

УДК 577.322

Прогрес у розробці інгібіторів протеїнкінази СК2

А.О. Приходько, Г.П. Волинець, В.Г. Бджола, С.М. Ярмолук*

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

Резюме. Протеїнкіназа СК2 — убіквістично експресована плейотропна протеїнкіназа, що задіяна в розвитку низки захворювань людини. В огляді зроблено спробу узагальнити дані літератури щодо участі СК2 у процесах онкогенезу, вірусних і нейродегенеративних захворюваннях. Також узагальнено результати пошуку інгібіторів СК2, проведено аналіз їх ефективності *in vitro* та *in vivo*.

Ключові слова: протеїнкіназа СК2, онкогенез, вірусні захворювання, нейродегенеративні хвороби, інгібітор.

Протеїнкіназа СК2 як молекулярна мішень для фармакологічного впливу

Участь протеїнкінази СК2 у процесах онкогенезу. Протеїнкіназа СК2 — це убіквістична, висококонсервативна серин-треонінова протеїнкіназа. Її гетеротетрамерна структура складається з двох каталітичних субодиниць (α і α' з молекулярною масою відповідно 42 та 38 кДа) і двох регуляторних субодиниць (β з молекулярною вагою 28 кДа) та може існувати в конфігураціях $\alpha_2\beta_2$, $\alpha\alpha'\beta_2$ або $\alpha_2'\beta_2$ [1, 2].

СК2 є надзвичайно плейотропною кіназою: вона фосфорилує величезну кількість субстратів, низка яких залучена до регуляції експресії генів і росту клітини. Важливою особливістю протеїнкінази СК2 є те, що вона за різних умов може локалізуватися в різних компартментах клітини. Присутність цієї кінази в ядерному матриксі пов'язана з регуляцією таких функцій, як проліферація та загибель клітин [3, 4]. Слід зазначити, що рівень СК2 підвищений під час проліферації як нормальних, так і ракових клітин. Однак, було показано, що надрегуляція СК2 у ракових кліти-

нах відображає не лише їх проліферацію, а й патологічний статус [5]. Експресія СК2 підвищена в усіх досліджуваних типах раку [6-8].

У низці експериментальних досліджень було продемонстровано, що СК2 бере участь у процесі ангиогенезу. Ця протеїнкіназа здатна фосфорилувати низку факторів росту, а також багатьох ключових сигнальних молекул, задіяних в ангиогенезі, зокрема HIF-1 (Hypoxia-inducible factor 1) [9]. В експериментальних моделях ангиогенезу та ретинальної неоваскуляризації було показано, що інгібування СК2 веде до пригнічення ангиогенезу й рекрутування гематопоетичних стовбурових клітин до ретинальних неоваскуляризаційних сайтів [10-13]. Інгібування активності протеїнкінази СК2 також пригнічувало васкуляризацію пошкодженого ендометріозу [14]. З використанням інгібітора СК2 (циклічного пептиду SIGV-300) було виявлено, що зниження активності СК2 веде до інгібування міграційної здатності ендотеліальних клітин пуповидної вени людини та зниженого рівня формування капілярноподібної трубчастості структури [15]. З огляду на це є підстави стверджувати, що СК2 відіграє важливу роль у підтриманні ангиогенезу в пухлинному мікрооточенні.

На сьогодні немає систематизованих даних щодо участі СК2 у процесах метастазування.

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5222458

E-mail address: yarmolyuksm@gmail.com

Проте нещодавно було показано, що СК2 α може модулювати проліферацію й інвазію клітин, регулюючи гени епітеліально-мезенхімного переходу. Епітеліально-мезенхімний перехід — це складний процес зміни епітеліальними клітинами епітеліального фенотипу на мезенхімний, що спостерігається при пухлинній прогресії. Відбувається втрата клітинами епітеліальних маркерів, таких як Е-кадгерин, та індукція мезенхімних маркерів, таких як N-кадгерин і віментин. Ракові клітини змінюють свою форму та стають більш мобільними й інвазивними [16–18]. Підвищений рівень СК2 у клітині корелює з індукцією маркерів епітеліально-мезенхімного переходу. Таким чином, інгібування СК2 може бути ефективним терапевтичним підходом для лікування метастазування. Експериментально було показано, що найбільш ефективний на сьогодні інгібітор СК2 — СХ-4945 — інгібував прояв властивостей епітеліально-мезенхімного переходу в клітинній лінії А549. Цей інгібітор пригнічував TGF- β 1 (Transforming growth factor β 1) індуквану міграцію та інвазію клітин А549. Як було показано на клітинній лінії раку грудей, TGF- β 1 індукує експресію й активацію позаклітинних протеаз ММР-2 (Matrix metalloproteinase) і ММР-9, що здатні деградувати білки екстрацелюлярного матриксу, індуюючи міграцію клітин [19, 20]. У дослідженнях інших науковців підтверджено, що УФ-опромінення дермальних фібробластів людини викликає СК2-опосередковану надрегуляцію трансляції ММР-1 та ММР-3 [21].

Важливою характеристикою ракових клітин є порушення регуляції апоптичної активності. У деяких пухлинних клітинах зниження апоптичної активності є більш важливим фактором у прогресуванні раку, ніж збільшення проліферації [22, 23]. СК2 є ефективним супресором апоптозу. Надрегуляція СК2 може впливати на внутрішні й зовнішні шляхи апоптозу, опосередковані різними сигналами. Таким чином, підвищена експресія СК2 є однією з причин пригнічення нормальної апоптичної активності ракових клітин та їхньої відповіді на апоптоз-індукуючі агенти [24]. З іншого боку, зниження експресії або інгібування СК2 призводить до загибелі клітин. Зокрема, було показано, що використання малих

інтерференційних РНК, що веде до сайленсингу гена СК2, або надекспресія неактивної СК2, збільшували чутливість рабдоміосаркоми і карциноми товстого кишечника до TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) — індукваного каспазо 8-опосередкованого апоптозу [25]. Інгібування СК2 підвищувало чутливість Т-лімфобластичних клітин до апоптозу, індукваного хемотерапевтичними препаратами [26]. Крім того, інгібування СК2 індуквало ROS-опосередкований апоптоз у клітинах лейкемії [27].

СК2 модулює супресори карциногенезу. Зокрема, на моделі мишей із раком легень було показано, що СК2 фосфорилує PML (Promyelocytic leukemia protein), що призводить до протеасомної деградації останнього та веде до карциногенезу. І навпаки, інгібування СК2 відновлює функцію PML та пригнічує пухлиноутворення [28]. В інших експериментах було продемонстровано, що СК2 фосфорилує PTEN (Phosphatase and tensin homolog), сприяючи його протеасомній деградації й індукції канцерогенезу [29].

Результати низки досліджень *in vitro* та *in vivo* свідчать про важливу роль СК2 у процесі гліомагенезу. СК2 бере участь у підтриманні ракових стовбурових клітин, регулюючи такі сигнальні шляхи, як Hedgehog/Gli, Notch та β -catenin [30]. Показано, що інгібітори протеїнкінази СК2 (ТВІ, ДМАТ, МВ01-3 і ZKK) здатні викликати апоптоз клітин гліобластоми [31]. Таким чином, інгібування активності СК2 може бути важливим терапевтичним підходом для пригнічення росту гліобластом.

Роль протеїнкінази СК2 у вірусних захворюваннях. Протеїнкіназа СК2 фосфорилує низку протеїнів вірусів, важливих для їх життєвого циклу, зокрема зворотної транскриптази, протеїнів Vpu (Viral protein unique) і gp120 (envelope glycoprotein) вірусу імунодефіциту людини першого типу (ВІЛ-1), реплікази РА вірусу грипу людини, R1 субодиноці герпесу та глікопротеїну 1 вірусу вітряної віспи, а також може відігравати важливу роль у вірусній інфекції [32–35].

Експериментально було показано, що субстратом СК2 є протеїн ZEBRA вірусу Епштейна-Барр. Така посттрансляційна модифікація є важливою для контролю переходу вірусу з

латентної фази життєвого циклу в літичну [36]. СК2-опосередковане фосфорилування ORF57 вірусу саркоми Капоші також необхідне для контролю генної експресії при літичному інфекційному циклі [37].

Протеїнкіназа СК2 модифікує деякі протеїни вірусу HSV-1 (*Herpes simplex virus type 1*) і бере участь у регуляції його життєвого циклу. Показано, що інгібування СК2 веде до зниження реплікації HSV-1 та підсилення інгібувального ефекту інтерферону β на реплікацію [38].

Онкопротеїн E7 вірусу папіломи людини типу 38 (HPV38) активує сигнальний каскад СК2-МЕК-ERK-Rho, що веде до порушення формування актинового цитоскелета й посилення проліферації клітин. У свою чергу, це може призводити до HPV38-опосередкованої іморталізації кератиноцитів [39].

Протеїн вірусу герпесу ICP27 потребує СК2-опосередкованого фосфорилування для коректної субклітинної локалізації та взаємодії з відповідними партнерами [40, 41]. Фосфорилування протеїну E1B-55K аденовірусу людини типу 5 є важливим для росту вірусу [42].

Експериментально показано, що класичні інгібітори СК2 — 5,6-дихлоро-1- β -D-рибофураносилбензімідазол (DRB) і 4,5,6,7-тетрабromo-1H-бензотриазол (ТВВ) — мають антивірусну активність [35, 43-45].

Таким чином, пригнічення активності СК2 може бути використаним під час лікування вірусних захворювань.

Функціонування СК2 у нейрологічних захворюваннях. Підвищена активність СК2 спостерігається при хворобі Альцгеймера. Було показано, що олігомерний β -амілоїд ($\text{oA}\beta$) активує СК2, що призводить до інгібування життєво важливого швидкого аксонального транспорту і до прогресування хвороби [46]. Таким чином, фармакологічна регуляція активності СК2 є важливим підходом для терапевтичного втручання при хворобі Альцгеймера.

Такі нейродегенеративні хвороби, як хвороба Паркінсона, деменція з тільцями Леві і множинна системна атрофія, характеризуються наявністю філаментових α -синуклеїнових включень у нейронах або гліальних клітинах. Виявлено, що СК2 — основна протеїнкіназа в мозку, яка фосфорилує α -синуклеїн за аміно-

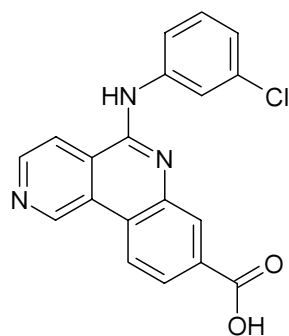


Рис. 1. Хімічна структура інгібітора протеїнкінази СК2 SX-4945

кислотним залишком Ser129 і сприяє нейротоксичності [47]. Інгібування СК2 може бути потенційним терапевтичним підходом для лікування α -синуклеїнопатії.

Підвищена активність СК2 пов'язана зі збільшенням NMDAR (*N-methyl-D-aspartate receptor*)-опосередкованої синаптичної трансмісії в дорсальному розі сірої речовини спинного мозку та збільшенням гіперчутливості до болю, викликаного ураженням нервів. СК2 може бути новою мішенню для лікування невропатичного болю, викликаного ураженням нервів, та больового синдрому, індукованого кальциневринним інгібітором [48].

Таким чином, протеїнкіназа СК2 є надзвичайно цікавою терапевтичною мішенню. Серед підходів, запропонованих для модуляції активності СК2, найбільш відомими є використання антисенсових або siRNA [1, 6, 49-53], пептидного інгібітора, дія якого спрямована на блокування сайтів фосфорилування в субстратах СК2 [54] і низькомолекулярних інгібіторів [55-61].

