

Termodynamiczny wkład wiązań halogenowych w układach białko - ligand. Projektowanie, synteza i analizy termodynamiczne modelowych systemów.

Wydarzenia ostatnich lat uzmysłowiły nam jak ważnym aspektem rozwoju farmakologii jest optymalizacja szybkości badań i możliwość szybkiego, przesiewowego, przebadania dużej ilości substancji biologicznie czynnych pod kątem działania na wybrany cel w ludzkim organizmie. Jednym z wielu kroków, które należy podjąć w procesie projektowania nowych leków jest analiza termodynamiczna oddziaływań zachodzących w mikroukładzie stworzonym przez cel terapii (najczęściej białko) oraz substancję biologicznie czynną (ligand). Jako zmiany termodynamiczne rozumiemy wszelkie zmiany związane z energią – jej zmianami i przepływem. W naturze istnieje tendencja do przybierania najbardziej korzystnej formy energetycznej przez układ, co może być wykorzystane jako motor napędowy do uzyskania pożądanego efektu wewnątrz organizmu.

Miarą zmian energii wewnątrz środowiska, w którym zachodzą reakcje chemiczne, jest energia swobodna Gibbsa (ΔG). Na podstawie jej wartości możemy przewidzieć jak będzie się zachowywał układ. Na przykład gdy wartość ΔG jest ujemna możemy mówić o reakcjach zachodzących spontanicznie i odwrotnie. Określenie ΔG jest zatem kluczowe by wykonać dokładny opis termodynamiczny proponowanego układu. Aby to zrobić, musimy określić wkład energetyczny wszystkich oddziaływań występujących pomiędzy białkiem a jego ligandem. Obecnie, przy udziale technik komputerowych, jesteśmy w stanie przewidzieć wkład energetyczny większości oddziaływań. Wyjątek stanowi wiązanie halogenowe, rodzaj oddziaływania pomiędzy atomem halogenu a elektronami dostarczonymi z zewnątrz, którego wkład do ΔG jest określany w granicach od 0.2 do 7 kcal/mol. Przy precyzyjnym wyznaczaniu energii swobodnej wiązania ligandów taka rozbieżność jest nie do przyjęcia. W tym projekcie, przy użyciu specjalnie dobranego układu białko – ligand, postaramy się dostarczyć informacji mających na celu określenie termodynamicznego wkładu wiązań halogenowych w układach białko ligand.

Jako model badawczy zastosujemy podjednostkę katalityczną kinazy kazeinowej CK2 i jej inhibitory – halogenowane pochodne benzotriazolu. Kinaza kazeinowa jest enzymem odpowiedzialnym za regulowanie szlaków metabolicznych decydujących, między innymi, o podziałach komórek lub zapobieganiu apoptozie (samobójstwie komórki wywołanym na przykład mutacjami). Podwyższone poziomy CK2 stwierdzono w wielu rodzajach nowotworów, prawdopodobnie jest ona odpowiedzialna za szybkie podziały i nadprzeciętną przeżywalność komórek nowotworowych. Inhibicja działania tego enzymu stanowi zatem obiekt zainteresowania farmakologii. Halogenowane pochodne benzotriazolu są inhibitorami kompetycyjnymi kinazy CK2 i ze względu na prostą strukturę zawierającą do czterech możliwych halogenów, są idealne do naszych badań.

W strukturach krystalograficznych otrzymanych dla CK2 i bromowanych pochodnych benzotriazolu zidentyfikowano wiele rodzajów oddziaływań pomiędzy ligandem a białkiem. Poza wiązaniami halogenowymi i mostkami solnymi widoczne były różne pozycje wewnątrz białka przyjmowane przez ligand, wyraźny wpływ miała również hydrofobowość cząsteczek. Wprowadzenie bromów do struktury powoduje, że cząsteczka chce uciec z wodnego otoczenia do hydrofobowej części białka. Przy tak wielu zmiennych niemożliwym jest określenie wkładu wiązania halogenowego do ΔG . W tym projekcie postaramy się zmniejszyć ilość występujących zmiennych poprzez zastosowanie odpowiednich ligandów i białka. Zastosowany przez nas wariant α' dla podjednostki katalitycznej CK2 (hCK2 α'), według struktur krystalograficznych, nie wykazuje multipozycyjności ligandów wewnątrz centrum aktywnego. Specjalnie zsyntezowane ligandy, będące jednakowo hydrofobowe, różniące się jedynie rodzajami podstawionych halogenów, eliminują zmiany hydrofobowości i elektrostatyki. Struktury krystalograficzne dostarczone nam przez Uniwersytet w Kolonii wykazały, że związki, które wybraliśmy do analizy wiążą się z hCK2 α' w dokładnie ten sam sposób pomimo różnych wzorów halogenacji. Wyznaczając energię swobodną wiązania ligandów dla takich układów, przy jedynej zmiennej opisującej układ wiązań halogenowych, będziemy w stanie określić wkład każdego pojedynczego wiązania w ΔG , czyniąc opis termodynamiczny układów biologicznych znacznie bardziej kompletnym.