

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»
ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

(наименование института полностью)

Кафедра «Химия, химические процессы и технологии»
(наименование кафедры)

18.04.01 «Химическая технология»

(код и наименование направления подготовки)

«Химия и технология продуктов основного органического и нефтехимического синтеза»
(направленность (профиль))

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему: **Синтез и разработка принципиальной технологической схемы
производства селективного ингибитора EGFR-киназы TK024**

Студент (ка) К.Ю. Талина _____
(И.О. Фамилия) (личная подпись)

Научный д.х.н., проф., Г.И. Остапенко _____
руководитель (И.О. Фамилия) (личная подпись)

Руководитель магистерской программы

д.х.н., проф., Г.И. Остапенко _____
(ученая степень, звание, И.О. Фамилия) (личная подпись)
« _____ » _____ 20 _____ г.

Допустить к защите

заведующий кафедрой «Химия, химические процессы и технологии»,

д.х.н., проф., Г.И. Остапенко _____
(ученая степень, звание, И.О. Фамилия) (личная подпись)

« _____ » _____ 20 _____ г.

Тольятти, 2018

Содержание

Принятые сокращения	3
Введение.....	4
1. Литературный обзор	6
1.1. Способы получения имидазо[2,1- <i>b</i>]тиазола	6
1.1.2. Специфические свойства имидазо[2,1- <i>b</i>]тиазола.....	15
1.2 Способы получения производных халкона	20
1.2.1 Халкон как синтон в синтезе гетероциклических соединений	25
1.3 Получение никотинонитрила и его производных	27
1.4 Ингибиторы EGFR–киназы.	38
1.5 Производство фармацевтических субстанций в России	42
2. Результаты и обсуждения	48
2.1 Молекулярный докинг	48
2.2 Синтез ингибиторов	48
2.5 Разработка принципиальной технологической схемы производства ингибитора ТК024.....	66
3. Экспериментальная часть	69
3.1. Реагенты, вспомогательные материалы и оборудование	69
3.2. Подготовка растворителей	69
3.3. Получение исходных компонентов.....	69
3.4. Получение соответствующих никотинонитрилов	71
Заключение	74
Список используемой литературы и источников	75

Принятые сокращения

В работе присутствуют термины, которым соответствуют следующие определения:

A549	Клеточная линия
АКТ	Протеинкиназа В
АТФ	Аденозинтрифосфат
BMPTO	бис (4-метоксифенил)-теллуриксид
c-Met	Рецептор фактора роста гепатоцитов
EGFR	Рецептор эпидермального фактора роста
ErbB2	Семейство тирозинкиназных рецепторов
Her	Рецепторов эпидермального фактора роста
IGF1R	Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1
TK	Тирозинкиназа
TKIs	Ингибиторы тирозинкиназы
VEGF	Фактор роста эндотелия сосудов
T790M	Вторичная мутация в гене EGFR

Введение

Основным успехом последнего десятилетия стало выявление нового класса «таргетных, мишень–ориентированных веществ», которые атакуют определенные, ранее установленные внутриклеточные молекулярные мишени, имеющие ключевое значение для жизнедеятельности опухолевой клетки.

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) является одним из наиболее важных рецепторных протеинкиназ, участвующий в основных процессах жизнедеятельности клеток: клеточной пролиферации, процессах адгезии и миграции, защиты от апоптоза. Нарушение регуляции EGFR-зависимых сигнальных путей способствует развитию опухолевых процессов, включая ангиогенез и метастазирование при немелкоклеточном раке легкого, колоректальном раке и раке молочной железы.

На сегодняшний день проблема, связанная с онкологическими заболеваниями очень актуальна, и несмотря на активное развитие медицины, с каждым годом прирост людей с выявленными случаями злокачественных новообразований растет. Более того, неутешительная ситуация складывается в Российской Федерации, по данным ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена, на конец 2015 года в онкологических учреждениях на учете состояли 3404237 пациентов, и с каждым годом цифра растет.

Заслуга, по разработке инновационных таргетных лекарств, относится к зарубежным фармацевтическим компаниям, которые вывели на рынок более 30 препаратов. К сожалению, российских разработчиков в данной области исследования практически не представлены. Более того, из – за определенных реформирований в 90х годах, отечественное производство фармацевтических субстанций, различного спектра действия, практически было остановлено. И на сегодняшний день, Россия является «догоняющей» страной по производству фармацевтических субстанций, в целом.

Учитывая вышесказанное, становится совершенно понятно, что разработки в области инновационных отечественных лекарственных средств является принципиально важной задачей.

На основе изложенной актуальной проблемы определена цель работы: разработка метода синтеза и принципиальной технологической схемы производства низкомолекулярного ингибитора EGFR-киназы на основе гетеросистемы имидазо[2,1-b]тиазола.

Задачи, которые были поставлены для реализации цели:

1. Формирование виртуальной комбинаторной библиотеки ряда низкомолекулярных веществ;
2. Осуществление молекулярного докинга в активный сайт связывания исследуемой протеинкиназы (EGFR).
3. Синтез смоделированных структур, показавшие наибольшую аффинность к мишени;
4. Исследование эффективности таргетных ингибиторов рецепторных протеинкиназ в системах *in vitro*;
5. Определение соединения–лидера;
6. Разработка принципиальной технологической схемы производства ингибитора EGFR-киназы.

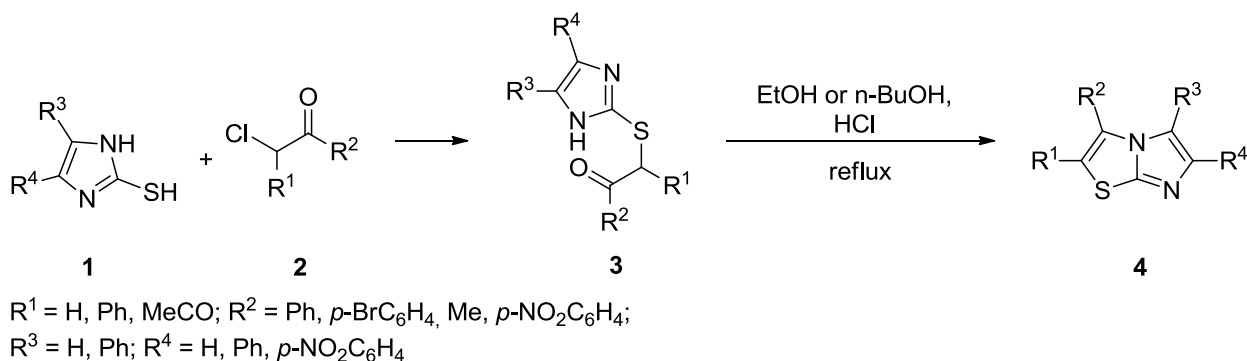
1. Литературный обзор

1.1. Способы получения имидазо[2,1-*b*]тиазола

Учитывая широкий спектр биологической активности производных имидазо[2,1-*b*]тиазола, в литературе присутствует большое количество работ, в которых описаны всевозможные способы получения и исследования свойств данного гетероцикла [1–3].

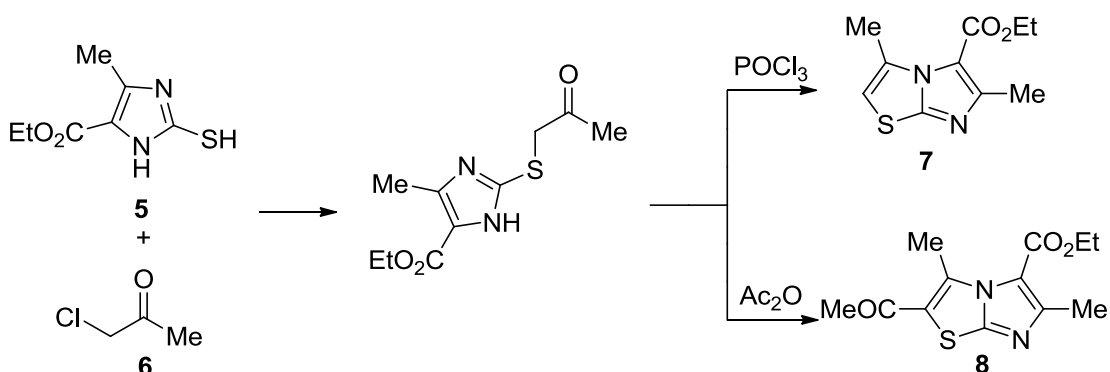
Одним из основных вариантов получения имидазо[2,1-*b*]тиазола с различными заместителями является реакция *S*-алкилирования производного 2-тиоимидазола **1** α -хлоркетонем **2** с последующей внутримолекулярной циклизацией **3** (Схема 1) [4]:

Схема 1



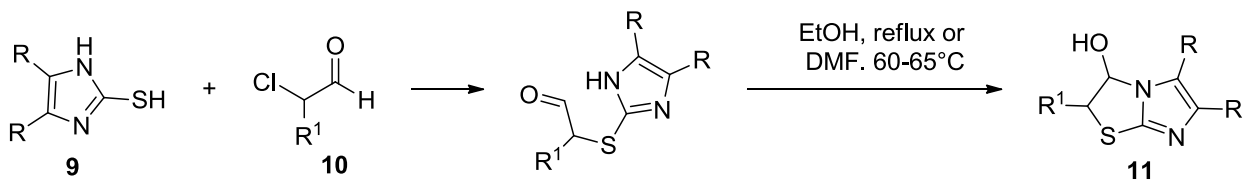
Интересно, что в присутствии POCl_3 , образуется незамещенный во втором положении имидазо[2,1-*b*]тиазол **7**, а при замене оксихлорида фосфора на уксусный ангидрид образуется 2-ацетильное производное **8** (Схема 2) [5]:

Схема 2



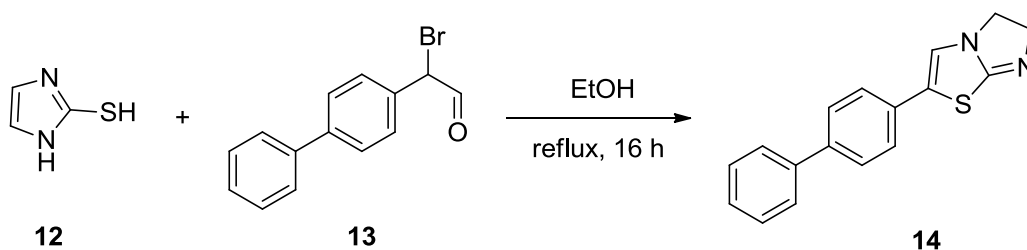
Применяя производные α -хлорацетальдегида **10**, получают 3-гидрокси-2,3-дигидроимидазо[2,1-*b*]тиазола **11** (Схема 3, 4) [6]:

Схема 3



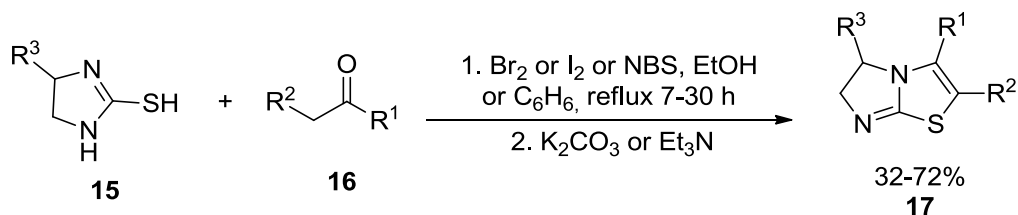
R = H, Ph; R¹ = H, Me

Схема 4



Также описана реакция [7], где вместо 2-тиоимидазола используют соответствующие ди- и тетрагидропроизводные 2-тиоимидазола **15** (Схема 5 – 11):

Схема 5



R¹ = Me, Ph, *p*-ClC₆H₄, *p*-BrC₆H₄, *p*-ClC₆H₄, *p*-NH₂C₆H₄, *p*-PhC₆H₄, *p*-MeC₆H₄, *p*-OHC₆H₄, *p*-NO₂C₆H₄
 R² = H, Ph, Me; R³ = H, Me

Схема 6

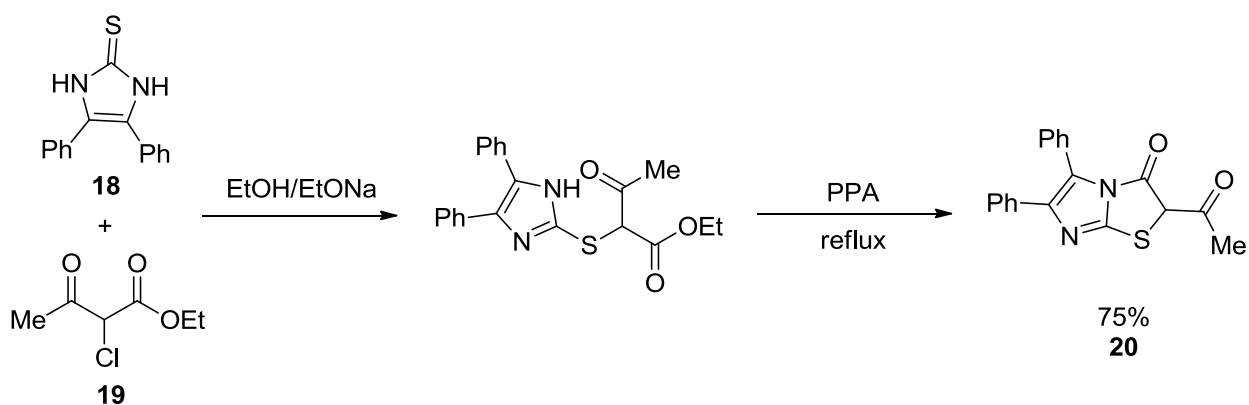


Схема 7

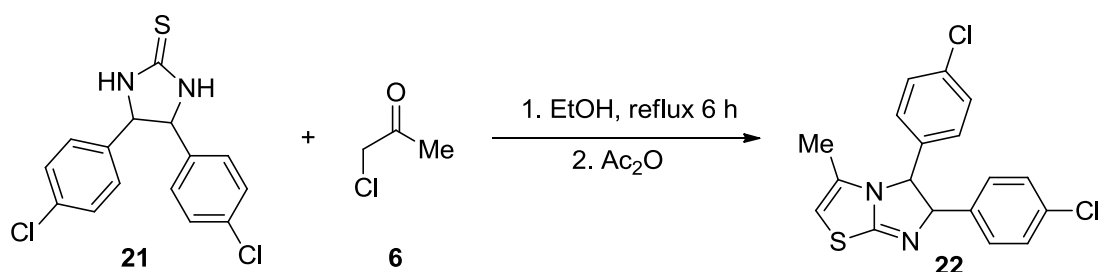


Схема 8

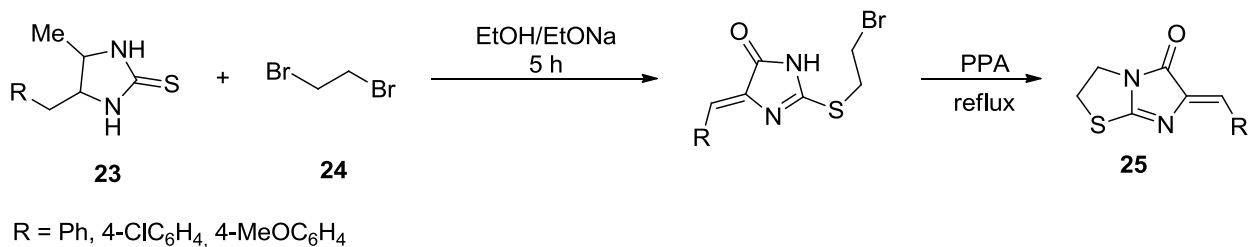
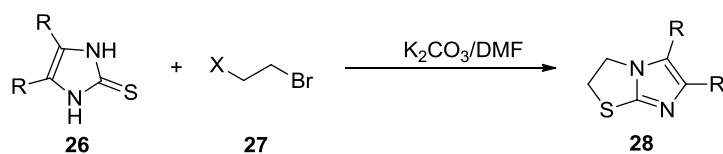


Схема 9

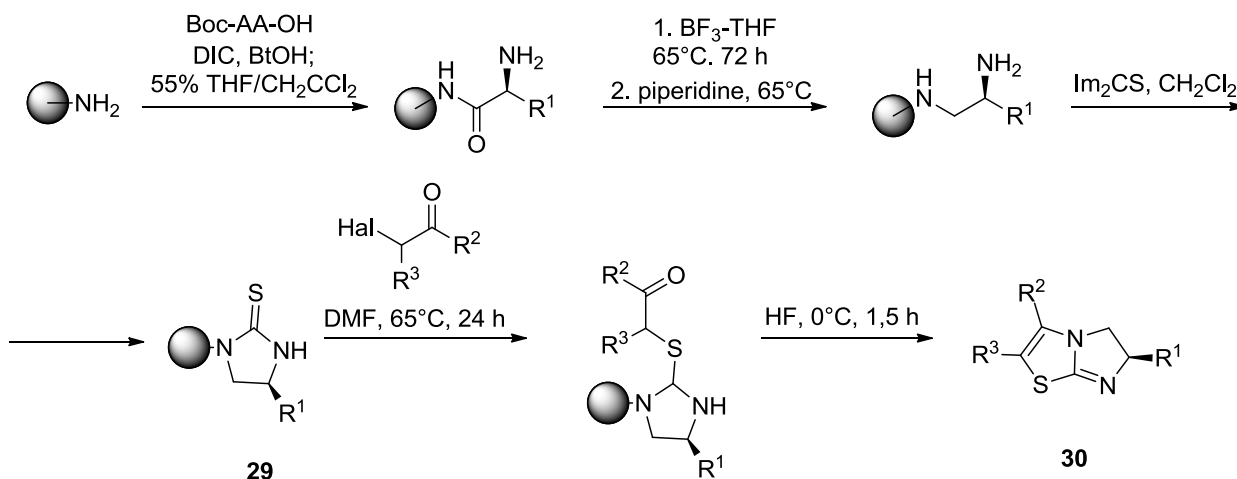


R = Ph, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄; X = Cl, Br

Выше изложенный синтетический процесс может быть применен в твердофазном синтезе. К примеру, Хоуген с коллегами [8] реализовали получение 2-тиоимидазола **29**, который далее вводили в реакцию *S*-

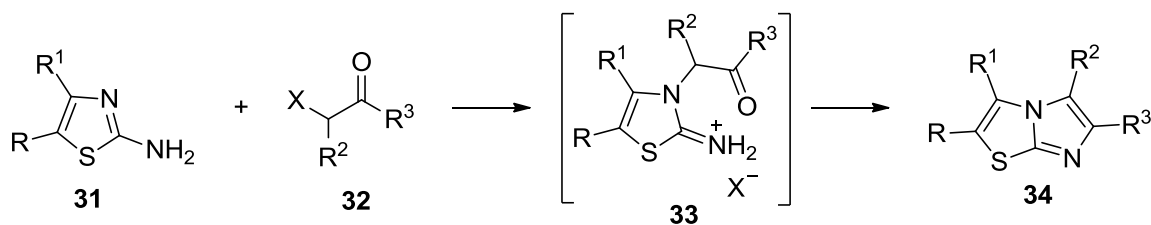
алкилирования, полученный продукт подвергали внутримолекулярной циклизации с параллельным высвобождением конечного соединения **30** от подложки с помощью HF б/в (Схема 10):

Схема 10



В публикациях [9, 10] описана реакция конденсации с производными 2-аминотиазола **31** с α -хлор- и α -бромкетонам **32** (Схема 13):

Схема 11



R = H, Me, Cl, CO₂Me, Ph

R¹ = H, Me, Et, CH₂CO₂Et, Cl, CO₂Me, Ph

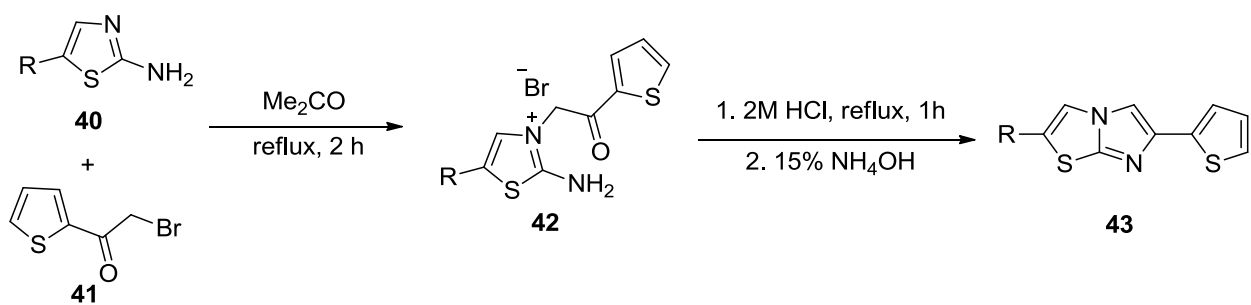
R² = H, Me

R³ = Me, Ph, 5-nitro-furyl, 2-benzofuryl, 3-Me-2-benzofuryl, *p*-ClC₆H₄, *p*-BrC₆H₄, *p*-MeC₆H₄, *p*-MeOC₆H₄, *p*-NO₂C₆H₄ etc.

X = Cl, Br

2-аминотиазол **35** подвергается кватернизации, далее осуществляется циклизация образовавшегося продукта **37** в слабокислой среде EtOH/HCl [11; 12], AcOH [13, 14], изопропанола [15] и ацетонитрила [16] (Схема 12):

Схема 12



R = C₂H₅, n-C₃H₇, i-C₃H₇

В случае двухстадийного процесса получения соответствующего имидазо[2,1-*b*]тиазола используют метод однореакторной циклизации (3+2), (Схема 13–16) [17, 18].

Схема 13

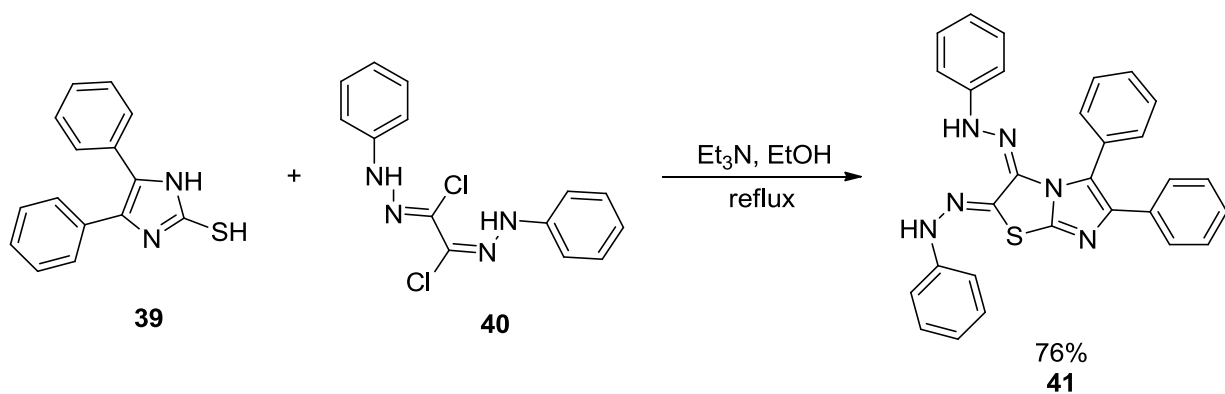


Схема 14

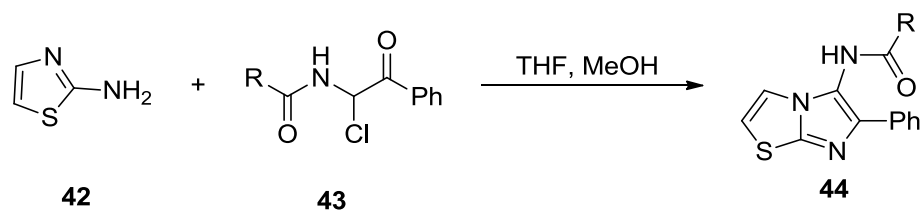


Схема 15

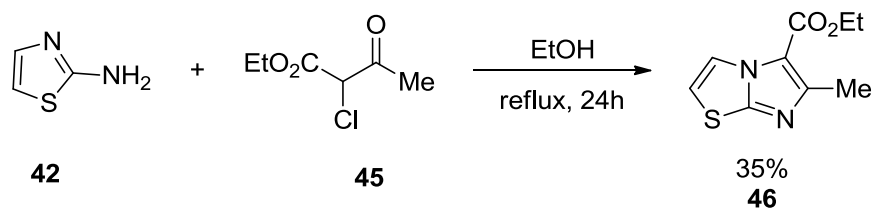
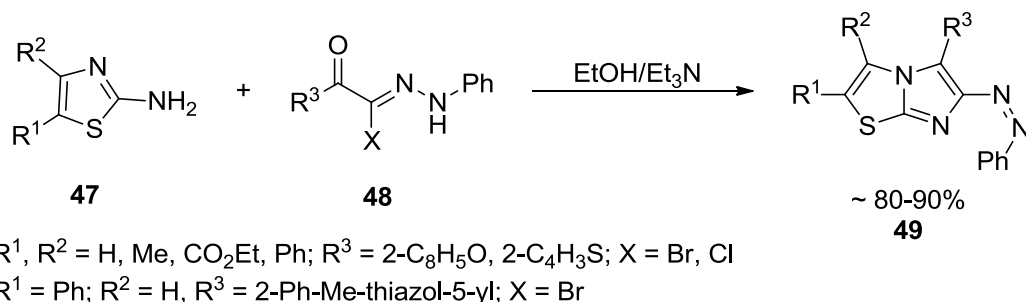
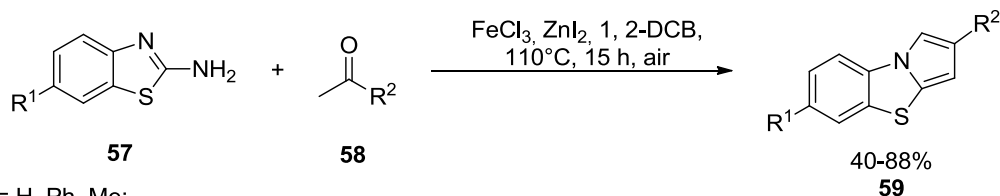