В одній із попередніх наших робіт ми обговорювали такі класи інгібіторів протеїнкінази СК2, як похідні бензімідазолу й бензотриазолу, флавоноїди, похідні антрахінону, хіназоліну, ізохіноліну, нафталіну, ксантену та флуорену [62]. У цьому огляді зроблено спробу узагальнити нові дані щодо наявних інгібіторів протеїнкінази СК2.

Інгібітори протеїнкінази СК2

Піримідо[4,5-с]хінолінові інгібітори. На сьогодні єдиним інгібітором протеїнкінази СК2, який проходить клінічні випробування, є SX-4945 (рис. 1). Цей інгібітор є АТФ-конкурентним, високоактивним ($IC_{50}=0,38$ nM) і се-

лективним до СК2. У низці досліджень показано, що він має антиангіогенні, антипроліферативні та проапоптичні властивості в різних ракових клітинах людини [63–66]. Нещодавно було встановлено, що СХ-4945 має хороші фармакокінетичні характеристики [67].

Ефективність СХ-4945 вивчено на низці гематологічних видів раку, зокрема при хронічній лімфоцитній лейкемії, Т-клітинній гострій лімфоцитній лейкемії, гострій мієлоїдній лейкемії та при лімфомах [68]. Дослідження продемонстрували, що СХ-4945 має антипроліферативну активність у біопсійних зразках хронічної лімфоцитної лейкемії [69]. Цей інгібітор викликав апоптоз Т- і В-клітин при гострій лімфоїдній лейкемії [70, 71] та загибель клітин у клітинній лінії гострої мієлоїдної лейкемії [72].

Оскільки СК2 залучена в метаболізм кісткової тканини [73, 74], було виявлено антиостеокластогенну й анаболічну активність СХ-4945. Останній пригнічував RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) індуковану диференціацію остеокластів, але посилював BMP-2 (bone morphogenetic protein 2) індуковану диференціацію остеобластів. Блокування зв'язування СК2 із BMP рецептором типу Ia (BMPRIa) призводить до остеогенезу через MEK/ERK сигнальний шлях [75].

СХ-4945 також інгібує продукцію проангіогенного прозапального інтерлейкіну-6. Таким чином, СХ-4945 та інші інгібітори СК2 можуть бути потенційними терапевтичними засобами для лікування низки хвороб, пов'язаних із процесами запалення [76].

У ході досліджень встановлено, що інгібітори СХ здатні долати проблему резистентності до апоптозу, оскільки вони мають подібну ефективність у резистентних і нормальних аналогічних клітинах. Цікаво, що досліджувані резистентні клітинні лінії мають різний вид резистентності до апоптозу: R-2008 клітини резистентні до цисплатину; R-LAMA84, R-KCL22 і R-K562 резистентні до іматинібу, тоді як R-CEM та R-U2OS є MDR (Multidrug resistant) клітинами, що експресують Pgp (P-glycoprotein) помпи. Інгібування СК2 має подібний ефект на всі резистентні клітини, оскільки знижує здатність клітини протистояти апоптозу. СХ-4945 і СХ-5011 інтерналізуються в

резистентні клітини, інгібують ендogenous СК2 й індукують загибель клітин. Таким чином, використання цих сполук може розглядатися як важливий терапевтичний підхід для лікування фармакологічно резистентних видів раку [77].

Кристалічна структура клінічно досліджуваного інгібітора СХ-4945 із СК2 продемонструвала безпосередню взаємодію сполуки з протеїном через утворення водневого зв'язку між NH-групою 3-хлорофеніламіну і молекулою води. Авторами M. Haddach та ін. описано дизайн та синтез нових трициклічних ефективних інгібіторів протеїнкінази СК2, в яких відсутня NH-група у відповідному положенні. За даними SAR-аналізу встановлено, що йонна взаємодія між карбоксильною групою в положенні С8 і Lys68 протеїну є надзвичайно важливою для прояву активності інгібітора. Крім того, було виявлено, що втрата активності, викликана зникненням водневого зв'язку між NH-групою аніліну в положенні С5 та молекулою води в кристалічній решітці, може бути компенсована ліпофільною взаємодією з ділянкою основного ланцюга або збільшенням копланарності трициклічного кору і ароматичних замісників у положенні С5. Розроблені хімічні структури можуть бути основою для створення нових інгібіторів СК2 [78].

Автори F. Pierre та ін. синтезували низку похідних піримідо[4,5-с]хіноліну і перевірили їх активність *in vitro* на холоферменті СК2 ($\alpha\alpha\beta$). Виявилось, що піримідини, які заміщені в позиції С-5 анілінами та мають маленькі хімічні групи в мета-положенні, є високоактивними наномолярними інгібіторами СК2 (значення IC_{50} знаходиться в діапазоні від 3 до 10 nM). Найбільш активну сполуку тестували за її здатністю модулювати активність СК2 у клітинах. Так, у клітинах VxPC3 цей інгібітор знижував рівень фосфорилування Akt(S129) зі значенням $EC_{50}=0,27 \mu M$.

Фармакокінетичні властивості знайденого інгібітора досліджували на гризунах. Результати продемонстрували, що сполука має низький кліренс і високий ступінь розподілу. Крім того, інгібітор знижує рівень формалін-індукованого болю в мишей дозозалежним чином. Ці результати підтверджують терапевтичний потенціал інгібіторів протеїнкінази СК2 і да-

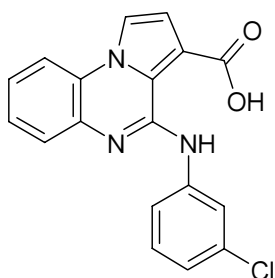


Рис. 2. Хімічна структура 4-[(3-хлорофеніл)-аміно]піроло[1,2-а]хіноксалін-3-карбоксільної кислоти

ють підстави вважати, що оптимізовані інгібітори можуть бути основою для створення терапевтичних препаратів для лікування різних хвороб людини [79].

Похідні піроло[1,2-а]хіноксаліну

Піроло[1,2-а]хіноксаліновий гетероцикл є основою важливого класу сполук, що має цікаві біологічні властивості. Існують повідомлення, що ці сполуки можуть слугувати ключовими компонентами для синтезу деяких гетероциклів, включаючи антипсихотичний агент, модулятор аденозинового рецептора, антипаразитичні речовини й протиракові препарати. Авторами Guillon та ін. було синтезовано 15 сполук цього класу і перевірено їх активність по відношенню до СК2. Встановлено, що 9 із них інгібували протеїнкіназу із субмікромолярними значеннями IC_{50} . Найбільш активна сполука — 4-[(3-хлорофеніл)аміно]піроло[1,2-а]хіноксалін-3-карбоксільна кислота — пригнічувала активність СК2 зі значенням $IC_{50}=49$ nM (рис. 2).

Для 9 активних похідних піроло[1,2-а]хін-

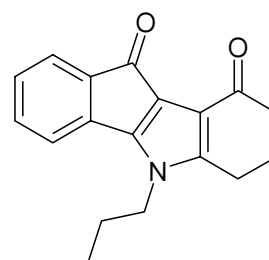


Рис. 3. Хімічна структура 5-ізопропіл-7,8-дигідроіндено[1,2-б]індол-9,10(5Н,6Н)-діону

оксаліну визначали антипроліферативний ефект на чотирьох клітинних лініях лейкемії людини (U937, K562, Jurkat і MV-4-11) та цитотоксичність на активованих моноцитах людини. Результати порівнювали з дією інгібітора СХ-4945 (табл. 1).

Як видно з таблиці, досліджувані похідні піроло[1,2-а]хіноксаліну значно поступаються за антипроліферативною активністю відомому інгібітору протеїнкінази СК2 СХ-4945 і потребують подальшої оптимізації [80].

Похідні індено[1,2-б]індолу

Авторами Hundsdorfer та ін. було синтезовано 19 похідних індено[1,2-б]індолу, 4 з яких інгібували протеїнкіназу СК2. Найбільш активна сполука — 5-ізопропіл-7,8-дигідроіндено[1,2-б]індол-9,10(5Н,6Н)-діон (рис. 3) — пригнічувала активність СК2 із $IC_{50}=0,11$ μ M та $K_i=0,06$ μ M і мала АТФ-конкурентний тип інгібування. Цей інгібітор досліджували на здатність пригнічувати активність 22 інших протеїнкіназ людини. Жодну з цих протеїнкіназ сполука не інгібувала значним чином ($IC_{50}>35$ μ M). Таким чином, інгібування СК2 є

Таблиця 1

Активність інгібіторів СК2 СХ-4945 та похідних піроло[1,2-а]хіноксаліну на клітинних лініях

Сполука	Значення CC_{50} (μ M)				Цитотоксичність на активованих моноцитах периферійної крові людини (PBMNC)
	K562	U937	Jurkat	MV-4-11	
СХ-4945	7	4,2	4,5	3	50
1a	>50	>50	>50	>50	>50
1b	>50	>50	41	>50	>50
1c	42	47,7	>50	>50	>50
1d	>50	>50	>50	>50	>50
1e	>50	>50	>50	20	>50
1f	>50	>50	>50	20	>50
1g	>50	>50	>50	>50	>50
1h	>50	>50	>50	>50	>50
1k	>50	39,2	31,4	47	>50

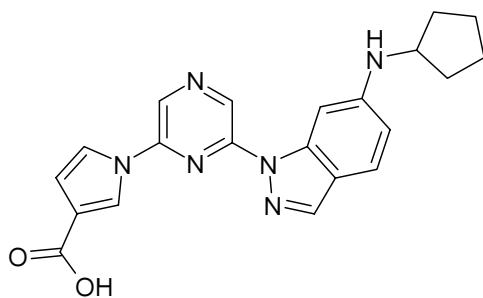


Рис. 4. Хімічна структура 1-[6-(6-циклопентил-аміноіндазол-1-іл)-піразин-2-іл]-1H-пірол-3-карбоксильної кислоти

майже у 300 разів ефективнішим, ніж пригнічення іншої досліджуваної протеїнкінази.

Для дослідження здатності цього інгібітора проникати через мембрану були розраховані показники ClogP та TPSA (topological polar surface areas), які становили відповідно 3,317 і 39,076 Å². Згідно із зазначеними даними, сполука потенційно здатна проникати через клітинну мембрану. Для підтвердження цього передбачення було досліджено цитотоксичність 5-ізопропіл-7,8-дигідроіндено[1,2-*b*]індол-9,10(5H,6H)-діону на пухлинній клітинній лінії стравоходу людини KYSE-70. За концентрації 20 μM ріст клітин пригнічувався на 25 %. Не зважаючи на незначний ефект, це свідчить про здатність сполуки проникати через мембрану. Низька протиракова ефективність досліджуваної сполуки по відношенню до клітинної лінії KYSE-70 може бути обумовлена перетворенням сполуки в неактивні похідні, що свідчить про необхідність подальшої оптимізації інгібіторів цього класу сполук [81].

