

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и энергетики

(наименование института полностью)

Центр медицинской химии

(наименование)

04.03.01 Химия

(код и наименование направления подготовки, специальности)

Медицинская и фармацевтическая химия

(направленность (профиль) / специализация)

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА (БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)

на тему Панельный докинг ингибиторов киназ

Студент

В.О. Чикалкин

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

А.С. Бунев

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

Аннотация

Целью данной работы стало создание киназной виртуальной панели для докинга и виртуального скрининга различных соединений. Киназы являются важнейшим элементом многих сигнальных путей в клетке и регулируют широкий спектр клеточных функций, в том числе апоптоз и пролиферацию.

Данная панель призвана служить мощной и качественной основой для дальнейших скрининговых кампаний Центра медицинской химии. В рамках данной работы необходимо было идентифицировать механизм цитотоксичности соединений, обладающих анти-ММ активностью.

В литературном обзоре описаны подходы к компьютерному дизайну лекарств, молекулярному докингу, типы и способы проведения виртуального скрининга и, в частности, панельного докинга. Большое внимание уделено публикациям по данной теме за последние 10 лет.

В экспериментальной части описана методика проведенных расчетных исследований, заключающаяся в подборе кристаллических структур, загрузке этих структур в программу Maestro (программный пакет Schrodinger Suite), подготовке структур, а также в нативном и молекулярном панельном докинге.

На основе проделанной работы были сделаны выводы об истинном механизме цитотоксичности. Установлены мишени, обуславливающие данный эффект на клетках ММ-человека.

Работы изложена на 55 страницах, содержит 7 таблиц, 14 рисунков и приложение.

Abstract

The title of the graduation work is “Panel docking of kinase’s inhibitors”. The aim of this work is to development and construct of kinase virtual docking panel in Schrödinger Suite software and the panel docking of a virtual library of antimyeloma agents aimed at identifying the mechanism of their cytotoxic effect.

The object of the diploma paper is inverse virtual screening as an universal approach to search for targets of cytotoxicity, off-target binding, and preventing potential side effects. The subject of the diploma paper is a panel docking of library of antimyeloma agents. The graduation work consists of an explanatory note, tree base parts, including 55 pages, 14 figures, 7 tables, a list of 64 references, 63 of which are foreign sources.

The first part describes the base methods of the computer aided drug design, including scoring functions, molecular docking, virtual screening, inverse virtual screening.

The second part describes the methodology of search of target crystallographic structures, their preparation, native docking and validation. This part also describes panel validation methods, ligand preparation protocols, and panel docking results. The results of this screening did not identify kinases as targets of toxicity in the study library. For this reason, additional molecular docking into Cereblon complexes was carried out, since all compounds are potential ligands of this protein.

The third part consists of all formal docking protocol details, such as type of scoring functions and force field, some information about docking precision etc.

Based on the data obtained, we can conclude that a powerful panel docking platform has been successfully created. This panel has been approved by validation docking assay and can be used in further studies of Medicinal chemistry center.

Содержание

Введение	7
1 Литературный обзор.....	9
1.1 CADD – in silico дизайн лекарств.....	9
1.1.1 SBDD – дизайн лекарств, основывающийся на структуре	9
1.1.2 LBDD – дизайн лекарств, основывающийся на лиганде.....	21
1.2 Реальные кейсы	23
1.2.1 Панельный докинг.....	24
2 Результаты и их обсуждение	31
2.1 Сборка киномной панели.....	31
2.1.1 Выбор и подготовка мишеней	32
2.1.2 Валидация панели	33
2.2 Панельный докинг.....	39
3 Экспериментальная часть	44
3.1 Подготовка белковых молекул	44
3.2 Подготовка лигандов.....	44
3.3 Молекулярный докинг	45
3.3.1 Нативный докинг.....	45
3.3.2 Панельный докинг.....	45
Заключение	46
Список используемых источников.....	47
Приложение А.Результаты нативного докинга.....	55
Приложение Б.Результаты валидации.....	67
Приложение В.Результаты панельного докинга.....	75

Определения, обозначения и сокращения

В данной работе используются следующие термины с соответствующими определениями:

АТФ	аденозинтрифосфат
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
BRAF	серин/треониновая протеинкиназа быстро прогрессирующей фибросаркомы В (B-Raf)
CDK	циклинзависимая киназа
CHEK/Chk2	киназа контрольной точки 2
COX1	субъединица 1 цитохром С оксидазы
CRBN	белок цереблон
DDB1	белок, связывающий повреждения дезоксирибонуклеиновой кислоты 1
EEF1A	фактор элонгации трансляции эукариот 1-а
ERK	внеклеточная регуляторная киназа
FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
FLT	рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста
HIV-1	протеаза 1 вируса иммунодефицита человека
IKZF1	содержащий домен цинкового пальца белок Икарос, связывающий дезоксирибонуклеиновую кислоту
МАРК	митоген-активируемая протеинкиназа

MM	множественная миелома
PPAR	рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами
RMSD	среднеквадратичное отклонение атомных координат
RSA	рентгеноструктурный анализ
RTK	рецепторная тирозиновая протеинкиназа
ST/TK	серин/треониновая/тирозиновая протеинкиназа
STK	серин/треониновая протеинкиназа
TK	тирозиновая протеинкиназа
TKL	мелок, подобный тирозиновым протеинкиназам
vdW	ван-дер-Ваальсовы взаимодействия
ZF	домен цинкового пальца

Введение

Методы *in silico* дизайна лекарств в настоящий момент являются важнейшим этапом практически любого проекта в области медицинской химии [1].

Молекулярный докинг - один из фундаментальных инструментов компьютерной химии – представляет собой способ молекулярного моделирования, позволяющий предсказать конформацию связывания малой молекулы в активном сайте белковой мишени и определить энергию их взаимодействия с помощью скоринговой функции [10].

Методология энергетического скоринга и молекулярной стыковки лежит в основе виртуального скрининга (VS) – *in silico* альтернативы *in vitro* высокопроизводительного скрининга (HTS) [25].

VS дешевле, проще и быстрее своего классического аналога. К тому же позволяют охватить гораздо большее химическое пространство скринируемых соединений. Безусловно, *in silico* вычисления все еще не могут продемонстрировать должный уровень точности и воспроизводимости, однако повсеместно используются в качестве хорошего дополнения к методам *in vitro* [25].

Потребность в скрининге виртуальной библиотеки соединений не на одной мишени, а на некоторой группе – панели – позволяет удовлетворить иную методология – обратный виртуальный скрининг (IVS), также именуемый панельным докингом [26, 27].

IVS используется для идентификации нецелевых взаимодействий биоактивного агента и может позволить предсказать нежелательные токсические и побочные эффекты или обеспечить новое направление для развития какого-либо соединения [49, 59].

Цель работы:

Сборка виртуальной панели протеинкиназ и проведение на ее основе панельного докинга библиотеки соединений, обладающих анти-ММ активностью, с целью идентифицировать механизм их цитотоксичности.

