

Пошук інгібіторів протеїнкінази FGFR1 серед похідних хромону

А.А. Грищенко, В.Г. Бджола, О.П. Кухаренко, С.М. Ярмолук*

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

Резюме. Протеїнкіназа FGFR1 відіграє одну з ключових ролей у регуляції ангиогенезу і проліферації тканин. Інгібітори цієї кінази можна використовувати для ефективного лікування солідних пухлин і ряду проліферативних захворювань. У цій роботі проведено пошук інгібіторів FGFR1 серед 3500 похідних хромону шляхом віртуального скринінгу і тестування *in vitro*. Серед них виявлено 6 сполук, які інгібують кіназу в мікромольному діапазоні концентрацій. Найбільш активною сполукою виявився 2-(2-етоксифеніл)-3-гідрокси-6-метилхромен-4-он ($IC_{50}=3,6$ мкМ). Досліджено залежність «структура — активність тестованих сполук» і запропоновано модель зв'язування флавонольних інгібіторів з АТФ-акцепторним сайтом FGFR1.

Ключові слова: протеїнкіназа FGFR1, флавоноли, віртуальний скринінг.

Вступ. Кіназа рецептора фактора росту фібробластів 1 (FGFR1) належить до родини рецепторних тирозинових протеїнкіназ (РТК). FGFR1 виконує багато функцій у процесі ембріонального розвитку організму, зокрема відіграє роль організатора морфогенезу [1]. У дорослих організмів основний ефект впливу активації FGFR1 на клітину виявляється в посиленні проліферації, що може призводити до безпосередньої участі кінази в процесах онкогенезу [2]. Дослідниками показано роль кінази в процесах регуляції об'єму м'язової [3] і жирової [4] тканин, а також репарації [5]. Найбільш вивчено роль FGFR1 у процесі ангиогенезу. Разом з іншими РТК, такими як VEGFR і EGFR, FGFR1 забезпечує проліферацію клітин васкулярного ендотелію, що необхідно для формування нових судин [6]. Підвищена активність FGFR1 спостерігається при деяких проліферативних захворюваннях судин. Тому інгібітори цієї кінази можна застосовувати для

лікування таких захворювань, зокрема атеросклерозу [7].

Участь FGFR1 у процесах онкогенезу пов'язують насамперед із функцією ангиогенезу. Коли пухлина досягає критичного об'єму, для продовження її росту не достатньо лише дифузії газів і поживних речовин усередині пухлинної тканини. Подальший ріст пухлини відбувається за умови неоваскуляризації пухлинної тканини [8]. Неоваскуляризація пухлин також сприяє їх метастазуванню [9]. Онкогенний ангиогенез стає можливим при появі в пухлині мутацій, що ведуть до активації різноманітних факторів ангиогенезу, серед яких є і FGFR1 [10]. У роботі [11] показано підвищену активність РТК, зокрема FGFR1, у пухлинах із вираженою неоваскуляризацією. Пригнічення ангиогенезу в пухлинах призводить до зупинки проліферації та некрозу. Тому інгібування онкоангиогенезу розглядають як важливу складову стратегії лікування солідних пухлин. Авторами статті [12] встановлено, що селективний інгібітор FGFR1 — PD 166866 — дозозалежно інгібує проліферацію і неоваскулогенез.

Нами здійснено пошук інгібіторів протеїн-

*Corresponding author.

Tel./ fax: +38044-5222458

E-mail address: yarmoluksm@gmail.com

кінази FGFR1 серед хромонів. Найбільш відомим підкласом хромонів є сполуки природного походження — флаволи. Вони та їх похідні вже давно відомі як інгібітори протеїнкіназ. Дослідниками вивчено їх інгібіторні властивості щодо циклін-залежних кіназ [13], протеїнкінази СК2 [14] та інших кіназ. Виявлено їх протипухлинну й антиангіогенну активність у мікромольному діапазоні концентрацій [15]. Крім того, серед флаволиві знайдено сполуки, яким властиві антиоксидантні, протизапальні, антикоагулюючі та противірусні властивості.