Нещодавно науковцями було синтезовано 21 похідне індено[1,2-*b*]індолу, які тестували *in vitro* по відношенню до СК2. Найбільш активні сполуки пригнічували активність СК2 із значеннями IC₅₀ 0,17 та 0,61 μM. Низку похідних інденоіндолу досліджували за цитотоксичною активністю по відношенню до клітинних ліній 3T3, WI-38, HEK293T і MEF. Най-

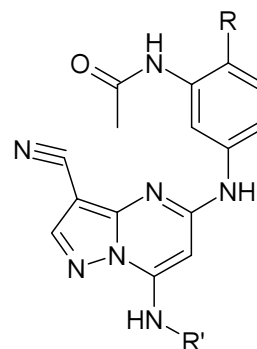


Рис. 5. Хімічна структура похідних 5-аніліно-піразоло[1,5-*a*]піримідину

більш активна сполука мала низький рівень цитотоксичності, що є важливою умовою для проведення подальших біомедичних досліджень [82].

2,6-Дизаміщені піразини

Раніше Suzuki та ін. було опубліковано дані про те, що похідні 2,6-дизаміщеного піразину здатні інгібувати протеїнкіназу СК2 [83]. У роботі Fuchi та ін. було синтезовано 14 похідних цього хімічного кору й досліджено їх інгібвальну здатність по відношенню до протеїнкінази СК2 *in vitro*. Вісім найбільш активних сполук із наномолярною активністю (IC₅₀ у діапазоні від 8 до 30 nM) досліджували на клітинній лінії HEK293. Найбільш активна сполука — 1-[6-(6-циклопентиламіноіндазол-1-іл)-піразин-2-іл]-1H-пірол-3-карбоксильна кислота — пригнічувала СК2 у клітинах зі значенням IC₅₀ 0,9 μM (рис. 4).

Дію цього інгібітора досліджували по відношенню до інших шести протеїнкіназ людини. Результати експериментів продемонстрували значну селективність інгібітора стосовно протеїнкінази СК2 (табл. 2).

Крім того, використання цього інгібітора на моделі тварин із нефритом показало покращення фізіологічних показників.

Таким чином, похідні цього класу сполук можуть бути перспективними для подальшої

Таблиця 2

Профіль селективності для 1-[6-(6-циклопентиламіноіндазол-1-іл)-піразин-2-іл]-1H-пірол-3-карбоксильної кислоти

Сполука	СК2 IC ₅₀ , nM	Співвідношення із значенням IC ₅₀ для СК2					
		PKC	SAMK2	S6	PKA	ERK	p38β2
13	9.3	>740	162	626	>740	>740	>740

оптимізації та розробки ліків від гломерулонефриту [84].

Похідні піразоло[1,5-а]піримідину

Дослідники J.E. Dowling та ін. розробили новий клас інгібіторів протеїнкінази СК2 — похідні 5-анілінопіразоло[1,5-а]піримідину (рис. 5).

Сполуки цього класу інгібують СК2 зі значенням $IC_{50} < 3$ нМ і мають високий ступінь селективності. Було показано, що похідні піразоло[1,5-а]піримідину знижують рівень фосфорильовання Ser129 протеїнкінази Akt, що є безпосереднім субстратом СК2. Низка інгібіторів пригнічувала ріст клітин колоректального раку людини HCT-116. Оптимізація лідерних сполук дала змогу знайти сполуки з нижчою ліпофільністю, зниженою афінністю до білків плазми крові та йонних каналів hERG [85].

Похідні 3-ціано-5-арил-7-амінопіразоло[1,5-а]піримідину

З використанням кіназофокусованого скринінгового підходу, що ґрунтується на використанні мішень-специфічних структурних біоінформатичних фільтрів, було знайдено близько 2500 сполук зі здатністю інгібувати протеїнкіназу більш ніж на 60 % при 10 μ М. Серед хітів, охарактеризованих таким чином, серія 3-ціано-5-арил-7-амінопіразоло[1,5-а]піримідинів виявляла субмікромолярну активність. Сполуку з десятинаномольною активністю досліджували на інгібувальну здатність по відношенню до 324 протеїнкіназ. Як показали результати тестування, ця речовина демонструє високу селективність щодо СК2. Також було встановлено структурні особливості знайденого інгібітора, модифікація яких дасть змогу покращити специфічність дії стосовно СК2. Низка сполук володіла антипроліферативною активністю по відношенню до клітинної лінії HCT-116 [86].

2,3,7,8-тетрагідроксихромено[5,4,3-cde]хромен-5,10-діон (елагова кислота)

Із використанням технології віртуального скринінгу був знайдений високоактивний інгібітор СК2 — 2,3,7,8-тетрагідроксихромено[5,4,3-cde]хромен-5,10-діон (елагова кислота), що є похідним танінової кислоти і пригнічує активність протеїнкінази з константою інгібування 20 нМ [87].

Іншими дослідниками було отримано крис-

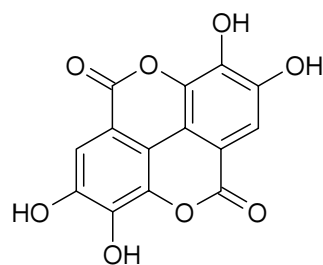


Рис. 6. Хімічна структура елагової кислоти

талічну структуру комплексу α -субодиниці СК2 людини з елаговою кислотою. Виявлено, що інгібітор зв'язується з ензимом за новим типом взаємодії, що включає формування водневих зв'язків за участю води. Ця структурна інформація є важливою для розробки нових ефективних інгібіторів СК2 [88].

Із застосуванням підходів *in silico* було ідентифіковано аналоги елагової кислоти як нові ефективні інгібітори протеїнкінази СК2. Науковцями було розроблено QSAR-модель на основі значень IC_{50} 38 відомих кумаринових інгібіторів СК2. У результаті проведення скринінгу 20 аналогів елагової кислоти із використанням QSAR-моделі та молекулярного докінгу було знайдено дві сполуки — CID 46229200 та CID 10003463, які є потенційними кандидатами для створення лікарських препаратів проти раку ротової порожнини [89].

Похідні кумарину

Кумарини — бензпіранові похідні, отримані з природної сировини, зокрема з овочів, фруктів, кави, чаю і вина. З огляду на їхні різноманітні фармакологічні властивості та терапевтичне застосування, кумарини розглядають як перспективні кандидати для розробки лікарських препаратів [90-92].

Із застосуванням різних підходів віртуального скринінгу було ідентифіковано кумарин як перспективний хімічний кор для інгібіторів СК2. Автори Chilin та ін. синтезували колекцію кумаринів, що налічувала понад 60 сполук. Найбільш ефективний інгібітор — 3,8-дібромометил-7-гідрокси-4-метилхромен-2-он (DBC) (рис. 7) — був закристиалізований у комплексі із СК2 [93].

Ефект протиракової активності кумаринів пов'язують з їх метаболітом — 7-гідроксикумарином. Деякі гідроксикумаринові сполуки мають значення IC_{50} (K_i) нижче 1 μ М, а най-

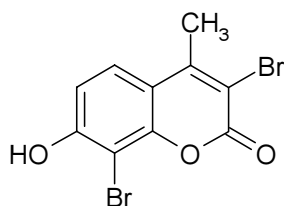


Рис. 7. Хімічна структура інгібітора протеїнкінази СК2 — 3,8-дибромомо-7-гідрокси-4-метилхромон-2-он (DBC)

більш ефективний інгібітор DBC — значення K_i нижче 100 nM. Крім того, перевагою кумаринових інгібіторів є те, що вони не діють як інтеркалятори ДНК [94].

Хіналізарин

Із застосуванням віртуального скринінгу бази даних сполук MMS авторами Gozza та ін. було ідентифіковано АТФ-конкурентний інгібітор протеїнкінази СК2 — хіналізарин (1,2,5,8-тетрагідроксиантрахінон). Ця сполука пригнічує активність СК2 із константою інгібування близько 50 nM. Активність хіналізарину досліджували на панелі із 75 протеїнкіназ. Результати досліджень свідчать, що хіналізарин є високоселективним інгібітором СК2. Слід зазначити, що цей інгібітор у меншій мірі інгібує протеїнкінази DYRK1a (Dual-specificity tyrosine-phosphorylated and -regulated kinase), PIM (Provirus integration site for Moloney murine leukaemia virus) 1, 2 і 3, HIPK2 (Homeodomain-interacting protein kinase-2), MNK1 [MAPK (Mitogen-activated protein kinase)-interacting kinase 1], ERK8 (extracellular-signal-regulated kinase 8) та PKD1 (protein kinase D 1), ніж низка комерційних інгібіторів СК2.

У дослідженнях на клітинній лінії Jurkat було показано, що хіналізарин здатний інгібувати ендogenous СК2 та індукувати апоптоз ефективніше, ніж ТВВ (4,5,6,7-тетрабромомо-

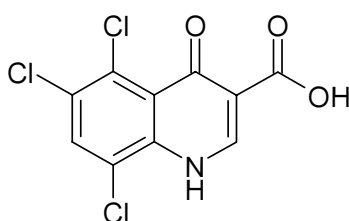


Рис. 9. Хімічна структура 5,6,8-трихлоро-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксильної кислоти

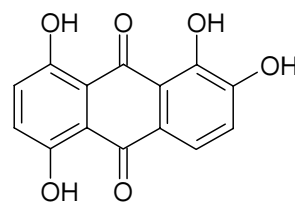


Рис. 8. Хімічна структура хіналізарину

1H-бензотриазол) і ДМАТ (2-диметиламіно-4,5,6,7-тетрабромомо-1H-бензімідазол) [95].

3-карбокси-4(1H)-хінолони

Із застосуванням підходів рецепторно-орієнтованого віртуального скринінгу був ідентифікований клас інгібіторів протеїнкінази СК2 — 3-карбокси-4(1H)-хінолони. Кінетичні експерименти продемонстрували, що найбільш активні сполуки — 5,6,8-трихлоро-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксильна кислота (IC_{50} = 0,3 μ M) (рис. 9) та 4-оксо-1,4-дигідробензо[h]хінолін-3-карбоксильна кислота (IC_{50} = 1 μ M) — є АТФ-конкурентними і пригнічують активність СК2 із константами інгібування відповідно 0,06 та 0,28 μ M. Дослідження активності цих інгібіторів на панелі із семи протеїнкіназ показали значну селективність по відношенню до СК2 [96].

Похідні β -нафтолу

З використанням технології віртуального скринінгу також було ідентифіковано інгібітори СК2 серед похідних саліцилальдегіду. В результаті оптимізації сполук цього класу вдалося ідентифікувати інгібітор 1,5-дибромомо-6-метоксинафталін-2-ол (рис. 10), що здатний пригнічувати ендogenous СК2 та індукувати загибель пухлинних клітин.

Цей інгібітор досліджували на 6 різних пухлинних лініях клітин — HeLa (аденокарцинома шийки матки), U373 (гліобластома), A549 (рак легень), H1299 (рак легень), LnCap (рак

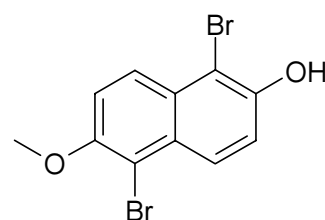


Рис. 10. Хімічна структура 1,5-дибромомо-6-метоксинафталін-2-олу

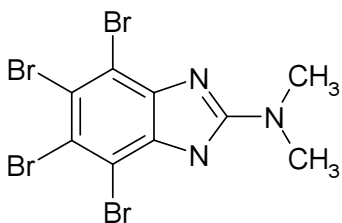


Рис. 11. Хімічна структура 4,5,6,7-тетрабромомо-2-(диметиламіно)бензімідазолу

простати) і MDA231 (рак грудей). Через 48 годин інкубації клітин із 100 μM концентрацією інгібітора спостерігали загибель клітин. Ефект інгібітора не залежав від типу клітин та ступеня їх диференціації [97].

