



КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНКИНАЗЫ BCR-ABL С МУТАЦИЕЙ T315I

© 2020 г. А. Н. Федоркевич*, #, О. Л. Шарко*, В. В. Шманай*

*Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси,
Беларусь, 220072, Минск, ул. Сурганова, 13

Поступила в редакцию 10.10.2019 г.

После доработки 29.10.2019 г.

Принята к публикации 14.11.2019 г.

Методом компьютерного моделирования проведен сравнительный анализ взаимодействия химерного белка BCR-ABL — нормального типа и с мутацией T315I, с известными ингибиторами, а также с предложенными соединениями, потенциально способными к ингибированию мутантного белка. Показано, что предложенные соединения встраиваются в структуру белка с сохранением основных водородных связей и межмолекулярных взаимодействий. Осуществлен синтез двух структур, содержащих пиррольный цикл, которые оказались наиболее перспективными на основании результатов компьютерного моделирования.

Ключевые слова: ингибиторы тирозинкиназы BCR-ABL, AutoDock Vina, производные пиррола

DOI: 10.31857/S0132342320020086

ВВЕДЕНИЕ

Тирозинкиназа BCR-ABL — гибридный белок, продукт гибридного гена *Bcr-Abl1*, формирующегося в результате реципрокной транслокации между хромосомами 9 и 22 (филадельфийская хромосома). Белок BCR-ABL является конститутивно активной тирозинкиназой, ответственной за онкогенную трансформацию клеток онкобелком. Постоянная активность этой тирозинкиназы делает клетку нечувствительной к воздействию факторов роста и вызывает ее избыточную пролиферацию. Формирование белка BCR-ABL провоцирует 95% случаев хронического миелолейкоза и 20–50% случаев острого В-лимфобластного лейкоза взрослых [1].

Хронический миелоидный лейкоз поддается лечению таргетной (целевой) терапией ингибиторами тирозинкиназ: иматинибом, нилотинибом, дазатинибом и др. Терапия значительно улучшает показатели выживаемости. Однако использование данных препаратов со временем приводит к появлению резистентности у пациентов вследствие развития точечных мутаций в BCR-ABL-белке. Появление мутации T315I в тирозинкиназе BCR-ABL приводит к потере ключевой водородной связи между белком и ингибито-

ром и становится критичным для связывания белка с большинством известных ингибиторов. В настоящее время ведется поиск эффективных препаратов, которые способны ингибировать активность белка с наличием мутации T315I [2].

В работе представлены результаты моделирования взаимодействия белка BCR-ABL, в том числе с мутацией T315I, с основными известными ингибиторами тирозинкиназ, а также с предложенными новыми структурами. Были синтезированы перспективные для дальнейшего исследования соединения с наличием фрагмента пиррола в структуре.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым специфическим ингибитором тирозинкиназы BCR-ABL, прошедшим клинические испытания и в настоящее время используемым для лечения больных хроническим миелоидным лейкозом, является иматиниб (рис. 1).

Иматиниб связывается с неактивной конформацией белка [3] и образует при этом 6 водородных связей и большое число ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Ключевыми для связывания с ингибитором являются в белке остатки Met-318, Thr-315, Glu-286, Asp-381 (рис. 2) [4].

Появление мутации T315I ведет к потере одной из основных водородных связей между белком и молекулой иматиниба из-за исчезновения ОН-группы треонина. Также при появлении мутации возни-

Сокращения: DMF-DMA — диметилформамида диметил-ацеталь; DMAP — 4-диметиламинопиридин; DCC — дициклогексилкарбодиимид; ПЭ — петролейный эфир.

Автор для связи: (тел.: +3 (754) 479-257-04; эл. почта: artem.fedorkevich@gmail.com).

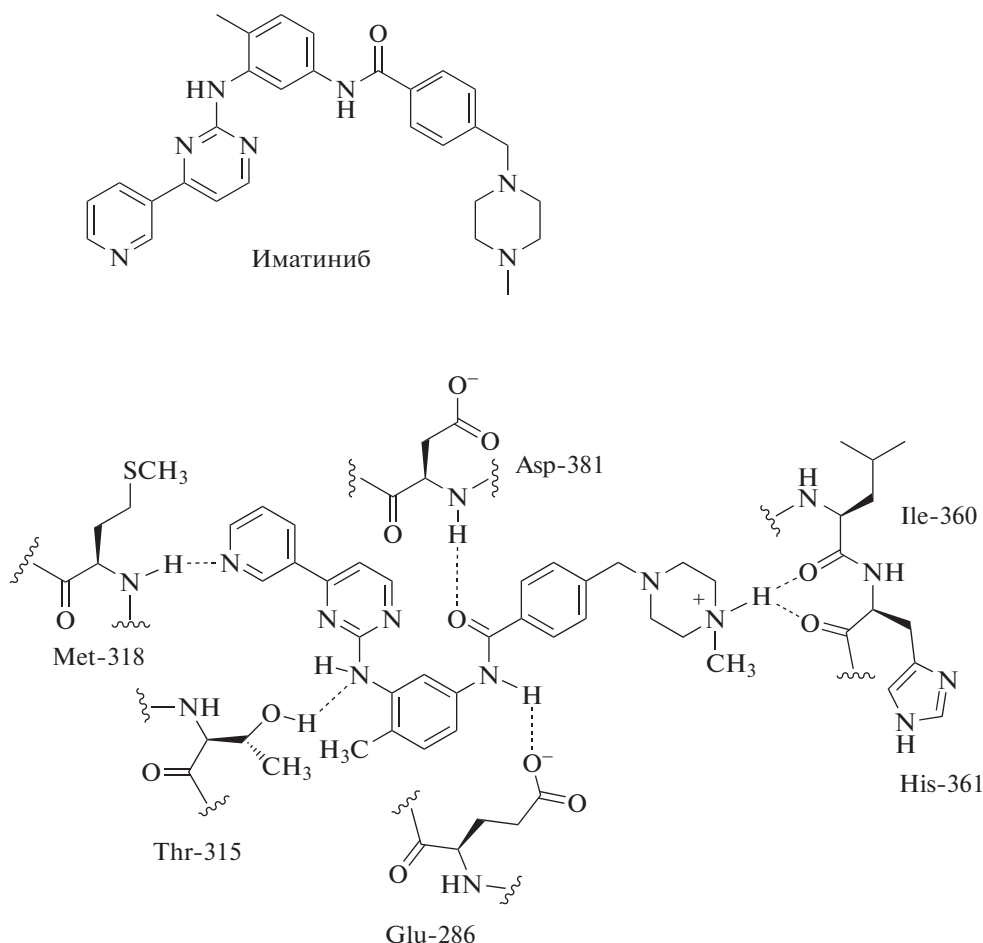


Рис. 1. Структура иматиниба.

кают серьезные стерические препятствия для встраивания ингибитора в активный центр белка. Иматиниб не встраивается в структуру такого мутантного белка, что критически влияет на его ингибирующую способность (рис. 3).

Основная идея данной работы состоит в том, чтобы сконструировать молекулу ингибитора таким образом, чтобы фрагмент молекулы, который вызывает стерические затруднения при встраивании в структуру белка, был более гибким и менее объемным. Это позволит ингибитору встраиваться в структуру белка с наличием мутации T315I с сохранением ингибирующей активности. Для этого один из шестичленных циклов в молекуле иматиниба был заменен на пятичленный пиррольный фрагмент, сочленение с пиридин-пиримидиновым фрагментом стало более гибким в случае структуры (2) (рис. 4). Оценку эффективности взаимодействия белка и лиганда проводили с помощью молекулярного докинга в программе AutoDock Vina.

