

Inhibitori različitih protein-kinaza

Slamić, Zrinka

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:099986>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Zrinka Slamić

Inhibitori različitih protein-kinaza

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmaceutska kemija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku kemiju pod stručnim vodstvom dr. sc. Kristine Pavić.

Prvenstveno se želim zahvaliti dr.sc. Kristini Pavić na mentorstvu i stručnom vodstvu kao i na strpljenju, motivaciji te uloženom trudu i vremenu prilikom izrade ovog diplomskog rada. Želim se zahvaliti obitelji koja mi je omogućila da ostvarim ono što sam poželjela te prijateljima uz koje se svaka prepreka na tom putu činila lakšom.

KRATICE

ADME – apsorpcija, distribucija, metabolizam, ekskrecija

ATP – adenzin-trifosfat

Boc – *tert*-butiloksikarbonil

CDI – 1,1'-karbonildiimidazol

CML – kronična mijeloična leukemija

DPPA – difenilfosforil azid

EGF – epidermalni faktor rasta

EGFR – receptor za epidermalni faktor rasta

EMA – Europska agencija za lijekove

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove

Hh signalni put – Hedgehog signalni put

HMDS – heksametildisilazan

HTS – visokoprotlačno pretraživanje

IGF – inzulinu-sličan faktor rasta

JAK – Janus kinaza

LSC – leukemična matična stanica

NSCLC – rak pluća nemalih stanica

PI3K – fosfoinozitol-3-kinaza

PIP₂ – fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat

PIP₃ – fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat

PTCH1 – Patched-1 protein

SAR – odnos strukture i djelovanja

SMO – Smoothened protein

TFA – trifluoroctena kiselina

TKI – inhibitor tirozin-kinaze

TMS – trimetilsilil

VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	OBRAZLOŽENJE TEME	6
3.	MATERIJALI I METODE	8
4.	REZULTATI I RASPRAVA	10
	4.1. INHIBITORI RECEPTORSKE PROTEIN-KINAZE ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA	11
	4.1.1. RECEPTOR ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA (EGFR)	11
	4.1.2. INHIBITORI RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA	12
	4.1.2.1. NERATINIB	13
	4.1.2.2. OSIMERTINIB	15
	4.2. INHIBITORI BCR-ABL KINAZE	19
	4.2.1. BCR-ABL KINAZA	19
	4.2.2. INHIBITORI BCR-ABL KINAZE	20
	4.2.2.1. NILOTINIB	21
	4.2.2.2. PONATINIB	24
	4.3. INHIBITORI FOSFOINIZITID-3-KINAZE	26
	4.3.1. FOSFOINOZITID-3-KINAZA (PI3K)	26
	4.3.2. INHIBITORI PI3K	27
	4.3.2.1. IDELALISIB	27
	4.3.2.2. ALPELISIB	29
	4.4. INHIBITORI JANUS KINAZE	32
	4.4.1. JANUS KINAZA	32
	4.4.2. INHIBITORI JANUS KINAZE	33
	4.4.2.1. RUKSOLITINIB	33
	4.4.2.2. FEDRATINIB	35
	4.5. INHIBITORI HEDGEHOG SIGNALNOG PUTA	37
	4.5.1. HEDGEHOG SIGNALNI PUT	37
	4.5.2. INHIBITORI HEDGEHOG SINGALNOG PUTA	37
	4.5.2.1. VISMODEGIB	38
	4.5.2.2. SONIDEGIB	40
5.	ZAKLJUČAK	42
6.	LITERATURA	44
7.	SAŽETAK/ SUMMARY	52
8.	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD	
	55	

1. UVOD

Protein-kinaze skupina su enzima koja fosforilacijom supstrata povećava ili smanjuje aktivnost enzima, ovisno o mjestu fosforilacije. Osim toga, fosforilacijom specifičnih proteina protein-kinaze imaju utjecaj i na transkripciju i translaciju utječući posljedično na važne biološke procese kao što su stanična diferencijacija, dijeljenje i razvoj, apoptozu, preslagivanje citoskeleta te imunosti odgovor. Pronađeno je 518 gena koji kodiraju protein-kinaze zajedno sa 196 pseudogena. Oko 50 gena od navedenih 518 kodira takozvane pseudokinaze kojima nedostaju određene aminokiseline važne za katalizu te one posljedično nemaju katalitičku aktivnost, već djeluju kao alosterički regulatori (Manning i sur. 2002; Patrick, 2009; Roskoski, 2015, 2019).

Protein-kinaze slične su po svome mehanizmu djelovanja, a možemo ih podijeliti u skupine na temelju razlike u staničnom smještaju ili prema aminokiselinskom ostatku koji fosforiliraju (Patrick, 2009).

Prema staničnom smještaju razlikujemo citoplazmatske i receptorske protein-kinaze. Dok citoplazmatske prvenstveno imaju ulogu enzima, receptorske protein-kinaze imaju dvojaku ulogu – onu receptora i onu enzima, a sastoje se od ekstracelularnog dijela koje služi kao vezno mjesto za signalnu molekulu, transmembranskog dijela koji usidruje enzim u membranu te intracelularnog dijela koji ima katalitičku aktivnost. Signalne molekule su najčešće faktori rasta i hormoni rasta kao što su npr. epidermalni faktor rasta (EGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) ili inzulinu-sličan faktor rasta (IGF) čijim vezanjem za ekstracelularnu domenu protein-kinaze dolazi do aktivacije signalne kaskade, odnosno aktivacije citoplazmatskih protein-kinaza i fosforilacije određenih proteina utječući posljedično na ekspresiju gena zaslužnih za stanični rast i diferencijaciju (Patrick, 2009).

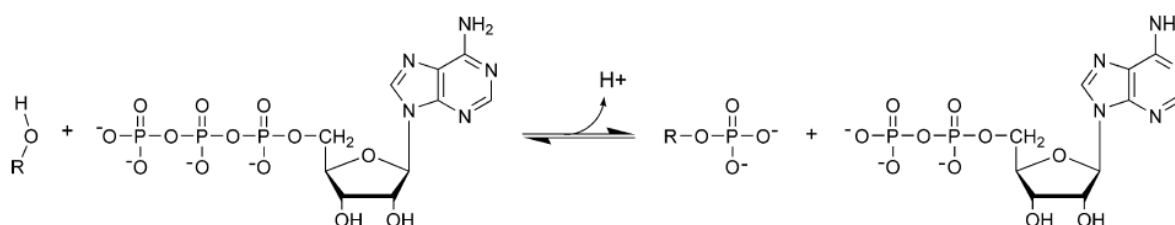
Protein-kinaze fosforiliraju svoje supstrate na specifičnim mjestima. Razlikujemo tako tirozin-kinaze koje fosforiliraju fenolnu skupinu tirozinskog ostatka, serin-treonin-kinaze koje fosforiliraju alkoholnu skupinu serina ili treonina te histidin-kinaze koje djeluju fosforilirajući histidinski ostatak (Patrick, 2009).

S obzirom na djelovanje protein-kinaza na stanični ciklus istraživala se njihova ekspresija, kao i količina signalnih molekula koje se za njih vežu u stanicama raka. Uočeno je da u brojnim tipovima raka i upalnim bolestima postoje abnormalnosti u ekspresiji protein-kinaza te faktora rasta i hormona rasta, odnosno pronađene su njihove povećane količine. Iz toga se dalo zaključiti da bi inhibitori citoplazmatskih i receptorskih protein-kinaza mogli biti korisni citostatici (Patrick, 2009).

Prvi razvijeni inhibitori protein-kinaza bila su monoklonska protutijela koja su djelovala ekstracelularno na receptorsku protein-kinazu sprječavajući vezanje signalne molekule. Prvi

takav odobren lijek bio je trastuzumab (Herceptin) koji je FDA odobrila 1998. g. za liječenje HER2+ metastatskog raka dojke (www.herceptin.com). Daljnjim istraživanjima razvijene su nove male molekule koje djeluju intracelularno sprječavajući fosforilaciju i aktivaciju signalne kaskade. Imatinib (Gleevec) je 2001. g. odobren za liječenje kronične mijeloične leukemije te je on prva odobrena mala molekula s inhibitornim djelovanjem na tirozin-kinazu (www.fda.gov; Herbst, 2004).

Mehanizam djelovanja protein-kinaza je prijenos terminalne γ -fosforilne skupine (PO_3^{2-}) s adenzin-trifosfata (ATP) na hidroksilnu skupinu aminokiselinskog ostatka supstrata (Shema 1), a za odvijanje reakcije potrebni su dvovalentni kationi metala kao što su Mg^{2+} i Mn^{2+} (Schwartz i Murray, 2011).



Shema 1. Shema reakcije katalizirane protein-kinazama

Vezna mjesta za ATP i supstrat nalaze se intracelularno u aktivnom mjestu protein-kinaza, a kao meta inhibitora protein-kinaza posebno je pogodno vezno mjesto za ATP. Mogli bismo se zapitati kako selektivno djelovati na vezno mjesto ATP-a određene vrste protein-kinaza, ako baš sve koriste ATP za reakciju fosforilacije. Istraživanje strukture protein-kinaza dalo je objašnjenje zašto je to moguće. Naime, ATP zauzima samo mali dio veznog mjesta ostavljajući neke prostore, kao što je na primjer hidrofobni džep, nepopunjenim i slobodnim za vezanje dodatnih skupina lijeka inhibitora protein-kinaze. Osim toga, na razini primarne strukture proteina također pronalazimo razlike u aminokiselinskom slijedu u veznom mjestu što dodatno olakšava ciljano selektivno djelovanje (Patrick, 2009).

Nekoliko je ključnih područja u veznom mjestu za ATP (Slika 1):

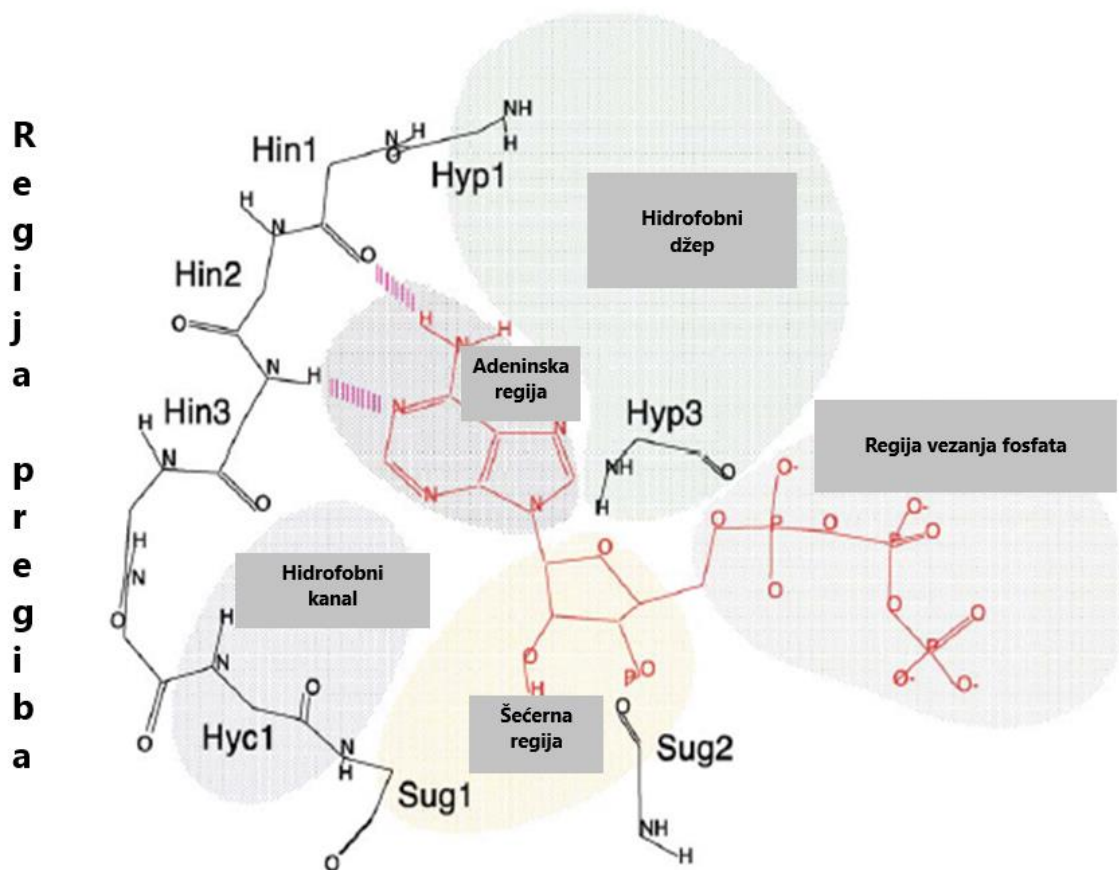
a) Adeninska regija. Ovdje se smješta adenin iz ATP-a i pomoću N-1 i N-6 amino skupina stvara dvije važne vodikove veze s okosnicom enzima. Mnogi potentni inhibitori protein-kinaza koriste barem jednu od ove dvije interakcije za vezanje.

b) Šećerna regija. Nalazi se nasuprot hidrofobnog džepa, a tu se smješta riboza iz ATP-a. Mjesto je obično hidrofilno, osim u receptoru za EGF te je ta specifičnost iskorištena za pronalaženje selektivnih inhibitora receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR).

c) Hidrofobni džep. ATP ne zauzima ovo područje veznog mjesta no ima ključnu ulogu u postizanju selektivnog djelovanja lijekova. Hidrofobni džep razlikuje se u veličini između kinaza, a veličina je određena jednim važnim aminokiselinskim ostatkom (tzv. „gatekeeper“), odnosno njenim bočnim ogrankom što nadalje diktira koje će se skupine na molekuli lijeka moći uklopiti u taj džep.

d) Hidrofobni kanal. Njega također ne koristi ATP te može služiti za povećanje afiniteta vezanja.

e) Regija vezanja fosfata. Ova regija otvorena je otapalu te nema značajnu ulogu u povećanju afiniteta vezanja, no može pridonijeti selektivnosti ili vezivanju lijeka (Fabbro i sur., 2002; Patrick 2009).



Slika 1. Vezno mjesto za ATP u protein-kinazama (prilagođeno prema Fabbro i sur., 2002)

Inhibitori protein-kinaza stupaju u različite interakcije s enzimom pa ih prema načinu vezanja možemo svrstati u nekoliko skupina:

- a) Tip I inhibitori koji se vežu reverzibilno za vezno mjesto za ATP na enzimu u aktivnoj konformaciji.
- b) Tip II inhibitori koji se vežu reverzibilno za vezno mjesto za ATP na enzimu u inaktivnoj konformaciji.
- c) Tip III inhibitori koji se vežu na alosteričko mjesto na enzimu.
- d) Tip IV inhibitori koji se ireverzibilno kovalentno vežu za enzim (Roskoski, 2015).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Rak je globalni problem i jedan od vodećih uzroka smrti diljem svijeta. 2020. bio je uzrokom smrti gotovo 10 milijuna ljudi. Mnogo je tipova raka i mnogo mutacija, a u terapiji nekih od njih uključeni su razni inhibitori protein-kinaza. Upravo zbog raširene primjene inhibitora protein kinaza odlučila sam saznati više o njima i njihovom načinu djelovanja (www.who.int).