Похідні 4,5,6,7-тетрабромобензімідазолу

Одним із найбільш ефективних інгібіторів протеїнкінази СК2 є 4,5,6,7-тетрабромобензотриазол (ТБВ). Інгібувальні властивості цієї сполуки були покращені в результаті її хімічної модифікації, зокрема заміни N(2) атомом Карбону. Найбільш активний інгібітор — 4,5,6,7-тетрабромомо-2-(диметиламіно)бензімідазол (рис. 11). За ним у ряду активності були метилсульфаніл, потім ізопропіламіно- та інші амінопохідні. Усі ці сполуки мають константу інгібування <100 nM, а найбільш активна — 40 nM, вона індукуює апоптоз клітинної лінії Jurkat ефективніше, ніж ТБВ (значення $\text{DC}(50)$ 2,7 μM у порівнянні з 17 μM). На відміну від ТБВ, ця сполука не має ніяких побічних ефектів на поляризацію мітохондрій аж до досягнення 10 μM концентрації [98].

З метою дослідження впливу окремих атомів бромомо ТБВ на інгібувальну активність по відношенню до СК2 було синтезовано й протестовано два моно-, чотири ди- і два трибромотриазоли. Виявлено, що галогенування центральних сусідніх C(5)/C(6) атомів є ключовим фактором у підвищенні активності. Таким чином, 5,6-di-Br₂Vt та 4,5,6-Br₃Vt є найбільш активними сполуками. Розчинність цих інгібіторів при нейтральному рН є такою ж низькою, як і ТБВ, і значно вищою в кислому середовищі. Однак сьогодні існують альтернативні підходи для транспортування таких гідрофобних сполук в організмі, що ґрунтуються на використанні водорозчинних супрамолекулярних комплексів ліків із молекулами-носіями, такими як циклодекстрин, калік-

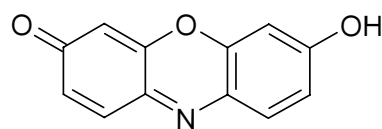


Рис. 12. Хімічна структура резорурфіну

сарени. Слід зазначити, що 5,6-di-Br₂Vt фактично нейтральний за фізіологічного значення рН, що веде до значного зниження рівня побічних ефектів рибосомної деполяризації, яку обумовлює ТБВ, що є аніоном за фізіологічних умов [99].

Іншими авторами було синтезовано низку нових йодованих бензімідазолів шляхом йодування відповідних бензімідазолів з йодом та періодичної кислоти в розчині сульфурної кислоти. Також було отримано декілька 2-заміщених та N-1-карбоксиметилзаміщених похідних 4,5,6,7-тетраїодбензімідазолу. Було досліджено здатність нових сполук інгібувати протеїнкіназу СК2. Результати показали, що 4,5,6,7-тетраїодбензімідазоли є більш ефективними інгібіторами СК2, ніж тетрабромові й тетрахлорові аналоги. Найбільш ефективний інгібітор СК2 із серії досліджуваних сполук — 4,5,6,7-тетраїодобезімідазол — мав $K_i=23$ nM [100].

Резорурфін

Скринінг бібліотеки природних сполук дав змогу ідентифікувати резорурфін (рис. 12) як високоактивний і селективний інгібітор протеїнкінази СК2. На панелі із 52 протеїнкіназ резорурфін інгібував лише СК2.

Активність резорурфіну досліджували на чотирьох клітинних лініях — трьох клітинних лініях карциноми простати людини (PC-3, DU-145, LNCaP) та одній клітинній лінії колоректальної карциноми HCT116. Під час інкубації клітин із резорурфіном (40 моль/л) протягом 24 годин відбувалася загибель 15-20 % клітин, проте не спостерігалось індукції каспазозалежного апоптозу. Однак, коли резорурфін додавали до клітин, попередньо оброблених доксорубіцином, апоптоз був індукований протягом 24 годин.

Ендогенна протеїнкіназа СК2 у трьох лініях карциноми простати була заінгібована на 80 %, а в клітинній лінії колоректальної карциноми

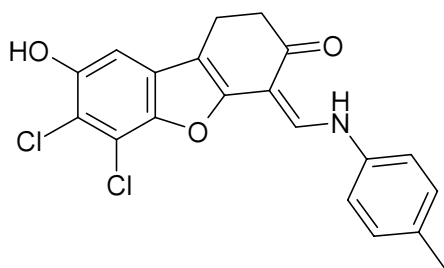


Рис. 13. Хімічна структура інгібітора TF

— на 40 %, що свідчить про клітинно-специфічну селективність [101].

Інгібітор TF

Із застосуванням методу капілярного електрофорезу було проведено скринінг бібліотеки сполук на здатність інгібувати СК2. Найбільш ефективний інгібітор — дибензофуранонове похідне 6,7-дихлоро-1,4-дигідро-8-гідрокси-4-[(4-метилфеніламіно)метилен]добензо[b,d]фуран-3(2H)-ону (TF) (рис. 13). Значення IC_{50} сполуки становило 29 нМ, а константа інгібування — 15 нМ. Інгібітор мав АТФ-конкурентний спосіб інгібування. TF пригнічував активність лише семи протеїнкіназ (Aurora A, VEGFR2, SGK1, VEGFR3, PIM1, PKD2 і LCK) на панелі із 61 протеїнкінази людини (>70 % інгібування).

Інкубація клітин карциноми простати LNCaP у середовищі з додаванням 50 μ M TF протягом 48 годин знижувала активність СК2 на 50 %, що свідчить про здатність інгібітора проникати через клітинну мембрану. Інгібування активності СК2 корелює з підвищенням рівня апоптозу клітин. Таким чином, інгібітор TF може бути основою для розробки більш ефективних похідних, що можуть бути використані в боротьбі з раком [102].

Інгібітор D11

Автори В. Guerra та ін. ідентифікували високоактивний інгібітор протеїнкінази СК2 — 1,3-дихлоро-6-[(E)-((4-метоксифеніл)іміно)метил]добензо(b,d)фуран-2,7-діол (D11) (рис. 14) — у результаті проведення скринінгу 1600 сполук із Diversty Set III в рамках програми «DTP NCI/NIH». Цю сполуку тестували на панелі із 354 еукаріотичних протеїнкіназ. Лише проти трьох протеїнкіназ — DYRK1B, IRAK1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1) і PIM3 — D11 мав високу інгібувальну актив-

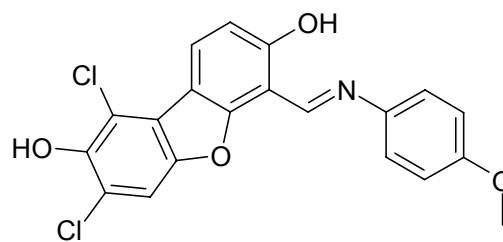


Рис. 14. Хімічна структура інгібітора D11

ність, подібну до СК2. Значення IC_{50} для СК2 α та СК2 α' знаходилися в діапазоні 1-2 нМ, а для протеїнкіназ DYRK1B, IRAK1 та PIM3 — у діапазоні від 18 до 49 нМ. Мембранну проникність та ефективність D11 досліджували на клітинних лініях. На клітинній лінії карциноми підшлункової залози людини (MIA PaCa-2) фосфорилування біомаркера активності СК2 CDC37 за Ser13 фактично повністю було заінгібовано після інкубації з D11. На клітинній лінії недрібноклітинної карциноми легень людини H1299 було виявлено, що додавання D11 призводило до зниження рівня фосфорилування PTEN за амінокислотними залишками Ser380, Thr382, Thr383, які є біомаркерами активності СК2. Ці результати дають підставу стверджувати, що D11 на сьогодні є одним із найефективніших інгібіторів СК2 [103].

Похідні (тієно[2,3-d]піримідин-4-ілтіо)-карбоксильної кислоти (ТТР)

З метою дослідження інгібувальної активності похідних (тієно[2,3-d]піримідин-4-ілтіо)-карбоксильної кислоти по відношенню до СК2 було синтезовано 28 сполук цього класу і протестовано *in vitro*. Найбільш активна сполука — (3-{{5-(4-метилфеніл)тієно[2,3-d]піримідин-4-іл}тіо}пропанова кислота) (рис. 15) — пригнічувала СК2 зі значенням IC_{50} 0,1 μ M. Кінетичні дослідження показали, що цей інгібітор є АТФ-конкурентним, константа інгібування становить 40 нМ. У ході досліджень активності інгібітора на панелі із 8 протеїнкіназ було виявлено, що сполука має селективну дію по відношенню до СК2 [104].

Похідні піразоло[1,5-a][1,3,5]триазину

Низку макроциклічних похідних піразоло[1,5-a][1,3,5]триазину (рис. 16) було синтезовано та досліджено на інгібувальну активність

по відношенню до СК2. Було виявлено, що ці сполуки інгібують СК2 із константою інгібування близько 1 нМ та пригнічують ріст пухлинних клітин зі значенням IC_{50} нижче 100 нМ.

У результаті оптимізації похідних піразоло[1,5-а][1,3,5]триазину було знайдено пікомолярні інгібітори СК2 із мікромолярною цитотоксичною активністю на пухлинних клітинних лініях простати і товстого кишечника [105, 106].

Подвійні інгібітори протеїнкіназ СК2 та Pim

Значна частина кіназних інгібіторів, що використовуються в раковій терапії, є мультикіназними агентами, здатними одночасно модулювати декілька біологічних процесів хвороби. Фармакологічні переваги впливу одночасно на декілька мішеней включають блокаду компенсаторних шляхів і зниження розвитку резистентності.

Групою ензимів, що можуть бути застосовані для мультимішеневого впливу, є протеїнкінази СК2 і Pim. Раціональний дизайн подвійних інгібіторів СК2/Pim уперше був здійснений Lopez-Ramos та ін. у 2010 році [107]. Найкращий інгібітор мав значення IC_{50} для кіназ СК2 і Pim-1 відповідно 63 та 20 нМ, але був неактивний у клітинах у зв'язку з поганою проникністю через мембрану. CX-4945 — відомий інгібітор протеїнкінази СК2 — також інгібує *in vitro* протеїнкінази Pim-1 та Pim-2 зі значеннями IC_{50} відповідно 0,048 і 0,186 μ М, але є неактивним відносно Pim у клітинах. Структурна модифікація CX-4945 привела до відкриття 7-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)бензо[с][2,6]нафтирідину — наномолярного інгібітора Pim-1 та Pim-2, здатного модулювати фосфорилування субстрату Pim — Bad, але неактивного відносно СК2.

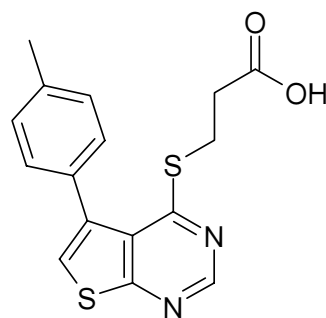


Рис. 15. Хімічна структура 3-[[5-(4-метилфеніл)тієно[2,3-d]піримідин-4-іл]тіо]пропанової кислоти

Автори F. Pierre та ін. розробили новий хемотип інгібіторів з інгібувальною дією проти протеїнкіназ СК2 і Pim — похідні 6-(4H-1,2,4-триазол-3-іл)тієно[3,2-с]хінолінів (рис. 17), найактивніші з яких інгібували всі три мішені з наномолярними значеннями IC_{50} .

Окрім того, ці сполуки демонстрували антипроліферативну активність по відношенню до різних пухлинних клітинних ліній у субмікромолярному й мікромолярному діапазоні концентрацій [108].

