

## Похідні аміно-3-ариліндазолу як інгібітори серин-треонінових і тирозинових протеїназ

С.С. Лукашов\*

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна*

**Резюме.** Розглянуто активність похідних аміно-3-ариліндазолу до серин-треонінових і тирозинових протеїназ. Висунуто припущення про можливість і напрями модифікації аміно-3-ариліндазолу з метою отримання нових активних сполук.

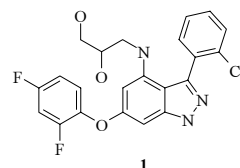
**Ключові слова:** протеїнази, інгібітор, 3-ариліндазол.

На сьогодні тирозинові та серин-треонінові протеїнази є одними з найпривабливіших об'єктів для розробки нових ліків. Регуляція активності протеїназ є шляхом до подолання онкологічних, інфекційних і серцево-судинних захворювань, хвороб імунної та нервової систем, порушень метаболізму тощо [1, 2]. Вдалі спроби клінічного застосування інгібіторів протеїназ стимулюють розробку нових інгібіторів серед малих органічних молекул. Якщо спочатку такий пошук опирався на скринінг великих диверсифікованих колекцій органічних сполук, то зараз отримана в ході такого скринінгу інформація значною мірою звузила коло пошуку нових активних молекул. На сьогодні основними підходами до вирішення цього завдання є синтез аналогів відомих інгібіторів, структурно-детермінований дизайн і фрагмент-орієнтовані дослідження [3]. У роботі [4] на великих масивах сполук різноманітної будови яскраво продемонстровано ефективність пошуку нових активних молекул шляхом модифікації вже відомих активних молекул. Імовірність виявлення активності під час тестування модифікованих похідних відомих інгібіторів протеїназ була

у 2,5–9 разів вища порівняно з диверсифікованою колекцією.

Як один з об'єктів для пошуку нових інгібіторів протеїназ шляхом синтезу аналогів нашу увагу привернув фрагмент 3-ариліндазолу. За останнє десятиліття тисячі похідних 3-ариліндазолу різноманітної структури було протестовано на активність щодо широкого спектра серин-треонінових і тирозинових протеїназ. Ми зупинимось лише на похідних, функціоналізованих по аміногрупі в бензеновому кільці індазолу. Серед усіх чотирьох можливих варіантів заміщення, незважаючи на їхні структурні відмінності, знайдено похідні, що інгібують протеїнази або впливають на клітинні процеси, пов'язані з протеїназами. Розглянемо їх в порядку заміщення.

Найменше інгібіторів протеїназ відомо серед похідних 4-аміно-3-ариліндазолів. Похідні, близькі до зображеної структури **1**, виявлено серед низки інгібіторів серин-треонінової кінази p38a [5].



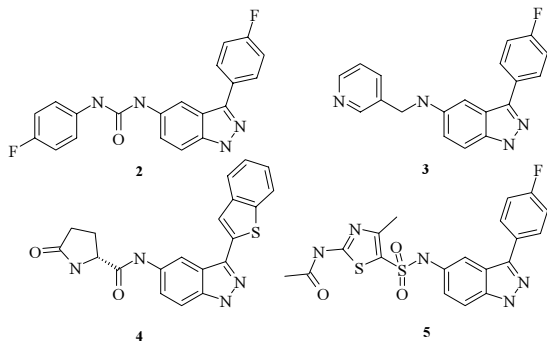
Серед похідних 5-аміно-3-ариліндазолів інгібітори протеїназ є, навпаки, найбільш розповсюдженими. З 2002 року їх досліджу-

\*Corresponding author.

