

Нові похідні 2-хінолінону: синтез і СК2-інгібіторна активність

А.Р. Синюгін¹, М.О. Чеканов¹, О.Ю. Нипорко^{2,1},
О.В. Остринська¹, С.М. Ярмолук¹

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60, Київ, 01601, Україна

Резюме. Проведено віртуальний скринінг згенерованої комбінаторної бібліотеки, що налічувала 7786 похідних 2-хінолінону. Уперше синтезовано й охарактеризовано 98 сполук цього класу як потенційних інгібіторів протеїнкінази СК2 людини. За даними біохімічного тестування встановлено, що жодна із синтезованих сполук не пригнічує активності СК2 менш ніж на 40 %. Методом молекулярного докінгу отримано комплекси похідних 2-хінолінону із СК2. Досліджено положення сполук в АТФ-зв'язувальній кишені ензиму та ключові взаємодії з її амінокислотними залишками. Отримані сполуки можуть бути рекомендовані для дослідження їх інгібувальної активності на інших ферментах.

Ключові слова: 2-хінолінон, інгібітор протеїнкінази СК2 людини, віртуальний скринінг, 2-хінолінон-3-іл карбонова кислота, 2-хінолон 6-оцтова кислота, комбінаторна бібліотека.

Вступ. Похідні 2-хінолінону вперше привернули увагу молекулярних біологів близько сорока років тому [1]. З часом інтерес до сполук цього класу не спадає, що зумовлено їх вираженою біологічною активністю по відношенню до широкого кола молекулярних мішеней. З літературних джерел відомо, що похідні 2-хінолінону є антагоністами дофамінових і серотонінових рецепторів [2], інгібіторами зворотної транскриптази вірусу імунодефіциту людини [3], фарнесил-трансферази й алергічних реакцій [1]. Тому препарати на їх основі використовують для лікування шизофренії (арипіпразол), протозойних інфекцій [4] та в протипухлинній терапії.

У нашій попередній роботі було встановлено, що похідні 4-хінолінону є специфічними інгі-

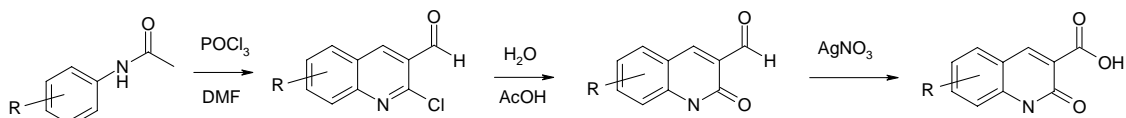
біторами протеїнкінази СК2 [6]. За хімічною будовою 2- та 4-хінолінони є структурно подібними, а отже, можна припустити, що вони мають подібні біологічні властивості. Тому з метою пошуку нових інгібіторів СК2 було вирішено перевірити здатність похідних 2-хінолінону пригнічувати активність цієї протеїнкінази.

Протеїнкіназа СК2 має близько 400 фізіологічних мішеней, серед яких фактори росту та транскрипції, регулятори клітинного циклу й апоптозу, а також компоненти, що забезпечують відповідь на стрес різноманітної природи [7-9]. У свою чергу, надекспресія СК2 зумовлює розвиток цілого ряду патологій, серед яких велику роль відводять різноманітним онкологічним захворюванням [11]. Також СК2 бере участь у формуванні нейрофібрилярної сітки під час розвитку хвороби Альцгеймера [12], є ключовою молекулою, що визначає розвиток гломерулонефриту [13], задіяна в запальних [10], аутоімунних захворюваннях, гіпер-

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5263449

E-mail address: asinugin@gmail.com

Синтез 2-хінолон-3-іл карбонових кислот **91-93**

трофії серця, а також у розвитку низки вірусних інфекцій [8].

Матеріали і методи. Відбір лігандів проводився за допомогою віртуального скринінгу згенерованої бібліотеки сполук, що налічувала 7786 похідних 2-хінолінону. Віртуальний скринінг проводився в АТФ-акцепторний сайт протеїнкінази СК2 із використанням пакета «DOCK 4.0» за методикою, описаною раніше [14]. Для оцінки біохімічної активності було вибрано та синтезовано 98 сполук. Спектри ПМР синтезованих 2-хінолонів вимірювали приладом «Varian VXR 400» з робочою частотою 400 MHz (розчинник DMSO-d₆, внутрішній стандарт — ТМС). Величини хімічних змещень вимірювали з точністю до 0,01 м.ч. Температури плавлення визначали в каплярі з точністю 1 °С. Через велику кількість експериментальних даних фізико-хімічні властивості наведено лише для типових представників у середині кожної синтезованої групи сполук.

Синтез 3-заміщених похідних 2-хінололу. 3-Заміщені похідні 2-хінололу були синтезовані з використанням загального методу Отто Меша-Кона (Otto Meth-Cohn), описаного для одержання похідних 2-хлорхіноліну [15]. Синтез проводили за такими методиками.