Схема 16



В основном, подобный одnoreакторный механизм используют для получения бензоконденсированных производных имидазо[2,1-*b*]тиазола **59**, **61** (Схема 17–19) [19]:

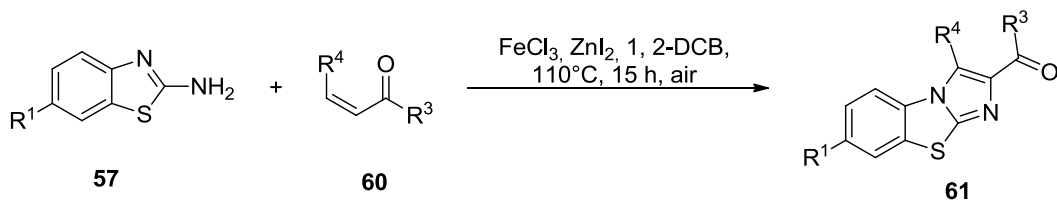
Схема 17



$\text{R}^1 = \text{H, Ph, Me};$

$\text{R}^2 = \text{Me, CF}_3, \text{Ph, 4-MeC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 4\text{-IC}_6\text{H}_4, 4\text{-CF}_3\text{C}_6\text{H}_4, 3\text{-BrC}_6\text{H}_4, 3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4, 2\text{-BrC}_6\text{H}_4, 2\text{-FC}_6\text{H}_4, 2\text{-OHC}_6\text{H}_4, 2\text{-furyl, 2-thienyl, 1-naftyl, cyclohexyl}.$

Схема 18

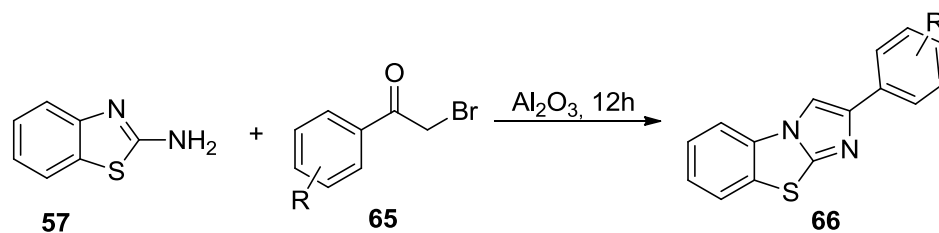


$\text{R}^1 = \text{H, Ph, Me};$

$\text{R}^2 = \text{Me, CF}_3, \text{Ph, 4-MeC}_6\text{H}_4, 4\text{-MeOC}_6\text{H}_4, 4\text{-ClC}_6\text{H}_4, 4\text{-IC}_6\text{H}_4, 4\text{-CF}_3\text{C}_6\text{H}_4, 3\text{-BrC}_6\text{H}_4, 3\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4, 2\text{-BrC}_6\text{H}_4, 2\text{-FC}_6\text{H}_4, 2\text{-OHC}_6\text{H}_4, 2\text{-furyl, 2-thienyl, 1-naftyl, cyclohexyl};$

$\text{R}^3 = \text{Ph, 2-thienyl}; \text{R}^4 = 4\text{-MeC}_6\text{H}_4, \text{Ph, 2-thienyl}$

Схема 19

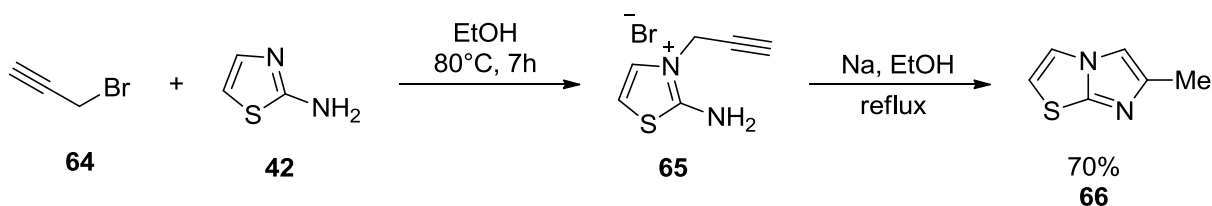


$\text{R} = \text{H, 3-OMe, 4-Br, 4-Cl, 4-OMe}$

Реакция *N*-алкилирования 2-аминотиазола пропаргилбромидом **64** образует соответствующий продукт **65**, который аналогичным образом

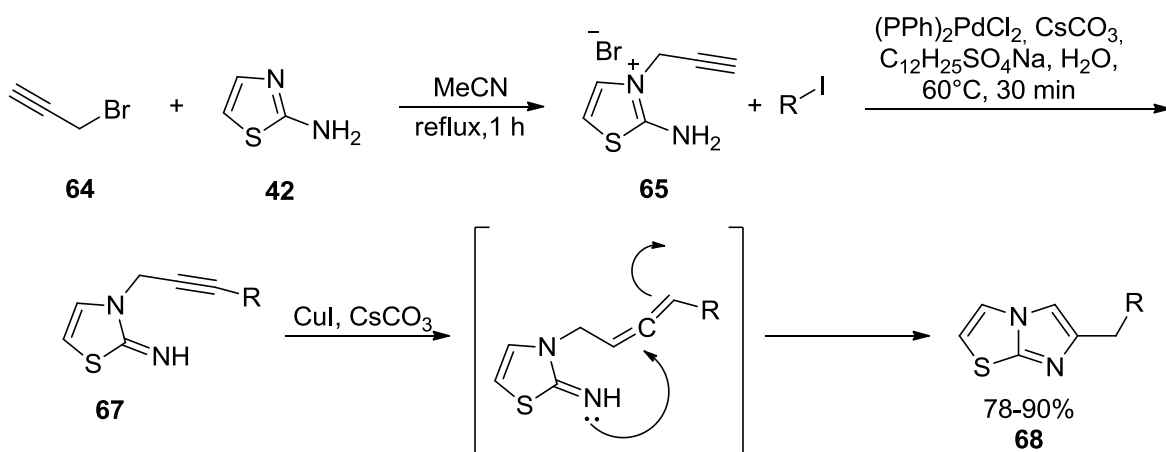
подвергается внутримолекулярной циклизации с образованием 6-метилимидазо[2,1-*b*]тиазола **66** с умеренным выходом (Схема 20) [20, 21]:

Схема 20



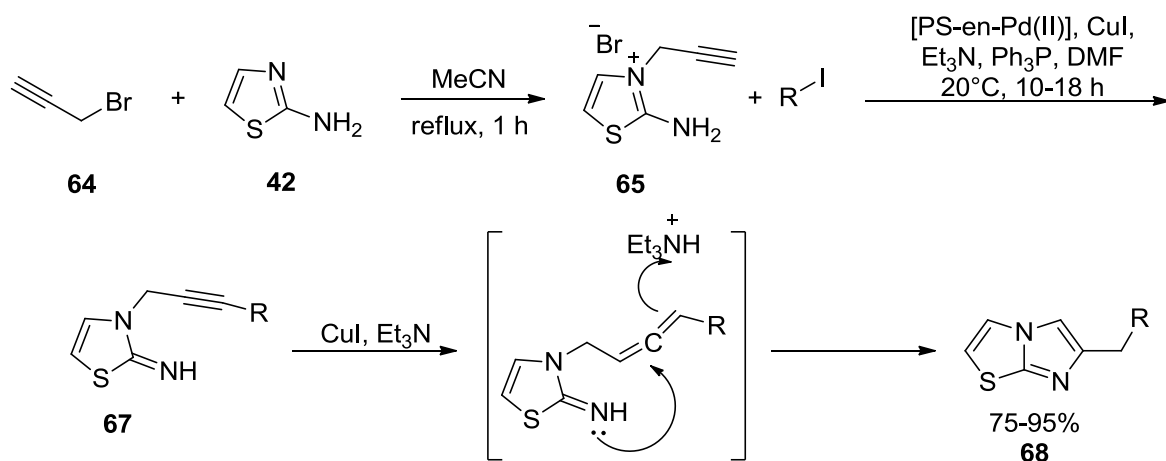
Металлокомплексный катализ применяют для получения имидазо[2,1-*b*]тиазола с бензильным заместителем в положении С–6 с отличным выходом [22]. Продукт кватернизации **65** образуется *in situ*, далее следует реакция Соногаширы, затем внутримолекулярная циклизация соединения **67** (Схема 21, 22):

Схема 21



R = 2-NO₂C₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 2-Me-4-NO₂C₆H₃, 2-Cl-4-NO₂C₆H₃, 4-Cl-2-NO₂C₆H₃, 4-Cl-3-NO₂C₆H₃

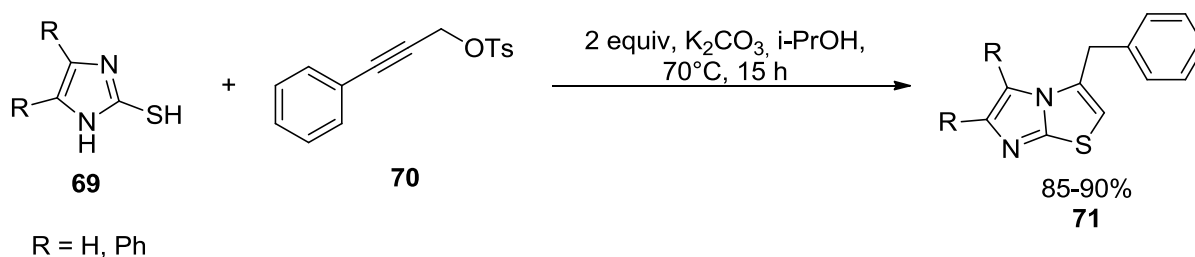
Схема 22



R = 2-NO₂C₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 2-Me-4-NO₂C₆H₃, 2-Cl-4-NO₂C₆H₃, 4-Cl-2-NO₂C₆H₃, 4-Cl-3-NO₂C₆H₃

Замена 2-аминотиазола **42** на 2-меркаптоимидазол **69** в реакции с тозилатом фенилпропаргилового спирта **70** в присутствии поташа, позволяет получить 3,5,6-тризамещенный имидазо[2,1-*b*]тиазол **71** с хорошим выходом (Схема 23) [21]:

Схема 26



Применение электрофильных эпоксидов **72**, **75**, **78**, **80** в реакции с производными 2-тиоимидазола позволяет получить соответствующие имидазо[2,1-*b*]тиазолы **73**, **76**, **79**, **81** с отличным выходом (Схема 24 – 27) [23, 24]:

Схема 24

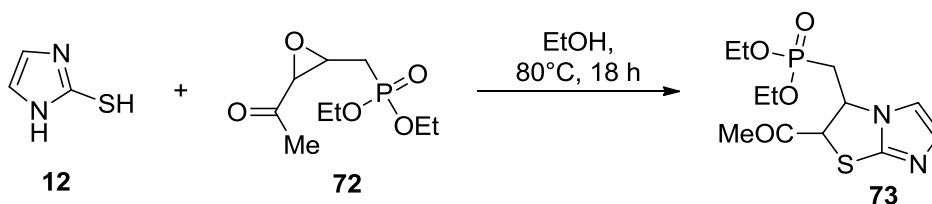


Схема 25

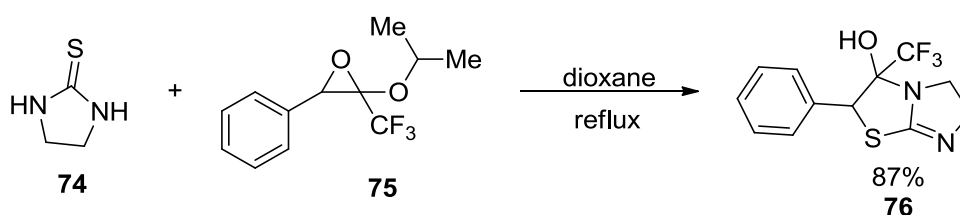


Схема 26

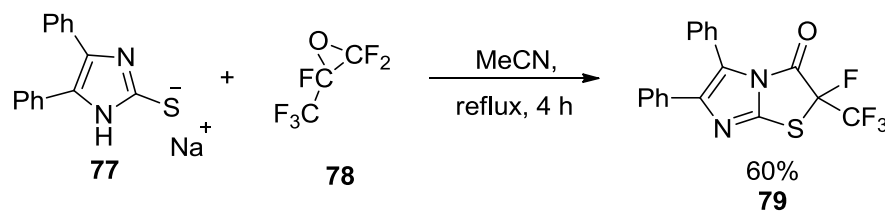
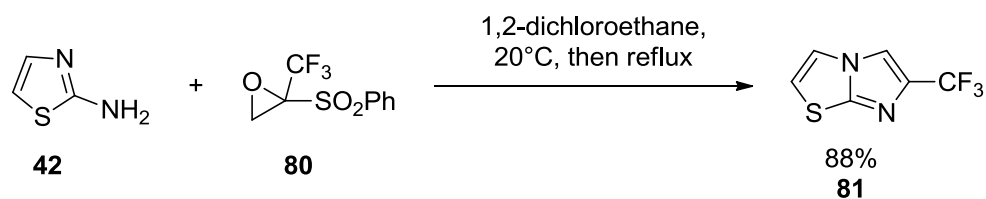
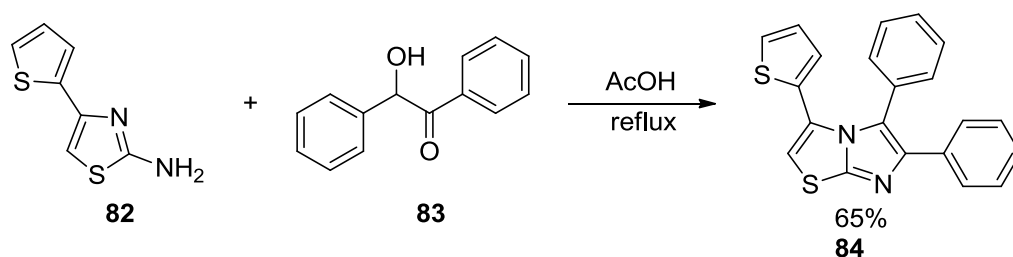


Схема 27



Уникальным примером является синтез 3,5,6-три(гет)арилзамещенного имидазо[2,1-*b*]тиазола **84**, где в качестве реагентов используют 2-аминотиазол **82** и бензоин **83**. Реакция протекает в присутствии уксусной кислоты [25] (Схема 28):

Схема 28



Известны новые синтетические пути получения 3-алкил – и 3-арилзамещенного имидазо[2,1-*b*]тиазола **86**, **88**, где реагентами выступают соли йодония **85**, **87** [26] (Схема 29, 30):

Схема 29

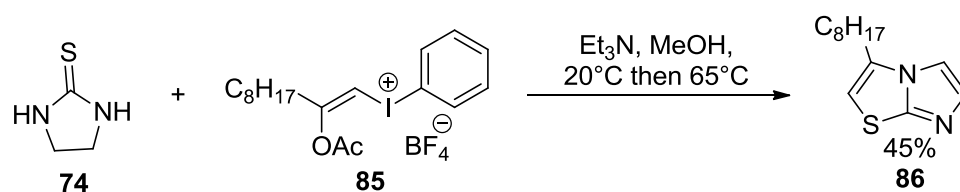
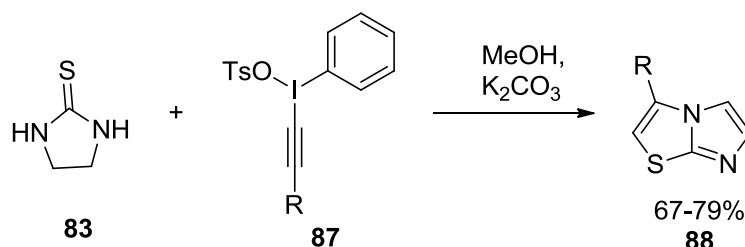


Схема 30



R = Ph, *p*-FC₆H₄, *p*-ClC₆H₄, *p*-BrC₆H₄, *p*-BuC₆H₄, *t*-Bu

Если в реакцию вводить ацетилендикарбонильные соединения **90**, **93**, удастся выделить производные имидазо[2,1-*b*]тиазола **91** [27], **94**, **96** [28] (Схема 31–33):

Схема 31

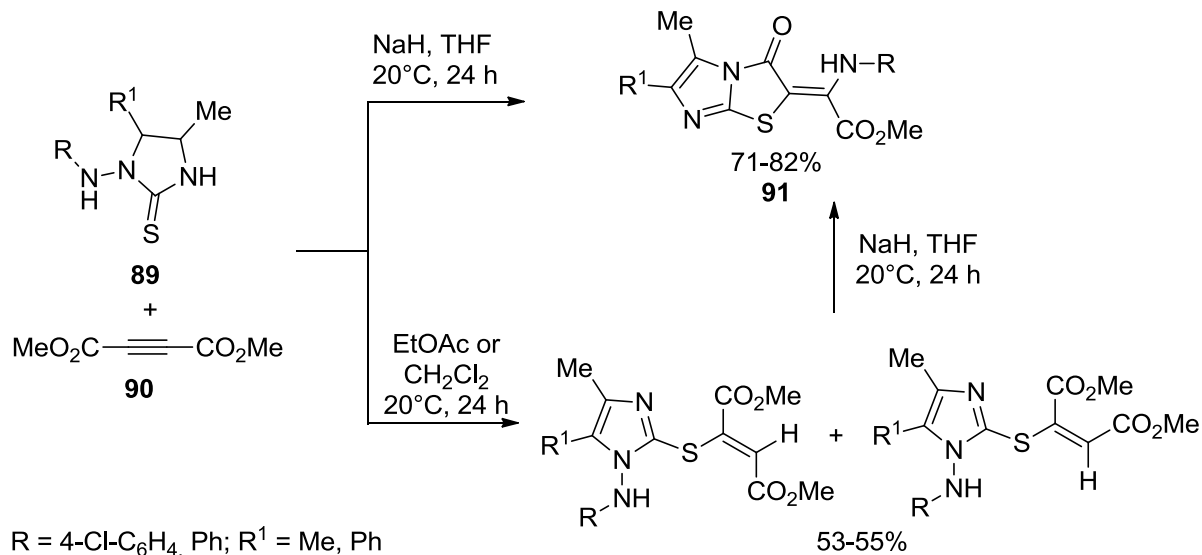


Схема 32

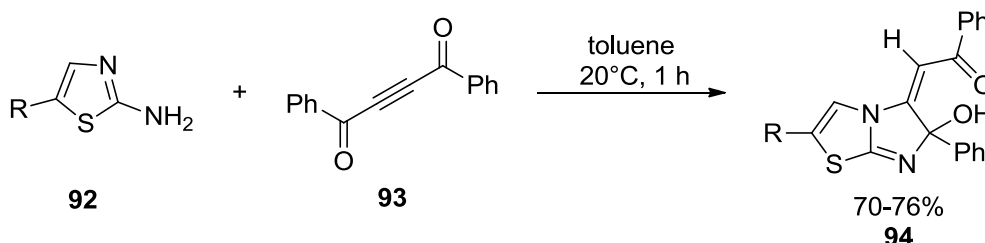
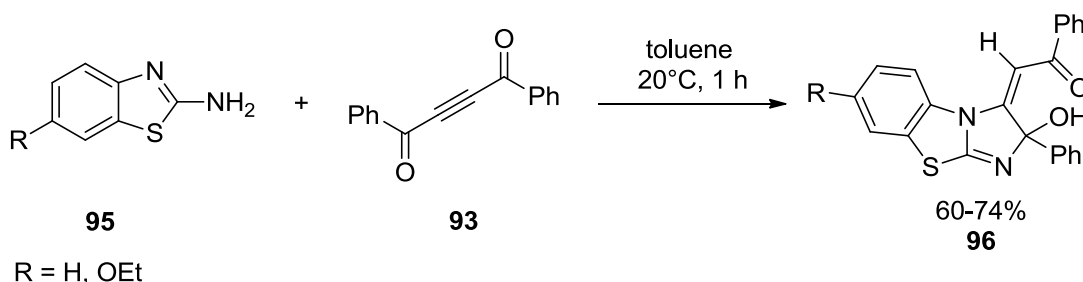


Схема 33



1.1.2. Специфические свойства имидазо[2,1-*b*]тиазола

Имидазо[2,1-*b*]тиазол представлен в виде трех основных граничных структур I, II, III (Рис. 1), из которых I является максимально реакционной. Структуры IV не существует, поскольку имидазольный фрагмент является

более электроотрицательным чем тиазольная часть этой бициклической кольцевой системы [29].

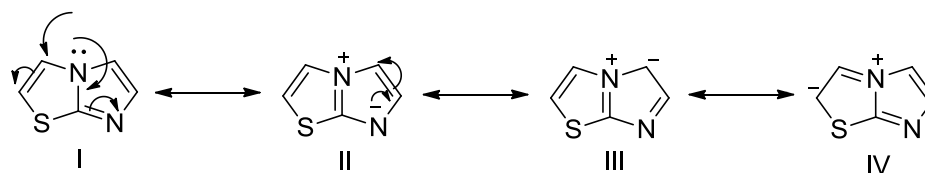


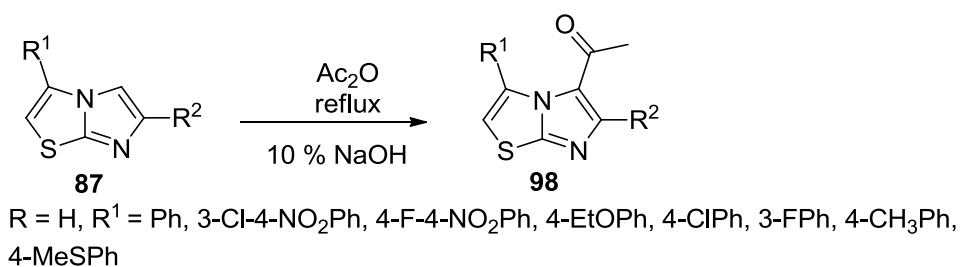
Рисунок 1. Основные граничные структур имидазо[2,1-*b*]тиазола

Имидазо[2,1-*b*]тиазол довольно стабильное псевдоароматическое соединение. π -заряд делокализован в имидазольном кольце, отсюда следует, что электрофильное замещение происходит исключительно в положение С-5 [30, 31]. Далее, будут представлены основные реакции электрофильного замещения характерные для имидазо[2,1-*b*]тиазола.

Реакция ацилирование.

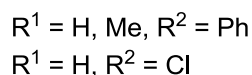
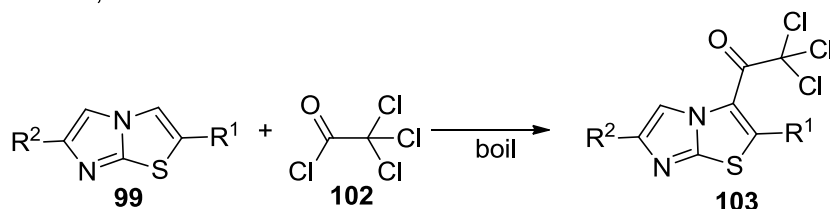
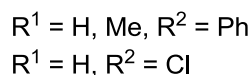
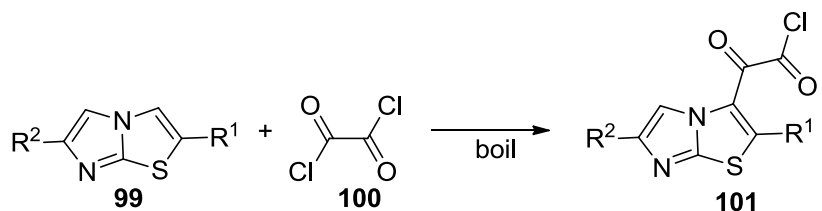
В работе [32] ацилирование имидазо[2,1-*b*]тиазола **97** осуществляют уксусным ангидридом, в присутствии концентрированной серной кислоты, который выступает в качестве катализатора. Монозамещенные 6-арилимидазо[2,1-*b*]тиазолы ацилируются в два раза быстрее, чем производные с донорным заместителем в тиазольном фрагменте (Схема 33).

Схема 33



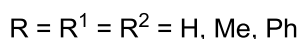
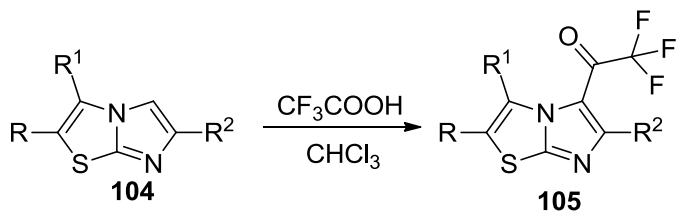
Вихров в работе [33] отмечает, что в качестве ацилирующего агента использует оксалилхлорид **100** и трихлорацетилхлорид **102** без катализатора, т.к. имидазо[2,1-*b*]тиазол проявляет высокую активность. Если в реакцию вводить оксалилхлорид или трихлорацетилхлорид в десятикратном избытке с различными производными имидазо[2,1-*b*]тиазола, удастся получить продукт с выходом приближенный к 100% (Схема 34).

Схема 34



Известны реакции введения COCF_3 группы непосредственно в 5-положение путем нагревания производных имидазо[2,1-*b*]тиазола **104** с трифторуксусной кислотой в хлороформе (Схема 35) [34].

Схема 35



Бромирование

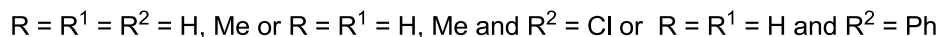
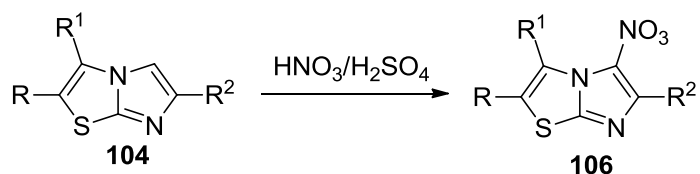
Авторами [35, 36] сообщается о бромировании исходного гетероцикла, с образованием соответствующего 5-бромпроизводного. Используют бром в уксусной кислоте или хлороформе. Избыток брома в реакции дает лабильный пербромид, который при обработке водным метанолом образует исходный 5-бромсодержащий имидазо[2,1-*b*]тиазол. В случае реакции соединения **104** ($\text{R} = \text{фурил} / \text{тиенил}$) с эквимольным количеством брома дает исключительно 5-бромпроизводное, а его избыток образует дибромпроизводное.