Алостеричні інгібітори протеїнкінази СК2

Важливою стратегією розробки інгібіторів СК2 є пошук сполук, які впливають на її активність, взаємодіючи не з АТФ-акцепторним сайтом, а з іншими районами на поверхні протеїнкінази. Одним із таких сайтів є сайт взаємодії субодиниць СК2 α та СК2 β . Серед інгібіторів, які взаємодіють із цим сайтом, відомі 5,6-дихлоро-1- β -D-рибофуранозилбензімідазол (DRB), індолоаналог подофілотоксину W16, гематеїн, олігопептиди, такі як фрагменти CFTR (Cystic fibrosis transmembrane regulator), циклічний пептид Pс. Альтернативна стратегія була застосована Perea та ін., які

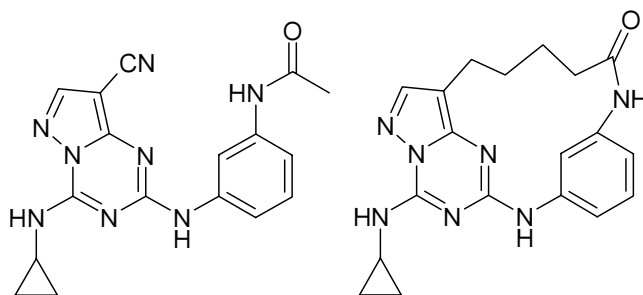


Рис. 16. Хімічна структура піразоло[1,5-а][1,3,5]триазину і макроциклічного похідного

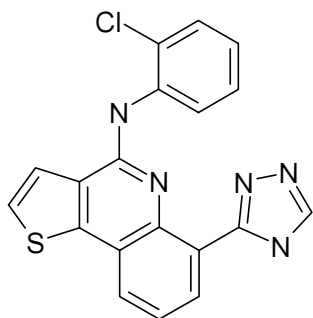


Рис. 17. Хімічна структура інгібітора СК2 — (2-хлорофеніл)-[6-(4H-[1,2,4]триазол-3-іл)-тієно[3,2-с]хінолін-4-іл]-аміну

ідентифікували циклічний пептид P15, що здатний інтерферувати із сайтом фосфорилування субстрату, інгібуючи взаємодію ензиму із субстратом. У комбінації з клітинопроникним пептидом Tat химера P15-Tat (альтернативна назва CIGB-300) здатна знижувати життєздатність і проліферацію деяких пухлинних клітин. Крім того, було показано, що CIGB-300 ефективний для лікування пацієнтів із раком шийки матки. Він проходить першу фазу клінічних випробувань для лікування жінок із раком шийки матки на стадії ІВ2/ІІ [60].

Полюксометалати

Полюксометалати належать до неklasичних інгібіторів протеїнкінази СК2. Вони інгібують СК2, взаємодіючи з ключовими структурними елементами, розташованими за межами АТФ- та пептидного субстратзв'язувальними сайтами. Деякі похідні полюксометалатів виявляють високу інгібувальну активність зі значенням IC_{50} близько 10 нМ. Найбільш активною є сполука $[P_2Mo_{18}O_{62}]^{6-}$. Крім того, за результатами тестування активності цих неорганічних сполук на панелі із 29 протеїнкіназ полюксометалати продемонстрували високу специфічність по відношенню до СК2. Дослідження способу взаємодії полюксометалатів із протеїнкіназою СК2 може бути важливим для розробки ефективних препаратів із бажаними властивостями, зокрема з покращеною селективністю в порівнянні з АТФ-конкурентними інгібіторами. Однак, слід зазначити, що полюксометалати не впливають на активність СК2 у клітинах, але пригнічують активність протеїнкінази в лізатах клітин дозозалежним чи-

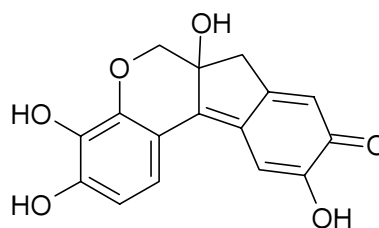


Рис. 18. Хімічна структура гематеїну

ном. Це свідчить про те, що ці сполуки не здатні проникати через мембрану клітини і потребують оптимізації фармакокінетичних характеристик для подальших біологічних досліджень [109].

Гематеїн

Гематеїн — природна сполука, отримана з *Caesalpinia sappan*, що використовується в східній медицині як знеболювальний та проти-запальний агент (рис. 18) [110].

Авторами М.-S. Hung та ін. уперше було показано, що гематеїн є інгібітором протеїнкінази СК2 *in vitro* та в пухлинних клітинах. Значення IC_{50} для гематеїну по відношенню до СК2 *in vitro* становить 0,55 μ М. Кінетичні дослідження продемонстрували, що гематеїн не є АТФ-конкурентним інгібітором СК2 і, відповідно, може бути значно менш токсичним для клітин організму. Показано, що гематеїн інгібує СК2-залежне фосфорилування Akt/РКВ і, як наслідок, індукує апоптоз. Надзвичайно важливо, що гематеїн значно ефективніше пригнічує ріст ракових клітин, ніж нормальних [111].

Пізніше було встановлено, що гематеїн має протиракові властивості на клітинній лінії раку легень людини А427, що свідчить про значний фармакологічний потенціал цієї сполуки [112].

Похідні азонафталену

Із застосуванням автоматичного скринінгу V. Moucadel та ін. ідентифіковано новий клас специфічних, не АТФ-конкурентних інгібіторів СК2 — похідні азонафталену (рис. 19). Рентгеноструктурний аналіз дав змогу виявити значні конформаційні зміни протеїнкінази при зв'язуванні з інгібіторами цього класу.

Методом сайт-спрямованого мутагенезу було виявлено, що ці сполуки впливають на такі важливі структурні елементи СК2, як субстратзв'язувальний сайт, RD- та DWG-мо-

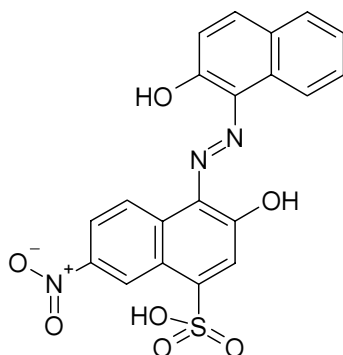


Рис. 19. Хімічна структура азонфталенового інгібітора протеїнкінази СК2

тиви. Проте точний механізм їх дії залишається нез'ясованим. Деякі похідні азонфталеону здатні проникати через мембрану і викликати зупинку клітинного циклу в клітинах гліобластоми людини U373, що є стійкими до апоптозу. Подальша оптимізація сполук цього класу і тестування *in vivo* дадуть змогу знайти ефективні інгібітори протеїнкінази СК2, що можуть стати основою для створення ліків [113].

Циклічний пептид Pс

Інтерфейс взаємодії субодиниць СК2 α та СК2 β є потенційним екзосайтом для інгібування протеїнкінази. Відносно невелика ділянка СК2 β , яка налічує 33 амінокислотні залишки С-кінцевого району, формує мінімальний СК2 α -зв'язувальний домен, який є необхідним і достатнім для високоафінної взаємодії із СК2 α . Кристалічна структура холоферменту СК2 дала змогу з'ясувати, що деякі амінокислотні залишки в цьому домені є визначальними для взаємодії із СК2 α . За допомогою сайт-спрямованого мутагенезу вдалося з'ясувати, що найважливішими амінокислотними залишками для взаємодії СК2 β є Tyr188 та Phe190. Це відкриття стало основою структурно-обґрунтованого дизайну пептидів, отриманих із СК2 β , що можуть ефективно конкурувати з високоафінною взаємодією субодиниць СК2. Найбільш активним пептидним варіантом серед серії циклічних пептидів був 11-мерний пептид Pс, з'єднаний дисульфідним зв'язком. Цей циклічний пептид був більш ефективний, ніж ідентична лінійна форма.

Циклізація зберігає пептид у зафіксованій конформації, що покращує пептидну афін-

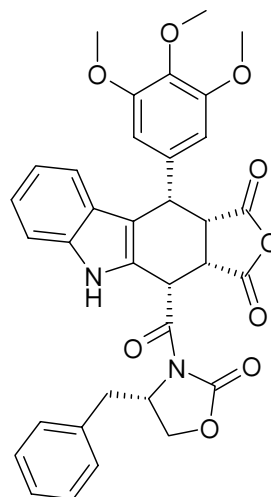


Рис. 20. Хімічна структура інгібітора протеїнкінази СК2 W16

ність до мішені, обмежуючи гнучкість і множинні конформаційні зміни. Структурні модифікації цього циклічного пептиду можуть бути важливими для покращення активності *in vivo*. Такі інгібітори можуть слугувати лідерними сполуками для раціонального дизайну ліків, що будуть впливати на деякі функції СК2, залишаючи інші інтактними і забезпечуючи таким чином регуляцію специфічних внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Крім того, порушення взаємодії СК2 α -СК2 β може знайти застосування для дослідження важливості цієї взаємодії в процесі росту ракових клітин [114].

Індолоаналогі подофілотоксину

Високопродуктивний скринінг бібліотеки індолоаналогів подофілотоксину дав змогу ідентифікувати перші хімічні інгібітори взаємодії СК2 α /СК2 β . Було показано, що три лідерні сполуки цього класу здатні блокувати взаємодію між двома субодиницями СК2 завдяки безпосередній взаємодії з інтерфейсом зв'язування СК2 α /СК2 β . Структуру найбільш активної сполуки (W16) наведено на рис. 20. Кінетичний аналіз показав, що ці сполуки інгібують СК2 α , не впливаючи на кишеньку зв'язування АТФ. Рівень інгібування СК2 за участі W16 був знижений або при додаванні СК2 α , або циклопептиду Pс. Це дає підстави стверджувати, що зазначений клас інгібіторів зв'язується поблизу кишені взаємодії СК2 β із СК2 α . У структурі СК2 α цей сайт зв'язування розташований поблизу АТФ-акцепторної ки-

шені, що сприяє функціональній взаємодії двох сайтів. Взаємодія сполуки W16 у цьому сайті зв'язування може призводити до алостеричної конформаційної зміни в СК2 α , що негативно впливає на активний сайт [115].

Таким чином, існує величезний спектр інгібіторів протеїнкінази СК2 з різними властивостями та механізмами дії. Однак фактич-

но всі інгібітори мають ті чи інші недоліки і потребують подальшої оптимізації. Тому пошук ефективних інгібіторів СК2 нині є актуальним як для дослідження біологічних функцій СК2 на рівні мережі сигнальних шляхів клітини, так і для терапевтичних цілей.

Надійшла в редакцію 14.04.2015 р.

Recent progress in the development of protein kinase CK2 inhibitors

A.O. Prykhod'ko, G.P. Volynets, V.G. Bdzhola, S.M. Yarmoluk

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

Summary. Protein kinase CK2 is ubiquitous and highly pleiotropic protein kinase, implicated in several human diseases. This paper presents an overview of the published data concerning the role of CK2 in oncogenesis and in progression of viral infections and neurodegenerative diseases. Also, we report chemical classes of CK2 inhibitors available in literature and analyze their efficiency *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: protein kinase CK2, oncogenesis, viral infections, neurodegenerative diseases, inhibitor.