Задачи:

- подбор и ранжирование мишеней; подготовка белковых комплексов и финальная проверка качества структур с помощью нативного докинга;
- подготовка стандартной библиотеки и проведение валидации панели;
- проведение панельного докинга исследуемых соединений;
- анализ результатов панельного докинга.

1 Литературный обзор

Одним из подходов, используемых для повышения эффективности, снижения количеств неудач и стоимости разработки новых лекарственных средств является использование методов дизайна лекарственных средств *in silico*, в которых для идентификации мишеней или биоактивных структур, дальнейшего дизайна и оптимизации используется широкий инструментарий методов вычислительной компьютерной химии. CADD (Computer-aided drug design) - это процесс разработки новых лекарственных средств, в котором все этапы проектирования и анализа выполняются компьютерными программами, управляемыми медицинскими химиками [1].

1.1 CADD – *in silico* дизайн лекарств

Стратегии для CADD могут варьироваться в зависимости от того, какая информация о мишени или лиганде доступна. На ранней стадии процесса разработки в зависимости от наличия информации о протеинах-таргетах или уже известных биоактивных соединениях выбирается та или иная стратегия дизайна – SBDD (дизайн лекарств, основывающийся на структуре) – подход, основанный на известных белковых структурах, или LBDD (дизайн лекарств, основывающийся на лиганде) - методология, базирующаяся наоборот на лигандах (обычно используемая при отсутствии информации о протеине или известной кристаллической структуре) [2].

1.1.1 SBDD – дизайн лекарств, основывающийся на структуре

Когда известны трехмерные структурные данные мишеней (ферментов, белков или рецепторов), которые обычно получают экспериментально [3] или с помощью компьютерного моделирования (по гомологии) [4], методы SBDD могут визуализировать процесс связывания лигандов с мишенью и

предсказывать ключевые сайты связывания и аффинность лигандов к их макромолекулам-мишеням [5].

С начала 1990-х гг. многие лаборатории проводят полный анализ геномов организмов, таких как бактерии, дрожжи, мыши и человек. Благодаря этим усилиям в общедоступных базах данных хранится огромное количество информации. Главной задачей этих баз данных является не сколько хранение, сколько предоставление исследователям возможности сравнения нуклеотидных или аминокислотных последовательностей для выявления подобий и различий. Поскольку количество опубликованных последовательностей и объем информации о структурах быстро увеличиваются, эффективный поиск может быть выполнен лишь с использованием специализированного программного обеспечения [6].

Одна из широко известных программ такого рода является GCG [7]. Эта программа позволяет работать с несколькими базами данных, которые могут быть использованы для поиска структуры индивидуального белка или ДНК.

Центральное хранилище данных о последовательностях и функциях белков – база данных универсального белкового ресурса (Universal Protein Resource, UniProt,) [8]. В ней содержатся точно аннотированные белковые последовательности.

Наиболее важной базой данных о трехмерных структурах макромолекул является банк белковых данных (Protein Data Bank, PDB) [9] доступной через интернет. В нем содержатся атомные координаты структур белков и нуклеиновых кислот. Поскольку число экспериментально определенных структур постоянно увеличивается, база данных непрерывно обновляется. В ней возможен поиск информации по ключевым словам, таким как имя автора, название журнала или часть последовательности.

Сам процесс стыковки желаемого соединения с белком интереса называется молекулярным докинг.

1.1.1.1 Молекулярный докинг

На рисунке 1 показана визуализация процесса докиннга. Процедура стыковки в конечном итоге дает очень важную информацию об энергетической целесообразности существования комплекса лиганд-мишень с точки зрения величины свободной энергии и также о геометрической составляющей этого связывания (геометрии лиганда в сайте проетина, ключевых взаимодействиях и тд.) [10].

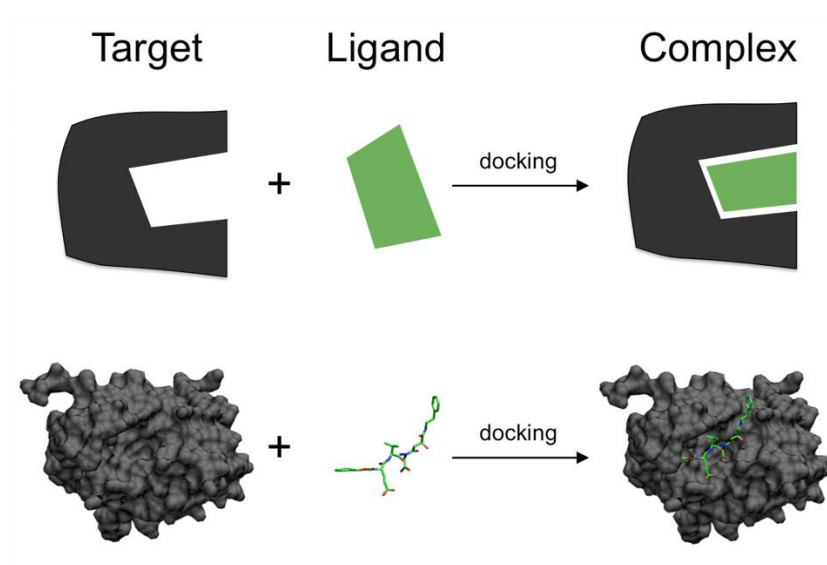


Рисунок 1 – Визуализация процесса докиннга.

Первые упоминания о молекулярном моделировании относятся к началу XX века. Появление первых удачных представлений пространственной структуры молекул связано со значительным прогрессом в области ядерной физики.

Достижения кристаллографии имели решающее значение для развития молекулярного моделирования. Сложность исследуемых кристаллических структур очень быстро возрастала, и их решение было связано с большим объемом вычислений и неадекватностью двумерного представления на бумаге. Единственной альтернативой позволяющей получить трехмерное представление структуры кристалла, оказались наборы молекулярных моделей.

Наиболее известными для них стали модели Дрейдинга, в которых были обобщены все накопленные к тому времени знания в области структурной химии. Изготовленные заранее модульные элементы, например атомы азота с правильной числом связей и углами, соответствующими состоянию их гибридизации, или ароматические остатки, сделали возможным построение почти точных практически точных пространственных моделей кристаллических структур. Размеры моделей определялись путем линейного увеличения реальных молекулярных размеров. Эти модели достаточно хорошо описывали стерические затруднения при введении заместителей, образование водородных связей и многое другое [11].

Упомянем, что перед непосредственной стыковкой требуется большое число вспомогательных операций, в том числе подготовка, уточнение и минимизация структур белка и лигандов, генерация сетки свойств рецептора и т. д [12].

Алгоритм молекулярного докинга включает в себя несколько последовательных шагов, среди которых в качестве основных можно выделить следующие:

- генерация различных конформаций лиганда;
- их стыковка в пространство сайта;
- процесс минимизации, то есть отбор наиболее низкоэнергетичных.

Более подробно предлагаем рассмотреть данную последовательность на примере стыковочного алгоритма Glide, включенного в пакет программного обеспечения Maestro SchrodingerSuite™ [12] (рисунок 2).