3. MATERIJALI I METODE

U radu su korištene bibliografske baze podataka ScienceDirect i PubMed te knjiga Patrick GL, An introduction to medicinal chemistry, 4. izdanje.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. INHIBITORI RECEPTORSKE PROTEIN-KINAZE ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA

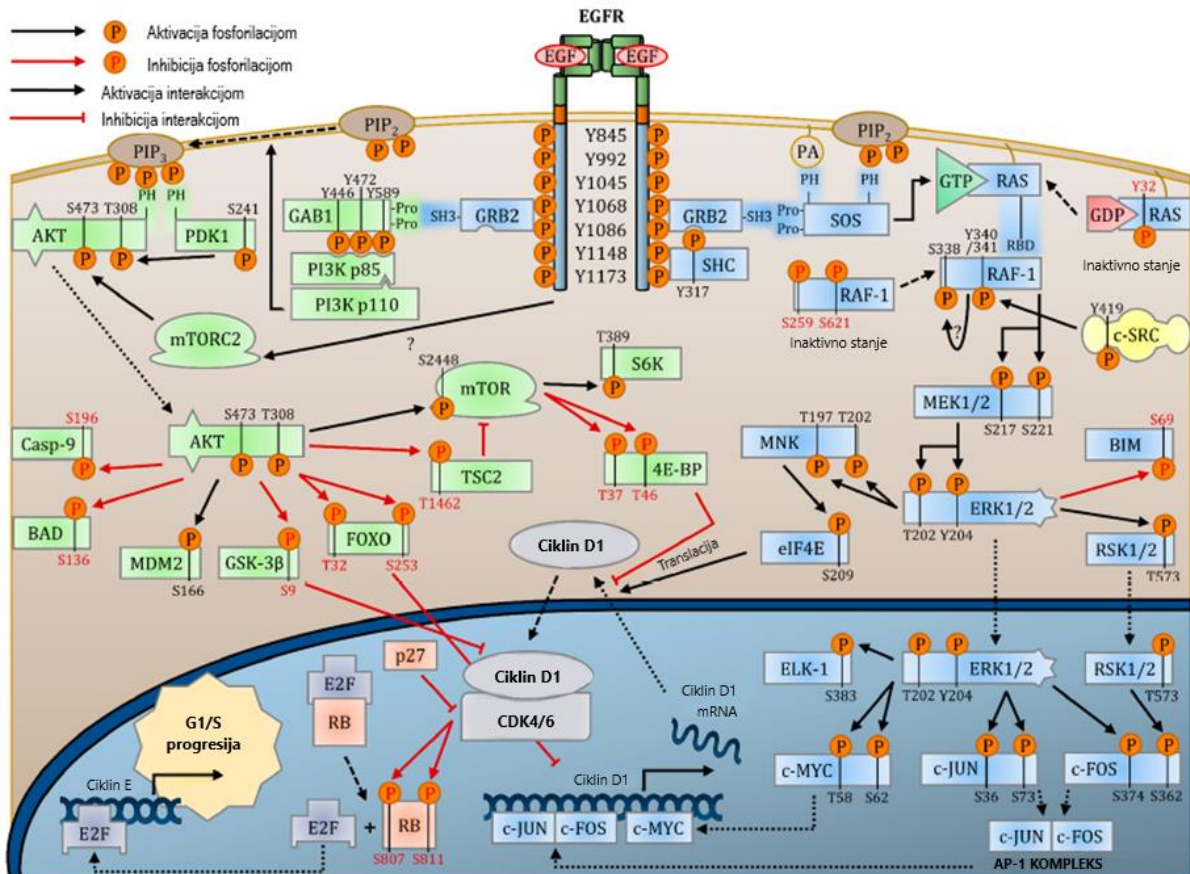
4.1.1. RECEPTOR ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA (EGFR)

EGFR receptor pripada grupi protein-tirozin kinaza te je među najistraživanijim predstavnicima skupine zbog svoje uloge u inicijaciji signalizacije. EGFR je jedan od četiri receptorske protein-kinaze u ErbB porodici proteina, poznat i kao HER1 ili ErbB1. Drugi predstavnici skupine su HER2 (ErbB2, NEU), HER3 (ErbB3) i HER4 (ErbB4). Navedeni receptori sudjeluju u patogenezi velikog udjela raka dojke i raka pluća nemalih stanica (NSCLC). Otprilike 20% raka dojke su HER2 pozitivni, a povećanu ekspresiju EGFR ima 40 – 80% NSCLC, ovisno o histologiji (Roskoski, 2019; Herbst 2004).

Struktura EGFR može se podijeliti na 5 funkcionalnih dijelova:

- 1) N-kraj,
- 2) ekstracelularni dio za vezanje liganda i dimerizaciju,
- 3) transmembranski hidrofobni dio,
- 4) unutarstanična tirozin-kinaza,
- 5) C-kraj (Wee i Wang, 2017).

Signalizacija započinje vezanjem liganda za N-terminalni kraj što potiče konformacijsku promjenu receptora te dimerizaciju pomoću dimerizacijske ruke (Slika 2). Sedam liganada se veže za EGFR, a to su epidermalni faktor rasta (EGF), faktor rasta sličan EGF-u koji veže heparin, transformirajući faktor rasta- α , amfiregulin, epiregulin, betacelulin i epigen. Nakon dimerizacije dolazi do transautofosforilacije, odnosno međusobne fosforilacije tirozinskih ostataka na C-kraju obaju receptora. Fosforilirani tirozinski ostaci služe kao mjesta vezanja proteina koji sadrže ostatke koji vežu fosfotirozin (SH-2 i PTB domene). Signal se zatim šalje nizvodno različitim signalnim putevima, ovisno o vezanom ligandu (Wee i Wang, 2017).



Slika 2. Signalni put EGFR (prilagođeno prema Wee i Wang, 2017)

4.1.2. INHIBITORI RECEPTORA ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA

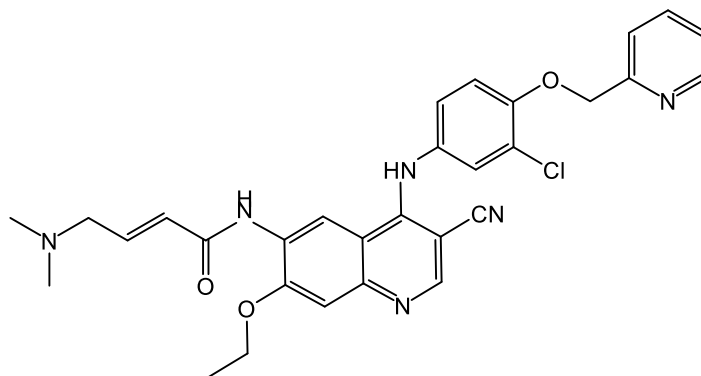
Inhibitore EGFR-a možemo podijeliti prema mjestu vezanja za receptor. Cetuksimab i panitumumab monoklonska su protutijela koja vezivanjem ekstracelularno za receptor sprječavaju vezanje liganda te posljedično i dimerizaciju receptora, autofosforilaciju te daljnju transdukciju signala (Herbst, 2004).

Drugu i veću skupinu inhibitora tirozin-kinaza čine male molekule (*engl.* tyrosine kinase inhibitors, TKI) koji djeluju intracelularno vežući se na vezno mjesto za ATP te tako sprječavaju autofosforilaciju i transdukciju signala. Ovoj skupini pripadaju afatinib, dakomitinib, erlotinib, gefitinib i osimertinib odobreni za terapiju NSCLC te lapatinib i neratinib za liječenje HER2+ raka dojke. Razlikujemo TKI prve generacije kao što su erlotinib i gefitinib koji se reverzibilno vežu za receptor dok se TKI druge generacije vežu ireverzibilno kovalentno, a to su primjerice neratinib, afatinib i dakomitinib. Uz navedene trenutno se razvijaju treća i četvrta generacija inhibitora (Andrews Wright i Goss, 2019; Roskoski, 2019).

4.1.2.1. NERATINIB

Neratinib je inhibitor tirozin-kinaze druge generacije pod posebnim praćenjem. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) odobrila ga je 2017., a Europska agencija za lijekove (EMA) 2018. za produljeno adjuvantno liječenje odraslih bolesnika s rakom dojke s prekomjernom ekspresijom HER2 u ranoj fazi kod kojih je adjuvatno liječenje koje se temelji na trastuzumabu završilo prije manje od godinu dana. FDA je 2020. odobrila primjenu neratiniba u kombinaciji s kapecitabinom za liječenje odraslih bolesnika s uznapredovalim ili metastatskim HER2+ rakom dojke koji su ranije bili na dvije ili više anti-HER2 terapija (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

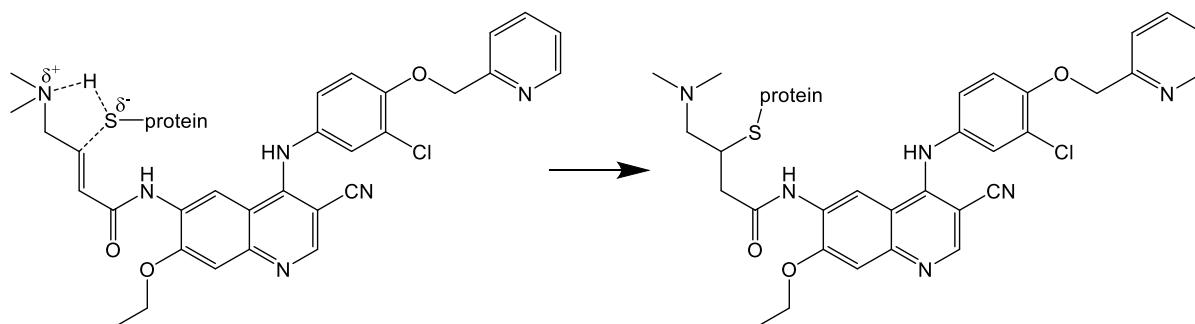
Strukturno neratinib pripada skupini kinolina, a točnije on je 6,7-disupstituirani-4-anilinokinolin-3-karbonitril (Slika 3), a djeluje kao dvojni ireverzibilni inhibitor EGFR i HER2. Kao i ostali TKI oralno je bioraspoloživ, a na receptor se veže na vezno mjesto za ATP. Osnova strukture je kinolin s cijano skupinom na položaju 3 kinolinskog prstena. Na položaju 4 nalazi se 3-klor-4-(2-piridilmetoksi)anilinska skupina, na položaju 6 4-dimetilamino-*trans*-but-2-enoilamidna skupina te etoksi skupina na položaju 7 (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).



Slika 3. Neratinib

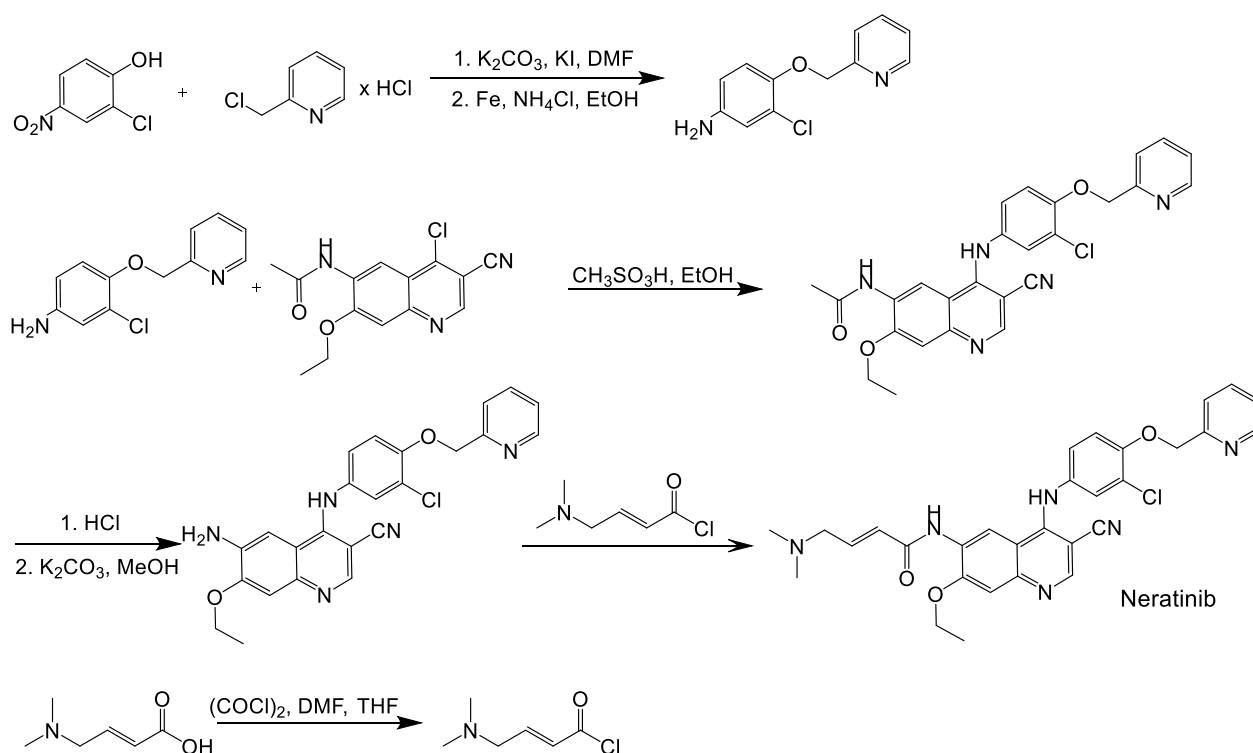
Veliku ulogu u vezanju na metu ima α,β -nezasićeni amid na položaju 6 kinolina. To je Michaelov akceptor koji stupa u interakciju sa sulfhidrilnom skupinom cisteina u veznom mjestu za ATP te tvori kovalentnu vezu. Wissner i sur. istraživali su 2003. g. kinoline te odnos strukture i djelovanja (*engl.* structure-activity relationship, SAR) dizajniranih spojeva. Pokazalo se da je 4-dialkilaminobut-2-enamid značajno reaktivniji od but-2-enamida te da dialkilirana amino skupina povećava reaktivnost i topljivost u vodi što dovodi do poboljšanja

bioloških svojstava. Dvije su teze ispitane kao objašnjenje ovakvog učinka: prva je da u fiziološkim uvjetima dialkilamino skupina biva protonirana rezultirajući pozitivnim nabojem na dušiku što induktivnim efektom povećava elektrofilnost dvostruke veze. Druga, sudeći po rezultatima eksperimenata i vjerojatnija, je da dialkilamino skupina djeluje kao intramolekularni bazični katalizator Michaelove reakcije odcjepljujući proton iz SH skupine te tvoreći peterociklički prsten (Shema 2). Gledajući položaj 7 kinolina, primijećena je veća potentnost etoksi derivata u odnosu na metoksi derivat. Nadalje, važnu ulogu u povećanju potentnosti, posebice prema HER2, ima dodavanje velike lipofilne skupine u para položaj anilina koja se smješta u dugački hidrofobni džep veznog mjesta za ATP (Wissner i sur., 2003; Tsoui i sur., 2005).



Shema 2. Michaelova adicija na nezasićeni amid neratiniba

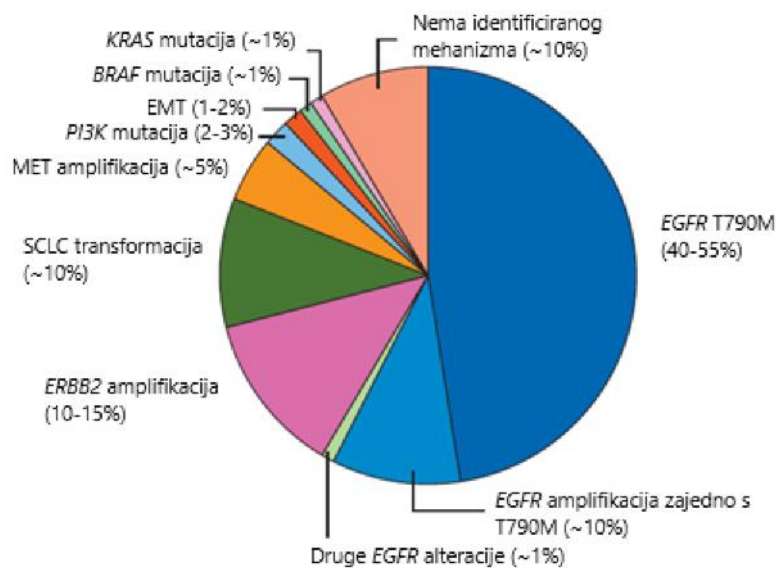
Sinteza neratiniba kreće od 2-kloro-4-nitrofenola i 2-(klormetil)piridin hidroklorida koji u bazičnim uvjetima tvore eter 3-kloro-4-(2-piridinilmetoksi)anilin nakon čega slijedi redukcija nitro skupine u amino skupinu (Shema 3). Tako dobiveni eter reagira s 4-kloro-3-cijano-7-etoksi-6-*N*-acetaminokinolinom na položaju C4 te tvori 4-[3-kloro-4-(2-piridilmetoksi)fenilamino]-3-cijano-7-etoksi-6-*N*-acetilaminokinolin koji se potom deacetilira u kiselim uvjetima te zaluživanjem daje slobodnu bazu. Posljednji korak je dodavanje (*E*)-4-(dimetilamino)but-2-enoil klorida pripravljenog iz odgovarajuće kiseline pomoću oksalil klorida te time nastaje neratinib (Gu i sur., 2012).



Shema 3. Sinteza neratiniba

4.1.2.2. OSIMERTINIB

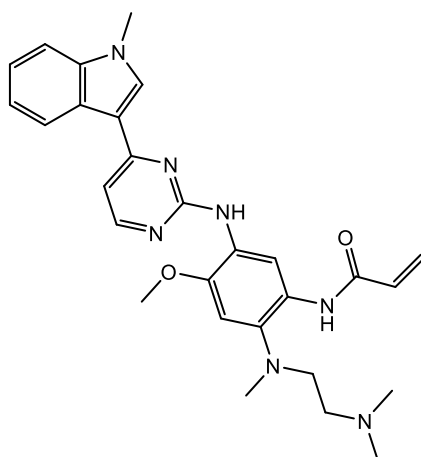
Iako su se prva i druga generacija TKI pokazale uspješnima u terapiji raznih tumora, tumorske stanice razvile su razne mehanizme rezistencije od kojih je najzastupljenija T790M mutacija (Slika 4). T790M mutacija EGFR nastaje promjenom „gatekeeper“ aminokiseline iz treonina u metionin što sterički ometa uklapanje lijekova u hidrofobni džep. Rezistencija tumorskih stanica NSCLC na prvu i drugu generaciju TKI dovela je do razvoja treće generacije TKI čiji je predstavnik osimertinib. Jedini je odobreni TKI treće generacije, a obilježje koje ga razlikuje od dotadašnjih TKI jest selektivno djelovanje na receptor s T790M mutacijom u odnosu na nemutirani receptor (Westover i sur., 2018; Andrews Wright i Goss, 2019).