Перелік літератури

1. 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. — 66. — P. 1858-1867.
2. Graham K.C., Litchfield D.W. The regulatory β subunit of protein kinase CK2 mediates formation of tetrameric CK2 complexes // *J. Biol. Chem.* — 2000. — 275. — P. 5003-5010.
3. Tawfic S., Faust R.A., Gapany M., Ahmed K. Nuclear matrix as an anchor for protein kinase CK2 nuclear signalling // *J. Cell. Biochem.* — 1996. — 62. — P. 165-171.
4. Faust M., Montenarh M. Subcellular localization of protein kinase CK2 — A key to its function? // *Cell. Tissue Res.* — 2000. — 301. — P. 329-340.
5. Faust R.A., Niehans G.A., Gapany M., Hoistad D., Knapp D., Cherwitz D., Davis A., Adams G.L., Ahmed K. Subcellular immunolocalization of protein kinase CK2 in normal and carcinoma cells // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 1999. — 31. — P. 941-949.
6. Guerra B., Issinger O.G. Protein kinase CK2 and its role in cellular proliferation, development and pathology // *Electrophoresis.* — 1999. — 20. — P. 391-408.
7. Guerra B., Issinger O.G. Protein kinase CK2 in human disease // *Curr. Med. Chem.* — 2008. — 15. — P. 1870-1886.
8. Tawfic S., Yu S., Wang H., Faust R., Davis A., Ahmed K. Protein kinase CK2 signal in neoplasia // *Histol. Histopathol.* — 2001. — 16. — P. 573-582.
9. Mottet D., Ruys S.P., Demazy C., Raes M., Michiels C. Role of casein kinase 2 in the regulation of HIF-1 activity // *Int. J. Cancer.* — 2005. — 117. — P. 764-774.
10. Ljubimov A.V., Caballero S., Aoki A., Grant M.B., Castellon R. Involvement of protein kinase CK2 in angiogenesis and retinal neovascularization // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2004. — 45. — P. 4583-4591.
11. Kramerov A.A., Saghizadeh M., Pan H., Kabosova A., Montenarh M., Ahmed K., Penn J.S., Chan C.K., Hinton D.R., Grant M.B., Ljubimov A.V. Expression of protein kinase CK2 in astroglial cells of normal and neovascularized retina // *Amer. J. Path.* — 2006. — 168. — P. 1722-1736.
12. Kramerov A.A., Saghizadeh M., Caballero S., Shaw L.C., Li Calzi S., Bretner M., Montenarh M., Pina L.A., Grant M.B., Ljubimov A.V. Inhibition of protein kinase CK2 suppresses angiogenesis and hematopoietic stem cell recruitment to retinal neovascularization sites // *Mol. Cell. Biochem.* — 2008. — 316. — P. 177-186.
13. Kramerov A.A., Ahmed K., Ljubimov A.V. Cell rounding in cultured human astrocytes and vascular endothelial cells upon inhibition of CK2 is mediated by actomyosin cytoskeleton alterations // *J. Cell. Biochem.* — 2012. — 113. — P. 2948-2956.
14. Feng D., Welker S., Korbel C., Rudzitis-Auth J., Menger M.D., Montenarh M., Laschke M.W. Protein kinase CK2 is a regulator of angiogenesis in endometriotic lesions // *Angiogenesis.* — 2012. — 15. — P. 243-252.
15. Farina H.G., Benavent A.F., Perera Y., Rodriguez A., Perea S.E., Castro B.A., Gomez R., Alonso D.F., Gomez D.E. CIGB-300, a proapoptotic peptide, inhibits angiogenesis *in vitro* and *in vivo* // *Exp. Cell. Res.* — 2011. — 317. — P. 1677-1688.
16. Cavallaro U., Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer // *Nat. Rev. Cancer.* — 2004. — 4. — P. 118-132.
17. Deckers M., van Dinther M., Buijs J., Que I., Löwik C., van der Pluijm G., ten Dijke P. The tumor suppressor Smad4 is required for transforming growth factor beta-induced epithelial to mesenchymal transition and bone metastasis of breast cancer cells // *Cancer. Res.* — 2006. — 66. — P. 2202-2209.
18. Shirakihara T., Saitoh M., Miyazono K. Differential regulation of epithelial and mesenchymal markers by deltaEF1 proteins in epithelial mesenchymal transition induced by TGF-beta // *Mol. Biol. Cell.* — 2007. — 18. — P. 3533-3544.
19. Wiercinska E., Naber H.P., Pardali E., van der Pluijm G., van Dam H., ten Dijke P. The TGF- β /Smad

pathway induces breast cancer cell invasion through the up-regulation of matrix metalloproteinase 2 and 9 in a spheroid invasion model system // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2011. — 128. — P. 657-666.

20. Moustakas A., Heldin C.H. Signaling networks guiding epithelial mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer progression // *Cancer. Sci.* — 2007. — 98. — P. 1512-1520.

21. Brenneisen P., Wlaschek M., Schwamborn E., Schneider L.A., Ma W., Sies H., Scharffetter-Kochanek K. Activation of protein kinase CK2 is an early step in the ultraviolet B-mediated increase in interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-1, MMP-1) and stromelysin-1 (MMP-3) protein levels in human dermal fibroblasts // *Biochem. J.* — 2002. — 365. — P. 31-40.

22. McKenzie S., Kyprianou N. Apoptosis evasion: the role of survival pathways in prostate cancer progression and therapeutic resistance // *J. Cell. Biochem.* — 2006. — 97. — P. 18-32.

23. Kyprianou N., Bruckheimer E.M., Guo Y. Cell proliferation and apoptosis in prostate cancer: significance in disease progression and therapy // *Histol. Histopathol.* — 2000. — 15. — P. 1211-1223.

24. Evan G.I., Vousden K.H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer // *Nature.* — 2001. — 411. — P. 342-348.

25. Izeradjene K., Douglas L., Delaney A., Houghton J.A. Influence of casein kinase II in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — 10. — P. 6650-6660.

26. Di Maira G., Brustolon F., Bertacchini J., Tosoni K., Marmiroli S., Pinna L.A., Ruzzene M. Pharmacological inhibition of protein kinase CK2 reverts the multidrug resistance phenotype of a CEM cell line characterized by high CK2 level // *Oncogene.* — 2007. — 26. — P. 6915-6926.

27. Hanif I.M., Ahmad K.A., Ahmed K., Pervaiz S. Involvement of reactive oxygen species in apoptosis induced by pharmacological inhibition of protein kinase CK2 // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2009. — 1171. — P. 591-599.

28. Scaglioni P.P., Yung T.M., Choi S., Baldini C., Konstantinidou G., Pandolfi P.P. CK2 mediates phosphorylation and ubiquitin-mediated degradation of the PML tumor suppressor // *Mol. Cell. Biochem.* — 2008. — 316. — P. 149-154.

29. Torres J., Pulido R. The tumor suppressor PTEN is phosphorylated by the protein kinase CK2 at its C terminus. Implications for PTEN stability to proteasome mediated degradation // *J. Biol. Chem.* — 2001. — 276. — P. 993-998.

30. Agarwal M., Nitta R.T., Li G. Casein kinase 2: a novel player in glioblastoma therapy and cancer stem cells // *J. Mol. Genet. Med.* — 2013. — 8. — pii: 1000094.

31. Kaminska B., Oberbek A., Wisniewski P., Kaza B., Makowska M., Bretner M., Kazimierczuk Z. Efficacy and mechanism of anti-tumor action of new potential CK2 inhibitors toward glioblastoma cells // *Int. J. Oncol.* — 2009. — 35. — P. 1091-1100.

32. Sarno S., Moro S., Meggio F., Zagotto G., Dal Ben D., Ghisellini P., Battistutta R., Zanotti G., Pinna L.A. Toward the rational design of protein kinase casein kinase-2 inhibitors // *Pharmacol. Ther.* — 2002. — 93. — P. 159-168.

33. Guerra B., Issinger O.G. Protein kinase CK2 and

its role in cellular proliferation, development and pathology // *Electrophoresis.* — 1999. — 20. — P. 391-408.

34. Harada S., Haneda E., Maekawa T., Morikawa Y., Funayama S., Nagata N., Ohtsuki K., Nagata N., Ohtsuki K. Casein kinase II (CKII) mediated stimulation of HIV-1 reverse transcriptase activity and characterization of selective inhibitors *in vitro* // *Biol. Pharm. Bull.* — 1999. — 22. — P. 1122-1126.

35. Barroso M.M., Lima C.S., Silva-Neto M.A., Da Poian A.T. Mayaro virus infection cycle relies on casein kinase 2 activity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2002. — 296. — P. 1334-1339.

36. El-Guindy A.S., Miller G. Phosphorylation of Epstein-Barr virus ZEBRA protein at its casein kinase 2 sites mediates its ability to repress activation of a viral lytic cycle late gene by Rta // *J. Virol.* — 2004. — 78. — P. 7634-7644.

37. Malik P., Clements J.B. Protein kinase CK2 phosphorylation regulates the interaction of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus regulatory protein ORF57 with its multifunctional partner hnRNP K // *Nucleic Acids Res.* — 2004. — 32. — P. 5553-5569.

38. Smith M.C., Bayless A.M., Erica T., Goddard E.T., Davido D.J. CK2 inhibitors increase the sensitivity of HSV-1 to interferon- β // *Antiviral Res.* — 2011. — 91. — P. 259-266.

39. Jiping Y., Shukla R., Accardi R., Zanella-Cleon I., Siouda M., Cros M.P., Krutovskikh V., Hussain I., Niu Y., Hu S., Becchi M., Jurdic P., Tommasino M., Sylla B.S. Cutaneous human papillomavirus type 38 E7 regulates actin cytoskeleton structure for increasing cell proliferation // *J. Virol.* — 2011. — 85. — P. 8477-8494.

40. Koffa M.D., Kean J., Zachos G., Rice S.A., Clements J.B. CK2 protein kinase is stimulated and redistributed by functional herpes simplex virus ICP27 protein // *J. Virol.* — 2003. — 77. — P. 4315-4325.

41. Rojas S., Corbin-Lickfett K.A., Escudero-Paunetto L., Sandri-Goldin R.M. ICP27 phosphorylation site mutants are defective in herpes simplex virus 1 replication and gene expression // *J. Virol.* — 2010. — 84. — P. 2200-2211.

42. Ching W., Dobner T., Koyuncu E. The human adenovirus type 5 E1B 55-kilodalton protein is phosphorylated by protein kinase CK2 // *J. Virol.* — 2012. — 86. — P. 2400-2215.

43. Harada S., Haneda E., Maekawa T., Morikawa Y., Funayama S., Nagata N., Ohtsuki K., Nagata N., Ohtsuki K. Casein kinase II (CKII) mediated stimulation of HIV-1 reverse transcriptase activity and characterization of selective inhibitors *in vitro* // *Biol. Pharm. Bull.* — 1999. — 22. — P. 1122-1126.

44. Critchfield J.W., Coligan J.E., Folks T.M., Butera S.T. Casein kinase II is a selective target of HIV-1 transcriptional inhibitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1997. — 94. — P. 6110-6115.

45. Hui E.K., Nayak D.P. Role of G protein and protein kinase signaling in influenza virus budding in MDCK cells // *J. Gen. Virol.* — 2002. — 83. — P. 3055-3066.

46. Pigino G., Morfini G., Atagi Y., Deshpande A., Yu C., Jungbauer L., LaDu M., Busciglio J., Brady S. Disruption of fast axonal transport is a pathogenic mechanism for intraneuronal amyloid beta // *PNAS.* — 2009. — 106. — P. 5907-5912.