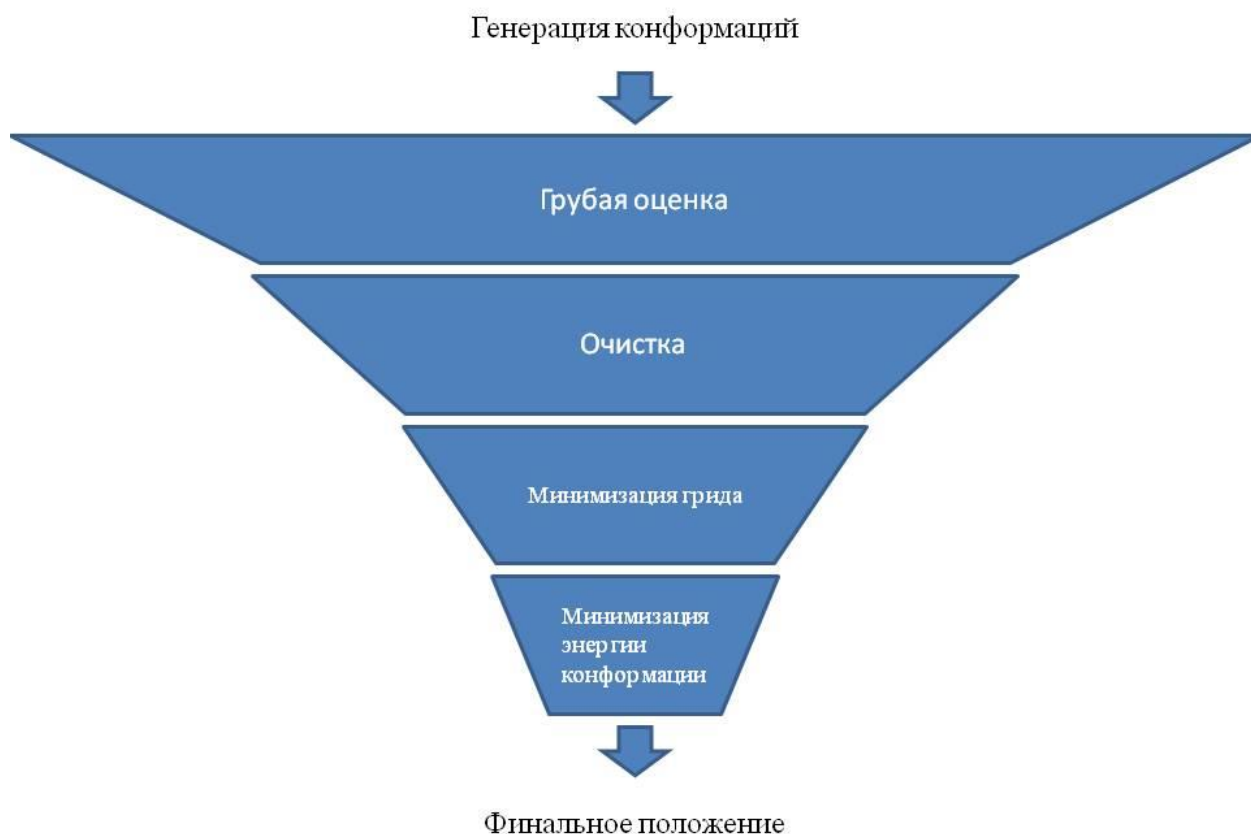


Рисунок 2 – Стыковочная воронка Glide

На первом этапе реализуется грубая оценка конформационного массива на основе полученной ранее сетки свойств заданного для докинга пространства сайта (в основном с точки зрения совместимости геометрий лигандов с доступным объемом полости скоринга); на следующих двух этапах происходит более тщательный анализ на базе данных силовых полей [12], Ван-Дер-Ваальсовых радиусов, электростатических свойств [13] с отбором ограниченного количества поз. Финальная стадия включает минимизацию энергии конформаций, реализуемую по методу Монте-Карло так же именуемого «методом случайного поиска». Этот метод имеет стохастическую природу [14]: на каждом шаге поиска рассматриваемая конформация изменяется случайным образом, превращаясь в другую.

Случайный поиск начинается с оптимизированной структуры. На каждом шаге итерационной процедуры молекуле случайным образом присваи-

ваются новые значения торсионных углов [15] или декартовых координат [16,17]. Получившаяся конформация минимизируется, и итерация повторяется вновь.

Минимизированная конформация сравнивается с предыдущими и отбирается лишь в том случае, если она уникальна. Теоретически, случайный процесс покрывает все конформационное пространство, но в действительности это происходит после длительных вычислений, поскольку вероятность обнаружить новую конформацию резко падает с ростом числа обнаруженных конформеров. Кроме того, даже при длительном расчете невозможно гарантировать полноту исследования конформационного пространства, поэтому очень важно иметь способ проверки полноты анализа. Эффективным может оказаться запуск в параллельном режиме нескольких расчетных задач с различными начальными конформациями. Если результаты одинаковы или очень близки, тогда можно предположить, что поиск был исчерпывающим. Другая мера оценки полноты исследования основана на частоте возвращения к любой из низкоэнергетических конформаций, поскольку случайный процесс такого рода обязан многократно производить это возвращение.

Главным преимуществом метода Монте-Карло является принципиальная возможность исследовать молекулы любого размера. На практике в исследованиях высокоподвижных молекул часто отсутствует сходимость результатов из-за очень большого объема соответствующего конформационного пространства. Метод случайного поиска успешно применяется для исследования молекул, содержащих циклы, поскольку циклические системы в общем случае трудно исследовать с помощью систематического поиска.

Эффективность методов случайного поиска была показана на следующем примере. Молекулу циклогептадекана изучали с использованием нескольких методов, включая методы случайного поиска [18]. Сопоставление результатов позволило выявить 262 различные конформации с минимальной энергией. Ни один из методов не позволил выявить все конформеры, одна из вариантов случайного поиска позволил найти 260 из них. Таким

образом, можно с уверенностью сказать, что методы случайного поиска могут быть крайне полезными для анализа конформационного поведения, хотя могут при этом потребовать значительного расчетного времени для обеспечения полноты покрытия конформационного пространства [19].

Математическое выражение, позволяющее оценить энергию какого-либо результата стыковки получило название «скоринговая функция». В общем случае это набор дескрипторов (энергетических терм), каждый из которых позволяет косвенно определить тот или иной вклад в энергетику позы. На формуле ниже – пример на основе оценочной функции Emodel GlideScore [12] Отправной точкой для оценки Glide является эмпирически основанная функция ChemScore [20], которая может быть записана как:

$$\Delta G_{\text{bind}} = C_0 + C_{\text{lipo}} \sum f(r_{lr}) + C_{\text{hbond}} \sum g(\Delta r) h(\Delta R) + C_{\text{metal}} \sum f(r_{lm}) + C_{\text{rotb}} H_{\text{rotb}} \quad (1)$$

где f , g и h являются функциями, которые дают полную оценку (1.00) для расстояний или углов, которые находятся в номинальных пределах, и частичную оценку (1.00-0.00) для расстояний или углов, которые находятся вне этих пределов, но внутри больших пороговые значения.