Tel./fax: +38044-5222458

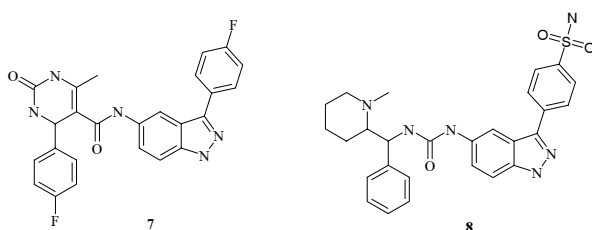
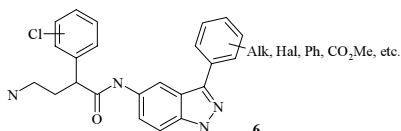
E-mail address: yarmoluksm@gmail.com

вали як інгібітори різних кіназ, насамперед групи кіназ JNK, і за цей час вони пройшли певну структурну еволюцію. У перших роботах розглянуто досить прості структури з молекулярною вагою, переважно в межах 400 г/моль. У 3-му положенні індазолового залишку вони несли найчастіше заміщений фенільний фрагмент, рідше — п'яти- чи шестичленний гетероцикл, часом анельований із бензеновим кільцем. Аміногрупа в 5-му положенні була функціоналізована алкільними, ацильними, карбамойльними, арилсульфо- та іншими замісниками на зразок сполук **2-5**. IC<sub>50</sub> переважної частини цих сполук у випадку протеїнкінази JNK2 мали значення в межах 0,01-10 мкМ, а у випадку протеїнкінази JNK3 — у межах 0,001-10 мкМ [6-8].



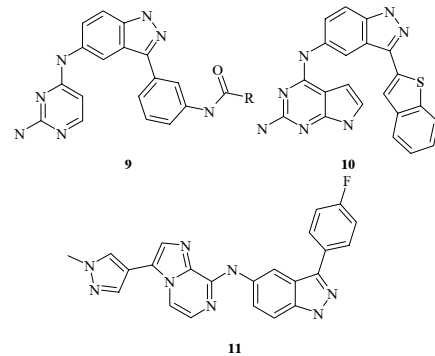
Згодом доповнену авторами цю групу сполук було протестовано *in vitro* на активність щодо низки інших серин-треонінових і тирозинових протеїнкіназ — ІКК1, ІКК2Е, р38а, р38b, МКК3, МКК4, МКК6, МКК7, CDK2/Е, CDK2/А, РКСа, ЕРК та РКА [9].

Активність похідних 5-аміно-3-ариліндазолу по відношенню до різних протеїнкіназ показано в інших роботах. Амінокислотні похідні загальної структури **6** демонстрували інгібування серин-треонінових кіназ РКА, PDK1 та АКТ зі значеннями IC<sub>50</sub> в межах 1мкМ [10]. Сполука **7** проявляла активність до протеїнкі-

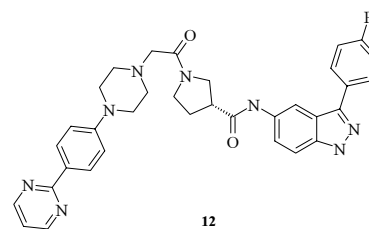


наз ROCK і Aurora A з IC<sub>50</sub> < 10 мкМ [11], а сполука **8** — до протеїнкінази АКТ 1 [12].

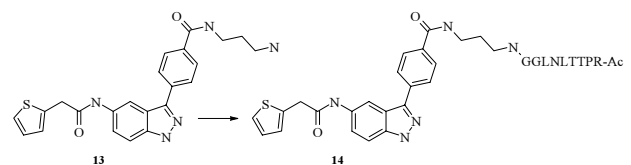
Вивчено окремі похідні 5-аміно-3-ариліндазолу, заміщені по 5-аміногрупі гетероциклічними фрагментами. Похідні піримідину **9** та піролопіримідину **10** тестували на активність до широкої низки серин-треонінових і тирозинових протеїнкіназ [13]. Інгібування циклін-залежних протеїнкіназ похідними імідазопіримідину **11** досліджено в роботах [14-16].



