

## СИНТЕЗ НОВЫХ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ НИЛОТИНИБА

Фарина А.В., Авдошко О.В., Калиниченко Е.Н.

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

Нилотиниб является новым высокоселективным ингибитором тирозинкиназы, который был разработан для устранения ряда нежелательных свойств иматиниба, в первую очередь связанных с непереносимостью некоторыми пациентами иматиниба и развития резистентности к препарату на хронической и острой стадиях хронического миелоцитарного лейкоза (ХМЛ).

Нилотиниб был получен в результате применения рациональной программы разработки лекарственных средств, в которой структура иматиниба была преобразована таким образом, что появилась возможность включить элементы, предназначенные для улучшения фармакологического профиля препарата. Для этих целей использовался динамический рентгеноструктурный анализ механизма ингибирования BCR-ABL тирозинкиназы иматинибом [1]. Этот метод позволил установить, что при ингибировании АТФ-связывающего центра BCR-ABL киназы, фармакофор иматиниба [4-(3-пиридинил)-2-пиримидинил]анилин образует прочные связи с аминокислотными остатками Met318, Phe317 и Thr315, в то время как оставшаяся часть молекулы, находящаяся за аминокислотным остатком Thr315, так же может участвовать в образовании дополнительных связей с аминокислотными остатками не входящими в активный центр. Эти остатки в значительной степени липофильные, и требуют особой конформации от соединения для образования устойчивых связей с ним. Таким образом, ключевая стратегия дизайна нилотиниба заключалась в замене полярного фармакофора 4-(метилпиперазинил)-толуамида в иматинибе на фармакофор с меньшим количеством полярных анилидов, исходя из модели, в которой появлялась возможность создать дополнительные прочные водородные связи с аминокислотными остатками Glu286 и Asp381.

По своим химическим особенностям, нилотиниб обладает рядом важных различий с иматинибом, что приводит к существенным различиям в том, как две молекулы взаимодействуют с активным центром BCR-ABL киназы. В качестве одной из ключевых функциональных особенностей иматиниба выступает 1,3-диаминобензольная группа, которая крайне важна для образования водородных связей донорного типа с боковыми цепями Thr315 и Glu286, тогда как нилотиниб включает в себя 3-аминобензоильную группу, которая образует водородную связь донорного типа с боковой цепью гидроксила Thr315 и водородную связь акцепторного типа с аминогруппой из Asp381 [2].

Иматиниб имеет 4-метил-1-пиперазинильный функциональный участок, который участвует в образовании водородной связи с Pe360 и His361, а также придает молекуле в целом превосходные свойства растворимости в воде. Протонирование в водной среде при физиологическом значении рН третичной аминогруппы, является ключевым свойством иматиниба, которое отсутствует в нилотинибе.

В отличие от иматиниба, чтобы компенсировать удаление 4-метил-1-пиперазина, в структуру нилотиниба были включены 3-метилимидазольная и трифторметильная группы, которые обеспечивают важные взаимодействия с BCR-ABL киназой.

При проведении сравнительной оценки эффективности ингибирования тирозинкиназ иматинибом и нилотинибом, можно заметить, что они обладают схожими профилями действия, но уровень селективности ингибирования BCR-ABL для нилотиниба значительно выше. Это важно, так как степень селективности ингибиторов тирозинкиназы занимает центральное место в концепции целевой терапии рака. Таким образом, сведение к минимуму побочных эффектов у препаратов для терапии ХМЛ стало необходимым условием для достижения положительных результатов в лечении онкозаболеваний.

Как видно из вышесказанного, хотя нилотиниб и имеет аналогичный профиль селективности к протеинкиназе BCR-ABL, как и иматиниб, тем не менее, он является более мощным и селективным ингибитором этой киназы за счет образования дополнительных водородных связей, а так же показал меньшее количество побочных эффектов в доклинических испытаниях.

Еще одним из представителей ингибиторов тирозинкиназ является сорафениб. Изменение фармакофора нилотиниба – [4-(3-пиридинил)-2-пиримидинил]анилина (анилинпиримидинового кольца) – привело к изменению механизма действия сорафениба, который проявил себя как мультикиназный ингибитор. При этом показано, что он подавляет как внутриклеточные киназы (серин/треонинкиназы *c-CRAF*, *BRAF* и мутантную *BRAF*), так и расположенные на поверхности клеток рецепторные тирозинкиназы. В клинических испытаниях выявлено, что сорафениб подавляет рост солидных опухолей и применяется при почечно-клеточном и печёночно-клеточном раке у человека, тогда как иматиниб и нилотиниб показаны при раке крови.

**Задачи исследования.** Анализ литературы по данному вопросу показал, что в настоящее время не существует препаратов направленной терапии ХМЛ, которые бы обладали сразу и высокой селективностью, и отсутствием серьезных побочных действий. Поэтому необходимость создания высокоэффективных препаратов для лечения ХМЛ остается актуальной и сегодня.