Сумма во втором члене распространяется на все пары лиганд-атом/рецептор-атом, определяемые ChemScore как липофильные, тогда как сумма в третьем члене распространяется на все взаимодействия водородных связей лиганд-рецептор. Например, $g(\Delta r)$ равно 1.00, если расстояние H,,,X водородной связи находится в пределах 0.25 Å от номинального значения 1.85 Å, но падает до нуля линейным образом, если расстояние находится между 2.10 и 2.50 Å. Точно так же $h(\Delta R)$ равно 1.00, если угол Z-H,,,X находится в пределах 30° от 180° и уменьшается до нуля между 150° и 120° [12]. Glide 2.5 использует две формы GlideScore: (i) GlideScore 2.5 SP, используемую Standard-Precision Glide; (ii) GlideScore 2.5 XP, используемый Extra-Precision Glide. Эти функции используют схожие термины, но сформулиро-

ваны с учетом разных целей. В частности, GlideScore 2.5 SP представляет собой «более мягкую», более щадящую функцию, которая хорошо подходит для идентификации лигандов, имеющих разумную склонность к связыванию, даже в тех случаях, когда поза Glide имеет значительные недостатки.

Эта версия направлена на минимизацию ложноотрицательных результатов и подходит для многих приложений для проверки баз данных. Напротив, GlideScore 2.5 XP представляет собой более сложную функцию, которая требует суровых наказаний за позы, нарушающие установленные принципы физической химии, например, заряженные и сильно полярные группы должным образом подвергаться воздействию растворителя.

Эта версия GlideScore более приспособлена к минимизации ложных срабатываний и может быть особенно полезна при оптимизации лидов или других исследованиях, в которых экспериментально рассматривается только ограниченное количество соединений, и каждое идентифицированное с помощью вычислений соединение должно иметь как можно более высокие максимально возможное качество. Далее мы обсудим разработку и параметризацию Glide 2.5 SP [21]; GlideScore 2.5 модифицирует и расширяет функцию ChemScore по формуле:

$$\Delta G_{bind} = C_{lipo-lipo} \sum f(r_{lr}) + C_{hbond-neut-neut} \sum g(\Delta r)h(\Delta a) + C_{hbond-neut-charged} \sum g(\Delta r)h(\Delta a) + C_{hbond-charged-charged} \sum g(\Delta r)h(\Delta a) + C_{max-metal-ion} \sum f(r_i) + C_{rotb}H_{rotb} + C_{polar-phob}V_{polar-phob} + C_{coul}E_{coul} + C_{vsW}E_{vsW} + solvation\ terms \quad (2)$$

где липофильно-липофильный терм определяется как в ChemScore. Терм водородной связи также использует форму ChemScore, но разделен на компоненты с разным весом, которые зависят от того, являются ли донор и акцептор нейтральными, один нейтрален, а другой заряжен, или оба заряжены. В оптимизированном скоринге функции, первый из этих вкладов оказывается наиболее стабилизирующим, а последний, заряженный член, является наименее важным.

Терм взаимодействия металл-лиганд использует ту же функциональную форму, что и в ChemScore, но различается тремя основными способами. Во-первых, этот терм рассматривает только взаимодействия с анионными акцепторными атомами (такими как любой из двух атомов кислорода карбоксилатной группы). Эта модификация позволяет Glide распознать очевидное сильное предпочтение координации функциональности анионного лиганда с металлическими центрами в металлопротеазах [22, 23].

Кроме того, Glide 2.5 подсчитывает только одно лучшее взаимодействие, когда обнаруживаются два или более лигирования металлов. Мы установили коэффициент равным -2.0 ккал/моль, значение, которое мы считаем разумным, хотя уточнение параметра предпочло бы еще более сильное отрицательное значение. В-третьих, мы оцениваем суммарный заряд иона металла в нелигированном апобелке (обычно прямо через исследование непосредственно скоординированных боковых цепей белка). Если суммарный заряд положительный, предпочтение анионному лиганду включается в функцию подсчета очков. С другой стороны, если ион является нейтральным (как, например, в случае фарнезилпротеинтрансферазы металлопротеина цинка, которая принимает нейтральные лиганды, такие как замещенные имидазолы [24]), предпочтение подавляется. Седьмой термин, полученный от Шрёдингера в системе активного картографирования, вознаграждает за экземпляры. в котором полярный, но не имеющий водородной связи атом (по классификации ChemScore) находится в гидрофобной области.

Вторым важным компонентом является включение вкладов энергий кулоновского и vdW-взаимодействия между лигандом и рецептором. Чтобы сделать энергию кулоновского взаимодействия в газовой фазе лучшим предсказателем связывания (и лучшим вкладом в составную оценочную функцию), мы уменьшили примерно на 50% суммарный ионный заряд на формально заряженных группах, таких как карбоксилаты и гуанидинии; мы также уменьшаем энергии vdW-взаимодействия для непосредственно вовлеченных атомов [24].

Третьим важным компонентом является введение модели сольватации. Как и другие функции оценки этого типа, предыдущие версии GlideScore не учитывали должным образом строгие ограничения на возможные положения лиганда, возникающие из-за требования адекватной сольватации заряженных и полярных групп как лиганда, так и белка. Заряженные группы, в частности, требуют очень тщательной оценки их доступа к растворителю. Кроме того, молекулы воды могут быть захвачены лигандом в гидрофобных карманах, что также является неблагоприятной ситуацией.

1.1.1.2 HTVS – Виртуальный скрининг

Выше уже описывались очевидные достоинства виртуального скрининга по сравнению с классическим биологическим. Повторим, что использование методов виртуального скрининга является отличной альтернативой скринингу с высокой пропускной способностью, особенно с точки зрения экономической эффективности и вероятности нахождения наиболее подходящего результата с помощью большой виртуальной базы данных [25].

Среди недостатков стоит отметить все еще недостаточную точность получаемых результатов и часто необходимость выявления корреляции с какими-либо экспериментальными данными [26-28].

Первые методы виртуального скрининга возникли в 1980-х годах, но первая публикация о нем появилась только в 1997 году [29].

Виртуальный скрининг - это технология молекулярного моделирования, используемая в процессе поиска лекарств. Во время виртуального скрининга большие базы данных известных 3D-структур автоматически оцениваются с использованием вычислительных методов [30].

Принципиально любой виртуальный скрининг представляет собой многократное повторение процедур классического молекулярного докинга [12], однако о некоторых особенностях речь пойдет ниже.

1.1.1.3 SBVS – Виртуальный скрининг на основе структуры

Виртуальный скрининг на основе структуры (SBVS), также известный как виртуальный скрининг на основе мишени (TBVS), пытается предсказать

наилучшее взаимодействие лигандов с таргетом для образования комплекса. Методы SBVS требуют, чтобы была известна трехмерная структура целевого белка, чтобы можно было предсказать взаимодействия между мишенью и каждым химическим соединением в компьютерном моделировании. В этом методе соединения выбираются из базы данных и классифицируются в соответствии с их сродством к сайту связывания [31].