Процесс молекулярного докинга может быть разделен на три стадии: подготовка молекулы белка, подготовка молекулы лиганда и расчет эф-

фективности взаимодействия белка и лиганда. Первый шаг предполагает оптимизацию структуры белка. В качестве исходной структуры была взята человеческая тирозинкиназа ABL в комплексе с иматинибом [5]. Структура комплекса получена методом дифракции рентгеновских лучей с разрешением 2.4 Å. Оптимизация была проведена с использованием силового поля AMBER, частичные заряды были получены из AMBER ff99SB, из структуры белка были удалены молекулы растворителя, ковалентно-несвязанные ионы, добавлены недостающие протоны аминокислот, присутствующие при физиологических значениях pH. Структура лигандов оптимизирована путем минимизации энергии структуры в программе ChemBio 3D в силовом поле MMFF94. Результаты расчета энергии взаимодействия белка и предложенных лигандов, в сравнении с известными ингибиторами, представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 можно сделать вывод, что структуры (1) и (2) имеют более высокое абсолютное значение энергии связывания, чем ингибиторы, взятые для сравнения, и, следовательно, потенциально будут эффективнее взаимодействовать

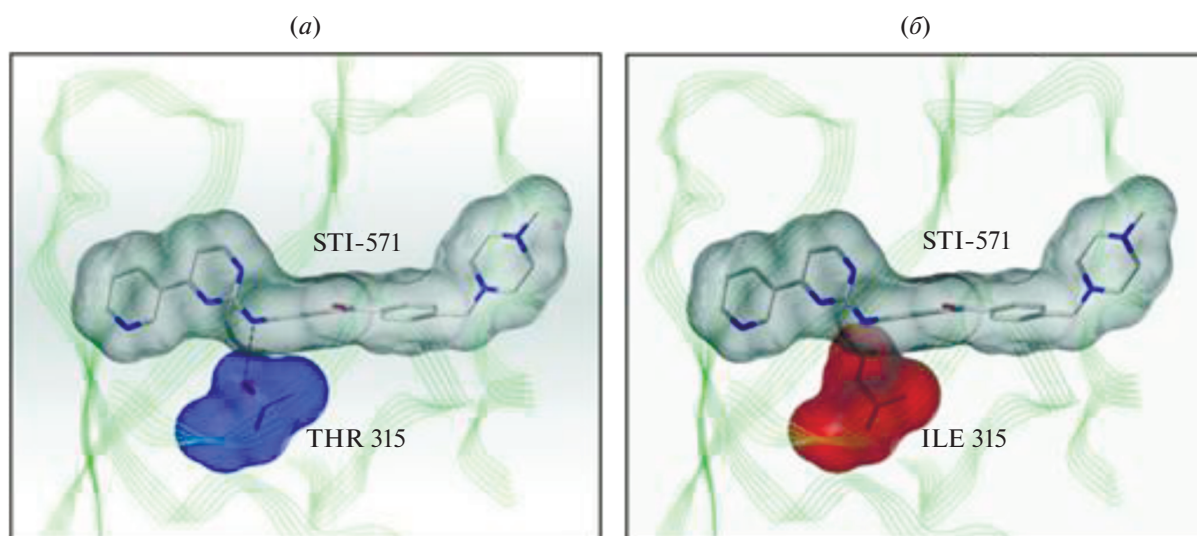


Рис. 2. Иматиниб в структуре комплекса с тирозинкиназой Bcr-Abl: в неактивной конформации “DFG-out” (а) и с T315I-мутацией (б).

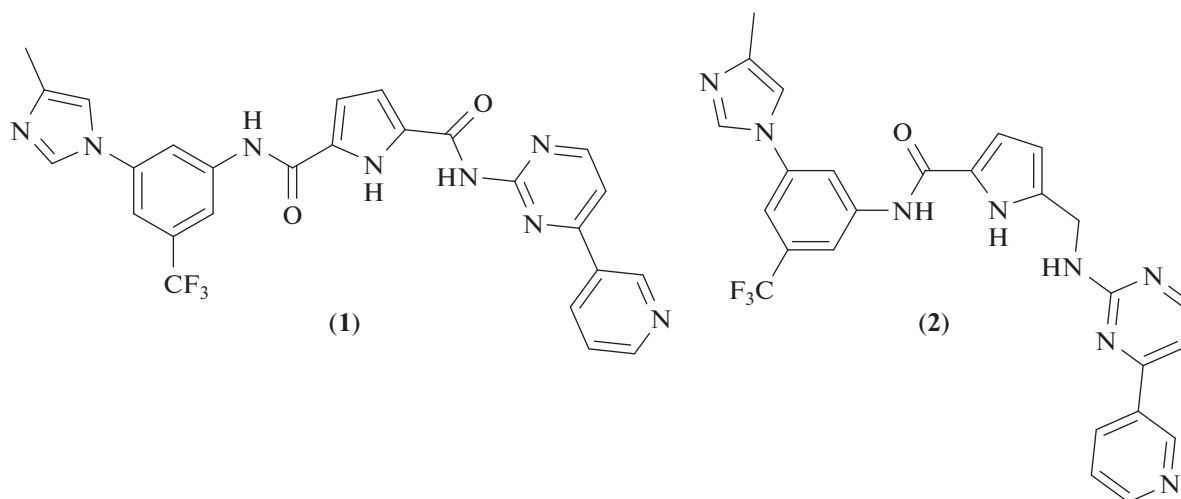


Рис. 3. Структуры потенциальных ингибиторов (1) и (2) Bcr-Abl-тирозинкиназы.

вать с молекулой белка. Анализ состояния лигандов в комплексе с молекулой белка указывает на сохранение для них основных водородных связей, характерных для иматиниба (рис. 4–7).

В отличие от известных ингибиторов, а именно иматиниба и нилотиниба [6], соединения (1) и (2) не образуют водородные связи с изолейцином-360 и гистидином-361 (рис. 4, 5). Так как данные связи не являются ключевыми [4], можно ожидать, что их отсутствие не будет критично сказываться на ингибирующей способности рассматриваемых соединений.

Результаты молекулярного докинга показывают, что предложенные структуры, в отличие от иматиниба и нилотиниба, способны встраиваться в тирозинкиназу BCR-ABL с мутацией T315I (рис. 8–11).

В рамках данной работы осуществлен синтез двух предложенных ингибиторов. Синтез ключевых блоков представлен ниже, на схеме.

Таблица 1. Результаты компьютерного моделирования взаимодействия Bcr-Abl-белка без мутаций и с T315I мутацией с иматинибом, нилотинибом и потенциальными ингибиторами (1) и (2)

Bcr-Abl тирозинкиназа	ΔG , ккал/моль			
	иматиниб	нилотиниб	(1)	(2)
Без мутаций	–9.9	–10.4	–11.7	–11.5
С T315I-мутацией	—*	—*	–10.6	–10.8

* Иматиниб и нилотиниб не встраиваются в структуру белка с наличием мутации T315I.

