

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

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ЭНЕРГЕТИКИ

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль)/специализация)

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)**

на тему Синтез и противоопухолевая активность производных
2-аминопиримидина

Студент

Л.И. Абайдуллина

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

А.С. Бунев

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

АННОТАЦИЯ

Название данной выпускной квалификационной работы – «Синтез и противоопухолевая активность производных 2-аминопиримидина». Работа состоит из 52 страниц, 11 схем, 5 таблиц, 7 рисунков и 58 литературных источников.

Объектом исследования являются производные 2-аминопиримидина.

Цель работы: анализ литературы, в которых содержатся новые подходы по получению производных 2-аминопиримидина, обладающих антипролиферативными свойствами среди синтетических соединений.

В первой главе мы рассмотрим концепцию цитотоксичности и МТТ-анализа - одного из самых популярных методов его оценки.

Во второй главе мы описываем природу и функции тирозинкиназ BCR-ABL и EGFR.

Третья глава посвящена различным методам синтеза производных 2-аминопиримидина и их противоопухолевой активности.

Результаты анализа показали взаимосвязь между заместителями производных 2-аминопиримидина и противоопухолевой активностью.

Ключевые слова: 2-аминопиримидин, цитотоксичность, BCR-ABL тирозинкиназы, EGFR тирозинкиназы, ингибиторы, противоопухолевая активность.

ABSTRACT

The topic of the given graduation work is “Synthesis and antitumor activity of 2-aminopyrimidine derivatives”. This graduation work is devoted to methods of the synthesis of BCR-ABL and EGFR tyrosine kinase inhibitors.

The graduation work consists of 52 sheets, an introduction on 1 page, 7 figures, 5 tables, 11 diagrams, the list of 58 references including 45 foreign sources.

The goal of the senior thesis is to analysis of the literature, which contains new approaches for obtaining derivatives of 2-aminopyrimidine with antiproliferative properties among synthetic compounds

The object of study are derivatives of 2-aminopyrimidine.

In the first chapter we consider the concept of cytotoxicity and MTT assay - one of the most popular method of its evaluation.

In the second chapter we describe nature and functions of BCR-ABL and EGFR tyrosine kinases.

The third chapter is devoted to different methods of synthesis of 2-aminopyrimidine derivatives and their antitumor activity.

Finally, we present relationships between substituents of 2-aminopyrimidine derivatives and anticancer activity.

Key words: 2-aminopyrimidine, cytotoxicity, BCR-ABL tyrosine kinases, EGFR tyrosine kinases, inhibitors, antitumor activity.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	7
1 Цитотоксичность	8
2 Тирозинкиназы.....	10
2.1 BCR-ABL тирозинкиназы	11
2.2 EGFR тирозинкиназы	12
3 Синтезы ингибиторов тирозинкиназы на основе 2-аминопиримидина	14
3.1 Синтезы ингибиторов BCR-ABL	14
3.2 Синтезы ингибиторов EGFR тирозинкиназы	27
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	45

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

Arg	аргинин
Asn	аспарагин
Asp	аспарагиновая кислота
Cys	цистеин
DCM	дихлорметан
DIPEA	<i>N,N</i> -диизопропил- <i>N</i> -этиламин
DMA	диметиламин
DMAC	диметилацетамид
DMAP	4-(<i>N,N</i> -диметиламино)пиридин
DME	диметоксиэтан
DMEDA	<i>N,N'</i> -диметилэтан-1,2-диамин
DMF	диметилформаид
DMFDMA	диметилформаид-диметилацеталь
DMSO	диметилсульфоксид
EDC	1-этил-3-(3- <i>N,N</i> -диметиламинопропил)карбодииимид
EGF	эпидермальный фактор роста
FDA	управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (США)
FGF	фактор роста фибробластов
GLP	надлежащая лабораторная практика
Glu	глутаминовая кислота
HATU	гексафторфосфат азабензотриазол тетраметил урония
His	гистидин
HOBT	<i>N</i> -гидрокси-1,2,3-1 <i>H</i> -бензотриазол
Ile	изолейцин
Leu	лейцин
Lys	лизин
LGA	ламаркианский генетический алгоритм

<i>m</i> -CPBA	<i>мета</i> -хлорнадбензойная кислота
Met	метионин
NSCLC	немелкоклеточный рак легкого
PDGF	тромбоцитарный фактор роста
Phe	фенилаланин
Pro	пролин
Py	пиридин
Ser	серин
THF	тетрагидрофуран
Thr	треонин
TFA	трифторуксусная кислота
<i>p</i> -TSA	<i>пара</i> -толуолсульфоновая кислота
Tyr	тирозин
Val	валин
VEGF	фактор роста эндотелия сосудов
АТФ	аденозинтрифосфат
ГСК	гемопозитические стволовые клетки
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИТК	ингибитор тирозинкиназы
НРТК	нерцепторная тирозинкиназа
ОЛЛ	острый лимфобластный лейкоз
РНК	рибонуклеиновая кислота
РТК	рецепторная тирозинкиназа
ФР	фактор роста
ХМЛ	хроническая миелоидная лейкемия

ВВЕДЕНИЕ

Аминопиримидиновое кольцо является частью структуры многих биологически активных соединений [1], это важный скаффолд огромного числа, поддерживающих жизнедеятельность, веществ, который также входит в состав противораковых препаратов, таких как Гливек (Иматиниб), Осимертиниб и другие [2].

Производные 2-аминопиримидина способны предотвращать активацию тирозинкиназы, что приводит к специфичному для мишени ингибированию пролиферации клеток [3]. Поиск специфических ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназы среди 2-аминопиримидинов завершился открытием препарата Гливек в 1995 году, применяемого при лечении ХМЛ и ОЛЛ [4-6].

В последние несколько лет производные на основе 2-аминопиримидина были исследованы на ингибирующую активность EGFR-киназы. Так, Осимертиниб был одобрен FDA в 2015 году для лечения пациентов с немелкоклеточным раком легких [7].

Поскольку производные, полученные на основе 2-аминопиримидина, обладают противоопухолевыми свойствами, разработка новых методов синтеза потенциальных противоопухолевых соединений представляет большой интерес [4-6].

Целью работы является анализ литературы, в которых содержатся новые подходы по получению производных 2-аминопиримидина, обладающих антипролиферативными свойствами среди синтетических соединений, в связи с чем поставлены следующие задачи:

- 1) изучить природу и функции BCR-ABL и EGFR тирозинкиназ;
- 2) изучить литературные данные о способах получения производных 2-аминопиримидина, ингибирующие данные мишени;
- 3) критически обобщить проанализированную литературу.

1 Цитотоксичность

Под цитотоксичностью понимают появление патологических изменений в клетках при действии физических, химических и биологических агентов. В зависимости от силы и мишени воздействия может произойти большое количество изменений, которые лимитируются цитостатическим эффектом, нарушающим деление клетки по клеточному циклу, и цитотоксическим эффектом, приводящему к гибели клетки [8]. Под цитотоксичностью можно также понимать различные сбои, вызывающие с одной стороны запуск механизмов апоптоза, а с другой стороны – включение механизмов некроза [9].

Цитотоксичность имеет разные механизмы действия. Существуют лекарственные препараты, которые повреждают трансформированные клетки путем блокирования дифференцировки клеток (алкилирующие агенты), нарушения транскрипции ДНК (цитотоксические антибиотики), нарушения процессов фолат-зависимого метилирования (антиметаболические агенты) и с помощью блокировки митотического деления клеток.

Оценка цитотоксичности потенциальных фармацевтических субстанций – основной этап изучения их на доклиническом этапе в рамках системы GLP [10]. В настоящее время находится все больше аргументов для совместного применения экспериментов *in vivo*, *in vitro* и *in silico* (компьютерное моделирование) для улучшения качества исследования цитотоксичности субстанций. Однако, оценка системой *in vivo* имеет ряд недостатков, среди них – невозможность изучения точных молекулярных механизмов действия потенциальных лекарственных средств. Применение эксперимента *in vitro*, наоборот, привлекает внимание, так как позволяет сократить число животных, используемых для тестирования.

Существует огромное количество тест-систем *in vitro*: 1) изолированные перфузированные органы; 2) тканевые срезы; 3) клеточные культуры/сuspензии; 4) изолированные органеллы/мембраны/ферменты; 5)

системы безпозвоночных; 6) non-living системы; 7) компьютерные модели. Наиболее простыми являются монослойные клеточные культуры [11].

Существует способ оценки цитотоксичности с помощью МТТ-теста. Калориметрический анализ на основе МТТ (тетразолия) был первоначально описан Мосманном. Он широко используется в качестве быстрого и чувствительного метода для скрининга противоопухолевых препаратов [12-14]. Данный анализ основан на расщеплении желтой соли тетразолия в пурпурные кристаллы формазана митохондриальными ферментами метаболически активных клеток [13, 14]. Формазан кристаллизуется в клетке и затем переводится в раствор подходящими органическими растворителями, например, DMSO или *i*-PrOH, после чего, количество жизнеспособных клеток, растущих в лунках, может быть считано с помощью спектрофотометра. Это дает возможность зарегистрировать изменения оптической плотности раствора и оценить гибель клеток, вызванную каким-либо цитотоксическим агентом.

МТТ-тест обладает преимуществами в скорости, простоте, стоимости и безопасности. Это чувствительный, точный, удобный, быстрый и экономичный метод тестирования во многих исследованиях [12].

Таким образом, на сегодняшний день существует большое количество тестов для высокопроизводительного скрининга цитотоксичности разрабатываемых лекарственных соединений, такие как, МТТ-тест, резазурин-тест, колониеобразующий тест, окраска суспензии клеток витальным красителем трипановым синим и другие. Каждый из скрининговых тестов имеет ряд своих преимуществ и недостатков. Так, наиболее популярным и дешевым методом скрининга разрабатываемых лекарственных препаратов до сих пор остается МТТ-тест, основанный на активности митохондриальных редуктаз.

2 Тирозинкиназы

Одним из фундаментальных механизмов, посредством которых клетки в многоклеточных организмах связываются, является связывание полипептидных лигандов с рецепторами клеточной поверхности, которые обладают каталитической активностью тирозинкиназы [15]. Тирозинкиназы представляют собой ферменты, которые катализируют перенос γ -фосфатной группы из АТФ в гидроксильную группу тирозина в белковом субстрате [15, 16]. Они играют важную роль в разнообразных нормальных клеточных регуляторных процессах.

Тирозинкиназы могут быть классифицированы как рецепторные протеинкиназы (РТК) и нерецепторные протеинкиназы (НРТК). Рецепторные тирозинкиназы представляют собой проникающие через мембраны белки клеточной поверхности, которые играют основную роль в передаче внеклеточных сигналов в цитоплазму [16-18]. РТК активируют многочисленные сигнальные пути внутри клеток, что приводит к клеточной пролиферации, дифференцировке, миграции или метаболическим изменениям. Семейство РТК включает рецепторы инсулина и многих факторов роста, таких как эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и так далее [15].

Нерецепторные тирозинкиназы передают внутриклеточные сигналы [16-18]. НРТК являются неотъемлемыми компонентами сигнальных каскадов, запускаемых РТК и другими рецепторами клеточной поверхности, такими как G-белок-связанные рецепторы и рецепторы иммунной системы. НРТК включают Src, янус-киназы (Jaks) и ABL [15].

Семейство протеинкиназ регулирует ключевые аспекты неоплазии человека, такие как пролиферация, миграция и выживание опухолевых клеток [19,20]. Активность протеинкиназы может быть результатом генетических изменений, приобретенных на ранних стадиях онкогенеза, и остается существенным аспектом физиологии опухолевых клеток на

протяжении прогрессирования заболевания [21]. Поэтому целенаправленное ингибирование протеинкиназ стало привлекательной стратегией в лечении рака и обещает повышение эффективности без токсических побочных эффектов применяемых в настоящее время противоопухолевых препаратов [19-23].

Тирозинкиназы являются особенно важной мишенью, поскольку они играют главную роль в модуляции передачи сигналов фактора роста. Низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы имеют благоприятный профиль безопасности и могут сочетаться с различными видами химиотерапии или лучевой терапии [24-26]. Ингибиторы тирозинкиназы (ИТК) являются важным новым классом таргетной терапии, которая мешает специфическим клеточным сигнальным путям и, таким образом, позволяет проводить мишеневую терапию для выбранных злокачественных новообразований [24,27].

2.1 BCR-ABL тирозинкиназы

В норме белки BCR и ABL экспрессируются независимо друг от друга. Их биохимические функции относятся к конкретной клеточной локализации и стадии жизненного цикла клетки [28]. *Bcr-Abl* – это химерный ген, образующийся в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) при транслокации гена *Abl* с девятой на длинное плечо двадцать второй хромосомы, где и находится ген *Bcr*, в результате чего образуется «филадельфийская» (Ph) хромосома. Из-за экспрессии гена *Bcr-Abl* образуется химерный белок $p210^{BCR/ABL}$, который характеризуется усиленной тирозинкиназной активностью. Появление данного белка в гемопоэтических стволовых клетках является причиной сбоя нормальной жизнедеятельности клетки и ее злокачественной трансформации. Через некоторый промежуток времени клетки, содержащие онкобелок $p210^{BCR/ABL}$, вытесняют здоровые клетки-предшественники из-за чего развивается клинко-гематологическая картина хронического миелолейкоза [29, 30].

Из вышесказанного следует, что BCR-ABL тирозинкиназы являются перспективными мишенями для разработки лекарств против хронической миелоидной лейкемии и острого лимфобластного лейкоза.

2.2 EGFR тирозинкиназы

Факторы роста – это соединения полипептидной природы, которые усиливают рост и деление клеток за счет активации специфических рецепторов на их мембране, благодаря чему рецепторы производят митогенные сигналы. Существует огромное количество ФР, оказывающих влияние на различные виды клеток, и достаточно большое количество рецепторов, лигандами которых они являются [31]. Другими словами, ФР и их рецепторы – это молекулы, с которых начинается передача сигналов в клетках [32].