Загальна комбінаторна методика синтезу амідів (речовини 1-22). Похідні **1-8** одержано комбінаторним методом із відповідної 7-метокси-2-хінолон-3-іл оцтової кислоти **95**, синтезованої аналогічно [16]. Метод синтезу вихідних 2-хінолон-3-іл пропіонових кислот для сполук **9-22** був розроблений та описаний нами в попередній роботі [17]. До розчину 1 мМ відповідної кислоти [17] у 2 мл сухого диметилформаміду при перемішуванні додавали 0,194 г (1,2 мМ) карбодімідазолу (CDI) за кімнатної температури. Через 2 год додавали 1,1 мМ відповідного аміну, реакційні суміші нагрівали при 60 °С 6 год в ультразвуковій бані. До охолоджених реакційних сумішей додавали 6 мл води. Висаджені осаді виділили центрифугуван-

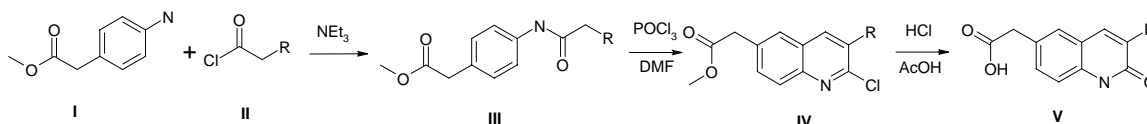
ням. Одержані амідні **1-22** сушили протягом 24 год при 70 °С у вакуумній сушильній шафі.

Загальна комбінаторна методика синтезу похідних 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів (речовини 23-90). Похідні **23-90** були одержані на основі синтезованих раніше похідних 3-(амінометил)- та 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів [18]. До 3 мл охолодженої до 0 °С суміші «ацетонітріл—вода» (1:1) додавали послідовно 1 мМ відповідного хлоргідрату аміну [18], 0,27 мл (2,5 мМ) N-метил-морфоліну та 1,2 мМ відповідного хлорангідриду чи сульфохлориду (у випадку **38** додавали 0,12 мл (1,1 мМ) N-метил-морфоліну і 0,12 г (1,2 мМ) бурштинового ангідриду). Суміш витримували 4 год при 10 °С в ультразвуковій бані, після чого додавали 3 мл води. Висаджені осаді виділяли центрифугуванням. Одержані похідні **23-90** сушили протягом 24 год при 70 °С у вакуумній сушильній шафі.

Загальна методика синтезу 2-хінолон-3-іл карбонових кислот (речовини 91-93). 2-Хінолон-3-іл карбонові кислоти **91-93** було синтезовано з відповідних 2-хінолон-3-іл карбоксальдегідів (схема 1) окисненням нітратом срібла в лужному середовищі. Методики синтезу та характеристики 3-(6-бром-2-хінолон-3-іл) акрилової кислоти **94** описано в попередній роботі [17].

До суспензії 1 мМ відповідного 2-хінолон-3-іл карбоксальдегіду, синтезованого за методиками [17], у суміші 4 мл діоксану та 3 мл 10% водного розчину гідроксиду натрію при перемішуванні додавали порціями 0,34 г (2 мМ) нітрату срібла і витримували 24 год за кімнатної температури. Реакційну суміш розводили 20 мл води та відфільтровували від колоїдного срібла через селіт (CELIT). Після підкислення фільтрату 10% розчином соляної кислоти до рН 1 осаді кислот **91-93** відфільтровували і сушили протягом 24 год при 70 °С у вакуумній сушильній шафі.

Загальна методика синтезу 3-алкіл замі-

Синтез 3-алкіл заміщених похідних 2-хінолон 6-оцтової кислоти **96-98**

щених похідних 2-хінолон 6-оцтової кислоти (речовини **96-98**). Синтез анілідів III та 2-хлорхінолінів IV (схема 2) проводили аналогічно [17].

1 мМ вихідного 2-хлорхіноліну IX розчиняли в 4 мл суміші «оцтова кислота — 10% водний розчин соляної кислоти» (9:1) та кип'ятили 2 год. Після охолодження додавали 10 мл води. Висаджений осад 2-хінолону V відфільтровували і сушили протягом 24 год при 70 °С у вакуумній сушильній шафі.

Структурні формули нових похідних 2-хінолону наведено в табл. 1. Через велику кількість експериментальних даних фізико-хімічні властивості наводимо для типових представників у середині кожної синтезованої групи сполук.

Фізико-хімічні властивості амідів — похідних 2-хінолону (сполуки 1-22).

N-[4-(1,1-діоксидіазолоїзотіазолідин-2-іл)феніл]-2-(7-метокси-2-хінолон-3-іл)ацетамід (**8**). Вихід — 83 %. Світло-жовтий порошок, $T_{\text{пл}}$ 245 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,41-2,50 (m, 2H), 3,42 (t, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,71 (t, 2H), 3,83 (s, 3H), 7,74 (d, 1H), 6,81 (s, 1H), 7,11 (d, 2H), 7,50 (d, 1H), 7,59 (d, 2H), 7,74 (s, 1H), 10,08 (s, 1H), 11,72 (s, 1H).