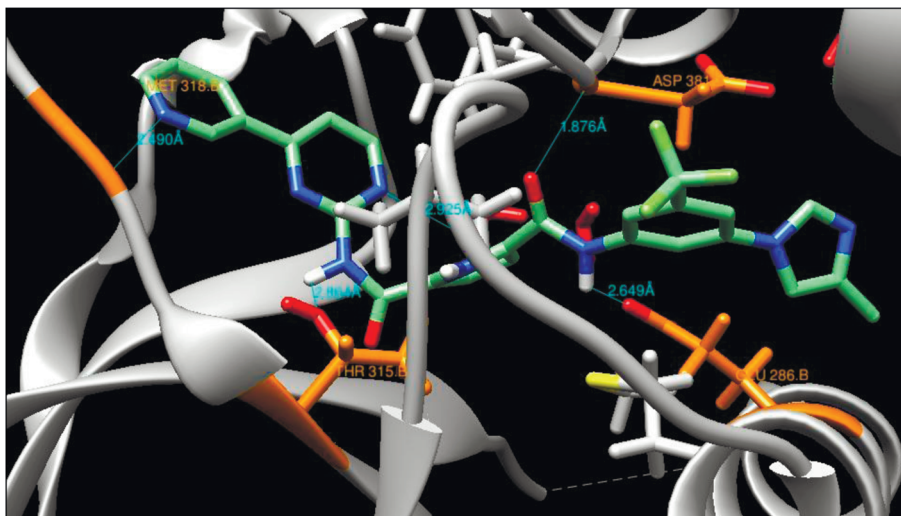


Рис. 4. Ингибитор (1) в модельном комплексе с тирозинкиназой Abl (водородные связи с Met-318, Thr-315, Glu-286, Asp-381).

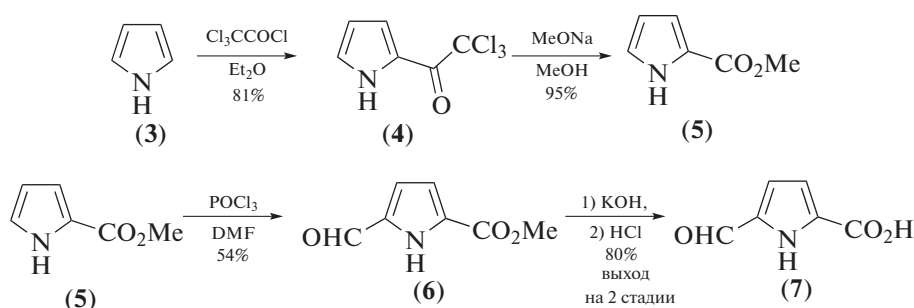


Схема 1.

Альдегидокислота (7) синтезирована из коммерчески доступного пиррола (3). Первая стадия предполагает ацилирование пиррола хлорангидридом трихлоруксусной кислоты. Выход соединения (4) оказался высоким (81%), несмотря на сильное обугливание реакционной смеси. Использование эквивалентного по отношению к хлорангидриду количества Et_3N для связывания выделяющегося HCl не изменяет данную тенденцию. Реакция соединения (4) с каталитическим количеством метилата натрия в метаноле проходит быстро при комнатной температуре и легко контролируется с помощью ТСХ. Очистка продукта на данной стадии не требуется. Очистка продукта, а также разделение образующихся изомеров обязательны на стадии формилирования соединения (5).

Соединение (5) получено с выходом 95%. В спектре ^1H -ЯМР присутствует синглет при 3.86 м.д. с интегральной интенсивностью, равной трем. Данный сигнал указывает на наличие метильной группы в полученном соединении. В целом, спектральные характеристики полученного соединения совпали с описанными в литературе [8].

Реакция формилирования по Вильсмейеру-Хааку, используемая для получения соединения (6), проходила достаточно легко. Средний выход в 54% на данной стадии можно объяснить побочным образованием 4-региоизомера альдегидоэфира (6). Выход основного 5-изомера значительно зависит от температуры проведения реакции. В данной работе раствор хлориминиевой соли, образующейся при смешивании диметилформамида и POCl_3 , в CH_2Cl_2 добавляли при -25°C , далее температуру реакционной смеси медленно доводили до комнатной и затем кипятили полчаса. При -25°C хлориминиевая соль и эфир (5) практически не реагируют, поэтому понижение температуры смешивания реагентов почти не влияет на выход целевого вещества (6). Если нагревание вести не плавно, а быстро нагревать реакционную смесь, то выход снижается до 40%. В ^1H -ЯМР-спектре соединения (6) присутствует сигнал протона альдегидной группы при 9.67 м.д.

Гидролиз метилового эфира (6) проходил в соответствии с описанными методиками [7]. ^1H -ЯМР-спектр показывает отсутствие сигнала метильной группы и наличие уширенного синглета карбок-

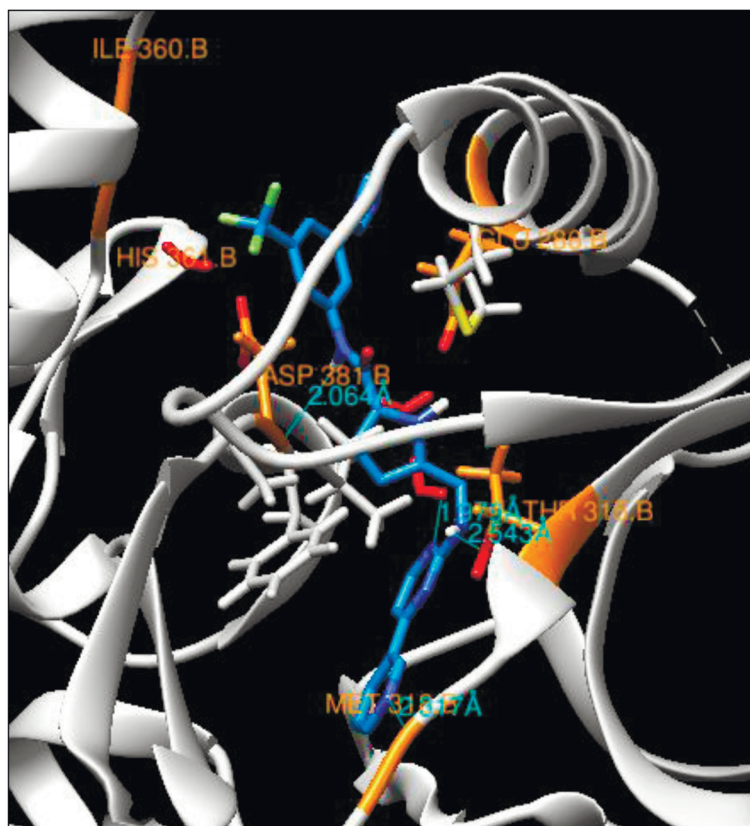


Рис. 5. Ингибитор (1) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL (водородные связи с Met-318, Thr-315, Glu-286, Asp-381). Ингибитор (2) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL (водородные связи с Met-318, Thr-315, Glu-286, Asp-381).

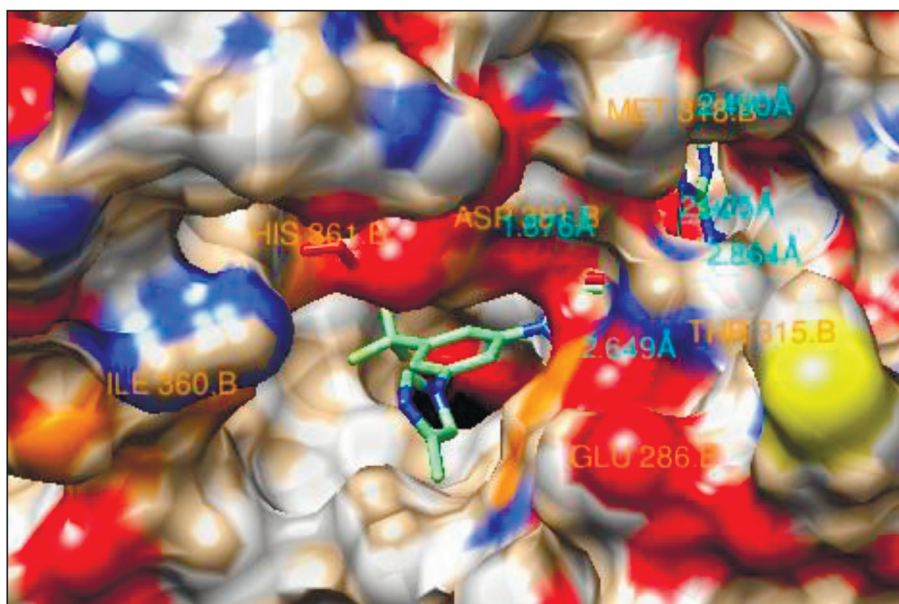


Рис. 6. Ингибитор (1) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL (показана поверхность потенциальной энергии белка).

