

УДК 577.322:547.788:547.789.1:547.853:615.31

Пошук нових інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 2-піридону

О.В. Остринська¹, І.В. Українець², Л.В. Сидоренко², Ю.А. Старосила³,
М.В. Протопопов¹, О.П. Кухаренко¹, В.Г. Бджола¹, С.М. Ярмолук^{1*}

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

² Національний фармацевтичний університет
вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна

³ Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»
просп. Перемоги, 37, Київ, 03056, Україна

Резюме. Проведено пошук інгібіторів протеїнкінази СК2 серед похідних 2-піридону за допомогою рецептно-орієнтованого віртуального скринінгу і біохімічного тестування *in vitro*. Серед 15 відібраних сполук знайдено один інгібітор з IC_{50} 8,3 мкМ. Для цього ліганду запропоновано модель зв'язування з амінокислотними залишками АТФ-акцепторної кишені протеїнкінази СК2.

Ключові слова: 2-піридон, інгібітор протеїнкінази СК2 людини, віртуальний скринінг.

Вступ. Протеїнкіназа СК2 — висококонсервативна конститутивно активна серин-треонінова протеїнкіназа (в окремих випадках здатна фосфорилювати залишки тирозину [1]), що має тетрамерну будову й складається з двох каталітичних (α і/чи α') та двох регуляторних (β) субодиниць [2]. Цей ензим знаходиться в усіх компартментах клітини і фосфорилює надзвичайно велику кількість субстратів (близько 400), таким чином залучаючись у ключові процеси в клітині: сигнальну трансдукцію, транскрипцію, трансляцію, проліферацію, контроль клітинного циклу й апоптоз [3].

Надекспресію і/або підвищену активність СК2 виявляють при значній кількості патоло-

гій — запальних процесах, вірусних інфекціях, нейродегенеративних патологіях, серцево-судинних хворобах та ін. [4]. Також аномальний рівень СК2 спостерігають при різних видах раку, в тому числі раку молочних залоз [5], легень [6], нирок [7], прямого кишечника [8], підшлункової залози [9], мозку [10], лейкемії [11] та ін.

Сьогодні високоактивні інгібітори СК2 знайдено серед різних класів хімічних сполук [12–16], у тому числі серед похідних антрахінону [17], бензімідазолу й бензотриазолу [18, 19], дибензофурандіолу [20], кумарину [21], флуоренону [22], флавоноїду [23], хіноліну [24] та хінолону [25], ізоіндолу [26], оксазолу [27], тіазолідинону [28], піримідинону [29, 30] і тієнопіримідину [31–33], хроменону [34–36] та ін. Проте лише сполука СХ-4945 знаходиться на другій стадії клінічних досліджень як проти-пухлинний препарат [37, 38].

Метою цієї роботи був пошук нових інгібіторів СК2 серед похідних 2-піридону. Раніше ці

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5260759

E-mail address: yarmolyuksm@gmail.com

© О.В. Остринська, І.В. Українець, Л.В. Сидоренко, Ю.А. Старосила, М.В. Протопопов, О.П. Кухаренко, В.Г. Бджола, С.М. Ярмолук, 2015

сполуки не перевіряли на здатність пригнічувати цю протеїнкіназу.

Матеріали і методи.

Хімічний синтез.

Синтез похідних 2-піридофу.

Спектр ЯМР ^1H сполуки **1** зареєстровано на приладі «Varian Mercury-400» (400 МГц) у розчині ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт — ТМС. Елементний аналіз виконано на мікроаналізаторі «EuroVector EA-3000». Температуру плавлення визначено в капілярі на цифровому аналізаторі точки плавлення «SMP10 Stuart». Синтез сполук **2-15** проведено за методиками, описаними в роботах [39-48] відповідно.