N-1,3-бенздіоксол-5-іл-3-(7-метокси-2-хінолон-3-іл)пропанамід (**13**). Вихід — 54 %. Темно-коричневий порошок, $T_{\text{пл}}$ 224 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,56 (t, 2H), 2,77 (t, 2H), 3,71 (s, 3H), 6,76 (s, 2H), 6,90 (s, 1H), 6,92 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,58 (s, 1H), 9,69 (s, 1H), 11,58 (s, 1H).

3-(6,7-диметокси-2-хінолон-3-іл)-*N*-фенілпропанамід (**17**). Вихід — 71 %. Світло-жовтий порошок, $T_{\text{пл}}$ 264 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,61 (t, 2H), 2,80 (t, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 6,80 (s, 1H), 6,94 (t, 1H), 6,99 (s, 1H), 7,21 (t, 2H), 7,56-7,58 (m, 3H), 9,78 (s, 1H), 11,53 (s, 1H).

3-(7-флуор-2-хінолон-3-іл)-*N*-(3-метоксипропіл)пропанамід (**21**). Вихід — 49 %. Світло-жовтий порошок, $T_{\text{пл}}$ 181 °С, $^1\text{H NMR}$

(DMSO- d_6) δ 1,56-1,59 (m, 2H), 2,41 (t, 2H), 2,69 (t, 2H), 3,06 (t, 2H), 3,18 (s, 3H), 3,19 (t, 2H), 6,88 (t, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,54 (t, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 11,76 (s, 1H).

Фізико-хімічні властивості похідних 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів (сполуки 23-90).

N-[(7-флуор-2-хінолон-3-іл)метил]-2-(4-флуорфеніл)ацетамід (**26**). Вихід — 69 %. Світло-жовтий порошок, $T_{\text{пл}}$ 249 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 3,51 (s, 2H), 4,09 (s, 2H), 7,02 (d, 2H), 7,14 (t, 2H), 7,34 (t, 2H), 7,58 (s, 1H), 7,61 (t, 1H), 8,45 (s, 1H), 11,01 (s, 1H).

4-[(8-метокси-5-метил-2-хінолон-3-іл)-метил]аміносульфонілбензойна кислота (**30**). Вихід — 72 %. Помаранчевий порошок, $T_{\text{пл}}$ 242 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,34 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,84 (s, 2H), 6,97 (dd, 2H), 7,62 (d, 2H), 7,88 (d, 2H), 8,31 (t, 1H), 10,89 (s, 1H), 13,43 (s, 1H -COOH).

4-флуор-*N*-[(6-ізопропіл-2-хінолон-3-іл)-метил]-2-метилбензенсульфонамід (**31**). Вихід — 89 %. Білий порошок, $T_{\text{пл}}$ 177 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1,22 (d, 6H), 2,53 (s, 3H), 2,89-2,91 (m, 1H), 3,89 (d, 2H), 7,18 (t, 1H), 7,22-7,29 (m, 2H), 7,32 (d, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,82-7,86 (m, 1H), 8,14 (t, 1H), 11,74 (s, 1H).

5-хлор-*N*-[2-(6-метил-2-хінолон-3-іл)-етил]тіофен-2-сульфонамід (**33**). Вихід — 64 %. Білий порошок, $T_{\text{пл}}$ 181 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 2,37 (s, 3H), 2,65 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 7,01 (d, 1H), 7,18-7,22 (m, 2H), 7,29 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,93 (t, 1H), 11,62 (s, 1H).

N-[2-(6-ізопропіл-2-хінолон-3-іл)етил]-2-оксо-2,3-дигідро-1,3-бензоксазол-6-сульфонамід (**36**). Вихід — 92 %. Світло-рожевий порошок, $T_{\text{пл}}$ 223 °С, $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1,21 (d, 6H), 2,58 (t, 2H), 2,77-2,79 (m, 1H), 3,12 (t, 2H), 7,01-7,12 (m, 2H), 7,23-7,27 (m, 2H), 7,49-7,54 (m, 3H), 11,62 (s, 1H), 12,03 (s, 1H).

5-бром-*N*-[2-(8-метокси-5-метил-2-хінолон-3-іл)етил]тіофен-2-сульфонамід (**41**). Вихід — 63 %. Світло-коричневий порошок, $T_{\text{пл}}$

193 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,42 (s, 3H), 2,67 (t, 2H), 3,35 (t, 2H), 3,86 (s, 3H), 6,95 (dd, 2H), 7,21 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 8,09 (t, 1H), 10,68 (s, 1H).

N-[2-(7-хлор-6-метокси-2-хінолін-3-іл)-етил]-4-бензенсульфонамід (**52**). Вихід — 75 %. Жовтий порошок, T_{пл} 253 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,56 (t, 2H), 3,02 (t, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 7,03 (d, 2H), 7,31 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,69 (d, 1H), 11,86 (s, 1H).