Целью данной работы является синтез новых структурных аналогов нилотиниба, которые включают замену анилинпиримидинового кольца на различные функциональные фрагменты при сохранении 3-метилимидазольной и трифторметильной групп, которые обеспечивают важное взаимодействие с BCR-ABL киназой.

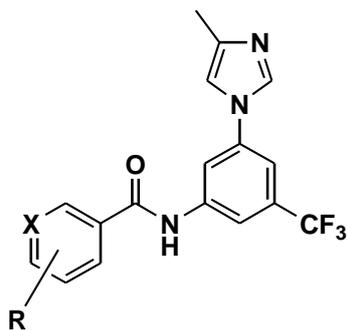
**Материалы и методы.** Для получения целевых соединений был использован двухстадийный метод, с промежуточным синтезом соответствующих хлорангидридов карбоновых кислот в реакции обмена между соответствующей кислотой и тионилхлоридом при катализе ДМФА. На второй стадии, полученные хлорангидриды вводили в реакцию аминлиза с 3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)анилином с получением целевого соединения. Реакции проводились при комнатной температуре в случае соединений **I**, **III** и **V**, а для соединений **II** и **IV** требовалось нагревание до 85 °С. Очистка продуктов осуществлялась разделением веществ колоночной хроматографией на силикагеле 60 Н (ASTM, Merck, Darmstadt, Германия). Большинство реакций имело количественный выход, однако в случае с ацетилсалициловой кислотой наблюдалось образование побочных продуктов. Для очистки целевого продукта был применён метод колоночной хроматографии. Структуры полученных соединений подтверждены методом 1H ЯМР-спектроскопии и другими физико-химическими данными.

#### **Результаты и обсуждение.**

Нилотиниб является препаратом нового поколения для направленной терапии, который очень хорошо зарекомендовал себя в предклинических испытаниях, но только в ходе обширного терапевтического применения был обнаружен ряд существенных побочных эффектов. Среди них встречаются характерные для всех противораковых препаратов побочные эффекты: головная боль, усталость, тошнота, рвота, диарея, запоры, мышечная и суставные боли, сыпь, гриппоподобные симптомы и снижение количества клеток крови. Менее типичные и гораздо более опасные побочные эффекты нилотиниба проявляются со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной системы. Так, препарат оказывает сильное влияние на сердечнососудистую систему, вызывая гипертонию, различные виды аритмий и сильно увеличивает QT интервал, тем самым повышая риск развития фатальных нарушений ритма, в том числе полиморфной желудочковой тахикардии, которая несет непосредственную угрозу жизни пациента [3].

Поэтому, разработка новых высокоэффективных ингибиторов тирозинкиназы, являющихся структурными аналогами нилотиниба, обладающими пониженной токсичностью, является важной задачей для исследователей.

Реинжиниринг нилотиниба был начат с добавления к фармакофору 3-(4-метил-1Н-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)анилину различных функциональных фрагментов (рисунок 1).



**I**, R = *n*-Br, X=C; **II**, R = H, X=N; **III**, R = *n*-OCH<sub>3</sub>, X=C;  
**IV**, R = (*n*-CH<sub>2</sub>-(C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)-*n*-CH<sub>2</sub>), X=C; **V**, R = *o*-CH<sub>3</sub>C(O)O, X=C

**Рисунок 1.** Новые структурные аналоги нилотиниба

В соединение **I** к основному фармакофору был добавлен фрагмент *n*-бром-бензойной кислоты. Высокая электроотрицательность может придать концевому участку молекулы полярные свойства, а небольшой атомный радиус не окажет существенного влияния на предпочтительную конфигурацию молекулы и, тем самым, позволит сохранить пространственные особенности, которые являются важным фактором в процессе ингибирования BCR-ABL-киназы.

Фрагмент никотиновой кислоты в соединении **II** обладает топологической компактностью и небольшой полярностью, что может улучшить стерические факторы взаимодействия ингибитора с целевым ферментом.

Из анализа трехмерной структуры BCR-ABL, можно сделать предположение, что атом азота полярного фармакофора 4-(метилпиперазинил)-толуамида в структуре **IV** будет образовывать водородную связь акцепторного типа с аминокислотными остатками His361 (COOH) и Ile360 (COOH).

В структуре **V** 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.

**Заключение.** Синтезировано 5 новых структурных аналогов нилотиниба, представляющих интерес для углубленного изучения их биологической активности.

#### Литература

1. Hu Y, Liu Y, Pelletier S, et al. Requirement of Src kinases Lyn, Hck and Fgr for BCR-ABL1-induced B-lymphoblastic leukemia but not chronic myeloid leukemia. *Nat Genet.* 2004;36:453-461.
2. Cheeseright, T.; Mackey, M.; Rose, S.; Vinter, A. J. *Chem. Inf. Model.* 2006, 46, 665.
3. Реутов О.А., Курц А.Л., Бутин К.П. *Органическая химия.* М.: «БИНОМ». 2004. С. 198-199.