Среди методов SBVS заслуживает внимания из-за его низких вычислительных затрат и достигнутых хороших результатов [32]. Этот метод появился в 1980-х годах, когда Кунц [33] разработал и протестировал набор алгоритмов, которые могли бы исследовать геометрически выполнимые выравнивания лиганда и мишени. Однако, хотя этот подход был многообещающим, он получил широкое распространение только в 1990-х годах после улучшения используемых методов в сочетании с увеличением вычислительной мощности и расширением доступа к структурным данным молекул-мишеней. Во время выполнения SBVS оцениваемые молекулы сортируются в соответствии с их сродством к участку рецептора.

Следовательно, можно идентифицировать лиганды, которые с большей вероятностью будут проявлять некоторую фармакологическую активность в отношении молекулярной мишени. Функции оценки используются для проверки вероятности наличия сайта связывания, описывающего сродство между лигандом и мишенью. В этом процессе надежная функция подсчета очков является важнейшим компонентом процесса стыковки [34].

Однако не стоит забывать, что для приемлемой скорости расчета придется принимать некоторые упрощения и допущения в самой структуре оценки [35].

Два основных параметра характеризуют эффективность протокола виртуального скрининга [36]: (i) обогащение, которое выражает вероятность идентификации активного соединения по сравнению с чисто случайным выбором, и (ii) идентификация лидера, который информирует о том, сколько

соединений необходимо подвергнуть скринингу, пока не будет идентифицирован хотя бы один представитель каждого класса активных соединений.

1.1.1.4 IVS – Обратный виртуальный скрининг

В отличие от обычного виртуального скрининга, в котором используется одна белковая мишень и библиотека низкомолекулярных лигандов, эта ситуация меняется в обратном виртуальном подходе к скринингу. Концептуально, один лиганд соединяется с множеством различных белковых мишеней. Обратный виртуальный скрининг получил некоторое внимание в недавнем прошлом из-за его потенциала для идентификации новых целевых белков для данного продукта. Эта методология основана на том факте, что белки принимают конечное число складок (~ 10000) [37] и что распознавание любого природного лиганда с малой молекулой кодируется в конкретной белковой складке посредством трехмерных конформаций малой молекулы, а также ее возможных взаимодействий с остатками белка. Поскольку низкомолекулярные натуральные продукты производятся биосинтетически в природе определенным ферментом, отпечаток взаимодействия с белками должен быть доступен из этих синтетических ферментов, и, когда он будет расшифрован, может быть использован для идентификации других целевых белков для этого конкретного натурального продукта [38, 39].

Важное применение этого подхода заключается в прогнозировании отклонений от мишеней для отдельного лиганда, что продемонстрировано обратным подходом, который идентифицировал микобактериальную еноилацил-переносящую белковую редуктазу в качестве мишени для ингибиторов катехол-О-метилтрансферазы человека [40] и проверили распознавание стауроспорина в библиотеке из примерно 6400 сайтов связывания белковых лигандов [41]. Эти исследования продемонстрировали, что концепции, применяемые в обратном скрининге, необязательно могут применять те же протоколы, что и при обычном скрининге. В обоих случаях протоколы скрининга не использовали атомарный подход [42], а представляли сайты связывания белков в виде абстрактных объектов, состоящих из трехмерных координат

атомов Са и выбранных физико-химических и геометрических свойств. Эта концепция была принята в недавно предложенной топологии белковой складки, но на сегодняшний день установлено лишь несколько примеров таких топологий, главным образом потому, что современные вычислительные методы неадекватно решают сложную проблему сходство складок в противоположность идентичности складок [39].

В то же время методология обратного виртуального скрининга, основанная на традиционных (полностью атомных) протоколах докинга, была быстро расширена для тестирования библиотек соединений с панелью целевых белков, чтобы оценить режим связывания нескольких конкретных соединений (небольшие библиотеки соединений с 20–300 молекулами), чтобы добиться снижения затрат и времени на проект по открытию лекарств. Однако, хотя этот подход концептуально прост, построение панели белков-мишеней представляет собой критический шаг, потому что мишени должны быть тщательно выбраны, если они не принадлежат одной и той же складке. Кроме того, анализ результатов является сложной задачей, и были предложены некоторые сложные стратегии постобработки [43].

1.1.2 LBDD – дизайн лекарств, основывающийся на лиганде

Стоит коротко упомянуть и о той ситуации, когда по каким-либо причинам исследователи не могут работать с трехмерной структурой белка. Такие способы дизайна лекарств получили название лиганд-ориентированных методов [44].

Наиболее популярными подходами к дизайну лекарств на основе лигандов являются метод QSAR (построения моделей на основе соотношения структура-свойство) и моделирование фармакофоров. QSAR — это вычислительный метод для количественной оценки корреляции между химическими структурами ряда соединений и конкретными химическими или биологическими процессами. Гипотеза, лежащая в основе метода QSAR, заключается в том, что сходные структурные или физико-химические свойства приводят к одинаковой активности [45, 46]. Первоначально идентифицируется группа

химических соединений или лидов, которые проявляют интересующую желаемую биологическую активность.

Установлена количественная связь между физико-химическими свойствами активных молекул и биологической активностью. Разработанная модель QSAR затем используется для оптимизации активных соединений, чтобы максимизировать соответствующую биологическую активность. Предсказанные соединения затем экспериментально проверяют на желаемую активность. Таким образом, метод QSAR можно использовать в качестве руководящего инструмента для идентификации модификаций соединений с повышенной активностью [44].

Общая методология QSAR построена на серии последовательных шагов (рисунок 3).



Рисунок 3 – Процесс методов QSAR

В начале лиганды идентифицируют с экспериментально измеренными значениями желаемой биологической активности. В идеале эти лиганды относятся к родственному ряду, но должны иметь адекватное химическое разнообразие, чтобы иметь большую вариацию активности.

Дальше идентифицируют и определяют молекулярные дескрипторы, связанные с различными структурными и физико-химическими свойствами изучаемых молекул. Потом обнаруживают взаимосвязь между молекулярными дескрипторами и биологической активностью, которые могут объяснить изменение активности в наборе данных и проверяют статистическую стабильность и предсказательную силу модели QSAR [44].

1.2 Реальные кейсы

Благодаря доступности постоянно растущего числа трехмерных белковых структур и появлению высокопроизводительных вычислительных систем, молекулярный докинг обеспечивает быструю и недорогую альтернативу экспериментальному скринингу больших библиотек соединений [47]. При молекулярном стыковке многие небольшие молекулы обычно состыкованы с данным белком, и их свободная энергия связывания оценивается с целью сократить время и усилия, необходимые для идентификации новых молекул-кандидатов в лекарственные препараты для дальнейшей разработки [48].

Расчет свободных энергий связывания упрощается с использованием различных предположений и оценивается величиной, также известной как «балл», присваиваемой стыкованным конформациям связывания [50]. Однако низкомолекулярное лекарство может взаимодействовать со многими другими белками (нецелевыми), что может оказывать значительное влияние на общую биологическую активность, эффективность и побочные эффекты лекарства.

