

В данной работе представлены промежуточные результаты исследований, проведённых в рамках проекта по поиску и оптимизации низкомолекулярных активаторов протеинкиназы АМРК с использованием передовых методик компьютерного драг-дизайна.

АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК, англ. AMP activated protein kinase, АМРК) — клеточная протеинкиназа, осуществляющая управление энергетическим балансом клетки. Активируется при значительном потреблении энергии клетки (например, при физической нагрузке) и нарастании уровня АМФ внутри клетки. При активации АМФК происходит переход клетки в режим энергосбережения (при этом, блокируется синтез жирных кислот и запускается их окисление). АМФК представляет собой гетеротример, который включает 3 субъединицы: α , β и γ .

Терапевтическая значимость АМРК заключается в том, что она представляет собой главный регулятор энергетического баланса на клеточном уровне и на уровне организма в целом, что связывает данный белок с группой таких социально значимых заболеваний, как: сердечно-сосудистые заболевания, диабет, ожирение, метаболический синдром и даже рак.

Существует два подхода к активации АМРК:

1) Препятствование взаимодействию киназного (KD) и автоингибиторного (AID) доменов: включает в себя применение не только методов традиционного виртуального скрининга методом молекулярного докинга по выбранной области, но и моделирование полной структуры белка. Одна из актуальных проблем исследования – отсутствие данных о полноразмерной структуре альфа-субъединицы белка АМРК. Все известные структуры, построенные на данных РСА и ЯМР, дают лишь частичные сведения о структуре белка. Причиной тому служит наличие ряда доменов с высокой конформационной вариабельностью, которые не позволяют представить полную трёхмерную структуру белка. Для устранения данной проблемы, была разработана модель протеинкиназы, которая «собрана» из нескольких частей белка с оптимальной трёхмерной структурой (см. рис.3). Построенная модель позволила определить основные точки взаимодействия KD/AID доменов и тем самым создать идеализированную модель связывания на ключевых участках взаимодействия, на основе которого разрабатывается активатор, способный эффективно препятствовать взаимодействию доменов (см. рис.1) и тем самым осуществляющий активацию АМРК.