Флаволиві сполуки вирізняються низькою специфічністю інгібування кіназ. Активація ангіогенезу опосередковується кількома факторами росту, які активують клітини через відповідні РТК. Селективне інгібування однієї з протеїнкіназ, що бере участь в ангіогенезі, в дослідях *in vivo* часто виявляється мало ефектним в порівнянні з дослідями *in vitro*. Тому для лікування є виправданим застосування інгібіторів протеїнкіназ із широким спектром дії проти декількох РТК, що відповідають за ангіогенез. Дослідження інгібіторів рецепторних тирозинових протеїнкіназ із широким спектром дії показали їх вищу протипухлинну активність в порівнянні зі специфічними інгібіторами цих кіназ [16]. З огляду на це хромони є перспективними для дослідження. Можна припустити, що сполуки цього класу продемонструють високу протипухлинну активність у дослідях *in vivo*.

Матеріали і методи. Пошук інгібіторів FGFR1 проведено методом віртуального рецепторно-орієнтованого скринінгу з подальшим підтвердженням результатів тестуванням інгібіторної активності *in vitro*.

Віртуальний скринінг здійснено за допомогою пакету програм «DOCK 4.0» [17] та «AutoDock 4.0.1» [18]. Геометрію лігандів і часткові заряди визначали за допомогою програми «Topbuilder» і напівемпіричного методу AM1 з пакету «GAMESS». Для «AutoDock» ліганди готували за допомогою програми «MGL Tools», часткові заряди визначали з допомогою емпіричного методу Гастейгера, конформація молекул лігандів релаксувалась за допомогою програми «AMPP». Як мішені для докінгу використовували субодиночку А комплексу протеїнкінази FGFR1 з інгібітором SU5402 (код

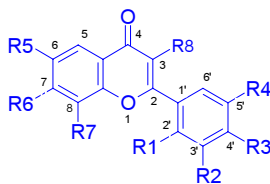
PDB 1fgi) [19] і субодиночку В комплексу FGFR1 з інгібітором PD 173074 (код PDB 2fgi) [20]. В отриманих із PDB структурах було вилучено молекули води, лігандів і субодиночки, які не брали участі в процесі докінгу. Після докінгу ліганди сортували за показником розрахованої енергії зв'язування із сайтом кінази. Комплекси ліганд-рецептор із високими енергіями взаємодій перевіряли візуально, перспективні сполуки відбирали для тестування *in vitro*.

Для тестів *in vitro* використовували кіназний домен людської FGFR1, отриманий у бакуловірусній системі експресії (Upstate-Millipore, cat. 14-582). Інгібіторний вплив сполук на FGFR1 встановлювали з допомогою методу визначення ступеня фосфорилування синтетичного пептидного субстрату кіназою в присутності γ - ^{32}P -АТФ. Реакційна суміш об'ємом 30 мкл містила 10 мМ MOPS (рН 7,2), 0,1 мМ NaVO_4 , 0,2 мМ EDTA, 0,002 % Brij 35, 0,2 мг/мл БСА і 0,02 % β -меркаптоетанолу. Фермент додавали в кількості 10,5 мU одиниць кіназної активності (7,35 нг білка комерційного препарату) на пробу. Як субстрат використовували синтетичний пептид (послідовність субстрату I рецептора IGF, IGF-IRtide) у кількості 4 мкг на пробу. Реакцію запускали додаванням до 20 мкл об'єму реакційної суміші ще 10 мкл розчину: 150 мкМ АТФ; 30 мМ ацетат магнію; 1,5 мМ HEPES, який також містив 1 мікрокурі ^{32}P -АТФ. Кінцева концентрація АТФ у реакційній суміші становила 50 мкМ. Реакційну суміш інкубували 30 хв за 30 °С. Реакцію зупиняли додаванням 8 мкл 5 % фосфорної кислоти. Увесь об'єм проби повністю переносили на фосфоцелюлозні фільтри «Whatman P81», які тричі по 5 хв промивали 0,75 % фосфорною кислотою. Фільтри висушували, їх радіоактивність виміряли на сцинтиляційному лічильнику «PerkinElmer». Як негативний контроль використовували пробу, без інгібітора і з відповідною концентрацією ДМСО.

Для сполук, які за концентрації їх у реакційній суміші 25 мкМ зменшували активність кінази більш ніж на 50 % від контролю, будували титрувальні криві залежності активності ферменту від концентрації інгібітора. За цими кривими визначали значення IC_{50} .