N-(1,3-бензодіоксол-5-ілметил)-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідроксинолін-3-карбоксамід (**1**). До розчину 2,33 г (0,01 моль) етилового естеру 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідроксинолін-3-карбонової кислоти у 15 мл ДМФА додають 1,67 г (0,011 моль) піпероніламіну і кип'яють зі зворотним холодильником 2 год. Реакційну суміш охолоджують, розбавляють холодною водою та підкислюють розведеною 1:1 HCl до pH 4-5. Осад аміду **1** відфільтровують, промивають холодною водою, сушать. Вихід 3,28 г (97 %). $T_{\text{пл}}$ 277-279 °C (ДМФА). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.ч. (J , Гц): 17,02 (1H, с, 4-OH); 11,24 (1H, с, цикл. NH); 10,63 (1H, т, $J=5,7$, CONHCH $_2$); 8,01 (1H, д, $J=8,0$, H-5); 7,79 (1H, т, $J=7,6$, H-7); 7,56 (1H, д, $J=8,3$, H-8); 7,24 (1H, т, $J=7,6$, H-6); 6,94 (1H, с, H-6'); 6,90-6,87 (2H, м, H-3',4'); 5,98 (2H, с, O-CH $_2$ -O); 4,47 (2H, д, $J=5,7$, CONHCH $_2$). Знайдено, %: C 63,97; H 4,23; N 8,20. C $_{18}$ H $_{14}$ N $_2$ O $_5$. Вираховано, %: C 63,90; H 4,17; N 8,28.

Рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг.

Підготовка молекул лігандів і рецептора. Для рецепторно-орієнтованого гнучкого докінгу використовували пакет програм «Autodock 4.2.6» [49]. Підготовка лігандів проводилася за допомогою програм «Vega ZZ (command line)» [50] та «MGL Tools 1.5.6» [49].

Для проведення розрахунків у програмі «Autodock» вхідні формати даних рецептора і лігандів конвертуються в спеціальний формат PDBQT. Цей формат містить координати атомів та часткові заряди. Файли PDBQT для лігандів було сформовано програмою «Vega» із додаванням силового поля AUTODOCK і видаленням воднів у неполярних атомів. Карти ре-

цептора готували в програмах «MGL Tools» та «AutoGrid».

Гнучкий докінг. Як мішень для докінгу використовували каталітичну субодиницю комплексу протеїнкінази CK2 із стабільним аналогом АТФ (код PDB банку 3NSZ) [51]. З файлу PDB було видалено молекули води, йони та ліганд.

Встановлено такі параметри докінгу: крок поступального руху дорівнював 2 Å, кут кватерніону — 50°, торсійний кут — 50°. Ступінь торсійної свободи і коефіцієнт складали відповідно 2 і 0,274. Толерантність кластеру — 2 Å. Зовнішня енергія решітки — 1000, максимальна початкова енергія — 0, максимальне число спроб — 10 000. Число структур у популяції — 300, максимальне число етапів оцінки енергії — 850 000, максимальне число генерацій — 27 000, кількість структур, які переходять до наступної генерації — 1, рівень генної мутації — 0,02, рівень кросоверу — 0,8, спосіб кросоверу — арифметичний. α -Параметр розподілу Гауса дорівнював 0, β -параметр розподілу Гауса — 1. Кількість ітерацій генетичного алгоритму-пошуку Ламарка дорівнює 50 для кожного ліганду.

Візуальний аналіз. Візуальний аналіз взаємодії сполук з амінокислотними залишками АТФ-зв'язувальної кишені протеїнкінази CK2 проводили у програмі «Discovery Studio Visualizer 4.0» [52].

Біохімічні тести *in vitro*.

Визначення ступеня інгібування активності протеїнкінази CK2 людини. Тестування сполук проводили за методикою, описаною С.І. Hastie з колегами [53]. Об'єм реакційної суміші на одну пробу становив 20 мкл і включав: 3 мкл 10 \times буфера для CK2 (200 мМ Трис-HCl, pH 7,5; 500 мМ KCl; 100 мМ MgCl $_2$); 4 мкг синтетичного пептидного субстрату RRRDDDSDDD (New England Biolabs, Великобританія); 0,02 мкл (10 одиниць, 20 нг очищеного рекомбінантного білка протеїнкінази CK2 (гетеротетрамерний холоензим, продукований в *E. coli*, #P6010L, New England Biolabs, Великобританія)); 13 мкл дистильованої води. Кінцеві молярні концентрації компонентів реакції для тестів із CK2 становили: близько 150-175 мкМ пептидного субстрату, близько 20 нМ ензиму. Далі аліквоти реакційної суміші (19 мкл/пробу) поміщали в