В источнике [37] сообщается о бромировании имидазо[2,1-*b*]тиазола **104** ($R = R^1 = H$ и Me; $R^2 = Cl$) в присутствии NBS с получением соответствующего 5-бром-6-хлоропроизводного. Аналогичным образом получают 5,6-дихлоропроизводные по реакции с N-хлорсукцинимидом.

Нитрование

Реакция со смесью HNO_3/H_2SO_4 с **104** позволяет получить 5-нитропроизводное [38–41] (Схема 36).

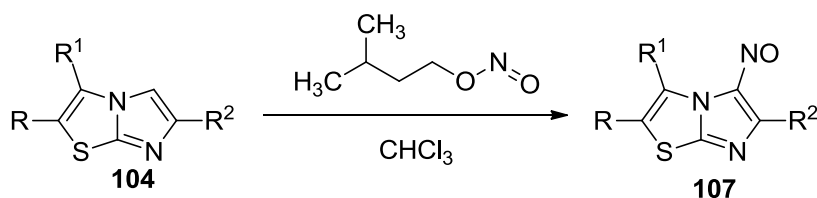
Схема 36



Нитрозирование

В случае обработки имидазо[2,1-*b*]тиазола **104** нитритом натрия в уксусной кислоте или изоамилнитритом в хлороформе, получают 5-нитрозопроизводное **107** [37–40, 42–45] (Схема 37).

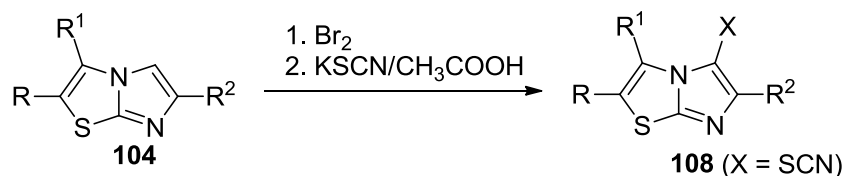
Схема 37



Тиоцианирование.

5-тиоцианатопроизводное **108** получают при последовательной обработке бромом, тиоцианатом калия в уксусной кислоте [41, 43, 46] (Схема 38).

Схема 38

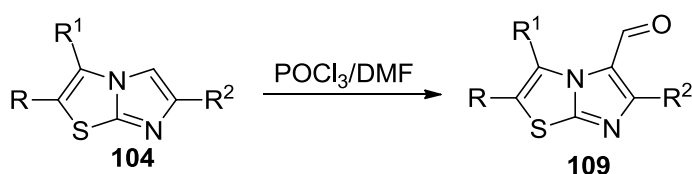


$\text{R} = \text{R}^1 = \text{H, Me, Ph}; \text{R}^2 = \text{H, Cl, Ph, heteroaryl}$

Формилирование Вильсмейера-Хаака.

При взаимодействии POCl_3 и имидазо[2,1-*b*]тиазола **104** в ДМФА, образуется продукт формилирования **109**. Даже в случае, когда С–2 положение имидазотиазола не замещено, формилирование осуществляется только по положению С–5 (Схема 39) [41, 43].

Схема 39



$\text{R} = \text{R}^1 = \text{H, Me, Ph}; \text{R}^2 = \text{H, Me, Ph, t-butyl}$

Окисление **104** диоксидом селена также дает 5-формильное производное [84].

Введение бензодиазогруппы (-N = N-Ph).

Пентималли и коллеги в работе [38] отмечают, что когда диазотированный раствор анилина добавляют к раствору 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола в пиридине при 0–5 °С и смесь оставляют на ночь, получают 5-бензодиазопроизводное с хорошим выходом (рис. 2).

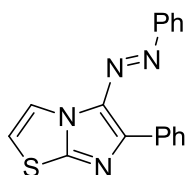


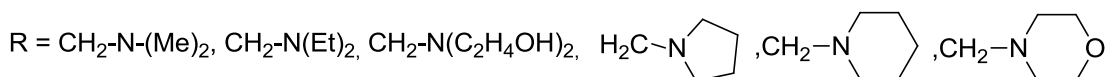
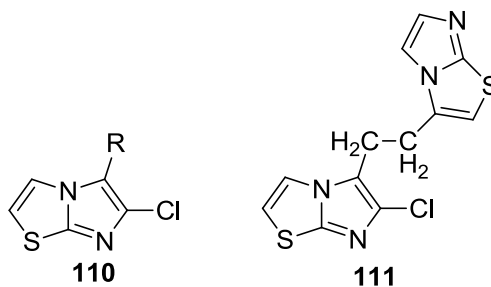
Рисунок 2 – 5-бензодиазопроизводное

Реакция Манниха.

Паолини и Лендвай [41] получили ряд оснований Манниха **110** путем нагревания 6-хлорамидазо[2,1-*b*]тиазола формальдегидом и вторичным амином в присутствии уксусной кислоты. Если вместо уксусной кислоты в

реакции использовать HCl образуется бис-метиленовое соединение **111** (Схема 40).

Схема 40



1.2 Способы получения производных халкона

Халкон **114** и его производные, в основном получают по реакции Кляйзена–Шмидта, путем взаимодействия ацетофенона **112** с производным бензальдегида **113** с использованием катализатора (NaOH, KOH, NaN) (схема 41, табл. 1) [47]. Так же возможно использовать другие катализаторы, такие как фосфат натрия [48] и гидрата гидроксида алюминия-магния [49].

Схема 41

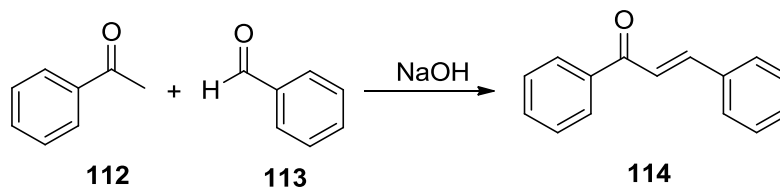


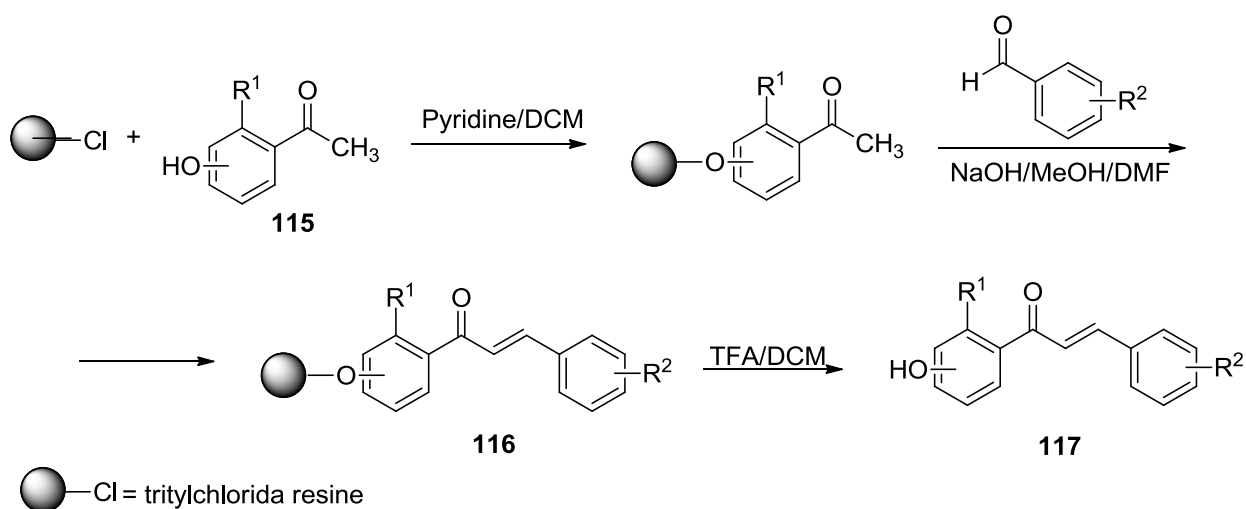
Таблица 1 – Продукты реакции схемы 41.

	R ₂ / R ₁	4-CH ₃	4-Br	4-OCH ₃	-H
	4-CH ₃	81% 126–127 °C	83% 163–164 °C	94% 127–127 °C	93% 94–96 °C
	4-OCH ₃	94%	91%	87%	69–71 °C

		94–96 °C	145–146 °C	100–101 °C	
	3-Cl	83% 109–110 °C	87% 113–113 °C	84% 118–119 °C	89% 70–72 °C
	4-Cl	86% 145–147 °C	83% 166–167 °C	88% 126–128 °C	83% 111–113 °C
	-H	42–47 °C	88% 101–103 °C	92% 104–105 °C	42–46 °C

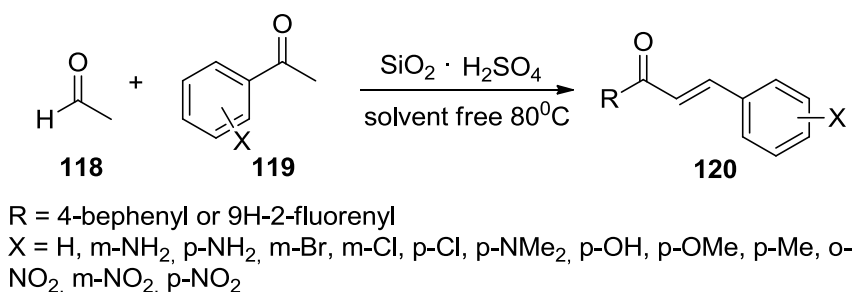
Применяют твердофазную реакцию Кляйзена–Шмидта с использованием различных твердых катализаторов. В синтезе халкона применяют кросс-альдольную конденсацию катализируемая комплексом Со (II)-пиридин полимер. Более того, после связывания данного комплекса со стиролом не наблюдается образование побочного продукта [50]. Осуществлен твердофазный синтез халкона с использованием 2-хлортрилилхлорида в виде подложки [51]. В начале, гидрокси-ацетофенон **115** связывается со смолой, а затем подвергается обработке с производным бензальдегида в присутствии $\text{NaOH}_{(\text{kat})}$ в метаноле. Образовавшийся гидроксихалкон **116** освобождают от подложки добавлением трихлоруксусной кислоты (Схема 42).

Схема 42



В твердофазном синтезе халкона кросс-альдольной конденсации применяют сульфат магния, в результате образуется продукт с хорошим выходом. Также реакцию Кляйзена–Шмидте проводят с использованием полимера в виде вспомогательного материала и ТБД (1,5,7-трисазобицикло[4,4,0]дец-ен) в качестве катализатора [52]. В твердофазном синтезе халкона используют катализатор кремнезем–серной кислоты. Реакцию с использованием катализатора – силикагель хлорсульфоновой кислоты проводят при нагревании около 80°C в течение 2 до 3 часов [53] (Схема 43).

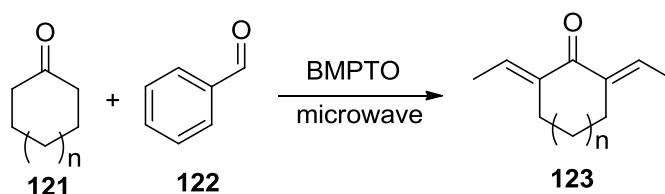
Схема 43



Подбирая экологически благоприятные условия реакции в синтезе хлормонил-халкона, учеными было решено использовать в качестве растворителя воду, и катализатор Zn(L-пролина)₂. Успехом этого решения являлось использование дешевого, нетоксичного растворителя – воду. К тому же, Zn(L-пролин)₂ возможно легко восстановить и повторно использовать в реакции [54].

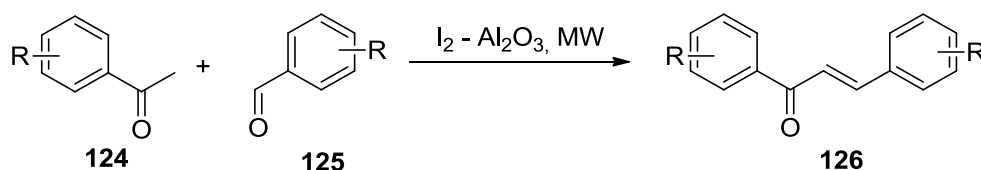
Было установлено, что СВЧ – облучение индуцирует реакцию синтеза халкона. Данный метод позволяет сократить продолжительность реакции и упростить процедуру очистки. Реакцию кросс-альдольной конденсации с использованием СВЧ – облучение применяют для синтеза производного халкона, а именно 2,6-бис(бензилиден)-циклогексанона **121** с использованием ВМРТО в качестве катализатора [55] (Схема 44).

Схема 44



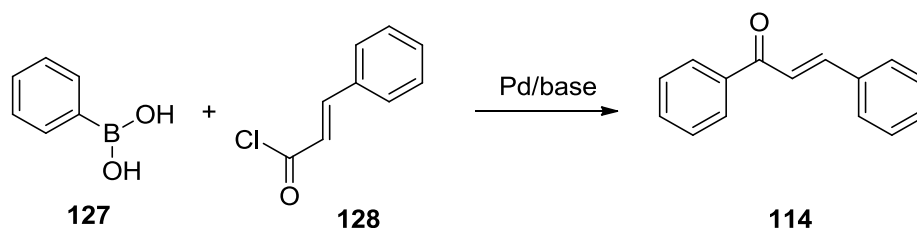
Авторами [56] описан способ получения халкона с использованием молекулярного йода в присутствии окиси алюминия. В условиях СВЧ-облучения получают производное **126**. В качестве кислоты Льюиса выступает молекулярный йод, который способствует селективной енолизации соответствующего кетона, более того происходит активация карбонильной группы для нуклеофильной атаки. Нейтральный порошок оксида алюминия служит для эффективного увеличения площади каталитической поверхности (Схема 45).

Схема 45



Чтобы добиться высокого выхода конечного продукта и свести к минимуму побочные реакции, предложен более экзотический вариант синтеза халкона **114**. Его можно получить реакцией Сузуки, взаимодействием цинномоил-хлорида **128** и фенилборных кислот **127** в присутствии Pd в щелочной среде [57] (Схема 46).

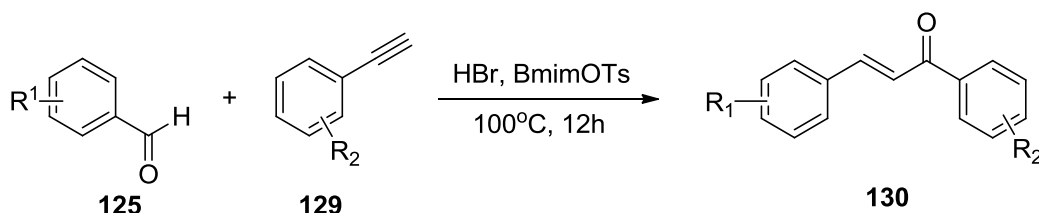
Схема 46



Для синтеза халкона применяют реакцию сочетания, путем связывания ароматического алкина **129** и альдегида **125** в ионном растворе. Было обнаружено, что ароматические альдегиды присоединяются к

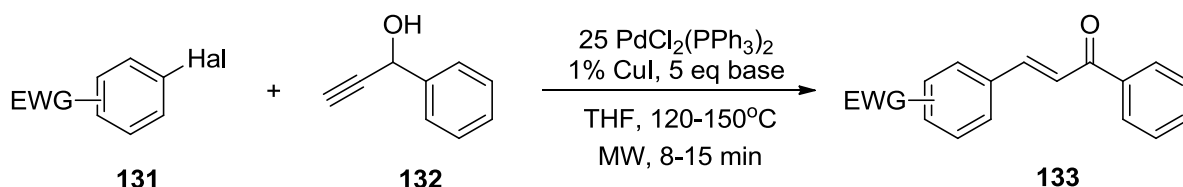
электроноакцепторным или электронодонорным группам и могут продолжить реакцию сочетания. Тем не менее, использование алифатического алкина не дает возможность получить соответствующий продукт, даже в течение длительного времени протекания реакции [58] (Схема 47).

Схема 47



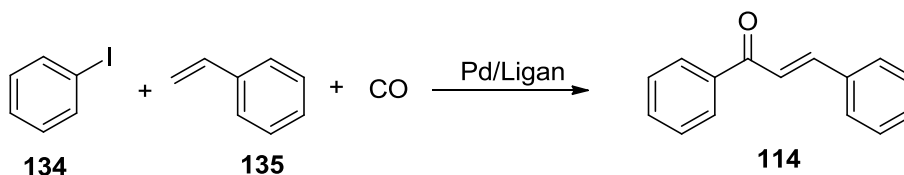
Для синтеза халкона, было предложено применить реакцию Соногаширы – изомеризацию соединений под СВЧ – излучением, посредством взаимодействия между арил–галогенидом **131** и пропаргилового спирта **132**. С помощью этого метода, в течение 8–25 минут синтеза получают продукт **133** с высоким выходом (8 – 25 минут) (Схема 48).

Схема 48



Реакция Хека с использованием катализатора Pd является еще одним вариантом получения халкона. Взаимодействие между арилгалогенидом **134** и стирола **135** в присутствии окиси углерода [59] (Схема 49).

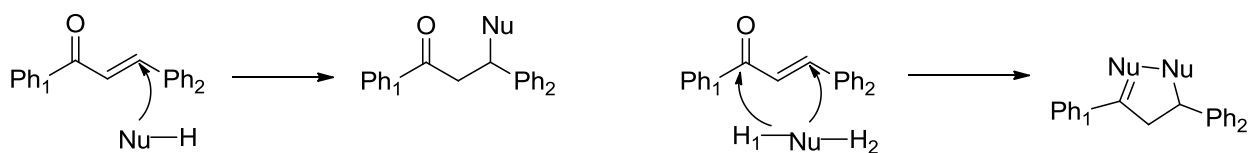
Схема 49



1.2.1 Халкон как синтон в синтезе гетероциклических соединений

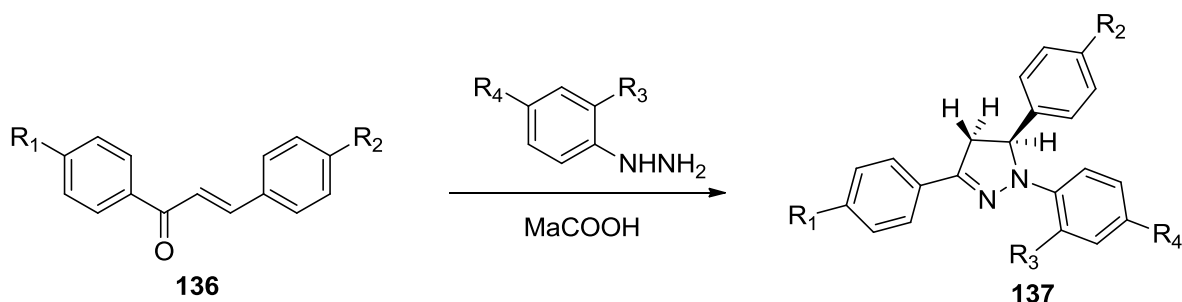
Халкон являются универсальным предшественником в синтезе гетероциклических соединений. С точки зрения органического синтеза, фрагмент енон важен для структурной перестройки халкона. Действуя как электрофил, халкон может реагировать с нуклеофильным агентом Михаэля. В реакции циклоконденсации, халкон может выступать в качестве би-электрофила для получения различных гетероциклов (пиразолина, оксирана, пирана, оксопиримидина, пиридина, и др.). Кроме того, замещенный циклогексенон возможно получить из замещенного халкона [60] (Схема 50).

Схема 50



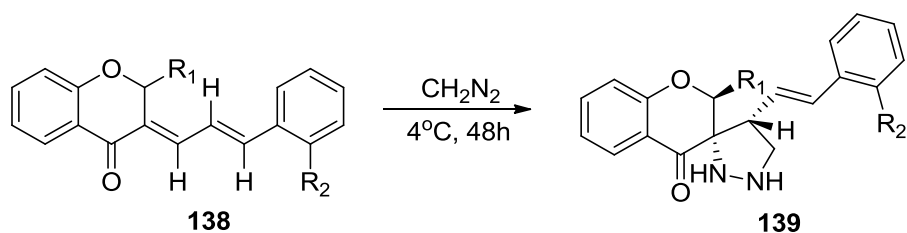
Самым популярным способом получения пиразолина **137** является реакция α , β -ненасыщенного карбонильного соединения **136** с гидразином. Халкон может быть использован в качестве источника α , β -ненасыщенного карбонильного соединения, реакцию проводят в слабокислой среде [61] (Схема 51).

Схема 51



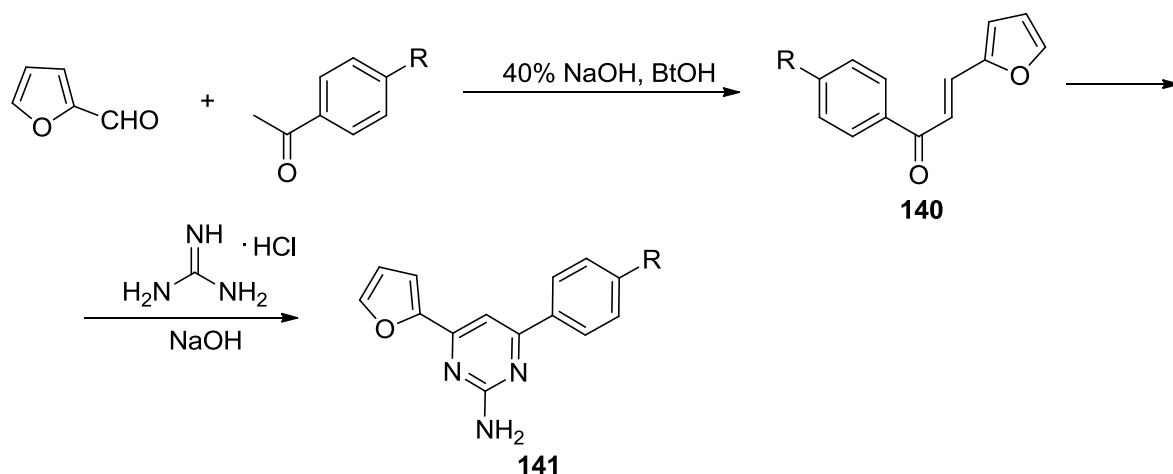
Интересный метод синтеза спиро-пиразолинового скаффолда **139**, используя в качестве синтона экзоциклический α , β , γ , δ -ненасыщенный кетон **138** и diazometan. Реакция является региоселективной и стереоселективной [62] (Схема 52).

Схема 52



Различные способы синтеза пиримидинового ядра были предложены учеными, например, трехкомпонентная реакция Биджинелли, аннелирование кольца 2-амино-2-оксазолина [63], а также путем тандемной реакции аза-Виттига [64]. Однако наиболее прикладным действующим путем синтеза производного пиримидина является реакция енонового фрагмента халкона с производными мочевины или тиомочевины [65–67]. В качестве примера, приведена реакция превращения производного халкона **140** в замещенный пиримидин **141** [68] (Схема 53).

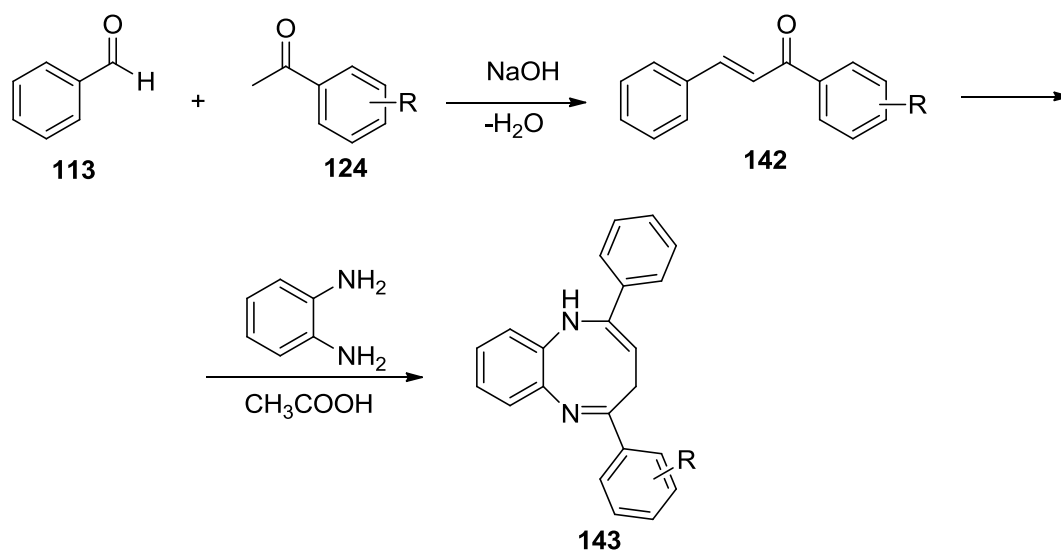
Схема 53



Показательным методом синтеза гетероциклического семичленного кольца, является реакция расширения кольца с использованием перегруппировки Бекмана [69]. Тем не менее, из – за его би–электрофильного характера, халкон дает альтернативный путь построения семичленного кольца путем реакции с би–нуклеофилом с образованием производных азепина, оксепина, или тиепина. Производные халкона **142** используют в качестве промежуточного продукта в реакции 1,2–диаминобензола [70], для

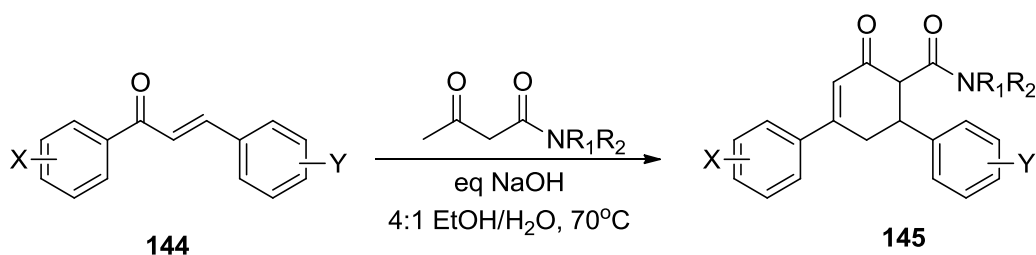
получения 2,4-дизамещенного 1,5-бензодиазепина **144**, который применяют в качестве антибактериального агента [71] (Схема 54).