Результати й обговорення. Для віртуаль-

Структура флавонових сполук та їх вплив на активність FGFR1



№	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	IC ₅₀ , мкМ
1	OCH ₂ CH ₃	H	H	H	CH ₃	H	H	OH	3,6
2	OCH ₂ CH ₃	H	H	H	H	H	H	OH	10
3	OCH ₃	H	H	H	CH ₃	H	H	OH	5
4	OCH ₃	H	H	OCH ₃	CH ₃	H	H	OH	4,9
5	Cl	H	H	H	H	H	H	OH	20
6	F	H	H	H	CH ₃	H	H	OH	4
7	H	H	H	H	CH ₃	CH ₃	H	OH	>25
8	H	OCH ₃	H	H	CH ₃	H	H	OH	>25
9	H	OCH ₃	OCH ₂ CH ₃	H	CH ₃	H	CH ₃	OH	>25
10	H	OCH ₃	OCH ₃	H	Cl	H	H	OH	>25
11	H	Cl	Cl	H	CH ₃	H	H	OH	>25
12	H	H	OCH ₃	H	CH ₂ CH ₃	H	H	OH	>25
13	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	CH ₃	H	H	OH	>25
14	H	H	OCH ₃	H	Cl	H	H	OH	>25
15	Cl	H	H	H	H	H	H	OCOCH ₃	>25
16	H	H	OCH ₃	H	H	H	H	OCH ₃	>25
17	OH	H	H	Br	CH ₃	H	H	H	>25
18	OCH ₂ CH ₃	H	H	H	CH ₃	H	H	H	>25
19	COOH	H	H	H	OCH ₃	H	H	H	>25
20	H	Br	H	H	CH ₃	H	CH ₃	H	>25
21	H	H	H	H	OCH ₂ COOH	H	H	H	>25
22	COOH	H	H	H	Cl	CH ₃	H	H	>25
23	Cl	H	Cl	H	CH ₃	H	CH ₃	H	>25
24	OCH ₂ CH ₃	H	H	H	CH ₃	H	CH ₃	H	>25
25	OH	OCH ₃	H	H	CH ₃	H	CH ₃	H	>25

ного скринінгу було дібрано бібліотеку сполук, що належать до класу хромонів. Усього проаналізували близько 3500 потенційних лігандів, які належать до декількох структурних підкласів хронону. На основі результатів віртуального скринінгу відбирали сполуки з найвищими значеннями енергії зв'язування з кіназою. Ці сполуки перевіряли візуально за критеріями положення в сайті зв'язування та водневими і гідрофобними зв'язками з кіназою. Для біологічного тестування було відібрано 25 сполук. Усі вони належать до класу флавонів. У таблиці 1 наведено структури й дані тестування інгібіторної активності цих речовин. За результатами біологічного тестування 6 сполук показали IC₅₀ менше 25 мкМ. Ліганди, що показали високі інгібіторні властивості по відношенню до FGFR1, належать до структурного підкласу флавонолів.

Результати дослідження впливу структури на активність флавонових сполук засвідчили, що найбільший ефект мають замісники в положенні 3 хромонового гетероциклу. Флаволи,

які мають в цьому положенні гідроксильну групу, показали високі інгібіторні властивості стосовно FGFR1. Сполуки **15** і **16** із 3-метокси і 3-ацетокси замісниками замість 3-гідроксигрупи не проявляли активності по відношенню до FGFR1. Сполуки з атомом Гідрогену в положенні 3 хромонону, серед яких був відповідний структурний аналог активної сполуки **1** (**18**), не проявляли помітних інгібіторних властивостей. За даними докінгу, 3-гідроксигрупа флавонолів бере участь в утворенні водневого зв'язку з атомом Оксигену основного ланцюга Glu562 на шарнірному регіоні FGFR1. Існування цього водневого зв'язку показано для двох можливих орієнтацій флавонолів в активному центрі FGFR1 (рис. 1).