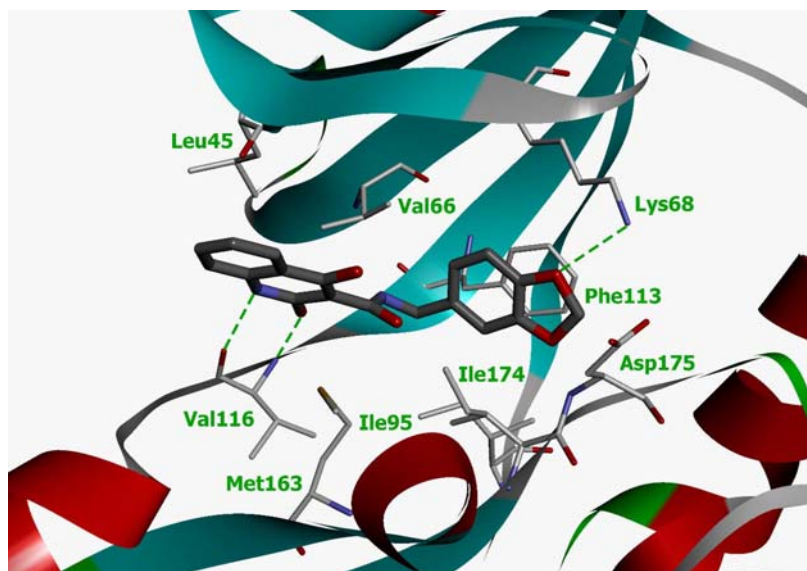


Рис. 1. Сполука **1** в АТФ-зв'язувальному сайті СК2 (модель комплексу отримано методом молекулярного докінгу, водневі зв'язки зображено зеленою пунктирною лінією)

епендорфи об'ємом 1,5 мл та додавали по 1 мкл розчину інгібітора (розчиненого в ДМСО) потрібної концентрації.

Для ініціації реакції до кожного зразка додавали попередньо приготовану суміш, яка складалася з 10 мкл 150 мкМ АТФ і $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$ у кількості, яка відповідала кінцевій специфічній активності міченого АТФ 3000 мкюри/ммоль. Кінцева концентрація АТФ у реакційній суміші становила 50 мкМ.

Після інкубації, що тривала 25 хв. при 30 °С, реакцію зупиняли додаванням 10 мкл 5 % розчину ортофосфорної кислоти. Отриману реакційну суміш наносили на двадцятиміліметровий диск (18x18 мм) фосфоцелюлозного паперу (Whatman, р31, р81). Диски відмивали тричі з використанням 1% розчину ортофосфорної кислоти та просушували в термостаті при 45 °С. Рівень радіоактивного сигналу визначали в сцинтиляційній рідині у флаконах, використовуючи сцинтиляційний лічильник «Tri-carb 2800 TR» (PerkinElmer, США). Як негативний контроль замість розчину інгібітора додавали 1 мкл ДМСО (3,3 %).

Ступінь інгібування СК2 визначали за співвідношенням включення $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{АТФ}$ у субстратний пептид при додаванні інгібітора і при додаванні ДМСО.

Визначення показника IC_{50} . Показник IC_{50} інгібіторів визначали шляхом встановлення ступеня інгібування ензиму за різних концент-

рацій сполук, отриманих шляхом двократного розведення у трьох повторах. Титрувальні криві будували в координатах СРМ (по осі ординат) і десятичного логарифма концентрації інгібітора $Ig[I]$ (по осі абсцис). Для точки на графіку, що є серединою відрізка між двома горизонтальними асимптотами, розраховували обернений логарифм значення по осі абсцис, що відповідав показнику IC_{50} .

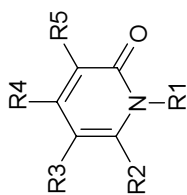
Результати й обговорення. Для пошуку інгібіторів протеїнкінази СК2 було здійснено рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг комбінаторної бібліотеки похідних 2-піридону (колекція налічувала 2088 сполук). Докінг сполук проводили в АТФ-зв'язувальну кишеньку каталітичної субодиниці СК2 людини з наступним їх ранжуванням за енергією зв'язування з кіназним доменом та візуальною оцінкою позиції ліганду в активному сайті.

Для біохімічних тестів *in vitro* було відібрано 15 похідних 2-піридону, що утворювали водневі зв'язки з амінокислотними залишками шарнірної ділянки і в глибині АТФ-акцепторного сайту СК2 та мали найменшу вільну енергію зв'язування за даними скорингової функції. Усі потенційні інгібітори відповідали правилам Ліпінського [54]. Отримані результати представлено в таблиці 1.