2-метокси-*N*-[2-(7-метокси-2-хінолінон-3-іл)етил]-4,5-диметилбензенсульфонамід (**58**). Вихід — 84 %. Білий порошок, T_{пл} 198 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,16 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,56 (t, 2H), 3,12 (t, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 6,73 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 7,19 (t, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,69 (s, 1H), 10,51 (s, 1H).

N-[2-(7,8-диметил-2-хінолон-3-іл)етил]-нікотинамід (**60**). Вихід — 67 %. Світло-рожевий порошок, T_{пл} 218 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,33 (s, 6H), 2,825 (t, 2H), 3,68 (t, 2H), 6,99 (d, 1H), 7,11 (d, 1H), 7,47 (t, 1H), 7,88 (s, 1H), 8,23 (d, 1H), 8,68 (d, 1H), 8,79 (t, 1H), 8,97 (s, 1H), 11,53 (s, 1H).

2-[2-(5,7-диметил-2-хінолон-3-іл)етил]-1*H*-ізоіндол-1,3(2*H*)-діон (**64**). Синтез і характеристики речовини опубліковано нами в попередній роботі [17].

2-(4-хлорфеніл)-*N*-[2-(6,8-диметокси-2-хінолон-3-іл)етил]ацетамід (**69**). Вихід — 77 %. Жовтий порошок, T_{пл} 163 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,62 (t, 2H), 3,65 (t, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 6,74 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 7,22 (d, 2H), 7,27 (d, 2H), 7,54 (s, 1H), 8,17 (d, 1H), 10,72 (s, 1H).

N-[2-(7-фтор-2-хінолон-3-іл)етил]-4-(морфолін-4-ілсульфоніл)бензенамід (**80**). Вихід — 67 %. Білий порошок, T_{пл} 228 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,63 (t, 2H), 2,76-2,83 (m, 4H), 3,58 (t, 2H), 3,61-3,64 (m, 4H), 7,01 (d, 2H), 7,77 (t, 1H), 7,80-7,84 (m, 3H), 8,02 (d, 2H), 8,86 (t, 1H), 11,12 (s, 1H).

Фізико-хімічні властивості 2-хінолон-3-іл карбонових кислот.

6,8-диметил-2-хінолон-3-карбонова кислота (**91**). Вихід — 52 %. Жовтий порошок, T_{пл} 212 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,37 (s, 3H), 2,47 (s, 3H), 7,35 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 12,28 (s, 1H -NH), 14,69 (s, 1H -COOH).

6-бром-2-хінолон-3-карбонова кислота (**92**). Вихід — 57 %. Світло-коричневий порошок, T_{пл} 287 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7,42 (d, 1H), 7,83 (d,

1H), 8,25 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 13,28 (s, 1H -NH), 14,48 (s, 1H -COOH).

7-бром-2-хінолон-3-карбонова кислота (**93**). Вихід — 48 %. Жовтий порошок, T_{пл} 247 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7,47 (d, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,94 (d, 1H), 8,95 (s, 1H), 13,22 (s, 1H -NH), 14,34 (s, 1H -COOH).

7-метокси-2-хінолон-3-іл оцтова кислота (**95**). Синтезована на основі відповідного метил (2-хлор-7-метоксихінолін-3-іл)ацетату, одержаного аналогічно [17], гідролізом, що описаний далі.

Фізико-хімічні властивості 3-амкіл заміщених похідних 2-хінолон-6-оцтової кислоти.

(3-метил-2-хінолон-6-іл)оцтова кислота (**96**). Вихід — 54 %. Жовтий порошок, T_{пл} 226 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,09 (s, 3H), 3,52 (s, 2H), 7,20-7,25 (m, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,59 (d, 1H), 11,64 (s, 1H).

(3-ізопропіл-2-хінолон-6-іл)оцтова кислота (**97**). Вихід — 49 %. Світло-жовтий порошок, T_{пл} 165 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,18 (d, 6H), 3,08-3,15 (m, 1H), 3,59 (s, 2H), 7,23 (d, 2H), 7,31 (d, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 11,69 (s, 1H -NH), 12,35 (s, 1H -COOH).

(3-бензил-2-хінолон-6-іл)оцтова кислота (**98**). Вихід — 66 %. Світло-коричневий порошок, T_{пл} 239 °C, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3,58 (s, 2H), 3,82 (s, 2H), 7,20-7,28 (m, 6H), 7,32 (d, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 11,77 (s, 1H -NH), 12,31 (s, 1H -COOH).

Оцінку інгібувальної активності синтезованих сполук проводили, як описано в нашій попередній роботі [14].

