

## РОЗРОБКА НОВИХ ІНГІБІТОРІВ СК2 ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДІВ КОМП'ЮТЕРНОГО МОДЕЛЮВАННЯ, КОМБІНАТОРНОЇ ХІМІЇ ТА ТЕСТІВ *IN VITRO*

Остринська О. В.\*, Кухаренко О. П., Бджола В. Г., Баланда А. О., Котей І. М.,  
Брюховецька Н. В., Ярмолюк С. М.

\*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, sovetova@bigmir.net

Протеїнкіназа СК2, що належить до родини серин/треонінових протеїнкіназ є важливою ланкою багатьох сигнальних шляхів клітини і контролює практично всі сторони клітинного метаболізму. СК2 часто задіяна в різних патологічних процесах. Ця кіназа є одним з ключових факторів пухлиноутворення, так аномально високий рівень експресії СК2 характерний для таких типів пухлин, як аденокарцинома легень, рак молочної залози, простати, мозку й нирок, меланома і колоректальна карцинома [1]. СК2 бере участь у формуванні нейрофібрилярної сітки під час розвитку хвороби Альцгеймера [2], є ключовою молекулою, що визначає розвиток гломерулонефриту [3], задіяна в запальних і аутоімунних захворюваннях, гіпертрофії серця. Відіграє роль у прогресуванні ретиальної неоваскуляризації під час діабету [4]. Таким чином, СК2 є потенційною мішенню для створення препаратів, що можуть бути використані в медичній терапії. Цими препаратами можуть бути інгібітори СК2. Тому, мета роботи полягала в пошуку низькомолекулярних інгібіторів кazeїнкінази 2 людини.

Для пошуку низькомолекулярних інгібіторів ми використали рецепторно-орієнтований віртуальний скринінг. Даний підхід дає змогу обчислювати вільні енергії всіх можливих варіантів взаємодій між рецептором та лігандами і, як наслідок, передбачати та прогнозувати біологічну активність сполук. На початковому етапі дизайну інгібіторів проведено докінг комбінаторної бібліотеки низькомолекулярних органічних сполук багатьох хімічних класів. Програмою DOCK була розрахована енергія взаємодії сполук із АТФ-зв'язувальним сайтом протеїнкінази СК2. Для подальшого тестування, як перспективні сполуки було відібрано речовини саме з класу тієно[2,3-d]піримідинів (загальна формула показана на Рис. 1).

Аналіз *in silico* комплексів СК2 з похідними тієно[2,3-d]піримідинів показав, що сполуки цього класу мають просторову і хімічну спорідненість до АТФ-зв'язуючого сайту кazeїнкінази 2 (Рис. 2). Встановлено, що стабілізації сполук в комплексі з СК2 сприяє наявність водневих зв'язків з амінокислотними залишками кінази та гідрофобні взаємодії між інгібіторами і амінокислотними залишками (Leu45, Val53, Val56, Val116, Ile174, Trp176) активного центру кінази.

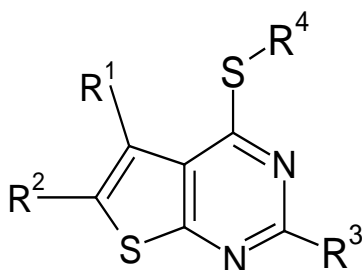


Рис. 1. Загальна формула сполук похідних класу тієно[2,3-d]піримідинів.

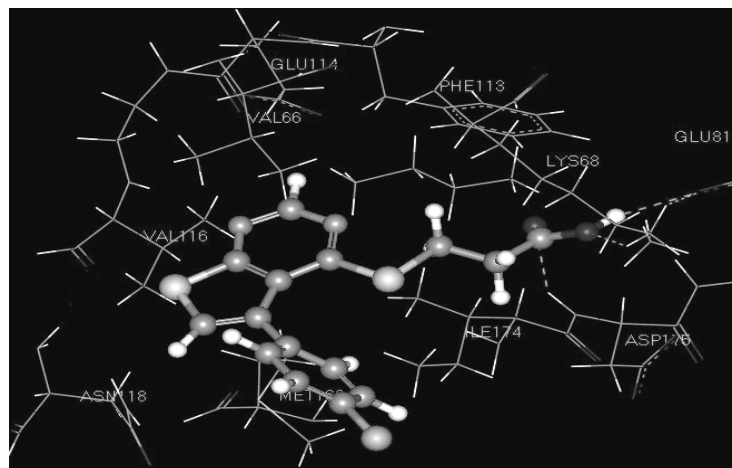


Рис. 2. Сполука 6-(4-хлоро-феніл)-4-пропілсульфаніл-3,4-дигідро-тієно[2,3-d]піримідин в АТФ-зв'язувальному сайті СК2. Модель комплексу отримана методом молекулярного докінгу.