У результаті біохімічних тестів *in vitro* встановлено, що сполука **1** — *N*-(1,3-бензодіоксол-5-ілметил)-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохіно-

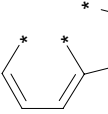
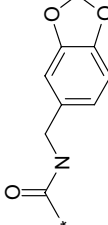
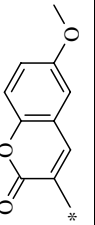
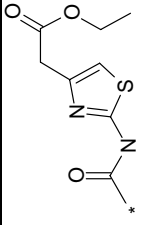
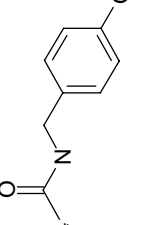
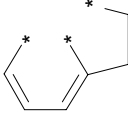
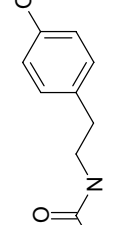
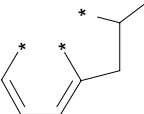
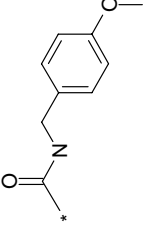
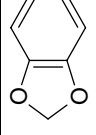
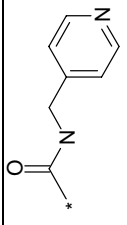
Таблиця 1

Хімічні структури замісників сполук, залишкова активність сполук і значення IC_{50}



№	ID	R ¹		R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Залишкова активність протеїнази СК2 за концентрації інгібітора 10 мкМ, %	LogP	LogS
		3	4							
1	7561736	H	-(CH ₂) ₄ -	OH				27,96 (IC_{50} = 8,3 мкМ)	1,2	-3,4
2	7562880	H	-(CH ₂) ₄ -	OH				73,84	1,4	-3,3
3	7561244	H	-(CH ₂) ₄ -	CH ₃				69,21	1,3	-4
4	7561249	H	-(CH ₂) ₄ -	CH ₃				73,25	2,8	-5
5	7563173	C ₂ H ₄ COOH	-(CH ₂) ₄ -	CH ₃				75,76	1,7	-4,6
6	7561206	H	-(CH ₂) ₄ -	CH ₃				77,49	2,1	-4,3
7	7562811	C ₃ H ₇	-(CH ₂) ₄ -	OH				78,03	2,8	-4,9

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	7562090			OH		79,2	1,5	-3,2
9	7561355	H	-(CH) ₄	OH		79,26	2,2	-4,1
10	7561534	H	-(CH) ₄ -	OH		81,1	1,1	-4
11	7561256	H	-(CH) ₄ -	CH ₃		82,65	2,4	-4,6
12	7562096			OH		82,89	2,1	-4,3
13	7563093			OH		94,53	2,1	-4,3
14	6887413	H		CH ₃	COOH	100,58	1,1	-1,9
15	7561901	H	-(CH ₂) ₄ -	OH		108,62	0,3	-3

Примітка. * — місце приєднання замісника до циклу 2-піридону.

лін-3-карбоксамід — пригнічує активність протеїнкінази СК2 із значенням IC_{50} 8,3 мкМ. Заміна замісника R⁵ (N-(1,3-бензодіоксол-5-ілметилкарбоксамід) у цього інгібітора на 6-метоксихромен-2-он або (2-карбоніламініотіазол-4-іл)оцтової кислоти етиловий естер призвела до зникнення активності у сполук, що їх містили (сполуки **9** та **10**, відповідно). Уведення додаткового циклічного замісника, як у сполуки **8**, мало такий же негативний ефект.

Щоб з'ясувати, чому сполука **1** виявила інгібувальну активність, на відміну від її структурних аналогів, було досліджено комплекси похідних 2-піридону із СК2 (рис. 1). Встановлено, що інгібітор **1** фіксується в АТФ-акцепторній кишені протеїнкінази за рахунок низки гідрофобних взаємодій і водневих зв'язків.

Цикл 2-піридону разом із замісником R¹ розташовується поруч із шарнірною ділянкою активного сайту та задіяний у формуванні 2-х водневих зв'язків. Вони утворюються за рахунок атомів Оксигену карбонільної групи і Нітрогену 2-піридону й основним ланцюгом амінокислотного залишку Val116.

Замісники R²-R⁴ орієнтовані на вихід із сайту зв'язування та беруть участь в утворенні гідрофобних контактів. Замісник R⁵ спрямовується вглиб сайту зв'язування і утворює водневий зв'язок з Lys68 за участі атома Оксигену бензодіоксолового гетероциклу ліганду. Гідрофобні контакти інгібітор **1** формує з амінокислотними залишками Leu45, Val66, Ile95, Met163, Ile174 та Phe113 (π - π -стекінг).