У випадку, коли фенільна група флавонольної сполуки направлена в середину сайту зв'язування, 3-гідроксигрупа утворює водневий зв'язок з атомом Оксигену основного ланцюга Glu562, а карбонільна група хромонового гетероциклу утворює водневий зв'язок з атомом Нітрогену основного ланцюга Ala564 на

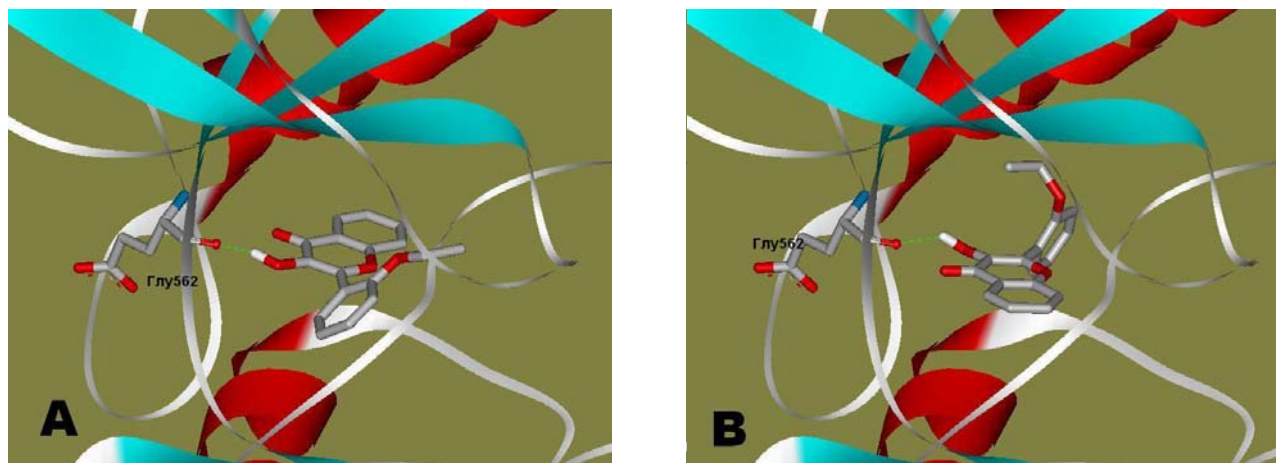


Рис. 1. Два можливих положення флавонолів у сайті зв'язування FGFR1 на прикладі сполуки **3** (A — орієнтація з хромоновим гетероциклом у глибині сайту зв'язування, B — орієнтація, за якої вглиб сайту зв'язування направлена фенільна група).

шарнірному регіоні кінрази (рис. 1B). У протилежному випадку орієнтації флавонолу фенільною групою назовні сайту зв'язування і з хромоном у глибині сайту, зберігається тільки водневий зв'язок між 3-гідроксигрупою і Оксигеном основного ланцюга Glu562 (рис. 1A). Важливість утворення водневих зв'язків із шарнірним регіоном показано для багатьох ефективних інгібіторів протеїнкіназ. Для деяких флавоноїдних інгібіторів встановлено просторову структуру комплексу з кінзаами методом рентгеноструктурного дослідження. У цих комплексах у більшості випадків 3-гідроксигрупа утворює водневий зв'язок із карбонільною групою амінокислотного залишку в шарнірному регіоні. Таким чином, на основі літературних даних та результатів докінгу можна стверджувати, що в досліджених нами інгібіторах протеїнкінази FGFR1 класу флавонолів 3-гідроксигрупа утворює аналогічний водневий зв'язок із залишком Glu562, який розташований на шарнірному регіоні. Тому ця група є необхідною для проявлення інгібіторних властивостей у флавонових сполук.

З огляду на здобуті дані нами запропоновано модель зв'язування флавонольних інгібіторів FGFR1 (рис. 2). Згідно з цією моделлю фенільний радикал орієнтований у середину сайту зв'язування. За такої моделі зв'язування можливе утворення двох водневих зв'язків між карбонільною і гідроксильною групами хронону і шарнірним регіоном кінрази. Хромоновий гетероцикл у цьому положенні оточений

гідрофобними залишками Leu484, Leu630, Phe489 і Ala512. Фенільний радикал потрапляє в гідрофобне оточення, сформоване залишками Ala640, Ile545 і Lys514, що збільшує афінність інгібітора до FGFR1. Подібна орієнтація флавоноїдних інгібіторів спостерігається в комплексах інших кіназ: CDK6 і флавоперидолу [21], PIM1 і кверцетагеніну [22], фосфатидилінозитолкінази γ і кверцетину [23]. У всіх вищезгаданих сполук присутня 3-ОН-група в гетероциклі, яка при цьому утворює водневий зв'язок з Оксигеном основного ланцюга консервативного залишку глутамінової кислоти на шарнірному регіоні кінрази. Феніл С флавонолу в комплексах вищезазначених сполук орієнтований у середину сайту зв'язування.