Результати й обговорення. Для пошуку інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 2-хінолінону було створено бібліотеку, що налічувала 7786 сполук цього класу. У результаті рецепторно-орієнтованого віртуального скринінгу 2-хінолінонів в АТФ-зв'язувальний сайт протеїнкінази СК2 для синтезу та досліджень *in vitro* було відібрано 98 сполук. За результатами біохімічного тестування, 3 сполуки проявили найбільшу інгібувальну активність стосовно протеїнкінази СК2 людини. Це сполука **3** — *N*-(3-хлоро-4-метоксифеніл)-2-(7-метокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-іл)-ацетамід, сполука **8** — *N*-[4-(1,1-діоксидіозотіазолідин-2-іл)феніл]-2-(7-метокси-2-хінолон-3-іл)ацета-

Таблиця 1

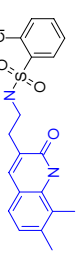
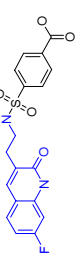
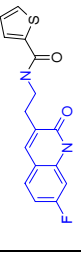
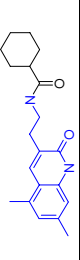
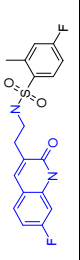
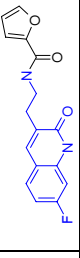
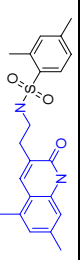
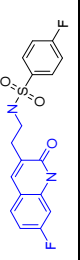
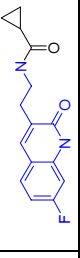
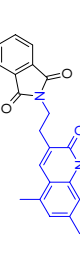
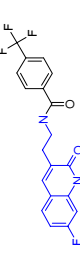
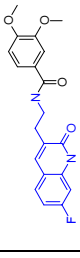
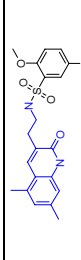
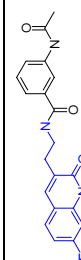
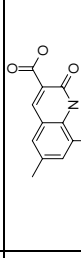
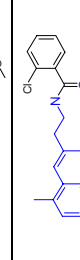
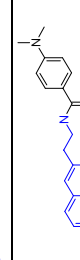
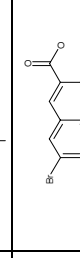
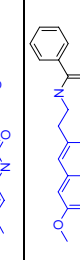
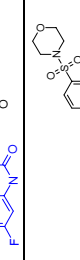
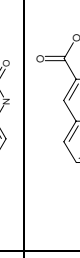

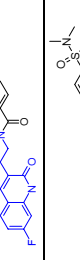
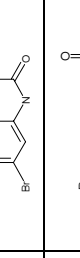
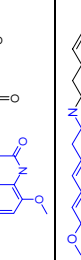
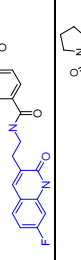
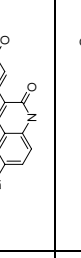
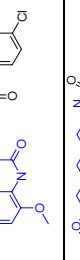
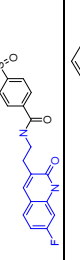
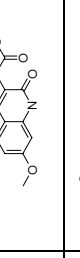
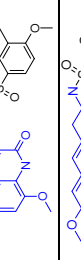
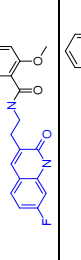
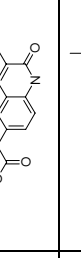
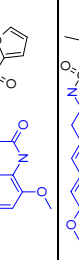
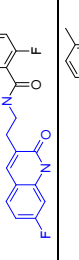
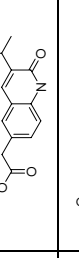
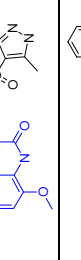
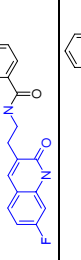
Структури похідних 2-хінолінону та залишкова активність протейнінази СК2 за концентрації сполук 33 мкМ

№	Структура	№	Залишкова активність СК2, %	№	Структура	Залишкова активність СК2, %	№	Структура	Залишкова активність СК2, %	№	Структура	Залишкова активність СК2, %
1		11	96,88	12		22		21		95,07		
2		12	105,15	13		13		23		99,89		
3		13	48,65	14		14		24		81,59		
4		14	93,86	15		15		25		94,95		
5		15	88,44	16		16		26		100,55		
6		16	103,04	17		17		27		97,29		
7		17	88,41	18		18		28		101,01		
8		18	54,99	19		19		29		105,05		
9		19	104,05	20		20		30		90,47		
10		20	104,00							88,07		

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
31		89,01	41		83,84	51		86,43
32		93,96	42		87,65	52		92,00
33		83,06	43		88,15	53		91,57
34		88,15	44		90,45	54		101,86
35		77,96	45		94,59	55		95,11
36		65,22	46		91,95	56		87,99
37		97,59	47		93,27	57		99,16
38		91,44	48		94,45	58		94,45
39		83,04	49		96,03	59		93,59
40		68,15	50		103,65	60		93,20

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
61		91,53	74		99,86	87		97,54
62		92,85	75		99,39	88		91,07
63		96,41	76		89,77	89		97,90
64		88,87	77		90,51	90		87,05
65		89,91	78		92,88	91		98,25
66		86,42	79		93,20	92		97,86
67		95,84	80		106,19	93		78,45
68		95,29	81		98,99	94		72,32
69		93,79	82		96,74	95		99,47
70		95,25	83		93,53	96		98,62
71		89,60	84		103,40	97		87,47
72		99,43	85		101,59	98		89,92
73		96,33	86		95,73			