EGFR (ErbB-1, HER1) — рецепторная тирозинкиназа, соединяющая внешнеклеточные лиганды семейства EGF и преобразующая их в различные внутриклеточные отклики (клеточная миграция, адгезия и пролиферация) [28]. EGFR представляет собой крупный трансмембранный гликопротеид с молекулярной массой 170 000 дальтон – является продуктом одного из онкогенов семейства *erb* – *c-erbB1* [33]. Ген *Egfr* находится на хромосоме 7p12.1–12.3 [34, 35]. Семейство EGFR включает в себя четыре структурно родственных трансмембранных белков: EGFR1 (HER1, *erbB1*), HER2/*neu* (*erbB2*), HER3 (*erbB3*) и HER4 (*erbB4*) [31]. Молекула EGFR, как и молекулы всех рецепторных тирозинкиназ, состоит из трех основных доменов: внеклеточного N-концевого гликозилированного лиганд-связывающего участка, трансмембранного α -спирального участка, и внутриклеточного тирозинкиназного домена [36].

Нарушение регуляции EGFR, вызванное избыточной экспрессией или мутацией, связано с возникновением и развитием различных видов рака, включая рак легких, желудочно-кишечные злокачественные новообразования, мультиформную глиобластому [37, 38].

Следовательно, EGFR представляет собой важную лекарственную мишень для лечения опухолевых заболеваний.

3 Синтезы ингибиторов тирозинкиназы на основе

2- аминопиримидина

3.1 Синтезы ингибиторов BCR-ABL

Иматиниб, или иматиниба мезилат – соединение, которое известно как ингибитор тирозинкиназ и показан для лечения хронической миелоидной лейкемии (ХМЛ) и желудочно-кишечных стромальных опухолей [39].

Иматиниб является производным 2-фениламинопиримидина. Он был разработан Novartis Pharma AG, Базель, Швейцария, и лицензирован для лечения пациентов с хроническим миелоидным лейкозом Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США 7 ноября 2001 года [40]. Иматиниб обладает положительным воздействием на пациентов с хроническим миелолейкозом. Впервые он был синтезирован Циммерманном в 1993 году (схема 1).

Выходы всех этапов реакций не были показаны в патентном документе Циммермана [39].

Иматиниб специфически ингибирует пролиферирующие линии миелоидных клеток, содержащие BCR-ABL, и практически безвреден для здоровых клеток. Он также уменьшает образование BCR-ABL-позитивных колоний примерно на 95%, когда клетки от пациентов с ХМЛ выращивали в клоногенном тесте *in vitro*. Иматиниб также подавляет рост клеток Ph⁺ ОЛЛ [41, 42] и используется для лечения пациентов с Ph⁺ ХМЛ [43-45]. Концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) иматиниба при ингибировании BCR-ABL тирозинкиназ составляет 0.25 μM [40, 46].

Несмотря на большой клинический успех, одобренные FDA препараты, такие как Иматиниб, Нилотиниб, Бозутиниб и Дазатиниб, сильно ингибируют другие мишени, такие как DDR1/2, c-KIT и другие. Высокоселективный ингибитор BCR-ABL по-прежнему высоко востребован как с точки зрения доклинических патологических, так и клинических побочных эффектов.

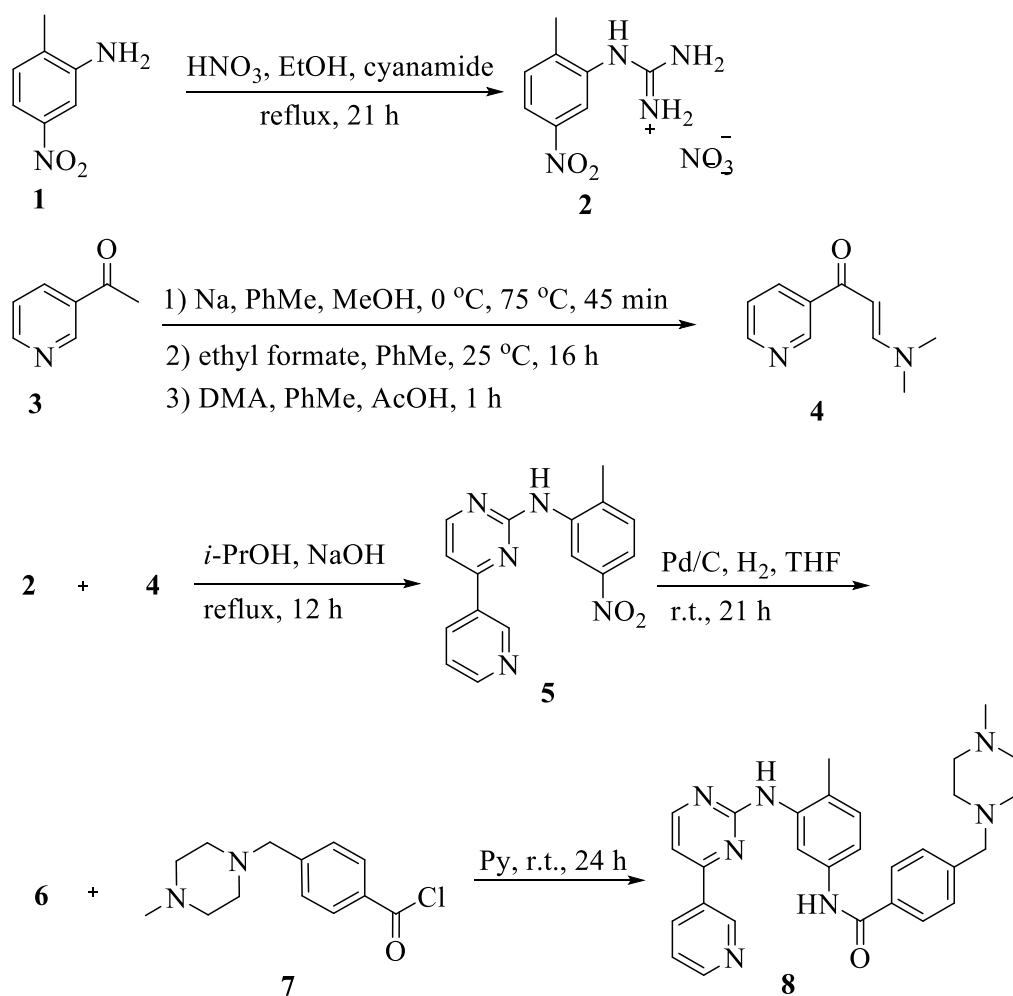


Схема 1 – Синтез иматиниба

Авторы работы [47] описывают получение высокоэффективного и селективного ингибитора BCR-ABL **19a** на основе пиримидинового каркаса. (схема 2).

Синтез протекает в два этапа. В первом этапе проводят реакцию ацелирования 4-метил-3-нитроанилина **9** с карбонилхлоридом **10** с последующим получением нитробензола **11**. Затем **11** превращают в соответствующий анилин **12** путем восстановления водородом катализатором 10% Pd / C.

Во втором этапе протекает синтез целевого соединения **19a-с**. Гидролиз этилового эфира пиримидина **13a-с** с последующей реакцией ацелирования дает амид **15a-с**. Сульфидную группу соединения **15a-с** затем подвергают

окислению, аминированию и последующему восстановлению с получением производных анилина **19a-c** с общим выходом 11%.

Соединение **19a** обладает высокой антипролиферативной активностью в отношении клеточных линий ХМЛ, управляемых BCR-ABL. Оно показало эффективную антипролиферативную эффективность против клеток K562 (GI₅₀: 0.014 μM). Введение метильной группы (**19b**), либо удаление 4-метиламиногруппы (**19c**) приводило к значительной потере активности в отношении клеток K562 (GI₅₀: 1.211 μM и 0.33 μM соответственно).

Поскольку соединение **19a** показало наилучшую активность и профиль селективности, был изучен способ связывания **19a** с ABL-киназой с помощью метода молекулярного моделирования (рисунок 1). Модель проиллюстрировала, что **19a** предпочла принять режим связывания типа II. Аминопиримидин образовал две водородные связи с Met-318. Остаток Glu-286 в остатке c-Helix и «DFG» Asp-381 образовал две типичные водородные связи с амидной связью между «центральным» фрагментом и «хвостовым» фрагментом. Остаток гена Thr-315 образовал водородную связь с карбонильной группой, связывающей аминопиримидиновый фрагмент и «хвостовую» часть. Кроме того, Tyr-253 также образовывал водородную связь с аминогруппой в «головной» части. Гидрофобный карман в области связывания шарнира неглубокий и плоский, что объясняет, почему можно применять как ароматические, так и алифатические кольца и цепи (рисунок 1B). 3-Трифторметилбензол в «хвосте» занимал гидрофобный карман, образованный основой «DFG» в результате ван-дер-ваальсовых взаимодействий (рисунок 1C). Кроме того, Leu-248, Val-256 и Tyr-253 образовали небольшой гидрофобный карман, который мог вместить аминометильную группу в аминопиримидиновом «центральном» фрагменте, и это могло бы объяснить причину, по которой соединения **19b** и **19c** потеряли активность (рисунок 1D).

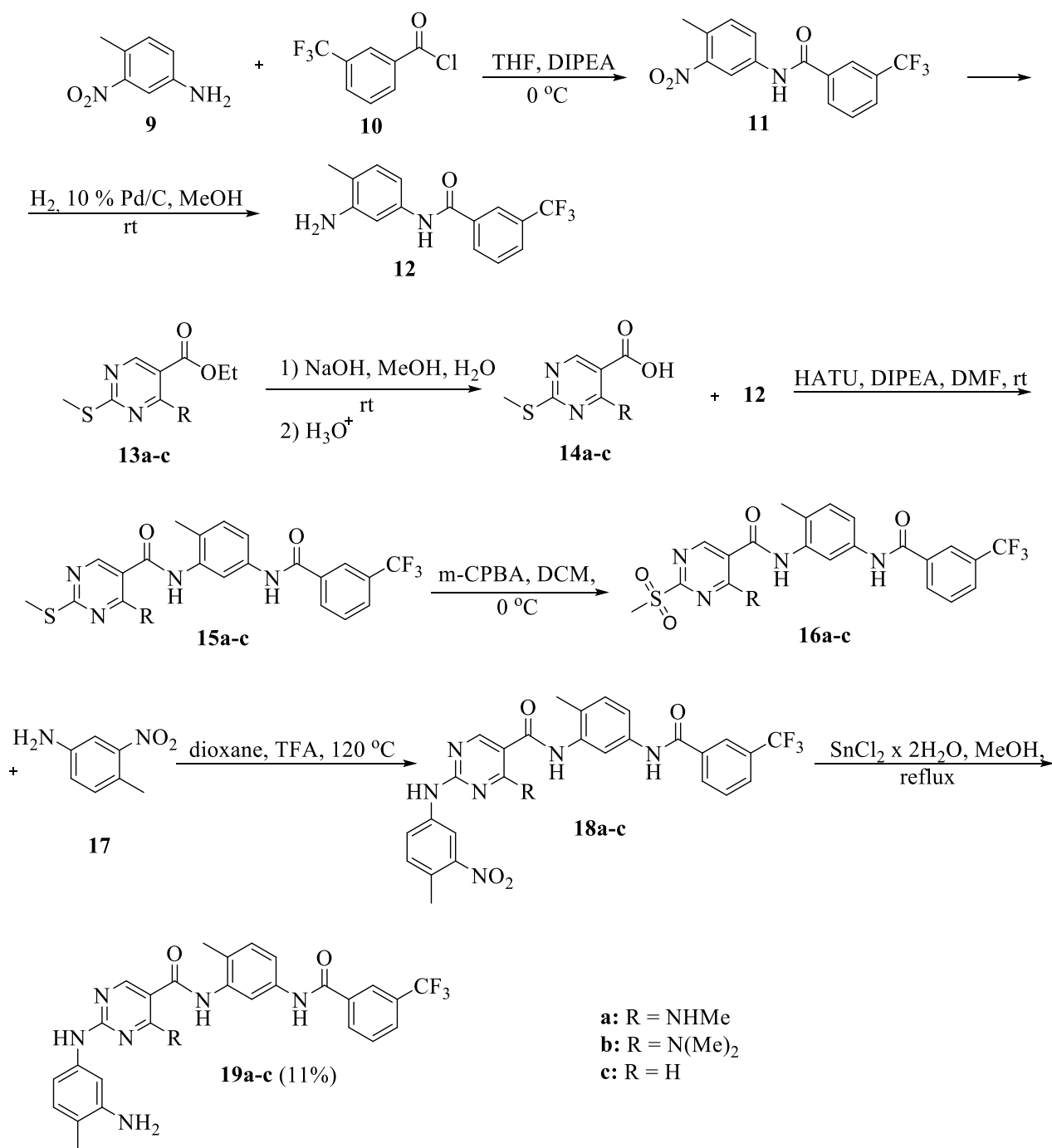


Схема 2 – Синтез ингибиторов VCR-ABL **19a-c** на основе пиримидинового каркаса

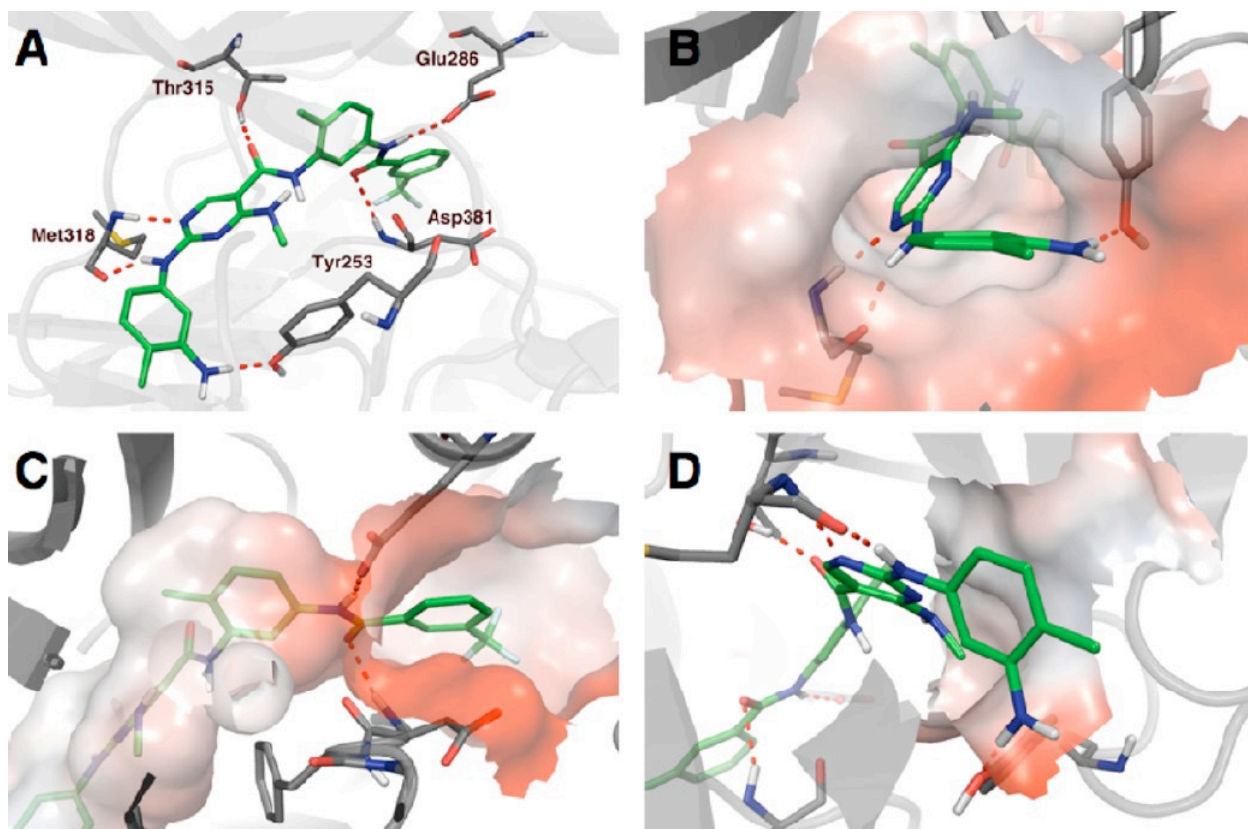


Рисунок 1 – Молекулярный докинг ABL-киназы в комплексе с **19a**

Авторами работы [48] представлены новые производные на основе фенотиазина с различными *N*-замещенными роданинами **26a-g** (схема 3).