Структурні аналоги інгібітора **1** — сполуки **8-10** — займають подібне положення в активному сайті СК2 із певними відмінностями, які, ймовірно, і є причиною зникнення активності останніх. Сполука **8** за рахунок додаткового циклу орієнтується карбонільною групою та атомом Нітрогену 2-піридону на вихід із сайту зв'язування (позиція протилежна до інгібітора **1**), тоді як замісник R⁴ (ОН-група) спрямовується в напрямку шарнірної ділянки і утворює

водневий зв'язок з атомом Оксигену амінокислотного залишку Val116. При цьому всі гідрофобні контакти та водневий зв'язок з Lys68 зберігаються, як і в сполуки **1**.

Сполуки **9** і **10** відрізняються від інгібітора **1** замісником R⁵. В інгібітора **1** цей замісник задіяний у π - π -стекінгу з амінокислотним залишком Phe113, у його неактивних аналогів ця взаємодія відсутня. Незважаючи на різний замісник R⁵, сполуки **9** і **10** також формують водневий зв'язок у глибині сайту зв'язування молекули АТФ. У сполуки **9** він виникає між атомом Оксигену метоксигрупи та Lys68, у сполуки **10** — між атомом Оксигену карбонільної групи ліганду та Asp175. При цьому всі гідрофобні контакти спостерігаються із тими самими амінокислотними залишками, що і в інгібітора **1**.

Середній розрахований показник LogP для досліджуваних сполук становив 1,74 і не перевищував значення 2,8 (сполуки **4** та **7**). Середнє значення показника LogS складало -3,9 при його максимальному значенні -4,9 у сполуки **7**. Це свідчить про те, що подальшу оптимізацію похідних 2-піридону можна проводити за рахунок збільшення гідрофобності сполук із цього класу. Це, у свою чергу, має покращити інгібувальну активність сполук.

Висновки. У результаті рецепторно-орієнтованого віртуального скринінгу похідних 2-піридону було відібрано 15 сполук. У біохімічних тестах *in vitro* здатність пригнічувати активність протеїнкінази СК2 продемонструвала сполука **1** — N-(1,3-бензодіоксол-5-ілметил)-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамід (IC_{50} =8,3 мкМ).

За результатами аналізу обрахованих показників LogP і LogS можна зробити висновок, що оптимізацію похідних 2-піридону потрібно проводити в напрямку збільшення гідрофобності цих сполук.

Надійшла в редакцію 20.11.2015 р.

Search of new inhibitors of protein kinase CK2 among 2-pyridone derivatives

O.V. Ostrynska¹, I.V. Ukrainets², L.V. Sidorenko², Yu.A. Starosyla³, M.V. Protopopov¹,
O.P. Kukharenko¹, V.G. Bdzhola¹, S.M. Yarmoluk¹

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

² National University of Pharmacy
53, Pushkinska Str., Kharkiv, 61002, Ukraine

³ National Technical University of Ukraine «Kyiv Polytechnic Institute»
37, Peremohy Ave., Kyiv, 03056, Ukraine

Summary. The search of inhibitors of protein kinase CK2 among 2-pyridone derivatives via receptor-based virtual screening and biochemical tests *in vitro* was carried out. It was found that one inhibitor from 15 selected compounds have $IC_{50}=8.3 \mu\text{M}$. The binding mode of this ligand with amino acid residue of ATP-acceptor site of protein kinase CK2 has been proposed.

Keywords: 2-pyridone, inhibitor of human protein kinase CK2, virtual screening.