Slika 4. Mehanizmi stečene rezistencije na prvu i drugu generaciju EGFR TKI (prilagođeno prema Westover i sur., 2018)

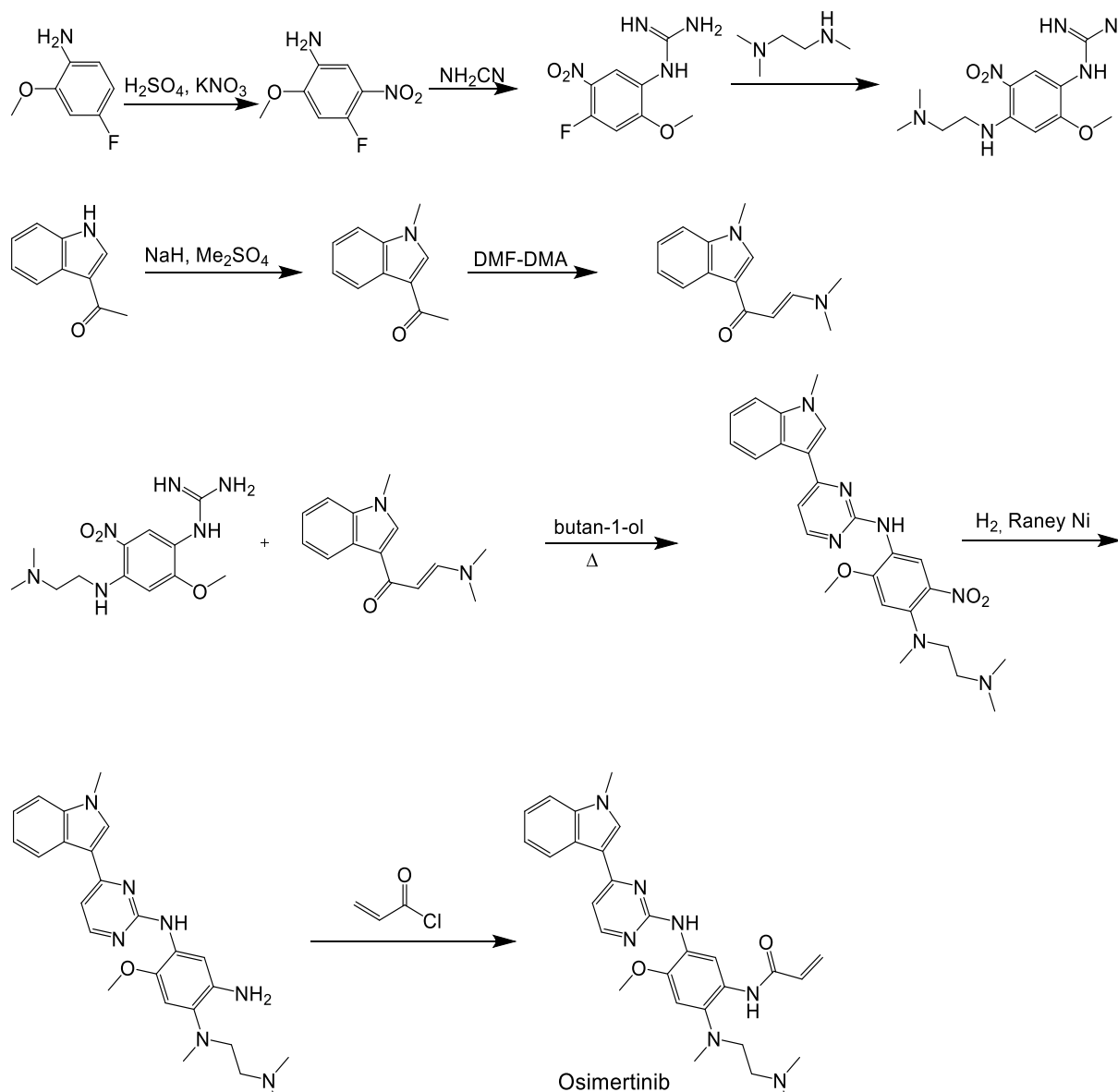
FDA je odobrila stavljanje osimertiniba u promet 2015. g., a EMA ga je inicijalno odobrila 2016. g. za liječenje uznapredovalog i metastatskog NSCLC s T790M mutacijom. Osimertinib je odobren ubrzanim postupkom te je stavljen pod dodatno praćenje (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

Jezgra osimertiniba je anilinopirimidin koji stvara dvije vodikove veze s Met793 (Slika 5). U strukturi sadrži i indolski prsten koji stupa u van der Waalsove interakcije s hidrofobnim lancima aminokiselinskih ostataka receptora. Hidrofobne interakcije slabije su s Thr790 nego s Met790, a upravo zbog toga djeluje na receptore s T790M mutacijom. Ove interakcije omogućavaju bolje pozicioniranje akrilamida koji djeluje kao Michaelov akceptor u reakciji sa sulfhidrilnom grupom cisteina na poziciji 797 u veznom mjestu za ATP (Wang i sur., 2017; Zhai i sur., 2020; He i sur., 2021).



Slika 5. Osimertinib

Sinteza osimertiniba kreće od 4-flor-2-metoksianilina koji nakon tri koraka nitriranja, gvanidinacije i supstitucije daje intermedijer 1-(4-{[2-(dimetilamino)etil]amino}-2-metoksi-5-nitrofenil)gvanidin (Shema 4). Drugi intermedijer, 3-(dimetilamino)-1-(1-metil-1*H*-indol-3-il)prop-2-en-1-on, dobiven je metilacijom 1-(1*H*-indol-3-il)etan-1-ona, a potom kondenzacijom s *N,N*-dimetilformamid-dimetilacetalom. Grijanjem ova dva intermedijera u butan-1-olu nastaje spoj koji nakon katalitičke hidrogenacije i amidacije daje osimertinib (Zhu i sur., 2017).



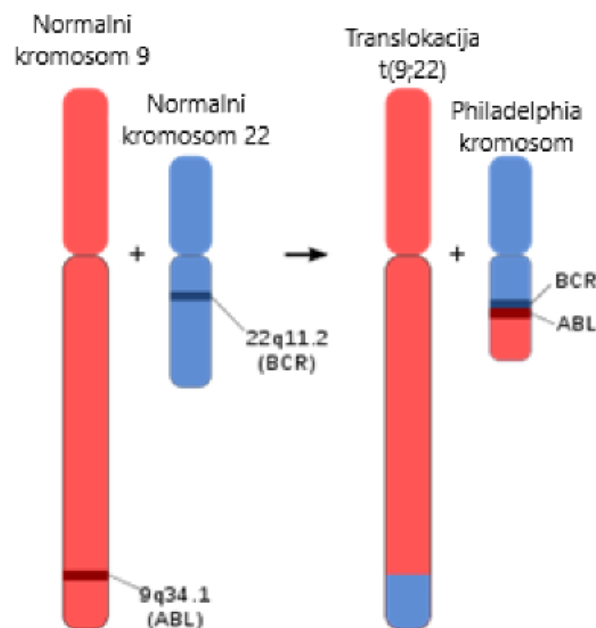
Shema 4. Sinteza osimertiniba

Razvoj treće generacije EGFR TKI velik je uspjeh u borbi protiv tumora s T790M mutacijom, no pronađene su i mutacije kojima tumori stječu rezistenciju na treću generaciju inhibitora i to u periodu 9–13 mjeseci. Najzastupljenija mutacija je C797S koja predstavlja zamjenu cisteina, aminokiseline s kojom osimertinib stvara kovalentnu vezu, serinom što zahtjeva razvoj novih lijekova. Prvi takav istraživani spoj je EAI045, alosterički inhibitor i predstavnik četvrte generacije TKI koji je za sad još u pretkliničkoj fazi (Wang i sur., 2017).

4.2. INHIBITORI BCR-ABL KINAZE

4.2.1. BCR-ABL KINAZA

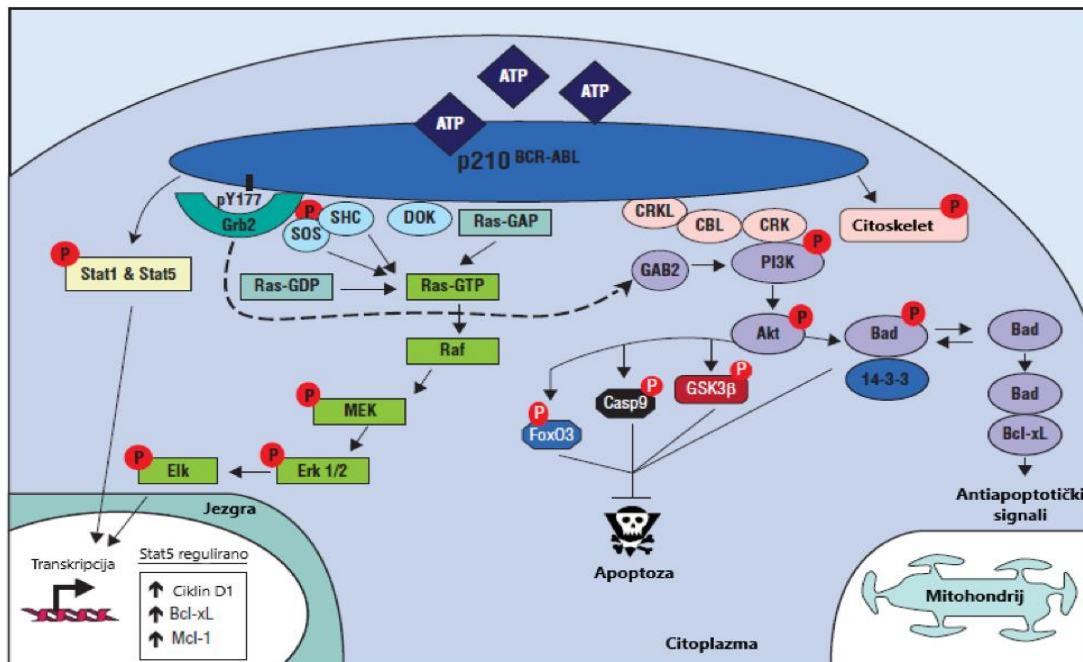
Patogeneza mijeloične leukemije sadržana je u mutaciji matične stanice kojom nastaje leukemična matična stanica (*eng.* leukemic stem cell, LSC). Mutirana matična stanica nekontrolirano prolifera i diferencira u krvne stanice koje sadrže mutaciju, a dolazi i do nakupljanja nezrelih progenitora, tzv. blast stanica. U većini slučajeva kronične mijeloične leukemije (CML) te u 20–30% slučajeva akutne limfoblastične leukemije uzrok je kromosomska translokacija između kromosoma 9 i 22 kojom nastaje tzv. Philadelphia kromosom (Slika 6). Geni koji sudjeluju u translokaciji su *abl* na kromosomu 9 koji kodira za Abelsonovu tirozin-kinazu te *bcr* na kromosomu 22 koji kodira za protein regije prekida klastera. Produkt je hibridni gen *bcr-abl* koji kodira hibridnu Bcr-Abl kinazu, a ta mutacija uzrokuje nekontroliranu proliferaciju imunskih stanica (Jordan, 2007; Rossari i sur., 2018, Gupta i sur., 2021).



Slika 6. Nastanak Philadelphia kromosoma (prilagođeno prema www.commonsciencespace.com)

Abl-kinaza inače translocira između jezgre i citoplazme, a spajanje s BCR-om uzrokuje njeno zadržavanje u citoplazmi gdje biva aktivirana raznim čimbenicima te ispoljava daljnje učinke na signalnu kaskadu (Slika 7). Bcr-Abl mutacija također pridonosi raznolikosti protein-

protein vezujućih domena što omogućava interakciju s više nizvodnih meta uključenih u stanični rast i preživljavanje (Hazelhurst i sur., 2009).



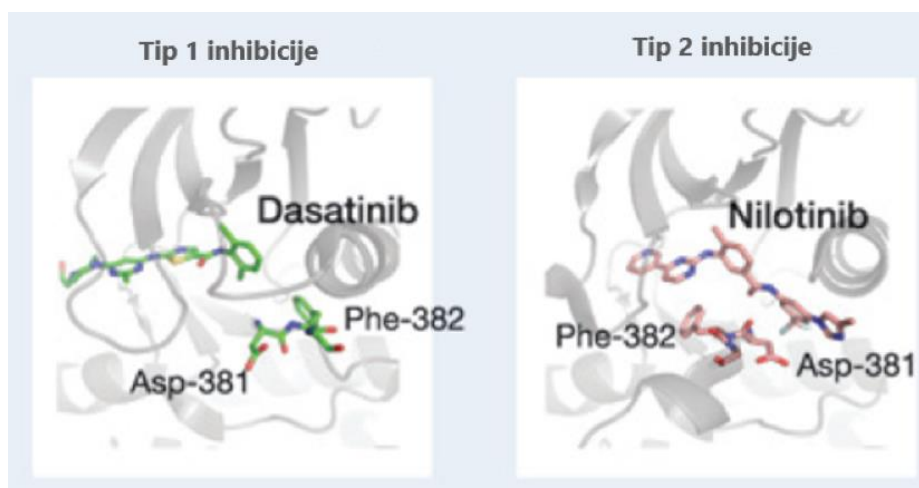
Slika 7. Signalni put Bcr-Abl kinaze (prilagođeno prema Hazelhurst i sur., 2009)

4.2.2. INHIBITORI BCR-ABL KINAZE

Zlatni standard u liječenju CML je imatinib, a djeluje kao kompetitivni inhibitor Bcr-Abl kinaze natječući se za vezanje s ATP-om. Terapija imatinibom kod jedne trećine pacijenata ne uspije, a razlog rezistencije mogu biti mehanizmi nepovezani s Bcr-Abl kinazom, primjerice povećan efluks lijeka iz stanice. Drugi razlog izostanka odgovora na terapiju su točkaste mutacije u kinaznoj domeni Bcr-Abl što ometa vezanje imatiniba. Rješenje za mutacije u genu pokušalo se pronaći u drugoj i trećoj generaciji inhibitora Bcr-Abl kinaze. Odobreni lijekovi druge generacije su nilotinib, dasatinib i bosutinib koji su se pokazali efikasnim u liječenju većine vrsta raka rezistentnih na imatinib. Ipak, inhibitori druge generacije nisu bili uspješni kod tumora s T315I „gatekeeper“ mutacijom te je ciljano za ovu mutaciju dizajniran ponatinib, predstavnik treće generacije inhibitora Bcr-Abl kinaze (Rossari i sur., 2018).

Dvije su vrste inhibicije Bcr-Abl kinaze (Slika 8). Imatinib i nilotinib su inhibitori tipa 2, a vežu se za enzim u inaktivnoj konformaciji dok se dasatinib, inhibitor tipa 1, veže za enzim u aktivnoj konformaciji. Pošto su aktivne konformacije većine kinaza poprilično slične za očekivati je bilo da će inhibitori koji se vežu za enzim u aktivnoj konformaciji biti manje

specifični. Tako dasatinib osim na Bcr-Abl kinazu djeluje i na primjerice Src, Tec i Csk kinaze. Naknadno se ipak pokazalo da postoje inhibitori tipa 1 specifičniji od inhibitora tipa 2, kao i promiskuitetni inhibitori tipa 2, što znači da više faktora utječe na specifičnost djelovanja lijeka na određenu kinazu (Hantschel i sur., 2012).