Серед похідних 5-аміно-3-ариліндазолу відомі також інгібітори більш складної структури. У низці робіт було вдосконалено речовини, споріднені сполуці **12**, що інгібували протеїнкіназу ERK2 [17, 18]. Оптимізації підлягали три структурні фрагменти — арильний залишок у 3-му положенні індазолу, піролідин-3-карбоксільний фрагмент і діалкіламіноацетильний кінцевий залишок молекули. Урешті отримані значення IC<sub>50</sub> досягли, зокрема у сполуки **12**, 0,16 нМ.

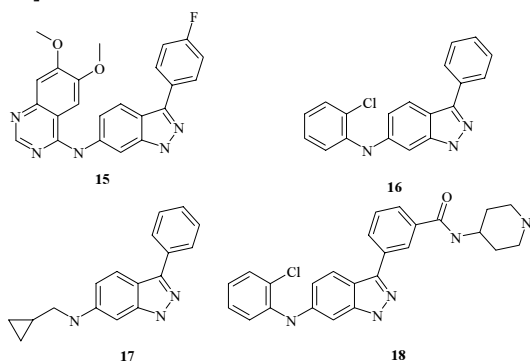


Наступний приклад ілюструє застосування підходу бідентатних лігандів для збільшення спорідненості гетероциклічного фрагмента до протеїнкінази. Додавання пептидного фрагмента через коротку лінкерну групу збільшило IC<sub>50</sub> сполуки **13** по відношенню до протеїнкінази JNK більш як на три порядки з 1,2 мкМ до 0,3 нМ у сполуки **14** [19].

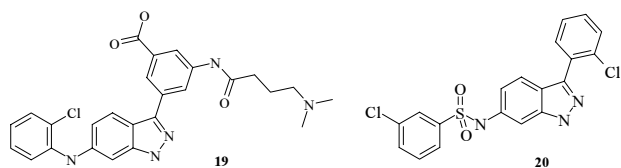


Серед похідних 6-аміно-3-ариліндазолу сполуки, що пригнічують активність протеїнкіназ, також достатньо розповсюджені. Перші представники цих похідних виявлено ще 1997 року. Так, хіназоліл-4-похідні 6-аміно-3-ариліндазолу інгібували екстрацелюлярний домен протеїнкінази EGFR c-erbB-2. Наприклад, значення  $IC_{50}$  для сполуки **15** становило 3,2 мкМ [20].

Серед низки 6-ариламіно-3-ариліндазолів і 6-алкіламіно-3-ариліндазолів виявлено сполуки, активні щодо групи протеїнкіназ JNK, зокрема протеїнкінази p38 $\alpha$ . Це сполуки **16-18** [21, 22].



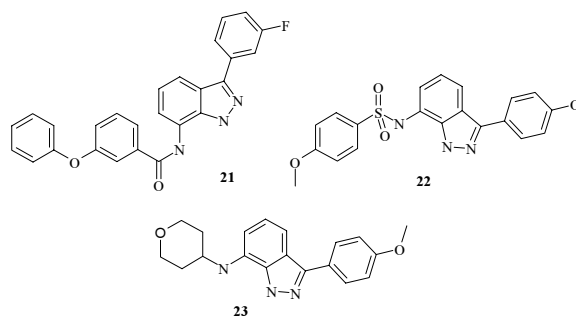
Сполука **19** виявляла селективне інгібування протеїнкінази JNK3 ( $IC_{50}$ =3 нМ) за лише помірною інгібування протеїнкіназ JNK1 і p38 $\alpha$  ( $IC_{50}$ =101 і 903 нМ відповідно). Рентгеноструктурні дослідження комплексу **19** із JNK3 показали, що молекула **19** орієнтована о-хлораніліновим фрагментом у середину гідрофобної кишені АТФ-зв'язувального сайту і виявляє там додаткові, порівняно з JNK1, гідрофобні контакти [23].



Низку 6-арилсульфоніламіно-3-арилінда-

золів синтезовано з метою отримання інгібіторів групи протеїнкіназ p38 [24]. Зокрема  $IC_{50}$  сполуки **20** становило 20 нМ.