Перелік літератури

1. Protein kinase CK2 catalyzes tyrosine phosphorylation in mammalian cells / [G. Vilks, J.E. Weber, J.P. Turrowec et al.] // *Cell Signal.* — 2008. — Vol. 20, No. 11. — P. 1942-1951.
2. *Pinna L.A.* Protein kinase CK2 / L.A. Pinna. — England: John Wiley & Sons, Inc, 2013. — 484 p.
3. *Litchfield D.W.* Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and death / D.W. Litchfield // *Biochem. J.* — 2003. — Vol. 369, No. 1. — P. 1-15.
4. *Guerra B.* Protein kinase CK2 in human diseases / B. Guerra, O. Issinger // *Curr. Med. Chem.* — 2008. — Vol. 15, No. 19. — P. 1870-1886.
5. Protein kinase CK2 in mammary gland tumorigenesis / E. Landesman-Bollag, R. Romieu-Mourez, D.H. Song [et al.] // *Oncogene.* — 2001. — Vol. 20, No. 25. — P. 3247-3257.
6. CK2 inhibitors enhance the radiosensitivity of human non-small cell lung cancer cells through inhibition of stat3 activation / Y.C. Lin, M.S. Hung, C.K. Lin [et al.] // *Cancer Biother. Radiopharm.* — 2011. — Vol. 26, No. 3. — P. 381-388.
7. Asymmetric expression of protein kinase CK2 subunits in human kidney tumors / G. Stalter, S. Siemer, E. Becht [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1994. — Vol. 202, No. 1. — P. 141-147.
8. Protein kinase CK2 α is overexpressed in colorectal cancer and modulates cell proliferation and invasion via regulating EMT-related genes / J. Zou, H. Luo, Q. Zeng [et al.] // *J. Transl. Med.* — 2011. — 9:97.
9. Casein kinase II inhibition induces apoptosis in pancreatic cancer cells / [R. Hamacher, D. Saur, R. Fritsch et al.] // *Oncol. Rep.* — 2007. — Vol. 18, No. 3. — P. 695-701.
10. *Ji H.* The role of protein kinase CK2 in glioblastoma development / H. Ji, Z. Lu. // *Clin. Cancer. Res.* — 2013. — No. 19. — P. 6335.
11. Protein kinase CK2 in hematologic malignancies: reliance on a pivotal cell survival regulator by oncogenic signaling pathways / [F. Piazza, S. Manni, M. Ruzzene et al.] // *Leukemia.* — 2012. — No. 26. — P. 1174-1179.
12. Toward the rational design of protein kinase casein kinase-2 inhibitors / S. Sarno, S. Moro, F. Meggio [et al.] // *Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 93, No. 2-3. — P. 159-168.
13. Features and potentials of ATP-site directed CK2 inhibitors / S. Sarno, M. Salvi, R. Battistutta [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2005. — Vol. 1754, No. 1-2. — P. 263-270.
14. ATP site-directed inhibitors of protein kinase CK2: an update / S. Sarno, E. Papinutto, C. Franchin [et al.] // *Curr. Top. Med. Chem.* — 2011. — Vol. 11, No. 11. — P. 1340-1351.
15. *Cozza G.* Protein kinase CK2 inhibitors: a patent review / G. Cozza, L.A. Pinna, S. Moro // *Expert Opin. Ther. Pat.* — 2012. — Vol. 22, No. 9. — P. 1081-1097.
16. Інгібітори протеїнкінази CK2 / А.О. Приходько, Г.Г. Дубініна, С.М. Головач, С.М. Ярмолук // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2004. — № 1-2. — С. 39-48.
17. *Yim H.* Emodin, an anthraquinone derivative isolated from the rhizomes of *rheum palmatum* selectively inhibits the activity of casein kinase II as competitive inhibitor / H. Yim, Y. Lee, S.K. Lee // *Planta Med.* — 1999. — Vol. 65, No. 1. — P. 9-13.
18. Halogenated benzimidazoles and benzotriazoles as selective inhibitors of protein kinases CK I and CK II from *Saccharomyces cerevisiae* and other sources / R. Szyszka, N. Grankowski, K. Felczak, D. Shugar // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1995. — Vol. 208, No. 1. — P. 418-424.
19. Structural features underlying selective inhibition of protein kinase CK2 by ATP site-directed tetrabromobenzotriazole / R. Battistutta, E. De Moliner, S. Sarno [et al.] // *Protein Sci.* — 2001. — Vol. 10, No. 11. — P. 2200-2206.
20. Identification of a novel potent, selective and cell permeable inhibitor of protein kinase CK2 from the NIH/NCI Diversity Set Library / B. Guerra, J. Hochscherf, N.B. Jensen, O.G. Issinger // *Mol. Cell. Biochem.* — 2015. — 406(1-2). — P. 151-161.
21. Coumarin as attractive casein kinase 2 (CK2) inhibitor scaffold: an integrate approach to elucidate the putative binding motif and explain structure-activity relationships / A. Chilin, R. Battistutta, A. Bortolato [et al.] // *J. Med. Chem.* — 2008. — Vol. 21, No. 4. — P. 752-759.