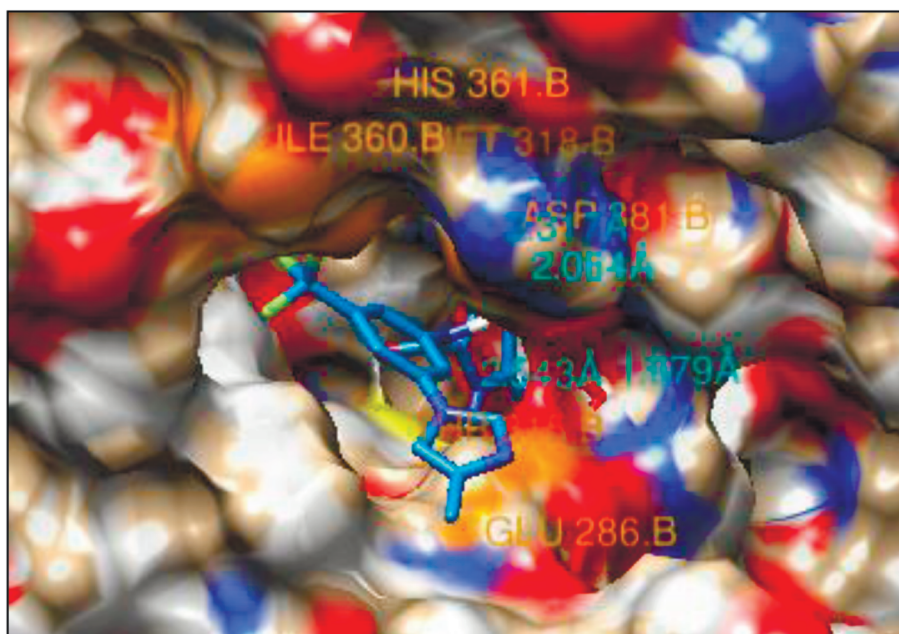


Рис. 7. Ингибитор (2) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL (показана поверхность потенциальной энергии белка).

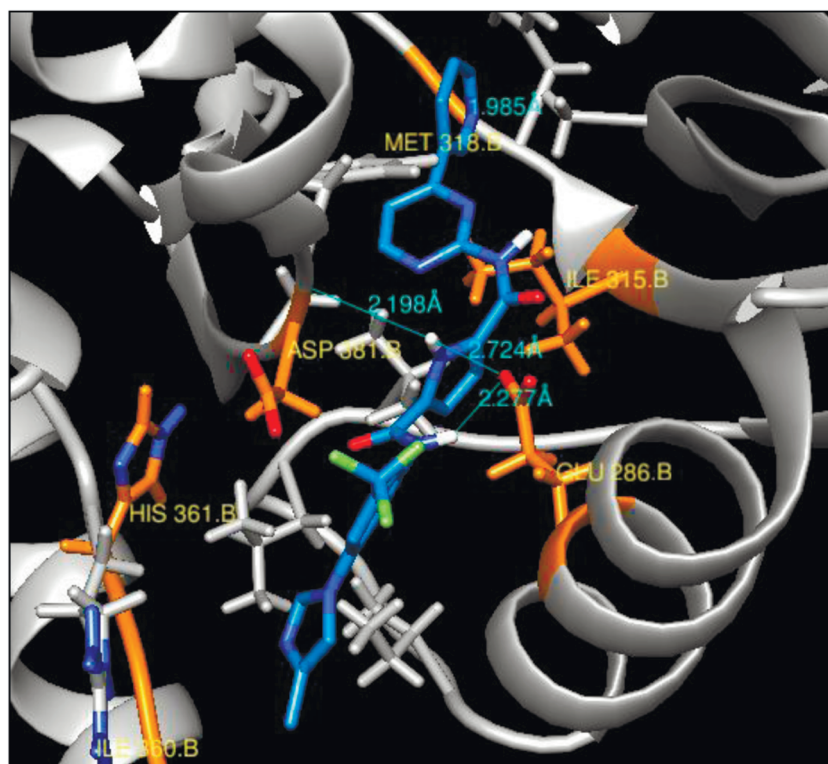


Рис. 8. Ингибитор (1) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL с мутацией T315I (водородные связи с Met-318, Glu-286, Asp-381).

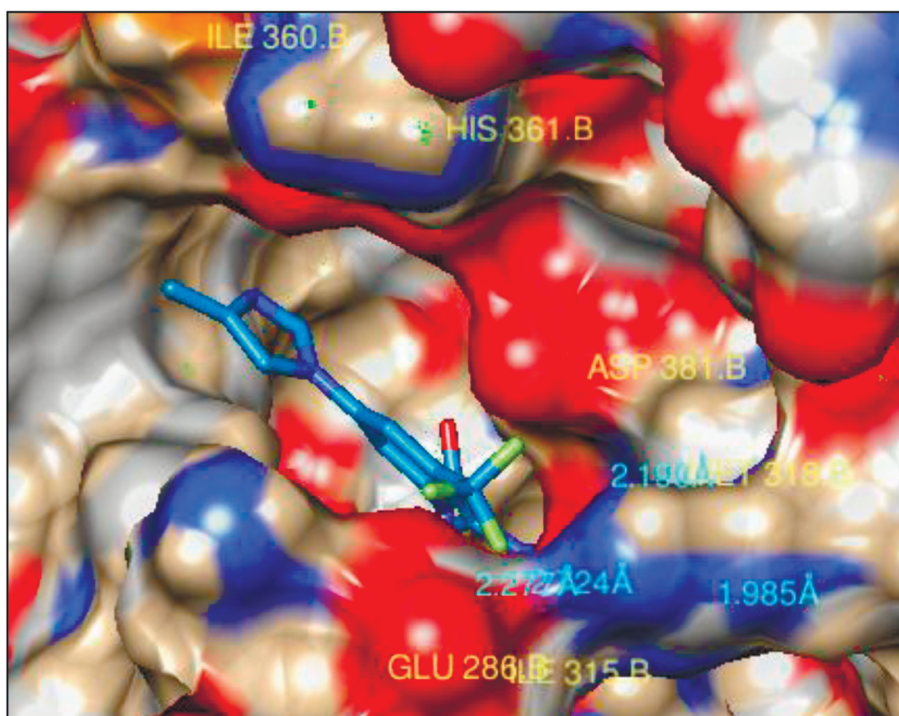


Рис. 9. Ингибитор (1) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL с мутацией T315I (показана поверхность потенциальной энергии белка).

сильной группы при 12.85 м.д. Общий выход кислоты (7) составил 33%.

Соединение (10) получено исходя из коммерчески доступного 3-ацетилпиридина (8) (схема 2). Кипячение в DMF-DMA приводит к образованию единственного продукта (9). В его спектре ^1H -ЯМР присутствуют два синглета от двух метильных групп при 2.95 и 3.18 м.д.; также присутствуют протоны при двойной связи при 5.68 и 7.84 м.д. Большая константа спин-спинового взаимодей-

ствия, равная 12.5 Гц, указывает на *E*-конфигурацию двойной связи [8].