Для протеїнкінази FGFR1, як і для більшості кіназ, характерна велика кількість гідро-

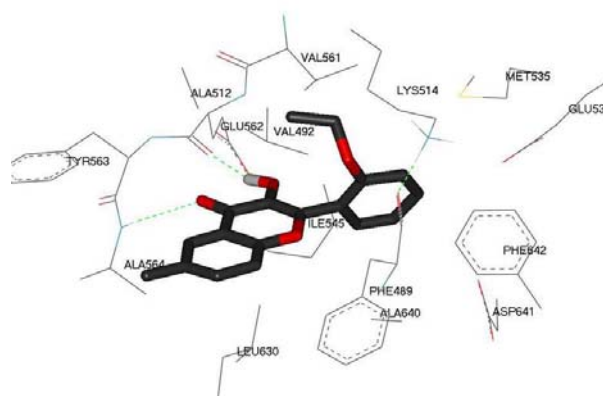


Рис. 2. Модель зв'язування флавонольних інгібіторів на прикладі сполуки **1** з АТФ-зв'язувальним сайтом FGFR1.

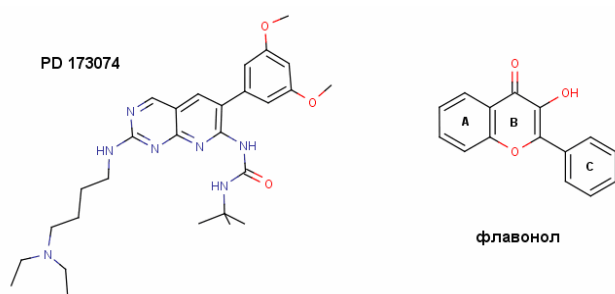


Рис. 3. Структура інгібітора FGFR1 PD 173074 і флавонолу.

фобних амінокислотних залишків у сайті зв'язування. Для багатьох інгібіторів протеїнази показано важливість гідрофобних взаємодій з амінокислотним залишком, що оточують шарнірний регіон, і в глибині сайту зв'язування для проявлення інгібіторного ефекту. У досліджених нами сполуках виявлено помітне збільшення інгібіторних властивостей при введенні в положення 6 хромонового гетероциклу гідрофобної метильної групи. З іншого боку, метильні замісники в положеннях 7 і 8 не проявляють подібного ефекту. На основі прийнятої нами моделі зв'язування припускається, що в положенні 6 хромонону невеликі за розміром гідрофобні групи потрапляють в енергетично вигідне гідрофобне оточення бічних ланцюгів амінокислотних залишків Leu484 і Tyr563 активного центру. Водночас метильний замісник у положенні 7 не має гідрофобного оточення в кишені ферменту. Метильний замісник у положенні 8 знаходиться досить близько до бічного ланцюга Phe489 і може змінювати спосіб зв'язування ліганду з кіназою. Отже, уведення гідрофобних замісників у положення 6 хромонового гетероциклу збільшує афінність флавонолів до кінازی за рахунок гідрофобних взаємодій, тоді як гідрофобні замісники в положенні 7 і 8 не мають подібного ефекту.

Для селективного інгібітора FGFR1 PD 173074 відома трьохмірна структура комплексу з кіназою [24]. Хімічна структура PD 173074 містить піридопіримідиновий гетероцикл і 3 бічні замісники, серед яких є і 3,5-диметоксифеніл (рис. 3). Дані SAR показали, що для проявлення високих інгібіторних властивостей аналогів сполуки PD 173074 необхідна наявність замісників у 2 і 6 або в 3 і 5 положеннях фенільного замісника. Водночас селективними інгібіторами FGFR1 є сполуки із замісниками в