Соединение **22** было получено конденсацией Кляйзена – Шмидта *n*-фталальдегида и 2-ацетилфенотиазина [49]. Халконы **24a-g** были получены конденсацией Кновенагеля между рядом роданинов **23a-g** и соединением **22**. Халконы **24a-g** обладают высокой реакционной способностью благодаря наличию карбонильной группы, сопряженной с двойной связью. В результате нуклеофилы могут реагировать с ними как по карбонильной группе, так и по двойной связи [48].

Последующие реакции проводили в микроволновом синтезаторе, который позволял проводить реакции за короткое время. Синтез проводили с использованием **24a-g** и гидрохлорида гуанидина в сухом метаноле и 40% КОН в условиях 90°C и 150 Вт в течение 15 минут с получением **26a-g** [48, 50].

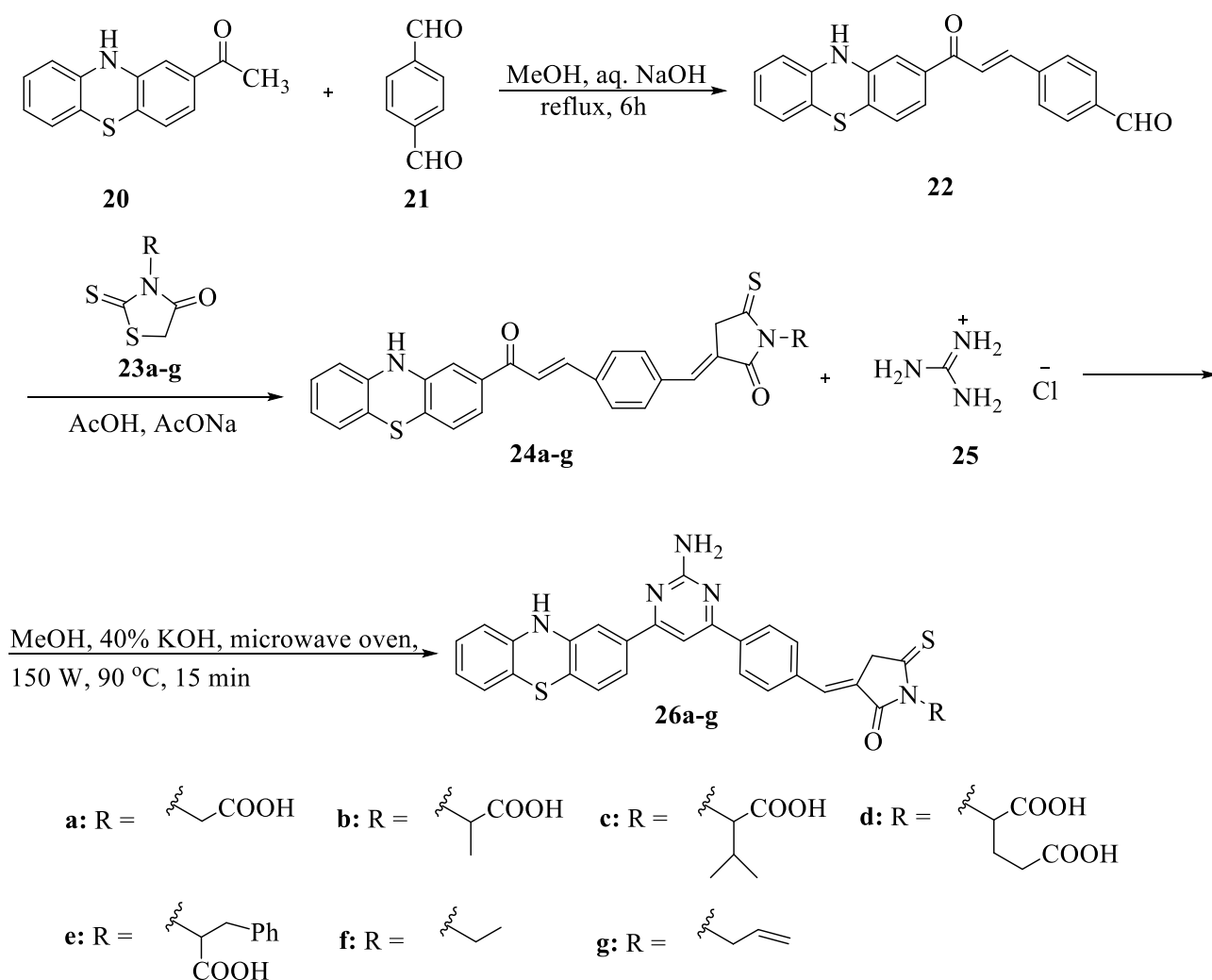


Схема 3 – Синтез производных на основе фенотиазина с различными *N*-замещенными роданинами

Была оценена цитотоксичность указанных соединений с помощью теста МТТ. Тест показал, что **26a**, **26d**, **26f** обладают наилучшими результатами по сравнению с другими соединениями. В частности, соединение **26d** было более активным среди остальных. Значения IC_{50} соединений **26a-g** против клеточной линии K562, рассчитанные на основе анализа МТТ составляют 0.176 μM , 0.223 μM , 0.177 μM , 0.151 μM , 0.176 μM , 0.169 μM , 0.187 μM соответственно [48].

Исследование молекулярного докинга **26d** проводилось с использованием программного обеспечения AutoDock Vina. Для стыковки использовался ламаркианский генетический алгоритм (LGA). Для

осуществления молекулярного докинга трехмерную (3D) структуру получали из банка данных белка (PDBID:2VA7), а лигандную структуру **26d** изображали с использованием Chem3D Ultra. Вещество **26d** образует водородные связи с Met-437, Arg-328, Asp-381, связывается Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями с Met-318, Thr-319, Ser-438, Gly-321, Val-256 а также образует гидрофобные взаимодействия с Lys-271, Leu-248, Leu-370. Комплекс связывания показал энергию -9.5 ккал/моль и образовал водородную связь с активным сайтом Bcr-Abl (T315I), что свидетельствует об эффективном ингибировании.

Авторы работы [51] представили ряд 3-замещенных производных бензамида, ингибиторов тирозинкиназы BCR-ABL. Данные производные были оценены на антипролиферативную активность в отношении BCR-ABL-позитивного лейкоза клеточной линии K562.

Производные **32a-f** были синтезированы, как показано на схеме 4. α-Бромирование 4-метил-3-трифторметилбензойной кислоты **27** с помощью реагента NaBrO₃ / NaHSO₃ с последующей реакцией с оксалилхлоридом приводит к образованию хлорангирида **29**, который превращали в бензилбромид **29** путем конденсации с анилином **30**, который был получен из 5-ацетилпиримидина. Реакция замещения **31** с различными циклическими аминами давала желаемые конечные продукты **32a-f**.

Антипролиферативную активность синтезированных соединений **32a-f** оценивали *in vitro* в отношении BCR-ABL-позитивных и BCR-ABL-негативных клеток лейкемии. Антипролиферативную активность определяли с помощью МТТ-теста.

Производное пирролидина **32c** имеет превосходную активность, схожую с **32a** (IC₅₀ = 0.004 μM). Энантиомер **32b**, а также другие производные пирролидина **32d** и **32e**, тоже обладали хорошей антипролиферативной активностью (IC₅₀ = 0.011, 0.011 и 0.009 μM соответственно), в то время как **32f** обладает немного более низкой эффективностью (IC₅₀ = 0.017 μM). Эти результаты позволяют предположить,

что положение терминальной аминогруппы оказывает существенное влияние на антипролиферативную активность.

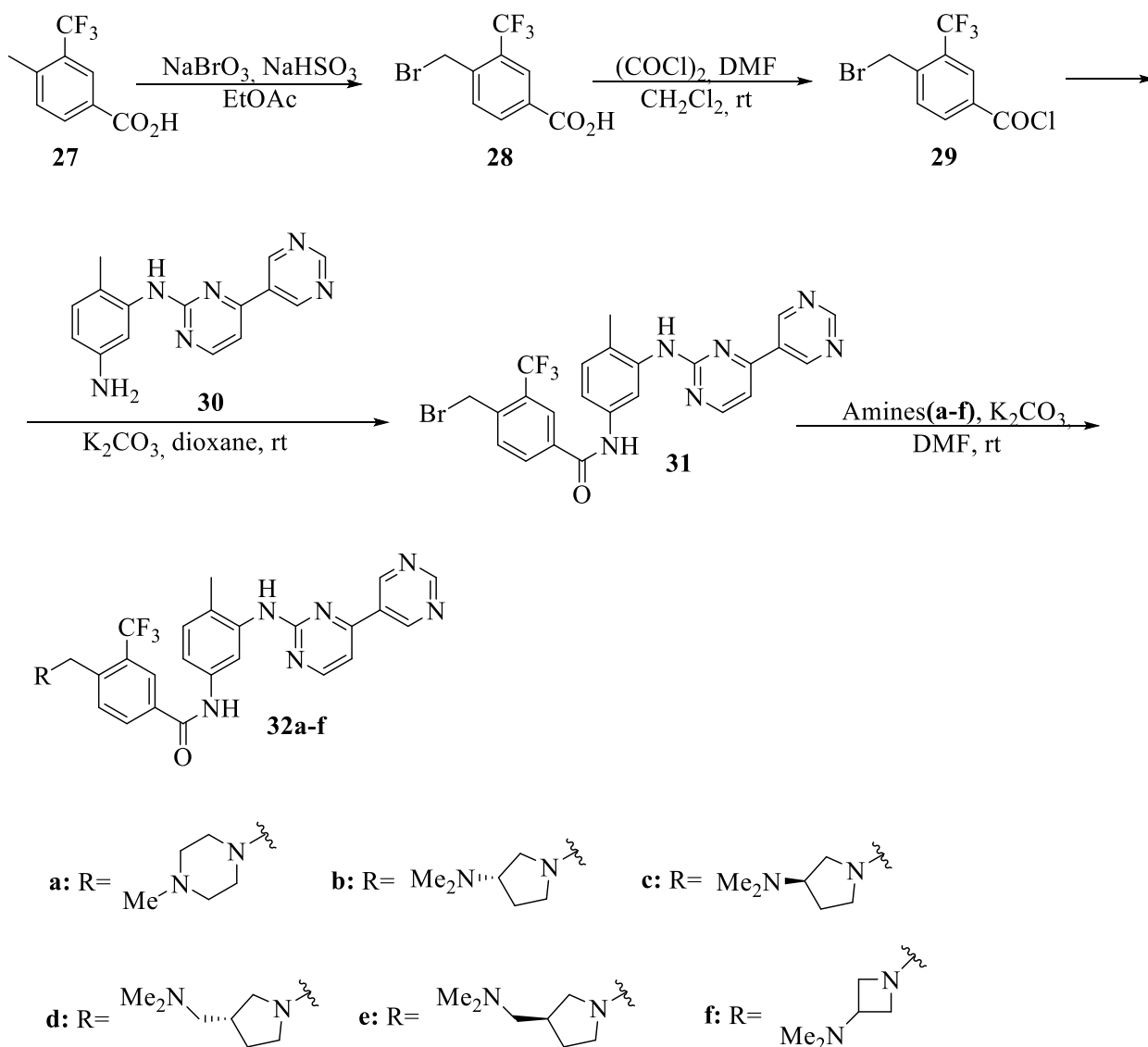


Схема 4 – Синтез ряда 3-замещенных производных бензамида, ингибиторов тирозинкиназы BCR-ABL

На рисунке 2 показан молекулярный докинг ABL в комплексе с **32b**. Здесь гидрофобные аминокислоты показаны зеленым цветом, а водородные связи показаны в виде синих пунктирных линий. Аминокислота, близкая к пиримидиновому кольцу **32b**, показана белым цветом. Соединение **32b** было вручную пристыковано к точке связывания ABL с использованием опубликованных координат ABL в комплексе с Иматинибом.

Конформационные изменения **32b** и соседних аминокислот были небольшими и способ связывания **32b** был очень похож на таковой у Иматиниба. Трифторметильная группа хорошо взаимодействует с гидрофобным карманом, образованным Ile-293, Leu-298, Leu-354 и Val-379, показанным зеленым цветом. Tyr-253 расположен рядом с дистальным пиримидином, показывая, что использование пиримидина вместо пиридинового кольца не изменило важной роли Tyr-253 в стабилизации неактивной формы киназы. Водосвязывающие взаимодействия показаны в виде синих пунктирных линий; атом азота диметиламиногруппы взаимодействует с карбонильными атомами кислорода Ile-360 и His-361 посредством водородных связей. Эти результаты подтвердили обоснованность стратегии по улучшению деятельности Иматиниба.