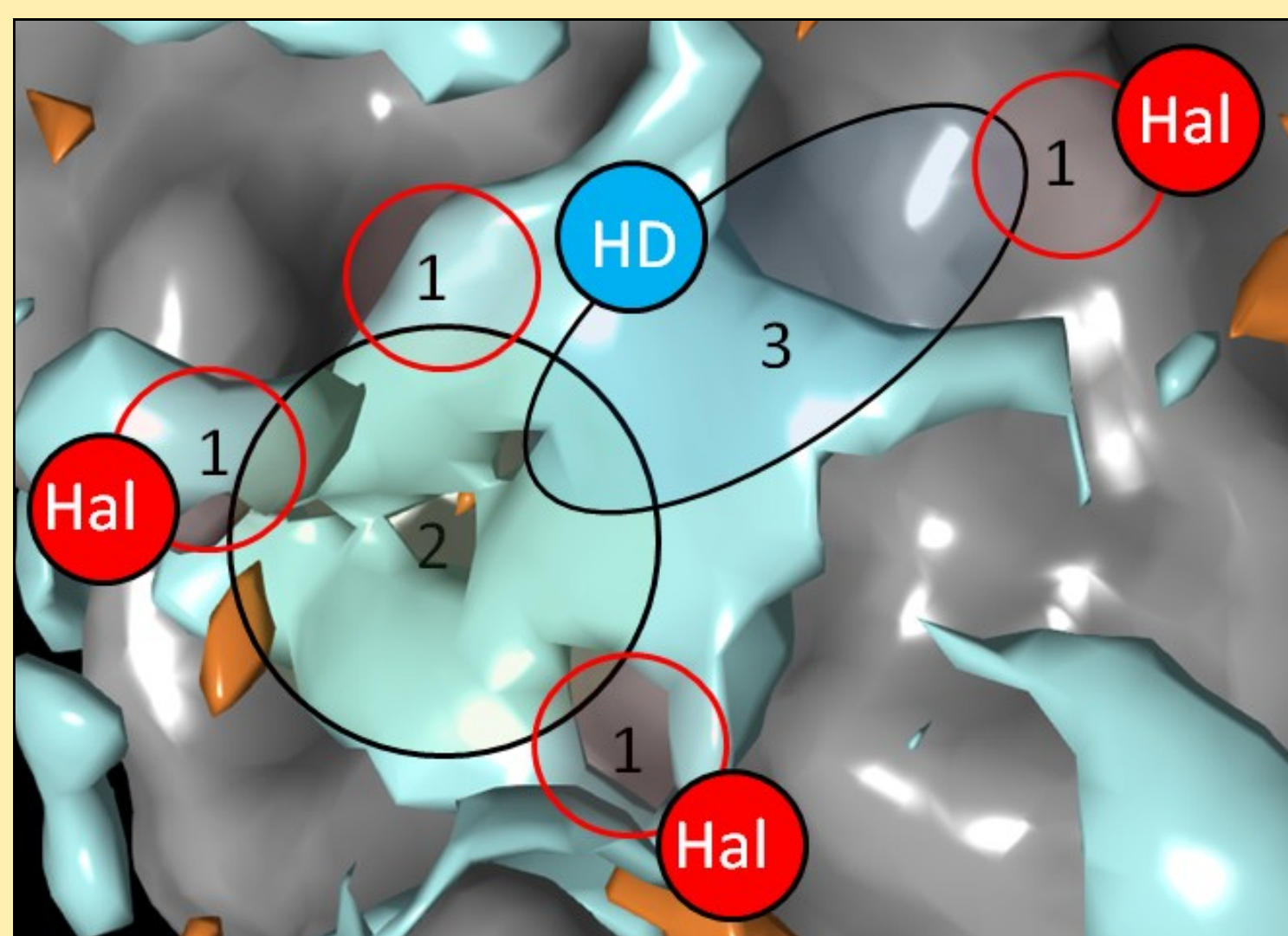


Рис.1: Модель ингибитора KD/AID, 1 – зона гидрофобных взаимодействий с возможностью стеккинг-взаимодействий, 2 – зона установки линкера или скаффолда, 3 – зона гидрофильных взаимодействий. HA/HD – акцептор/донор водородной связи, Hal – атом галогена.

2) Связывание активатора с АМФ-связывающим участком АМРК является наиболее естественным методом активации киназы. Исходный профиль взаимодействия АМФ с активирующим сайтом связывания вносит существенные ограничения на подбор эффективного миметика. Так, ключевым ограничением является малый размер соединения и необходимость сочетания гидрофильных и гидрофобных свойств различных заместителей в одной молекуле. Все перечисленные факторы были использованы как предварительное условие для построения первичной выборки химических структур. Поиск активных соединений реализован в среде двух программ (Schrodinger Glide, CCDC GOLD) с целью применения различных алгоритмов поиска (GOLD использует функцию оценки сродства основанную на силовых полях, Glide - на силовых полях OPLS2005 и данных об экспериментальной активности отдельных функциональных групп). На основе результатов докинга (~350К структур) по ряду моделей АМРК была сформирована идеализированная модель взаимодействия миметика с АМФ-связывающим сайтом АМРК (см. рис.2, рис.4).