положеннях 3 і 5 фенільного кільця, тоді як сполуки із замісниками в положенні 4 малоактивні. За даними рентгеноструктурного дослідження, в АТФ-зв'язувальному центрі FGFR1 3,5-диметоксифенільний радикал орієнтований углиб сайту зв'язування. Припускається, що 3,5-диметоксифенільна група забезпечує селективність інгібування, оскільки в гомологічних кіназах гідрофобна кишеня має дещо менші розміри і подібні радикали не можуть заповнювати її [25]. За прийнятою нами моделлю зв'язування флавонових сполук із FGFR1 у багатьох випадках орієнтація флавону в сайті зв'язування має подібний характер з орієнтацією PD 173074. Хромоновий гетероцикл займає положення, близьке до положення піридопіримідинового гетероциклу PD 173074 у комплексі з FGFR1 (FGI2). Водночас орієнтація фенілу С флавонових інгібіторів схожа на положення 3,5-диметоксифенільного замісника PD 173074. Подібні аналогії з орієнтацією фенільного замісника досліджуваної речовини і сполуки PD 173074 та її роль в селективності інгібування досить успішно підтверджено на практиці для інгібіторів класу оксіндолів [26]. Припущення про схожість положення піридопіримідину та фенілу сполуки PD 173074 з положенням хронону і фенілу флавонових сполук у сайті зв'язування FGFR1 дало змогу застосувати дані SAR, отримані на піридопіримідинових інгібіторах кінازی для оптимізації флавонольних інгібіторів.

Флавоноїдні сполуки інгібують широке коло ферментів, які містять АТФ-зв'язувальний сайт. Тому досить важливим завданням є забезпечення селективного інгібування РТК у цілому і FGFR1 зокрема. У зв'язку з цим особливу цікавість становлять замісники фенілу С, оскільки його положення за прийнятою нами позицією зв'язування з активним центром кінازی аналогічне положенню фенілу PD 173074. Сполуки з різними замісниками в цьому фенільному кільці досліджених флавонолів досить істотно відрізнялися за своєю здатністю інгібувати FGFR1. Нами показано, що сполуки з об'ємними замісниками в положенні 4' фенілу С мають слабкі інгібіторні властивості. Згідно із запропонованою моделлю зв'язування це може бути зумовлено відштовхуванням замісників у положенні 4' від карбок-

сильної групи Glu531. При цьому може порушуватися водневий зв'язок консервативного залишку Lys514 із Glu531 або водневий зв'язок гідроксильної групи хромену з Glu562. Результати докінгу показали, що флавоноли із замісниками 4' мають положення в сайті зв'язування, у якому феніл С направлений углиб сайту (рис. 1В). Але через наявність замісників 4' фенільне кільце та інгібітор у цілому не проникають так глибоко в сайт зв'язування, як за відсутності замісників у положенні 4' і, відповідно, мають менше гідрофобних контактів із кіназою в глибині сайту і шарнірному регіоні. Можливо, саме з цим пов'язана їх низька ефективність. Замісники в положенні 3' фенілу не впливають на інгібіторну активність, оскільки сполука **4**, яка має метоксигрупи 2' і 3', проявляє досить високу інгібувальну активність, водночас сполука **8** без 2' замісників є малоактивною. Найбільш ефективними виявилися замісники в положенні 2' фенільного замісника.

Метокси і етокси замісники в положенні 2' мали найменші значення IC_{50} . Уведення в положення 2' хлору дає менший ефект, тоді як ефективним замісником в позиції 2' виявився флуор. Такий ефект замісників 2', можливо, пов'язаний із гідрофобними взаємодіями із залишками Ala512, Val492, Val561 і Lys514. Не слід виключати й варіант із дзеркальною орієнтацією фенільного кільця, коли замісник 2' при ньому спрямований у протилежний бік, у такому разі гідрофобні контакти будуть утворюватися із залишками Leu630 Ala640 і Ile545. Отже, замісники у фенільному кільці флавонолів досить сильно впливають на інгібіторні властивості цих сполук. Інгібіторні властивості найбільш виражені у сполук із замісниками в положенні 2' і відсутні в сполуках із замісника-

ми 4'. У більшості випадків замісники були гідрофобними.

Таким чином, запропонована нами модель зв'язування флавонольних інгібіторів із протеїнкіназою FGFR1 підтверджується даними SAR і комплексів флавоноїдних інгібіторів та кіназ, структура яких відома за даними рентгеноструктурного аналізу.