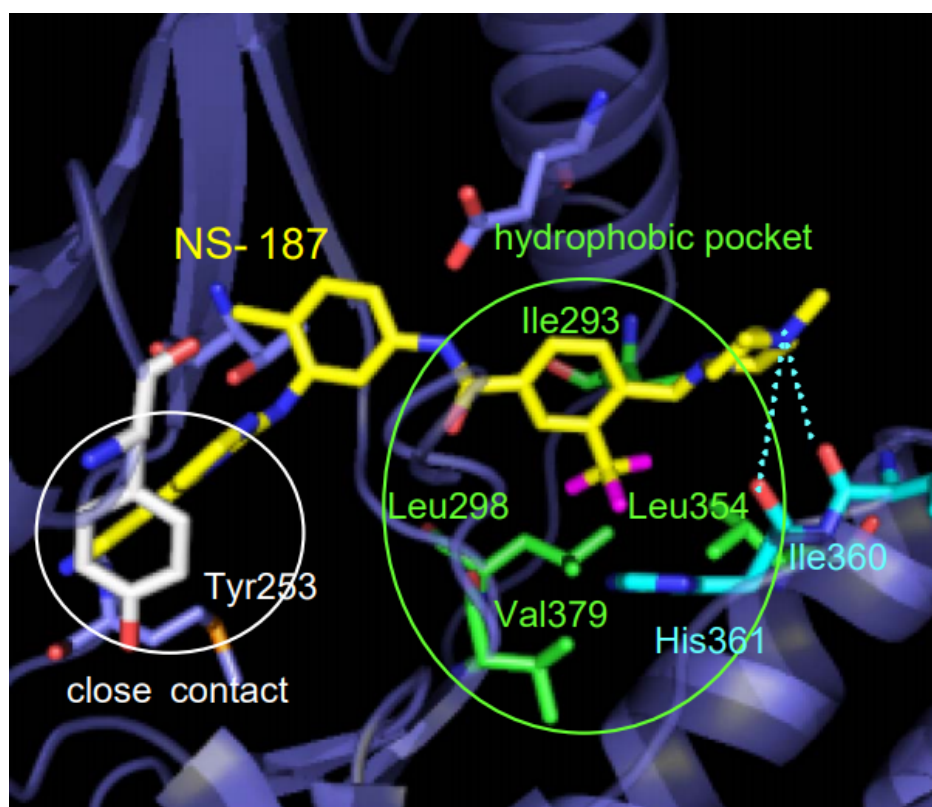


Рисунок 2 – Молекулярный докинг ABL-киназы в комплексе с **32b**

сильную ингибирующую активность в отношении BCR-ABL. Соединение **40e** было наиболее эффективным с величиной IC_{50} 0.01 μ M. Кроме того, четыре соединения (**40a**, **40b**, **40c** и **40d**) также были эффективными ингибиторами BCR-ABL со значениями IC_{50} 0.136, 0.259, 0.219 и 0.210 μ M соответственно.

Соединения с галогензамещенными анилинами проявили большую ингибирующую активность, чем другие. Авторами работы было высказано предположение, что включение галогенов может улучшить их биологическую активность. Результаты показали, что галоген играет важную роль в ингибирующей активности BCR-ABL. Высокая активность **40a**, **40b** и **40c** указывает на то, что трифторметильная группа может быть полезна для противораковой активности.

Чтобы исследовать взаимодействия между ингибиторами и Bcr-Abl, молекулярную стыковку проводили с использованием Surflex-Dock Mode из пакета программ SYBYL-X 2.0 (Tripos, St. Louis, MO, USA). Нилотиниб был использован для определения связывающей полости. Результат докинга **37e** показан на рисунке 3. Он связывается с активным сайтом Bcr-Abl аналогично тому, как это происходит с нилотинибом. Он взаимодействует с рецептором через пять водородных связей, включающих пиридил-N и главную цепь NH Met-318, анилино-NH и OH Thr-315, амидо-NH и карбоксилат боковой цепи Glu-286, амидокарбонил и основной NH Asp-381 и морфолин-O с боковой цепью гуанидила Arg-362.

Авторы работы [53] сообщили о синтезе и биологической оценке небольшой коллекции аналогов иматиниба на основе триазола (схема 6). Все соединения были получены путем каталитического цикло-присоединения в соответствии с условиями реакции Шарплеса между азидами **48** и пятью разными алкинами.

Реакция кетона **41** с избытком диметилацеталя диметилформаида (DMFDMA) в ксилоле дала соответствующие енаминоны **42**. Соединения **42** реагировали с нитратом гуанидина и гидроксидом натрия в н-бутаноле с

других соединений **50b-f** не наблюдалось, значения IC_{50} для них составляют 56.45, > 100, 24.22, > 100, > 150 μM соответственно.

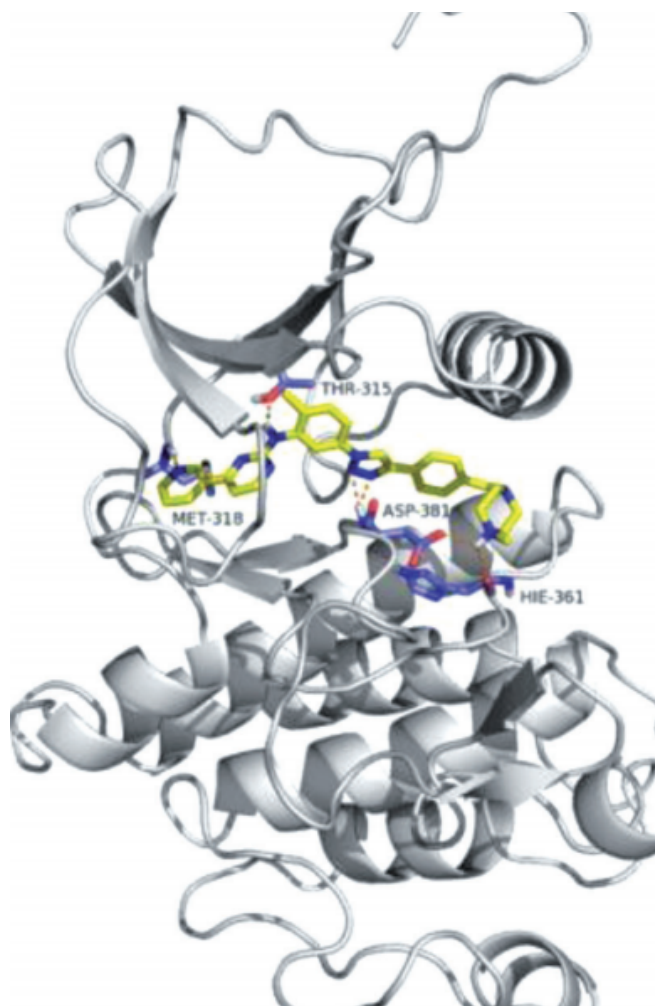


Рисунок 4 – Молекулярный докинг ABL-киназы в комплексе с **50a**

На рисунке 4 продемонстрирован молекулярный докинг ABL в комплексе с **50a**. ABL-киназный домен показан серым цветом, соединение **50a** – желтым. Соединение **50a**, по-видимому, имеет шесть водородных связей с белком, и большинство контактов опосредованы ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями. Предсказаны взаимодействия водородной связи между атомом азота пиридина и основной группой NH Met-318 в шарнирной области и группой NH анилина с боковой цепью остатка Thr-315. Предполагается, что *N*-метилпиперазиновая группа имеет сильное

взаимодействие с белком посредством водородных связей с карбонильными группами основной цепи Asp-381 и His-361. Эти водородные связи дополняются обширными гидрофобными взаимодействиями (Val-256, Tyr-253, Leu-248, Leu-370, Phe-317, Phe-382, Gly-321, Lys-271, Thr-315, Ile-313, Val-289, Met-290 и Asp-381).

Анализируя вышеуказанные синтезы ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназы, можно отметить, что большинство синтезов являются перспективными с точки зрения экологичности реагентов, относительно быстрого и простого способов течения реакций.

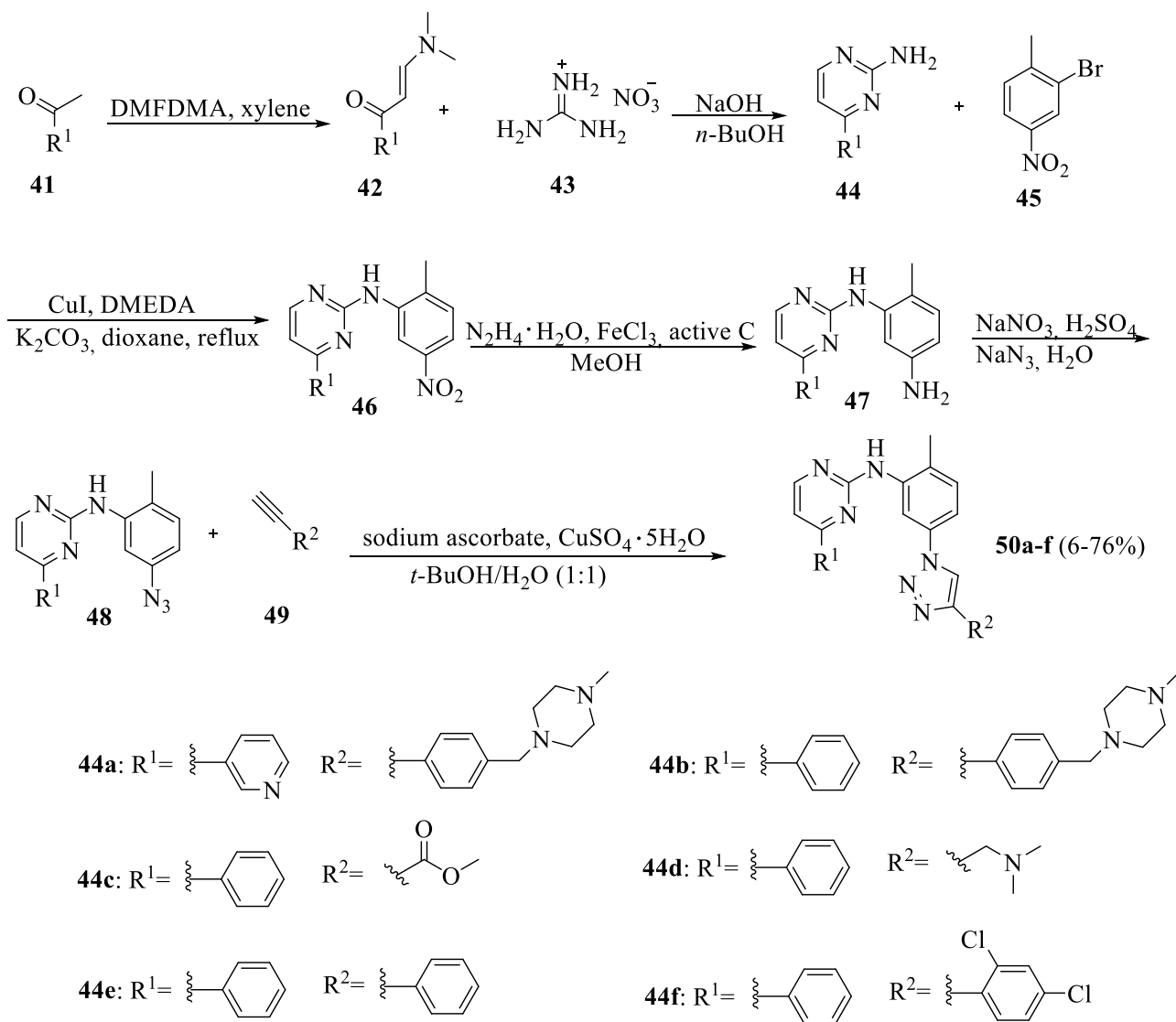


Схема 6 – Синтез аналогов иматиниба на основе триазола

3.2 Синтезы ингибиторов EGFR тирозинкиназы

Нарушение регуляции EGFR, вызванное сверхэкспрессией или мутацией, связано с началом и развитием различных видов рака, включая рак легких, желудочно-кишечные злокачественные новообразования, мультиформную глиобластому и, следовательно, EGFR представляет собой важную лекарственную мишень для лечения опухолевых заболеваний. Например, пациенты с немелкоклеточным раком легкого, имеющие мутантные формы EGFR^{L858R} и получающие Эрлотиниб или Гефитиниб в качестве лечения первой линии, страдают от резкого рецидива, вызванного приобретенной вторичной мутацией T790M устойчивой к лекарственным средствам.

Авторы работы [54] сообщили о разработке и синтезе нового класса ингибиторов EGFR. Ряд аналогов, полученных из анилинопиримидина и замещенных по третьему положению 2-цианоакриламидами, проявляют сильную и селективную ингибирующую активность в отношении клинически значимых EGFR^{L858R} и EGFR^{L858R/T790M}. Синтез указанных ингибиторов изображен на схеме 7.

В первой стадии синтеза 3-нитрофенол **52** региоселективно замещали в четвертое положение 2,4,5-трихлорпиримидина **51** для получения арилового эфира **53**. Параллельно проводили реакцию 5-фтор-2-нитроанизола **54** с *N*-метилпиперизином с получением **56**. Последующее восстановление нитрогруппы привело к соединению **57**, которое в ходе реакции присоединения дало основное промежуточное соединения **58**. Нитрогруппа **58** была восстановлена с получением соответствующего амина **59**, который взаимодействовал с цианоуксусной кислотой в условиях реакции этерификации (EDC, HOBT, DCM), с получением промежуточных соединений **60**. Затем путем альдольно-кетоновой конденсации соединения **60** с различными коммерчески доступными альдегидами были получены целевые соединения **61a-j**. Ароматические альдегиды претерпевали

эффективную альдольную конденсацию с соединением **60** с использованием пиперидина в качестве основания при кипячении с обратным холодильником в этаноле с получением желаемых продуктов.

Вновь разработанные соединения являются высокоселективными ингибиторами EGFR^{L858R} и EGFR^{L858R/T790M}. Соединение **61b** с электронодонорной группой в *para*-положении ароматической системы проявляло одинаковую активность по сравнению с производными, которые замещены электроноакцепторными группами **61c,d** и **61f**. Однако, **61e** является полностью неактивным среди испытываемых вариантов EGFR. Пара- и мета-нитропроизводные **61c** и **61d** обладают аналогичной активностью со значениями IC₅₀ 2.3 μM и 1.8 μM в отношении EGFR^{L858R} и 1.2 μM и 0.72 μM в отношении EGFR^{L858R/T790M} соответственно.