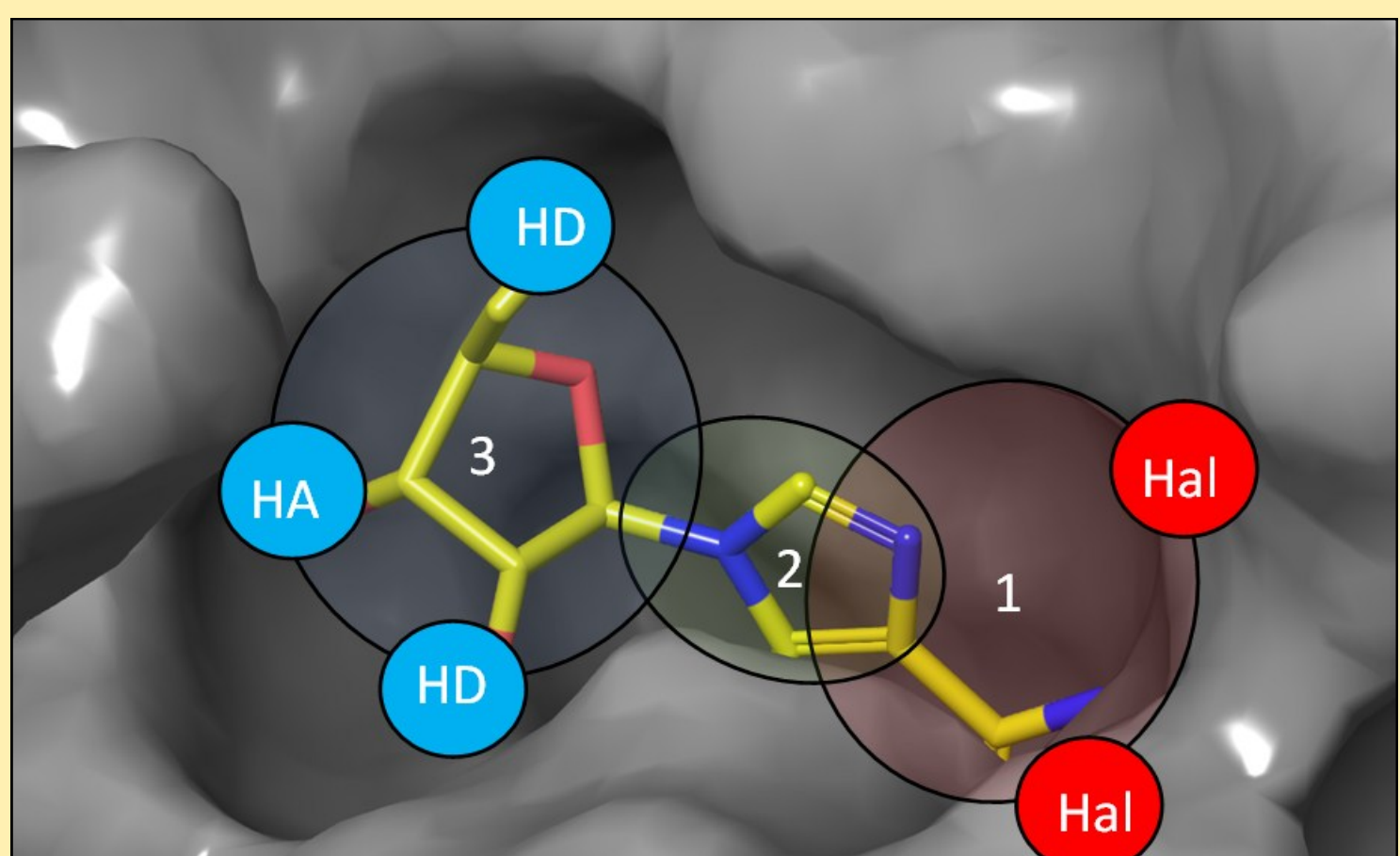


Рис.2: модель миметика АМФ, 1 – зона гидрофобных взаимодействий с возможностью стеккинг-взаимодействий, 2 – зона установки линкера или скаффолда, 3 – зона гидрофильных взаимодействий. HA/HD – акцептор/донор водородной связи, Hal – атом галогена.