Висновки. Досліджено інгібіторні властивості низькомолекулярних сполук класу хромену стосовно протеїнкінази FGFR1. У результаті віртуального скринінгу 3500 хроمونів для тестування було відібрано 25 флавонових сполук. Установлено, що для проявлення інгібіторної активності флавонолів проти FGFR1 необхідна наявність гідроксильної групи в положенні 3 хромонового гетероциклу, оскільки всі 6 виявлених інгібіторів FGFR1 належать до підкласу флавонолів. Досліджено вплив замісників у фенільному кільці і хромоновому гетероциклі флавонолів на ефективність інгібування FGFR1. Найвищу інгібіторну активність мали сполуки з алкоксильними та галогеновими замісниками в положенні 2' фенілу, меншу — сполуки із замісниками в положенні 3'. Сполуки із замісниками в положенні 4' не мали виражених інгібіторних властивостей. У хромоновому гетероциклі введення гідрофобних замісників у положення 6 збільшує інгібіторні властивості, а замісники в положеннях 7 і 8 не мають ефекту на інгібування кінази. Найнижче значення IC_{50} (3,6 мкМ) мала сполука 6-метил-2'-етокси-3-флавонол. Знайдений клас флавонольних сполук можна використовувати для подальшої оптимізації з метою покращення інгібіторних властивостей і селективності інгібування FGFR1.

Надійшла в редакцію 31.03.2009 р.

Search for FGFR1 inhibitors among chromone derivatives

A.A. Grischenko, V.G. Bdzholo, O.P. Kukharenko, S.M. Yarmoluk

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

Summary. Protein kinase FGFR1 plays a key role in angiogenesis regulation and tumor proliferation. Inhibitors of this kinase can be used for effective treatment of solid tumors and proliferative diseases. FGFR1 inhibitors searching were performed among 3500 chromone derivatives by virtual screening and *in vitro* testing. 6 compounds that inhibit kinase in micromolar range were detected from them. The most active compound was 2-(2-ethoxy-phenyl)-3-hydroxy-6-methyl-chromen-4-one (IC_{50} 3.6 μ M). Structure-activity relationship of tested compounds was investigated and binding model was proposed for flavonol inhibitors with FGFR1 ATP-binding site.

Keywords: protein kinase FGFR1, flavonol, virtual screening.