Таблица 1 – IC₅₀ соединений **61a-j** по отношению к EGFR^{L858R} и EGFR^{L858R/T790M}

Компонент	EGFR ^{L858R} IC ₅₀ , μM	EGFR ^{L858R/T790M} IC ₅₀ , μM
54a	0.54 ± 0.46	0.12 ± 0.06
54b	0.83 ± 0.65	0.51 ± 0.09
54c	2.3 ± 0.5	1.2 ± 0.1
54d	1.8 ± 0.54	0.72 ± 0.18
54e	>10	>10
54f	1.8 ± 0.7	0.94 ± 0.63
54g	0.15 ± 0.03	0.037 ± 0.004
54h	1.3 ± 0.2	0.33 ± 0.14
54i	0.35 ± 0.08	0.081 ± 0.022
54j	0.35 ± 0.10	0.083 ± 0.020

Примечательно, что производные **61c**, **61d** и **61f**, замещенные более сильными электроноакцепторными группами, вызывают значительно уменьшенные ингибирующие эффекты (IC₅₀ 1.2 μM, 0.72 μM и 0.94 μM

соответственно), которые могут быть связаны со стерически высокими характеристиками этих заместителей и, следовательно, неблагоприятными взаимодействиями с поверхностью белка. Среди различных гетероциклов было обнаружено, что соединение **61g** является наиболее мощным ингибитором, значения IC_{50} для него составляет 0.15 μM и 0.037 μM для EGFR^{L858R} и EGFR^{L858R/T790M} соответственно. Значения IC_{50} всех производных указаны в таблице 1.

На рисунке 5 изображен молекулярный докинг EGFR^{T790M} в комплексе с **61g**. 2-Аминопиримидин образует бидентатные взаимодействия водородной связи с основной цепью петлевого остатка Met-793. Ковалентный обратимый акцептор Михаэля расположен в непосредственной близости от Cys-797, что, следовательно, возможно для образования ковалентной связи. Кроме того, протонированный пиридин ингибитора находится на проксимальном расстоянии, чтобы образовать заряженные взаимодействия с боковой цепью Asn-800.

Авторы работы [55] разработали и синтезировали серию 2,4-диариламинопиримидинов **69a-k** – новых ингибиторов EGFR^{L858R/T790M}. Соединения были получены с помощью реакций, описанных на схеме 8.

Региоселективное нуклеофильное замещение 2,4-дихлорпиримидинов **62** с коммерчески доступными химическими веществами R^1XN давало промежуточные соединения **64**. Затем соединения **64** реагировали с замещенными нитроанилинами с получением **66** с помощью реакции нуклеофильного ароматического замещения, катализируемой *para*-толуолсульфоновой кислотой (*p*-TSA). Последующее восстановление нитрогруппы дало ключевые промежуточные соединения **67**. Затем, **67** вступало в реакцию с (*E*)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислотой для получения конечных соединений **69a-k**.

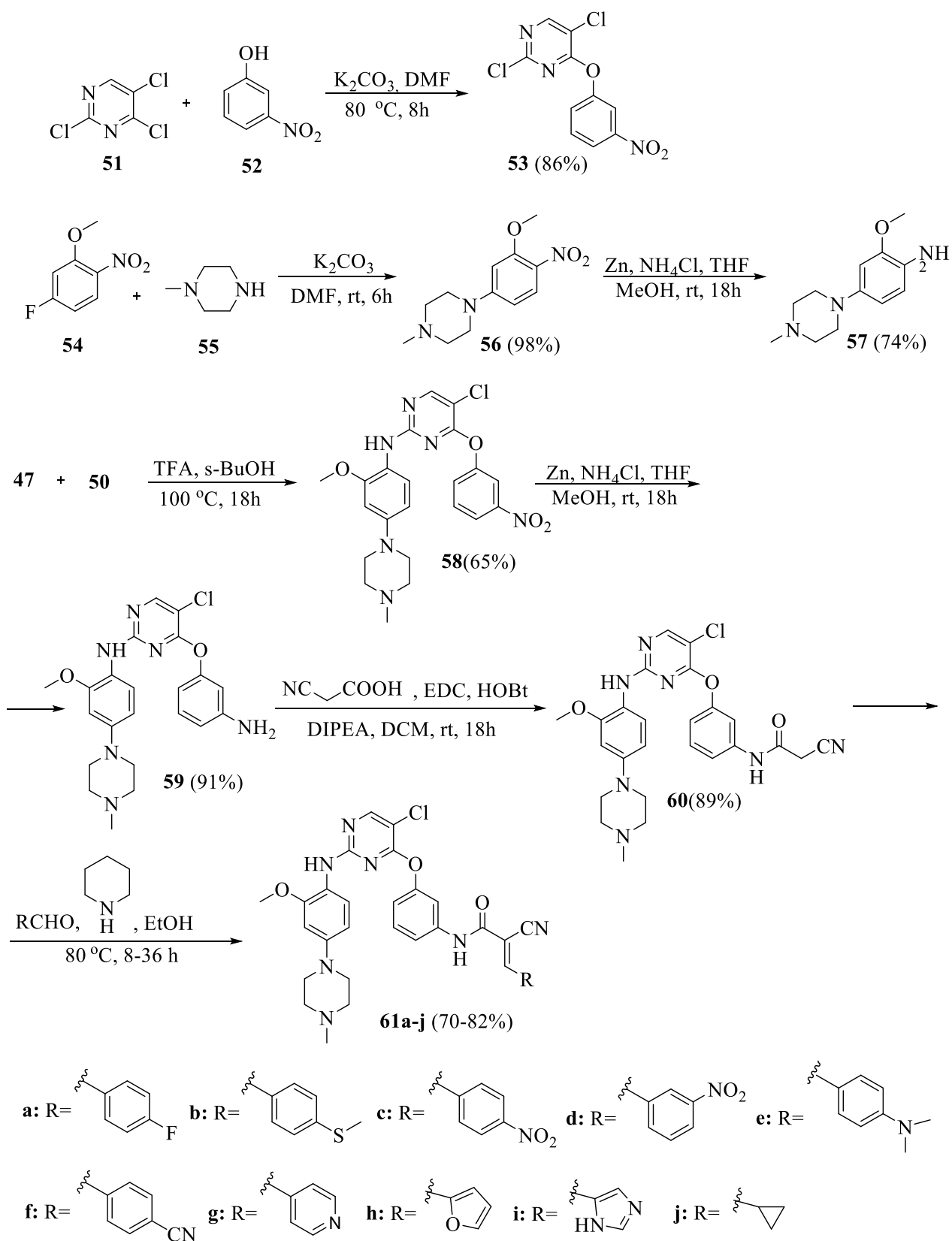


Схема 7 – Синтез ингибиторов EGFR на основе анилинопиримидина

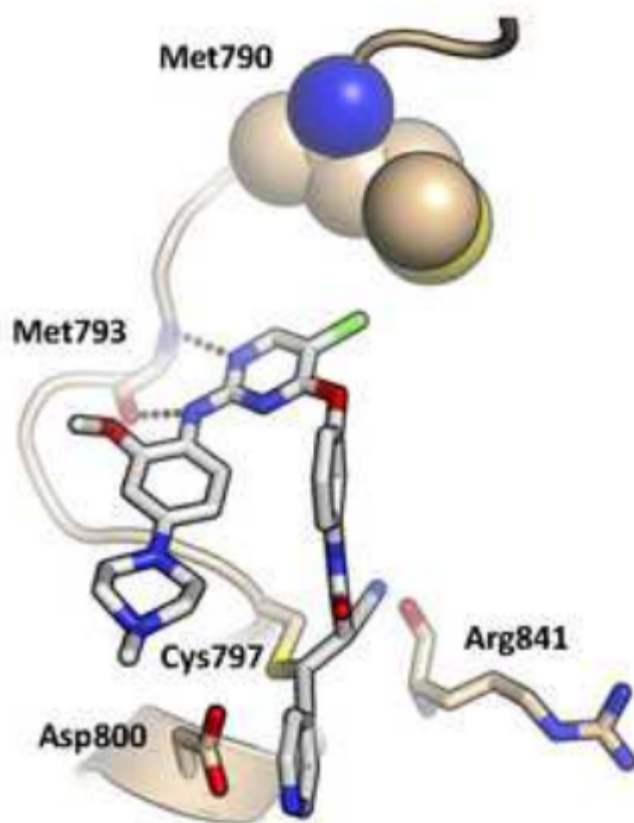


Рисунок 5 – Молекулярный докинг EGFR^{T790M} в комплексе с **61g**

Киназную активность соединений оценивали с использованием анализов ELISA (таблица 2). Вещество **69a** ингибировало EGFR^{L858R/T790M} со значением IC₅₀ 0.15 μ M. Дальнейшие исследования показали, что наличие хлора в различных положениях R¹-фенильного кольца оказывало различное влияние на ингибирование EGFR^{L858R/T790M}. Например, производное с хлором в *орто*-положении **69b** продемонстрировало сходную активность по ингибированию ферментов EGFR^{L858R/T790M} с активностью **69a**. Тем не менее, *мета*- или *пара*-замещенные соединения **69c** или **69d** показали в 2-5 раз более высокую эффективность. Также было показано, что 3,4-дихлорзамещенное производное **69e** сохраняло сильное ингибирование EGFR^{L858R/T790M}. Соединение **69f** показало мощное ингибирование EGFR^{L858R/T790M} со значением IC₅₀ 0,018 μ M. Другие бициклические соединения **69g-k** продемонстрировали сравнимую селективность с **69f**.

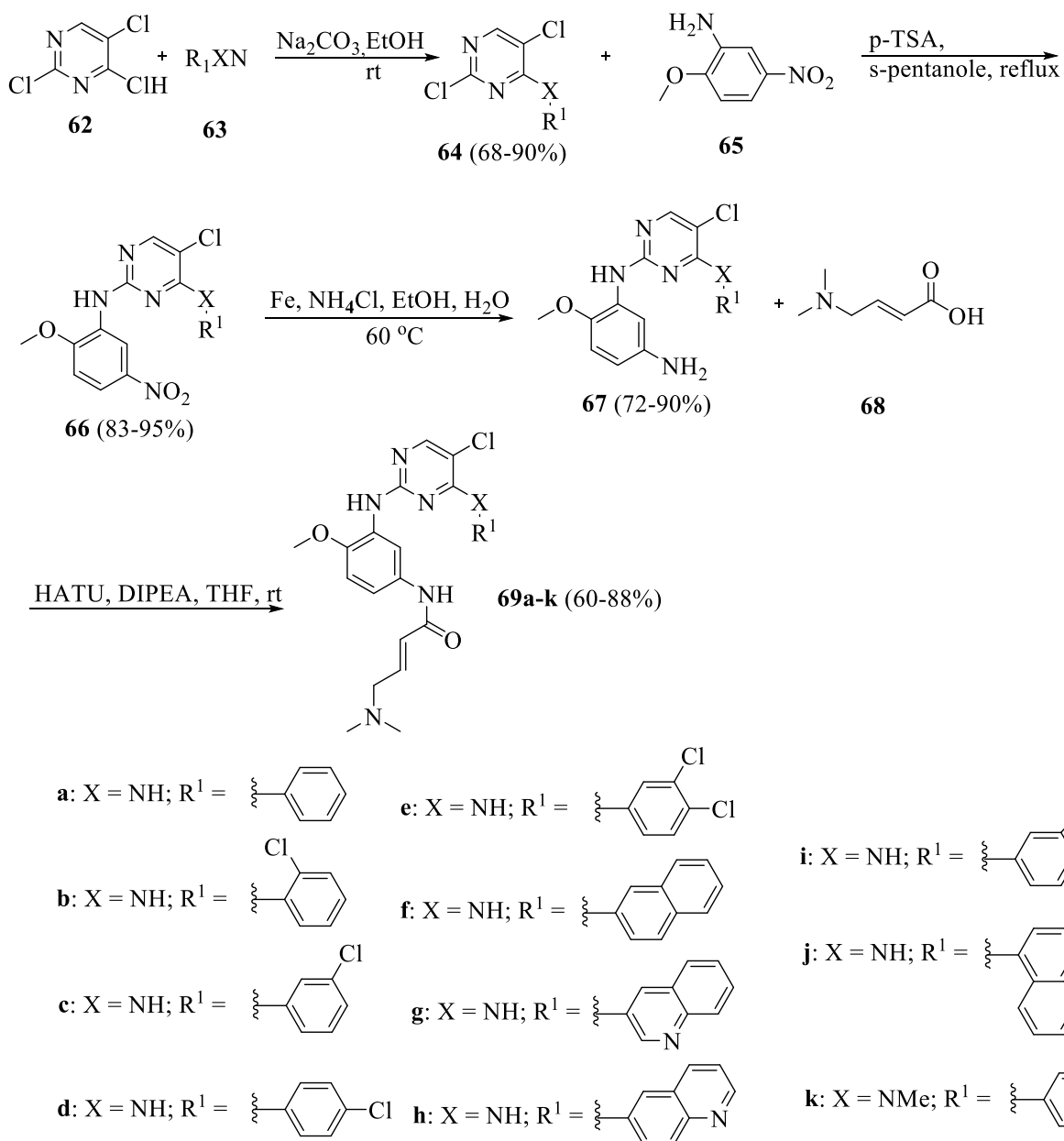


Схема 8 – Синтез серии 2,4-диариламинопиримидинов

Наложение сокристаллических структур EGFR^{T790M} (зеленый PDB:3IKA) показало, что ингибитор связывается с соответствующими мишенями с «U»-образными модами (рисунок 6) где: 1) 2-аминопиримидиновый каркас («средняя часть») образует две водородные связи с Met-793 в шарнирной области EGFR^{T790M}; 2) гидрофильная замещенная фенильная группа («левая часть») фиксирует взаимодействие Ван-дер-Ваальса с гидрофобным карманом вблизи областей, доступных для растворителя; 3) другой ароматический фрагмент занимает гидрофобный

карман («правая часть»), доступ к которому осуществляется приблизительно при 90 ° к среднему 2-аминопиримидиновому кольцу. Отличительно то, что ненасыщенная акрильная группа (в левой или правой фенилринговой) частицах EGFR^{T790M} необходима для образования ковалентного взаимодействия с Cys-797 белком. На основании этих наблюдений соединение **69a** было разработано как новый потенциальный ингибитор EGFR^{T790M}. Предварительное вычислительное исследование показало, что **69a** может хорошо связываться с EGFR^{T790M} (PDB: 3IKA).