Схема 54



Халкон также применяют в синтезе производных циклогексенона. Успешно осуществлено получение производного циклогексенона **145** реакцией между халконом **144** и 1,3-дикарбонильным соединением через аннелирование Робинсона [72] (Схема 55).

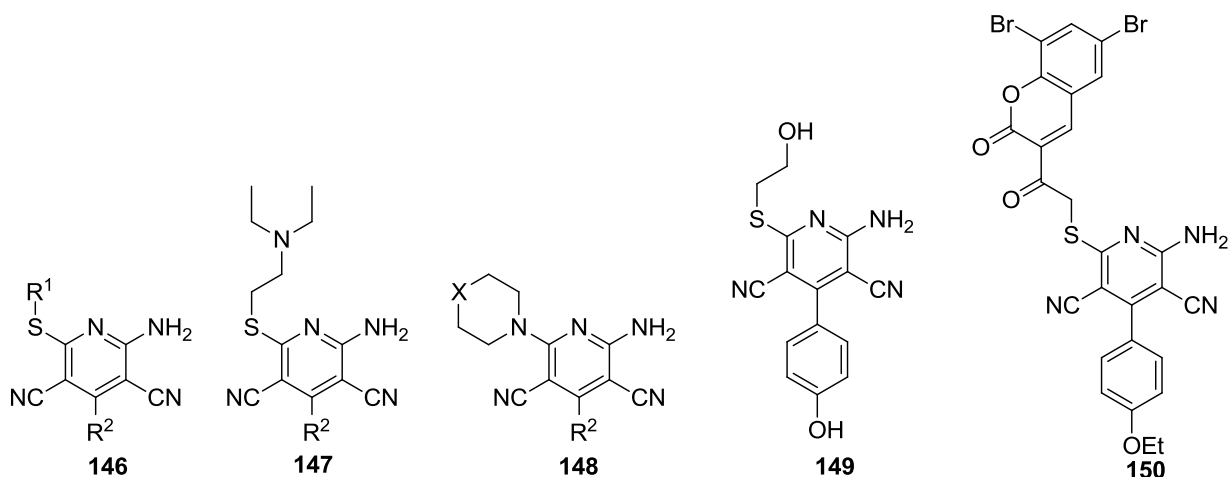
Схема 55



1.3 Получение никотинитрила и его производных

Пиридиновое кольцо является одним из известных гетероциклических систем, встречающихся в природе. Пиридин и конденсированные пиридиновые фрагменты присутствуют в многочисленных природных веществах, такие как алкалоиды хинолина и изохинолина, никотина и его аналогов. К примеру, хорошо изучены никотинитрилы **146**, которые имеют широкий спектр биологической активности. Соединение **147** известен своей антипирионной активностью [73,

74], соединение **148** проявляет противоопухолевую активность, производное никотинонитрила **149** (LUF5831) является первым подтвержденным нуклеозидным агонистом аденозина человека рецептора A1 [75], а соединение **150** было идентифицировано как сильнодействующий ингибитор ВИЧ–1 интегразы [76] (рисунок 3).



R¹; R² = alkyl, aryl
X = O, S

Рисунок 3 – Перечень биологически активных никотинонитрилов

Таким образом, производные пиридина становятся все более важными соединениями в области медицинской химии и, следовательно, вызывают особый интерес по сборке производных пиридина с выявленными биологически активными свойствами. В данной главе будут рассмотрены основные цепочки превращения получения производных никотинонитрила, которые, на сегодняшний день, пользуются популярностью среди ученых в области фармацевтической химии.

Существует многоступенчатый способ получения производных 3,5-карбонитрила **152** [77] (Схема 56). Изначально, удавалось получать продукт лишь с умеренным выходом. Авторам [78] увеличили выход реакции, используя два возможных способа окисления 1,4-дигидропиридина **151** до пиридина **152** (схема 57):

1. Применение аддукта Кновенагеля **153** в присутствии катализатора в этаноле. В данном случае, основным путем является перенос молекулярного водорода из С-4 1,4-дигидропиридина к аддукту **153**.
2. Использование ионного основания в ацетонитриле, где аэробный кислород действует как первичный окислитель. Получают продукт с отличным выходом, за короткое время реакции.

Схема 56

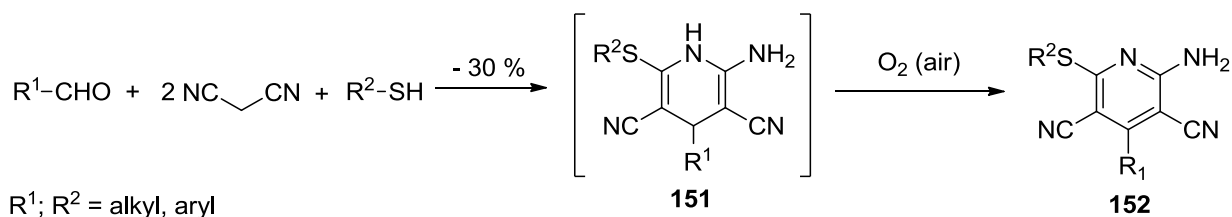
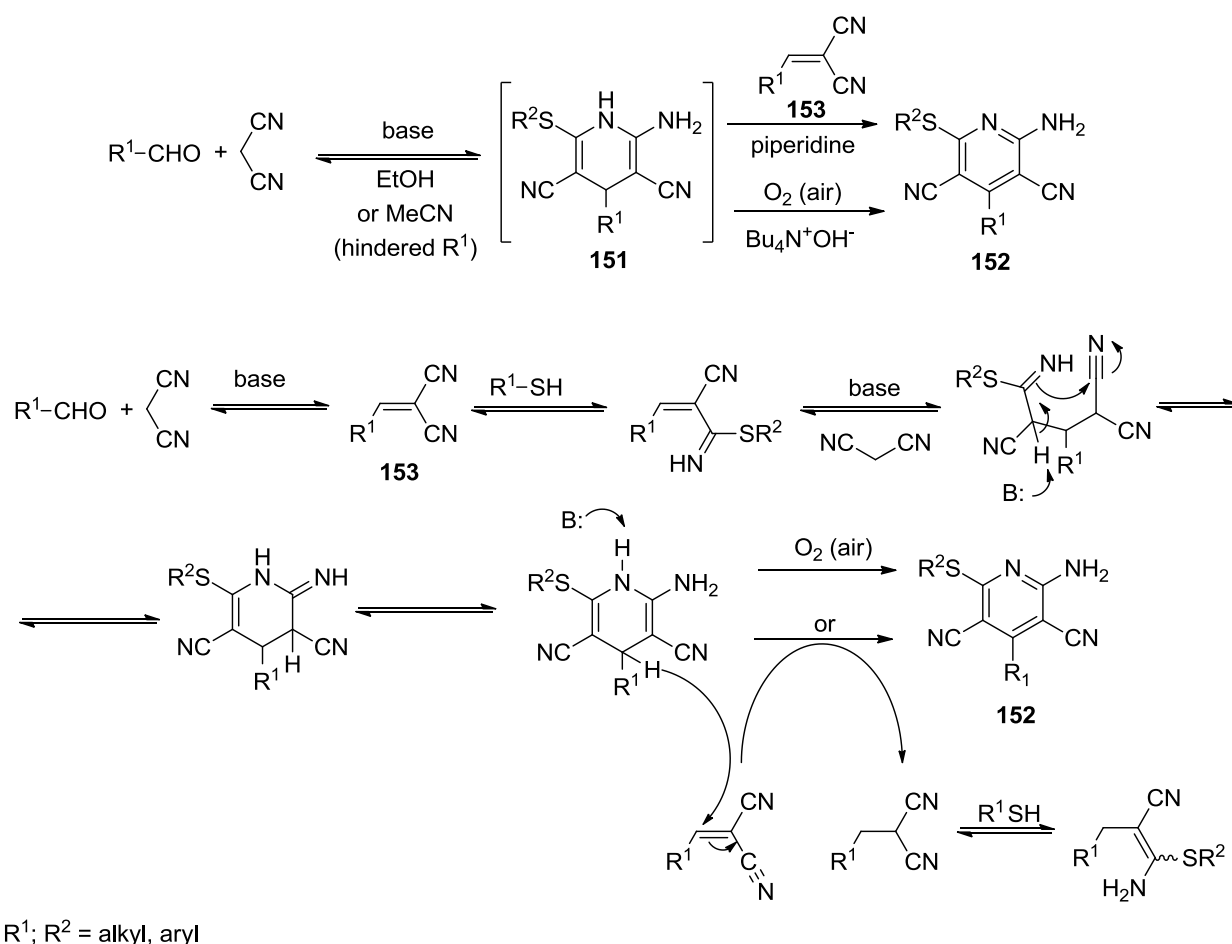


Схема 57



В работе [79] приведена реакция взаимодействия производных енонов **154а-к** (табл. 2) с эквимольным количеством малонитрила и пирролидина в

этанол, которая позволяет получить производные никотинитрила **155a-k** с выходом 40–69%. Формирование никотинитрила может быть реализовано реакцией Михаэля с образованием енамина с последующей конденсацией и ароматизацией. В случае взаимодействия тиенила и пиридил енона **154i-k** с двумя эквивалентами малонитрила и пирролидина в этаноле, образуется никотинитрил **155i-k** наряду с тиенил/пиридинзамещенным бифинилом (схема 58). При замене пирролидина на морфолин образуются соответствующее производное морфолина **157** (схема 59). Ранее сообщалось [80] об образовании бифинильного кольца из енона в реакции с двукратным избытком малонитрила в присутствии пирролидина.

Схема 58

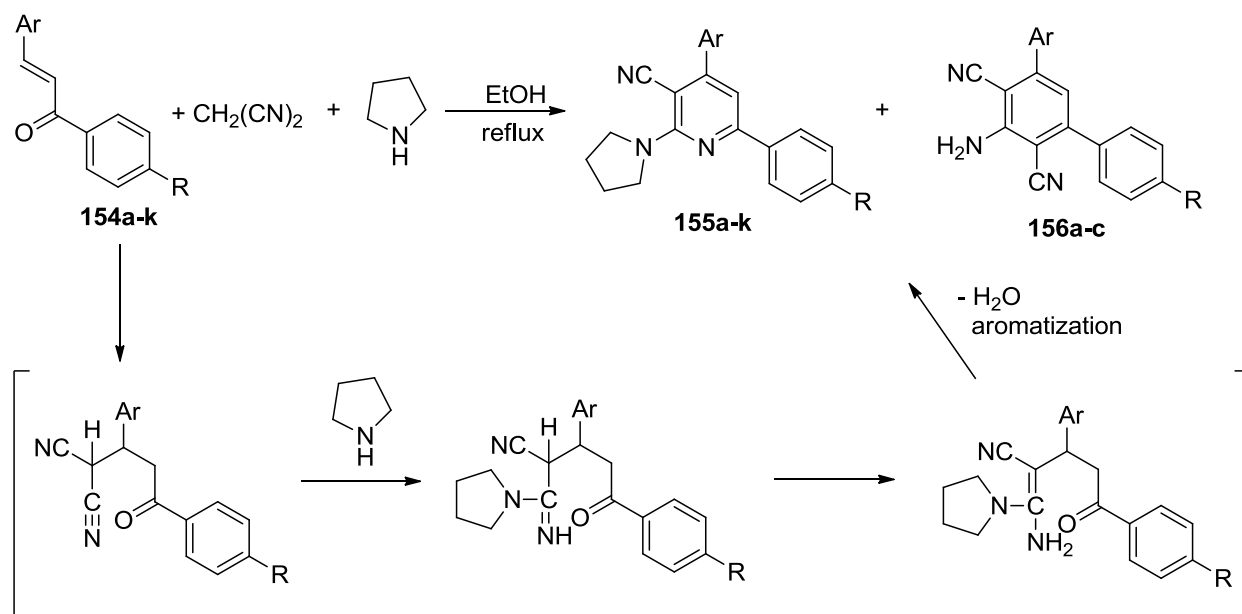
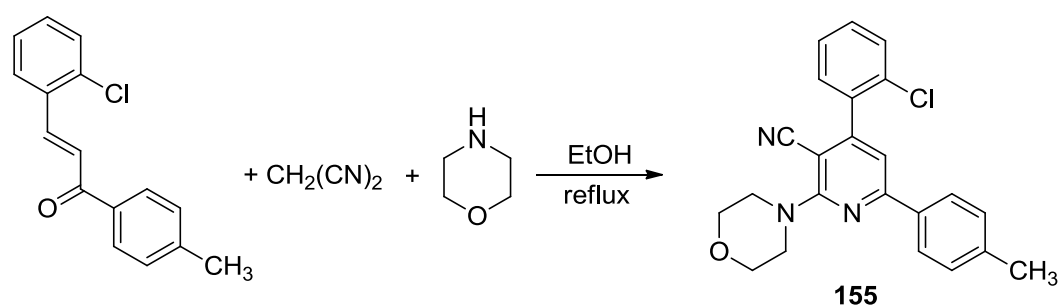


Таблица 2 – Перечень соединений для схемы 58

154; 155	156	R	Ar
a	-	CH ₃	4-NMe ₂ -C ₆ H ₄ -
b	-	OCH ₃	4-NMe ₂ -C ₆ H ₄ -
c	-	Cl	4-NMe ₂ -C ₆ H ₄ -
d	-	H	4-NMe ₂ -C ₆ H ₄ -
e	-	H	4-NEt ₂ -C ₆ H ₄ -

f	-	OCH ₃	4-NEt ₂ -C ₆ H ₄ -
g	-	OCH ₃	C ₆ H ₅ -
h	-	OCH ₃	4- OCH ₃ -C ₆ H ₄ -
i	a	H	2-Тиенил
j	b	CH ₃	2-Тиенил
k	c	H	2-Пиридил

Схема 59



Также в работе [79] описан способ получения пиридина динитрила **159a-f** с выходом 41–56%. Осуществляется взаимодействие между альдегидом **158a-f** (табл. 3), двумя эквивалентами малонитрила и пирролидина в этаноле. Образование пиридинового кольца может быть рационализировано конденсацией Кновенагеля, реакцией Михаэля, циклизацией и ароматизацией (схема 60). По аналогичному ступенчатому механизму получают производные тетрагидробензопирана [81] реакцией бензилидена малонитрила с димедоном.

Схема 60

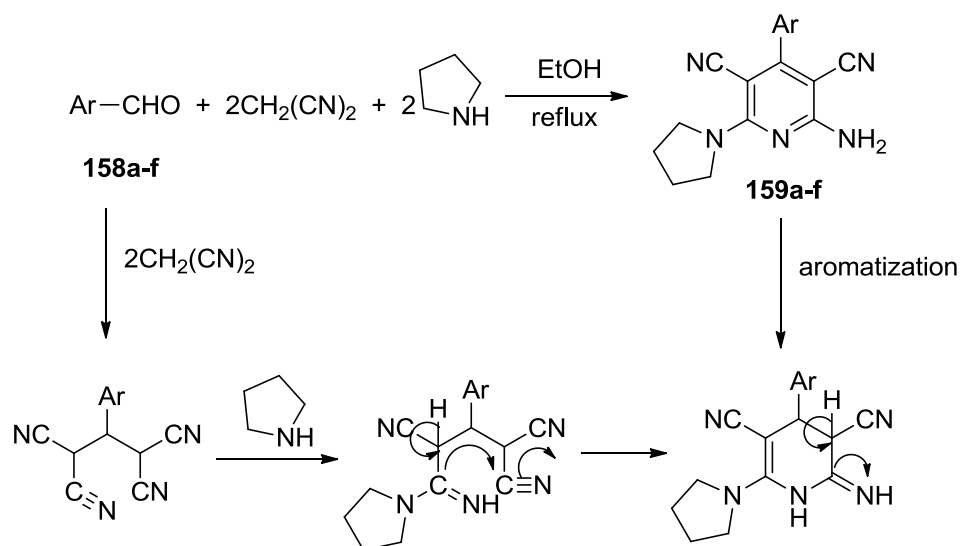
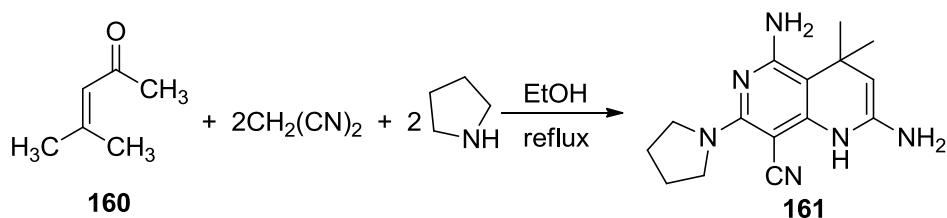


Таблица 3 – Перечень соединений для схемы 58

158; 159	Ar
a	4-Me ₂ N-C ₆ H ₄ -
b	4-Et ₂ N-C ₆ H ₄ -
c	4-Me-C ₆ H ₄ -
d	4-CH ₃ O-C ₆ H ₄ -
e	C ₆ H ₅ -
f	Индол-3-ил

Реакция мезитилоксида **160** с двумя эквивалентами малонитрила и пирролидина в этаноле приводит к образованию 1,4-дигидро-1,6-нафтиридина **161**, с выходом 32% (схема 61).

Схема 61



Необходимую серию халконов **162a-c** [82] вводят в реакцию Димрота (схема 62) с эквимолярным количеством малонитрила в присутствии гомологов алкоголята натрия, в условиях 4–5 часового кипячения получают

2-алкоксиникотинитрилы **163–167** с выходом 48–65%. Алкоксигруппы в положении С–2 возникают из-за атаки алкоголя натрия на кольцо, механизм реакции описан в схеме 63. Конечные продукты реакции охарактеризованы аналитическими и спектральными методами анализа [83, 84].

Схема 62

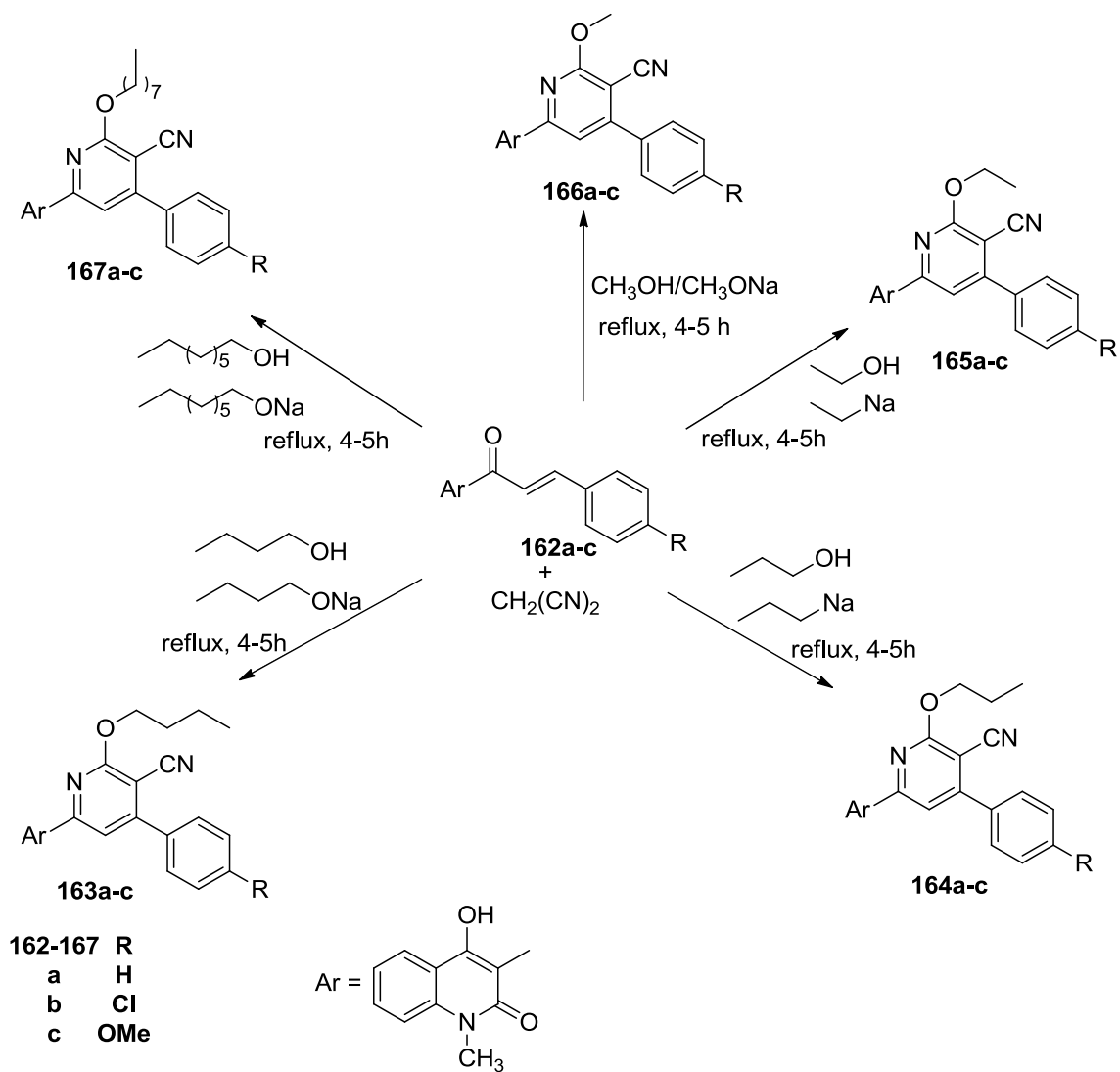
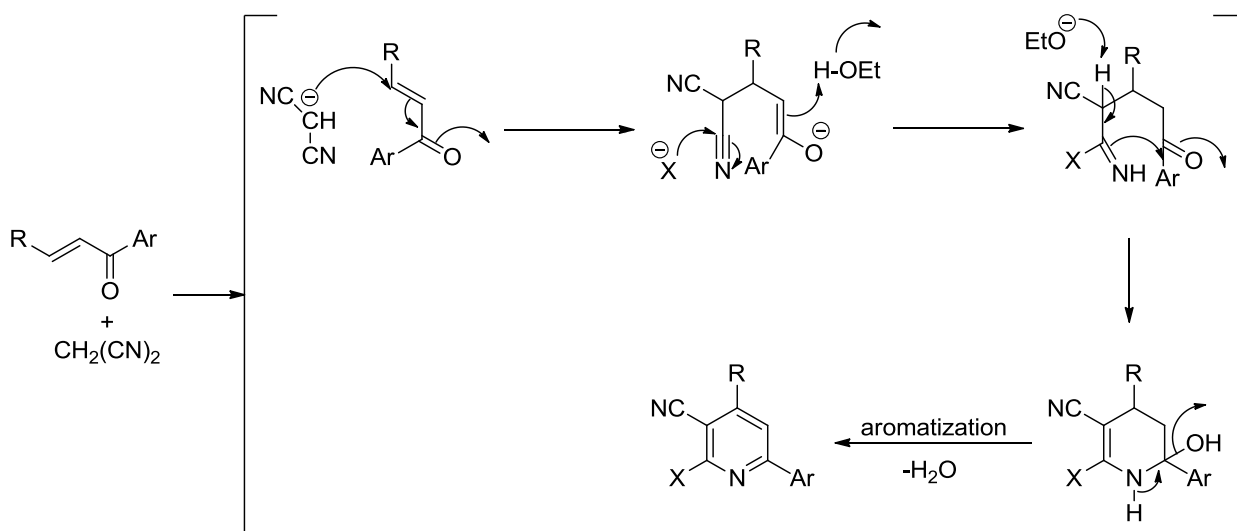


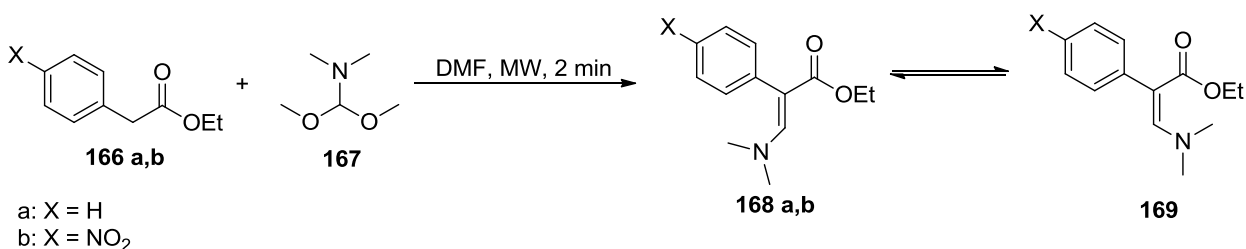
Схема 63



X = OR², piperidine, etc

Для получения следующей серии никотинонитрилов в работе [85] описан синтез енаминоэфира **168a, b** и его реакционная способность по отношению к нуклеофилам содержащие атом азота и углерода. Вводя в реакцию, при СВЧ-облучении, этил-2-фенилацетат **166a** или этил-п-нитрофенилацетат **166b** с N, N-диметилформамиддиметилацеталем (DMFDMA) **167** получают енаминоэфир **168a, b** с хорошим выходом. Т.к. соединение **168a, b** может принимать цис-форму **169**, структура **168a, b** подтверждена на основе разностной спектроскопии NOE, которая показала особую близость протонов диметиламинной и арилной группы (схема 64) [86].

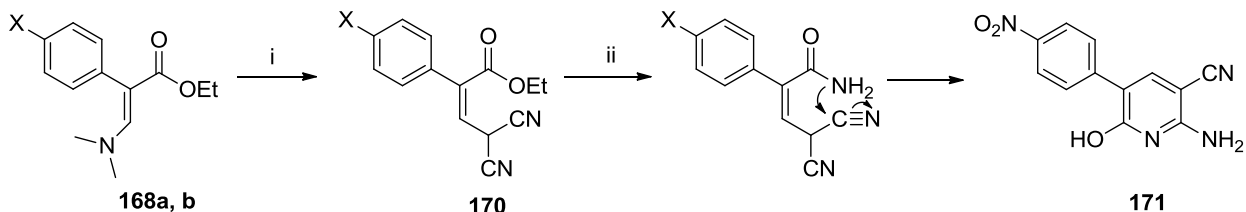
Схема 64



При взаимодействии соединения **168a, b** с малонитрилом при СВЧ-излучении, осуществляется нуклеофильное замещение соединения **168a, b** в положение С-3, что приводит к образованию этилового эфира 2-арил-4,4-дициано-но-2-еновой кислоты **170a, b** с отличным выходом. Соединение

170b подвергается внутримолекулярной циклизации с использованием ацетата аммония, который выступает катализатором. Образуется 2-амино-6-гидрокси-5-(4-нитрофенил)никотинонитрил **171** (схема 65).