Образование амина (10) происходило путем кипячения в течение 12 ч раствора соединения (9) с 1 эквивалентом гуанидингидрохлорида и 1.1 экв. NaOH в *n*-бутаноле [9]. Соединение образуется практически чистым и не требует дополнительной очистки после реакции. Его ^1H -ЯМР-спектр совпал с описанным в литературе [9]. Выход соединения (10) в расчете на 3-ацетилпиридин составил 72%.

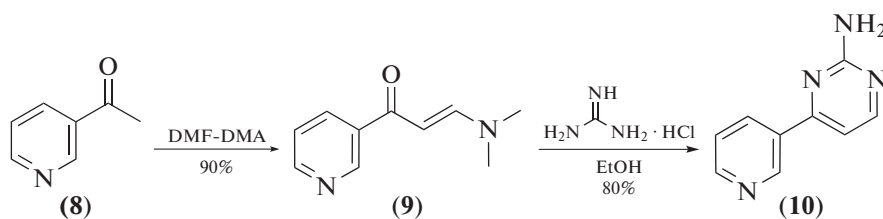


Схема 2.

Синтез ингибиторов (1) и (2) представлен на схемах 3 и 4.

Соединение (11) получено из амина (10) и альдегидокислоты (7). Умеренный выход на данной стадии (45%) можно объяснить низкой нуклеофильностью аминогруппы соединения (10). Дальнейшее окисление альдегидопиррола (11) в кислоту проходило с достаточно высоким выходом. Конденсация кислоты (12) с коммерчески доступ-

ным 3-(3-метил-1Н-пиррол-1-ил)-5-(трифторметил)анилином (13), который используется в синтезе известного ингибитора Bcr-Abl-тирозинкиназы — нилотиниба [10], происходило в стандартных условиях с применением DCC в качестве конденсирующего реагента и бензотриазола в качестве активатора карбоксильной группы. Соединение (1) получено с общим выходом 11% в расчете на пиррол.

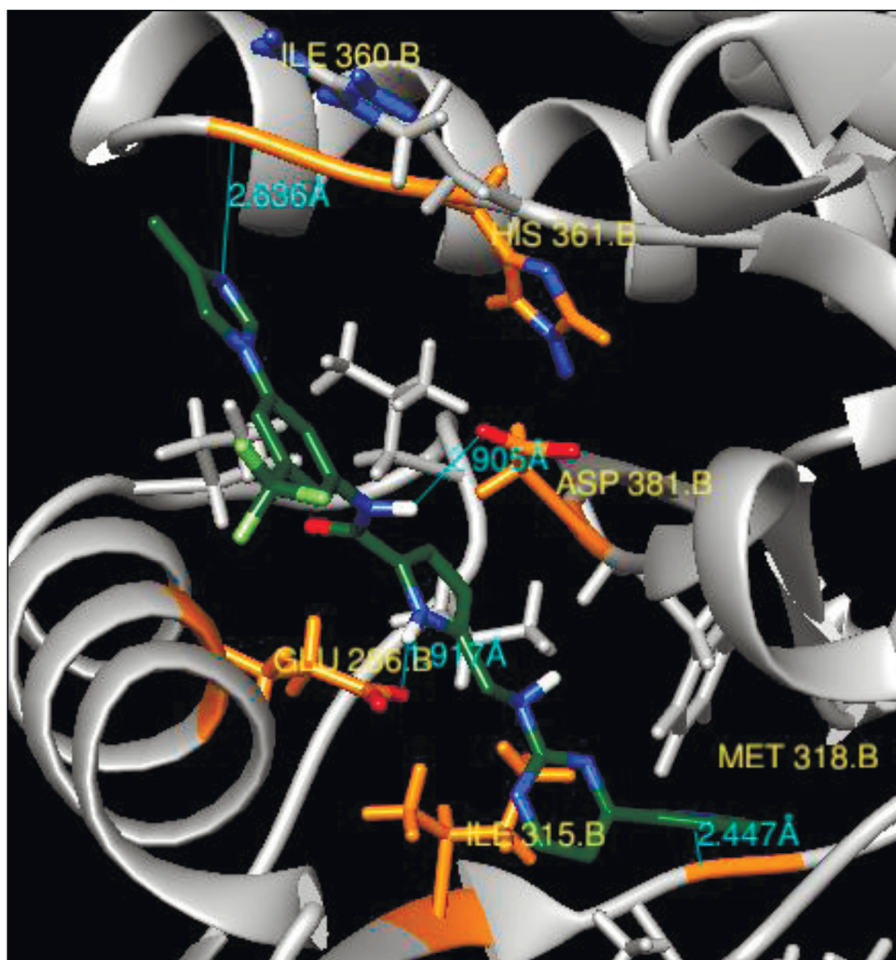


Рис. 10. Ингибитор (2) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL с мутацией T315I (водородные связи с Met-318, Glu-286, Asp-381).

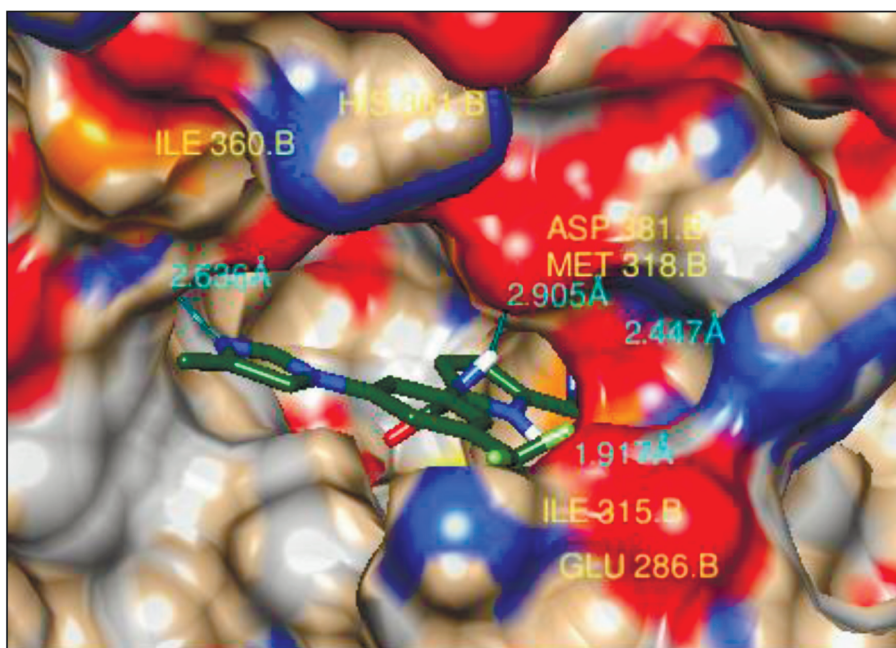


Рис. 11. Ингибитор (2) в активном центре тирозинкиназы BCR-ABL с мутацией T315I (показана поверхность потенциальной энергии белка).

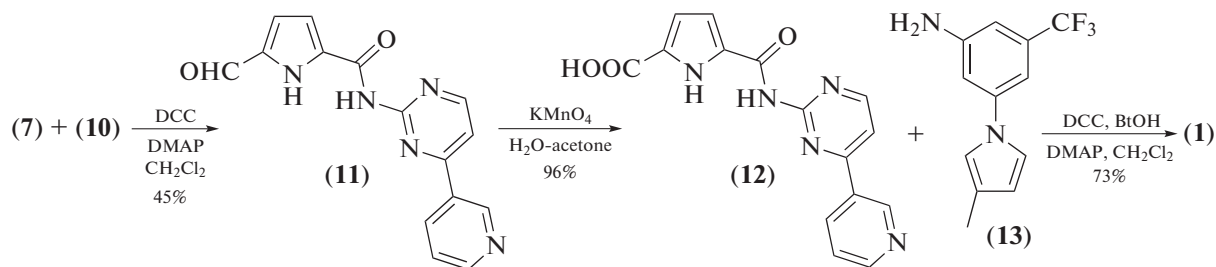


Схема 3.