Таблица 2 – IC₅₀ соединений **69a-k** по отношению к EGFR^{L858R/T790M}

Компонент	EGFR ^{L858R/T790M} IC ₅₀ , μM
59a	0.150
59b	0.191
59c	0.066
59d	0.041
59e	0.038
59f	0.018
59g	0.038
59h	0.044
59i	0.031
59j	0.032
59k	0.047

Авторы работы [56] разработали и синтезировали ряд производных **78a-d**. Пути синтеза целевых соединений показаны на схеме 9.

Для получения соединений **78a-d** (схема 9) коммерчески доступные 2- или 5-замещенные пиримидины **70** сначала вступали в реакцию с различными арилами с получением промежуточных соединений **71** с выходами от умеренного до высокого (45.0-90.0%). Затем хлор был замещен 4-фтор-2-метокси-5-нитроанилином с получением промежуточных

соединений **73** с выходами 81.5-92.0%. После чего фтор был замещен *N,N,N*-триметилэтан-1,2-диамином с получением соединений **75** с выходами 60.0-78.0%. Последующее восстановление нитрогрупп в **75** дает амины **76**. После ацилирования аминов **76** акрилоилхлоридом и удаления гидрохлорида гидроксидом натрия были получены желаемые конечные молекулы **78a-d** с выходами 25.0-65.5%.

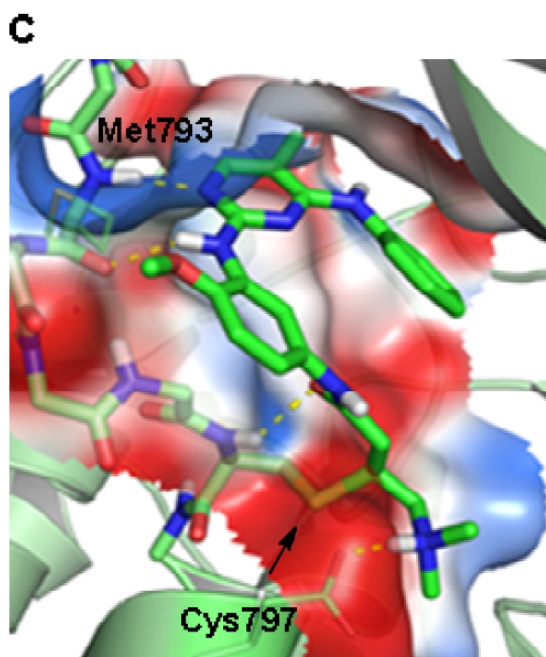


Рисунок 6 – Молекулярный докинг EGFR^{T790M} в комплексе с **69g**

Ингибирующую киназную активность целевых соединений оценивали с помощью анализа FRET на основе *Z'*-Lyte. Соединение **78c** ингибирует одиночный мутант L858R и двойные мутанты T790M/L858R мутацию со значениями IC₅₀ 0.006 и 0.003 μM соответственно. Однако, у соединения **78a** заметно резкое снижение активности и селективности (таблица 3). Кроме того, введение *1H*-индазольного фрагмента (соединение **78b**) привело к полной потере активности против обоих киназ EGFR.

Соединение **78c** продемонстрировало превосходную активность в отношении ингибирования ферментов и селективность с субнанолярными значениями IC₅₀ как для одиночного L858R, так и для двойного EGFR

мутанта T790M/L858R. Соединение **78c** проявляет антипролиферативную активность против клеток немелкоклеточного рака легкого H1975, несущих T790M/L858R, и противоопухолевую эффективность *in vivo* в клетках немелкоклеточного рака легкого человека.

Таблица 3 – IC₅₀ соединений **78a-d** по отношению к EGFR^{L858R} и EGFR^{TL}

Компонент	IC ₅₀ EGFR ^{L858R} , μM	IC ₅₀ EGFR ^{L858R/T790M} , μM
65a	0.186	0.287
65b	>600	>600
65c	0.006	0.003
65d	0.155	0.013

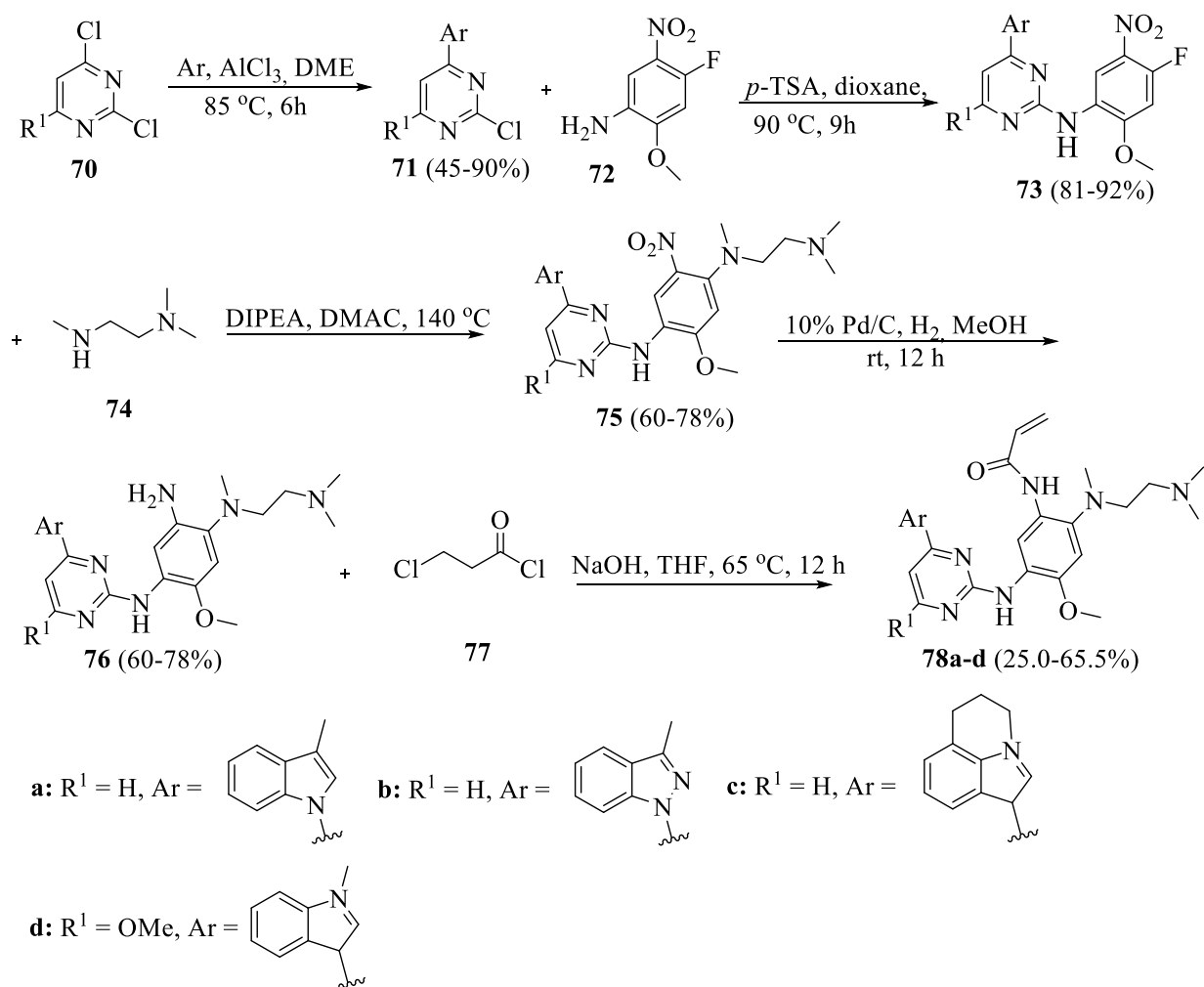


Схема 9 – Синтез ряда производных **78a-d**

Авторы работы [57] описали синтез производных 2,4-диаминопиримидина в качестве новых ингибиторов EGFR^{L858R/T790M} (схема 10). Среди них структуры **85e** и **85h** демонстрировали дозозависимое подавление роста опухоли без токсичности на модели ксенотрансплантата NSCLC человека. Эти селективные ингибиторы являются многообещающими лекарственными препаратами для NSCLC, управляемой EGFR^{L858R/T790M}.

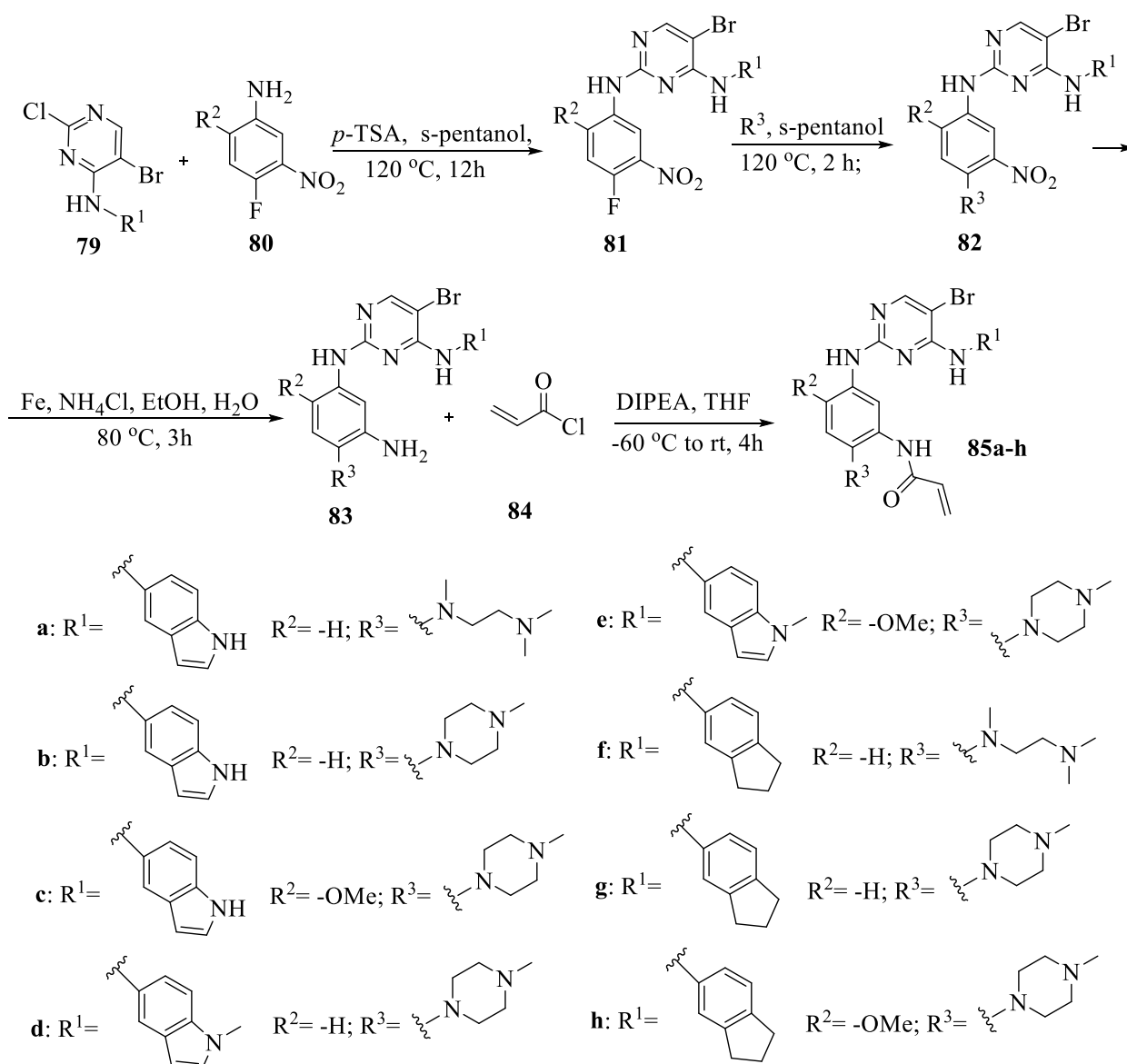


Схема 10 – Синтез производных 2,4-диаминопиримидина

В первой стадии реакции анилин **80** добавляли к 2-хлорпиримидинам **79**, в результате реакции нуклеофильного ароматического замещения в *s*-пентаноле с *p*-TSA получили промежуточные соединения **81**. Последующее восстановление нитрогруппы приводило к получению соответствующих аминов **83**, которые реагировали с акрилоилхлоридом в тщательно контролируемых условиях в присутствии DIPEA для минимизации образования *бис*-акрилоилированных побочных продуктов, давая целевые соединения **85a-h**.

Для соединений **85a-h** были определены значения IC₅₀ (таблица 4). Кроме того, исследовали влияние *орто*-метоксигруппы у R² и *пара*-4-метилпиперазинильной группы у R³. Все соединения показали клеточную активность в клеточной линии NCI-H1975 (несущей EGFR^{L858R/T790M}) со значением IC₅₀ менее 0.5 μM. Однако, селективность в отношении двойной мутантной киназы снизилась примерно в 5-11 раз, когда 1-(4-метилпиперазинильную) группу из **85b** и **85g** заменили на *N,N,N*-триметилэтилендиаминовую (**85a**, **85f**). Введение метоксигруппы в R² (**85c**, **85e** и **85h**) на основе **85b**, **85d** и **85g** значительно улучшило активность и селективность для EGFR^{L858R/T790M} (IC₅₀ = 0.003, 0.004 и 0.003 μM). Кроме того, **85e** и **85h** показали относительно высокую активность против H1975 (IC₅₀ = 0.18 и 0.27 μM).

Чтобы исследовать, может ли добавленный акриламид образовывать ковалентную связь с Cys-797, был проведен ковалентный молекулярный докинг, чтобы предсказать способы связывания соединений **85e** и **85h** (рисунок 7). Ожидалось, что ковалентная связь образуется между Cys-797 и добавленной акриламидной группой в качестве пространственного ограничения при моделировании стыковки. Результаты показали, что **85e** и **85h** показали U-образную конформацию и образовали две водородные связи с остатком Met-793. Аналогично, бром связывался с мутантным остатком привратника Met-790, чтобы усилить активность по отношению к лекарственно-устойчивому мутанту. Метокси-заместитель в R² в **85e** и **85h**

располагается в направлении Leu-792 и Pro-794 в шарнирной области, улучшая ингибирующий эффект. Метилиндольные и дигидроинденовые группы в R¹ были ориентированы на гидрофобный карман киназы EGFR для контакта с гидрофобными остатками, включая Leu-718, Phe-723 и Val-726.

