

РАЗРАБОТКА НОВЫХ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ ИМАТИНИБА

Фарина А.В., Антонов П.А., Калиниченко Е.Н.

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»
220141, ул. Академика В.Ф.Купревича, 5/2, г. Минск, Республика Беларусь

Существенная роль BCR-ABL-тирозинкиназы в трансформации клеток открыла новые возможности для создания направленной молекулярной терапии. Наиболее ярким примером применения таргетных препаратов считают использование иматиниб мезилата, селективного ингибитора тирозинкиназы, предназначенного для терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) и ряда солидных опухолей. Тирозинкиназа является ферментом, катализирующим перенос фосфатного остатка от АТФ на тирозиновый остаток специфических клеточных белков-мишеней и одним из важнейших звеньев в системе передачи сигналов в клетке.

В одном из медицинских проектов, направленном на поиск эффективного ингибитора протеинкиназ C-семейства, был произведен скрининг производных аминопиримидина. Впоследствии, для 2-фениламинопиримидина (2-ФАП) была обнаружена способность ингибировать клеточное аутофосфорилирование ТФР-рецепторов в наномолярных концентрациях. Фармакофором полученного класса соединений, который непосредственно участвует в ингибировании ТФР-рецептора, является фениламинопиримидовый фрагмент с пиридином в 4-ом положении приимидиновой системы [1]. Несмотря на то, что АТФ-связывающие центры тирозинкиназы и серин/треонинкиназы имеют схожую структуру, исследования показали, что даже те небольшие отличия в последовательности аминокислотных остатков этих участков, являются достаточными для создания соединений обладающих высокой селективностью по отношению к отдельным протеинкиназам [2]. Это было вызвано тем, что фосфатный остаток АТФ образует довольно слабые связи с активным центром тирозинкиназы, в то время как ингибитор образует более прочные связи с конкретными аминокислотными остатками, которые должны строго соответствовать определенной топологии.

Изучение воздействия 2-ФАП на клеточных культурах ХМЛ *in vitro* показало, что 2-ФАП имеет недостаточную активность для полного подавления активности BCR-ABL-киназы, а так же плохую селективность: кроме целевой тирозинкиназы, 2-ФАП ингибировал еще и серин/треонинкиназу [3]. Для устранения этих недостатков был синтезирован ряд новых производных 2-ФАП, структурные особенности которых должны были улучшить фармакологические свойства последнего. Высокая селективность и биодоступность производных 2-ФАП позволило провести изучение противоопухолевой активности большого ряда аналогов 2-ФАП.

На примере проделанного скрининга можно проследить эволюцию создания иматиниба. Так, добавление 3-пиридилльной группы (**A**) в положение 4 пиримидина значительно усилило клеточную активность препарата; затем активность взаимодействия с тирозинкиназой была расширена за счет введения бензамидной группы (**B**) в фенильное кольцо (рис. 1). Ключевая модификация структуры, которая привела к потере ингибиторной активности по отношению к серин/треонинкиназе и одновременно сохранила и значительно повысила активность ингибирования BCR-ABL-киназы, заключалась во введении в положение 4 фенильного кольца метильной группы (**C**). Так как первая серия соединений обладала низкой растворимостью в воде и плохой биодоступностью при пероральном приеме, была введена высокополярная боковая цепь N-метилпиперазина (**D**), которая заметно улучшило растворимость и биодоступность (рис. 1).

Иматиниб был выбран в качестве наиболее перспективного соединения для клинического применения, так как он показал самую высокую селективность среди всех производных 2-ФАП в отношении ингибирования роста BCR-ABL-экспрессирующих клеток. Доклинические исследования были многообещающими, но результаты клинических испытаний намного превзошли ожидания. Результаты терапии хронической фазы были

впечатляющими: цитогенетический ответ для пациентов, которые потерпели неудачу при лечении интерфероном, составил 40%, а для недавно диагностированных пациентов – более 80% [4].

Хотя иматиниб и является эталонным препаратом своей группы, тем не менее, он не лишен ряда недостатков: развитие резистентности в ходе терапии, изначальная нечувствительность к лечению, непереносимость препарата и другие побочные действия, которые зачастую делают невозможным применение этого средства для большого числа пациентов. Таким образом, разработка новых высокоэффективных ингибиторов тирозинкиназы, являющихся структурными аналогами иматиниба, является важной задачей для исследователей.

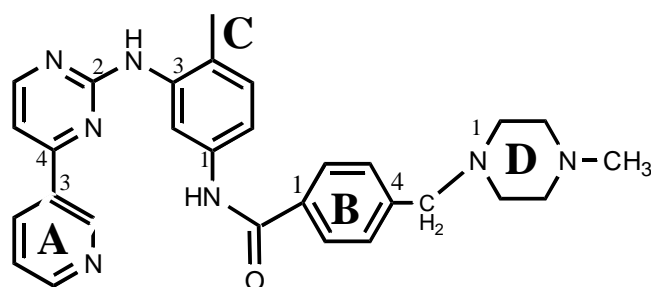
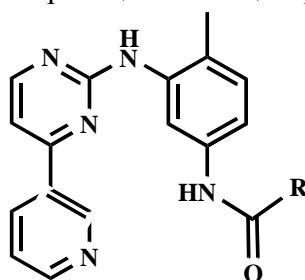


Рисунок 1. Путь оптимизации 2-ФАП к иматинибу

Целью данной работе является разработка и синтез новых структурных аналогов иматиниба, которые, за счет внедрения новых уникальных фармакофорных групп, могут обладать улучшенными фармакологическими свойствами.