Схема 65



i: Enaminoester, CH₂(CN)₂, drop AcOH, MW, 5 min

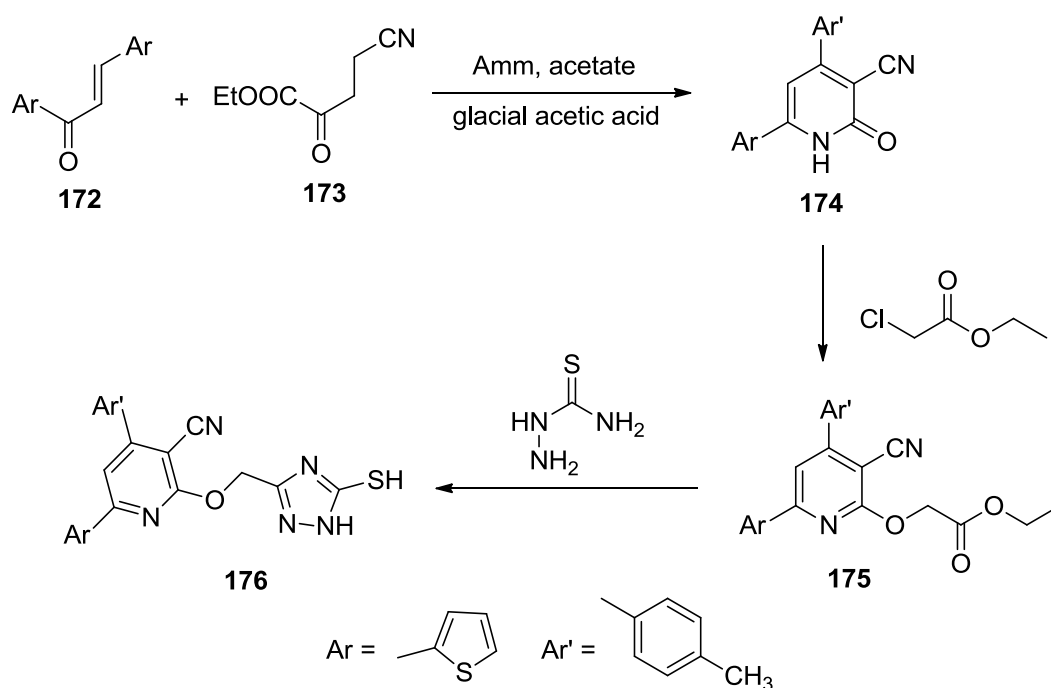
ii: 4,4-Dicyano-2-(4-nitrophenyl)-but-2-enoic acid ethyl ester 4b, AcOH/ AcONH₄, reflux, 3h

a: X = H

b: X = NO₂

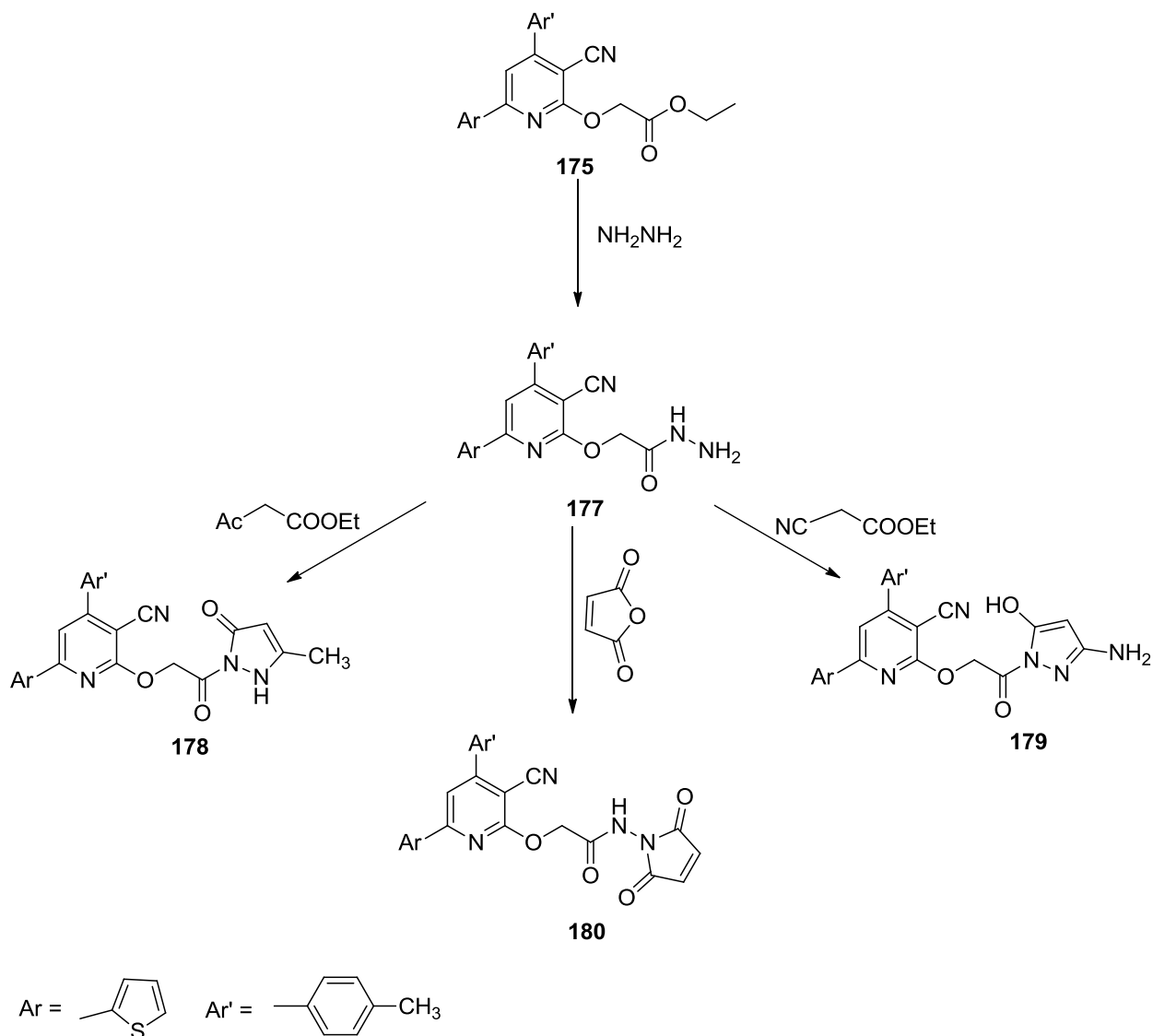
Следующие примеры синтеза производных никотинонитрила приведены в публикации [87]. Исходный 2-оксо-6-тиен-2-ил-4-п-толил-1,2-дигидропиридин-3-карбонитрил **174** получают взаимодействием 3-толил-1-тиен-2-ил-пропанона **172** [88] и этилцианоацетата **173** в уксусной кислоте, в присутствии безводного ацетата аммония [89]. При дальнейшем взаимодействии полученного соединения **174** с этилхлорацетатом получают производное этилового эфира уксусной кислоты **175**. Циклоконденсация соединения **175** с тиосемикарбазидом в основной среде дает **176** (Схема 66).

Схема 66



Реакция конденсация соединения **175** с гидразингидратом, образует гидразид уксусной кислоты **177**. Обработка соединения **177** этилацетоацетатом или этилцианоацетом дает производные пиразола **178** и **179** соответственно. В случае взаимодействия гидразида уксусной кислоты **177** с малеиновым ангидридом в ледяной уксусной кислоте, получают 2-(3-циано-6-тиен-2-ил-4-п-толилпиридин-2-илокси)-N-(2,5-диоксо-2,5-дигидропиррол-1-ил)ацетамид **180** (Схема 67)

Схема 67



1.4 Ингибиторы EGFR-киназы.

На сегодняшний день в качестве лекарственных средств утверждены три ингибитора киназы EGFR. Несмотря на их структурное сходство, молекулы различным образом связываются на шарнирных участках. Показано, что Lapatinib на сайте связывания АТФ находится в той конформации, которая напоминает конформацию неактивной структуры киназы, она просто открывает гидрофобный канал и индуцирует неактивную конформацию, в то время как Tarceva находится в активной конформации. Различие между способами связывания двух молекул приводит к тому, что Lapatinib имеет более медленную скорость диссоциации на активном сайте.

Реакционноспособный цистеин, расположенный на сайте связывания АТФ EGFR позволяет разработать селективные, необратимые ингибиторы EGFR, которые образуют ковалентные связи с активными центрами цистеина. Эти типы соединений подвергаются клиническим испытаниям [90, 91]. Виссер и его коллеги [91] на основе исследований по моделированию идентифицировали ингибитор 4-анилинхинозолин и после чего, начали клиническое испытание ингибитора ЕКВ569. Это соединение ингибирует EGFR и рост различных линий клеток карциномы.

Анти-egfr-таргетная терапия повышает эффективность стандартной химиотерапии в преклинических и клинических исследованиях. Хотя такой метод лечения может привести к частичному ответу или к стабилизации заболевания у некоторых пациентов. Молекулярный механизм резистентности может быть описан несколькими общими процессами:

1. сопротивление за счет активации альтернативных рецепторов тирозин киназы (например, c-Met и IGF1R);
2. сопротивление вследствие усиления ангиогенеза;
3. сопротивление основано на конститутивной активации посредников (например, PTEN, K-Ras и другие);
4. мутация EGFR.

Большинство из этих механизмов (например, избыточная экспрессия IGF1R, потеря PTEN или обходимость путей EGFR) также участвуют в сопротивлении Trastuzumab/Herceptin [92].

Некоторые успешные ингибиторы киназы (например, Glivec и Iressa) малоэффективны к определенным мутированным киназам [93]. Известно, что мутация Т790М в EGFR, которая возникает на ранних стадиях внеклеточного рака легких, имеет устойчивость к данным ингибиторам. Однако, установлено, что в случае EGFR, мутация Т790М присутствует только в частных случаях заболеваний и опухолей, возможно содержание лишь малых долей клеток с такой мутацией. Эти наблюдения показывают, что множественные механизмы устойчивости могут сосуществовать в

рецидивирующих опухолях после начального ответа на Gefitinib или Glivec. Так как большинство ингибиторов киназы должны достичь внутриклеточной мишени, специфические мембранные переносчики могут существенно модулировать их эффективность. Кроме того, гидрофобные ингибиторы киназы могут взаимодействовать с так называемыми лекарственными транспортерами, и тем самым изменять клеточное распределение несвязанных фармакологических агентов. Определенные TKIs, уже на клинических этапах разработки лекарственных средств, с высокой степенью сродства взаимодействуют с ABCG2. Результаты показывают, что белковая модуляция сопротивления мультитеарствам со стороны ТК может быть важным фактором при клиническом лечении онкологических больных [94].

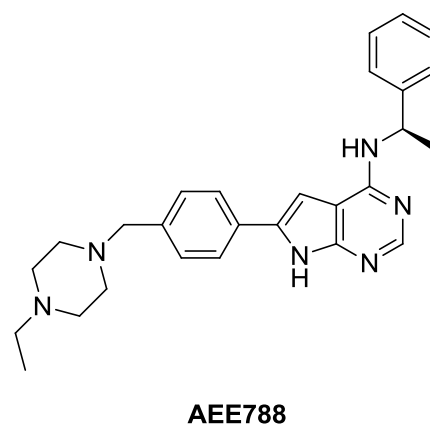
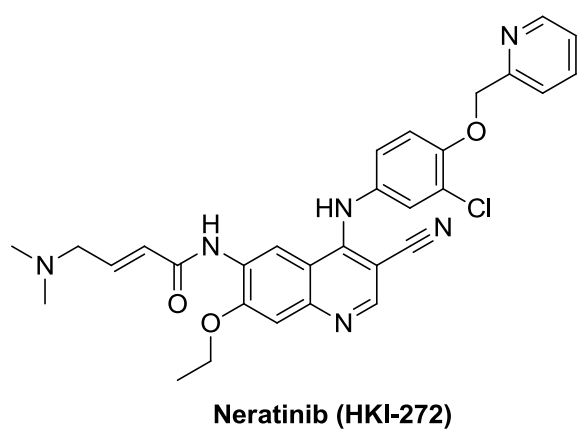
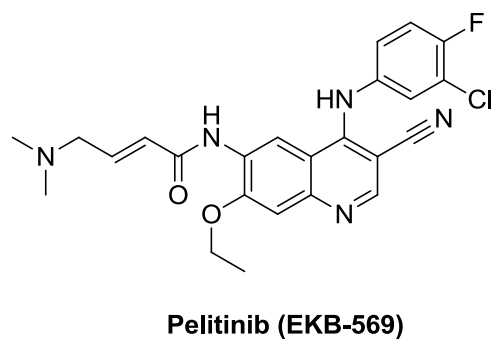
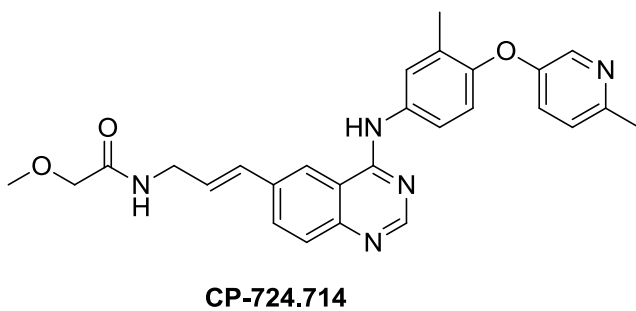
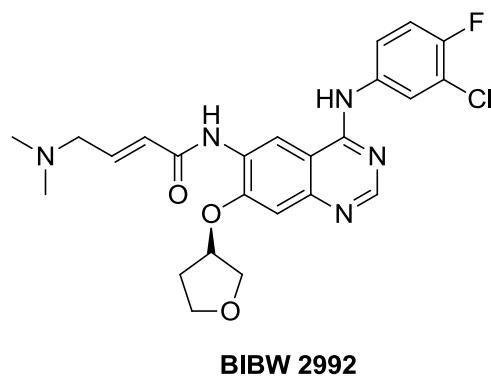
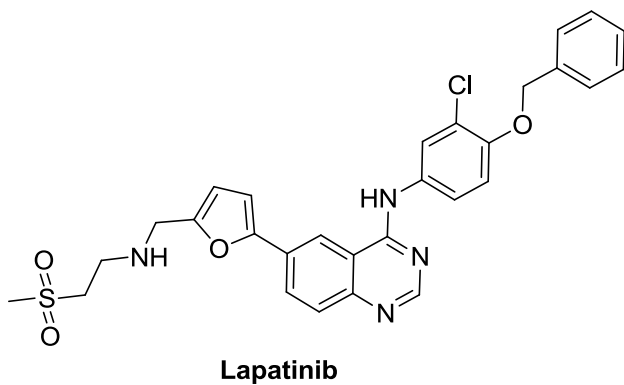
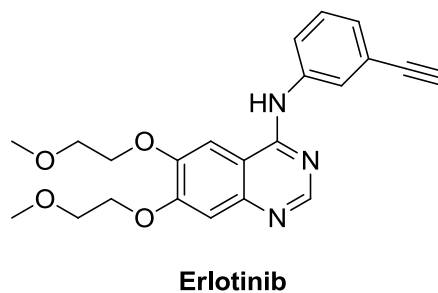
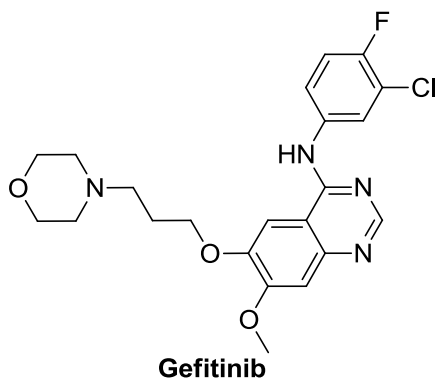
Neratinib (HKI272) является процветающим ингибитором киназы EGFR/HER2, в настоящее время проходит в клинических испытаниях (Фаза III) [95].

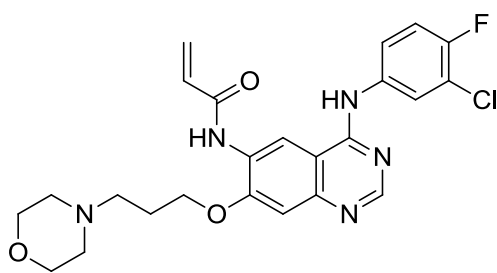
PKI166 был многообещающим ингибитором как для EGFR, так и для HER2 киназы. Тем не менее, его развитие было прекращено после исследования фазы I [96–98].

BMS599626 является биодоступным ингибитором HER1, HER2 и HER4 тирозинкиназы (IC_{50} 422, 32, и 190 нМ, соответственно); но так же как PKI166, после исследования I фазы, работа над BMS599626 была остановлена [99].

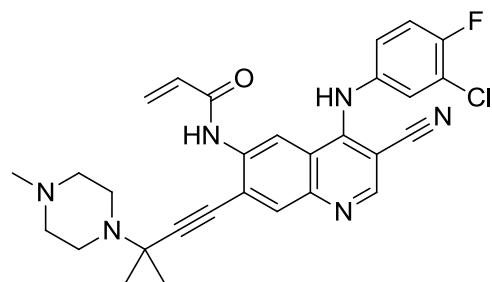
Разработка ингибитора Her2/ErbB2 Pfizer, CP724714, была прекращена после II фазы испытания [100].

AEE788 является противораковым агентом Novartis с различными эффектами: ингибирование рецепторов EGFR и ErbB2 ТК, и также является антагонистом VEGF и АКТ протеинкиназы модулирующие активность. Исследование прекращено после клинического испытания на II фазе [101]. На рисунке 4 представлены структуры некоторых упомянутых активных форм.

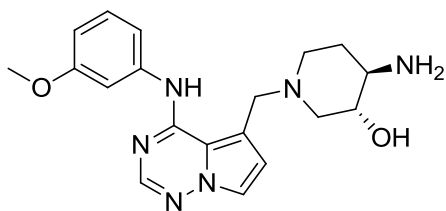




Canertinib (CI-1033)



AV-421



BMS-690514

Рисунок 4 – Структурные формулы эффективных ингибиторов протеинкиназы.

1.5 Производство фармацевтических субстанций в России

На сегодняшний день активно развивается индустрия в области производства отечественных фармацевтических субстанций. Стоит отметить, что развитие находится на этапе оптимизации с определенными реформированиями данной структуры, и Россия является «догоняющей» страной по производству и экспорту фармацевтических субстанций.

В главе будут рассмотрены основные критерии развития прогресса и регресса производства отечественных субстанций.

Существует свойственные особенности отрасли, которые выделяют при развитии производства субстанций:

1. Высокая степень наукоемкости продукции;
2. Процесс разработки биологически активного вещества занимает большое количество времени;
3. Еще больше времени занимает жизненный цикл лекарственного средства, включающая разработку, производство, реализацию;
4. Большое разнообразие вспомогательного оборудования, материалов, сырья в технологическом процессе;

5. Многостадийность химических превращений синтеза биологически активного вещества, и как следствие, описание сложного технологического процесса, который может включать в себя совмещенные технологические схемы.
6. Постоянное расширение номенклатуры выпускаемой продукции, ввиду крупной конкуренции с зарубежными коллегами.

Исходя из вышеперечисленных особенностей, становится совершенно логично и понятно, почему более высокую инвестиционную привлекательность отводят в сторону производства готовых лекарственных средств, которая наблюдается в современной экономике. Более того, в 90-е годы увеличилась себестоимость исходного материала для производства субстанций, что стало малорентабельным, а вскоре, и вовсе убыточным, и неконкурентоспособным.

В 1992 г ситуация складывалась иным образом. В России производилось 272 вида фармацевтических субстанций объемом 17,5 тыс. усл. т. Производители субстанций успешно экспортировали и продавали на производственные площади ЛС: около 70 % - для производства синтетических ЛС, 85 % – для антибиотиков, 90 % – для витаминов и на 100% – для иммунобиологических ЛС. К 2004 г производство снизилось 6,2 раза, что составляло 2803,51 усл.т. Тенденция снижения производства субстанций на отечественных платформах представлена графике 1–3. Данная ситуация привела к зависимости поставок импортных субстанций для успешного развития отечественной фармацевтической промышленности.

График 1 – Производство субстанций – общий результат

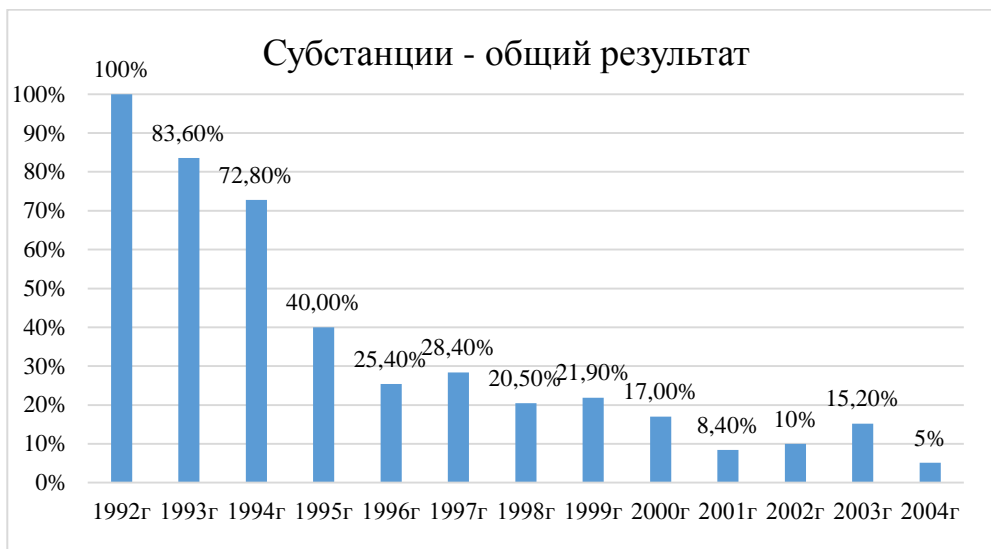


График 2 – Производство субстанций – антибиотики



График 3 – Производство субстанций – витамины



Согласно экспертным данным, основными поставщиками субстанций являются: Германия, Франция, Италия и Китай. Они занимают 80% в объеме импорта фармацевтических субстанций в Россию. Но самая большая доля импорта приходится на Китай и Индию из-за низкой себестоимости. В основном импортируются субстанции тех препаратов, которые активно используются населением. В таблице приведена информация по производству и обороту по России субстанций полученные в Индии и Китае (табл.4) [102]

Таблица 4 – производство и оборот субстанций по России

Наименование субстанций	Среднегодовая потребность российского рынка, т	Производитель (зарегистрированный в РФ)	Производственные мощности, т
Aspirin	1400	Hebei Jingye Chemical Engineering Co., Китай	10000
		Shandong Xinhua Pharmaceutical Co, Ltd, Китай	15000
Ascorbic acid	650	Northeast Pharmaceutical Group Co., Ltd, Китай	35000
Cefotaxime	35	Zhuhai United Laboratories Co., Ltd, Китай	75000
Ceftriaxone	160	ZHUHAI UNITEDLABORATORIES Co., Ltd, Китай	400000
Metamizole	800	Hebei Jiheng Group Pharmacy Co., Ltd, Китай	3000
		Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Ltd, Китай	7000
		Wuhan Wuyao Pharmaceutica	4000

		l Co., Ltd, Китай	
		Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd, Китай	2000

Учитывая тот факт, что уже на протяжении более 10 лет готовые лекарственные средства производят из импортных субстанций, существует ряд весомых причин, которые обосновывают необходимость возрождения производства отечественного сырья для ЛС:

1. Обеспечение национальной безопасности страны. Поскольку большее число иностранных поставщиков обеспечивают субстанциями российские фармацевтические заводы по остаточному принципу;
2. Обеспечение качество производимой продукции, сопровождая тотальным контролем производственную площадку российским государственным органом;
3. Экономический рационализм. Во-первых, это формирование новых рабочих мест для высококвалифицированного персонала. Во-вторых, стимуляция развития НИР в фармацевтической индустрии. В-третьих, это развитие смежных отраслей промышленности;
4. Значительный прирост стоимости фармацевтических субстанций Китая и Индии. За последние 5 лет стоимость субстанций возросла с 13 \$ до 50–60 \$.

Правительством Российской Федерации была подписана целевая программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», утвержденной постановлением Правительства РФ от 17.02.11 г. №91 и госпрограмма «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности на 2013 – 2020 годы» от 15 апреля 2014 года № 305, для обеспечения подходящих условий по модернизации и выведение на рынок отечественных биологически активных веществ. По первоначальным результатам, на конец

2014 года, на рынок выведено 13 новых препаратов, из них 10 произведены из отечественных субстанций (Атазанавир, Валганцикловир, Телбивудин и др.), за период 2011-2014 из федерального бюджета на разработку потрачено около 990 млн.руб. и 1900 млн. руб. из внебюджетного финансирования. Бюджет на конец 2014 г. От продаж данных препаратов составил 8,4 млрд руб. [3]. [4]. К 2016 в рамках программы были выведены на рынок еще 12 российских субстанций (Деферазирокс, Каспофунгин, Леналидомид и др.). Более того, приняли участие около 18 вузов России, 27 учреждений РАН, также в программу включены крупнейшие институты Минздрава, Федерального медико-биологического агентства, Роспотребнадзора, Федерального агентства научных организаций. В результате, на конец 2016 год оказана финансовая поддержка 130 проектам, которые нацелены на импортозамещение в фармацевтике, около 400 проектам по разработке инновационных лекарственных препаратов, 120 проектам по импортозамещению медицинских изделий [103–104].