Соединения **85e** и **85h** имеют уникальную химическую структуру и режим связывания по сравнению с другими ингибиторами тирозинкиназы третьего поколения, описанными в литературе. Недавние исследования показывают, что у пациентов, которых лечили Осимертинибом, наблюдается прогрессирование опухоли и развитие лекарственной устойчивости путем мутации цистеина с менее нуклеофильной сериновой боковой цепью (EGFR-C797S). Таким образом, разработка новых молекул с различными химическими скелетами, такими как **85e** и **85h**, которые могут эффективно ингибировать устойчивую к лекарственным средствам мутацию EGFR, будет иметь высокую клиническую ценность.

Таблица 4 – IC₅₀ соединений **85a-h** по отношению к EGFR^{L858R/T790M} и H1975

Компонент	EGFR ^{L858R/T790M} IC ₅₀ , μM	Клеточная антипролиферативная активность, IC ₅₀ , μM, H1975
71a	0.0002	0.1110
71b	0.0164	0.4510
71c	0.0027	0.1320
71d	0.0278	0.1900
71e	0.0041	0.1840
71f	0.0006	0.1060
71g	0.0277	0.3060
71h	0.0032	0.2760

Авторы работы [58] разработали и синтезировали группу ингибиторов EGFR **98a-h**, содержащих 2-анилинопиримидин в качестве скаффолда (схема 11). Для них были проведены биологические исследования, включающие

ингибирующую киназную активность и антипролиферативную активность в отношении клеток NSCLC.

Соединения **98a-h** были синтезированы, как показано на схеме 11. На первой стадии соединение **86** подвергалось метилированию с использованием йодистого метила с получением **87**. Затем **87** вступало в реакцию аминирования с помощью *N*-метилпиперазина, в результате чего образуется метилфениловый эфир **89**, который подвергали восстановлению с получением анилина **90**. Параллельно проводят реакцию 3-нитрофенола **92** с 2,4,5-трихлорпиримидин **91** с которым он региоселективно связывается в положении 4 с получением арилового эфира **93** при комнатной температуре. Реакцию **90** с **93** осуществляли в присутствии трифторуксусной кислоты с обратным холодильником, получая анилинопиримидин **94**.

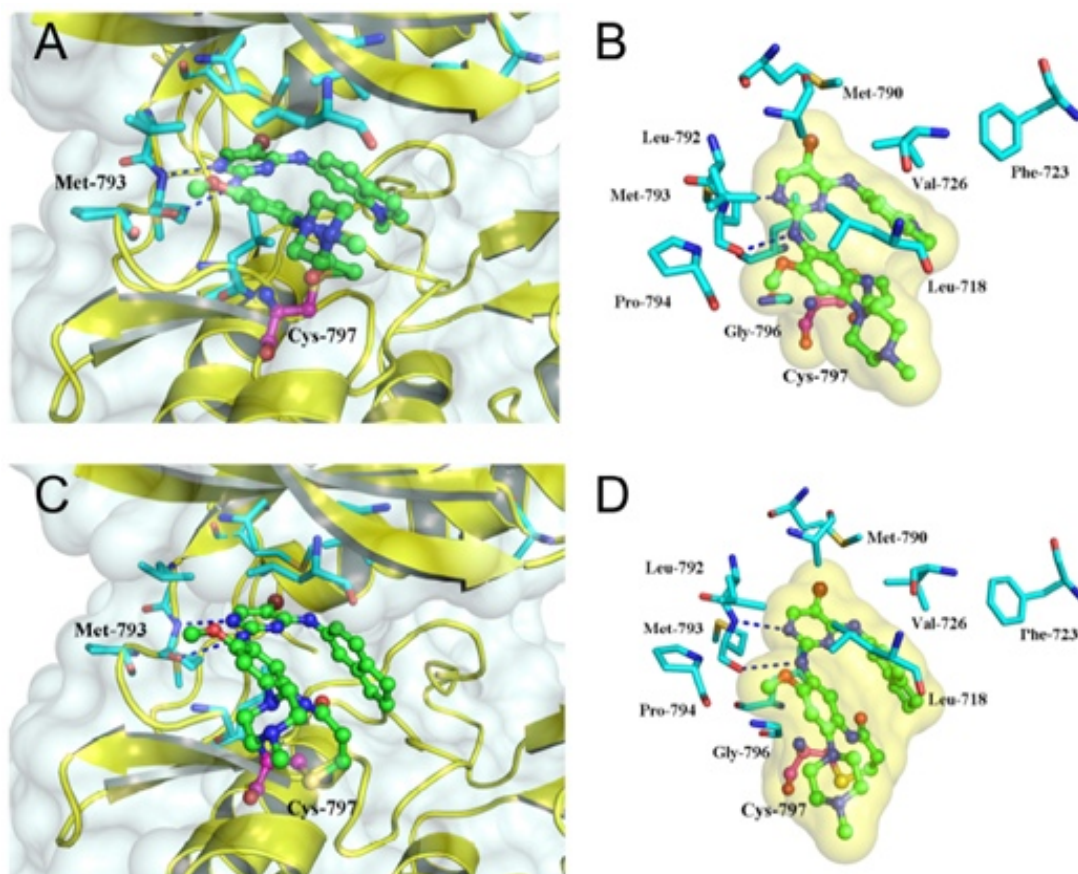


Рисунок 7 – Молекулярный докинг EGFR^{L858R/T790M} в комплексе с **85e** (A, B) и **85h** (C, D)

Нитрогруппу в **94** восстанавливали NH_4Cl с получением ариламина **95**. Ацилирование аниногруппы **95** с использованием акрилоилхлорида давало соединение **97**. Соединения **98a-h** получали посредством реакции присоединения Михаэля с различными вторичными аминами в смеси THF/MeOH с обратным холодильником.

Ингибирующую активность фермента против $\text{EGFR}^{\text{L858R}}$ и $\text{EGFR}^{\text{L858R/T790M}}$ целевых соединений **98a-h** оценивали с использованием анализа FRET на основе Z'-Lyte (таблица 5). Среди них соединения **98a-c** и **98g** проявили селективную ингибирующую активность в отношении $\text{EGFR}^{\text{L858R/T790M}}$ по сравнению с $\text{EGFR}^{\text{L858R}}$. Их способность ингибировать $\text{EGFR}^{\text{L858R/T790M}}$ (IC_{50} 0.184, 0.181, 0.088 и 0.537 μM соответственно) превосходит gefитиниб (IC_{50} 0.941 μM).

Антипролиферативные эффекты **98a-h** на мутации EGFR в клеточных линиях NSCLC, резистентные клетки H1975, несущие $\text{EGFR}^{\text{L858R/T790M}}$ были определены с помощью теста MTT. Как показано в таблице 5, соединения **98a-h** (IC_{50} =0.156 - 1.598 μM) проявляли более сильную антипролиферативную активность против клеток H1975, чем gefитиниб (IC_{50} = 6.917 μM). Среди них соединения **98a-d** продемонстрировали более сильную ингибирующую активность в отношении клеток H1975 (IC_{50} 0.156, 0.166, 0.268 и 0.178 μM соответственно). Возможно, что способность различных 3-аминопропамидов высвобождать акриламидную составляющую в физиологических условиях может коррелировать с их антипролиферативной активностью. Например, **98a** с небольшими вторичными аминными фрагментами показали более сильные ингибирующие эффекты, чем **98f-h** с более крупными гетероциклическими аминами, поскольку они с большей вероятностью будут подвергаться реакции β -элиминирования для высвобождения акриламидного фрагмента.

Таким образом, синтезы ингибиторов EGFR тирозинкиназы, анализ которых представлен в данной работе, являются перспективными для

дальнейшего изучения в связи с достаточно хорошими выходами и простотой выполнения стадий.

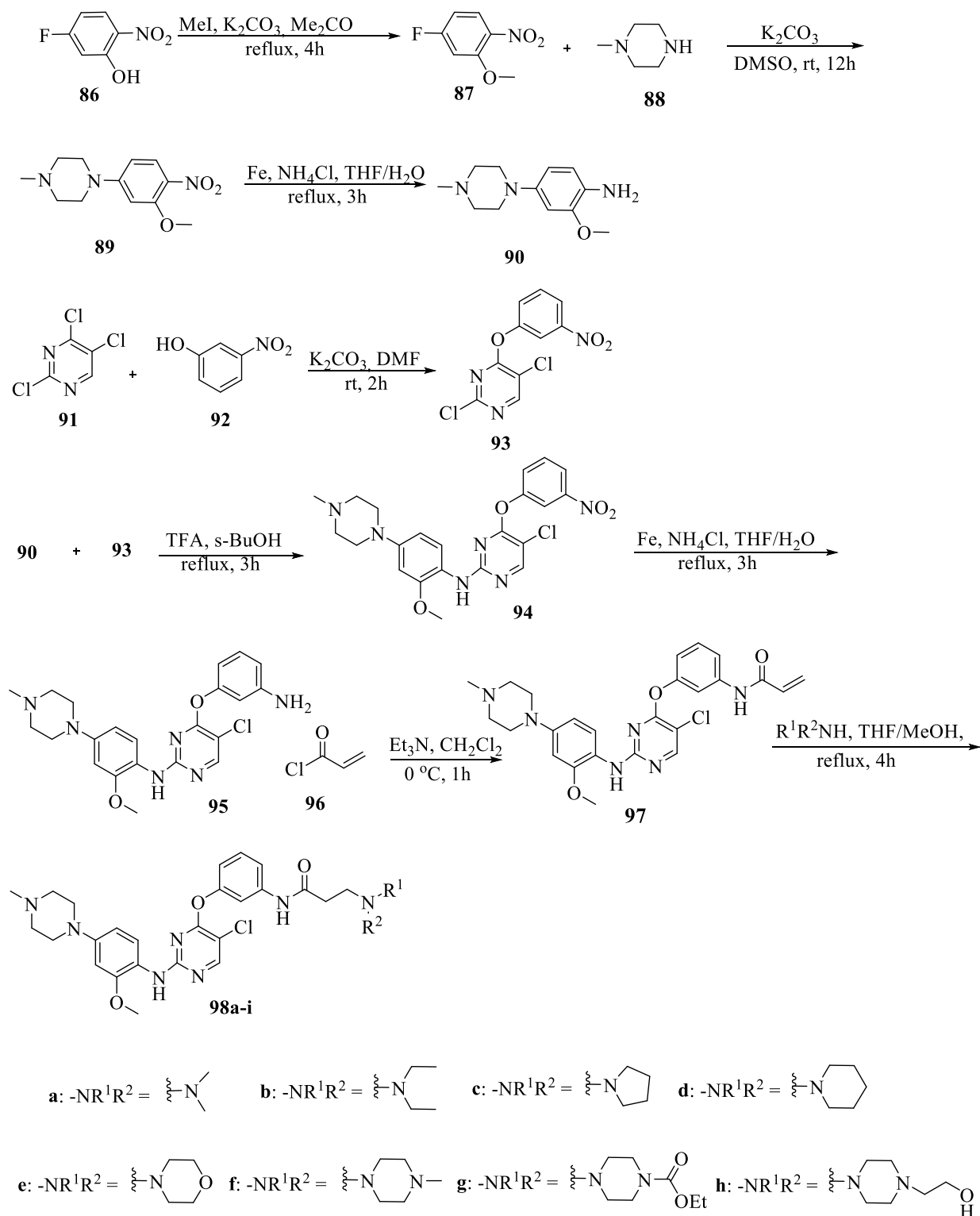


Схема 11 – Синтез ингибиторов EGFR на основе 2-анилинопиримидин

Таблица 5. IC₅₀ соединений **98a-h** по отношению к EGFR^{L858R}, EGFR^{LT} и H1975

Компонент	IC ₅₀ EGFR ^{L858R} , μM	EGFR ^{L858R/T790M} IC ₅₀ , μM	Клеточная антипролиферативная активность, IC ₅₀ , μM, H1975
82a	0.804	0.184	0.156
82b	0.818	0.181	0.166
82c	0.427	0.088	0.268
82d	4.527	2.177	0.178
82e	>10	>10	1.018
82f	10	4.706	1.042
82g	2.385	0.537	1.598
82h	5.866	2.419	0.931

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе анализа тематической литературы было установлено, что нарушение регуляции BCR-ABL и EGFR тирозинкиназ приводит к развитию таких заболеваний как ХМЛ и НМРЛ соответственно, благодаря чему поиск новых ингибиторов BCR-ABL и EGFR тирозинкиназ в настоящее время имеет интерес, поскольку существует проблема развития лекарственной устойчивости организма к уже существующим запатентованным препаратам.

В работе рассмотрены подходы к синтезу различных производных на основе 2-аминопиримидина, являющихся ингибиторами для указанных мишеней. Оценка цитотоксичности по отношению к клеточным линиям K562 (для BCR-ABL тирозинкиназы) и H1975, несущей EGFR^{L858R}, EGFR^{L858R/T790M} (для EGFR тирозинкиназы) позволила выделить наиболее эффективные ингибиторы. С помощью молекулярного докинга исследуемых соединений, проявивших высокую селективность, была оценена степень их комплементарности с активным центром мишеней.