47. Ishii A., Nonaka T., Taniguchi S., Saito T., Arai T., Mann D., Iwatsubo T., Hisanaga S., Goedert M., Hase-

- gawa M.* Casein kinase 2 is the major enzyme in brain that phosphorylates Ser129 of human alpha-synuclein: Implication for alpha-synucleinopathies // *FEBS Lett.* — 2007. — 581. — P. 4711-4717.
48. *Chen S.R., Zhou H.Y., Byun H.S., Chen H., Pan H.L.* Casein kinase II regulates N-methyl-D-aspartate receptor activity in spinal cords and pain hypersensitivity induced by nerve injury // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2014. — 350. — P. 301-312.
49. *Wang H., Davis A., Yu S., Ahmed K.* Response of cancer cells to molecular interruption of the CK2 signal // *Mol. Cell. Biochem.* — 2001. — 227. — P. 167-174.
50. *Slaton J.W., Sloper D.T., Unger G., Davis A., Ahmed K.* Induction of apoptosis by antisense CK2 in human prostate cancer xenograft model // *Mol. Canc. Res.* — 2004. — 2. — P. 712-721.
51. *Ahmad K.A., Wang G., Slaton J.W., Unger G., Ahmed K.* Targeting CK2 for cancer therapy // *Anticancer Drugs.* — 2005. — 16. — P. 1037-1043.
52. *Unger G.M., Davis A.T., Slaton J.W., Ahmed K.* Protein kinase CK2 as regulator of cell survival: Implications for cancer therapy // *Curr. Canc. Drug. Targets.* — 2004. — 4. — P. 77-84.
53. *Brown M.S., Diallo O.T., Hu M., Ehsanian R., Yang X., Arun P., Lu H., Korman V., Unger G., Ahmed K., Van Waes C., Chen Z.* CK2 modulation of NF-kappaB, TP53, and the malignant phenotype in head and neck cancer by anti-CK2 oligonucleotides *in vitro* or *in vivo* via sub-50 nm nanocapsules // *Clin. Canc. Res.* — 2010. — 16. — P. 2295-2307.
54. *Solares A.M., Santana A., Baldrón I., Valenzuela C., Gonzalez C.A., Díaz A., Castillo D., Ramos T., Gómez R., Alonso D.F., Herrera L., Sigman H., Perea S.E., Acevedo B.E., López-Saura P.* Safety and preliminary efficacy data of a novel casein kinase 2 (CK2) peptide inhibitor administered intralesionally at four dose levels in patients with cervical malignancies // *BMC Cancer.* — 2009. — 9. — P. 146-154.
55. *Pinna L.A., Allende J.E.* Protein kinase CK2: An ugly duckling in the kinome pond // *Cell. Molec. Life Sci.* — 2009. — 66. — P. 1795-1799.
56. *Anderes K.L., Siddiqui-Jain A., Streiner N., Chua P., Pierre F., Omori M., Darjarnia L., Stansfield R., Phung J., Bliesath J., Ho C., Drygin D., O'Brien S., Rice W.* Discovery and characterization of CX-4945 a selective orally bioavailable small molecule inhibitor of protein kinase CK2: Phase 1 initiated [abstract]. AACR; 2009; Proceedings of the 100th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 2009 Apr 18-22; Denver, CO. Philadelphia (PA). 2009. Abstract № 4660.
57. *Battistutta R.* Structural bases of protein kinase CK2 inhibition // *Cell. Molec. Life Sci.* — 2009. — 66. — P. 1868-1889.
58. *Mishra S., Pertz V., Zhang B., Kaur P., Shimada H., Groffen J., Kazimierzczuk Z., Pinna L.A., Heisterkamp N.* Treatment of P190 Bcr/Abl lymphoblastic leukemia cells with inhibitors of the serine/threonine kinase CK2 // *Leukemia.* — 2007. — 21. — P. 178-180.
59. *Zien P., Bretner M., Zastapilo K., Szyszka R., Shugar D.* Selectivity of 4,5,6,7-tetrabromobenzimidazole as an ATP-competitive potent inhibitor of protein kinase CK2 from various sources // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — 306. — P. 129-133.
60. *Prudent R., Cochet C.* New protein kinase CK2 inhibitors: Jumping out of the catalytic box // *Chem. Biol.* — 2009. — 16. — P. 112-120.
61. *Sandholt I.S., Olsen B.B., Guerra B., Issinger O.G.* Resorufin: a lead for a new protein kinase CK2 inhibitor // *Anticancer Drugs.* — 2009. — 20. — P. 238-248.
62. *Приходько А.О., Дубініна Г.Г., Головач С.М., Ярмолюк С.М.* Інгібітори протеїнкінази CK2 // *Ukr. Bioorg. Acta* — 2003. — 1. — P. 61-71.
63. *Kim J., Kim S.H.* Druggability of the CK2 inhibitor CX-4945 as an anticancer drug and beyond // *Arch. Pharm. Res.* — 2012. — 35. — P. 1293-1296.
64. *Pierre F., Chua P.C., O'Brien S.E., Siddiqui-Jain A., Bourbon P., Haddach M., Michaux J., Nagasawa J., Schwaebe M.K., Stefan E., Vialettes A., Whitten J.P., Chen T.K., Darjania L., Stansfield R., Bliesath J., Drygin D., Ho C., Omori M., Proffitt C., Streiner N., Rice W.G., Ryckman D.M., Anderes K.* Pre-clinical characterization of CX-4945, a potent and selective small molecule inhibitor of CK2 for the treatment of cancer // *Mol. Cell. Biochem.* — 2011. — 356. — P. 37-43.
65. *Pierre F., Chua P.C., O'Brien S.E., Siddiqui-Jain A., Bourbon P., Haddach M., Michaux J., Nagasawa J., Schwaebe M.K., Stefan E., Vialettes A., Whitten J.P., Chen T.K., Darjania L., Stansfield R., Anderes K., Bliesath J., Drygin D., Ho C., Omori M., Proffitt C., Streiner N., Trent K., Rice W.G., Ryckman D.M.* Discovery and SAR of 5-(3-chlorophenylamino benzo[c][2,6]naphthyridine-8-carboxylic acid (CX-4945), the first clinical stage inhibitor of protein kinase CK2 for the treatment of cancer // *J. Med. Chem.* — 2011. — 54. — P. 635-654.
66. *Siddiqui-Jain A., Drygin D., Streiner N., Chua P., Pierre F., O'Brien S.E., Bliesath J., Omori M., Huser N., Ho C., Proffitt C., Schwaebe M.K., Ryckman D.M., Rice W.G., Anderes K.* CX-4945, an orally bioavailable selective inhibitor of protein kinase CK2, inhibits pro-survival and angiogenic signaling and exhibits antitumor efficacy // *Cancer Res.* — 2010. — 70. — P. 10288-10298.
67. *Son Y.H., Song J.S., Kim S.H., Kim J.* Pharmacokinetic characterization of CK2 inhibitor CX-4945 // *Arch. Pharm. Res.* — 2013. — 36. — P. 840-845.
68. *Chon H.J., Bae K.J., Lee Y., Kim J.* The casein kinase 2 inhibitor, CX-4945, as an anti-cancer drug in treatment of human hematological malignancies // *Front. Pharmacol.* — 2015. — 6. — P. 70.
69. *Prins R.C., Burke R.T., Tyner J.W., Druker B.J., Loriaux M.M., Spur geon S.E.* CX-4945, a selective inhibitor of casein kinase-2 (CK2), exhibits anti-tumor activity in hematologic malignancies including enhanced activity in chronic lymphocytic leukemia when combined with fludarabine and inhibitors of the B-cell receptor pathway // *Leukemia.* — 2013. — 27. — P. 2094-2096.
70. *Buontempo F., Orsini E., Martins L.R., Antunes I., Lonetti A., Chiarini F., Tabellini G., Evangelisti C., Evangelisti C., Melchionda F., Pession A., Bertaina A., Locatelli F., McCubrey J.A., Cappellini A., Barata J.T., Martelli A.M.* Cytotoxic activity of the casein kinase 2 inhibitor CX-4945 against T-cell acute lymphoblastic leukemia: targeting the unfolded protein response signaling // *Leukemia.* — 2014. — 28. — P. 543-553.
71. *Gomes A.M., Soares M.V., Ribeiro P., Caldas J., Póvoa V., Martins L.R., Melão A., Serra-Caetano A., de Sousa A.B., Lacerda J.F., Barata J.T.* Adult B-cell acute

lymphoblastic leukemia cells display decreased PTEN activity and constitutive hyperactivation of PI3K/Akt pathway despite high PTEN protein levels // *Haematologica*. — 2014. — 99. — P. 1062-1068.

72. Quotti Tubi L., Gurrieri C., Brancalion A., Bonaldi L., Bertorelle R., Manni S., Pavan L., Lessi F., Zambello R., Trentin L., Adami F., Ruzzene M., Pinna L.A., Semenzato G., Piazza F. Inhibition of protein kinase CK2 with the clinical-grade small ATP-competitive compound CX-4945 or by RNA interference unveils its role in acute myeloid leukemia cell survival, p53-dependent apoptosis and daunorubicin-induced cytotoxicity // *J. Hematol. Oncol.* — 2013. — 6. — P. 78-92.

73. Bragdon B., Thinakaran S., Moseychuk O., King D., Young K., Litchfield D.W., Petersen N.O., Nohe A. Casein kinase 2 beta-subunit is a regulator of bone morphogenetic protein 2 signaling // *Biophys. J.* — 2010. — 99. — P. 897-904.

74. Moon J.B., Kim J.H., Kim K., Youn B.U., Ko A., Lee S.Y., Kim N. Akt induces osteoclast differentiation through regulating the GSK3 β /NFATc1 signaling cascade // *J. Immunol.* — 2012. — 88. — P. 163-169.

75. Moseychuk O., Akkiraju H., Dutta J., D'Angelo A., Bragdon B., Duncan R.L., Nohe A. Inhibition of CK2 binding to BMPRIa induces C2C12 differentiation into osteoblasts and adipocytes // *J. Cell. Commun. Signal.* — 2013. — 7. — P. 265-278.

76. Drygin D., Ho C.B., Omori M., Bliesath J., Profitt C., Rice R., Siddiqui-Jain A., O'Brien S., Padgett C., Lim J.K., Anderes K., Rice W.G., Ryckman D. Protein kinase CK2 modulates IL-6 expression in inflammatory breast cancer // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011. — 11. — P. 415. — P. 163-167.

77. Zanin S., Borgo C., Girardi C., O'Brien S.E., Miyata Y., Pinna L.A., Donella-Deana A., Ruzzene M. Effects of the CK2 inhibitors CX-4945 and CX-5011 on drug-resistant cells // *PLoS One*. — 2012. — 7:e49193.

78. Haddach M., Pierre F., Regan C.F., Borsan C., Michaux J., Stefan E., Kerdoncuff P., Schwaebe M.K., Chua P.C., Siddiqui-Jain A., Macalino D., Drygin D., O'Brien S.E., Rice W.G., Ryckman D.M. Synthesis and SAR of inhibitors of protein kinase CK2: novel tricyclic quinoline analogs // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2012. — 22. — P. 45-48.

79. Pierre F., O'Brien S.E., Haddach M., Bourbon P., Schwaebe M.K., Stefan E., Darjania L., Stansfield R., Ho C., Siddiqui-Jain A., Streiner N., Rice W.G., Anderes K., Ryckman D.M. Novel potent pyrimido[4,5-c]quinoline inhibitors of protein kinase CK2: SAR and preliminary assessment of their analgesic and anti-viral properties // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2011. — 15. — P. 1687-1691.

