekhar, Z.-H. Cui et al. // *J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 60, № 4. – P. 1555-1567.
48. Discovery, Optimization, and Evaluation of Potent and Highly Selective PI3K γ -PI3K δ Dual Inhibitors / H. Jia, G. Dai, W. Su et al. // *J. Med. Chem.* – 2019. – Vol. 62, № 10. – P. 4936-4948.
49. Discovery of a series of 5,11-dihydro-6*H*-benzo[*e*]pyrimido[5,4-*b*][1,4]diazepin-6-ones as selective PI3K- δ/γ inhibitors / F.M. Ferguson, J. Ni, T. Zhang et al. // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2016. – Vol. 7, № 10. – P. 908-912.
50. Novel antiproliferative agents bearing morpholinopyrimidine scaffold as PI3K inhibitors and apoptosis inducers; design, synthesis and molecular docking / A.A. Helwaa, N.M. El-Dydamonyb, R.A. Radwan et al. // *Bioorg. Chem.* – 2020. – Vol. 102.

51. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Substituted Pyrimidines as Potential Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) Inhibitors / J.-Q. Zhang, Y.-J. Luo, Y.-S. Xiong et al. // J. Med. Chem. – 2016. – Vol 59, № 15. – P. 7268-7274

52. Discovery of an Orally Bioavailable Dual PI3K/mTOR Inhibitor Based on Sulfonyl Substituted Morpholinopyrimidines / S. Shen, X. He, Z. Yang et al. // ACS Med. Chem. Lett. – 2018. – Vol. 9, № 7. – P. 719-724.

53. *S*-methyl isothiourea sulfate // Org. Synth. – 1932. – Vol. 12. – P. 52

54. Synthesis, antiplasmodial activity and mechanistic studies of pyrimidine-5-carbonitrile and quinoline hybrids / H. Kaur, J. Balzarini, C. de Kock et al. // Eur. J. Med. Chem. – 2015. – Vol. 101, № 7951. – P. 52-62

55. Synthesis and cytotoxic activity of novel 4-amino-5-cyano-2-sulfonylpyrimidines / D.A. Khochenkov, Y.A. Khochenkova, Y.S. Machkova et al. // Mendeleev Commun. – 2020. – Vol. 30, № 5. – P. 604-606

56. Lipid Kinase Assays: PI3K-Glo™ Class I Profiling Kit. URL: <https://worldwide.promega.com/products/cell-signaling/kinase-assays-and-kinase-biology/pi3k-glo-class-i-profiling-kit/?catNum=V1690>