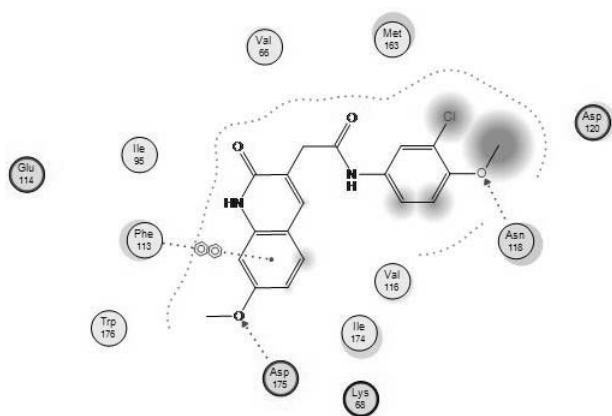


Рис. 1. Схематичне зображення типу зв'язування сполуки **3** з активним сайтом СК2. Дані отримано за допомогою молекулярного докінгу. Зображено міжмолекулярні водневі зв'язки (пунктирна стрілка) і стекінг-взаємодію з Phe113 (пунктирна лінія).

мід та сполука **94** — 3-(6-бромо-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-іл)-акрилова кислота. Остаточна активність ензиму за концентрації інгібітора 33 мМ для сполук **3** і **8** становила 48,65 % (при 15 мМ — 40,7 %) та 54,99 % (при 15 мМ — 79,87 %) відповідно. Для сполуки **94** остаточна активність протеїнкінази за концентрації інгібітора 33 мМ становила 72,33 %, тоді як при кількості сполуки 10 мМ — 44,86 %. Інші протестовані сполуки значно менше інгібували СК2 (остаточна кінзна активність не опускалася нижче 64 %).

Аналіз комплексів похідних 2-хінолінону із СК2, отриманих методом молекулярного докінгу, показав, що ліганди мають різний тип зв'язування із АТФ-акцепторним сайтом СК2 людини (рис. 1-3).

Сполука **3** формує 2 водневі зв'язки, проте жоден із них не виникає між лігандом і шарнірною ділянкою кінзи. Перший із них утворюється між Оксигеном метоксигрупи в п'ятому положенні фенільного радикала сполуки і Нітрогеном бічного ланцюга Asn118 (рис. 1). Другий зв'язок виникає між Оксигеном метоксигрупи в сьомому положенні хінолінового радикала і Нітрогеном головного ланцюга Asp175. Крім того, спостерігається стекінг-взаємодія між гетероциклом хінолінону та фенільним радикалом Phe113. Гідрофобні контакти виникають між лігандом і амінокислотними залишками Ile95, Phe113, Ile174, Val66 та Met163. У цілому сполука **3** орієнтована в АТФ-акцеп-

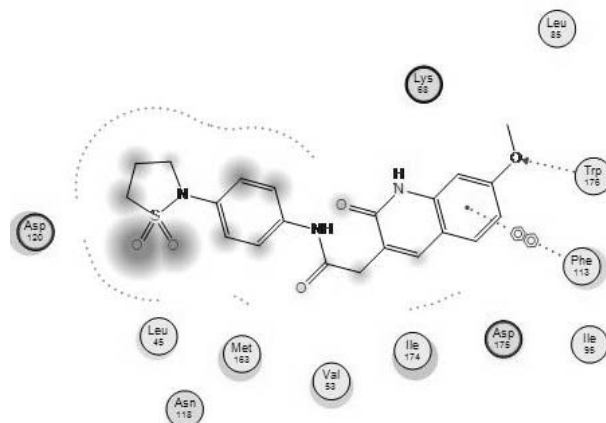


Рис. 2. Схематичне зображення типу зв'язування сполуки **8** з активним сайтом СК2. Дані отримано за допомогою молекулярного докінгу. Зображено міжмолекулярні водневі зв'язки (пунктирна стрілка) і стекінг-взаємодію з Phe113 (пунктирна лінія).

торному сайті СК2 таким чином, що кільця хінолін-2-ону орієнтовані в глибину сайту зв'язування. Найближчими сусідами NH-групи в першому положенні та Оксигену в другому положенні хінолінового гетероциклу є амінокислотні залишки Ile95, Phe113, Ile174 та Ile95, Phe113, Glu114, Val116 відповідно.

Сполука **8** при взаємодії з АТФ-зв'язувальною кишенею СК2 людини формує водневий зв'язок між Оксигеном метоксигрупи в сьомому положенні хінолінону та Нітрогеном основного ланцюга Trp176 (рис. 2). Подібно до попереднього випадку, спостерігаються формування стекінг-взаємодії між гетероциклом і фенільним радикалом амінокислотного залишку Phe113 та гідрофобні контакти між лігандом і Ile95, Phe113, Ile174, Val66 та Met163. Хоча розташування хінолінового гетероциклу у сполук **8** і **3** подібне (знаходиться в глибині сайту зв'язування), проте оточення NH-групи в положенні 1 та оксигену в положенні 2 хінолінового радикала є відмінними. У випадку сполуки **8** найближчими до NH-групи є амінокислотні залишки Lys36 та Ile174, до Оксигену — залишок Val53.