2. Результаты и обсуждения

2.1 Молекулярный докинг

Для формирования виртуальной комбинаторной библиотеки, с последующим изучением особенности связывания с киназной мишенью, был осуществлен молекулярный докинг скаффолда 6-(имидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)-2-метоксиникотинонитрила. Заместители C–6 в имидазо[2,1-*b*]тиазольном фрагменте, и C–4 в никотинонитрильном фрагменте подбирались по принципу высоких характеристик drug-like соответствующим всем параметрам правил Липински.

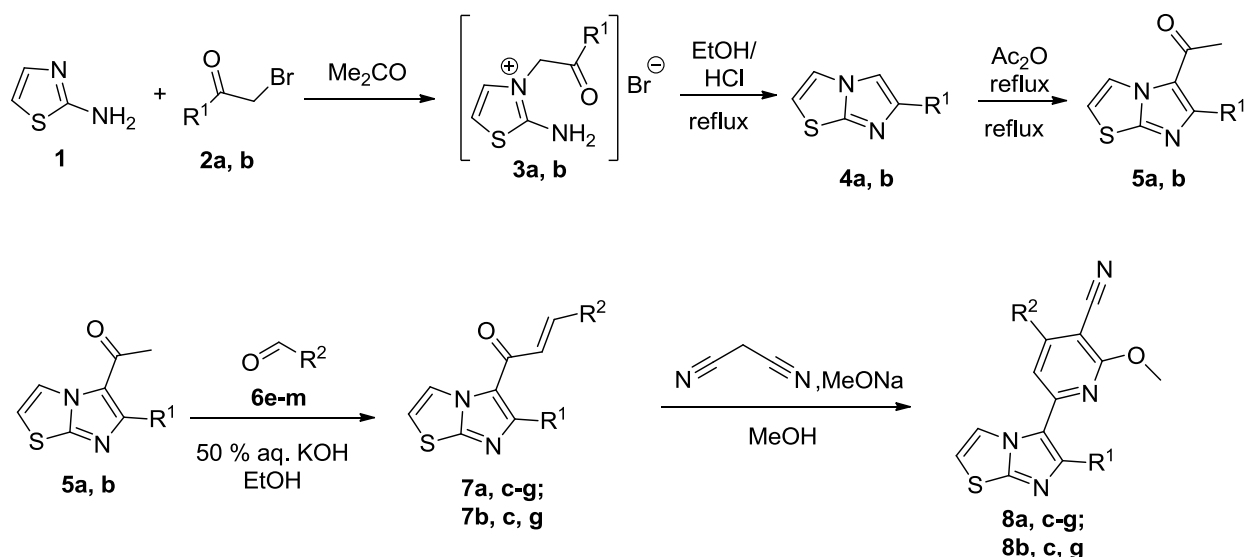
2.2 Синтез ингибиторов

Ранее, в лаборатории НИЛ ФГС на базе тольяттинского государственного университета была оптимизирована цепочка превращений для получения различных производных имидазо[2,1-*b*]тиазола [104]. Позднее, в этой же лаборатории были получены ацетильные производные имидазо[2,1-*b*]тиазола, которые впервые описаны в бакалаврской работе [32]. На основе предыдущих работ [104; 105], получены различные имидазо[2,1-*b*]тиазолы **4a-d**, которые далее конвертировали в ацетильные производные **8a-d**. Аналогично, в качестве ацилирующего агента и растворителя использовали уксусный ангидрид, в присутствии катализатора серной кислоты концентрированной. Реакция протекала в условиях длительного кипячения, и как следствие, атака электрофильного агента осуществлялось исключительно по C–5 положению соответствующего имидазо[2,1-*b*]тиазола. Реакция альдольно-кетоновой конденсации в условиях основного катализа, между 6-арил-5-ацилимидазо[2,1-*b*]тиазолом **8a-d** и различными производными бензальдегида **9e-m** позволила получить соответствующие производные халкона. Сборка никотинонитрильного фрагмента стала финальной стадией синтетического пути, которая основана на реакции Михаэля: конденсация полученных халконов с малонитрилом и алкоголем

натрия в метаноле. В условиях полуторачасового перемешивания при комнатной температуре, удалось получить ряд производных.

Описанный синтетический метод представлен на схеме 1.

Схема 1



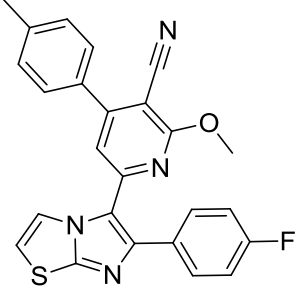
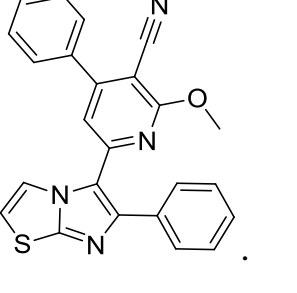
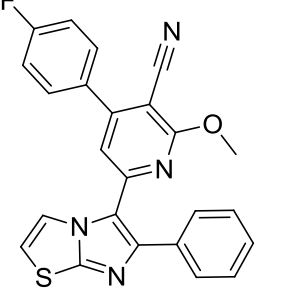
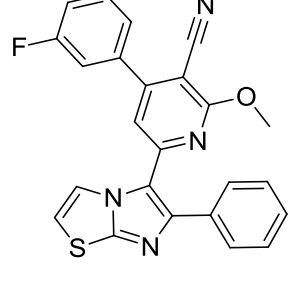
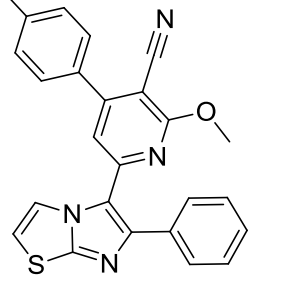
R¹: a = H, b = 4-fluorophenyl

R²: c = phenyl, d = 4-fluorophenyl, e = 3-fluorophenyl, f = *p*-tolyl

Для идентификации соединений 8a, c-g и 8b, c, g сняты ЯМР спектры ¹H, ¹³C, ¹⁹F, значение спектров представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Значение спектров ЯМР.

Структурная формула	¹ H, δ, м.д. (<i>J</i> , Гц)	¹³ C, δ, м.д.	¹⁹ F, δ, м.д.
<p>(8b,c)</p>	4.15 (3H, c); 6.94 (1H, s); 7.31 (2H, т, <i>J</i> = 8.9 Hz); 7.45 – 7.39 (2H, м); 7.53 – 7.47 (4H, м); 7.74 – 7.66 (2H, м); 8.52 (1H, д, <i>J</i> = 4.5 Hz).	–	–112.79

 <p>(8b, g)</p>	<p>2.35 (3H, c); 4.14 (3H, c); 6.91 (1H, c); 7.30 (6H, д, $J = 6.2$ Hz); 7.50 (1H, д, $J = 4.4$ Hz); 7.74 – 7.63 (2H, м); 8.51 (1H, д, $J = 4.4$ Hz).</p>	<p>–</p>	<p>–112.78</p>
 <p>(8 a, c)</p>	<p>4.16 (3H, c); 6.93 (1H, д, $J = 1.2$ Hz); 7.38 (2H, дт, $J = 7.8, 1.3$ Hz); 7.51 – 7.43 (7H, м); 7.64 (2H, дд, $J = 7.9, 1.6$ Hz); 8.54 (1H, дд, $J = 4.5, 1.0$ Hz).</p>	<p>55.6; 90.7; 114.7; 115.4; 115.7; 121.4; 122.0; 128.4; 128.5; 129.2; 129.5; 130.6; 135.0; 135.9; 149.4; 150.2; 152.2; 155.2; 165.3.</p>	<p>–</p>
 <p>(8 a, d)</p>	<p>4.15 (3H, c); 6.91 (1H, c); 7.37 – 7.27 (2H, м); 7.54 – 7.39 (6H, м); 7.68 – 7.57 (2H, м); 8.53 (1H, д, $J = 4.5$ Hz).</p>	<p>–</p>	<p>–110.65</p>
 <p>(8 a, f)</p>	<p>8.54 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.64 (dt, $J = 6.1, 1.5$ Hz, 2H), 7.58 – 7.41 (m, 5H), 7.35 (td, $J = 8.7, 2.6$ Hz, 1H), 7.23 (ddt, $J = 18.0, 9.5, 1.6$ Hz, 2H), 6.93 (s, 1H), 4.16 (s, 3H).</p>	<p>–</p>	<p>–111.95 – (–112.18) (м).</p>
 <p>(8 a, c)</p>	<p>2.35 (3H, c); 4.16 (3H, c); 6.92 (1H, c); 7.28 (c, 4H); 7.48 (4H, тд, $J = 13.8, 12.7, 5.7$ Hz), 7.64 (2H, д, $J = 7.3$ Hz), 8.55 (1H, д, $J =$</p>	<p>21.3; 55.6; 90.6; 114.6; 115.4; 115.8; 121.4; 122.0; 128.4; 129.2; 129.5; 129.9; 133.1; 135.0; 140.6; 149.3; 150.1; 152.2;</p>	<p>–</p>

	4.6 Hz).	155.2; 165.3.	
--	----------	---------------	--

2.3 Изучение цитотоксичности методом МТТ-теста

Клетки линии A549 вносили в плоскодонные планшеты (Nunc) по 6×10^3 клеток на лунку в полной среде RPMI-1640. Спустя 24 ч в лунки с клетками добавляли анализируемое вещество с концентрацией 10^{-3} – 10^{-6} моль/л и инкубировали в течение 48 ч при 37°C и 5% CO₂. После добавления МТТ реагента 0,5 мг/мл в каждую лунку, инкубировали в CO₂-инкубаторе 4 ч, затем разбавляли лунку по 200 мкл ДМСО. Измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре «Multiscan EX» (Thermo Scientific, США) при 540 нм, в качестве раствора сравнения использовали ДМСО. Для каждого испытуемого вещества построили график зависимости «доза-эффект» (Рис. 5) и определили IC₅₀ (GraphPad Prism 5.0). Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты IC₅₀ для потенциальных ингибиторов EGFR – киназы.

Соединение	IC ₅₀ , М		IC ₅₀ , μМ
TK021 (8 a, c)	2.762×10^{-5}	4.567×10^{-5}	36.65±12.76
TK023 (8 a, c)	2.880×10^{-5}	5.174×10^{-5}	40.30±16.19
TK024 (8 a, f)	3.045×10^{-5}	3.317×10^{-5}	31.81±1.92
TK025 (8b, g)	3.460×10^{-5}	6.026×10^{-5}	47.43±18.14
TK026 (8b,c)	11.840×10^{-5}	12.190×10^{-5}	120.15±2.47
TK027 (8 a, d)	2.850×10^{-5}	3.660×10^{-5}	32.55±5.73

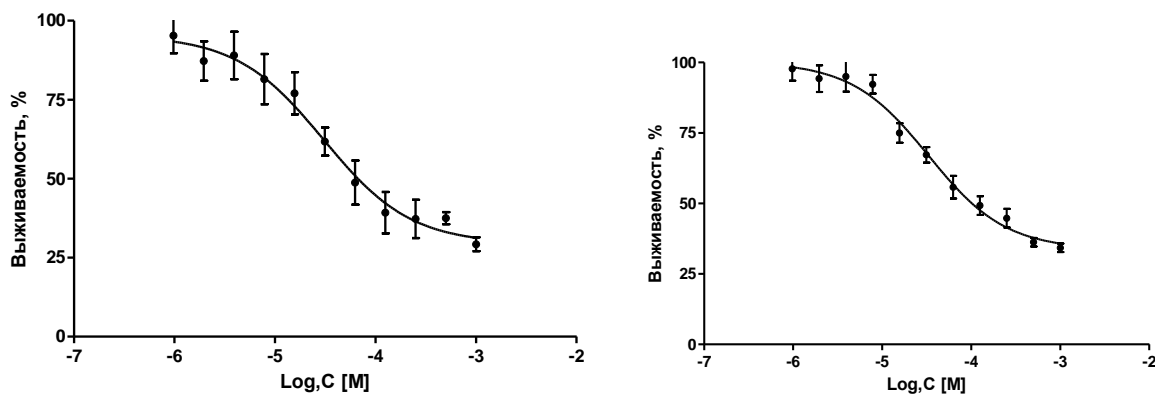


Рисунок 5 – График зависимости «Доза – эффект» соединения лидера – ТК024.

По результатам анализа определена структура с минимальной концентрацией ингибирования – ТК024 (Рис. 6).

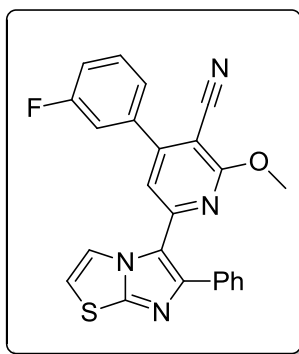
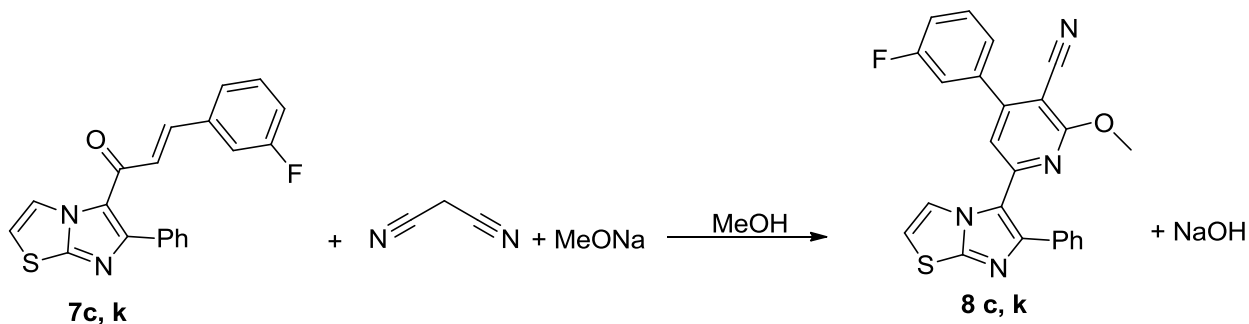


Рисунок 6 – ТК024: 4-(6-(3-фторфенил)имидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)-2-метокси-6- метилнитронитрил (8 а, f)

2.4 Материальный баланс производства

V. Стадия: Конденсация



Состав реакционного узла					
	7 с, к	C ₃ H ₂ N ₂	MeONa	8 с, к	NaOH
Молярная масса, г/моль	348.39	66.06	54.02	426.47	39.99
Количество, моль	1	1	1	1	1
Чистота, %	98.00	99.90	95.00	98.3	-
Масса, г				1000.00	

1. Масса продукта – 4-(3-фторфенил)-2-метокси-6-(6-фенилимилазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)никотинитрил **8 с, к** в зависимости потерь производства 2%:

$$m_{8с,к} = \frac{1000.00}{1 - \frac{2}{100}} = 1020.41 \text{ г}$$

2. Масса халкона **7 с, к** $m_{7с,к}$:

$$m_{7с,к}^{//} = m_{8с,к} \times \frac{M_{7с,к}}{M_{8с,к}} = 1020.41 \times \frac{348,39}{426,47} = 833,59 \text{ г}$$

Масса халкона относительно 73 %-го выхода продукта:

$$m_{7с,к}^{/} = \frac{m_{7с,к}^{//}}{W_{8с,к}} = \frac{833.59}{0.73} = 1141.90 \text{ г}$$

Масса халкона относительно его примесей:

$$m_{7с,к} = \frac{m_{7с,к}^{/}}{w_{7с,к}} = \frac{1141.90}{0.980} = 1165.20 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в халконе:

$$m_{7с,к}^{\text{прим.}} = m_{7с,к} - m_{7с,к}^{//} = 1165.20 - 1141,90 = 23,30 \text{ г}$$

Массу непрореагировавшего халкона **7с, к**:

$$m_{7с,к}^{\text{непр.}} = m_{7с,к} - m_{7с,к}^{//} - m_{7с,к}^{\text{прим.}} = 1165.20 - 833,59 - 23,30 = 308,31 \text{ г}$$

3. Масса малонитрила:

$$m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} = m_{8с,к} \times \frac{M_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}}{M_{8с,к}} = 1020.41 \times \frac{66.06}{426.47} = 158.06 \text{ г}$$

Масса малонитрила относительно 75 %-го выхода продукта:

$$m'_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} = \frac{m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}}{W_{8\text{c},k}} = \frac{158.06}{0.730} = 216.52 \text{ г}$$

Масса малонитрила относительно его примесей:

$$m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} = \frac{m'_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}}{w_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}} = \frac{216,52}{0,999} = 216.74 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в малонитриле:

$$m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}^{\text{прим.}} = m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} - m'_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} = 216.74 - 216.52 = 0.22 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшего малонитрила:

$$m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}^{\text{непр.}} = m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} - m'_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2} - m_{\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2}^{\text{прим.}} = 216.74 - 158.06 - 0.22 = 58.46 \text{ г}$$

4. Масса MeONa m_{MeONa} :

$$m_{\text{MeONa}}^{//} = m_{8\text{c},k} \times \frac{M_{\text{MeONa}}}{M_{8\text{c},k}} = 1020.41 \times \frac{54.02}{426.47} = 129.25 \text{ г}$$

Масса MeONa относительно 73 %-го выхода продукта:

$$m'_{\text{MeONa}} = \frac{m_{\text{MeONa}}^{//}}{W_{8\text{c},k}} = \frac{129.25}{0.730} = 177.05 \text{ г}$$

Масса MeONa относительно его примесей:

$$m_{\text{MeONa}} = \frac{m'_{\text{MeONa}}}{w_{\text{MeONa}}} = \frac{177.05}{0,950} = 186,37 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в MeONa:

$$m_{\text{MeONa}}^{\text{прим.}} = m_{\text{MeONa}} - m'_{\text{MeONa}} = 186,37 - 177,05 = 9,32 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшего MeONa:

$$m_{\text{MeONa}}^{\text{непр.}} = m_{\text{MeONa}} - m_{\text{MeONa}}^{//} - m_{\text{MeONa}}^{\text{прим.}} = 186,37 - 129,25 - 9,32 = 47,80 \text{ г}$$

5. Количество выделившейся воды:

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = m_{8\text{c},k} \times \frac{M_{\text{H}_2\text{O}}}{M_{8\text{c},k}} = 1020.41 \times \frac{18.02}{426.47} = 43.12 \text{ г}$$

6. Масса выделившегося гидроксида натрия:

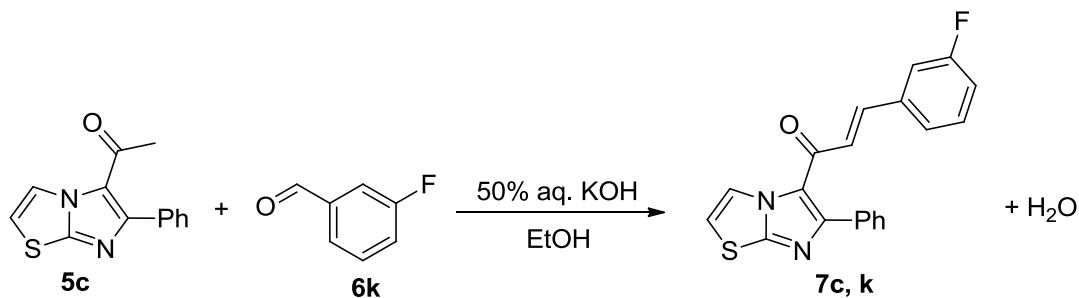
$$m_{\text{NaOH}} = m_{8\text{c},k} \times \frac{M_{\text{NaOH}}}{M_{8\text{c},k}} = 1020.41 \times \frac{39.99}{426.47} = 95.68 \text{ г}$$

7. Количественный расчет сведен в таблице 2.

Таблица 2 – Материальный баланс V стадии.

Статьи прихода			Статьи расхода		
Исходные соединения	<i>m</i> , г	ω, %	Конечные соединения	<i>m</i> , г	ω, %
Халкон 7с, к	1141.90	72.81	Ингибитор ТК024 8с, к	1020.41	65.06
Примеси 7с, к	23.30	1.49	Халкон 7с, к	308.31	19.66
C₃H₂N₂	216.52	13.81	Примеси 7с, к	23.30	1.49
Примеси C₃H₂N₂	0.22	0.014	C₃H₂N₂	58.46	3.73
MeONa	177.05	11.29	Примеси C₃H₂N₂	0.22	0.014
Примесь MeONa	9.32	0.59	MeONa	47.79	3.05
			Примесь MeONa	9.32	0.59
			NaOH	95.68	6.10
Итого:	1568.31	100,00	Итого:	1563.49	99.89

IV. Стадия: Формилирования



Состав реакционного узла					
Вещество	5c	6k	50 % KOH	7c,k	H₂O
Молярная масса, г/моль	240.24	124.11	56.11	348.29	18.02
Количество, моль	1	1	-	1	1
Чистота, %	96.7	97.0	85.0	98.0	-
Масса, г			1369.13	1165.20	-

1. Масса продукта – гидрохлорида (E)-3-(3-фторфенил)-1-(6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)проп-2-ен-1-он **7c,k** относительно потерь производства 2%:

$$m_{7c,k} = \frac{1165.20}{1 - \frac{2}{100}} = 1188.98 \text{ г}$$

2. Масса 1-(6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)этанона **5c** m_{5c} :

$$m_{5c}^{//} = m_{7c,k} \times \frac{M_{5c}}{M_{7c,k}} = 1188.98 \times \frac{240.24}{348.29} = 820.12 \text{ г}$$

Масса 1-(6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)этанона относительно 43 %-го выхода продукта:

$$m_{5c}^/ = \frac{m_{5c}^{//}}{W_{7c,k}} = \frac{820.12}{0,430} = 1907,26 \text{ г}$$

Масса 1-(6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)этанона относительно его примесей **5c**:

$$m_{5c} = \frac{m'_{5c}}{w_{5c}} = \frac{1907.26}{0,967} = 1972,35 \text{ г}$$

Масса примесей:

$$m_{5c}^{\text{прим.}} = m_{5c} - m'_{5c} = 1972,35 - 1907,26 = 65.09 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшего 1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)этанона **5 с**:

$$m_{5c}^{\text{непр.}} = m_{5c} - m''_{5c} - m_{5c}^{\text{прим.}} = 1972.35 - 820.12 - 65.09 = 1087.14 \text{ г}$$

3. Масса 3-фторбензальдегида **6к** m_{6k} :

$$m''_{6k} = m_{7c,k} \times \frac{M_{6k}}{M_{7c,k}} = 1188.98 \times \frac{124.11}{348.29} = 423.68 \text{ г}$$

Масса 3-фторбензальдегида относительно 43 %-го выхода:

$$m'_{6k} = \frac{m''_{6k}}{W_{7c,k}} = \frac{423.68}{0,430} = 985.30 \text{ г}$$

Масса 3-фторбензальдегида относительно его примесей:

$$m_{6k} = \frac{m'_{6k}}{w_{6k}} = \frac{985.30}{0.970} = 1015.77 \text{ г}$$

Масса примесей 3-фторбензальдегида:

$$m_{6k}^{\text{прим.}} = m_{6k} - m'_{6k} = 1015.77 - 985.30 = 30.47 \text{ г}$$

Массу непрореагировавшего 3-фторбензальдегида:

$$m_{6k}^{\text{непр.}} = m_{6k} - m''_{6k} - m_{6k}^{\text{прим.}} = 1015.77 - 423.68 - 30.47 = 561.62 \text{ г}$$

4. Количество выделившейся воды:

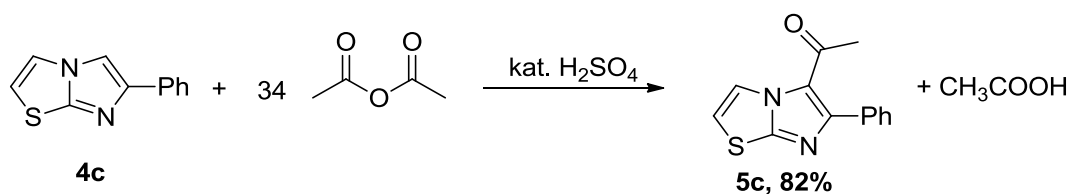
$$m_{H_2O} = m_{7c,k} \times \frac{M_{H_2O}}{M_{7c,k}} = 1188.98 \times \frac{18.02}{348.29} = 61.52 \text{ г}$$

5. Количественный расчет сведен в таблице 3.

Таблица 3 – Материальный баланс IV стадии.

Статьи прихода			Статьи расхода		
Исходные соединения	<i>m</i> , г	ω , %	Конечные соединения	<i>m</i> , г	ω , %
6-Фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол 5c	1907.26	63.69	Гидрохлорид 7c,k	1188.98	39.70
Примеси 5c	65.09	2.17	6-Фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол 5c	1087.14	36.30
3-фторбензальдегида 6k	985.30	32.90	Примеси 5c	65.09	2.17
Примеси 6k	30.47	1.02	3-фторбензальдегида 6k	561.62	18.75
			Примеси 6k	30.47	1.02
			H₂O	61.52	2.05
Итого:	2988.12	99.98	Итого:	2994.82	100.00

III. Стадия: Ацилирования



Состав реакционного узла					
Вещество	4c	Ac₂O	H₂SO₄(Kat.)	5c	CH₃COOH
Молярная масса, г/моль	200.39	112.94	98.08	240.24	60.05
Количество, моль	1	34	-	1	1
Чистота, %	96.7	99.0	98.5	96.7	-

Масса, г	-	-	-	1972.35	-
----------	---	---	---	---------	---

1. Масса продукта – 1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)этанон **5c** относительно потерь производства 2%:

$$m_{5c} = \frac{1972.35}{1 - \frac{2}{100}} = 2012.60 \text{ г}$$

2. Масса 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола **4c** m_{4c} :

$$m_{4c}^{//} = m_{5c} \times \frac{M_{4c}}{M_{5c}} = 2012.60 \times \frac{200.39}{240.24} = 1678.76 \text{ г}$$

Масса 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола относительно 82 %-го выхода продукта:

$$m_{4c}' = \frac{m_{4c}^{//}}{W_{5c}} = \frac{1678.76}{0.820} = 2047.27 \text{ г}$$

Масса 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола относительно его примесей:

$$m_{4c} = \frac{m_{4c}'}{w_{4c}} = \frac{2047.27}{0,967} = 2117.14 \text{ г}$$

Масса примесей 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола:

$$m_{4c}^{\text{прим.}} = m_{4c} - m_{4c}' = 2117.14 - 2047.27 = 69.87 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшего 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола:

$$m_{4c}^{\text{непр.}} = m_{4c} - m_{4c}^{//} - m_{4c}^{\text{прим.}} = 2117.14 - 1678.76 - 69.87 = 368.51 \text{ г}$$

3. Масса **Ac₂O** m_{Ac2O} :

$$m_{Ac2O}^{//} = m_{5c} \times \frac{M_{Ac2O}}{M_{5c}} = 2012.60 \times \frac{112.94}{240.24} = 946.15 \text{ г}$$

Масса **Ac₂O** относительно 82 %-го выхода продукта **Ac₂O** необходимо:

$$m_{Ac2O}' = \frac{m_{Ac2O}^{//}}{W_{5c}} = \frac{946.15}{0.820} = 1153.84 \text{ г}$$

Масса **Ac₂O** относительно его примесей:

$$m_{Ac2O} = \frac{m_{Ac2O}'}{w_{Ac2O}} = \frac{1153.84}{0,999} = 1154.99 \text{ г}$$

Масса примесей **Ac₂O**:

$$m_{Ac_2O}^{прим.} = m_{Ac_2O} - m'_{Ac_2O} = 1154.99 - 1153.84 = 1.15 \text{ г}$$

По методике уксусного ангидрида берется в 34х кратном избытке. Соответственно, его необходимое количество для реакции – 39230.56 г (36257,45 мл, ρ=1.0820 г/см³), содержание примесей составляет – 39.10 г.