Окремі похідні 7-аміно-3-ариліндазолів також виявляли прямим чи опосередкованим чином протеїнкіназ-інгібувальні властивості. Сполуку **21** вивчали як інгібітор протеїнкіназ групи JNK [7]. Сполука **22** пригнічувала ріст клітинних ліній DU145, HCT116 і HT29, демонструючи  $IC_{50}$  на рівні 10-50 мкМ [25]. 7-Алкіламіно-3-ариліндазоли, зокрема сполука **23**, виявляли властивості інгібіторів некрозу клітин [26].



Таким чином, різноманітні похідні 3-ариліндазолу виявляють інгібіторну активність до низки різних серин-треонінових і тирозинових протеїнкіназ. Найбільш розповсюдженими, як і найбільш активними, інгібіторами протеїнкіназ з усіх зазначених варіантів заміщення в бензиновому кільці є похідні 5-аміно-3-ариліндазолу. Вірогідно, синтез похідних таких амінів є найбільш перспективним шляхом отримання нових активних сполук.

Меншою мірою активності можна очікувати від похідних 6-аміно-3-ариліндазолу. Нарешті, нечисленні приклади активних сполук серед похідних 4-аміно-3-ариліндазолу і 7-аміно-3-ариліндазолу не дають підстав вважати їх модифікацію перспективною з точки зору отримання нових інгібіторів протеїнкіназ.

Надійшла в редакцію 08.04.2009 р.

### Amino-3-arylindazole as template for Ser/Thr and Tyr kinase inhibitors revealing

S.S. Lukashov

Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine  
150 Zabolotnogo Str., Kyiv, 03143, Ukraine

**Symmary.** 3-Arylindazole-amine derivatives activity against Ser/Thr and Tyr protein kinases is considered. Possibility and directions of 3-arylindazole-amines modification in course of revealing of new active derivatives are discussed.