Перелік літератури

1. *Groth C., Lardelli M.* The structure and function of vertebrate fibroblast growth factor receptor 1 // *Int. J. Dev. Biol.* — 2002. — Vol. 46, No. 4. — P. 393-400.
2. *Beer H.D., Vindevoghel L., Gait M.J., Revest J.M., Duan D.R., Mason I., Dickson C., Werner S.* Fibroblast growth factor (FGF) receptor 1-IIIb is a naturally occurring functional receptor for FGFs that is preferentially expressed in the skin and the brain // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275, No. 21. — P. 16091-16097.
3. *Flanagan-Steet H., Hannon K., McAvoy M.J., Hurlinger R., Olwin B.B.* Loss of FGF receptor 1 signaling reduces skeletal muscle mass and disrupts myofiber organization in the developing limb // *Dev. Biol.* — 2000. — Vol. 218, No. 1. — P. 21-37.
4. *Patel N.G., Kumar S., Eggo M.C.* Essential role of fibroblast growth factor signaling in preadipocyte differentiation // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 90, No. 2. — P. 1226-1232.
5. *Wang X.H., Zhang G.P., Jin H.M., Chen S.F.* Dynamic changes in the expression of growth factor receptors in the myocardium microvascular endothelium after murine myocardial infarction // *Chin. Med. J.* — 2007. — Vol. 120, No. 6. — P. 485-490.
6. *Folkman J., and D'Amore P.A.* Blood vessel formation: what is its molecular basis? // *Cell.* — 1996. — Vol. 87. — P. 1153-1155.
7. *Raj T., Kanellakis P., Pomilio G., Jennings G., Bobik A., Agrotis A.* Inhibition of fibroblast growth factor receptor signaling attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2006. — Vol. 26, No. 8. — P. 1845-1851.
8. *Folkman J.* What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1990. — Vol. 82. — P. 4-6.
9. *Liotta L.A., Steeg P.S., Stetler-Stevenson W.G.* Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation // *Cell.* — 1991. — Vol. 64. — P. 327-336.
10. *Nugent M.A., Iozzo R.V.* Fibroblast growth factor-2 // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2000. — Vol. 32. — P. 115-120.
11. *Cohen P.* The development and therapeutic potential of protein kinase inhibitors // *Curr. Opin. Chem. Biol.* — 1999. — Vol. 3. — P. 459-465.
12. *Panek R.L., Lu G.H., Dahrting T.K., Batley B.L., Connolly C., Hamby J.M., Brown K.J.* In vitro biological characterization and antiangiogenic effects of PD 166866, a selective inhibitor of the FGF-1 receptor tyrosine kinase // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1998. — Vol. 286, No. 1. — P. 569-577.
13. *Fischer P.M., Gianella-Borradori A.* Recent progress in the discovery and development of cyclin-dependent kinase inhibitors // *Expert. Opin. Investig. Drugs.* — 2005. — Vol. 14, No. 4. — P. 457-477.
14. *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. — Vol. 93, No. 23. — P. 159-168.
15. *Fotsis T., Pepper M.S., Aktas E.* Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis // *Cancer Res.* — 1997. — Vol. 57. — P. 2916-2921.
16. *Klenke F.M., Abdollahi A., Bertl E., Gebhard M., Ewerbeck V., Huber P.E. and Skell A.* Tyrosine kinase inhibitor SU6668 represses chondrosarcoma growth via antiangiogenesis in vivo // *BMC Cancer.* — 2007. — Vol. 7. — P. 49.
17. *Ewing T.J., Makin, S., Skillman A.G., Kuntz I.D.* DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases // *J. Comput. Aided Mol. Des.* — 2002. — Vol. 15. — P. 411-428.
18. *Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J.* Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function // *J. Comput. Chem.* — 1998. — Vol. 19. — P. 1639-1662.
19. *Mohammadi M., McMahon G., Sun L., Tang C., Hirth P., Yeh B.K., Hubbard S.R., Schlessinger J.* Structures of the tyrosine kinase domain of fibroblast growth factor receptor in complex with inhibitors // *Science.* — 1996. — Vol. 276. — P. 955-960.
20. *Mohammadi M., Froum S., Hamby J.M., Schroeder M.C., Panek R.L., Lu G.H., Eliseenkova A.V., Green D., Schlessinger J., Hubbard S.R.* Crystal structure of an angiogenesis inhibitor bound to the FGF receptor tyrosine kinase domain // *EMBO J.* — 1998. — Vol. 17. — P. 5896-5904.
21. *Lu H.S., Chang D.J., Baratte B., Meijer L., Schulze-Gahmen U.* Crystal structure of a human cyclin-dependent kinase 6 complex with a flavonol inhibitor, fisetin // *J. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 48. — P. 737-747.
22. *Holder S., Zemskova M., Zhang C., Tabrizid M., Bremer R., Neidigh J.W., Lilly M.B.* Characterization of a potent and selective small-molecule inhibitor of the PIM1 kinase // *Mol. Cancer. Ther.* — 2007. — Vol. 6, No. 1. — P. 163-172.
23. *Walker E.H., Pacold M.E., Perisic O., Stephens L., Hawkins P.T., Wymann M.P., Williams R.L.* Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine // *Mol. Cell.* — 2000. — Vol. 6. — P. 909-919.
24. *Mohammadi M., Froum S., Hamby J.M., Schroeder M.C., Panek R.L., Lu G.H., Eliseenkova A.V., Green D., Schlessinger J., Hubbard S.R.* Crystal structure of an angiogenesis inhibitor bound to the FGF receptor tyrosine kinase domain // *EMBO J.* — 1998. — Vol. 17, No. 20. — P. 5896-904.
25. *Connolly C.C., Hamby J.M., Schroeder M.C., Barvian M., Lu G.H., Panek R.L., Amar A., Shen C., Kraker A.J., Fry D.W., Klohs W.D. and Doherty A.M.* Discovery and structure-activity studies of a novel series of pyrido[2,3-d]pyrimidine tyrosine kinase inhibitors // *Bioorganic & Med. Chem. Lett.* — 1997. — Vol. 7, No. 18. — P. 2415-2420.
26. *Kammasud N., Boonyarat C., Tsunoda S., Sakurai H., Saiki I., Grierson D.S., Vajragupta O.* Novel inhibitor for fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase // *Bioorg Med Chem Lett.* — 2007. — Vol. 17, No. 17. — P. 4812-4818.