При обратном докинге отдельная малая молекула стыкуется с набором белковых структур, что позволяет на раннем этапе прогнозировать побочные

эффекты лекарств, а также их токсичность. Таким образом, обратная стыковка играет важную роль в открытии и разработке современных лекарств.

1.2.1 Панельный докинг

Экспериментально определенные трехмерные структуры киназных доменов были извлечены из PDB. Модели визуально проверяли на наличие связанных лигандов, позиционировали и ориентировали относительно эталонного киназного домена, и из моделей удаляли все небелковые компоненты. Библиотека из 55 отдельных структур включает 48 различных киназ. *In silico* скрининг библиотеки в отношении сайта связывания АТФ 55 структур из панели киназ был проведен с использованием AutoDock Vina. Полученные оценки были проанализированы с помощью анализа гистограмм, в котором учитывались пять лучших соединений с оценками для любой киназы на основе среднего балла каждого лиганда для предсказанных поз для каждой отдельной киназы. Из этой гистограммы было идентифицировано 106 соединений, которые были подвергнуты кластерному анализу, чтобы можно было сгруппировать их на основе подобия Танимото.

Кластеризация была выполнена как для выбора стыковки «средний балл», так и для «наивысшего балла». Поскольку было обнаружено, что результаты, основанные на «среднем балле», при визуальном осмотре генерируют более структурно несходные кластеры, именно эта стратегия кластеризации использовалась при окончательной номинации конкретных кластеров для дальнейшего изучения. Получившиеся 19 кластеров с населением N 5 были оценены, и последние пять соединений были выбраны, которые (i) представляют их кластеры и (ii) предоставляют широкий спектр различных хемотипов.

1.2.1.1 Идентификация целей природных соединений

Натуральные продукты могут служить хорошей отправной точкой для открытия новых лекарств из-за многолетней истории медицинских и биологических наблюдений, исследований и открытий [49]. Замечательным инструментом в данном приложении служит панельный докинг.

До и коллеги использовали данный подход в своей работе [50] для поиска мишеней для двух натуральных соединений: ϵ -виниферин, обладающий противоопухолевым и антиоксидантным воздействием [51], и меранзин [52] (рисунок 4)

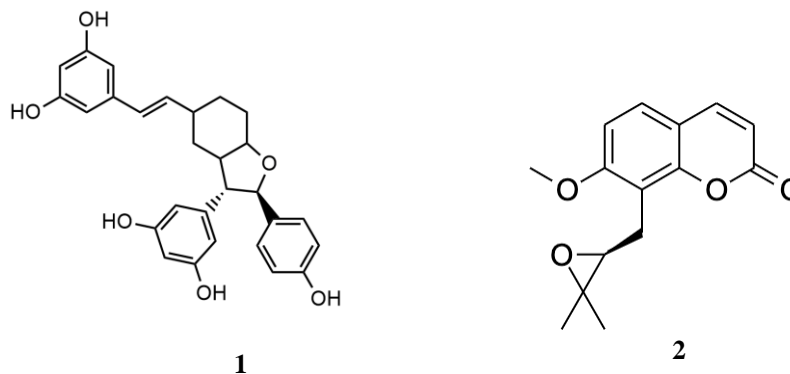


Рисунок 4 – ϵ -виниферин и меранзин

Скрининг в обоих случаях проводился на основе стыковочного движка FLex. Цель - обнаружить еще не известные мишени - была в той или иной степени достигнута: для виниферина была идентифицирована циклическая нуклеотидфосфодиэстераза 4 (PDE4), а COX1, COX2 и PPAR γ , были определены как цель для меранзина [51, 52]. Белковая панель, состоящая из 400 белков, была собрана и подготовлена вручную [50]. Результаты стыковки и расчета величин аффинности для виниферина представлены в таблице 1.

С учетом того, что в процессе стыковки авторы допускали связывание с аллостерическими сайтами, только результат для циклической фосфодиэстеразы 4D, где связывание происходит в каталитическом сайте, можно считать за удовлетворяющий задачам исследования результат.

Таблица 1 – Предсказание аффинности для Selnergy™

Соединение	Код PDB	E ₁ -E ₂ , ккал/моль	Белок
(Z)-ε-виниферин	1STP	-0.98	Стрептавидин
	4DFR	-0.82	Дигидрофолат редуктаза
	121P	-0.67	H-RAS P21 белок
	6RSA	-0.62	Рибонуклеаза
(E)-ε-виниферин	1ELA	-1.55	Эластаза
	1HVR	-1.47	HIV-1 протеаза
	1M7Q	-1.41	P38MAP киназа
	121P	-1.02	H-RAS P21 белок
	1OYN	-0.85	Фосфодиэстераза 4D

Lauro и коллеги в 2012 провели IVS небольшой библиотеки фенол-содержащих природных соединений, полученных из различных растений в панель, содержащую 163 протеина, опосредующих опухолевую активность [53]. Полученные результаты представляли собой матрицу, содержащую рассчитанные энергии связывания каждого лиганда против каждого протеина. Данные были подвергнуты некоторой нормализации относительно средних значений энергий связывания для соединений и белков. Коллеги заметили, что два лучших нормализованных результата выявили корреляцию между изоксантогумолом (11) и РКС-а35 (протеинкиназа C α, позиция № 1 в финальном рейтинге по 1630 общим расчетам) и ксантогумолом (12) (рисунок 5) с PDK136 (фосфоинозитид-зависимая киназа 1, позиция № 2 в окончательном рейтинге) [53].