Конденсация кислоты (7) с амином (10) проходила с достаточно низким выходом ввиду малой

нуклеофильности амина (10). Соединение (2) получено с общим выходом 12% исходя из пиррола.

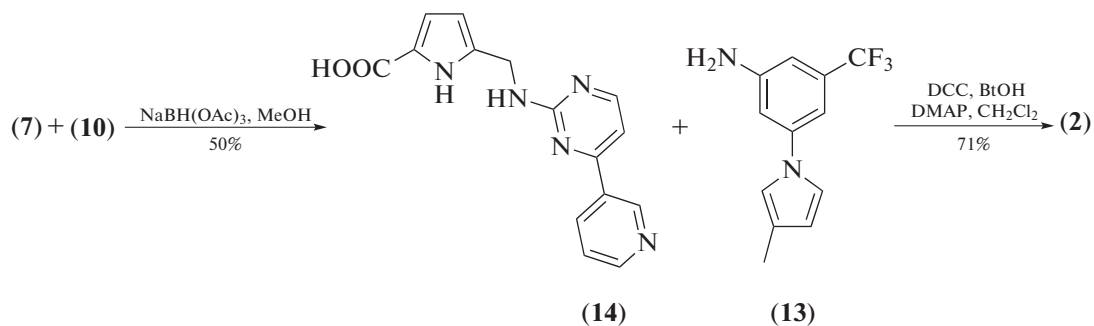


Схема 4.

Все устойчивые соединения были выделены и охарактеризованы с использованием ^1H -, ^{13}C -ЯМР.

Таким образом, в работе методом компьютерного моделирования охарактеризованы структуры предложенных ингибиторов в комплексе с тирозинкиназой BCR-ABL как с наличием мутации T315I так и без нее. Показано, что сохраняются ключевые водородные связи с остатками Met-318, Thr-315, Glu-286, Asp-381. Предложенные соединения синтезированы и охарактеризованы. Результаты исследования биологической активности разработанных новых ингибиторов BCR-ABL-тирозинкиназы будут представлены в отдельном сообщении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

Исходные вещества. Использованные в ходе работы реактивы и растворители имели квалификацию “ч” и “чда”. Очистку и высушивание растворителей производили в соответствии с рекомендациями [11]. В качестве исходных соединений использовали пиррол, 3-ацетилпиридин и амин (13) фирмы “Acros”.

Методы анализа. Моделирование взаимодействия белка с лигандом осуществляли с использованием программы UCSF Chimera 1.10.2, модуль AutoDock Vina. Кристаллографические данные о

целевом белке взяты из базы RCSB Protein Data Bank. Файлы: “Human Abl kinase domain in complex with imatinib” — белок без мутаций в комплексе с иматинибом (ингибитор BCR-ABL-тирозинкиназы первого поколения). “The crystal structure of human abl1 kinase domain T315I mutant in complex with DCC-2036” — структура белка с T315I-мутацией в комплексе с потенциальным ингибитором. Данные файлы были загружены в формате *.pdb.

Оценку индивидуальности синтезируемых веществ и наблюдение за ходом проводимых реакций осуществляли методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254. При проявлении использовали ультрафиолетовую лампу с длиной волны 254 нм, 1% раствор KMnO_4 в воде, 5% раствор фосфомолибденовой кислоты в этаноле. В качестве элюента использовали смеси петролейного эфира, этилацетата, а также метанола и хлороформа, метанола и метилена, толуола и ацетона в различных соотношениях. Выделение и очистку индивидуальных веществ осуществляли с помощью перекристаллизации из петролейного эфира, а также методом колоночной хроматографии на силикагеле 60 Merck (70–230 mesh), с использованием в качестве элюента смесей тех же растворителей.

Спектры ^1H -ЯМР синтезированных соединений (δ , м.д.; J , Гц) записывали для растворов в CDCl_3 или $\text{DMSO}-d_6$ на приборе Bruker AC 500 с

рабочей частотой 500 МГц относительно сигнала остаточных протонов в дейтерохлороформе (δ 7.26 м.д.) и DMSO- d_6 (2.50 м.д.). Спектры ^{13}C -ЯМР записывали для растворов в CDCl_3 или DMSO- d_6 на приборе Bruker AC 500 с рабочей частотой 100.6 МГц. Химические сдвиги указаны относительно сигнала CDCl_3 (δ 77.00 м.д.) и DMSO- d_6 (39.43 м.д.). ИК-спектры снимали на FT-IR-спектрофотометре "PerkinElmer Spectrometer 100" в таблетке с KBr.

(2-Трихлороацетил)-1H-пиррол (4). К перемешиваемому раствору трихлорацетилхлорида (37.00 г, 0.23 моль) в сухом Et_2O (100 мл) добавляли пиррол (12.50 г, 0.18 моль) по каплям за 3 ч при комнатной температуре и далее реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре и нейтрализовали 20% водным раствором K_2CO_3 (100 мл) до pH 8–9. Органическую фазу отделяли, водную экстрагировали Et_2O (3×25 мл). Объединенную органическую фазу промывали последовательно насыщенным водным раствором NaHCO_3 и насыщенным водным раствором NaCl , сушили Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт (4) очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (ПЭ–EtOAc, 15 : 1–5 : 1) и получали в виде белых кристаллов (34.04 г, 89%). R_f 0.44 (ПЭ–EtOAc, 5 : 1), $T_{\text{пл}}$ 75.5°C. Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [7]. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 6.34–6.37 (м, 1H), 7.16–7.17 (м, 1H), 7.38–7.40 (м, 1H), 9.51 (уш. с., 1H).

Метил-1H-пиррол-2-карбоксилат (5). В сухом MeOH (64 мл) растворяли Na (0.223 г, 9.7 ммоль) при комнатной температуре. К полученному перемешиваемому раствору добавляли (2-трихлороацетил)-1H-пиррол (14.700 г, 69.2 ммоль) шестью порциями за 30 мин. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при комнатной температуре (контроль ТСХ). Растворитель упаривали, остаток разбавляли Et_2O (80 мл). К раствору добавляли 3 M HCl (5 мл). Органическую фазу отделяли, водную экстрагировали Et_2O (3×15 мл). Объединенную органическую фазу промывали последовательно насыщенным водным раствором NaHCO_3 и насыщенным водным раствором NaCl , сушили Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, растворитель упаривали при пониженном давлении. Продукт использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. Эфир (5) получали в виде белых кристаллов (8.215 г, 95%). R_f 0.31 (ПЭ–EtOAc, 5 : 1). $T_{\text{пл}}$ 73.0°C. Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [6]. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 3.86 (с, 3H), 6.26–6.28 (м, 1H), 6.91–6.93 (м, 1H), 6.95–6.97 (м, 1H), 9.27 (м, 1H).