Взаємодія сполуки **94** з АТФ-акцепторним сайтом СК2 людини відбувається через формування водневого зв'язку між Оксигеном у положенні 2 хінолінового кільця і Нітрогеном бічного ланцюга Lys68 (рис. 3). Стекінг-взаємодія із Phe113, що мала місце у сполук **3** та **8**, у цьому випадку відсутня. Додаткова стабілі-

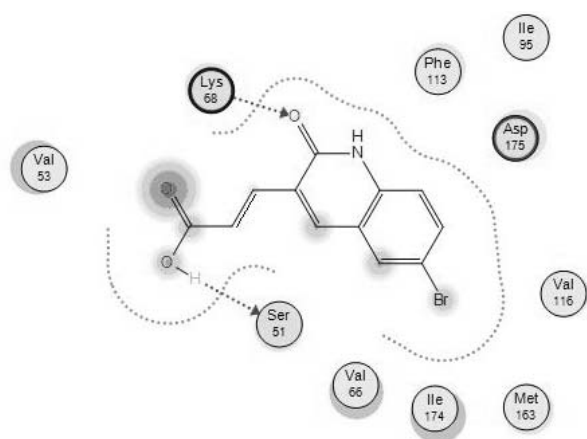


Рис. 3. Схематичне зображення типу зв'язування сполуки **94** з активним сайтом СК2. Дані отримано за допомогою молекулярного докінгу. Зображено міжмолекулярні водневі зв'язки (пунктирна стрілка) і стекінг-взаємодію з Phe113 (пунктирна лінія).

зація комплексу «сполука **94** — АТФ-акцепторний сайт СК2» відбувається за рахунок гідروفобних контактів ліганду з амінокислотними залишками Ile95, Phe113, Ile174, Val66, Met163 та Val116 кінази. Кільця хінолін-2-ону знаходяться в глибині сайту зв'язування: NH-група в першому положенні та Оксиген у дру-

гому положенні гетероциклу розташовані в напрямку амінокислотних залишків Phe133 та Lys68, Ile174, Asp175 відповідно.

Отже, за даними молекулярного докінгу, сполуки **3** і **8** мають дещо подібне розташування в АТФ-зв'язувальному сайті СК2, на відміну від сполуки **94**. Виявлений нами феномен інвертованої активності деяких 2-хінолінонів (сполуки **3** та **94** проявляють більшу інгібіторну активність за менших концентрацій) потребує додаткових досліджень.

Висновки. Уперше синтезовано й охарактеризовано 98 сполук із класу похідних 2-хінолінону. За даними тестів *in vitro*, жодна із синтезованих сполук не пригнічувала активності СК2 менше ніж на 40 %. Методом молекулярного докінгу досліджено положення та взаємодію похідних 2-хінолінону з АТФ-зв'язувальною кишенею СК2. Феномен інвертованої активності деяких 2-хінолінонів потребує додаткового вивчення. Отримані сполуки можуть бути рекомендовані для дослідження їх інгібувальної активності на інших ферментах.

Надійшла в редакцію 27.06.2012 р.

New 2-quinolinone derivatives: synthesis and CK2 inhibitor activity

A.R. Synyugin¹, M.O. Chekanov¹, O.Yu. Nyporko^{2,1}, O.V. Ostrynska¹, S.M. Yarmoluk¹

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Zabolotno Str., Kyiv, 03680, Ukraine

² Taras Shevchenko Kyiv National University
60, Volodymirska Str., Kyiv, 01601, Ukraine

Summary. In this work virtual screening of generated combinatorial library of 7786 2-quinolinone derivatives was carried out. 98 compounds of this class were synthesized and characterized as potential human protein kinase CK2 inhibitors for the first time. None of synthesized compounds inhibit CK2 activity less than 40 % according to biochemical tests. The complexes of 2-quinolinone derivatives with CK2 were obtained by using molecular docking method. Compounds position in enzyme ATP-binding site and key interaction with its amino acid residues were analyzed. These compounds can be recommended for inhibitor activity studies at others enzymes.

Keywords: 2-quinolinone, human protein kinase CK2 inhibitor, virtual screening, 2-quinolinone-3-yl carbonic acid, 2-quinolinone-6-acetic acid, combinatorial library.