22. Inhibition of protein kinase CK2 by condensed polyphenolic derivatives. An *in vitro* and *in vivo* study / F. Meggio, M.A. Pagano, S. Moro [et al.] // *Biochem.* — 2004. — Vol. 43, No. 40. — P. 12931-12936.
23. Inhibition of protein kinase CK2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight / G. Lolli, G. Cozza, M. Mazzorana [et al.] // *Biochem.* — 2012. — Vol. 51, No. 31. — P. 6097-6107.
24. Пошук інгібіторів протеїнкінази CK2 серед похідних 3-карбетокси-4-амінохіноліну / [В.М. Сапелкін, А.Г. Голуб, О.Я. Яковенко] // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2005. — Т. 1, № 1. — С. 28-32.
25. Evaluation of 3-carboxy-4(1H)-quinolones as inhibitors of human protein kinase CK2 / [A.G. Golub, O.Y. Yakovenko, V.G. Bdzholo et al.] // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49, No. 22. — P. 6443-6450.
26. Evaluation of 4,5,6,7-tetrahalogeno-1H-isoindole-1,3(2H)-diones as inhibitors of human protein kinase CK2 / [A.G. Golub, O.Y. Yakovenko, A.O. Prykhod'ko et al.] // *Biochimica. Biophys. Acta.* — 2008. — Vol. 1784, No. 1. — P. 143-149.
27. Пошук специфічних інгібіторів протеїнкінази CK2 і вазоактивних сполук серед похідних 5-аміно-1,3-оксазолів / [О.В. Шабликін, О.П. Кухаренко, І.Н. Яковенко та ін.] // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 28-36.
28. Design, synthesis and evaluation of 2-phenylisothiazolidin-3-one-1,1-dioxides as a new class of human protein kinase CK2 inhibitors / [M.O. Chekanov, O.V. Ostrynska, A.R. Synyugin et al.] // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* — 2014. — Vol. 29, No. 3. — P. 338-343.
29. Котей І.М. Синтез і біологічне визначення тієнопіримідинонів як інгібіторів протеїнкінази CK2 / І.М. Котей, А.О. Баланда, В.Г. Бджола // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2008. — Vol. 6, № 2. — С. 3-9.
30. Design, synthesis and biological evaluation of 2-aminopyrimidinones and their 6-aza-analogs as a new class of CK2 inhibitors / [M.O. Chekanov, O.V. Ostrynska, S.S. Tarnavskiy et al.] // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* — 2013. — Vol. 29, No. 5. — P. 639-646.
31. Synthesis and biological evaluation of substituted (thieno[2,3-d]pyrimidin-4-ylthio)carboxylic acids as inhibitors of human protein kinase CK2 / [A.G. Golub, V.G. Bdzholo, N.V. Briukhovetska et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* — 2011. — Vol. 3, No. 3. — P. 870-876.
32. Design and synthesis of novel protein kinase CK2 inhibitors on the base of 4-aminothieno[2,3-d]pyrimidines / [O.V. Ostrynska, A.O. Balanda, V.G. Bdzholo et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* — 2016. — No. 115. — P. 148-160.
33. Пат. 86041 Україна, МПК C07D 215/00, A61P 35/00 від 10.12.2013. Низькомолекулярні органічні АТФ-конкурентні інгібітори серин-треонінової протеїнкінази CK2 на основі 4-аміно-тієно[2,3-d]піримідинового гетероциклу / О.В. Остринська (UA), А.О. Баланда (UA), В.Г. Бджола (UA), І.М. Котей (UA), О.П. Кухаренко (UA), С.М. Ярмолюк (UA); заявник Ін-т мол. біол. і ген. НАНУ (UA). — № u201307516; заявл. 13.06.13; опубл. 10.12.13, Бюл. № 23 // Пат. UA86041, C07D215/00, A61P35/00, 2013-12-10.
34. Evaluation of 4H-4-chromenone derivatives as inhibitors of protein kinase CK2 / [A.O. Prykhod'ko, O.Y. Yakovenko, A.G. Golub et al.] // *Biopolym. Cell.* — 2005. — Vol. 21, No. 3. — P. 287-292.
35. Structure-based discovery of novel flavonol inhibitors of human protein kinase CK2 / [A.G. Golub, V.G. Bdzholo, Y.V. Kyshenia et al.] // *Mol. Cell Biochem.* — 2011. — Vol. 356, № 1-2. — P. 107-115.
36. Discovery and characterization of synthetic 4'-hydroxyflavones — New CK2 inhibitors from flavone family / [A.G. Golub, V.G. Bdzholo, O.V. Ostrynska et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* — 2013. — № 21. — P. 6681-6689.
37. 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 / F. Pierre, P.C. Chua, S.E. O'Brien [et al.] // *J. Med. Chem.* — 2011. — Vol. 54, № 2. — P. 635-654.
38. The casein kinase 2 inhibitor, CX-4945, as an anti-cancer drug in treatment of human hematological malignancies / H.J. Chon, K.J. Bae, Y. Lee, J. Kim // *Front. Pharmacol.* — 2015.
39. 4-Hydroxy-2-quinolones. 40. Synthesis and biological properties of anilides of 1H-2-oxo-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acid / [I.V. Ukrainets, S.G. Taran, O.V. Gorokhova et al.] // *Chem. Heterocycl. Compd.* — 2000. — Vol. 36, № 2. — P. 166-169.
40. 4-Hydroxy-2-quinolones. 140. Synthesis and diuretic activity of arylalkylamides of 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid / I.V. Ukrainets, N.L. Berezhnyakova, V.A. Parshikov, V.N. Kravchenko // *Chem. Heterocycl. Compd.* — 2008. — Vol. 44, № 1. — P. 64-72.
41. *Ukrainets I.V.* Transformation of 3-(3-arylalkyl-carbamoyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-1-yl)propanenitriles into amides and acids / I.V. Ukrainets, O.V. Gorokhova, K.V. Andreeva // *Russ. J. Org. Chem.* — 2013. — Vol. 49, № 6. — P. 867-871.
42. 4-Hydroxy-2-quinolones. 142. 4-Methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid anilides as potential diuretics / I.V. Ukrainets, N.L. Berezhnyakova, V.A. Parshikov, O.I. Naboka // *Chem. Heterocycl. Compd.* — 2008. — Vol. 44, № 2. — P. 178-183.
43. Арилалкіламіди 1-*R*-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Синтез та біологічна активність / І.В. Українець, М.Ю. Голік, В.М. Кравченко, В.О. Паршиков // *Медична хімія.* — 2011. — Т. 13, № 1(46). — С. 82-87.
44. Синтез, діуретична та протизапальна активність арилалкіламідів 1-гідрокси-3-оксо-5,6-дигідрозн-піроло[3,2,1-*i,j*]хінолін-2-карбонової кислоти / Н.Л. Березнякова, О.В. Моспанова, І.В. Українець, О.В. Горохова // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* — 2007. — Т. 5, № 4(20). — С. 49-53.
45. 4-Hydroxy-2-quinolones. 35. Synthesis and study of antithyroid properties of 1H-2-oxo-3-(coumarin-3-yl)-4-hydroxyquinolines / [I.V. Ukrainets, S.G. Taran, O.L. Kodolova et al.] // *Chem. Heterocycl. Compd.* — 1997. — Vol. 33, № 8. — P. 959-963.
46. 4'-Карбетоксиметилтіазоліл-2-аміди 1*R*-2-оксо-4-гідроксихінолін-3-карбонових кислот. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості / [І.В. Українець, Л.О. Петрушова, О.В. Горохова та ін.] // *Вісник фармації.* — 2003. — Т. 3, № 35. — С. 24-28.
47. 4-Hydroxy-2-quinolones. 176. 4-*R*-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. Synthesis, physico-chemical and biological properties / [I.V. Ukrainets, A.A. Davidenko, E.V. Mospanova et al.] // *Chem. Heterocycl. Compd.* — 2010. — Vol. 46, No. 5. — P. 559-568.
48. 4-Hydroxy-2-quinolones. 95*. Synthesis, structure-