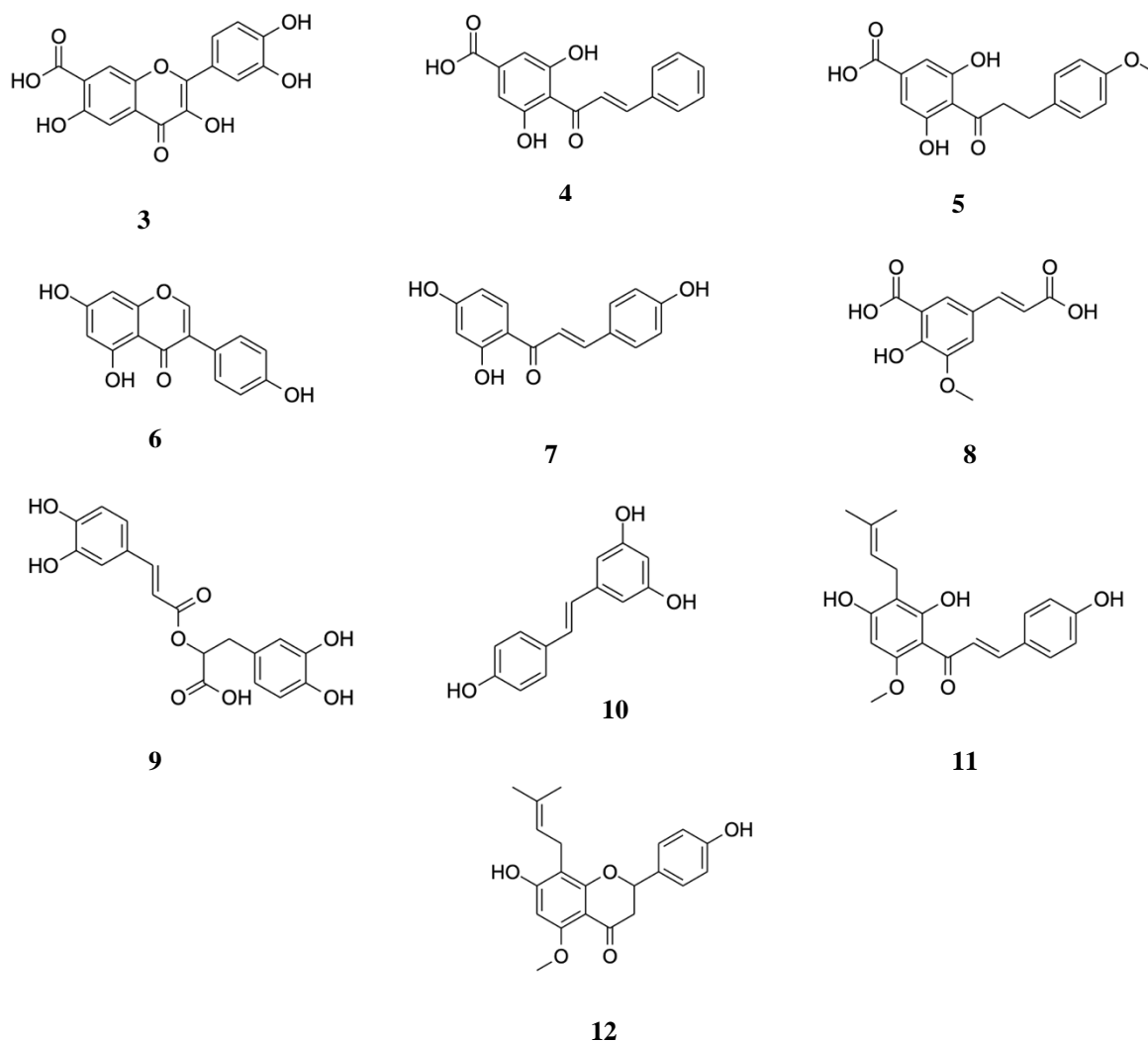


Рисунок 5 – Библиотека из 10 природных соединений, используемых для скрининга

1.2.1.2 Выявление побочных действий и токсичности

Достаточно большое число соединений не проходят стадию клинических испытаний из-за выявления неожиданных побочных эффектов [54, 55]. Несомненно, существуют способы *in vitro* тестирования соединений, например, на кардиотоксичность, в случае ряда противоопухолевых препаратов, на этапе разработки [56], однако возможность проведения более дешевого и быстрого *in silico* скрининга на панели основных белков, опосредующих те или иные нежелательные эффекты, является привлекательной стратегией.

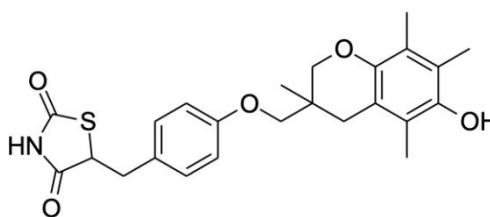
Одним из пионерских является исследование коллег Chen и Zhi, в котором они, используя стыковочную IVS программу INVDOCK [57], проте-

стировали восемь клинических агентов (аспирин, гентамицин, ибупрофен, индинавир, неомицин, пенициллин G, 4H-тамоксифен и витамин C) на белковой библиотеке и предсказали 83% мишеней, ответственных за проявления токсичности и побочных эффектов [58].

Данная работа демонстрирует впечатляющий потенциал IVS для применения в данной области. Позже те же авторы применяли данный подход к 11 продаваемым препаратам против ВИЧ, включая протеазу, нуклеозидо-обратную транскриптазу и ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы. Результаты показали, что более 86% побочных лекарственных реакций, предсказанных INVDOCK, соответствовали побочным реакциям, о которых сообщалось в литературе [59].

Недавняя работа 2021 описывает обратную стыковку двух препаратов тиазолидиндионового (TZD) ряда в панель из 67 тысяч как человеческих, так и животных белков [60]. TZD активируют гамма- рецепторы, активированные пероксисомами-пролифератором (PPAR γ), который является ядерным рецептором, регулирующим экспрессию нескольких генов, связанных с метаболизмом. PPAR γ представляет собой один из трех PPAR, которые являются ядерными рецепторами, регулирующими метаболизм липидов и гомеостаз глюкозы, последний из которых контролирует дифференциацию адипоцитов, хранение липидов и сенсбилизацию инсулина [60].

Традиционно TZD применяют для лечения диабета 2-ого типа [61], однако некоторые препараты данной группы были отозваны из-за возникающих побочных эффектов, связанных с нарушением работы печени и сердца [61]. Результаты обратного скрининга подтвердили повышенную потенцию Троглитазона (TZG) (рисунок 6) к ферментам, ответственным за работу данных органов и систем [62] (таблица 2).



13

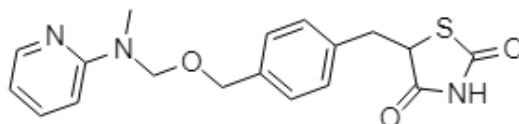
Рисунок 6 – Структура троглитазона TZG

Таблица 2 - Докинг троглитазона в протеоме человека

Оценка стыковки, ккал/моль	Белок
-68.2	5-оксо-5-бета-стероид 4-дегидрогеназа
-68.0	лизин-специфическая деметилаза 5B
-66.1	киназа Aurora A
-64.7	α -тубулин N-ацетилтрансфераза
-64.0	нейтрофильная коллагеназа
-63.5	нальфа-ацетилтрансфераза 60
-62.7	оксидаза D-аминокислот
-62.3	стромелизин 1
-60.3	ацил-КоА-дегидрогеназа жирных кислот с очень длинной цепью (VLCAD)

Например, лидер списка — фермент 3-оксо-5-бета-стероид 4-дегидрогеназа контролирует экспрессию и активность семейства цитохром P450. С его ингибированием экспрессия P450s снижается, что напрямую влияет на метаболизм лекарств и токсинов в печени человека [63, 60]. При связывании TGZ с альфа-тубулином N-ацетилтрансферазой 1 дисрегуляция функции белка может произойти, что приведет к аномальному уровню ацетилирования тубулина, которые уже связаны с различными неврологическими расстройствами, сердечными заболеваниями и раком [64] [60]. Интерес-

нее выглядят результаты докинга аналога TZG — розиглитазона (RSG) (рисунок 7) — одобренного FDA [60], которые представлены в таблице 3.