**Keywords:** protein kinase, inhibitor, 3-arylindazole.

## Перелік літератури

1. Protein tyrosine kinases. From inhibitors to useful drugs. Edited by D. Fabbro and F. McCormick. — Humana Press, 2009. — 290 pp.
2. Cohen P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? // *Nature Rev. Drug Discov.* — 2002. — 1. — P. 309-315.
3. Jianming Zhang, Priscilla L. Yang, Nathanael S. Gray. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors — *Nature Reviews Cancer* 9, 28-39 (January 2009) doi:10.1038/nrc2559.
4. Justine Y.Q. Lai, Steven Langston, Ruth Adams, Rebekah E. Beevers, Richard Boyce, Svenja Burckhardt, James Cobb, Yvonne Ferguson, Eva Figueroa, Neil Grimster, Andrew H. Henry, Nawaz Khan, Kerry Jenkins, Mark W. Jones, Robert Judkins, Jeremy Major, Abid Masood, James Nally, Helen Payne, Lloyd Payne, Gilles Raphy, Tony Raynham, John Reader, Valerie Reader, Alison Reid, Parminder Ruprah, Michael Shaw, Hannah Sore, Matthew Stirling, Adam Talbot, Jess Taylor, Stephen Thompson, Hiroki Wada, David Walker. Preparation of kinase-biased compounds in the search for lead inhibitors of kinasetargets // *Medicinal Research Reviews.* — 2005. — Vol. 25, No. 3. — P. 310-330.
5. Preparation of pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives as P38 MAP kinase inhibitors. Arora, Nidhi; Arzeno, Humberto Bartolome; Billedeau, Roland Joseph; Dewdney, Nolan James; Durkin, Kieran; Gabriel, Tobias; Mccaleb, Kristen Lynn; Soth, Michael; Yasuda, Dennis Mitsugu. (F. Hoffmann-La Roche A.-G., Switz.). *PCT Int. Appl.* (2007), 95 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2007023110 A2 20070301.
6. Preparation of indazole derivatives as JNK enzyme inhibitors. Bhagwat, Shripad S.; Satoh, Yoshitaka; Sakata, Steven T. (Signal Pharmaceuticals, Inc., USA). *PCT Int. Appl.* (2002), 412 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2002010137 A2 20020207.
7. Preparation of 1H-indazole derivatives as inhibitors of c-Jun amino-terminal kinase (JNK). Oinuma, Hitoshi; Ohi, Norihito; Sato, Nobuaki; Soejima, Motohiro; Seshimo, Hidenori; Terauchi, Taro; Doko, Takashi; Kohmura, Naohiro. (Eisai Co., Ltd., Japan). *PCT Int. Appl.* (2002), 322 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2002083648 A1 20021024.
8. Preparation of indazole derivatives as JNK enzyme inhibitors. Bhagwat, Shripad S.; Satoh, Yoshitaka; Sakata, Steven T.; Buhr, Chris A.; Albers, Ronald; Sapienza, John; Plantevin, Veronique; Chao, Qi; Sahasrabudhe, Kiran; Ferri, Rachel. (Signal Pharmaceuticals, LLC, USA). *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2004), 275 pp., Cont.-in-part of U.S. Ser. No. 910,950. CODEN: USXXCO US 2004127536 A1 20040701.
9. Preparation of indazole derivatives for treating or preventing diseases associated with protein kinases. Bhagwat, Shripad S.; Satoh, Yoshitaka; Sakata, Steven T.; Buhr, Chris A.; Albers, Ronald; Sapienza, John; Plantevin, Veronique; Chao, Qi; Sahasrabudhe, Kiran; Ferri, Rachel; Narla, Rama K. (USA). *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2005), 240 pp., Cont.-in-part of U.S. Ser. No. 414, 839. CODEN: USXXCO US 2005009876 A1 20050113 Patent written in English. Application: US 2003-718185 20031119. Priority: US 2000-221799 20000731; US 2001-910950 20010723; US 2003-414839 20030416. CAN 142:134589 AN 2005:34603.