Реинжиниринг иматиниба был начат с основного фармакофора N-(2-метилфенил)-4-(3-пиридинил)-2-пиримидинамина. Путем добавления к нему различных функциональных фрагментов было разработано 6 новых структур: 2-гидрокси-N-(4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)бензамид (**I**), 2-((4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)карбамоил)фенил ацетат (**II**), 4-бром-N-(4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)-бензамид (**III**), 2-фтор-N-(4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)бензамид(**IV**), 3-фтор-N-(4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)бензамид(**V**), 4-фтор-N-(4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)фенил)бензамид (**VI**) (рисунок 2).

В соединение **I** к основному фармакофору был добавлен фрагмент салициловой кислоты, имеющий карбонильную и гидроксильную группы. Эти группы могут образовывать водородные связи с аминокислотными остатками в активном центре тирозинкиназы и существенно увеличивать эффективность ее ингибирования. Из анализа трехмерной структуры BCR-ABL, можно сделать предположение, что карбонильная группа будет образовывать водородную связь акцепторного типа с аминокислотным остатком Asp381, а гидроксильная группа может образовывать водородную связь донорного типа с Phe382 или Gly383. Также соединение **I** служит основой для получения ряда аналогов, т.к. гидроксильная группа является хорошим реакционным центром.



I, R = (*o*-OH)C₆H₄; **II**, R = (*o*-CH₃C(O)O)C₆H₄; **III**, R = (*n*-Br)C₆H₄; **IV**, R = (*o*-F)C₆H₄;
V, R = (*m*-F)C₆H₄; **VI**, R = (*n*-F)C₆H₄

Рисунок 2. Новые структурные аналоги иматиниба

В структуре **II** дополнительным фармакофором является фрагмент ацетилсалициловой кислоты, который кроме карбонильной группы, имеет сложноэфирный участок, в котором кислород может выступать дополнительным центром образования водородной связи акцепторного типа с Gly383.

Соединения **III**, **IV**, **V**, **VI** интересны тем, что атомы галогенов обладают высокой электроотрицательностью и небольшим атомным радиусом. Высокая электроотрицательность придает концевому участку молекул полярные свойства, что значительно улучшает растворимость данных веществ в воде, практически не влияя на их липофильные свойства. Небольшой атомный радиус не оказывает существенного влияния на предпочтительную конфигурацию молекулы и, тем самым, позволяет сохранить пространственные особенности, которые являются важным фактором в процессе ингибирования BCR-ABL-киназы.

Новизна соединений **I-VI** была проверена при помощи структурного поиска по патентным базам данных химических веществ «*Reaxys*» на материальной базе библиотеке НАН РБ им. Якуба Коласа. Данные структуры не зарегистрированы ни в одной из патентных баз данных и являются новыми.

В качестве общей стратегии синтеза этих соединений была выбрана двухстадийная схема. На первом этапе получали с высоким выходом хлорангидриды карбоновых кислот в реакции обмена между соответствующей кислотой и тионилхлоридом при катализе ДМФА, которые были дополнительно очищены. На второй стадии, полученные хлорангидриды вводили в реакцию аминолиза с 6-метил-N¹-(4-(пиридин-3-ил) пиридин-2-ил)бензол-1,3-диамином с получением целевого соединения. Выходы соединений **I – VI** на 2-х стадиях составили 65-70%.

Реакции проводились при комнатной температуре. Очистка продуктов осуществлялась разделением веществ колоночной хроматографией на силикагеле 60 Н (ASTM, Merck, Darmstadt, Германия). Структуры полученных соединений подтверждены методом ¹H ЯМР-спектроскопии и другими физико-химическими данными.

Синтезировано 6 новых веществ, не зарегистрированных ни в одной из патентных баз данных химических соединений.

Литература

1. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, et al. Phenylamino-pyrimidine (PAP) derivatives: a new class of potent and highly selective PDGF-receptor autophosphorylation inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 1996;6:1221-1226.33.
2. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, Meyer T, Lydon NB. Potent and selective inhibitors of the Abl kinase - phenylamino-pyrimidine (PAP) derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. 1997;7:187-192.
3. Buchdunger E, Zimmermann J, Mett H, et al. Inhibition of theAbl protein-tyrosine kinase in vitro and in vivo by a 2-phenylaminopyrimidine derivative. *Cancer Res*. 1996;56:100-104.
4. Hagop M. Kantarjian, Moshe Talpaz, Susan O'Brien, et al. Survival benefit with imatinib mesylate versus interferon- α -based regimens in newly diagnosed chronic-phase chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2006,108(6)1835-1840.