Перелік літератури

1. Buckle D.R., Cantello B.C., Smith H., Spicer B.A. 4-hydroxy-3-nitro-2-quinolones and related compounds as inhibitors of allergic reactions // *J. Med. Chem.* — 1975. — 18. — P. 726-732.
2. Lyseng-Williamson K.A., Perry C.M. Aripiprazole: in acute mania associated with bipolar I disorder // *CNS Drugs.* — 2004. — Vol. 18. — P. 367-376.
3. Freeman G.A., Andrews Iii CW 3rd, Hopkins A.L., Lowell G.S., Schaller L.T., Cowan J.R., Gonzales S.S., Koszalka G.W., Hazen R.J., Boone L.R., Ferris R.G., Creech K.L., Roberts G.B., Short S.A., Weaver K.,

Reynolds D.J., Milton J., Ren J., Stuart D.I., Stammers D.K., Chan J.H. Design of non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase with improved drug resistance properties // *J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 47. — P. 5923-5936.

4. Li Q., Woods K.W., Wang W., Lin N.H., Claiborne A., Gu W.Z., Cohen J., Stoll V.S., Hutchins C., Frost D., Rosenberg S.H., Sham H.L. Design, synthesis, and activity of achiral analogs of 2-quinolones and indoles as non-thiofarnesyl transferase inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2005. — Vol. 15. — P. 2033-2039.

5. Wall M.J., Chen J., Meegalla S., Ballentine S.K., Wilson K.J., Des Jarlais R.L., Schubert C., Chaikin M.A., Crysler C., Petrounia I.P., Donatelli R.R., Yurkow E.J., Boczon L., Mazzulla M., Player M.R., Patch R.J., Manthey C.L., Molloy C., Tomczuk B., Illig C.R. Synthesis and evaluation of novel 3,4,6-substituted 2-quinolones as FMS kinase inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2008. — Vol. 18. — P. 2097-2102.
6. Golub A.G., Yakovenko O.Y., Bdzholo V.G., Sapelkin V.M., Zien P., Yarmoluk S.M. Evaluation of 3-carboxy-4(1H)-quinolones as inhibitors of human protein kinase CK2 // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49. — P. 6443-6450.
7. Ahmad K.A., Wang G., Unger G., Slaton J., Ahmed K. Protein kinase CK2 — a key suppressor of apoptosis // *Adv. Enzyme Regul.* — 2008. — Vol. 48. — P. 179-187.
8. Filhol O., Cochet C. Protein kinase CK2 in health and disease: Cellular functions of protein kinase CK2: a dynamic affair // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2009. — Vol. 66. — P. 1830-1839.
9. St-Denis N.A., Litchfield D.W. Protein kinase CK2 in health and disease: From birth to death: the role of protein kinase CK2 in the regulation of cell proliferation and survival // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2009. — Vol. 66. — P. 1817-1829.
10. Singh N.N., Ramji D.P. Protein kinase CK2, an important regulator of the inflammatory response? // *J. Mol. Med. (Berl).* — 2008. — Vol. 86. — P. 887-897.
11. Trembley J.H., Wang G., Unger G., Slaton J., Ahmed K. Protein kinase CK2 in health and disease: CK2: a key player in cancer biology // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2009. — Vol. 66. — P. 1858-67.
12. Raftery M., Campbell R., Glaros E.N., Rye K.A., Halliday G.M., Jessup W., Garner B. Phosphorylation of apolipoproteinE at an atypical protein kinase CK2 PSD/E site *in vitro* // *Biochemistry.* — 2005. — Vol. 44, No. 19. — P. 7346-7353.
13. Yamada M., Katsuma S., Adachi T., Hirasawa A., Shirojima S., Kadowaki T., Okuno Y., Koshimizu T., Fujii S., Sekiya Y., Miyamoto Y., Tamura M., Yumura W., Nihei H., Kobayashi M., Tsujimoto G. Inhibition of protein kinase CK2 prevents the progression of glomerulonephritis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2005. — Vol. 102, No. 21. — P. 7736-7741.
14. Golub A.G., Bdzholo V.G., Kyshenia Y.V., Sapelkin V.M., Prykhod'ko A.O., Kukharensko O.P., Kotey I.M., Ostrynska O.V., Yarmoluk S.M. Structure-based discovery of novel flavonol inhibitors of human protein kinase CK2 // *Mol. Cell. Biochem.* — 2011. — Vol. 356. — P. 107-115.
15. Meth-Cohn O., Narine B. A versatile new synthesis of quinolines and related fused pyridines // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* — 1981. — P. 1920.
16. Shanmugam P., Thiruvengadam T.K., Ramakrishnan V.T. Pyrroloquinolines — Part 1. Synthesis of 1-Aryl-2-chloro-1H-pyrrolo[2,3-b]quinolines // *Synthesis.* — 1976. — P. 393-394.
17. Синюгін А.Р., Чеканов М.О., Лукашов С.С., Ярмолюк С.М. Синтез 3-(хінолін-2-он-3-іл) пропіонових кислот // *Ukrainica Bioorganica Acta.* — 2010. — № 2. — С. 58-62.
18. Чеканов М.О., Синюгін А.Р., Лукашов С.С., Ярмолюк С.М. Синтез 3-(амінометил)- і 3-(2-аміноетил)-хінолін-2-онів // *Ukrainica Bioorganica Acta.* — 2009. — № 2. — С. 59-63.