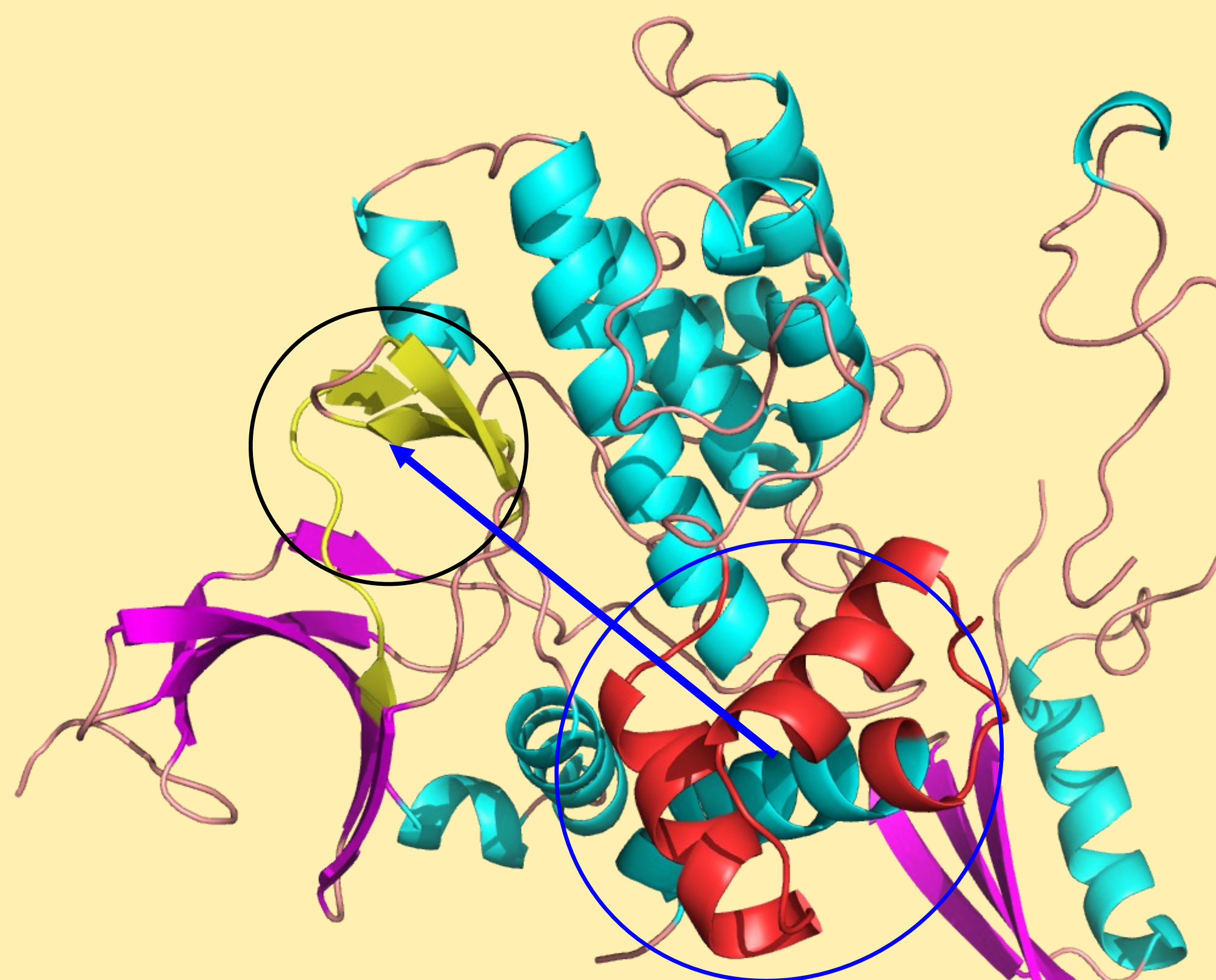


Рис.3: Химерная модель АМРК построенная на базе моделей PDB. Красным выделен подвижный автоингибиторный домен (AID), жёлтым - киназный (KD). Расчётная траектория движения обозначена стрелкой.