Метил-5-формил-1H-пирол-2-карбоксилат (6). К охлажденному до 0°C сухому DMF (2.890 г,

39.6 ммоль) добавляли POCl_3 (6.070 г, 39.6 ммоль) за 15 мин. Реакционную смесь перемешивали до полной кристаллизации (30 мин). Смесь отогревали до комнатной температуры; полученную иминиевую соль растворяли в сухом CH_2Cl_2 (20 мл) и охлаждали до –25°C. Раствор метил-1H-пиррол-2-карбоксилата (5) (3.536 г, 28.3 ммоль) в CH_2Cl_2 (20 мл) добавляли шприцом за 1 ч при 0°C. Раствор доводили до комнатной температуры и затем кипятили 30 мин при перемешивании. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли насыщенный водный раствор NaHCO_3 до pH 8–9 и кипятили 15 мин. Органическую фазу отделяли, водную экстрагировали Et_2O (3×10 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NaCl , сушили Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, растворитель удаляли при пониженном давлении. Метил-5-формил-1H-пирол-2-карбоксилат (6) (2.770 г, 64%) выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле (ПЭ–EtOAc, 15 : 1–3 : 1) в виде белых кристаллов. R_f 0.37 (ПЭ–EtOAc, 65 : 35). $T_{\text{пл}}$ 96.2°C. Также был получен побочный продукт – метил-4-формил-1H-пирол-2-карбоксилат (0.736 г, 17%). Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [7]. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 3.92 (с, 3H), 6.94 (м, 2H), 9.67 (с, 1H), 9.88 (уш. с, 1H).

5-Формил-1H-пирол-2-карбоновая кислота (7). Раствор метилкарбоксилата (6) (1.00 г, 6.53 ммоль) и KOH (0.403 г, 7.18 ммоль) в EtOH (8 мл) и H_2O (2 мл) кипятили 3 ч. Растворитель упаривали, осадок растворяли в H_2O (8 мл). Раствор подкислили 3 M HCl до pH 4–6, осадок отфильтровали, промывали H_2O , сушили при 100°C до постоянной массы. Альдегидокислоту (7) получали в виде бледно-желтых кристаллов (0.817 г, 90%). R_f 0.44 (ПЭ–EtOAc, 1 : 1). $T_{\text{пл}}$ 188°C (с разложением). Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [7]. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 6.82–6.84 (м, 1H), 6.93–6.95 (м, 1H), 9.69 (с, 1H), 12.85 (уш. с., 1H), 13.06 (уш. с., 1H).

(Е)-3-(Диметиламино)-1-фенилпроп-2-ен-1-он (9). Смесь 3-ацетилпиридина (2.428 г, 20 ммоль) и DMF-DMA (4.760 г, 40 ммоль) кипятили при перемешивании до исчезновения 3-ацетилпиридина (контроль ТСХ) около 6 ч. Смесь охлаждали, растворитель упаривали. Осадок перекристаллизовывали из ПЭ. Продукт (9) получали в виде желтых кристаллов (3.115 г, 89%). R_f 0.43 (EtOAc). $T_{\text{пл}}$ 90.2°C. Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [10]. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 2.95 (с., 3H), 3.18 (с, 3H), 5.68 (д., J 12.3, 1H), 7.35 (м, 1H), 7.84 (д., J 12.3, 1H), 8.19 (д., J 7.9, 1H), 8.66 (д., J 4.8, 1H), 9.08 (д., J = 2.2, 1H).

4-(Пиридин-3-ил)пиримидин-2-иламин (10). Раствор продукта (9) (6.400 г, 36.3 ммоль), гуанидин-

гидрохлорида (3.056 г, 36.3 ммоль) и NaOH (1.595 г, 39.9 ммоль) в *n*-бутаноле (40 мл) кипятили 12 ч. Раствор охлаждали, осадок отфильтровывали, промывали на фильтре 96% этанолом, затем холодной водой. Полученные кристаллы сушили в вакууме при 40°C. Продукт (**10**) получали в виде серо-белых кристаллов (5.162 г, 82%). R_f 0.20 (EtOAc). $T_{пл}$ 188.2°C. Спектральные характеристики совпали с описанными в литературе [10]. Спектр 1H -ЯМР (500 МГц, d_6): 5.21 (с, 2H), 7.11 (д, J 5.2, 1H), 7.45 (дд, J 4.8, 8.0, 1H), 8.35 (д, J 8.0, 1H), 8.44 (д, J 5.2, 1H), 8.75 (д, J 4.8, 1H), 9.24 (д, J 2.2, 1H).

***N*-(4-(Пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)-5-формил-1*H*-пиррол-2-карбоксамид (**11**)**. К суспензии соединения (**7**) (139 мг, 1 ммоль), в 10 мл CH_2Cl_2 последовательно добавляли, DMAP (122 мг, 1 ммоль), раствор амина (**10**) (172 мг, 1 ммоль) в 5 мл CH_2Cl_2 . Далее в реакционную смесь всыпали DCC (227 мг, 1.1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 12 ч. Осадок отфильтровывали, промыли на фильтре CH_2Cl_2 . К реакционной смеси добавляли насыщенный раствор $NaHSO_3$ (20 мл). Водный слой отделяли, подкислили 2 М HCl до pH 4. Экстрагировали EtOAc (3 × 20 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NaCl (1 × 20 мл), сушили Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, растворитель упаривали при пониженном давлении. Продукт (**11**) (132 мг, 45%) выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле (толуол–ацетон, 7 : 3) в виде белых кристаллов. R_f 0.24 (толуол–ацетон, 7 : 3). $T_{пл}$ 174.3°C. Спектр 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$): 7.03–7.05 (м, 1H), 7.06–7.08 (м, 1H), 7.13 (д, J 5.3, 1H), 7.55 (дд, J 4.7, 8.1, 1H), 8.18 (д, J 8.1, 1H), 8.67 (д, J 5.3, 1H), 8.73 (д, J 4.7, 1H), 9.04 (с, 1H), 9.32 (с, 1H), 11.95 (уш. с., 1H), 12.26 (уш. с., 1H). Спектр ^{13}C -ЯМР ($DMSO-d_6$): 106.55, 107.98, 109.73, 115.28, 122.01, 124.55, 132.91, 135.645, 136.63, 147.32, 150.58, 157.53, 159.47, 160.12, 175.44.

5-((4-(Пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)карбамоил)-1*H*-пиррол-2-карбоновая кислота (12**)**. К 2 мл раствора карбоксамида (**11**) (132 мг, 0.42 ммоль) в ацетоне добавляли суспензию перманганата калия (135 мг, 0.85 ммоль) в 8 мл смеси ацетон–вода (1 : 1) за 1 ч. Раствор перемешивали дополнительно 1 ч при 40°C и еще 1 ч при комнатной температуре. Тиосульфат натрия добавляли порциями до обесцвечивания раствора. Ацетон удаляли при пониженном давлении, водный слой подкисляли до pH 3–4 5% раствором HCl. Полученный осадок фильтровали, промывали водой на фильтре. Белый осадок сушили при пониженном давлении. Продукт (**12**) (130 мг, 96%) использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. R_f 0.19 (MeOH– $CHCl_3$, 1 : 8). $T_{пл}$ 197.3°C. Спектр 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$): 7.04–7.05 (м, 1H), 7.06–7.08 (м,

1H), 7.14 (д, J 5.2, 1H), 7.57 (дд, J 4.7, 8.0, 1H), 8.16 (д, J 8.0, 1H), 8.65 (д, J 5.2, 1H), 8.75 (д, J 4.7, 1H), 9.02 (с, 1H), 10.71 (с, 1H), 11.65 (уш. с., 1H), 12.06 (уш. с., 1H). Спектр ^{13}C -ЯМР ($DMSO-d_6$): 107.55, 110.98, 111.73, 115.08, 121.01, 124.55, 138.91, 139.58, 140.33, 149.47, 154.59, 155.88, 157.43, 160.12, 160.34.