В заключение можно сказать, что среди описанных вновь синтезированных соединений есть те, которые проявляют антипролиферативную активность наравне или выше уже существующих препаратов, что говорит об их перспективности и возможности использования в дальнейших клинических испытаниях.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mohebbi S. Introducing "synthesis route-based hit identification approach" as a tool in medicinal chemistry and its application in investigating the antiproliferative and antimicrobial effects of 2-aminopyrimidine derivatives / S. Mohebbi, F. H. Shirazi, S. H. Sharifnia, F. Cobarfard // *Int. J. Drug Disc.* – 2011. – Vol. 3. – P. 78-87.
2. Королева Е. В. Синтез и применение производных 2-аминопириимидина в качестве ключевых интермедиатов химического синтеза биомолекул / Е. В. Королева, К. Н. Гусак, Ж. В. Игнатович // *Успехи химии.* – 2010. – Т. 79. – №. 8. – С. 720-746.
3. AMN107, a novel aminopyrimidine inhibitor of Bcr-Abl, has in vitro activity against imatinib-resistant chronic myeloid leukemia / M. Golemovic, S. Verstovsek, F. Giles et al. // *Clinical Cancer Research.* – 2005. – Vol. 11. – №. 13. – P. 4941-4947.
4. Гетероциклические соединения / Г. Кеннер, А. Тодд; под. ред. Р. Эльдерфилда, пер. с англ. И. Ф. Луценко, Т. П. Толстой. — Москва: Издательство иностранной литературы, 1960. — 611с.
5. Внутримолекулярное взаимодействие нитрильной и аминогрупп, Бабичев Ф. С., Шаранин Ю. А., Промоенков В. К. и др.; Под ред. Бабичева Ф. С. – Киев : Наук. думка, 1987. – 240 с.
6. Brown D. J. Chemistry of Heterocyclic Compound. Pyrimidines. Vol. 52 / D. J. Brown, R. F. Evans, W.B. Cowden, M.D. Fenn. // Wiley, New York. – 1994. – P. 611.
7. Synthesis and biological evaluation of irreversible EGFR tyrosine kinase inhibitors containing pyrido [3, 4-d] pyrimidine scaffold / H. Zhang, J. Wangb, H.Y. Zhaoa et al. // *Bioorganic & medicinal chemistry.* – 2018. – Vol. 26. – №. 12. – P. 3619-3633.
8. Данченко Е. О. Оценка цитотоксичности фармацевтических субстанций с использованием клеточных культур / Е. О. Данченко // *Имунопатология, аллергология, инфектология.* – 2012. – №. 2. – С. 22.

9. Северин Е. С. Проблемы и перспективы современной противоопухолевой терапии / Е. С. Северин, А. В. Родина // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 43-64.
10. Tweedale A. C. Uses of ‘Good Laboratory Practices’ by regulated industry and agencies, and the safety of bisphenol A / A. C. Tweedale // Journal of Epidemiology & Community Health. – 2011. – Т. 65. – №. 6. – С. 475-476.
11. Романова С. Г. Синтез, изучение цитотоксических свойств и гемолитической активности катионных глицеролипидов алкильного типа / С. Г. Романова, Г. А. Серебренникова, А. А. Штиль //Тонкие химические технологии. – 2019. – Т. 3. – №. 5. – С. 104-108.
12. Wan H. A study of the reproducibility of the MTT test / H. Wan, R. Williams, P. Doherty, D.F. Williams // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 1994. – Vol. 5. – №. 3. – P. 154-159.
13. Ciapetti G. In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay / G. Ciapetti, E. Cenni, L. Pratelli, A. Pizzoferrato // Biomaterials. – 1993. – Vol. 14. – №. 5. – P. 359-364.
14. Черепович В. С. Оптимизация критических параметров МТТ-теста для оценки клеточной и лекарственной цитотоксичности / В. С. Черепович, Е. В. Волочник, Е. В. Антоненко, Е. С. Лоткова, Т. В. Романовская, В. В. Гринев. – 2006.
15. Hubbard S. R. Protein tyrosine kinase structure and function / S.R. Hubbard, J.H. Till. // Annual review of biochemistry – 2000. – Vol. 69. – №. 1. – P. 373-398.
16. Pawson T. Regulation and targets of receptor tyrosine kinases / T. Pawson // European journal of cancer. – 2002. – Vol. 38. – P. S3-S10.
17. Arteaga C. L. The epidermal growth factor receptor: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia / C. L. Arteaga // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2001. – V. 19. – №. 18 Suppl. – P. 32S-40S.

18. Arteaga C. L. Tyrosine kinase inhibitors—ZD1839 (Iressa) / C. L. Arteaga, D. H. Johnson // *Current opinion in oncology*. – 2001. – Vol. 13. – №. 6. – P. 491-498.
19. Daub H. Strategies to overcome resistance to targeted protein kinase inhibitors / H. Daub, K. Specht, A. Ullrich // *Nature reviews Drug discovery*. – 2004. – Vol. 3. – №. 12. – P. 1001-1010.
20. Blume-Jensen P. Oncogenic kinase signaling / P. Blume-Jensen, T. Hunter // *Nature*. – 2001. – Vol. 411. – №. 6835. – P. 355-365.
21. Cohen P. Protein kinases—the major drug targets of the twenty-first century / P. Cohen // *Nature reviews Drug discovery*. – 2002. – T. 1. – №. 4. – C. 309-315.
22. Dancey J. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment / J. Dancey, E. A. Sausville // *Nature reviews Drug discovery*. – 2003. – Vol. 2. – №. 4. – P. 296-313.
23. Gschwind A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy / A. Gschwind, O. M. Fischer, A. Ullrich // *Nature Reviews Cancer*. – 2004. – Vol. 4. – №. 5. – P. 361-370.
24. Arora A. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy / A. Arora, E. M. Scholar // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2005. – Vol. 315. – №. 3. – P. 971-979.
25. Pediatric phase I trial and pharmacokinetic study of the platelet-derived growth factor (PDGF) receptor pathway inhibitor SU101 / P. C. Adamson, S. M. Blaney, B. C. Widemann et al. // *Cancer chemotherapy and pharmacology*. – 2004. – Vol. 53. – №. 6. – P. 482-488.
26. Ahmad T. BAY 43-9006 in patients with advanced melanoma: The Royal Marsden experience / T. Ahmad, R. Marais, L. Pyle, M. James // *Journal of Clinical Oncology*. – 2004. – Vol. 22. – №. 14 – P. 7506-7506.
27. Alessi P. Molecular targeting of angiogenesis / P. Alessi, C. Ebbinghaus, D. Neri // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. – 2004. – Vol. 1654. – №. 1. – P. 39-49.

28. Зейфман А. А. Роль селективности ингибиторов тирозинкиназ в развитии побочных эффектов при терапии хронического миелолейкоза / А.А. Зейфман, Е.Ю. Чельшева, А.Г. Туркина, Г.Г. Чиров // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2014. – Т. 7. – №. 1.
29. Хвастунов Р. А. Таргетная терапия в онкологии / Р.А. Хвастунов, Г.В. Скрыпникова, А.А. Усачев // Лекарственный вестник. – 2014. – Т. 8. – №. 4. – С. 3-10.
30. Кузнецов О. Е. Определение мРНК химерного гена BCR-ABL при хроническом миелолейкозе / Е.О. Кузнецов, И.А. Курстак, М.В. Ершова, С.А. Ляликов // Медицинские новости. – 2013. – №. 9. – С. 75-76.
31. Блохин Д.Ю. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: факторы роста, ангиогенеза и апоптоза / Д.Ю. Блохин, Е.Ф. Чмутин, П.К. Иванов // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10. – №. 3. – С. 17-24.
32. Шаназаров Н. А. Роль эпидермального фактора роста и его рецептора в канцерогенезе: молекулярные механизмы их действия / Н.А. Шаназаров, А.Х. Сабиров, С.М. Сироткина // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8. – №. 4. – С. 85-90.
33. Костылева О. И. Клиническое значение рецепторов эпидермального фактора роста в злокачественных опухолях / О.И. Костылева, Е.С. Герштейн, Р.Р. Ажигова, Д.Э. Галдава, Н.А. Огнерубов // Вестник российских университетов. Математика. – 2014. – Т. 19. – №. 1. – С. 21-35.
34. Hsuan J. J. Oncogene regulation by growth factors / J.J. Hsuan // Anticancer research. – 1993. – Vol. 13. – №. 6B. – P. 2521-2532.
35. Mendelsohn J. Antireceptor Monoclonal Antibodies' // Biology of and Novel Therapeutic Approaches for Epithelial Cancers of the Aerodigestive Tract: Proceedings of a Conference Held at Steamboat Springs, Colorado, April 1-7, 1991. – National Cancer Institute, 1992. – №. 13. – P. 125.

36. Chan C. T. Differential sensitivities of trastuzumab (Herceptin®)-resistant human breast cancer cells to phosphoinositide-3 kinase (PI-3K) and epidermal growth factor receptor (EGFR) kinase inhibitors / C. T. Chan, M.Z. Metz, S.E. Kane // *Breast cancer research and treatment*. – 2005. – Vol. 91. – №. 2. – P. 187-201.
37. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy / J.G. Paez, P.A. Jänne, J.C. Lee et al. // *Science*. – 2004. – Vol. 304. – №. 5676. – P. 1497-1500.
38. Lê L.H. Epidermal growth factor receptor expression in anal canal carcinoma / L.H. Lê, R. Chetty, M.J. Moore // *American journal of clinical pathology*. – 2005. – Vol. 124. – №. 1. – P. 20-23.
39. A facile total synthesis of imatinib base and its analogues / Y. F. Liu, C. L. Wang, Y.-J. Bai et al. // *Organic Process Research & Development*. – 2008. – Vol. 12. – №. 3. – P. 490-495.
40. Imatinib mesylate (Gleevec®) enhances mature osteoclast apoptosis and suppresses osteoclast bone resorbing activity / I. E. H. Dib, M. Gallet, R. Mentaverri et al. // *European journal of pharmacology*. – 2006. – Vol. 551. – №. 1-3. – P. 27-33.
41. Acid– base profiling of imatinib (gleevec) and its fragments / Z. Szakács, S. Béni, Z. Varga et al. // *Journal of medicinal chemistry*. – 2005. – Vol. 48. – №. 1. – P. 249-255.
42. Pat. WO2004/108699A1 USA. Process for the preparation of the anti-cancer drug imatinib and its analogues /Kompella A., Bhujanga Rao A. K. S., Venkaiah Chowdary N. publication date 16.12.2004.
43. Larsen J. W. Mechanism of the carbon catalyzed reduction of nitrobenzene by hydrazine / J. W. Larsen, M. Freund, K. Y. Kim, M. Sidovar, J. L. Stuart // *Carbon*. – 2000. – Vol. 38. – №. 5. – P. 655-661.
44. The biology of chronic myeloid leukemia / S. Faderl, M. Talpaz, Z. Estrov et al. // *New England Journal of Medicine*. – 1999. – Vol. 341. – №. 3. – P. 164-172.

45. Kantarjian H. M. Imatinib mesylate for Philadelphia chromosome-positive, chronic-phase myeloid leukemia after failure of interferon- α : follow-up results / H. M. Kantarjian // *Clinical Cancer Research*. – 2002. – Vol. 8. – №. 7. – P. 2177-2187.
46. Capdeville R. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug / R. Capdeville, E. Buchdunger, J. Zimmermann, A. Matter // *Nature reviews Drug discovery*. – 2002. – Vol. 1. – №. 7. – P. 493-502.
47. Discovery of 2-((3-Amino-4-methylphenyl) amino)-N-(2-methyl-5-(3-(trifluoromethyl) benzamido) phenyl)-4-(methylamino) pyrimidine-5-carboxamide (CHMFL-ABL-053) as a Potent, Selective, and Orally Available BCR-ABL/SRC/p38 Kinase Inhibitor for Chronic Myeloid Leukemia / X. Liang, X. Liu, B. Wang et al. // *Journal of medicinal chemistry*. – 2016. – Vol. 59. – №. 5. – P. 1984-2004.
48. Muhammad S. A. Novel phenothiazine-based chalcone derivatives with various N-substituted rhodanines induce growth inhibition followed by apoptosis in leukemia cells / S.A. Muhammad, A. Thangamani, S. Ravi // *Research on Chemical Intermediates*. – 2017. – Vol. 43. – №. 10. – P. 5637-5664.
49. Saranya A. V. Synthesis of 5-phenyl-3-(10H-phenothiazinyl)- Δ 2-cyclohexen-1-ones by conventional and microwave-assisted methods and their antifungal activity / A.V. Saranya, S. Ravi // *Research on Chemical Intermediates*. – 2014. – Vol. 40. – №. 8. – P. 3085-3093.
50. Abdel-Wahab B. F. Design and synthesis of new 4-pyrazolin-3-yl-1,2,3-triazoles and 1,2,3-triazol-4-yl-pyrazolin-1-ylthiazoles as potential antimicrobial agents / B.F. Abdel-Wahab, E. Abdel-Latif, H.A. Mohamed, G.E.A. Awad // *European journal of medicinal chemistry*. – 2012. – Vol. 52. – P. 263-268.
51. Design and synthesis of 3-substituted benzamide derivatives as Bcr-Abl kinase inhibitors / T. Asaki, Y. Sugiyama, T. Hamamoto et al. // *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. – 2006. – Vol. 16. – №. 5. – P. 1421-1425.

52. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Pyridin-3-yl pyrimidines as Potent Bcr-Abl Inhibitors / X. Pan, J. Dong, H. Gao et al. // *Chemical biology & drug design*. – 2014. – Vol. 83. – №. 5. – P. 592-599.
53. N-[2-Methyl-5-(triazol-1-yl) phenyl] pyrimidin-2-amine as a Scaffold for the Synthesis of Inhibitors of Bcr-Abl / F. Arioli, S. Borrelli, F. Colombo et al. // *ChemMedChem*. – 2011. – Vol. 6. – №. 11. – P. 2009-2018.
54. Basu D. Structure-based design and synthesis of covalent-reversible inhibitors to overcome drug resistance in EGFR / D. Basu, A.U. Richters, D. Rauh // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2015. – Vol. 23. – №. 12. – P. 2767-2780.
55. 2, 4-Diarylamino-pyrimidines as kinase inhibitors co-targeting IGF₁R and EGFR^{L858R/T790M} / S. Chan, K. Han, R. Qu et al. // *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. – 2015. – Vol. 25. – №. 19. – P. 4277-4281.
56. Design, synthesis, SAR discussion, in vitro and in vivo evaluation of novel selective EGFR modulator to inhibit L858R/T790M double mutants / H. Zhang, W. Wu, C. Feng et al. // *European journal of medicinal chemistry*. – 2017. – Vol. 135. – P. 12-23.
57. Structure-based design and synthesis of 2, 4-diaminopyrimidines as EGFR^{L858R/T790M} selective inhibitors for NSCLC / L. Chena, W. Fu, C. Feng et al. // *European journal of medicinal chemistry*. – 2017. – Vol. 140. – P. 510-527.
58. Synthesis and evaluation of 2-anilinopyrimidines bearing 3-aminopropamides as potential epidermal growth factor receptor inhibitors / C. Han, L. Wan, H. Ji et al. // *European journal of medicinal chemistry*. – 2014. – Vol. 77. – P. 75-83.