Для перевірки активності *in vitro* було синтезовано 27 відібраних сполук. В результаті біологічних тестів (кіназна реакція з застосуванням рекомбінантного очищеного білку кінази та її субстрату) виявилось, що 18 з 27 сполук з класу тієно[2,3-d]піримідинів пригнічують активність ферменту при концентрації інгібітора 20  $\mu\text{M}$  більше ніж на 50% ( $\text{IC}_{50} < 20 \mu\text{M}$ ). Найбільш активною виявилась сполука 4-пропілсульфаніл-6-р-толіл-3,4-дигідро-тієно[2,3-d]піримідин ( $\text{IC}_{50}=50 \text{ nM}$ ).

Встановлено залежність «хімічна структура – біологічна активність» тієно[2,3-d]піримідинів. Замісник  $\text{R}^4$  має найбільший вплив на активність сполук, оскільки утворює водневі зв'язки з амінокислотними залишками АТФ-зв'язувального центру кінази. Показано, що здатність сполук до інгібування протеїнкінази CK2 при варіації  $\text{R}^4$  зменшується в ряду:  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} > \text{CH}_2\text{COOH} > \text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOH} > \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} = \text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{COOH}$ .

Біологічні тести показали, що варіація замісника  $\text{R}^1$ , що приймає участь у створенні гідрофобних взаємодій в активному сайті ферменту, також значно впливає на активність тієно[2,3-d]піримідинів. При порівнянні активних сполук із різними замісниками  $\text{R}^1$ , за умови, що  $\text{R}^4 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  виявлено залежність, яка показує, що здатність сполук інгібувати ферментативну активність CK2 збільшується в ряду:  $4\text{-FC}_6\text{H}_5 < 3,4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4 = 4\text{-C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4 < 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_5 = 4\text{-ClC}_6\text{H}_5$ . Отже, із збільшенням гідрофобності  $\text{R}^1$  збільшуються інгібіторні властивості сполуки в цілому.

В результаті роботи отримано нові високо ефективні інгібітори CK2 з наномолярними активностями. Отримані результати свідчать про перспективність тієно[2,3-d]піримідинів для розробки нових ефективних інгібіторів CK2, як потенційних терапевтичних препаратів.

1. Tawfic S., Yu S., Wang H., Faust R., Davis A., Ahmed K. Protein kinase CK2 signal in neoplasia // *Histol. Histopathol.* - 2001. - Vol. 16. - P. 573-582.
2. Raftery M., Campbell R., Glaros E.N., Rye K.A., Halliday G.M., Jessup W., Garner B. Phosphorylation of apolipoprotein\_E at an atypical protein kinase CK2 PSD/E site in vitro // *Biochemistry.* - 2005. - Vol. 44, No. 19. - P. 7346-7353.
3. Yamada M., Katsuma S., Adachi T., Hirasawa A., Shirojima S., Kadowaki T., Okuno Y., Koshimizu T., Fujii S., Sekiya Y., Miyamoto Y., Tamura M., Yumura W., Nihei H., Kobayashi M., Tsujimoto G. Inhibition of protein kinase CK2 prevents the progression of glomerulonephritis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* - 2005. - Vol. 102, No. 21. - P. 7736-7741.
4. 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 // *Am. J. Pathol.* - 2006. - Vol. 168, No. 5. - P. 1722-1736.

## ВЕРХНЯЯ ОЦЕНКА ОДНОЭТАПНОЙ ЗАДАЧИ ОПТИМИЗАЦИИ С МЯГКИМИ ОГРАНИЧЕНИЯМИ

Островский Г.М., Зиятдинов Н.Н., Лаптева Т.В., Первухин Д.Д.

Казанский государственный технологический университет, nnziat@yandex.ru

Необходимость в решении оптимизационной задачи возникает как при создании новых технических систем (ТС), так и при диверсификации имеющихся. Часто оптимизация производится в условиях частичной неопределенности исходных данных. Источником неопределенности может быть неточность (например, ошибки при вычислении коэффициентов) математической модели или неполнота (например, параметры сырья изменяются в некотором диапазоне относительно средней величины) исходной информации. Необходимость учета неопределенности в исходной информации вносит изменения в постановку задачи.