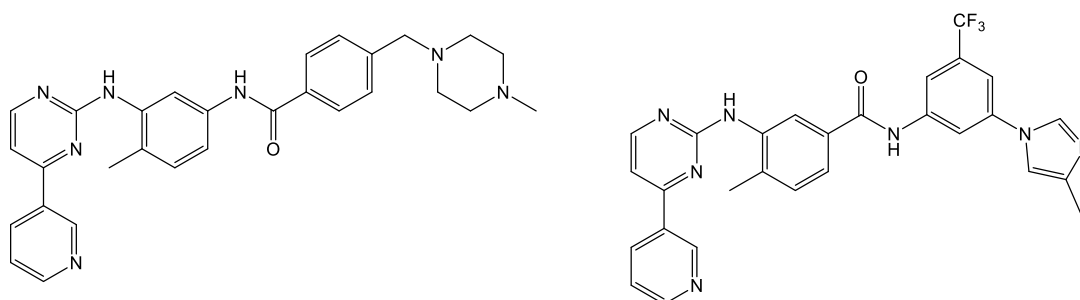
Slika 8. Vrste inhibicije Bcr-Abl kinaze (prilagođeno prema Hantschel i sur., 2012)

4.2.2.1. NILOTINIB

Nilotinib je EMA prvi puta odobrila 2006., a FDA 2007. kao oralno dostupan lijek siroče za odrasle i pedijatrijske pacijente s novodijagnosticiranom kroničnom mijeloičnom leukemijom pozitivnom na Philadelphia kromosom u kroničnoj fazi te pacijente koji su intolerantni ili su razvili rezistenciju na imatinib (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

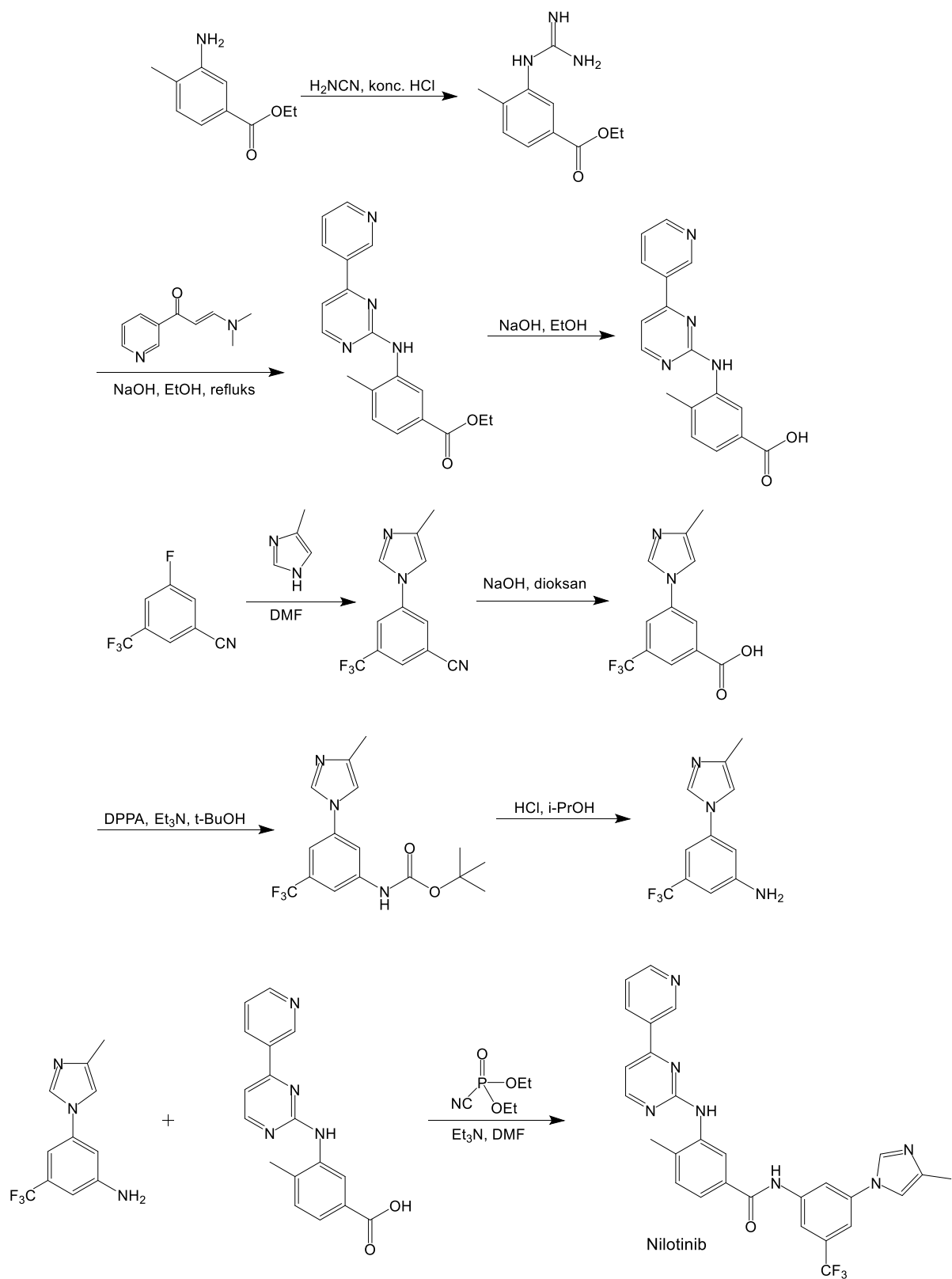
Razvijen iz imatiniba iz potrebe za nadilaženjem tumorske rezistencije, nilotinib je strukturni analog imatiniba s fenilaminopirimidinskom osnovom i nekoliko strukturnih promjena bitnih za djelovanje (Slika 9). Imatinib se piridin-pirimidinskim fragmentom smješta u adeninski džep u veznom mjestu za ATP. Metilfenilna skupina se smješta nasuprot „gatekeeper“ aminokiselini Thr315, dok se metilpiperazinilna skupina pretežno nalazi u džepu specifičnosti. Imatinib stvara četiri vodikove veze s okosnicom enzima preko dušika iz piridinskog prstena, karbonilnog kisikova atoma, te NH-skupina iz anilina i amida. U hidrofobnim interakcijama sudjeluju aromatski prstenovi. Kod nilotiniba su piperazin i fenil zamijenjeni *N*-arilimidazolom, a dodana je i trifluorometilna skupina. Viši afinitet nilotiniba proizlazi iz CF₃ skupine i imidazola koji sudjeluju u van der Waalsovima interakcijama s

aminokiselinskim ograncima enzima što omogućuje bolje pozicioniranje molekule lijeka u džep specifičnosti (Kalinichenko i sur. 2019).



Slika 9. Imatinib (lijevo) i nilotinib (desno)

Prvi korak u sinteza nilotiniba je stvaranje gvanidina iz etil-3-amino-4-metilbenzoata i cijanamida u kiselim uvjetima. Sljedeći korak je kondenzacija enona i nastalog gvanidina čime nastaje 2-aminopirimidinska jezgra nilotiniba. Zatim slijedi hidroliza etilnog estera u odgovarajuću karboksilnu kiselinu koja u posljednjem koraku sinteze spajanjem s anilinskim fragmentom pomoću dietil-fosforocijanidata daje nilotinib. Anilinski fragment nastaje u četiri koraka, a započinje reakcijom nukleofilne aromatske supstitucije između 3-fluor-5-trifluorbenzonnitrila i 4-metilimidazola. Slijedi hidroliza nitrila u karboksilnu kiselinu te zatim Curtiusovo preslagivanje u *tert*-butilu i difenilfosforil azidu (DPPA) kojim nastaje zaštićeni anilin. U posljednjem koraku sinteze željenog anilinskog fragmenta provodi se kiselo katalizirana deprotekcija (Huang i Shakespeare, 2007.; Deadman i sur., 2013.).

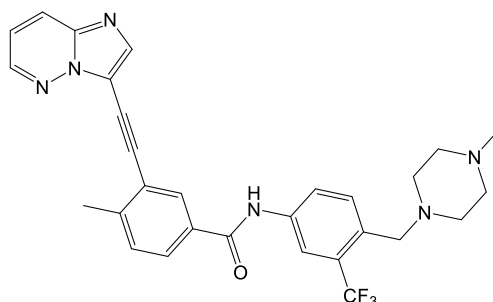


Shema 4. Sinteza nilotiniba

4.2.2.2. PONATINIB

Neupitna uspješnost imatiniba i nilotiniba nažalost ograničena je djelovanjem samo na divlji tip Bcr-Abl kinaze. Za njihovo vezanje na enzim bitna je konzervirana „gatekeeper“ aminokiselina te stoga ne djeluju na Bcr-Abl kinazu s „gatekeeper“ mutacijom T315I. Iz toga je proizašla potreba za pronalaženjem inhibitora koji će djelovati na enzim s navedenom mutacijom. FDA je tako 2012. prvi puta odobrila ponatinib, a EMA godinu kasnije kao niskomolekularni oralno dostupan inhibitor divljeg i mutiranog tipa Bcr-Abl kinaze. Indiciran je za liječenje odraslih bolesnika s kroničnom mijeloičnom leukemijom (CML) i akutnom limfoblastičnom leukemijom s pozitivnim Philadelphia kromosomom kod nepodnošenja ili rezistencija na imatinib ili dasatinib te kod T315I mutacije. Lijek je na naše tržište došao ubrzanom procjenom te se nalazi pod dodatnim praćenjem, a ima i status orphan lijeka (Wang i sur., 2014; www.ema.europa.eu; www.drugs.com).

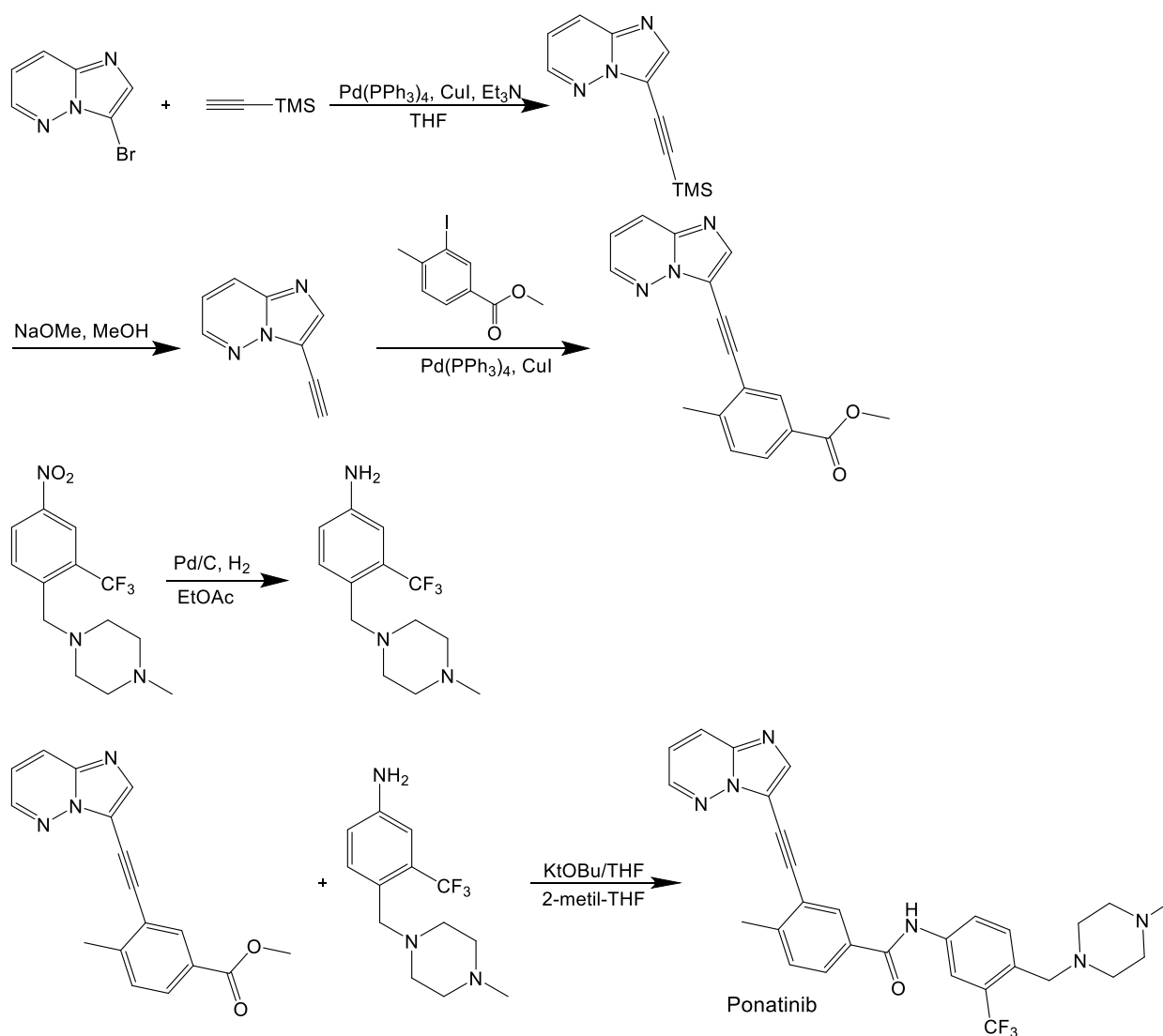
Osnova strukture ponatiniba je benzamid (Slika 10), a glavna karakteristika je ta da, za razliku od imatiniba ili nilotiniba, ne stvara vodikovu vezu s mutiranom „gatekeeper“ aminokiselinom te tako nadvladava rezistenciju na imatinib. Nekoliko je skupina na molekuli ponatiniba važno za vezanje na enzim, a kao ključna modifikacija zbog koje djeluje na T315I navodi se etinilna poveznica između metilfenila i imidazo(1,2-*b*)piridazina. Amidna skupina također je važna za vezanje na enzim, kao i piperazin koji sudjeluje u vodikovim vezama s okosnicom enzima. Trifluorometilna skupina sudjeluje u hidrofobnim interakcijama dok imidazo(1,2-*b*)piridazin sudjeluje u van der Waalsovima interakcijama kao i u stvaranju vodikove veze (Zhou i sur., 2010).



Slika 10. Ponatinib

Sinteza ponatiniba također obuhvaća sintezu dva intermedijera koji u posljednjem reakcijskom koraku međusobno reagiraju dajući konačni produkt. Sinteza prvog fragmenta odvija se u tri koraka (Shema 5). Prvi i treći korak su Sonogashira reakcije između alkina i aril

halida katalizirane paladijem i bakrom. Konkretno, u prvom koraku reagiraju 3-bromimidazo(1,2-*b*)piridazin i etiniltrimetilsilan dok se u drugom koraku provodi desililiranje u bazičnim uvjetima. Treći korak je Sonogashira reakcija između 3-etinilimidazo(1,2-*b*)piridazina, nastalog desililiranjem, i aril halida ponovno uz bakar i paladij kao katalizator čime nastaje jedan intermedijer. Anilinski intermedijer nastaje u jednom koraku, katalitičkim hidrogeniranjem nitro skupine uz paladij na ugljiku kao katalizator. Posljednji korak je bazno katalizirana reakcija dva dobivena intermedijera u bezvodnim uvjetima kako bi se izbjegla hidroliza estera. Produkt reakcije je slobodna baza ponatiniba (Murray i sur., 2014).

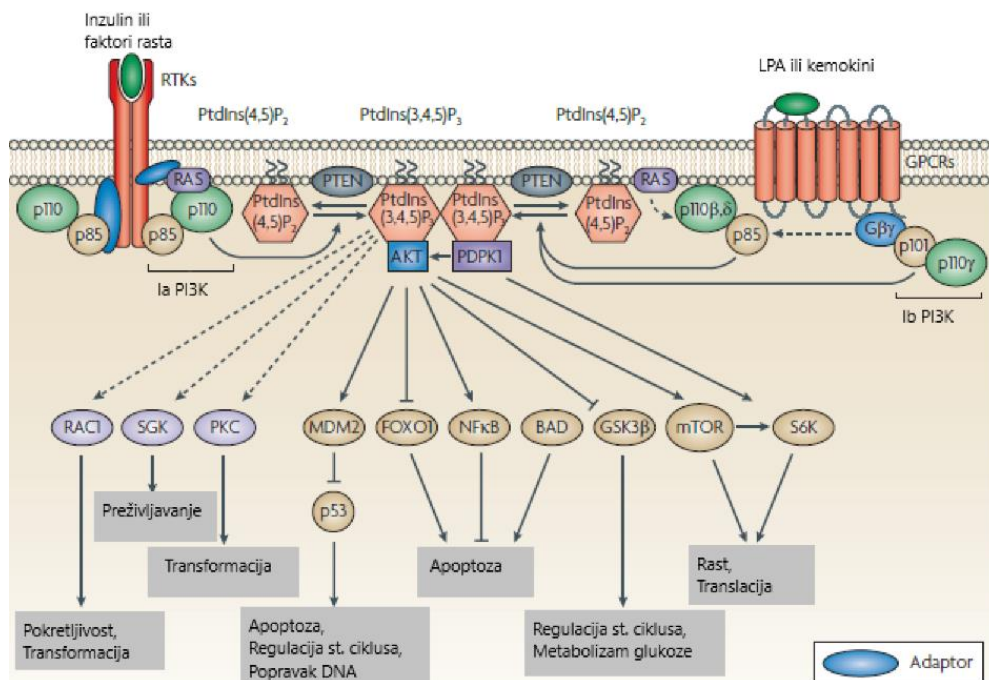


Shema 5. Sinteza ponatiniba

4.3. INHIBITORI FOSFOINIZITID-3-KINAZE

4.3.1. FOSFOINOZITID-3-KINAZA (PI3K)

Porodicu fosfoinozimid-3-kinaza dijelimo u 3 grupe: Ia, Ib, II i III, a od interesa će nam biti grupa I. PI3K citoplazmatske su kinaze, a sastoje se od regulatorne i katalitičke podjedinice. Geni PIK3CA, PIK3CB i PIK3CD kodiraju za p110 α , p110 β i p110 δ katalitičke podjedinice enzima Ia grupe dok gen PIK3CG kodira podjedinicu p110 γ enzima Ib skupine. Pomoću SH-domena na svojim regulatornim podjedinicama vežu se za fosfotirozinske ostatke aktiviranih receptorskih protein-kinaza te se na taj način aktiviraju (Slika 11). Katalitička podjedinica PI3K zatim fosforilira fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (PIP₂), membranski fosfolipid, čime nastaje fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat (PIP₃). Fosforilacija PIP₂ aktivira mnoge efektorske molekule od kojih je najvažniji put AKT kinaze. Aktivacija AKT kinaze rezultira fosforilacijom drugih staničnih proteina koji reguliraju stanični rast, ulazak stanice u stanični ciklus i stanično preživljavanje. Prekomjerna aktivacija puta PI3K primijećena je u brojnim tumorima kao i u dijabetesu tipa II (Cantley, 2002; Liu i sur., 2009; Furet i sur., 2013).