Масса непрореагировавшего **Ac₂O**:

$$m_{Ac_2O}^{непр.} = m_{Ac_2O} - m''_{Ac_2O} - m_{Ac_2O}^{прим.} = 1154.99 - 946.15 - 1.15 = 207.69 \text{ г}$$

33 Моль **Ac₂O** используется в качестве растворителя, поэтому количество непрореагировавшего **Ac₂O** (207.69 + 38076.72) = 38284.41 г.

4. Количество выделившейся уксусной кислоты:

$$m_{CH_3COOH} = m_{5c} \times \frac{M_{CH_3COOH}}{M_{5c}} = 2012.60 \times \frac{60.05}{240.24} = 503.07 \text{ г}$$

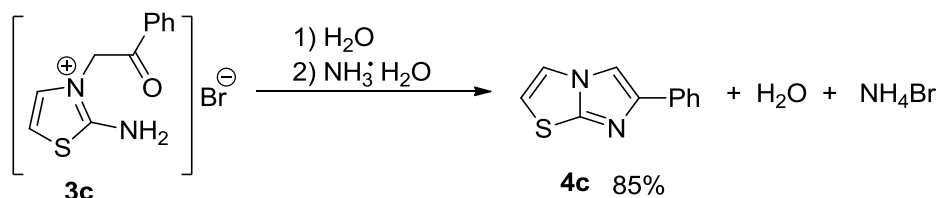
5. Количественный расчет сведен в таблице 3.

Таблица 3 – Материальный баланс III стадии.

Статьи прихода			Статьи расхода		
Исходные соединения	<i>m</i> , г	ω, %	Конечные соединения	<i>m</i> , г	ω, %
6-Фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол 4c	2047.27	45.81	1-(6-фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол-5-ил)этанон 5c	2012.60	49.42
Примеси 4c	69.87	1.56	6-Фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол 4c	368.51	14.21
Ac₂O	39230.56	51.63	Примеси 4c	69.87	1.56
	6				
Примеси Ac₂O	39.10	1.00	Ac₂O	38284.41	33.80
				1	
			Примеси Ac₂O	39.10	1.00

			CH₃COOH	503.07	
Итого:	41386.7	99.61	Итого:	41547.5	100.00
	3			6	

II. Стадия: Циклизация



Состав реакционного узла					
Вещество	3c	NH₃·H₂O	4c	H₂O	NH₄Br
Молярная масса, г/моль	299.19	35.05	200.39	18.02	97.94
Количество, моль	1	1	1	2	1
Чистота, %	96.5	25	96.7	-	-
Масса, г	-	1077.22	2117.14	-	-

1. Масса продукта – 6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазола **4c** относительно потерь производства 2%:

$$m_{4c} = \frac{2117.14}{1 - \frac{2}{100}} = 2160.35 \text{ г}$$

2. Масса тиазолиевой соли **3c** m_{3c} :

$$m_{3c}^{\prime\prime} = m_{4c} \times \frac{M_{3c}}{M_{4c}} = 2160.35 \times \frac{299.19}{200.39} = 3225.49 \text{ г}$$

Масса тиазолиевой соли относительно ее 85 %-го выхода, потребуется:

$$m_{3c}^{\prime} = \frac{m_{3c}^{\prime\prime}}{W_{4c}} = \frac{3225.49}{0.850} = 3794.69 \text{ г}$$

Масса тиазолиевой соли с учетом его примесей:

$$m_{3c} = \frac{m_{3c}^{\prime}}{w_{3c}} = \frac{3794.69}{0.965} = 3932.32 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в тиазолиевой соли:

$$m_{3c}^{\text{прим.}} = m_{3c} - m_{3c}' = 3932.32 - 3794.69 = 137.63 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшей тиазолиевой соли **Зс**:

$$m_{3c}^{\text{непр.}} = m_{3c} - m_{3c}'' - m_{3c}^{\text{прим.}} = 3932.32 - 3225.49 - 137.63 = 569.20 \text{ г}$$

3. Для реакции необходимо 1077.22 г (1101.45 мл, $\rho=0.978 \text{ г/см}^3$) 25 %-го раствора NH_4OH . Отсюда, 25 %-го раствор NH_4OH содержит 269.31 г NH_3 и 807.92 г H_2O .

4. Количество выделившейся воды:

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = m_{4c} \times \frac{M_{\text{H}_2\text{O}}}{M_{4c}} = 2160.35 \times \frac{18.02}{200.39} = 194.27 \text{ г}$$

Учитывая воду, содержащейся в растворе аммиака:

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = 194.19 + 807.92 = 1002.11 \text{ г}$$

5. Масса выделившегося бромида аммония:

$$m_{\text{NH}_4\text{Br}} = m_{4c} \times \frac{M_{\text{NH}_4\text{Br}}}{M_{4c}} = 2160.35 \times \frac{97.95}{200.39} = 1055.97 \text{ г}$$

6. Масса непрореагировавшего аммиака:

$$n_{\text{NH}_3} = \frac{m_{\text{NH}_3}}{M_{\text{NH}_3}} = \frac{269.31}{17.03} = 15.81 \text{ г}$$

$$n_{\text{NH}_4\text{Br}} = \frac{m_{\text{NH}_4\text{Br}}}{M_{\text{NH}_4\text{Br}}} = \frac{1055.97}{97.95} = 10.78 \text{ г}$$

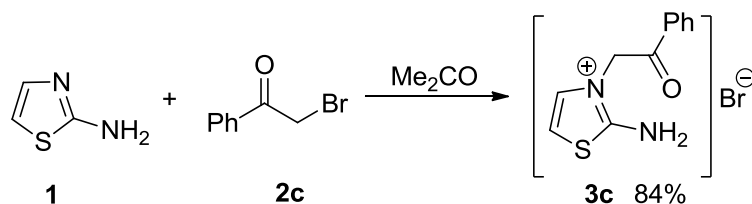
$$m_{\text{NH}_3}^{\text{непр.}} = M_{\text{NH}_3} \times n_{\text{NH}_3} - n_{\text{NH}_4\text{Br}} = 17.03 \times 15.81 - 10.78 = 85.66 \text{ г}$$

7. Количественный расчет сведен в таблице 4.

Таблица 4 – Материальный баланс II стадии.

Статьи прихода			Статьи расхода		
Исходные соединения	<i>m</i> , г	ω, %	Конечные соединения	<i>m</i> , г	ω, %
Тиазолиевая соль 3a	3794.69	75.73	6-Фенилимидазо[2,1- <i>b</i>]тиазол 4a	2160.35	43.11
Примеси 3a	137.63	2.75	Тиазолиевая соль 3a	569.20	11.36
NH₃	269.31	5.38	Примеси 3a	137.63	2.75
H₂O	807.92	16.12	H₂O	1002.11	20.00
			NH₃	85.66	1.71
			NH₄Br	1055.97	21.07
Итого:	5009.46	99.97	Итого:	5010.92	100.00

I. Стадия: Кватернизация



Состав реакционного узла			
Вещество	1	2c	3c
Молярная масса, г/моль	100.14	199.05	299.19
Количество, моль	1	1	1
Чистота, %	97.0	99.0	96.5
Масса, г	-	-	3794.69

1. Масса продукта – тиазолиевой соли **3c** относительно потерь производства 2%:

$$m_{3c} = \frac{3794.69}{1 - \frac{2}{100}} = 3872.13 \text{ г}$$

2. Масса 2-аминотиазола **1** m_1 :

$$m_1^{//} = m_{3c} \times \frac{M_1}{M_{3c}} = 3872.13 \times \frac{100.14}{299.19} = 1296.02 \text{ г}$$

Масса 2-аминотиазола относительно 84 %-го выхода продукта:

$$m_1' = \frac{m_1^{//}}{W_{3c}} = \frac{1296.02}{0.840} = 1542.88 \text{ г}$$

Масса 2-аминотиазола относительно примесей в исходном 2-аминотиазоле:

$$m_1 = \frac{m_1'}{w_1} = \frac{1542.88}{0,970} = 1590.60 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в 2-аминотиазоле:

$$m_1^{\text{прим.}} = m_1 - m_1' = 1590.60 - 1542.88 = 47.72 \text{ г}$$

Масса непрореагировавшего 2-аминотиазола:

$$m_1^{\text{непр.}} = m_1 - m_1^{//} - m_1^{\text{прим.}} = 1590.60 - 1296.02 - 47.72 = 246.86 \text{ г}$$

3. Масса фенацилбромида **2c** m_2 :

$$m_{2c}^{//} = m_{3c} \times \frac{M_{2c}}{M_{3c}} = 3872.13 \times \frac{199.05}{299.19} = 2576.11 \text{ г}$$

Масса фенацилбромида относительно 84 %-го выхода продукта:

$$m_{2c}' = \frac{m_{2c}^{//}}{W_{3c}} = \frac{2576.11}{0.840} = 3066.80 \text{ г}$$

Масса фенацилбромида относительно его примесей:

$$m_{2c} = \frac{m_{2c}'}{w_1} = \frac{3066.80}{0,990} = 3097.78 \text{ г}$$

Масса примесей, содержащихся в фенацилбромиде:

$$m_{2c}^{\text{прим.}} = m_{2c} - m_{2c}' = 3097.78 - 3066.80 = 30.98 \text{ г}$$

4. Масса непрореагировавшего фенацилбромида:

$$m_{2c}^{\text{непр.}} = m_{2c} - m_{2c}^{//} - m_{2c}^{\text{прим.}} = 3097.78 - 2576.11 - 30.98 = 490.69 \text{ г}$$

5. Количественный расчет сведен в таблице 5.

Таблица 5 – Материальный баланс I стадии.

Статьи прихода			Статьи расхода		
Исходные соединения	<i>m</i> , г	ω , %	Конечные соединения	<i>m</i> , г	ω , %
2-Аминотиазол 1	1542.88	32.91	Тиазолиевая соль 3a	3872,13	82.59
Примеси 1	47.72	1.02	2-Аминотиазол 1	246,86	5.27
Фенацилбромид 2c	3066.80	65.41	Примеси 1	47.72	1.02
Примеси 2c	30.98	0.66	Фенацилбромид 2a	490.69	10.47
			Примеси 2a	30.98	0.66
Итого:	4688.38	100.00	Итого:	4688.38	100.00

2.5 Разработка принципиальной технологической схемы производства ингибитора ТК024

1 стадия. Ацилирование

Исходный имидазо[1,2-*b*]тиазол из мерника 1 и уксусный ангидрид в смеси серной кислоты конц. из мерника 2 подается в реактор 3 снабженной мешалкой, рубашкой, обратным холодильником 4. Реакционная смесь перемешивается 48 часов при 140°C. После, смесь насосом 5 откачивается в охладительную емкость 6, далее на друк-фильтр 7, уксусный ангидрид идет на регенерацию. Осадок на фильтре промываются очищенной водой, подаваемый из мерника 8, после 10 % водным раствором щелочи из мерника 9, затем снова водой. Вода с щелочью идет на регенерацию. Далее осадок поступает в кристаллизатор 10 для очистки метанолом подаваемый из мерника 11. Насыщенный раствор последовательно поступает в кристаллизатор 12, на центрифугу 13 и на воздушную сушку 14, выделяется чистый и сухой продукт, который поступает в реактор 15.

2 стадия. Реакция альдольно-кетоновой конденсации

В реакторе 15, оснащенный рубашкой, и обратным холодильником 16, халкон растворяется при нагревании в спирте. К горячему раствору подается из мерника 17 альдегид и водный раствор 50 % КОН из мерника 18 соответственно. Реакционная смесь перемешивается в течение 2 часов, затем самотеком поступает в охладительную емкость 19, где реакционная смесь охлаждается до комнатной температуры. Из емкости осадок отделяют на друк-фильтре 20. Спирт идет на регенерацию, а осадок в кристаллизатор 21 для очистки водно-спиртовым раствором из мерника 22. Насыщенный раствор поступает в кристаллизатор 23, далее с помощью перемешивания 24 и высушивания 25 выделяют чистый и сухой продукт, который далее поступает в реактор 26.

3 стадия. Реакция Михаэля.

В реактор 26 подается метилат натрия и малонитрил из мерника 27 и 28 в реакционный раствор соответствующего халкона в метаноле. Раствор перемешивается в течение 24 часов при комнатной температуре. Осадок фильтруется на друк-фильтре 29, промывается метанолом, и отправляется на склад. Метанол идет на регенерацию (рисунок 7).

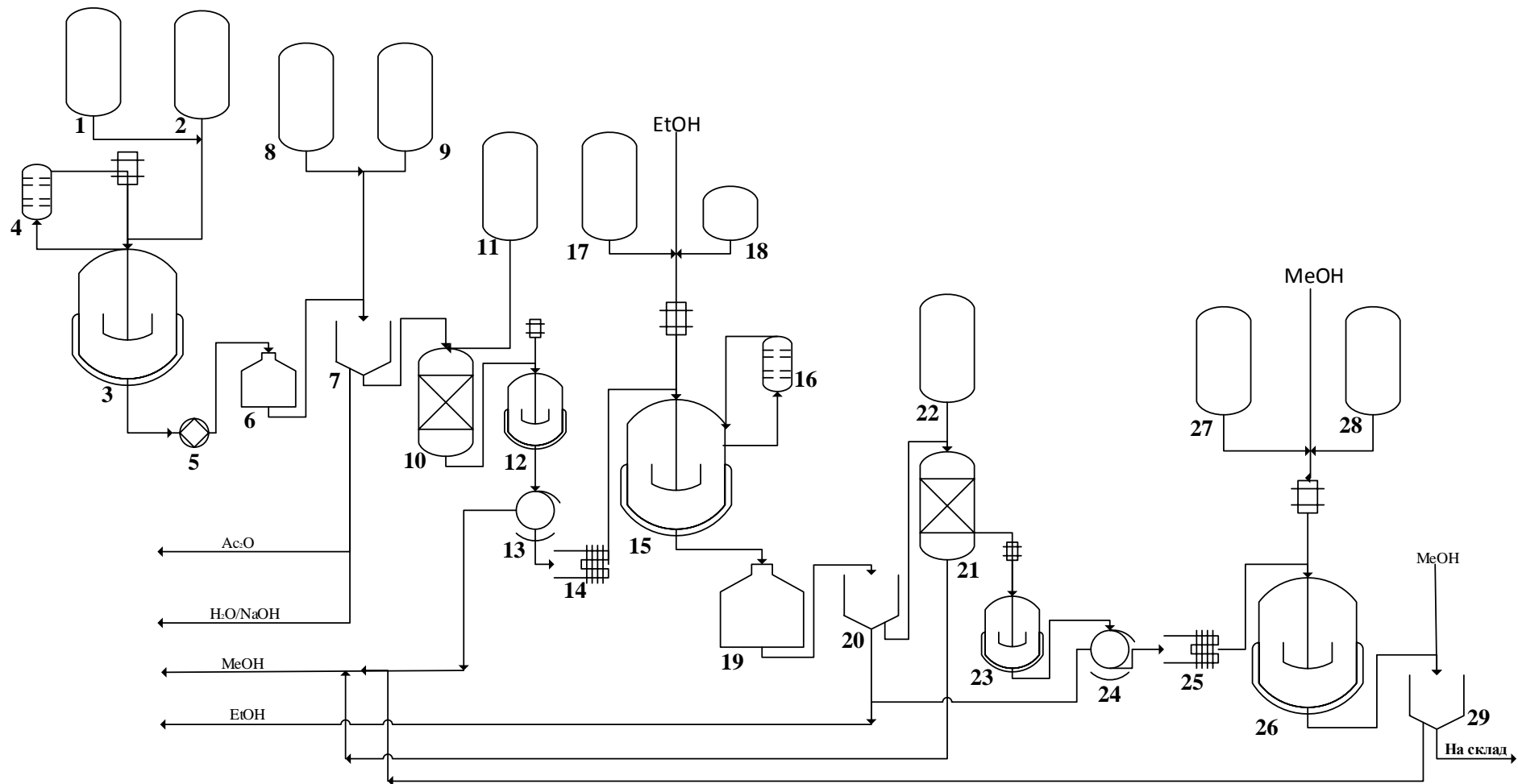


Рисунок 7. Принципиальная технологическая схема производства селективного ингибитора ТК024: 1, 2, 8, 9, 11, 17, 18, 22, 27, 28 – мерник; 3, 15, 26 – реактор; 4, 16 – выносной кипятыльник; 5 – насос; 6, 19 – охлаждающая емкость; 7, 20, 29 – друк-фильтр; 10, 12, 21, 23 – кристаллизатор; 13, 24 – центрифуга; 14, 25 – сушилка.

3. Экспериментальная часть

3.1. Реагенты, вспомогательные материалы и оборудование

Оценка чистоты полученных соединений оценивалась при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографией. На практике, в эксплуатации хроматограф «Agilent 1220 м» с УФ-детектором. Использовали колонку ZORBAX C-18; и элюент ацетонитрил : вода (8:2).

ЯМР спектроскопия проводилась при комнатной температуре в дейтерированном диметилсульфоксиде на спектрометре Bruker Avance. Рабочая частота спектрометра – 600 МГц для ядер ^1H и 151 МГц для ядер ^{13}C .

3.2. Подготовка растворителей

Этанол

Осушение этанола проводили в присутствии металлического натрия и диэтилового эфира щавелевой кислоты, в условиях двухчасового кипячения и последовательной перегонки. $T_{\text{кип.}} = 78.3\text{ }^\circ\text{C}$, $d^{25} = 0.7893$, $n_{\text{D}20}^{\text{D}} = 1.3611$.

Реактивы фирм Acros Organics и Sigma–Aldrich дополнительной очистки не нуждались.

3.3. Получение исходных компонентов

3.3.1. Синтез α -бромкетонов

Общий способ получения

К растворенному в 40 мл этанола производному ацетофенона (100 ммоль), аккуратно добавляли молекулярный бром (100 ммоль) контролируя температуру в реакционной смеси 35–50 $^\circ\text{C}$. Перемешивание реакционной массы продолжали до тех пор, пока она не обесцветится. После ее выливали на лед, выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой.

2-Бром-1-фенилэтан-1-он (1a)

Выход 93%, т. пл. 46-48 $^\circ\text{C}$.

2-Бром-1-(4-толил)этан-1-он (1b)

Выход 84%, т. пл. 51-53 $^\circ\text{C}$.

3.3.2. Синтез фенацилиевых солей производных тиазоламина

Общий способ получения

Производное 2-аминотиазола (2e, f) (75 ммоль) растворили в безводном ацетоне, добавляли производное α -бромкетона (1a-b) (75 ммоль) к реакционной смеси. Смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 12 ч. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали небольшой порцией холодного ацетона и сушили на воздухе.

Бромид 2-амино-3-(2-оксо-2-фенилэтил)тиазола (3a)

Выход 85%, т. пл. 237-239 °С.

Бромид 2-амино-3-(2-(4-фторфенил)-2-оксоэтил)тиазол (3b)

Выход 84%, т. пл. 240-242 °С.

3.3.3 Синтез 6-арилимидазо[2,1-*b*]тиазолов

Общий способ получения

Фенацилиевую соль (3a,b) (40 ммоль) кипятили с обратным холодильником в присутствии с 80 мл H₂O, 6 мл концентрированной HCl и 40 мл этанола в течение 8 ч. К горячей реакционной смеси приливали 25%-ный раствор аммиака до щелочной среды и охлаждали. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из этилового спирта.

*6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол (4a)*

Выход 87%, т. пл. 144-146 °С.

*6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-*b*]тиазол (4b)*

Выход 84%, т. пл. 116-117 °С.

3.3.4. Синтез 6-арил-5-ацилимидазо[2,1-*b*]тиазолов

Общий способ получения

Имидазо[2,1-*b*]тиазол (4a-d) (25 ммоль) кипятили с обратным холодильником в уксусном ангидриде (848 ммоль) и 0.5 мл H₂SO₄. Горячую смесь выливали в холодную воду, и обрабатывали 10% раствором NaOH (до слабощелочной среды). Осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили. Продукт перекристаллизовывали из метанола.

*1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)этан-1-он (5a)*

Продолжительность кипячения – 50 часов. Выход 87%, т. пл. 136-138 °С.

*1-(6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)этан-1-он (5b)*

Продолжительность кипячения – 24 часов. Выход 78%, т. пл. 153-155 °С.

3.3.5. Синтез халкона

Общий способ получения

К горячему раствору кетона (8a-d) (3 ммоль) в этаноле добавляли производное бензальдегида (9e-m) (3 ммоль) и 1 мл 50% раствора КОН. Далее, раствор охлаждали. Осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из этанола.

*(E)-3-фенил-1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)проп-2-ен-1-он (7a; c).*

Выход 66%, т. пл. 159-161 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 97.5%.

*(E)-3-(4-фторфенил)-1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)проп-2-ен-1-он*

(7a; d). Выход 81 %, т. пл. 156-157 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 98.5%.

*(E)-3-(3-фторфенил)-1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)проп-2-ен-1-он*

(7a; e). Выход 43%, т. пл. 161-163 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 98.0%.

*(E)-1-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)-3-(*n*-толил)проп-2-ен-1-он (7a; f).*

Выход 55%, т. пл. 160-162 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 98.1%.

*(E)-1-(6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)-3-фенилпроп-2-ен-1-он*

(7b; c). Выход 34%, т. пл. 152-154 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 91.0%.

*(E)-1-(6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)-3-(*n*-толил)проп-2-ен-1-*

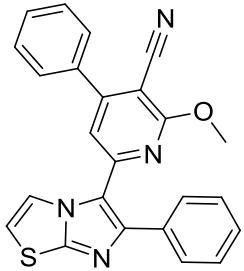
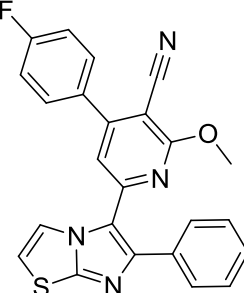
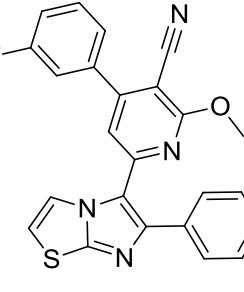
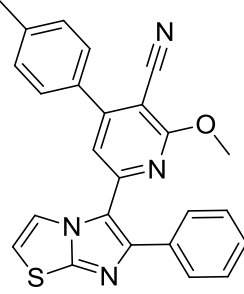
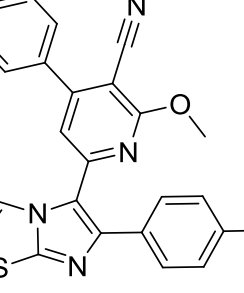
он (7b; f). Выход 86%, т. пл. 186-188 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 94.6%.

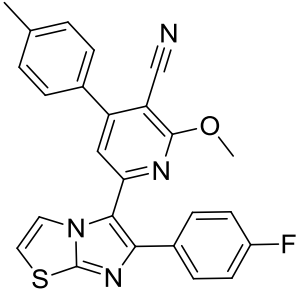
3.4. Получение соответствующих никотинонитрилов

Общий способ получения

Смешали в эквимольных количествах халкон, малонитрил и алкогольят натрия в метаноле. Перемешивали при комнатной температуре в течение полутора часа. Образовавшийся осадок отфильтровывали. Константы полученного продукта представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Константы полученных продуктов.

	<p>2-метокси-4-фенил-6-(6-фенилимидазо[2,1- b]тиазол-5-ил)никотинитрил (8 а, с). Выход 39 %, т. пл. 203-205 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 98.1%.</p>
	<p>4-(4-фторфенил)-2-метокси-6-(6- фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)никотинитрил (8 а, d). Выход 41 %, т. пл. 228-230 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 96.5%.</p>
	<p>4-(3-фторфенил)-2-метокси-6-(6- фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)никотинитрил (8 а, е). Выход 33 %, т. пл. 235-237 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 98.3%.</p>
	<p>2-метокси-6-(6-фенилимидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)- 4-(p-толил)никотинитрил (8 а, f). Выход 42 %, т. пл. 240-242 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 95.5%.</p>
	<p>6-(6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-b]тиазол-5-ил)-2- метокси-4-фенилникотинитрил (8b, с). Выход 36 %, т. пл. 204-206 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 97.0%.</p>

	<p>6-(6-(4-фторфенил)имидазо[2,1-<i>b</i>]тиазол-5-ил)-2-метокси-4-(<i>p</i>-толил)никотинитрил (8b, g). Выход 41 %, т. пл. 235-237 °С. ВЭЖХ (MeCN:H₂O – 8:2): 93.0%.</p>
---	--

Заключение

1. Сформирована виртуальная комбинаторная библиотека ряда низкомолекулярных веществ скаффолда 6-(имидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)-2-метоксиникотинитрила;
2. Осуществлен молекулярный докинг в активный сайт связывания исследуемой протеинкиназы (EGFR);
3. Разработан синтетический маршрут смоделированных структур, показавшие наибольшую аффинность к мишени, структуры финальных соединений подтверждены при помощи ЯМР – спектроскопии;
4. Исследована эффективность таргетных ингибиторов рецептора протеинкиназ в системах *in vitro*.
5. Определено соединение-лидер, которое с наибольшей степени проявляет ингибирующую способность к EGFR-киназе – 4-(3-фторфенил)-2-метокси-6-(6-фенилимидазо[2,1-*b*]тиазол-5-ил)никотинитрил;
6. Разработана принципиальная технологическая схема производства ингибитора EGFR-киназы.