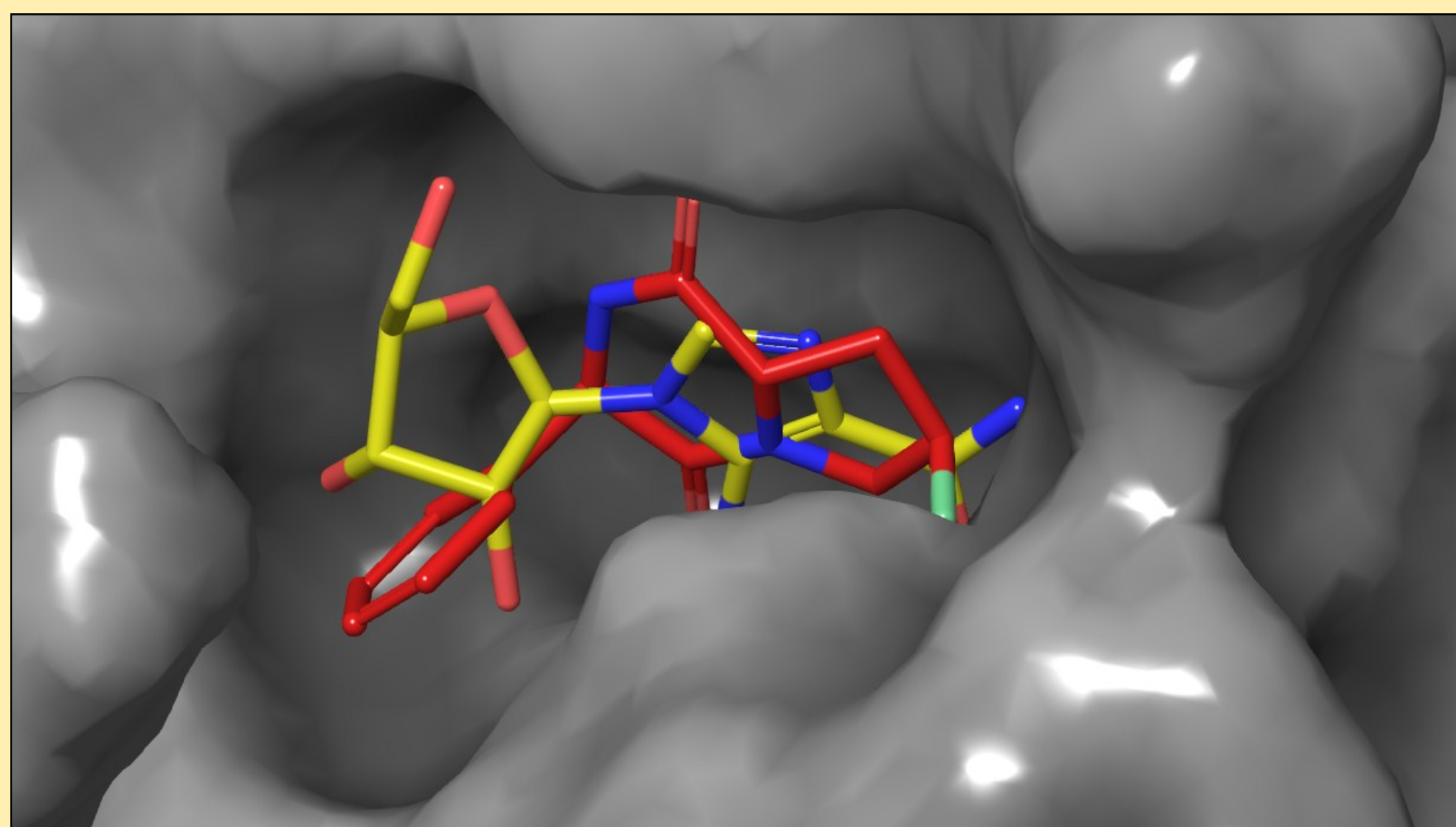


Рис.4: Взаимодействие разрабатываемого миметика с АМФ-связывающим участком: жёлтый - активатор с подтверждённой активностью, красный - исследуемый миметик.