80. Guillon J., Le Borgne M., Rimbault C., Moreau S., Savrimoutou S., Pinaud N., Baratin S., Marchivie M., Roche S., Bollacke A., Pecci A., Alvarez L., Desplat V., Jose J. Synthesis and biological evaluation of novel substituted pyrrolo[1,2-a]quinoxaline derivatives as inhibitors of the human protein kinase CK2 // *Eur. J. Med. Chem.* — 2013. — 65. — P. 205-222.

81. Hundsdörfer C., Hemmerling H.J., Götz C., Totzke F., Bednarski P., Le Borgne M., Jose J. Indeno[1,2-b]indole derivatives as a novel class of potent human protein kinase CK2 inhibitors // *Bioorg. Med. Chem.* — 2012. — 20. — P. 2282-2289.

82. Alchab F., Ettouati L., Bouaziz Z., Bollacke A., Delcros J.G., Gertzen C.G., Gohlke H., Pinaud N., Marchi-

vie M., Guillon J., Fenet B., Jose J., Borgne M.L. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of substituted indeno[1,2-b]indoles as inhibitors of human protein kinase CK2 // *Pharmaceuticals*. — 2015. — 8. — P. 279-302.

83. Suzuki Y., Cluzeau J., Hara T., Hirasawa A., Tsujimoto G., Oishi S., Ohno H., Fujii N. Structure-activity relationships of pyrazine-based CK2 inhibitors: synthesis and evaluation of 2,6-disubstituted pyrazines and 4,6-disubstituted pyrimidines // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* — 2008. — 341. — P. 554-561.

84. Fuchi N., Iura Y., Kaneko H., Nitta A., Suyama K., Ueda H., Yamaguchi S., Nishimura K., Fujii S., Sekiya Y., Yamada M., Takahashi T. Discovery and structure-activity relationship of 2,6-disubstituted pyrazines, potent and selective inhibitors of protein kinase CK2 // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2012. — 22. — P. 4358-4361.

85. Dowling J.E., Alimzhanov M., Bao L., Block M.H., Chuaqui C., Cooke E.L., Denz C.R., Hird A., Huang S., Larsen N.A., Peng B., Pontz T.W., Rivard-Costa C., Saeh J.C., Thakur K., Ye Q., Zhang T., Lyne P.D. Structure and property based design of pyrazolo[1,5-a]pyrimidine inhibitors of CK2 kinase with activity *in vivo* // *ACS Med. Chem. Lett.* — 2013. — 4. — P. 800-805.

86. Dowling J.E., Chuaqui C., Pontz T.W., Lyne P.D., Larsen N.A., Block M.H., Chen H., Su N., Wu A., Russell D., Pollard H., Lee J. W., Peng B., Thakur K., Ye Q., Zhang T., Brassil P., Racicot V., Bao L., Denz C.R., Cooke E. Potent and selective inhibitors of CK2 kinase identified through structure-guided hybridization // *ACS Med. Chem. Lett.* — 2012. — 3. — P. 278-283.

87. Cozza G., Bonvini P., Zorzi E., Poletto G., Pagano M.A., Sarno S., Donella-Deana A., Zagotto G., Rosolen A., Pinna L.A., Meggio F., Moro S. Identification of ellagic acid as potent inhibitor of protein kinase CK2: a successful example of a virtual screening application // *J. Med. Chem.* — 2006. — 49. — P. 2363-2366.

88. Sekiguchi Y., Nakaniwa T., Kinoshita T., Nakaniishi I., Kitaura K., Hirasawa A., Tsujimoto G., Tada T. Structural insight into human CK2 α in complex with the potent inhibitor ellagic acid // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2009. — 19. — P. 2920-2923.

89. Srivastava R., Akthar S., Sharma R., Mishra S. Identification of ellagic acid analogues as potent inhibitor of protein kinase CK2: a chemopreventive role in oral cancer // *Bioinformation*. — 2015. — 11. — P. 021-026.

90. Lacy R., O'Kennedy A. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer // *Curr. Pharm. Des.* — 2004. — 10. — P. 3797-3811.

91. Meggio F., Pagano M.A., Moro S., Zagotto G., Ruzzene M., Sarno S., Cozza G., Bain J., Elliott M., Donella Deana A., Brunati A.M., Pinna L.A. Inhibition of protein kinase CK2 by condensed polyphenolic derivatives. An *in vitro* and *in vivo* study // *Biochemistry*. — 2004. — 43. — P. 12931-12936.

92. Kostova I. Lanthanides as anticancer agents // *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*. — 2005. — 5. — P. 591-602.

93. Chilin A., Battistutta R., Bortolato A., Cozza G., Zanatta S., Poletto G., Mazzorana M., Zagotto G., Uriarte E., Guiotto A., Pinna L.A., Meggio F., Moro S. Coumarin as attractive casein kinase 2 (CK2) inhibitor scaffold: an integrate approach to elucidate the putative

- binding motif and explain structure-activity relationships // *J. Med. Chem.* — 2008. — 51. — 752-759.
94. *Borges F., Roleira F., Milhazes N., Santana L., Uriarte E.* Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity // *Curr. Med. Chem.* — 2005. — 12. — P. 887-916.
95. *Cozza G., Mazzorana M., Papinutto E., Bain J., Elliott M., di Maira G., Gianoncelli A., Pagano M.A., Sarno S., Ruzzene M., Battistutta R., Meggio F., Moro S., Zagotto G., Pinna L.A.* Quinalizarin as a potent, selective and cell-permeable inhibitor of protein kinase CK2 // *Biochem J.* — 2009. — 421. — P. 387-395.
96. *Golub A.G., Yakovenko O.Y., Bdzholo V.G., Sapelekin 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. — 49. — P. 6443-6450.
97. *Prudent R., López-Ramos M., Moucadel V., Barette C., Grierson D., Mouawad L., Florent J.C., Lafanechère L., Schmidt F., Cochet C.* Salicylaldehyde derivatives as new protein kinase CK2 inhibitors // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2008. — 1780. — P. 1412-1420.
98. *Pagano M.A., Andrzejewska M., Ruzzene M., Sarno S., Cesaro L., Bain J., Elliott M., Meggio F., Kazimierzczuk Z., Pinna L.A.* Optimization of protein kinase CK2 inhibitors derived from 4,5,6,7-tetrabromobenzimidazole // *J. Med. Chem.* — 2004. — 47. — P. 6239-6247.
99. *Wąsik R., Wińska P., Poznański J., Shugar D.* Isomeric mono-, di-, and tri-bromobenzo-1H-triazoles as inhibitors of human protein kinase CK2a // *PLoS One.* — 2012. — 7. — e48898.
100. *Gianoncelli A., Cozza G., Orzeszko A., Meggio F., Kazimierzczuk Z., Pinna L.A.* Tetraiodobenzimidazoles are potent inhibitors of protein kinase CK2 // *Bioorg. Med. Chem.* — 2009. — 17. — P. 7281-7289.
101. *Sandholt I.S., Olsen B.B., Guerra B., Issinger O.G.* Resorufin: a lead for a new protein kinase CK2 inhibitor // *Anticancer Drugs.* — 2009. — 20. — P. 238-248.
102. *Götz C., Gratz A., Kucklaender U., Jose J.* TF — a novel cell-permeable and selective inhibitor of human protein kinase CK2 induces apoptosis in the prostate cancer cell line LNCaP // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2012. — 1820. — P. 970-977.
103. *Guerra B., Hochscherf J., Jensen N.B., Issinger O.G.* Identification of a novel potent, selective and cell permeable inhibitor of protein kinase CK2 from the NIH/NCI Diversity Set Library // *Mol. Cell. Biochem.* — 2015. — 406. — P. 151-161.
104. *Golub A.G., Bdzholo V.G., Briukhovetska N.V., Balanda A.O., Kukhareno O.P., Kotey I.M., Ostrynska O.V., Yarmoluk S.M.* Synthesis and biological evaluation of substituted (thieno[2,3-d]pyrimidin-4-ylthio)-carboxylic acids as inhibitors of human protein kinase CK2 // *Eur. J. Med. Chem.* — 2011. — 46. — P. 870-876.
105. *Nie Z., Perretta C., Erickson P., Margosiak S., Lu J., Averill A., Almassy R., Chu S.* Structure-based design and synthesis of novel macrocyclic pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine compounds as potent inhibitors of protein kinase CK2 and their anticancer activities // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2008. — 18. — P. 619-623.
106. *Nie Z., Perretta C., Erickson P., Margosiak S., Almassy R., Lu J., Averill A., Yager K.M., Chu S.* Structure-based design, synthesis, and study of pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazine derivatives as potent inhibitors of protein kinase CK2 // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2007. — 17. — P. 4191-4195.
107. *López-Ramos M., Prudent R., Moucadel V., Sautel C.F., Barette C., Lafanechère L., Mouawad L., Grierson D., Schmidt F., Florent J.C., Filippakopoulos P., Bullock A.N., Knapp S., Reiser J.B., Cochet C.* New potent dual inhibitors of CK2 and Pim kinases: discovery and structural insights // *FASEB J.* — 2010. — 24. — P. 3171-3185.
108. *Pierre F., Regan C.F., Chevrel M.C., Siddiqui-Jain A., Macalino D., Streiner N., Drygin D., Haddach M., O'Brien S.E., Rice W.G., Ryckman D.M.* Novel potent dual inhibitors of CK2 and Pim kinases with antiproliferative activity against cancer cells // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2012. — 22. — P. 3327-3331.
109. *Prudent R., Moucadel V., Laudet B., Barette C., Lafanechère L., Hasenknopf B., Li J., Bareyt S., Lacôte E., Thorimbert S., Malacria M., Gouzerh P., Cochet C.* Identification of polyoxometalates as nanomolar non-competitive inhibitors of protein kinase CK2 // *Chem. Biol.* — 2008. — 15. — P. 683-692.
110. *Ahmad K.A., Harris N.H., Johnson A.D., Lindvall H.C., Wang G., Ahmed K.* Protein kinase CK2 modulates apoptosis induced by resveratrol and epigallocatechin-3-gallate in prostate cancer cells // *Mol. Cancer. Ther.* — 2007. — 6. — P. 1006-1012.
111. *Hung M.S., Xu Z., Lin Y.-C., Mao J.H., Yang C.T., Changn P.J., Jablons D.M., You L.* Identification of hematein as a novel inhibitor of protein kinase CK2 from a natural product library // *BMC Cancer.* — 2009. — 9. — P. 135.
112. *Hung M.S., Xu Z., Chen Y., Smith E., Mao J.H., Hsieh D., Lin Y.C., Yang C.T., Jablons D.M., You L.* Hematein, a casein kinase II inhibitor, inhibits lung cancer tumor growth in a murine xenograft model // *Int. J. Oncol.* — 2013. — 43. — P. 1517-1522.
113. *Moucadel V., Prudent R., Sautel C.F., Teillet F., Barette C., Lafanechère L., Receuver-Brechot V., Cochet C.* Antitumoral activity of allosteric inhibitors of protein kinase CK2 // *Oncotarget.* — 2011. — 2. — P. 997-1010.
114. *Prudent R., Sautel C.F., Cochet C.* Structure-based discovery of small molecules targeting different surfaces of protein-kinase CK2 // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2010. — 104. — P. 493-498.
115. *Laudet B., Moucadel V., Prudent R., Filhol O., Wong Y.S., Royer D., Cochet C.* Identification of chemical inhibitors of protein-kinase CK2 subunit interaction // *Mol. Cell. Biochem.* — 2008. — 316. — P. 63-69.