Slika 11. Signalni put PI3K (prilagođeno prema Liu i sur., 2009)

4.3.2. INHIBITORI PI3K

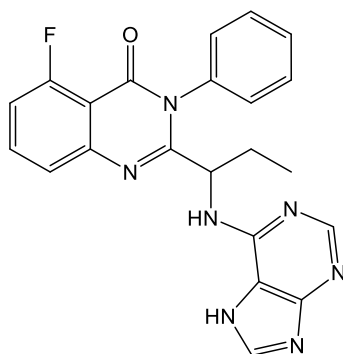
Prilikom istraživanja inhibitora PI3K ustanovljeno je da spojevi sa širim spektrom meta, odnosno spojevi koji djeluju na više PI3K izoformi imaju i lošiji profil nuspojava stoga su istraživanja nastavljena u smjeru traženja inhibitora specifičnih za određene izoforme. Ovisno o izoformi enzima na koji djeluju, inhibitori su učinkoviti u različitim indikacijama (Furet i sur., 2013).

Trenutno na europskom tržištu imamo četiri odobrena inhibitora PI3K: duvelisib i idelalisib koji su indicirani za liječenje kronične limfocitne leukemije i folikularnog limfoma, kopanlisib za liječenje limfoma marginalne zone te alpelisib za liječenje raka dojke u muškaraca i HR-pozitivnog, HER2-negativnog raka dojke u postmenopausalnih žena. Ovi lijekovi obično nisu prva linija terapije već se uvode ako bolest nije reagirala na prijašnju terapiju (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

4.3.2.1. IDELALISIB

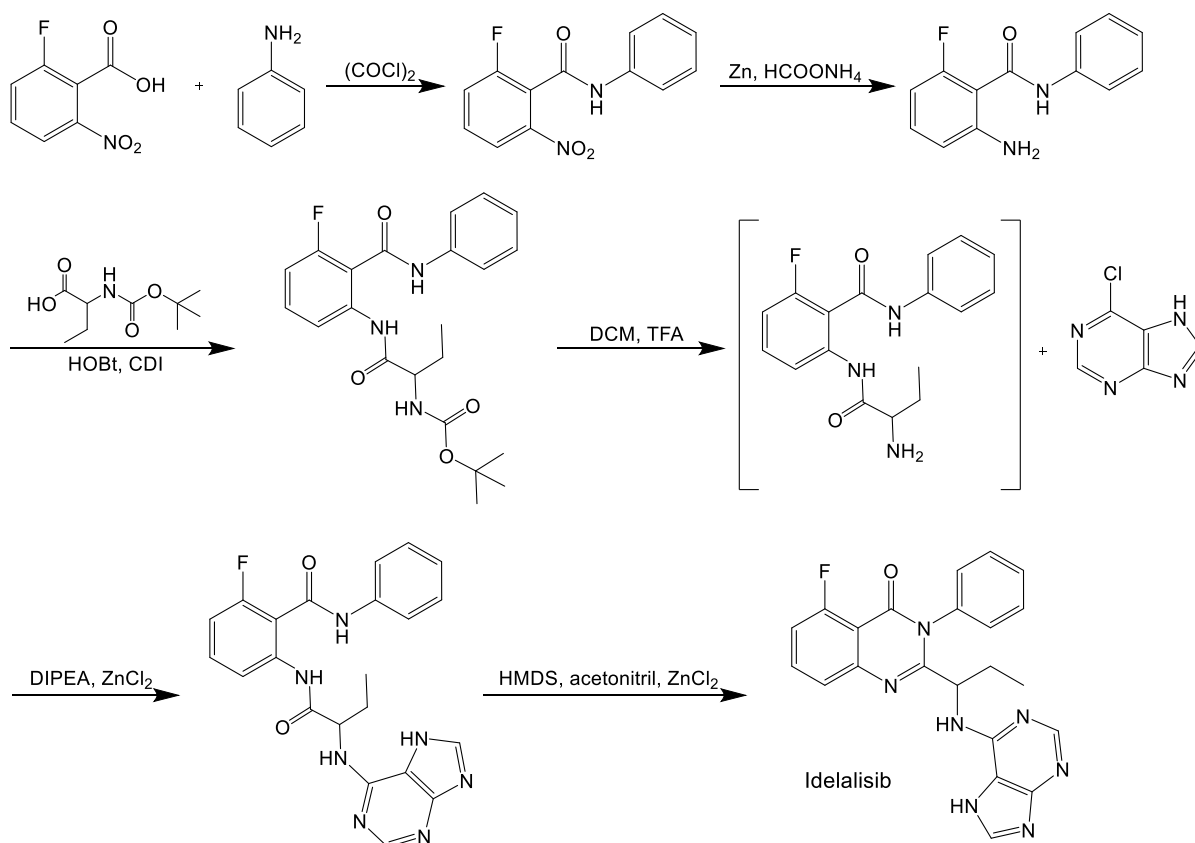
Idelalisib odobren je 2014. u Europi i SAD-u u kombinaciji s rituksimabom za liječenje odraslih pacijenata s kroničnom limfocitnom leukemijom koji su ranije liječeni barem jednom drugom terapijom te u monoterapiji za liječenje folikularnog limfoma koji je refraktoran na dvije prijašnje terapije. Lijek je oralno dostupan te se nalazi pod dodatnim praćenjem (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

Svojom strukturom idelalisib pripada klasi kinazolina (Slika 12). Točnije, on je 3-fenil-5-fluor-kinazolin-4-on s (*S*)-1-(3*H*-purin-6-ilamino)propilom na položaju 2 kinazolina. Selektivan je, nekovalentni i reverzibilni inhibitor PI3K δ , izoforme enzima koja je eksprimirana selektivno u leukocitima. Selektivnost prema δ -izoformi može se dijelom pripisati njegovoj strukturi sličnoj propeleru zbog koje može okupirati i džep specifičnosti. Idelalisib stvara vodikove veze s okosnicom enzima preko N3 i N9 purina dok N7 purina i N1 kinazolina sudjeluju u mreži vodikovih veza s enzimom koja uključuje i molekulu vode (Somoza i sur., 2015).



Slika 12. Idelalisib

Sinteza idelalisiba započinje tretiranjem 2-fluor-6-nitrobenzojeve kiseline oksalil-kloridom pri čemu nastaje acil klorid koji reagira s anilinom dajući 2-fluor-6-nitro-*N*-fenilbenzamid (Shema 6). Zatim slijedi redukcija nitro skupine uz amonijev formijat te cink kao katalizator, a sljedeći korak je sinteza amida iz nastalog amina i 2-[(*tert*-butoksikarbonil)amino]butanoične kiseline uz 1,1'-karbonildiimidazol (CDI) kao *coupling* reagens. Deprotekcijom *tert*-butoksikarbonilne (Boc) zaštitne skupine trifluoroctenom kiselinom (TFA) nastaje amin koji zatim reagira sa 6-klorpurinom. U posljednjem koraku dolazi do ciklizacije i stvaranja kinazolinskog prstena idelalisiba uz reagense 1,1,1,3,3,3-heksametildisilazan (HMDS) i cinkov klorid kako bi se spriječila racemizacija, odnosno kako bi se dobio enantiomer visoke kemijske čistoće (Mekala i sur., 2018).



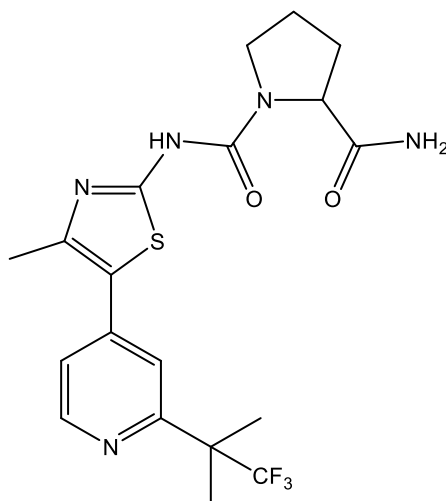
Shema 6. Sinteza idelalisiba.

4.3.2.2. ALPELISIB

Alpelisib odobren je na američkom tržištu 2019., a 2020. na europskom. Oralno je dostupan i nalazi se pod dodatnim praćenjem. Koristi se u kombinaciji s fulvestrantom, nakon što je endokrina monoterapija zakazala, za terapiju HR-pozitivnog, HER2-negativnog raka dojke s PIK3CA mutacijom u postmenopauzalnih žena i muškaraca (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

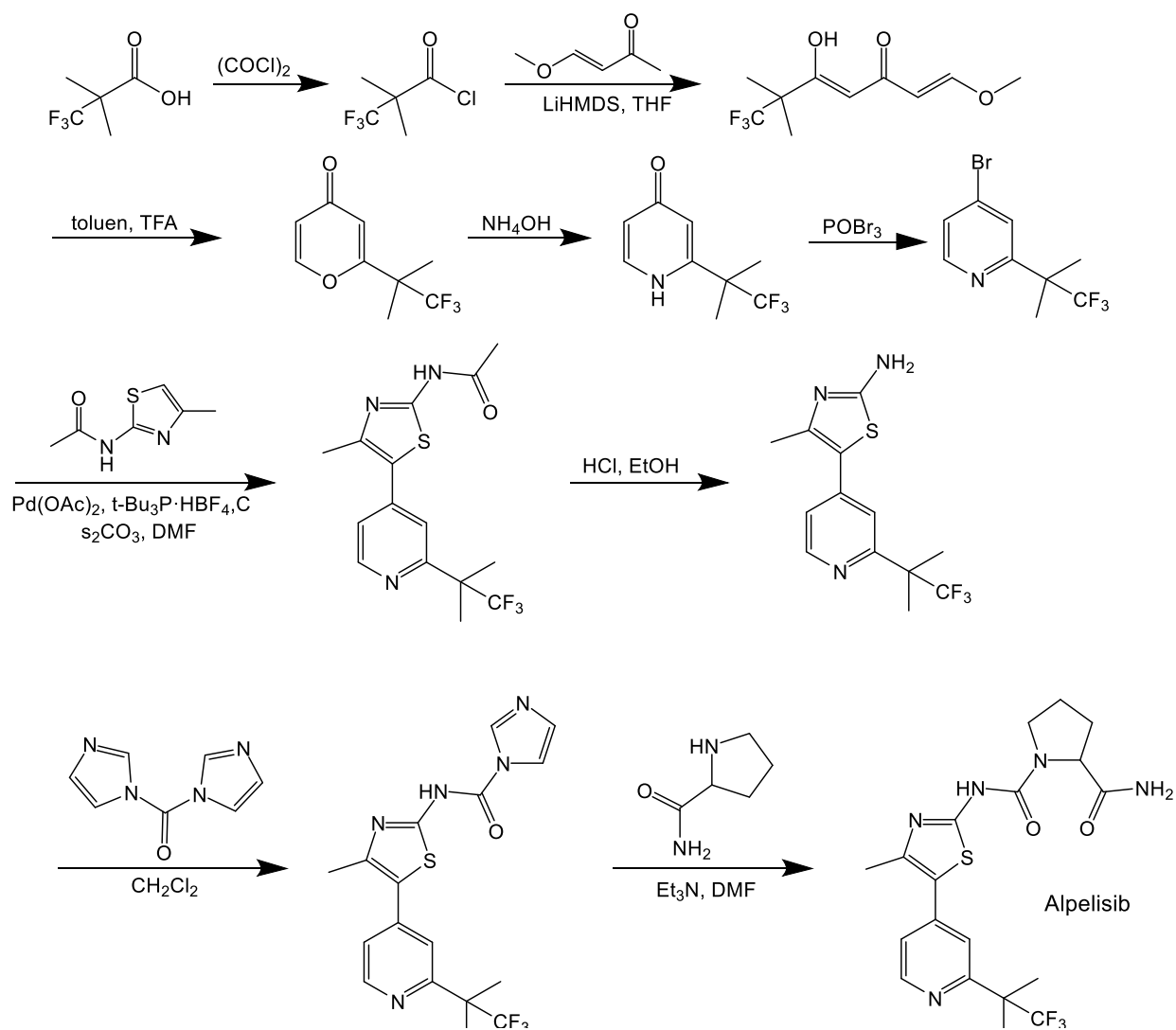
Alpelisib je kompetitivni inhibitor $\text{PI3K}\alpha$, a veže se umjesto ATP-a za katalitičku podjedinicu $\text{p110}\alpha$. Mutacija gena PIK3CA, koji kodira za $\text{PI3K}\alpha$, je najčešće primijećena od svih mutacija gena koji kodiraju za PI3K, a pristupa je u 18–40 % slučajeva raka dojke. Prijašnjim istraživanjima pokazalo se da spojevi koji kao okosnicu sadrže 2-aminotiazol pokazuju selektivnost prema veznom mjestu za ATP α -izoforme. Dodatna selektivnost postigla se povezivanjem 2-aminotiazola sa (S)-pirolidin karboksamidom, odnosno prolinom, preko uree. S ovom osnovnom strukturom dizajniran je i alpelisib, a bitni dijelovi strukture su također i piridin i trifluorometil (Slika 13). Vodikove veze stvaraju se između dušika iz tiazola te

sekundarnog amida i V851 na okosnici enzima. Amidna skupina tvori tri vodikove veze s aminokiselinskim ostacima enzima, a dušik iz piridina sudjeluje u mreži vodikovih veza koja uključuje tri molekule vode i ogranke četiri aminokiseline enzima. Vodikovu vezu s enzimom također tvori i fluor (Furet i sur., 2013).



Slika 13. Alpelisib

Prvi korak u sintezi alpelisiba je stvaranje acil klorida trifluormetil izobutanske kiseline koja u sljedećem koraku reagira s α,β -nezasićenim ketonom u supstituciji posredovanoj litijevim heksametildisilazidom (Shema 7). Nadalje, uz TFA u toluenu dolazi do ciklizacije čime nastaje piron. Tretiranjem dobivenog produkta ciklizacije amonijevim hidroksidom nastaje odgovarajući piridinon čijim bromiranjem fosforil-bromidom nastaje 4-brompiridinski derivat. U reakciji kataliziranoj paladijem u prisustvu tri-*tert*-butilfosfinij-tetrafluorborata 4-brompiridin reagira s acetilaminotiazolom. Potom se provodi hidroliza dobivenog spoja s klorovodičnom kiselinom u etanolu čime nastaje odgovarajući amin. Korištenjem CDI kao *coupling* reagensa prvo nastaje *N*-supstituirani imidazol-1-karboksamid kod kojeg se u posljednjem koraku supstituira imidazol L-prolinamidom te nastaje alpelisib (Gallou i sur., 2012.; Yuan i sur., 2020).



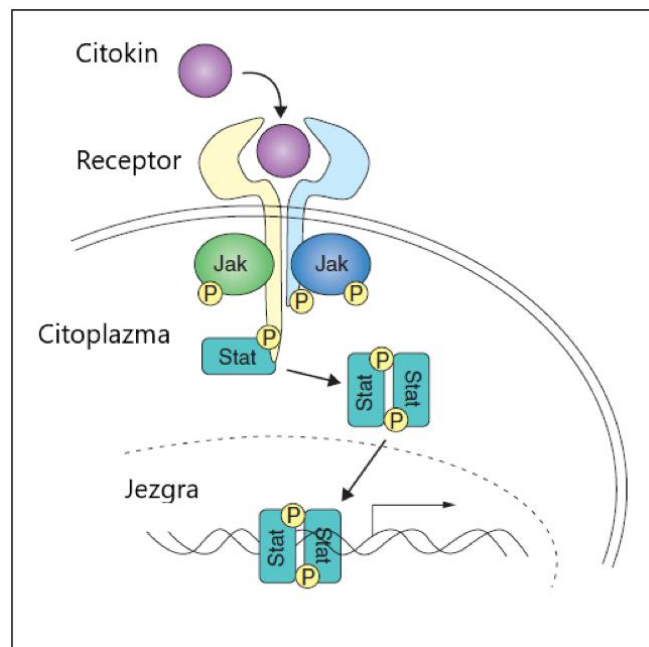
Shema 7. Sinteza alpelisiba

4.4. INHIBITORI JANUS KINAZE

4.4.1. JANUS KINAZA

Porodica Janus kinaza (Jak) pripada nereceptorskim tirozin-kinazama. Kod sisavaca su pronađene četiri Janus kinaze: JAK1, JAK2, JAK3 i TYK2 (tirozin-kinaza 2). Nalaze se u citosolu ili na plazmatskoj membrani vezane za citokinske receptore. Strukturno se sastoje od domena FERM, SH2, inaktivne pseudokinazne te aktivne kinazne domene. Ekspimirane su u svim tipovima stanica osim JAK3 koja je specifična za hematopoetske stanice (Yamaoka i sur., 2004; Furumoto i Gadina, 2013).

