

MOGUĆE TREĆE VEZNO MJESTO U ACETILKOLINESTERAZI ZA NOVE INHIBITORE

POTENTIAL THIRD BINDING SITE OF ACETYLCHOLINESTERASE FOR NOVEL INHIBITORS

Nikola Maraković, Goran Šinko, Zrinka Kovarik

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada; Ksaverska c. 2; HR – 10000; Zagreb
nmarakovic@imi.hr

Uloga acetilkolinesteraze (AChE; E.C. 3.1.1.7) u patologiji neurodegenerativnih bolesti poput miastenije gravis, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti potaknula je razvoj velikog broja reverzibilnih inhibitora ovoga enzima. Prostor interakcije AChE i njezinog supstrata, ali i drugih liganada, određen je s 14 visoko konzerviranih aminokiselina koje se protežu duž 20 Å dubokog i oko 5 Å širokog aktivnog mjesta. Aktivno se mjesto sastoji od katalitičkog mjesta koje se nalazi pri dnu aktivnog mjesta i perifernog alosteričkog mjesta (Tyr72, Tyr124, Trp286) na rubu otvora aktivnog mjesta. Katalitičko se mjesto sastoji od tri domene: katalitičke trijade (Ser203, His447, Glu334) s oksianionskom šupljinom (Gly121, Gly122, Ala 204), kolinskog mjesta (Trp86, Tyr337, Phe338) i acilnog džepa (Phe295, Phe297). Reverzibilni inhibitori AChE mogu se vezati ili u kolinsko mjesto, koje je predviđeno za stabilizaciju pozitivno nabijenog dijela supstrata, ili u periferno mjesto enzima. Neki inhibitori, poput donepezila ili dekametonija, mogu istodobno stvarati interakcije s kolinskim i perifernim mjestom. U ovom radu istražena je mogućnost postojanja trećeg veznog mjesta. Proučavanjem kristalnih struktura kompleksa AChE i raznih liganada pohranjenih u proteinskoj bazi podataka (PDB – engl. Protein Data Bank) kao moguće treće vezno mjesto identificiran je prostor kojeg omeđuju aminokiseline katalitičke trijade i oksianionske šupljine. Predviđanjem mogućih interakcija definirane su i strukturne karakteristike novih reverzibilnih inhibitora koji bi istodobno stvarali interakcije s kolinskim i perifernim mjestom te aminokiselinama trećeg veznog mjesta. Računalnom metodom molekulskog pristajanja (engl. molecular docking) 125 računalno dizajniranih struktura smješteno je u kristalnu strukturu ljudske AChE (PDB code 1B41). Kao aminokiseline trećeg veznog mjesta identificirane su Ser203, Gly121 i Gly122 koje preko svojih –OH skupina (Ser203) i N atoma (Gly121, Gly 122) ostvaruju vodikove veze s odgovarajućim dijelovima strukture inhibitora. Između računalno dizajniranih struktura izabrane su one koje ostvaruju navedene interakcije te je njihov afinitet vezanja predviđen tzv. ocjenjivačkim funkcijama (engl. scoring functions; -PLP2, -PMF, -PMF04, Jain, LigScore1_Dreiding). Na taj su način dobiveni mogući novi reverzibilni inhibitori AChE koji se s visokim afinitetom mogu istodobno vezati u tri navedena vezna mjesta.