Список используемой литературы и источников

1. Mohamed H. A. Synthetic access to imidazo[2,1-*b*]thiazoles / H. A. Mohamed, B. F. Abdel – Wahab. // *Journal of Sulfur Chemistry*. – 2012. – Vol. 33, № 5. P. 589 – 604;
2. Preston P. N. Condensed imidazoles of type 5-5 with one additional heteroatom // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 1986. – Vol. 46. P. 77 – 306;
3. Ollivier C. Bicyclic 5-5 systems with one bridgehead (ring junction) nitrogen atom: two extra heteroatoms 1:1 // *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. – 2008. Vol. 11. P. 133 – 197.
4. Denis Meakins G. Substituted imidazo[2,1-*b*]thiazoles from 2-aminothiazoles and α -bromo ketones: efficient preparation and proof of structure / Denis Meakins G., Musk Sally R. R., Colin A. Robertson // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. – 1989. – Vol. 3.
5. Heterocyclic systems with bridgehead nitrogen atoms: in two parts. Part one / W.L. Mosby. - New York: Interscience Publishers. – 1961. – P. 748;
6. Mazur A. Studies on the imidazole series. XLV. Synthesis of imidazo[2,1-*b*]thiazole and some of its alkyl, aryl, and 5,6-dihydro derivatives / A. Mazur P. M. Kochergin. // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 1970. – Vol. 6, № 4. P. 470 – 473;
7. Çapan G. New 6-Phenylimidazo[2,1-*b*]thiazole Derivatives: Synthesis and Antifungal Activity / Çapan G, Ulusoy N., Ergenç N. [end etc.]. // *Monatshefte fuer Chemie*. – 1999. – Vol. 130. P. 1399.
8. Andreani A. Synthesis of imidazo[2,1-*b*]thiazoles as herbicides / Andreani A., Gehret C., Andreani F. // *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. – 1996. – Vol. 4. P. 247-252.
9. Mosby W.L. Heterocyclic systems with bridgehead nitrogen atoms: in two parts. Part one // New York: Interscience Publishers. – 1961. – P. 748;

10. Dubey S.K. Synthesis of 2-substituted benzthiazoles as tetramisole analogs / S. K. Dubey, R. Rastogi, S. Sharma. // Monatshefte fur Chemie. – 1981. – Vol. 112, № 12. P. 1387 – 1391;
11. Demchenko M. On the reaction of 2-phenylaminothiazoline with α -halogenoketones / M. Demchenko [and ect]. // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 1997. – Vol. 33, № 6. P. 724 – 727;
12. Attanasi O.A. Study of reactions between 1,2-diaza-1,3-butadienes and N,N'-diaryl- or N,N'-dialkylthioureas / O.A. Attanasi [and ect]. // Tetrahedron. – 1999. – Vol. 55, № 47. P. 13423 – 13444;
13. Shawali S. Regioselectivity in reactions of bis-hydrazoneyl halides with some bifunctional heterocycles / S. Shawali, M. A. Abdallah, M. E. M. Zayed. // Journal of the Chinese Chemical Society. – 2002. – Vol. 49, № 6. P. 1035 – 1040;
14. Eleftheriadis N. A thorough study on the reaction of DMAD with 1-arylaminoimidazole-2-thiones. Expeditious synthesis of imidazo[2,1-*b*][1,3]thiazoles through a novel arylamino rearrangement / N. Eleftheriadis, C. A. Tsoleridis, J. Stephanidou-Stephanatou. // Tetrahedron. – 2010. – Vol. 66, № 3. P. 709 – 714;
15. Franco G. M. Synthesis and benzodiazepine receptor binding of some imidazoand pyrimido[2,1-*b*]benzothiazoles // European Journal of Medicinal Chemistry. – 1996. – Vol. 31, №7 – 8. P. 575 – 587;
16. Marechal A.M. Reactivity of 3-halo-2-oxopropanamides and 3-halo-2-cyano-2-hydroxypropanoates: synthesis of S and N containing heterocycles / A.M. Marechal, P. L. Grel, A. Robert, J. Biskup, V. Ferk, R. Toplak. // Arkivoc. – 2001. – Vol. 2001, Part V. P. 119 – 132;
17. Drach B. S. Some cyclization reactions of ω -chloro- ω -acylamidoacetophenones / B. S. Drach, I. Yu. Dolgushina, A. D. Sinitsa. // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 1974. – Vol. 10, № 7. P. 810 – 812;

18. Abignente E. Research on heterocyclic compounds. XXI. Synthesis of imidazo[2,1-*b*]benzothiazole and imidazo[2,1-*b*]thiazole derivatives / E. Abignente, P. De Caprariis, G. De Martino, R. Patscot. // Journal of Heterocyclic Chemistry. – 1987. Vol. 24, № 1. P. 155 – 158;
19. Gürsoy E Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new imidazo[2,1-*b*]thiazole derivatives / Gürsoy E. // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2007. – Vol. 42. P. 320-326.
20. I. Iwai. Studies on scetyicnic compounds. XXXVII. The cyclizatioo reaction of some propargylammonium halide derivatives / I. Iwai, T. Hiraoka. // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. – 1964. Vol. 12, № 7. P. 813 – 820.
21. Aldo A. Synthesis and diuretic activity of imidazo[2,1-*b*]thiazole acetohydrazones // Aldo A., Rambaldi M., Mascellani G., [and ect]. // European Journal of Medicinal Chemistry. – 1987. – Vol. 22. P. 19 – 22.
22. Kamali T.A. Synthesis of 6-substituted imidazo[2,1-*b*]thiazoles via Pd/Cu-mediated Sonogashira coupling in water. / T.A. Kamali [and ect]. // Tetrahedron Letters. – 2009. – Vol. 50, № 39. P. 5459 – 5462.
23. Oehler E. Regioselektive cyclisierungsreaktionen acylsubstituierter epoxyphosphonate mit 2-mercaptoazolen: synthesen von thiazolo[3,2-*a*]benzimidazol-, imidazo[2,1-*b*]thiazol- und thiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazol-derivaten / E. Oehler, H.S. Kang, E. Zbiral. // Chemische Berichte. – 1988. Vol. 121, № 5 P. 977 – 990;
24. Караван В. С. Образование тиазолов в реакции 2-алкокси-2-трифторметил-3-фенилоксиранов с тиомочевинами / В. С. Караван, В. Л. Никифоров. // Журнал органической химии. – 1999. Вып. 35. С. 762 – 766;
25. Ghorab M. M. Synthesis of some new thiazole derivatives, antifungal activity and ultrastructure changes of some mycotoxine producing fungi / M. M. Ghorab, A. I. El-Batal. // Boll. Chim. Farm. – 2002. – Vol. 141, № 2. P. 110 – 117.

26. Liu Z. Hypervalent iodine in synthesis 92. A facile synthesis of 3-substituted-5,6-dihydroimidazo[2,1-*b*]thiazoles by cyclocondensation of alkynyl(phenyl)iodonium salts and imidazolidine-2-thione / Z. Liu, Z.-C. Chen, Q.-G. Zheng. // Journal of Chemical Research (S). – 2003. – P. 715 – 717;
27. Neochoritis C. A thorough study on the reaction of DMAD with 1-arylaminoimidazole-2-thiones. Expedient synthesis of imidazo[2,1-*b*][1,3]thiazoles through a novel arylamino rearrangement / C. Neochoritis, N. Eleftheriadis, C.A. Tsoleridis, J. Stephanidou-Stephanatou. // Tetrahedron. – 2010. Vol. 66, №3. P. 709 – 714;
28. Mir N. A. One pot synthesis of imidazo[2,1-*b*]thiazoles and benzo[*b*]thiazolo[3.2-*a*]imidazoles / N. A. Mir / Tetrahedron Letters. – 2014. – Vol. 55, №10. P. 1706 – 1710.
29. Elguero J. The chemistry of aromatic azapentalenes / J. Elguero, R.M. Claramunt A.J.H. Summers. // Adv. Heterocycl. Chem. – 1978. – Vol. 22. P. 183 – 320.
30. Marchetti L. Perkins Trans II / Marchetti L. [and ect]. // J. Chem. Soc. – 1973;
31. Pentimalli L. Reazioni di sostituzione e di addizione di 2-Fenil-imidazo[2,1-*b*] benzotiazolo / L. Pentimalli, A.M. Guerra – Gazz. // Chim. Ital. – 1967 – Vol. 97, № 4. P. 488.
32. Талина К.Ю. Структурно-ориентированный дизайн низкомолекулярных ингибиторов EGFR-киназы : диплом. бакалавр 020100.62. / Талина Кристина Юрьевна. – Тольятти, 2016. – 91 с.
33. Вихров И.А. Реакции электрофильного замещения в имидазо[2,1-*b*]тиазолах – путь к синтезу новых биологически активных соединений : автореф. дис. ... канд. хим. Наук : 02.00.03 : защищена 08.10.2013 / Вихров Илья Александрович. – М., 2013. – 21 с.

34. Nerya O. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers / O. Nerya [and ect]. // *Phytochemistry*. – 2004. – Vol. 65, № 10. P. 1389 – 1395.
35. Pyl T. Justus Pyl T. Giebelman R. and Beyer H. / *Liebigs // Ann. Chem.* – 196 – P. 643.
36. Paolini J.P. and Lendvay L.J. / *J. Med. Chem.* – 1969. – Vol.12. P.1031.
37. Kano S. / *J. Pharm. Soc. Japan.* – 1972. – Vol. 92. P. 51.
38. Pentimalli L., Cogo G. / *Gazz. Chim. Italy.* – 1967. Vol. 4. P. 488.
39. Pentimalli L., Guerra A.M. / *Gazz. Chim. Italy.* – 1967. – Vol. 97. P. 1286.
40. Saldobols N., Zeligman L.L. / *Org. Soedin Sery.* – 1980. – Vol. 2. P. 220.
41. Andreani A., Rambaldi M. / *Arch J Pharm. Chem. Sci. Ed.* – 1987. – Vol. 15. P. 41.
42. Saldobols N., Zeligman L.L. / *Chem. Heterocycl Comp.* – 1972. – Vol. 8. P. 1223.
43. Anne O'daly M., Hopkinson C.P. / *J. Chem. Soc. Perkins Trans I.* – 1991. – P. 855.
44. Kano S. / *J. Pharm. Soc. Japan.* – 1972. – Vol. 92. P. 51.
45. Durst HD. *Experimental Organic Chemistry* / Durst HD, Gokel GW. // New York, McGraw-Hill Publishing Company. – 1987. – Vol. 2. P. 428-430.
46. Sebti S. Calcined sodium nitrate/natural phosphate: an extremely active catalyst for the easy synthesis of chalcones in heterogeneous media / Sebti S., Solhi A., Tahir R., Boulaajaj., Mayoral JA., Fraile JM., Kossir A., Oumimoun H. // *Tetrahedron Lett.* – 2001. – Vol. 42. P. 7953-7955.
47. Lopez J. Heterogeneous catalysis of aldolisations on activated hydrotalcites / Lopez J., Jacquot R., Figueras F. // *Stud. Surf. Sci. Catal.* – 2000. – Vol. 130. P. 491-496.
48. Watanabe K. Aldol Condensations Catalyzed by Co(II) Complexes of Pyridine-containing Copolymer / Watanabe K., Imazawa A. // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1982. – Vol. 55. P. 3208-3211.

49. Cheng MS. A solid phase synthesis of chalcones by Claisen-Schmidt condensations / Cheng MS., Li RS., Kenyon G. // *Chin Chem Lett.* – 2000. – Vol. 11(10). P. 851-854.
50. Fringuelli F. Polystyryl-supported TBD as an efficient and reusable catalyst under solvent-free conditions // Fringuelli F., Pizzo F., Vittoriani C., Vaccacio L. // *Chem. Commun.* – 2004. – Vol. 130. P. 2756-2757.
51. Thinurayanan G. Synthesis of some aryl chalcones using silica-sulphuric acid reagent under solvent free conditions / Thinurayanan G., Vanangamudi G. // *E-Journal of Chemistry.* – 2007. – Vol. 4(1). P. 90-96.
52. Siddiqui ZN. An efficient and novel synthesis of chromonyl chalcones using recyclable Zn (l-proline) 2 catalyst in water / Siddiqui ZN., Musthafa TNM. // *Tetrahedron Lett.* – 2011. – Vol. 52. P. 4008-4013.
53. Zeng M. A Facile Synthesis of α , α' -bis(Substituted Benzylidene)cycloalkanones Catalyzed by bis(p-ethoxyphenyl)telluroxide(bmpto) Under Microwave Irradiation / Zeng M., Wang L., Shao J., Zhong Q. // *Synth Commun.* – 1997. – Vol. 27(2). P. 351-354.
54. Srinivas K. Kumar. Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Boronic-Chalcone Derivatives as Antitumor Agents / Srinivas K. Kumar, Erin Hager, Catherine Pettit, Hallur Gurulingappa [and ect]. // *J. Med. Chem.* – 2003. Vol.46(14). P.2813–2815
55. Kakati D. Microwave assisted solvent free synthesis of 1, 3-diphenylpropenones / Kakati D., Sarma JC. // *Chemistry Central Journal.* – 2011. – Vol. 5. P. 8.
56. Eddarir S. An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction / Eddarir S., Cotellet N., Bakkour Y., Rolando C. // *Tetrahedron Lett.* – 2003. – Vol. 44. P. 5359-5363.

57. Felipe H. Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives / Felipe H., Ferrándiz M.Luisa, Ubeda A, Domínguez J. [and ect]. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 1998. – Vol. 8. P. 1169-1174.
58. Boeck P. Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity / Boeck P., Falcão C.A.B., César Leal P. [and ect]. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 14. P. 1538-1545
59. Xu LW. Efficient coupling reactions of arylalkynes and aldehydes leading to the synthesis of enones / Xu LW., Li L., Xia CG., Zhao PQ. // *Helv. Chem. Acta*. – 2004. – Vol. 87. P. 3080-3084.
60. Wu XF. Development of a general palladium-catalyzed carbonylative Heck reaction of aryl halides / Wu XF., Neumann H., Spannenberg A., Schulz T., Jiao HJ., Beller M. // *J. Am. Chem. Soc.* – 2010. – Vol. 132. P. 14596-14602.
61. Patel R. N. Synthesis on study of 2- methyl-5-nitro-n-(4-(3-(5-substituted-4, 5- dihydroisoxazol-3-yl) phenoxy) phenyl) benzenesulfonamide and their antimicrobial activity / Patel R. N., Nimavat K. S., Vyas K. B., Patel P. V. // *Der Pharma Chemica*. – 2011. – Vol. 3(6). P. 334- 340.
62. Levai A. Oxazepines and thiazepines 46. Synthesis of tetracyclic 1, 5 benzothiazepines by the reaction of α , β , γ , δ -unsaturated ketones with 2-aminothiophenol / Levai A., Jeko J. // *ARKIVOC*. – 2008. – Vol. XVII. P. 234-240.
63. Levai A. Synthesis of spiro-1-pyrazolines by the reaction of exocyclic α , β , γ , δ -unsaturated ketones with diazomethane / Levai A., Simon A., Jenei A., Kalman G. [and ect]. // *ARKIVOC*. – 2009. – Vol. XII. P. 161-172.
64. Bosc J-J. Synthesis and in vitro cytostatic activity of new β -d-arabino furan[1',2':4,5]oxazolo- and arabino-pyrimidinone derivatives / Bosc J-J., Latxague L., Leger JM., Balzarini J. [and ect]. // *Eur J Med Chem*. – 2010. – Vol. 45. P. 831-839.
65. Blanco G. A practical one-pot procedure for the synthesis of pyrazino[2,3,4,5]thieno[3,2-d]pyrimidinones by a tandem aza-

- Wittig/heterocumulene-mediated annulation strategy / Blanco G., Segui N., Quintela JM., Peinador C. [and ect]. // *Tetrahedron*. – 2006. – Vol. 62. P. 11124-11135.
66. Al-Abdullah ES. Synthesis and anticancer activity of some novel tetralin-6-yl-pyrazoline, 2-thioxopyrimidine, 2-oxopyridine, 2-thioxo-pyridine and 2-aminopyridine derivatives / Al-Abdullah ES. // *Molecules*. – 2011. – Vol. 16. P. 3419-3419.
67. Khanage SG. Synthesis and Pharmacological Evaluation of Some New Pyrimidine Derivatives Containing 1,2,4-Triazole / Khanage SG., Raju SA., Mohite PB., Pandhare RB. // *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. – 2012. – Vol. 2(2). P. 213-222.
68. Joshi VD. Synthesis and Pharmacological Study of Some Novel Pyrimidines / Joshi VD., Kshirsagar MD., Singhal S. // *Der Pharmacia Sinica*. – 2012. – Vol. 3(3). P. 343-348.
69. Deng X-Q. Design and synthesis of 10-alkoxy-5, 6-dihydro-triazolo[4,3-d]benzo[f][1,4]oxazepine derivatives with anticonvulsant activity. / Deng X-Q., Wei C-X., Li F-N., Sun Z-G. [and ect]. // *Eur J Med Chem*. – 2010. – Vol. 45. P. 3080-3086.
70. Bhatia MS. Synthesis, screening and QSAR studies of 2,4-disubstituted 1,5-benzodiazepine derivatives / Bhatia MS., Choudhari PB., Ingale KB., Zarekar BE. // *Oriental Journal of Chemistry*. – 2008. – Vol. 24(1). P. 147-152.
71. Joshi VD. Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Isoxazoles and Benzodiazepines / Joshi VD., Kshirsagar MD., Singhai S. // *J. Chem. Pharm. Res*. – 2012. – Vol. 4(6). P. 3234-3238.
72. Powers DG. Automated parallel synthesis of chalcone-based screening libraries / Powers DG., Casebier DS., Fokas D., Ryan WJ. [and ect]. // *Tetrahedron*. – 1998. – Vol. 54. P. 4085-4096.
73. May C. H. Structure–Activity Relationship Study of Prion Inhibition by 2-Aminopyridine-3,5-dicarbonitrile-Based Compounds: Parallel Synthesis,

- Bioactivity, and in Vitro Pharmacokinetics / May C. H., Zorn J. A., Witkop J., Sherrill J. [and ect]. // *J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 50. P. 65–75.
74. Guo K. Synthesis and evaluation of a focused library of pyridine dicarbonitriles against prion disease / Guo K., Mutter R., Heal W., Reddy T. [and ect]. // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 43. P. 93–106.
75. Heitman L. H. Allosteric modulation, thermodynamics and binding to wild-type and mutant (T277A) adenosine A1 receptors of LUF5831, a novel nonadenosine-like agonist / Heitman L. H., Mulder-Krieger T., Spanjersberg R. F., von Frijtag Drabbe Kunzel J. K., Dalpiaz A. [and ect]. // *Br. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 147. P. 533–541.
76. Deng J. Discovery of structurally diverse HIV-1 integrase inhibitors based on a chalcone pharmacophore / Deng J., Sanchez T., Al-Mawsawi L.Q., Dayam R. N. [and ect]. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 15. P. 4985–5002.
77. Kambe S. Synthetic studies using α , β -unsaturated nitriles: facile synthesis of pyridine derivatives / Kambe S., Saito K., Sakurai A., Midorikawa H. // *Synthesis.* – 1981. – Vol. 7. P. 531–533.
78. Guo K. Mechanistic studies leading to a new procedure for rapid, microwave assisted generation of pyridine-3, 5-dicarbonitrile libraries / Guo K., Thompson M. J., Reddy T.K.R., Mutter R. [and ect]. // *Tetrahedron.* – 2007. – Vol. 6. P. 5300–5311.
79. Raghukumar V. Synthesis of nicotinonitrile derivatives as a new class of NLO materials / Raghukumar V., Thirumalai D., Ramakrishnan V.T., Karunakara V. [and ect]. // *Tetrahedron.* – 2003. – Vol. 59. P. 3761–3768.
80. Raghukumar V. A Facile One Pot Synthesis of m-Terphenyl and Biaryl Derivatives / Raghukumar V., Murugan P., Ramakrishnan V.T. // *Synth. Commun.* – 2001. – Vol. 31. P. 3497–3505.
81. Suarez M. X-Ray and theoretical structural study of novel 5,6,7,8-tetrahydrobenzo-4H-pyrans / Suarez M., Salfran E., Verdecia Y., Ochoa, E. [and ect]. // *Tetrahedron.* – 2002. – Vol. 58. P. 953–960.

82. Murugan P. A Facile one pot Synthesis of Highly Substituted 1, 6 Naphtheyridines / Murugan P., Raghukuma V., Ramakrishnan V., Synth T. // Commun. – 1999. – Vol. 29. P. 3881–3887.
83. Lakowicz JR. Principals of fluorescence spectroscopy / Lakowicz JR. // Springer, New York. – 1999. – Vol. 2.
84. Mariam A. A novel method for the synthesis of nicotinonitrile and diazepin derivatives under microwave irradiation / Mariam A., Al-Sheikh // Journal of Saudi Chemical Society. – 2010. Vol. 15. P. 155–159.
85. Kirby A.J. Stereo Electronic Effects / Kirby A.J. // Oxford Chemistry Primers. – 1996. Vol. 36.
86. Hayam H. S. Synthesis and Reactions of Some Novel Nicotinonitrile, Thiazolotriazole, and Imidazolotriazole Derivatives for Antioxidant Evaluation / Hayam H. S., Eman M. H. M., Eman M. F. // Synthetic Communications. – 2010. – Vol. 40. P. 1360–1370.
87. Rashad A. E. Preparation of some fused pyridopyrimidine and pyridothienotriazine derivatives for biological evaluation / Rashad A. E., Sayed H. H., Shamroukh A. H. // Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem. – 2005. – Vol. 180. P. 2767–2777.
88. Blankley C. J. Antihypertensive activity of 6-arylpyrido[2,3-d]pyrimidin-7-amine derivatives, 2: 7-Acyl amide analogs / Blankley C., Bennett L. R., Fleming R. W., Smith R. D. [and ect]. // J. Med. Chem. – 1983. – Vol. 26. P. 403–411.
89. Baselga J. HER-targeted tyrosine-kinase inhibitors / Baselga J., Hammond L.A. // Oncology. – 2002. – Vol. 63. P. 6–16.
90. Wissner A. Syntheses and EGFR and HER-2 kinase inhibitory activities of 4-anilinoquinoline-3-carbonitriles: analogues of three important 4-anilinoquinazolines currently undergoing clinical evaluation as therapeutic antitumor agents / Wissner A., Floyd M.B., Rabindran S.K. [and ect]. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2002. – Vol. 12. P. 2893–2897.

91. Valabrega G. Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer / Valabrega G., Montemurro F. [and ect]. // *Annals of Oncology*. – 2007. – Vol. 18. P. 977–984.
92. Pao W. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain / Pao W., Miller V.A., Politi K.A. [and ect]. // *PLoS Medicine*. – 2005. – Vol. 2. P. 225–235.
93. Ozvegy-Latzka C. High-affinity interaction of tyrosine kinase inhibitors with the ABCG2 multidrug transporter / Ozvegy-Latzka C., Hegedus T., Varady G., Keri G. // *Molecular Pharmacology*. – 2004. – Vol. 65. P. 1485–1495.
94. Minami Y. The major lung cancer-derived mutants of ERBB2 are oncogenic and are associated with sensitivity to the irreversible EGFR/ERBB2 inhibitor HKI-272 / Minami Y., Shimamura T. // *Oncogene*. – 2007. – Vol. 26 (34). P. 5023–5027.
95. Bennisroune A. Tyrosine kinase receptors as attractive targets of cancer therapy / Bennisroune A., Gardin A., Aunis D., Cremel G. [and ect]. // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. – 2004. – Vol. 50. P. 23–38.
96. Traxler P. Tyrosine kinase inhibitors: from rational design to clinical trials / Traxler P., Bold G., Buchdunger E. // *Medicinal Research Reviews*. – 2001. – Vol. 21. P. 499–512.
97. Onn A. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor does not improve paclitaxel effect in an orthotopic mouse model of lung cancer / Onn A., Isobe T. // *Clinical Cancer Research* – 2004. – Vol.10. P. 8613–8619.
98. Garland L.L. Phase I study of BMS-599626, an oral pan-HER tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors / Garland L.L., Pegram M., Song S. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23. P. 3152.

99. <http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageidj10561> (accessed August 24, 2005).
100. Traxler P. AEE788: a dual family epidermal growth factor receptor/ErbB2 and vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity / Traxler P., Allegrini P.R., Brandt R. // Cancer Research. – 2004. – Vol. 6. P. 4931–4941.
101. О создании благоприятных условий для отечественных производителей лекарственных препаратов: Правительство России от 4 янв. 2015 г. [электронный ресурс]. - <http://government.ru/orders/selection/405/16431/>
102. О поддержке производства фармацевтических субстанций: Минпромторг от 27 мая 2015 г. [электронный ресурс]. - http://minpromtorg.gov.ru/presscentre/all/#!/minpromtorg_predostavit_v_pravitelstvo_mery_po_podderzhke_proizvodstva_v_strane_farmaceuticheskikh_substanciy.
103. О планах к 2020 г по производству препаратов в России: Минпромторг от 5 июня 2015 г. [электронный ресурс]. - http://minpromtorg.gov.ru/press-centre/news/#!/farmpreparaty_rossiyskogo_proizvodstva_zaymut_polovinu_vnutrennego_rynka_lekarstv_k_2020_godu.
104. Сухоносова Е.В. Синтез и структурное исследование производных имидазо[2,1-*b*]тиазола: автореф. дис. канд. хим. Наук : 02.00.03 : защищена 06.10.2016 / Сухоносова Елена Владимировна. – М., 2013. – 7 с.