JAK/STAT signalni put vrlo je važan za stanično preživljavanje i proliferaciju. Signalizacija započinje vezanjem citokina za receptor što uzrokuje promjenu konformacije receptora (Slika 14). Ta promjena konformacije dovodi do transfosforilacije i/ili autofosforilacije JAK vezanih za receptor. Tako aktivirane JAK fosforiliraju receptore što privlači STAT proteine koji se svojim SH domenama vežu za fosfotirozinske ostatke receptora. JAK zatim fosforiliraju STAT proteine koji potom dimeriziraju te migriraju u jezgru gdje reguliraju gensku ekspresiju. Aberacije JAK/STAT signalnog puta primijećene su u brojnim tumorima kao i u autoimunim bolestima (Yamaoka i sur., 2004).



Slika 14. JAK/STAT signalni put (prilagođeno prema Yamaoka i sur., 2004)

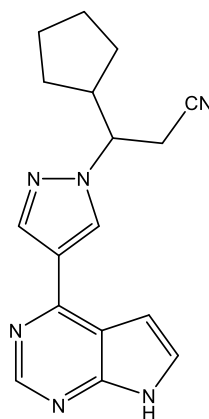
4.4.2. INHIBITORI JANUS KINAZE

S obzirom na to da su JAK sveprisutne u raznim tipovima stanica istraživana je efikasnost inhibitora JAK za raznolike indikacije, od tumora pa do reumatoidnog artritisa, psorijaze, sindroma iritabilnog crijeva ili sprječavanja odbacivanja transplantata. Neki od odobrenih lijekova su: baricitinib, tofacitinib i upadacitinib za liječenje reumatoidnog artritisa te ruksolitinib i fedratinib za liječenje mijelofibroze (www.webmd.com, www.ema.europa.eu, Furumoto i Gadina, 2013).

4.4.2.1. RUKSOLITINIB

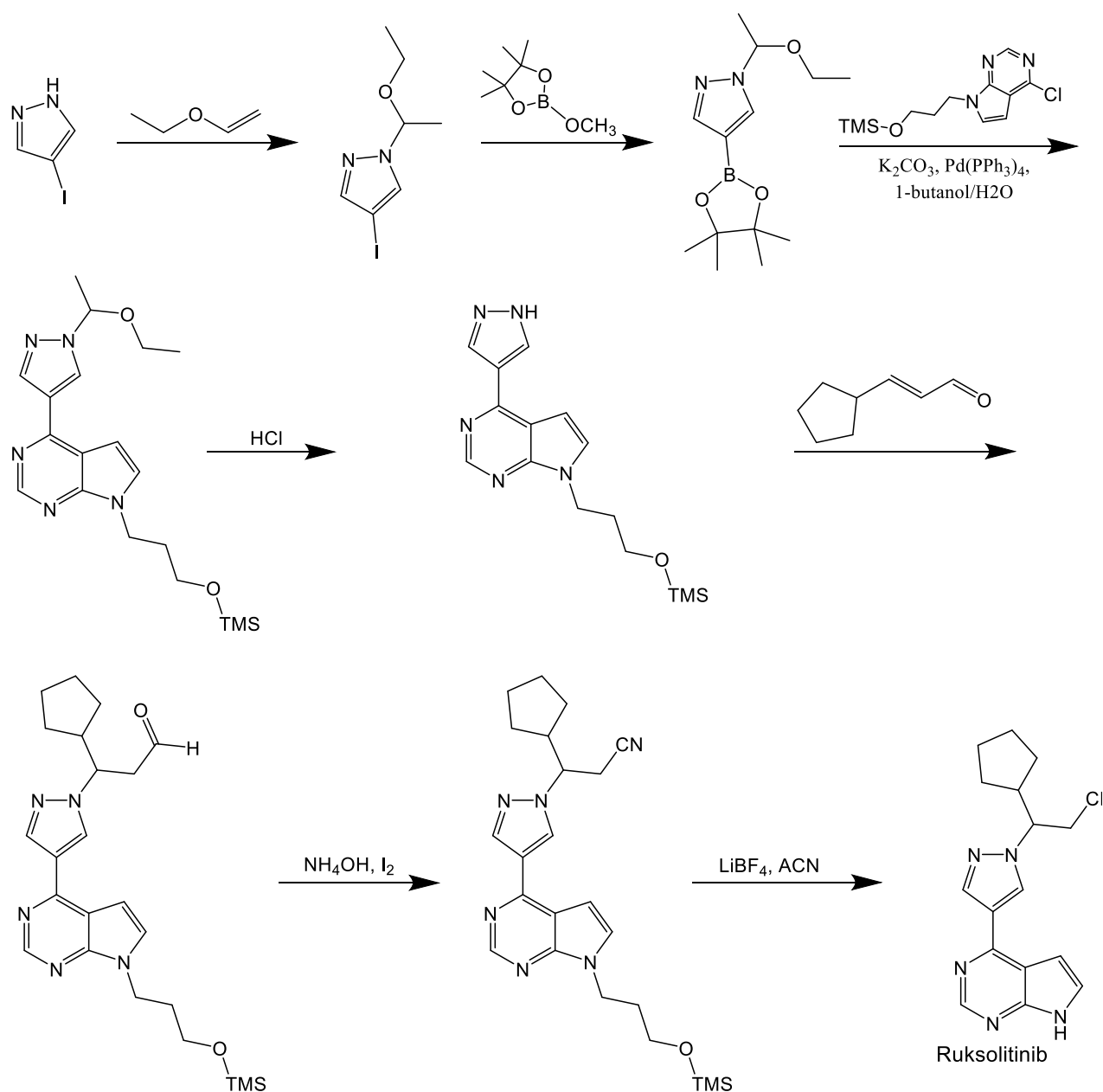
Ruksolitinib oralno je dostupan prvi odobren inhibitor JAK. FDA ga je inicijalno odobrila 2011., a EMA godinu kasnije za liječenje mijelofibroze, s bolešću povezane splenomegalije, mijelofibroze nakon policitemije vere ili nakon esencijalne trombocitemije. Indiciran je i za liječenje policitemije vere kod odraslih bolesnika koji su intolerantni ili ne reagiraju na liječenje hidroksiureom (www.ema.europa.eu, www.fda.gov).

Ruksolitinib je supstituirani pirazol, a sadrži i ciklopentan, propionitril te pirolpirimidin (Slika 15). Na enzimu se smješta u vezno mjesto za ATP gdje tvori dvije vodikove veze i stupa u hidrofobne interakcije. Dvije vodikove veze stvaraju dušici pirolpirimidina s ograncima aminokiselina regije pregiba, a u dodatnu interakciju s enzimom stupa propionitril. Hidrofobni prstenovi ruksolitiniba stupaju u van der Waalsove interakcije s bočnim ograncima aminokiselina. Ruksolitinib potentan je inhibitor JAK1 i JAK2 s kojima ima visoku komplementarnost oblika te zbog bolje orijentacije prstenova s njima stupa u bolju interakciju nego s, primjerice, Src-kinazom (Duan i sur., 2014; Kesarwani i sur., 2015).



Slika 15. Ruksolitinib

Sinteza ruksolitiniba počinje reakcijom 4-jodpirazola s etil-vinil-eterom dajući zaštićeni pirazol (Shema 8). U sljedećem koraku dobiveni spoj reagira s metoksipinakol boratom čime nastaje pirazol pinakol borat. Slijedi Suzukijeva reakcija između dobivenog spoja sa 6-klor-7-dezapurinom zaštićenim trimetilsililnom skupinom (TMS) te zatim hidroliza zaštitne skupine na dušiku pirazola. Aza-Michaelovom reakcijom dobivenog spoja i 3-cikloptil-akrilaldehida nastaje odgovarajući aldehid koji nadalje u vodenoj otopini amonijaka i joda daje nitril. U posljednjem koraku uklanjanjem TMS zaštitne skupine pomoću litijevog tetrafluorborata nastaje ruksolitinib (Coricello i sur., 2020).

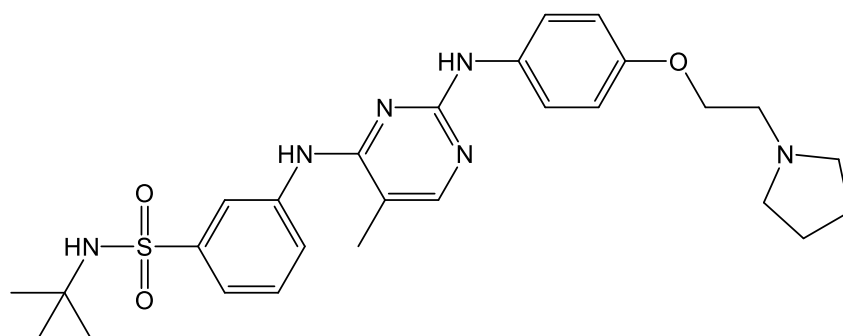


Shema 8. Sinteza ruksolitiniba

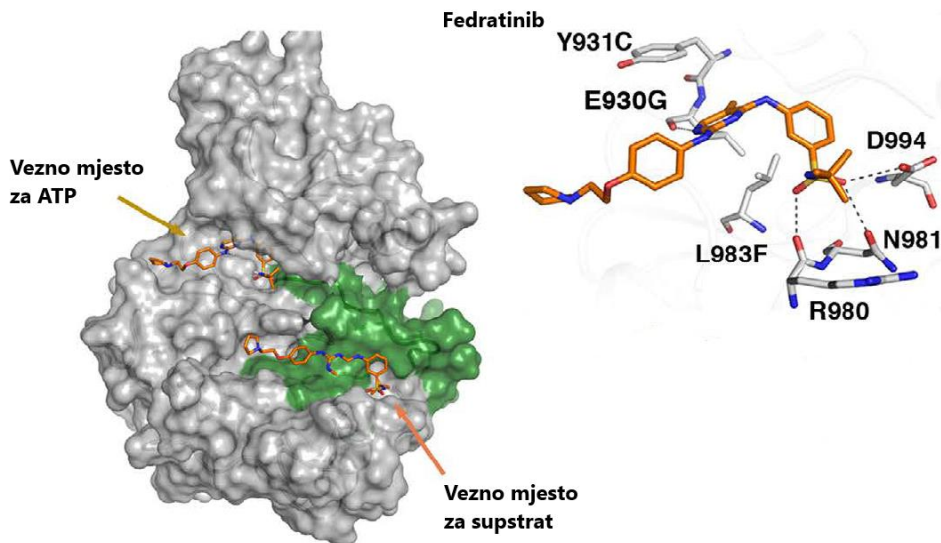
4.4.2.2. FEDRATINIB

Fedratinib je odobren u Europi u veljači 2021. dok je u SAD-u odobren od 2019. Oralno je dostupan, ima status kao lijek siročić te se nalazi pod dodatnim praćenjem u Europi za liječenje splenomegalije povezane s bolešću ili simptomima u odraslih bolesnika s primarnom mijelofibrozom, mijelofibrozom nakon policitemije vere ili nakon esencijalne trombocitopenije kod pacijenata koji nisu prethodno liječeni JAK inhibitorima ili su liječeni ruksolitinibom (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

Otkriće mutacije JAK2V617F koja uzrokuje hiperaktivaciju JAK2 signalnog puta 2005. g. potaknulo je razvoj ciljane terapije usmjerene prema JAK2. Nakon ruksolitiniba, neselektivnog inhibitora JAK1/JAK2, uslijedio je razvoj fedratiniba, inhibitora mutiranog i divljeg tipa JAK2. Otkriveno je da JAK1, JAK3 i TYK2 imaju važnu ulogu u očuvanju imunskog sustava te da neselektivni inhibitori JAK, za razliku od fedratiniba, posjeduju imunosupresivno svojstvo. Dizajniranje selektivnih inhibitora JAK2 temeljilo se na strukturi s ciljem optimiziranja nove serije lijekova s pirimidinskom bazom (Slika 16). Strukturno modeliranje ukazalo je na dvojako vezanje fedratiniba za enzim i to na vezno mjesto za ATP te na vezno mjesto za supstrat (Slika 17). Fedratinib se usidruje na enzim vodikovim vezama s aminokiselinama katalitičkog mjesta i regije pregiba, a upravo svojstvo dvojnog vezanja za supstrat razlog je smanjenoj frekvenciji razvoja mutacija i rezistencije na fedratinib (Kesarwani i sur., 2015; Mullally i sur., 2020).

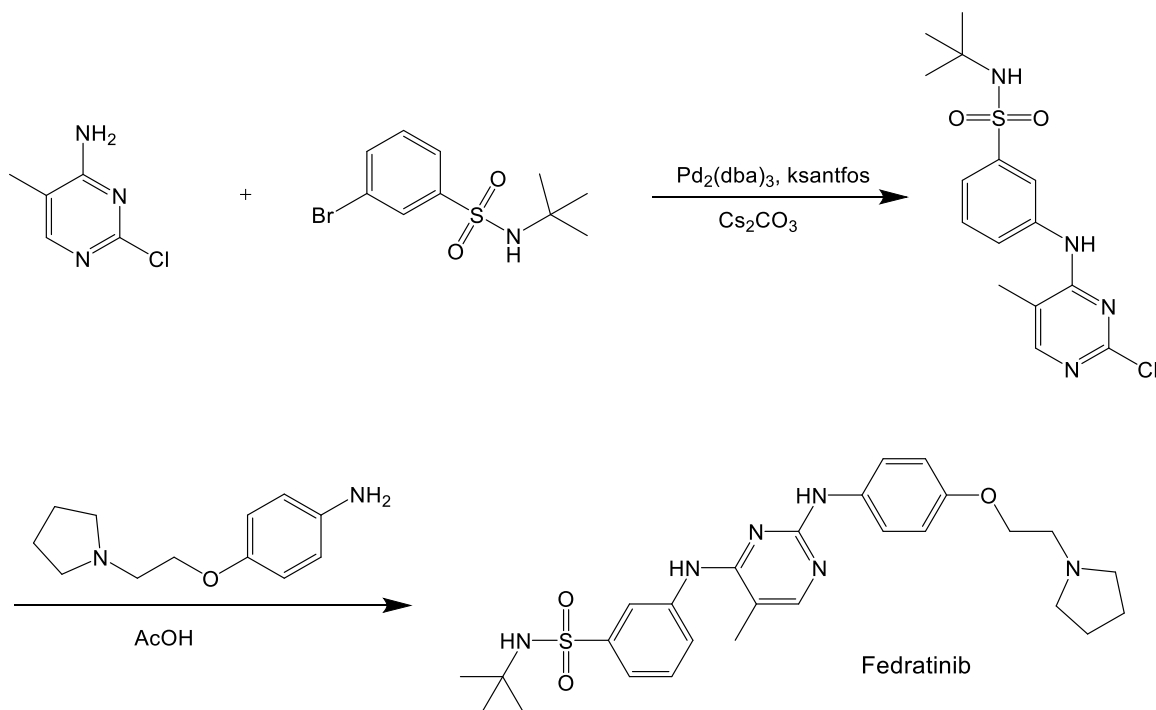


Slika 16. Fedratinib



Slika 17. Dvojako vezanje fedratiniba za enzim (prilagođeno prema Kesarwani i sur., 2015)

Sinteza fedratiniba provodi se u dva koraka (Shema 9). Prvi korak je reakcija supstituiranog aminopirimidina i 3-brom-*N*-(*tert*-butil)benzensulfonamida katalizirana tris(dibenzilidenaceton)dipaladijem uz bidentatni fosfinski ligand ksantfos. Fedratinib nastaje reakcijom nukleofilne aromatske supstitucije dobivenog spoja i 4-(2-pirolidin-1-il)etoksianilina (Yuan i sur., 2020).