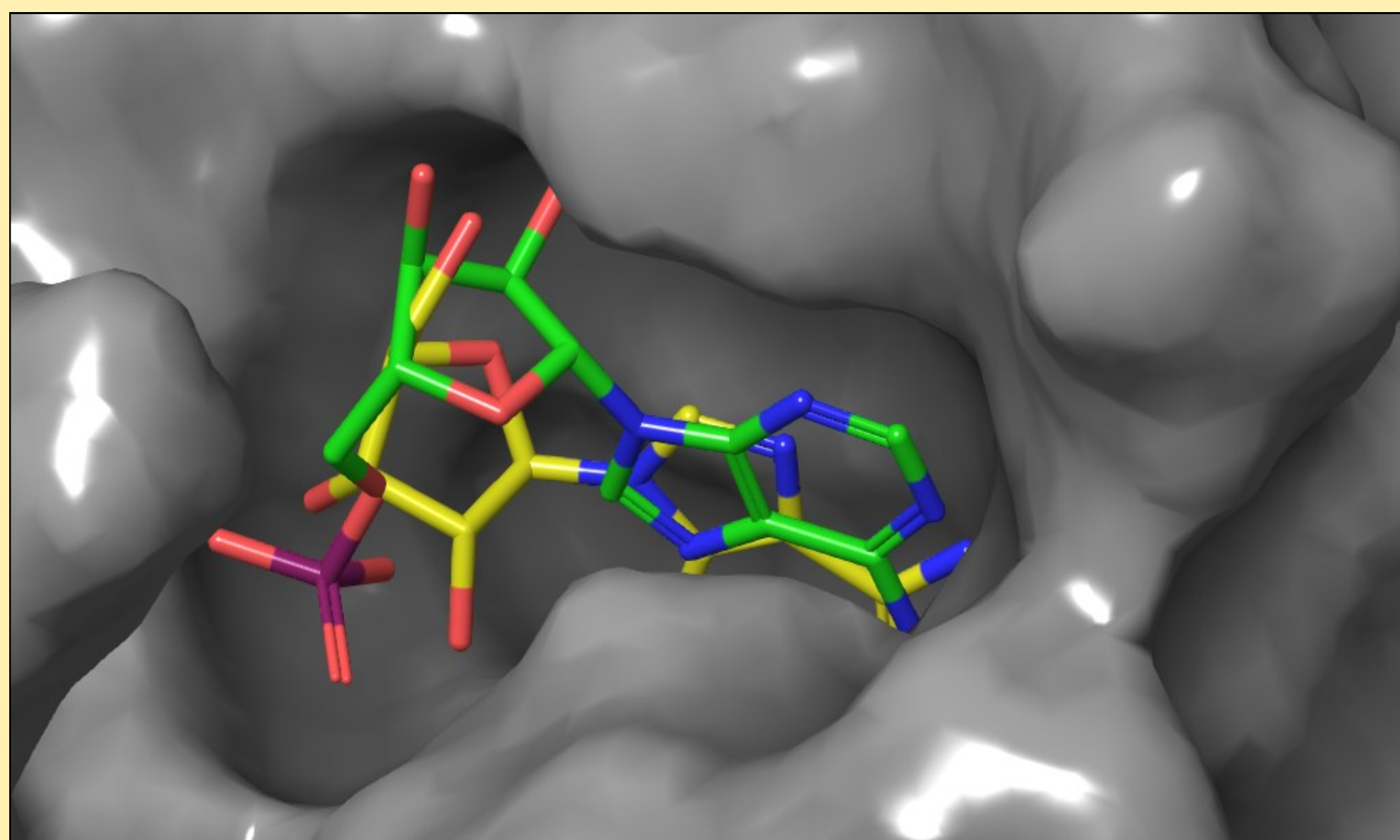


Рис.5: Укладка миметика в АМФ-связывающем участке АМРК: зелёный - АМФ, жёлтый - активатор АМРК имитирующий молекулярный свойства АМФ.