10. Preparation of indazoles as protein kinase inhibitors. Binch, Hayley; Brenchley, Guy; Golec, Julian M.C.; Knegetel, Ronald; Mortimore, Michael; Patel, Sanjay; Rutherford, Alistair. (Vertex Pharmaceuticals Incorporated, USA). *PCT Int. Appl.* (2003), 156 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2003064397 A1 20030807.
11. Preparation of N-indazolyl tetrahydropyrimidincarboxamides as ROCK inhibitors. Drewry, David Harold; Evans, Brian; Goodman, Krista B.; Green, Darren Victor Steven; Jung, David Kendall; Lee, Denis; Stavenger, Robert A.; Wad, Sjoerd Nicolaas. (Smithkline Beecham Corporation, USA; Wadman, Sjoerd Nicolaas). *PCT Int. Appl.* (2004), 183 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2004112719 A2 20041229.
12. New substituted indazoles, particularly 5- and 6-[[[(phenyl)(piperidin-2-yl)methyl]carbonyl]amino]-1H-indazoles as inhibitors of AKT1 and S6K1 kinases for treating neoplasm. Aletru, Michel; Damour, Dominique; Monseau, Catherine; Mougenot, Patrick; Namane, Claudie; Nardi, Frederico; Nemecek, Patrick; Philippo, Christophe. (Sanofi-Aventis, Fr.). *PCT Int. Appl.* (2009), 76 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2009010660 A2 20090122.
13. Preparation of indazole compounds that inhibit one or more receptor, or non-receptor, tyrosine or serine/threonine kinase. Ericsson, Anna M.; Burchat, Andrew; Frank, Kristine E.; Calderwood, David J.; Abbott, Lily K.; Argiriadi, Maria A.; Borhani, David W.; Cusack, Kevin P.; Dixon, Richard W.; Gordon, Thomas D.; Mullen, Kelly D.; Talanian, Robert V.; Wu, Xiaoyun; Zhang, Xiaolei; Wang, Lu X.; Li, Biqin; Barberis, Claude E.; Wishart, Neil. (Abbott Laboratories, USA). *PCT Int. Appl.* (2007), 266 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2007117465 A2 20071018.
14. Preparation of imidazopyrazines as protein kinase inhibitors. Zhao, Lianyun; Curran, Patrick J.; Belanger, David B.; Hamann, Blake; Reddy, Panduranga A.; Paruch, Kamil; Guzi, Timothy J.; Dwyer, Michael P.; Siddiqui, M. Arshad; Tadikonda, Praveen K. (Schering Corporation, USA). *PCT Int. Appl.* (2007), 276 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2007058942 A2 20070524.
15. Imidazopyrazine compounds and their methods for inhibiting protein kinases, preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of protein kinase-associated diseases. Guzi, Timothy J.; Paruch, Kamil; Dwyer, Michael P.; Parry, David A.; Zhao, Lianyun; Curran, Patrick J.; Belanger, David B.; Hamann, Blake; Reddy, Panduranga Adulla P.; Siddiqui, M. Arshad; Tadikonda, Praveen K. (Schering Corporation, USA). *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2007), 346 pp. CODEN: USXXCO US 2007105864 A1 20070510 Patent written in English. Application: US 2006-598188 20061108. Priority: US 2005-735610 20051110. CAN 146:501082 AN 2007:507532 CAPLUS (Copyright (C) 2009 ACS on SciFinder (R)).
16. Preparation of novel imidazopyrazines as cyclin dependent kinase inhibitors. Guzi, Timothy J.; Paruch, Kamil; Dwyer, Michael P.; Zhao, Lianyun; Curran, Patrick J.; Belanger, David B.; Hamann, Blake; Reddy, Panduranga A.; Siddiqui, M. Arshad. (Schering Corporation, USA). *U.S. Pat. Appl. Publ.* (2006), 161 pp., Cont.-in-part of U.S. Ser. No. 47,524. CODEN: USXXCO US 2006106023 A1 20060518 Patent written in English. Application: US 2005-272392 20051110. Priority: US 2002-412997 20020923; US 2003-665005 20030919; US 2005-47524 20050131. CAN 144:488677 AN 2006:463553 CAPLUS (Copyright (C) 2009 ACS on SciFinder (R)).