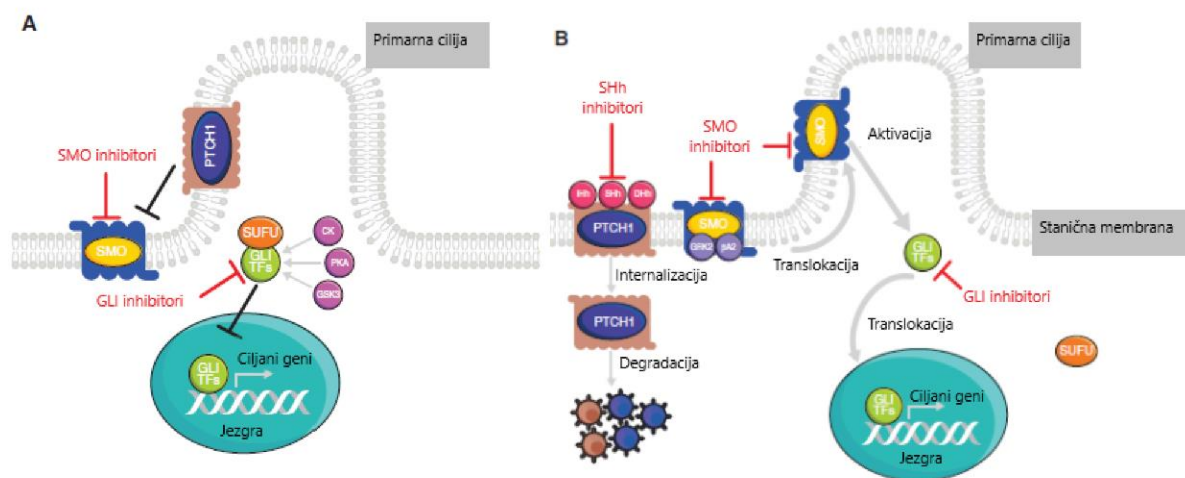


Shema 9. Sinteza fedratiniba

4.5. INHIBITORI HEDGEHOG SIGNALNOG PUTA

4.5.1. HEDGEHOG SIGNALNI PUT

Hedgehog signalni put (Hh) važan je u procesima embrionalnog razvoja kao i u odraslim strukturama, a njegova disregulacija uključena je u patogenezu raznih bolesti. U inaktivnom stanju Patched-1 protein (PTCH1), transmembranski receptor, inhibira interakciju Smoothened proteina (SMO), također transmembranskog receptora, s transkripcijskim faktorima GLI (Slika 18). Aktivacija započinje vezanjem jednog od tri liganda (Sonic Hh, Indian Hh ili Desert Hh) za PTCH1. Tada PTCH1 disocira od SMO te dolazi do akumulacije SMO na primarnoj ciliji. Posljedično se aktiviraju transkripcijski faktori GLI koji odlaze u jezgru gdje utječu na ekspresiju gena uključenih u regulaciju apoptoze, staničnog ciklusa i diferencijacije. Primijećen je i utjecaj SMO inhibitora na smanjenje mirovanja i promoviranje diferencijacije LSC čime ona postaje osjetljiva na standardnu kemoterapiju (Robbins i sur., 2012.; Jamieson i sur., 2020).

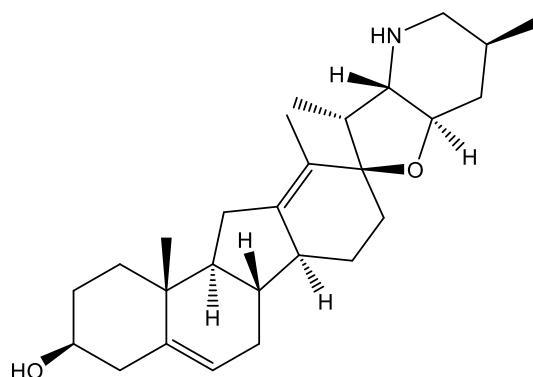


Slika 18. Hedgehog signalni put u inaktivnom stanju (A) i u aktivnom stanju (B) (prilagođeno prema Jamieson i sur., 2020)

4.5.2. INHIBITORI HEDGEHOG SINGALNOG PUTA

Kao meta lijekova inhibitora izabrani su transmembranski protein SMO i transkripcijski faktori GLI zbog ključne uloge koju imaju u Hh signalnom putu. Prvi poznati inhibitor SMO bio je alkaloid ciklopamin koji je vezanjem na SMO sprječavao konformacijske promjene

receptora te posljedično aktivaciju i nakupljanje na primarnoj ciliji (Slika 19). Po uzoru na ciklopamin razvijani su lijekovi s boljim farmakokinetским i farmakodinamskim karakteristikama. Prvi odobreni inhibitor SMO razvijen po uzoru na ciklopamin je vismodegib odobren za liječenje karcinoma bazalnih stanica, a nakon njega sonidegib odobren za istu indikaciju. Glasdegib prvi je u ovoj skupini odobren za liječenje akutne mijeloične leukemije, a nekolicina lijekova je u kliničkim ispitivanjima (Jamieson i sur., 2020).

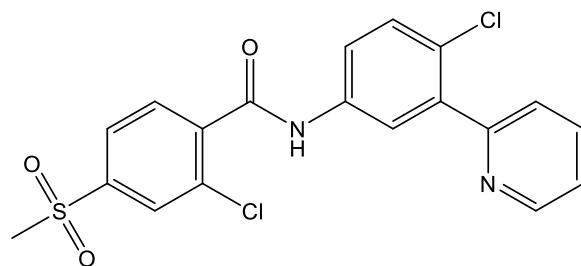


Slika 19. Ciklopamin

4.5.2.1. VISMODEGIB

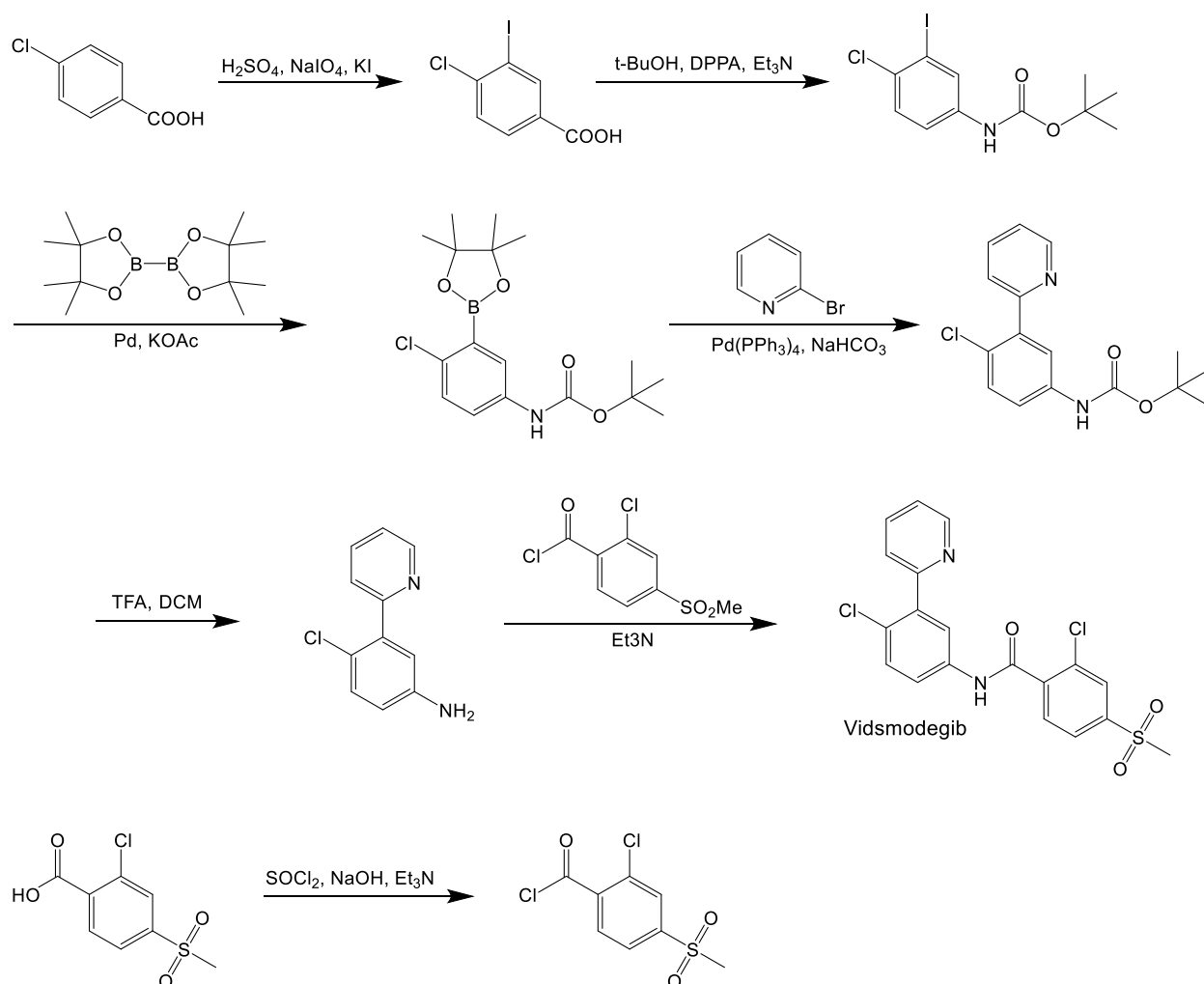
Vismodegib oralno je dostupna mala molekula koja djeluje kao inhibitor Hh signalnog puta. FDA ga je odobrila 2012., a EMA 2013. g. za liječenje odraslih bolesnika sa simptomatskim metastatskim karcinomom bazalnih stanica ili lokalno uznapredovalim karcinomom bazalnih stanica u bolesnika kod kojih nije indicirano kirurško liječenje ili radioterapija (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

Vismodegib prvi je u skupini inhibitora Hh razvijenih po uzoru na ciklopamin, a pripada skupini benzamida (Slika 20). Put do strukture vismodegiba krenuo je od spoja uzora istraživanjem SAR-a, a ključna modifikacija bila je uvođenje 2-piridila umjesto benzimidazola. Za interakcije s enzimom pokazalo se korisnim uvođenje sulfonilne skupine u para položaj benzamida, kao i lipofilnog supstituenta klora u *orto* položaju koji će potencijalno sudjelovati u hidrofobnim interakcijama te tako pomaknuti benzenski prsten iz ravnine s amidnom vezom (Gould i sur., 2014).



Slika 20. Vismodegib

Sinteza vismodegiba započinje jodiranjem 4-klorbenzojeve kiseline nakon čega slijedi Curtiusova pregradnja u kojoj u konačnici nastaje karbamat zaštićen Boc skupinom (Shema 10). Zatim je provedeno boriranje uz *bis*(pinakolat)dibor katalizirano paladijem čime nastaje spoj pogodan za Suzukijevu reakciju s 2-brompiridinom. Nastali biaril prolazi reakciju deprotekcije te nastaje odgovarajući amin. U posljednjem koraku dolazi do stvaranja amidne veze reakcijom s acil kloridom pripremljenim iz odgovarajuće kiseline (Ding i sur., 2014).



Shema 10. Sinteza vismodegiba

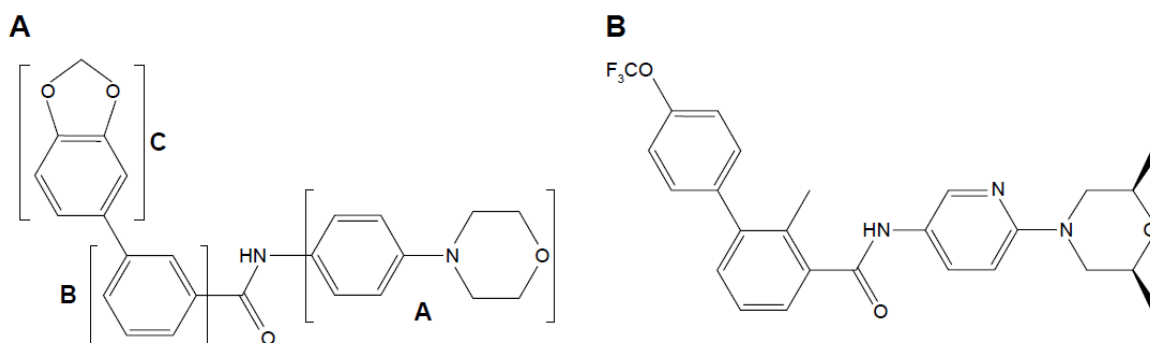
4.5.2.2. SONIDEGIB

FDA i EMA odobrile su 2015. g. sonidegib za liječenje odraslih bolesnika s lokalno uznapredovalim karcinomom bazalnih stanica koji nisu pogodni za kirurški zahvat ili radioterapiju (www.drugs.com, www.ema.europa.eu).

Sonidegib pripada grupi bifenil karboksamida, a razvijen je po uzoru na inicijalni spoj dobiven visokoprotočnim pretraživanjem *in vitro* (engl. high-throughput screening, HTS) (Slika 21). Proučavanjem SAR-a na spoju uzoru uočene su četiri modifikacije strukture ključne za smanjenje toksičnosti, povećanje potentnosti i farmaceutskih svojstava apsorpcije, distribucije, metabolizma i eliminacije (ADME):

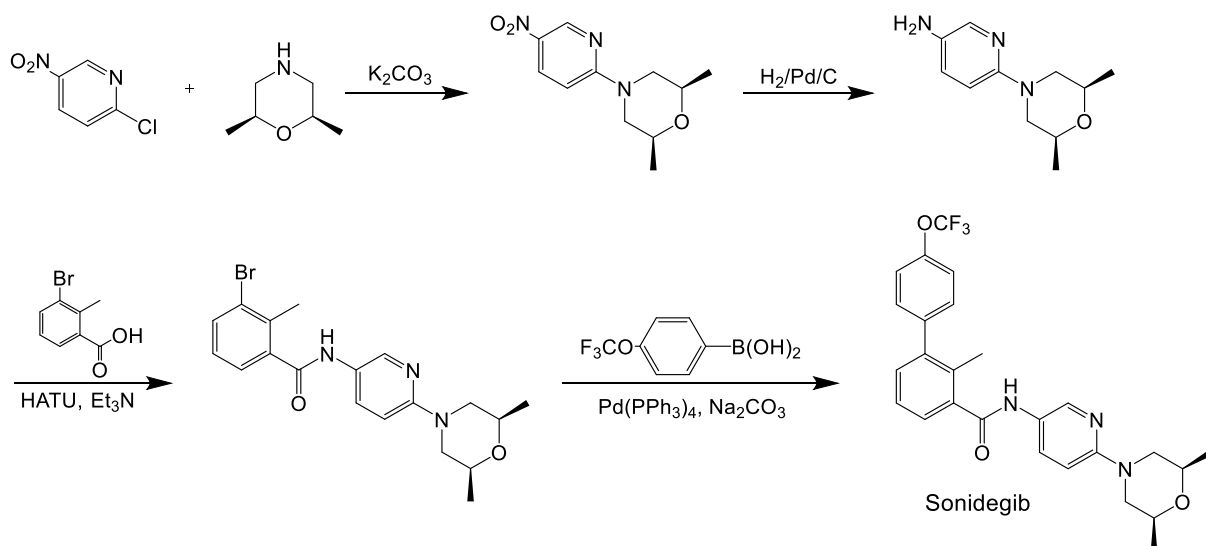
- 1) uvođenje dušika u benzenski prsten u regiji A čime nastaje piridin,
- 2) uvođenje *cis*-dimetilnih skupina na morfolinski prsten u regiji A,
- 3) dodavanje metilne skupine na benzenski prsten u regiji B,
- 4) modifikacijom regije C dodavanjem trifluormetoksi skupine (Jain i sur., 2017).

Mjesto djelovanja sonidegiba je džep koji veže lijek na SMO gdje djeluje kao antagonist sprječavajući aktivaciju Hh signalnog puta. Brojni su aminokiselinski ostaci s kojima sonidegib stupa u interakcije, a bitne su i interakcije s enzimom preko mreže molekula vode u džepu koji veže ligand (Jain i sur., 2017).



Slika 21. Inicijalni spoj (A) i sonidegib (B)

Prvi korak u sintezi sonidegiba je reakcija 2-klor-5-nitropiridina s 2,6-dimetilmorfolinom nakon čega se provodi redukcija nitro skupine dobivenog spoja. Dobiveni amin zatim reagira s 3-brom-2-metilbenzojevom kiselinom uz *coupling* reagens HATU stvarajući amidnu vezu. Naposljetku Suzukijevom reakcijom dobivenog spoja i 4-(trifluormetoksi)fenilborne kiseline nastaje sonidegib (Fritze i sur., 2011).