re, and antitubercular properties of hetarylamides of 4-hydroxy-2-oxo-1,2,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3-carboxylic acid / [I.V. Ukrainets, E.V. Kolesnik, L.V. Sidorenko et al.] // Chem. Heterocycl. Compd. — 2006. — Vol. 42, No. 6. — P. 765-775.

49. Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / [G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom et al.] // J. Computational Chemistry. — 2009. — No. 16. — P. 2785-2791.

50. Pedretti A. VEGA — An open platform to develop chemo-bio-informatics applications, using plug-in architecture and script programming / A. Pedretti, L. Villa, G. Vistoli // J.C.A.M.D. — 2004. — Vol. 18. — P.167-173.

51. Structural basis of CX-4945 binding to human

protein kinase CK2 / [A.D. Ferguson, P.R. Sheth, A.D. Basso et al.] // Febs Lett. — 2011. — No. 585. — P. 104-110.

52. <http://accelrys.com/>

53. Hastie C.J. Assay of protein kinases using radiolabeled ATP: a protocol / C.J. Hastie, H.J. McLauchlan, P. Cohen // Nature Protocols. — 2006. — Vol. 1, No. 2. — P. 968-971.

54. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney // Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2001. — Vol. 46, No. 1-3. — P. 3-26.

55. <http://www.openmolecules.org/properties/properties.html>