5-(4-Пиридин-3-илпиримидин-2-ил)аминометил-1*H*-пиррол-2-карбоновая кислота (14**)**. К суспензии $NaBH_4$ (2.00 г, 53 ммоль) в 22 мл $CHCl_3$ добавляли безводную AcOH (14 мл, 244 ммоль) при 0–5°C за 1 ч. Смесь перемешивали при 0–5°C дополнительно 1.5 ч. Альдегидокислота (**7**) (3.480 г, 25 ммоль) и раствор амина (**10**) (4.472 г, 26 ммоль) в $CHCl_3$ (12 мл) были добавлены к образованной суспензии. Смесь перемешивали при 0–5°C 1 ч, затем 12 ч при комнатной температуре. К смеси добавляли H_2O (15 мл) и Na_2CO_3 до pH 9–10. Водную фазу промывали $CHCl_3$ (3 × 10 мл). Далее pH раствора доводили до 4 1 М раствором HCl. Осадок отфильтровывали, промывали H_2O на фильтре. Полученные желтые кристаллы сушили в вакууме при комнатной температуре. Выход 50% (3.688 г). R_f 0.23 (MeOH– $CHCl_3$ 1 : 8). $T_{пл}$ 186.2°C. Спектр 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$): 2.48 (с, 2H), 4.52 (м, 1H), 6.01 (м, 1H), 6.60 (м, 1H), 7.23 (д, J 5.16, 1H), 7.55 (уш. с, 1H), 7.58 (дд, J 4.94, 8.03, 1H), 8.39 (д, J 5.00, 1H), 8.50 (м, 1H), 8.68 (д, J 5.00, 1H), 9.25 (м, 1H), 11.48 (уш. с, 1H). Спектр ^{13}C -ЯМР ($DMSO-d_6$): 37.70, 106.56, 107.99, 109.71, 115.27, 122.02, 124.56, 132.90, 135.65, 136.64, 147.33, 150.59, 159.47, 162.01, 164.45. ИК-спектр (в KBr, ν , cm^{-1}): 3436, 1668.

***N*²-(3-(4-Метил-1*H*-имидазол-1-ил)-5-(трифтометил)фенил)-*N*⁵-(4-пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)-1*H*-пиррол-2,5-дикарбоксамид (**1**)**. К раствору кислоты (**12**) (105 мг, 0.34 ммоль) в смеси CH_2Cl_2 –DMF (10 мл, 1 : 1) были последовательно добавлены бензотриазол (BtOH) (50 мг, 0.38 ммоль), DMAP (46 мг, 0.38 ммоль), раствор амина (**13**) (91 мг, 0.38 ммоль) в 5 мл CH_2Cl_2 . Далее в реакционную смесь всыпали DCC (79 мг, 0.38 ммоль) и перемешивали 16 ч. Осадок отфильтровывали, промывали на фильтре CH_2Cl_2 . Растворитель упаривали до объема в 5 мл при пониженном давлении, остаток выливали в 50 мл воды при перемешивании. Образующийся осадок отфильтровывали. Промывали на фильтре водой, 2 мл 96% EtOH. Кристаллы перекристаллизовывали из изопропанола. Продукт (**1**) получали в виде белого порошка (132 мг, 73%). $T_{пл}$ 228.6°C. R_f 0.29 (MeOH– $CHCl_3$, 1 : 4). Спектр 1H -ЯМР ($DMSO-d_6$): 3.34 (с, 3H), 4.68 (с, 2H), 6.06 (м, 1H), 6.28 (м, 1H), 7.30 (д, J 5.0, 1H), 7.41 (д, J 4.0, 1H), 7.53 (д, J 8.1, 1H), 7.65 (м, 1H), 7.78 (м, 1H), 7.90 (т, J 7.8, 1H), 8.04 (д, J 8.1, 1H), 8.45 (м, 2H), 8.69 (д, J 5.0, 1H), 9.29 (с, 1H), 12.35 (уш. с. 2H). Спектр ^{13}C ЯМР ($DMSO-d_6$): 13.62, 37.15, 88.03, 108.33, 109.88, 110.03, 110.20, 110.38, 112.84, 114.18, 115.36, 122.6,

125.45, 127.55, 128.80, 135.06, 135.96, 137.66, 140.39, 145.55, 149.47, 150.32, 153.77, 157.21, 160.50, 161.68.

***N*-(3-(4-Метил-1*H*-имидазол-1-ил)-5-(три-фторметил)фенил)-5-(((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)метил)-1*H*-пиррол-2-карбоксамид (2).** Соединение (2) получали из кислоты (14) по методике, аналогичной методике получения соединения (1), в виде бледно-желтого порошка (124 мг, 71%). $T_{пл}$ 204.2°C. R_f 0.35 (MeOH : CHCl₃, 1 : 4). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆): 3.32 (с, 3H), 6.08 (м, 1H), 6.20 (м, 1H), 7.26 (д, *J* 4.9, 1H), 7.39 (д, *J* 4.0, 1H), 7.33 (д, *J* 8.0, 1H), 7.64 (м, 1H), 7.78 (м, 1H), 7.90 (т, *J* 8.0, 1H), 8.06 (д, *J* 8.0, 1H), 8.43 (м, 2H), 8.54 (д, *J* 5.0, 1H), 9.31 (с, 1H), 11.98 (уш. с. 2H). Спектр ¹³C-ЯМР (DMSO-*d*₆): 13.62, 107.06, 108.36, 109.88, 110.04, 110.06, 112.23, 114.18, 114.63, 115.38, 122.06, 122.60, 125.71, 128.80, 129.73, 138.34, 140.33, 144.41, 149.47, 150.72, 154.59, 155.88, 156.90, 157.31, 157.40 158.28.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tanaka R., Kimura S. // Expert Rev. Anticancer Ther. 2008. V. 8 (9). P. 1387–1398.
2. Lin Y., Meng Y., Huang L. // JACS. 2014. V. 136. P. 14753–14762.
3. Breccia M., Alimena G. // OncoTargets and Therapy. V. 1. P. 49–58.
4. Lin Y., Meng Y., Huang L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. № 5. P. 1664–1669.
5. Cowan-Jacob S.W., Fendrich G., Floersheimer A. // Acta Crystallogr., Sect. D. 2007. V. 63. P. 80–93.
6. Jabbour E., El Ahdab S., Cortes J., Kantarjian H. // Expert Opin. Investig. Drugs. 2008. V. 17. № 7. P. 1127–1136.
7. Schmuck C., Bickert V., Merschky M. // Eur. J. Org. Chem. 2008. P. 324–329.
8. Zheng R., Zeng X., He H., He J. // Synth. Commun. 2012. V. 1. № 42. P. 1521–1531.
9. Koroleva E.V., Ignatovich Zh.V., Ignatovich S.V., Gussak K.N. // Russ. J. Org. Chem. 2011. V. 47. № 8. P. 1222–1226.
10. Deadman B.J., Hopkin M.D., Baxendale I.R. // Org. Biomol. Chem. 2013. Is. 11. P. 1766–1800.
11. Гордон А., Форд Р. // М.: Мир, 1976.

Computer Modeling and Synthesis of Potential Inhibitors of the BCR-ABL Tyrosine Kinase with T315I Mutation

A. M. Fedarkevich*, #, O. L. Sharko*, and V. V. Shmanai*

*Phone: +3 (754) 479-257-04; e-mail: artem.fedorkevich@gmail.com

*Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, ul. Surganova 13, Minsk, 220072 Belarus

A comparative analysis of the interaction of chimeric BCR-ABL protein of normal type and with mutation T315I with known inhibitors, as well as with the proposed compounds which potentially inhibit the activity of the protein with mutation was carried out by computer modeling. It is shown that the proposed compounds are incorporated in the structure of the protein with the saving of the basic hydrogen bonds and intermolecular interactions. The synthesis of two structures containing the pyrrole cycle, which showed the most promising results according to the data of computer modeling, was carried out.

Keywords: BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors, AutoDock Vina, synthesis of pyrrole derivatives