Shema 11. Sinteza sonidegiba

5. ZAKLJUČAK

Inhibitori protein-kinaza važni su saveznici u borbi protiv raznih bolesti, od autoimunih pa do karcinoma, a osim u indikacijama razlikuju se i u metama, odnosno protein-kinazama na koje djeluju. Od trastuzumaba, prvog odobrenog inhibitora protein-kinaza iz skupine monoklonskih protutijela, preko imatiniba, prvog niskomolekularnog inhibitora protein-kinaza pa sve do najnovijih generacija učinjeni su znatni pomaci terapiji. No, koliko god lijekovi bili uspješni, borba protiv karcinoma vrlo je zahtjevna jer karcinomi razvijaju različite mehanizme rezistencije na terapiju. Iz toga proizlazi konstantna potreba za razvojem novih lijekova i traženjem novih meta djelovanja te stoga imamo nove inhibitore protein-kinaza u različitim fazama kliničkih ispitivanja. Za razvoj novih lijekova bitno je znati zašto već postojeći lijekovi djeluju upravo tako kako djeluju te što se može modificirati kako bismo im poboljšali svojstva. Uvid se može steći proučavanjem SAR-a što je razmatrano u ovom radu na primjerima inhibitora receptora za epidermalni faktor rasta, inhibitora Bcr-Abl kinaze, inhibitora fosfoinozimid-3-kinaze, inhibitora Janus kinaze kao i inhibitora Hedgehog signalnog puta.

6. LITERATURA

Andrews Wright NM, Goss GD. Third-generation epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*, 2019, 8, 247-264.

Cancer, 2021, www.who.int, pristupljeno 21.7.2021.

Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, 2002, 296(5573), 1655-1657.

Chronic myeloid leukemia: a molecular diagnosis, 2018, www.commonsciencespace.com, pristupljeno 4.9.2021.

Copiktra, 2021, www.ema.europa.eu/en, pristupljeno 11.7.2021.

Coricello A, Mesiti F, Lupia A, Maruca A, Alcaro S. Inside Perspective of the Synthetic and Computational Toolbox of JAK Inhibitors: Recent Updates. *Molecules*, 2020, 25(15), 3321.

Deadman BJ, Hopkin MD, Baxendale IR, Ley SV. The synthesis of Bcr-Abl inhibiting anticancer pharmaceutical agents imatinib, nilotinib and dasatinib. *Org Biomol Chem*, 2013, 11(11), 1766-800.

Ding HX, Leverett CA, Kyne RE Jr, Liu KK, Sakya SM, Flick AC, O'Donnell CJ. Synthetic approaches to the 2012 new drugs. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(7), 2005-2032.

Drug Approval Package, Gleevec (Imatinib Mesylate) Capsules & Tablets, 2004, <https://www.fda.gov>, pristupljeno 10.6.2021.

Duan Y, Chen L, Chen Y, Fan XG. c-Src binds to the cancer drug Ruxolitinib with an active conformation. *PLoS One*, 2014, 9, e106225.

Erivedge FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 20.7.2021.

Erivedge, 2020, www.ema.europa.eu, pristupljeno 20.7.2021.

EU/3/18/2064:, 2018, www.ema.europa.eu/en, pristupljeno 11.7.2021.

Fabbro D, Ruetz S, Buchdunger E, Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Liebetanz J, Mestan J, O'Reilly T, Traxler P, Chaudhuri B, Fretz H, Zimmermann J, Meyer T, Caravatti G, Furet P, Manley PW. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. *Pharmacol Ther*, 2002, 93, 79–98.

Fritze A, Corcelle K, Grubesa ME, 2011. WO 2011/009852.

Furet P, Guagnano V, Fairhurst RA, Imbach-Weese P, Bruce I, Knapp M, Fritsch C, Blasco F, Blanz J, Aichholz R, Hamon J, Fabbro D, Caravatti G. Discovery of NVP-BYL719 a potent and selective phosphatidylinositol-3 kinase alpha inhibitor selected for clinical evaluation. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(13), 3741-3748.

Furumoto Y, Gadina M. The arrival of JAK inhibitors: advancing the treatment of immune and hematologic disorders. *BioDrugs*, 2013, 27(5), 431-438.

Gallou I, Gauer C, Stowasser F, 2012. WO 2012/175522.

Gould SE, Low JA, Marsters JC Jr, Robarge K, Rubin LL, de Sauvage FJ, Sutherlin DP, Wong H, Yauch RL. Discovery and preclinical development of vismodegib. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(8), 969-984.

Gu N, Yang J, Wang P, Li L, Chen Y, Ji M. The Wittig–Horner reaction for the synthesis of neratinib. *Res Chem Intermed*, 2012, 39(7).

Gupta P, Ashar YV, Ashby RC, Lin L, Chen ZS. The Oncogenic Protein, Breakpoint Cluster (BCR)-Abelson Kinase (ABL) and Chronic Myelocytic Leukemia (CML): Insight Into the Drug Resistance Mechanisms and Approaches for Targeting BCR-ABL in CML. U: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier, 2021.

Hantschel O, Grebien F, Superti-Furga G. The Growing Arsenal of ATP-Competitive and Allosteric Inhibitors of BCR–ABL. *Cancer Res*, 2012, 72, 4890-4895.

Hazlehurst LA, Bewry NN, Nair RR, Pinilla-Ibarz J. Signaling networks associated with BCR-ABL-dependent transformation. *Cancer Control*, 2009, 16(2), 100-107.

He J, Zhou Z, Sun X, Yang Z, Zheng P, Xu S, Zhu W. The new opportunities in medicinal chemistry of fourth-generation EGFR inhibitors to overcome C797S mutation. *Eur J Med Chem*, 2021, 15, 210:112995.

Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 59, 21-26.

Herceptin targets HER2+ cancer, 2021, www.herceptin.com, pristupljeno 10.6.2021.

Huang WS, Shakespeare WC. An Efficient Synthesis of Nilotinib (AMN107). *Synthesis*, 2007, 14, 2121-2124.

Iclusig FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 21.7.2021.

Iclusig, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 21.7.2021.

Inrebic FDA Approval History, 2019, www.drugs.com, pristupljeno 18.7.2021.

Inrebic, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 12.7.2021.

Inrebic, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 18.7.2021.

Jain S, Song R, Xie J. Sonidegib: mechanism of action, pharmacology, and clinical utility for advanced basal cell carcinomas. *Onco Targets Ther*, 2017, 10, 1645-1653.

JAK Inhibitors for Rheumatoid Arthritis, 2020, www.webmd.com, pristupljeno 12.7.2021.

Jakafi FDA Approval History, 2020, www.drugs.com, pristupljeno 12.7.2021.

Jakavi, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 12.7.2021.

Jamieson C, Martinelli G, Papayannidis C, Cortes JE. Hedgehog Pathway Inhibitors: A New Therapeutic Class for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Blood Cancer Discov*, 2020, 1(2), 134-145.

Jordan CT. The leukemic stem cell. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2007, 20, 13–18.

Kalinichenko E, Faryna A, Kondrateva V, Vlasova A, Shevchenko V, Melnik A, Avdoshko O, Belko A. Synthesis, Biological Activities and Docking Studies of Novel 4-(Arylaminomethyl)benzamide Derivatives as Potential Tyrosine Kinase Inhibitors. *Molecules*, 2019, 24(19), 3543.

Kesarwani M, Huber E, Kincaid Z, Evelyn CR, Biesiada J, Rance M, Thapa MB, Shah NP, Meller J, Zheng Y, Azam M. Targeting substrate-site in Jak2 kinase prevents emergence of genetic resistance. *Sci Rep*, 2015, 5, 14538.

Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(8), 627-644.

Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome, *Science*, 2002, 298, 1912–1934.

Mekala N, Buddepu SR, Dehury SK, Moturu KMVR, Indukuri SK, Vasireddi UR, Parimi AR. A novel strategy for the manufacture of idelalisib: controlling the formation of an enantiomer. *RSC Adv*, 2018, 8, 15863-15869.

Mullally A, Hood J, Harrison C, Mesa R. Fedratinib in myelofibrosis. *Blood Adv*, 2020, 4(8), 1792-1800.

Murray CK, Rozamus LW, Chamber JJ, Sharma P, Kazerani S, 2014. WO 2014/093583.

Neratinib, 2021, pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, pristupljeno 30.6.2021.

Nerlynx FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 30.6.2021.

Nerlynx, 2020, www.ema.europa.eu, pristupljeno 30.6.2021.

Odomzo FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 19.7.2021.

Odomzo, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 19.7.2021.

Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry fourth edition. New York, Oxford University Press, 2009, str. 551-553.

PI3K inhibitors, 2019, www.drugs.com, pristupljeno 11.7.2021.

Piqray FDA Approval History, 2019, www.drugs.com, pristupljeno 11.7.2021.

Piqray, 2021, www.ema.europa.eu/en, pristupljeno 11.7.2021.

Robbins DJ, Fei DL, Riobo NA. The Hedgehog signal transduction network. *Sci Signal*, 2012, 5(246), re6.

Rokoski R. Jr. Small molecule inhibitors targeting the EGFR/ErbB family of protein-tyrosine kinases in human cancers. *Pharmacol Res*, 2019, 139, 395-411.

Roskoski R. Jr. A historical overview of protein kinases and their targeted small molecule inhibitors. *Pharmacol Res*, 2015, 100, 1-23.

Rossari F, Minutolo F, Orciuolo E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *J Hematol Oncol*, 2018, 11, 84.

Schwartz PA, Murray BW. Protein kinase biochemistry and drug discovery. *Bioorg Chem*, 2011, 39, 192-210.

Somoza JR, Koditek D, Villaseñor AG, Novikov N, Wong MH, Liclican A, Xing W, Lagpacan L, Wang R, Schultz BE, Papalia GA, Samuel D, Lad L, McGrath ME. Structural, biochemical, and biophysical characterization of idelalisib binding to phosphoinositide 3-kinase δ . *J Biol Chem*, 2015, 290(13), 8439-8446.

Tagrisso FDA Approval History, 2020, www.drugs.com, pristupljeno 6.7.2021.

Tagrisso, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 6.7.2021.

Tasigna FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 8.7.2021.

Tasigna, 2021, www.ema.europa.eu, pristupljeno 8.7.2021.

Tsou HR, Overbeek-Klumpers EG, Hallett WA, Reich MF, Floyd MB, Johnson BD, Michalak RS, Nilakantan R, Discafani C, Golas J, Rabindran SK, Shen R, Shi X, Wang YF, Upeslakis J, Wissner A. Optimization of 6,7-disubstituted-4-(arylamino)quinoline-3-carbonitriles as orally active, irreversible inhibitors of human epidermal growth factor receptor-2 kinase activity, *J Med Chem*, 2005, 48, 1107-1131.

Wang Q, Zorn JA, Kuriyan J. A structural atlas of kinases inhibited by clinically approved drugs. *Methods Enzymol*, 2014, 548, 23-67.

Wang S, Song Y, Liu D. EAI045: The fourth-generation EGFR inhibitor overcoming T790M and C797S resistance. *Cancer Lett*, 2017, 385, 51-54.

Wee P, Wang Z. Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways. *Cancers*, 2017, 9(5), 52.

Westover D, Zugazagoitia J, Cho BC, Lovly CM, Paz-Ares L. Mechanisms of acquired resistance to first- and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Ann Oncol*, 2018, 29 10-19.

Wissner A, Overbeek E, Reich MF, Floyd MB, Johnson BD, Mamuya N, Rosfjord EC, Discafani C, Davis R, Shi X, Rabindran SK, Gruber BC, Ye F, Hallett WA, Nilakantan R, Shen R, Wang YF, Greenberger LM, Tsou HR. Synthesis and structure-activity relationships of 6,7-disubstituted 4-anilinoquinoline-3-carbonitriles. The design of an orally active, irreversible inhibitor of the tyrosine kinase activity of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and the human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2). *J Med Chem*, 2003, 46, 49-63.

Yamaoka K, Saharinen P, Pesu M, Holt VE 3rd, Silvennoinen O, O'Shea JJ. The Janus kinases (Jaks). *Genome Biol*, 2004, 5(12), 253.

Yuan S, Yu B, Liu HM. New drug approvals for 2019: Synthesis and clinical applications. *Eur J Med Chem*, 2020, 205, 112667.

Zhai X, Ward RA, Doig P, Argyrou A. Insight into the Therapeutic Selectivity of the Irreversible EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Osimertinib through Enzyme Kinetic Studies. *Biochemistry*, 2020, 59, 1428-1441.

Zhou T, Commodore L, Huang WS, Wang Y, Thomas M, Keats J, Xu Q, Rivera VM, Shakespeare WC, Clackson T, Dalgarno DC, Zhu X. Structural mechanism of the Pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chem Biol Drug Des*, 2011, 77(1), 1-11.

Zhu G, Wang X, Wang F, Mao Y, Wang H. New and Convergent Synthesis of Osimertinib. *J Heterocycl Chem*, 2017, 54, 2898– 2901.

Zydelig FDA Approval History, 2021, www.drugs.com, pristupljeno 12.7.2021.

Zydelig, 2021, www.ema.europa.eu/en, pristupljeno 11.7.2021.

7. SAŽETAK/ SUMMARY

U ovom radu obrađeni su inhibitori receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) kao i inhibitori Bcr-Abl kinaze, fosfoinozimid-3-kinaze i Janus kinaze te inhibitori Hedgehog signalnog puta. U općem pregledu navedenih protein-kinaza istaknute su bitne činjenice za svaku skupinu. Dan je uvid u signalni put svake navedene kinaze te pregled nekoliko odobrenih inhibitora na tržištu. Zatim je na konkretnim primjerima objašnjena struktura lijeka, važnost određenih dijelova strukture za djelovanje te je opisan sintetski put.

Lijekovi obrađeni u ovom radu su:

- 1) inhibitori EGFR: neratinib i osimertinib,
- 2) Bcr-Abl inhibitori: nilotinib i ponatinib,
- 3) PI3K inhibitori: alpelisib i idelalisib,
- 4) JAK inhibitori: ruxolitinib i fedratinib,
- 5) Hedgehog inhibitori: sonidegib i vismodegib.

In this diploma thesis, epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors, as well as BCR-Abl kinase, phosphoinositide-3-kinase, Janus kinase, and Hedgehog signaling pathway inhibitors, are discussed. The most important facts are highlighted for each protein kinase. An insight into the protein kinase signaling pathways and an overview of approved inhibitors are given. Furthermore, drug structures, structure-activity relationships, and synthetic routes are explained in specific examples.

The following drugs are described in detail in this thesis:

- 1) EGFR inhibitors: neratinib and osimertinib,
- 2) Bcr-Abl inhibitors: nilotinib and ponatinib,
- 3) PI3K inhibitors: alpelisib and idelalisib,
- 4) JAK inhibitors: ruxolitinib and fedratinib,
- 5) Hedgehog inhibitors: sonidegib and vismodegib.

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

INHIBITORI RAZLIČITIH PROTEIN-KINAZA

Zrinka Slamić

SAŽETAK

U ovom radu obrađeni su inhibitori receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) kao i inhibitori Bcr-Abl kinaze, fosfoinozimid-3-kinaze i Janus kinaze te inhibitori Hedgehog signalnog puta. U općem pregledu navedenih protein-kinaza istaknuti su bitni elementi svake skupine. Dan je uvid u signalni put svake navedene kinaze te pregled nekoliko odobrenih inhibitora na tržištu. Zatim je na konkretnim primjerima objašnjena struktura lijeka, važnost određenih dijelova strukture za djelovanje te je opisan sintetski put.

Lijekovi obrađeni u ovom radu su:

- 1) inhibitori EGFR: neratinib i osimertinib,
- 2) Bcr-Abl inhibitori: nilotinib i ponatinib,
- 3) PI3K inhibitori: alpelisib i idelalisib,
- 4) JAK inhibitori: ruksolitinib i fedratinib,
- 5) Hedgehog inhibitori: sonidegib i vismodegib.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 54 stranice, 32 grafička prikaza i 78 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: protein-kinaza, EGFR, Bcr-Abl kinaza, JAK, PI3K, Hedgehog signalni put

Mentor: **Dr. sc. Kristina Pavić**, *poslijedoktorand Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Kristina Pavić**, *poslijedoktorand Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Zrinka Rajić, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Davor Šakić, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2021.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Medicinal Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

INHIBITORS OF VARIOUS PROTEIN KINASES

Zrinka Slamić

SUMMARY

In this diploma thesis, epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors, as well as BCR-Abl kinase, phosphoinositide-3-kinase, Janus kinase, and Hedgehog signaling pathway inhibitors, are discussed. The most important facts are highlighted for each protein kinase. An insight into the protein kinase signaling pathways and an overview of approved inhibitors are given. Furthermore, drug structures, structure-activity relationships, and synthetic routes are explained in specific examples.

The following drugs are described in detail in this thesis:

- 1) EGFR inhibitors: neratinib and osimertinib,
- 2) Bcr-Abl inhibitors: nilotinib and ponatinib,
- 3) PI3K inhibitors: alpelisib and idelalisib,
- 4) JAK inhibitors: ruxolitinib and fedratinib,
- 5) Hedgehog inhibitors: sonidegib and vismodegib..

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 54 pages, 32 figures, and 78 references. Original is in Croatian language.

Keywords: protein-kinase, EGFR, Bcr-Abl kinase, JAK, PI3K, Hedgehog signaling pathway

Mentor: **Kristina Pavić, Ph.D.** *Postdoctoral Associate*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Kristina Pavić, Ph.D.** *Postdoctoral Associate*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Zrinka Rajić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Davor Šakić, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2021.