

СКРИНИНГ ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ ДЛЯ НОВЫХ БЕЛКОВЫХ МЕТОК И ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ НЕПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КАТЕПСИНОВ

Фалетров Я.В.^{1,2}, Яковец П.С.², Шкуматов В.М.^{1,2}

¹НИИ физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь;
²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.

Цистеин – уникальная протеиногенная аминокислота с сильно нуклеофильной тиольной группой. Из-за относительно редкого содержания в белках и участия в различных каталитических процессах модификация белков остатком цистеина широко используется для изучения структуры и функций таких белков, имитации посттрансляционных модификаций, протеомики и дизайна ковалентных ингибиторов. Известно, что соединения с фрагментом -CH₂-Br способны быстро и селективно реагировать с тиолами. Мы синтезировали несколько таких соединений (рис. 1).

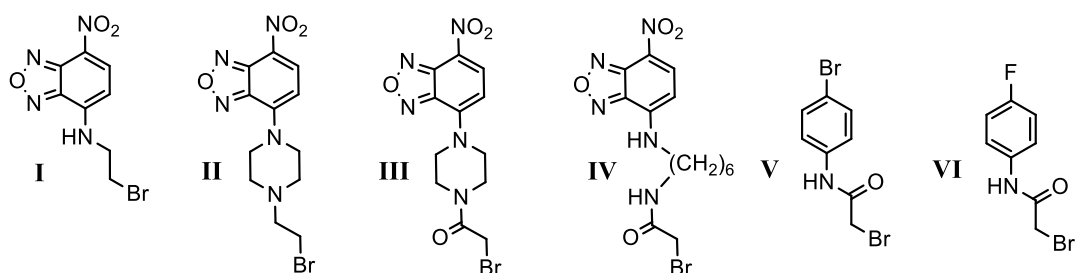


Рис. 1. Структуры рассматриваемых соединений.

Структуры соединений частично подтверждены с помощью масс-спектрометрии и ¹H-ЯМР. Соединения I-IV имеют 7-нитробензоксадиазол-4-аминную группу и, таким образом, модификация белка соединениями будет приводить к флуоресцентным конъюгатам, тогда как соединения V и IV имеют биоортогональные атомы галогена и, таким образом, их конъюгаты с белками могут иметь преимущества для анализа с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения, ЯМР ¹⁹F и ⁷⁹Br/⁸¹Br, рентгеноструктурных исследований. Для дополнительного анализа потенциала соединений в рамках подхода к поиску ингибиторов на основе фрагментов мы провели их докинг с несколькими PDB-структурами катепсинов – лизосомальных цистеиновых протеаз, рассматриваемых в качестве мишеней лекарственных средств. Используя Autodock Vina вместе со вспомогательным инструментом Fytdock, мы выявили аффинное связывание II с катепсином S (коды PDB 3n4c, 2h7j, 2op3) со значениями энергии связывания (оценка докинга) от -7,7 до -7,3 и колокализацию атома брома соединения близко к S-атому CYS25. Из-за известной способности NBD-пиперазина (фрагмента II-IV) поглощаться лизосомами предсказанная способность II открывает перспективы для экспериментальной оценки. Для оценки потенциальной возможности полученных соединений II и III вступать во взаимодействие с тиольной группой цистеинов белков нами были проведены квантово-химические расчеты с использованием Gaussian 09W и GaussView 6.0 методом Хартри-Фока с базисным набором STO-3G и моделью учета воды как растворителя CPCM. Исходя из полученной в ходе расчета величины изменения энергии Гиббса, реакция ковалентной модификации остатка цистеина возможна.

Работа выполнена при поддержке ГПНИ (Беларусь) № 20210560 и гранта Министерства образования РБ (Яковец П.С.)