17. Polycyclic indazole derivatives that are ERK inhibitors and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of cancer. Cooper, Alan; Deng, Yongqi; Shipps, Gerald W., Jr.; Shih, Neng-Yang; Zhu, Hugh; Sun, Robert; Kelly, Joseph; Doll, Ronald; Nan, Yang; Wang, Tong; Desai, Jagdish; Wang, James; Dong, Youhao; Madison, Vincent S.; Li, Xiao; Hruza, Alan; Siddiqui, M. Arshad; Samatar, Ahmed; Paliwal, Sunil; Tsui, Hon-Chung; Celebi, Azim A.; Wu, Yiji; Boga, Sobhana Babu. (Schering Corporation, USA). PCT Int. Appl. (2007), 505 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2007070398 A1 20070621.
18. Polycyclic indazole derivatives that are ERK inhibitors and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of cancer. Cooper, Alan; Deng, Yongqi; Shipps, Gerald W., Jr.; Shih, Neng-Yang; Zhu, Hugh; Kelly, Joseph; Doll, Ronald; Nan, Yang; Desai, Jagdish; Wang, James; Paliwal, Sunil; Tsui, Hon-Chung; Boga, Sobhana Babu; Alhassan, Abdul-Basit; Gao, Xiaolei; Zhu, Liang; Patel, Mehul. (Schering Corporation, USA). PCT Int. Appl. (2008), 412 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2008153858 A1 20081218.
19. Bidentate ATP mimetic linked conjugates with peptidic moieties as kinase inhibitors, and therapeutic use thereof. Pellecchia, Maurizio. (Burnham Institute for Medical Research, USA). PCT Int. Appl. (2009), 43 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2009018490 A1 20090205.
20. Preparation of heterocycl-substituted quinazolines as protein tyrosine kinase inhibitors. Cockerill, George Stuart; Carter, Malcolm Clive; Mckeown, Stephen Karl; Vile, Sadie; Page, Martin John; Hudson, Alan Thomas; Barraclough, Paul; Franzmann, Karl Witold. (Glaxo Group Limited, UK; Cockerill, George Stuart; Carter, Malcolm Clive; Mckeown, Stephen Karl; Vile, Sadie; Page, Martin John; Hudson, Alan Thomas; Barraclough, Paul; Franzmann, Karl Witold). PCT Int. Appl. (1997), 47 pp. CODEN: PIXXD2 WO 9703069 A1 19970130.
21. Preparation of indazoles as inhibitors of Jun N-terminal kinases (JNK), in particular JNK3. Malmstroem, Jonas; Swahn, Britt-Marie. (Astrazeneca A.B., Swed.). PCT Int. Appl. (2003), 69 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2003068754 A1 20030821.
22. 1-Aryl-3,4-dihydroisoquinoline inhibitors of JNK3. Christopher, John A.; Atkinson, Francis L.; Bax, Benjamin D.; Brown, Murray J.B.; Champigny, Aurelie C.; Chuang, Tsu Tshen; Jones, Emma J.; Mosley, Julie E.; Musgrave, James R. Medicines Research Centre, Glaxo-SmithKline R&D, Stevenage, Hertfordshire, UK. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2009), 19 (8), 2230-2234. Publisher: Elsevier B.V., CODEN: BMCLE8 ISSN: 0960-894X. Journal written in English. CAN 150:494645 AN 2009:420052.
23. Design and synthesis of 6-anilinoindazoles as selective inhibitors of c-Jun N-terminal kinase-3. Swahn, Britt-Marie; Huerta, Fernando; Kallin, Elisabet; Malmstroem, Jonas; Weigelt, Tatjana; Viklund, Jenny; Womack, Patrick; Xue, Yafeng; Oehberg, Liselotte. Department of Medicinal Chemistry, AstraZeneca R&D Soedertaelje, Soedertaelje, Swed. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2005), 15(22), 5095-5099. Publisher: Elsevier B.V., CODEN: BMCLE8 ISSN: 0960-894X. Journal written in English. CAN 144:6721 AN 2005:1084944.
24. Preparation of indazole derivatives as P38 MAP kinase inhibitors. Gabriel, Tobias; Soth, Michael. (F. Hoffmann-La Roche A.-G., Switz.). PCT Int. Appl. (2007), 43 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2007023114 A1 20070301.
25. Synthesis and biological evaluation of N-(7-indazolyl)benzenesulfonamide derivatives as potent cell cycle inhibitors. Bouissane, L.; El Kazzouli, S.; Leonce, S.; Pfeiffer, B.; Rakib, E. M.; Khouili, M.; Guillaumet, G. Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR CNRS 6005, Universite d'Orleans, Orleans, Fr. Bioorganic & Medicinal Chemistry (2006), 14(4), 1078-1088. Publisher: Elsevier B.V., CODEN: BMECEP ISSN: 0968-0896. Journal written in English. CAN 144:163515 AN 2006:19686.
26. Preparation of indole and indazole compounds as inhibitors of cellular necrosis. Kim, Soon Ha; Kim, Hyoung Jin; Koo, Sun Young; Chung, Chul Woong; Lee, Sung Bae; Park, Heui Sul; Yoon, Seung Hyun; Kwak, Hyo Shin; Seo, Dong Ook; Park, Eok. (LG Life Sciences Ltd., S. Korea). PCT Int. Appl. (2009), 142 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2009025478 A1 20090226.