14

Рисунок 7 – Структура RSG 14

Таблица 3 – Докинг розиглитазона

Оценка стыковки, ккал/моль	Белок
-60.5	матриксная металлопротеиназа 9
-59.9	UDP-глюкуроновая кислота декарбоксилаза 1
-59.8	<i>N</i> -лизинметилтрансфераза KMT5A
-58.8	ДНК (цитозин-5)-метилтрансфераза 3A
-58.6	кологеназа 3
-58.4	эстрадиол 17 β-дегидрогеназа
-58.0	гуаниннуклеотидсвязывающий белок G(i) субъединица альфа-1
-57.6	UDP-галактоза-4-эпимераза
-57.6	EEF1A лизин метилтрансфераза 4

2 Результаты и их обсуждение

Без сомнения, *in silico* методы дизайна лекарств являются важным и необходимым этапом разработки лекарств. Виртуальный скрининг, в частности, служит прекрасным инструментом для первичной оценки способности библиотеки соединений связываться с той или иной мишенью. Методология VS, по сравнению с классическим *in vitro* HTS, позволяет сократить физические, материальные и временные ресурсы [25].

Вместе с тем часто возникает потребность в скрининговой кампании того или иного набора соединений не на одном белке, а на группе мишеней. Данный подход известен как панельный докинг или инвертированный виртуальный скрининг [37]. Обязательно стоит отметить, что в случае панельной стыковки речь идет, как правило, о библиотеках гораздо меньшего размера, чем в случае VS. IVS может применяться, например, для идентификации неспецифического для конкретной малой молекулы связывания в целях выявления возможных побочных эффектов или нежелательной токсичности. Часто обнаружение нового партнера для связывания может положить начало новому вектору развития для уже применяемых препаратов [57, 58, 60].

Данная работа посвящена конструированию рабочей киношной панели, которая может успешно применяться в будущих проектах Центра медицинской химии ТГУ, а также панельному докингу библиотеки соединений, обладающих противомиеломной активностью в целях идентификации механизма их цитотоксичности.

2.1 Сборка киношной панели

Киназы – ферменты, относящиеся к группе фосфотрансфераз и катализирующие перенос фосфатной группы с молекулы АТФ на те или иные субстраты.

Белковые киназы регулируют широкий спектр клеточных процессов, в частности, рост и пролиферацию, индукцию апоптоза, иммунный ответ. Кроме того, киназы являются важнейшим компонентом путей сигнальной трансдукции. Нарушения в работе этих ферментов опосредует множество заболеваний, в том числе несколько видов рака [65].

Признано, что белковые и липидные киназы представляют собой важный целевой класс для лечения расстройств человека [66].

2.1.1 Выбор и подготовка мишеней

Все комплексы протеинкиназ были загружены из открытого банка данных белковых структур Protein Data Bank (PDB) [9] при этом нами отбирались только структуры, решенные с помощью РСА с разрешением не более 2 Å.

Суммарно было импортировано 345 комплексов, содержащих 145 киназ. В таблице ниже отражена принадлежность киназ к киназным семействам, включенным для формирования панели (рисунок 8).

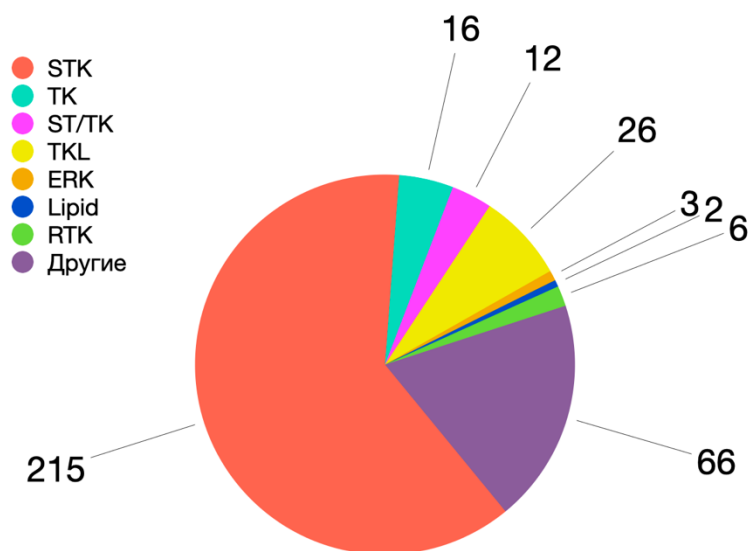


Рисунок 8 – Количество комплексов каждого киназного семейства, загруженные для формирования панели

Затем импортированные комплексы были подготовлены с помощью модуля подготовки белка Maestro ProteinPreparationWizard [67]. В рамках данной процедуры структуры киназ были доработаны: восстановлены порядки связей и отсутствующие боковые радикалы аминокислот, уточнены типы атомов и произведено протонирование; дополнительно нами были удалены молекулы растворителя. Проведена оптимизация и минимизация структур комплексов.

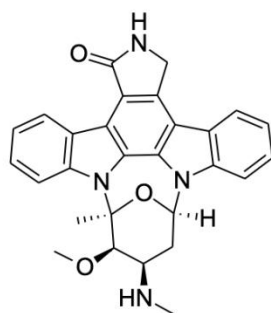
Активный сайт во всех случаях был определен по местоположению лиганда, область докинга рассчитана с помощью модуля ReceptorGridGeneration как куб с длиной грани в 20 Å и центром, совпадающим с центром масс сайта.

После чего структуры лигандов были удалены из сайтов связывания и проведена процедура нативной стыковки в целях оценить качество структур и правильность их подготовки с помощью среднеквадратичного отклонения атомных координат между позами закристаллизованных лигандов и позами, полученными при докинге. Grid-карты 312 комплексов со значениями RMSD менее 1.8 Å были собраны в панель. Результаты нативного докинга представлены в таблице A.1 (приложение A).

2.1.2 Валидация панели

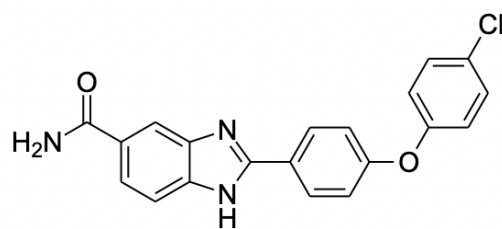
Процедура валидации киназной панели заключалась в относительном воспроизведении результатов киномного *in-vitro* скрининга, представленного в работе [68], авторы которой сообщили о проведении масштабной скрининговой кампании 183 известных киназных ингибиторов на панели, содержащей 76 киназ, на основе HotSpot радиометрического киназного анализа [69].

Для проведения валидации нами был выбран стауроспорин, являющийся известным мультикиназным ингибитором [70], и селективный в отношении СНЕК2 киназы Chk2 ингибитор II [71]. Структуры соединений представлены на рисунке 9.



15

Staurosporine



16

Chk2 inhibitor II
(BML-277)

Рисунок 9 – Структуры соединений, выбранных в качестве положительного контроля

Структуры лигандов были подготовлены с помощью модуля LigPrep [67], а затем нами был проведен молекулярный докинг на панели, первоначально содержащей 311 комплексов с помощью модуля Glide LigandDocking [21] на протоколе точности XP. Результаты стыковки для каждой киназы были проранжированы относительно величины рассчитанной энергии связывания и оставлены только лучшие. Таблицы с результатами нативного докинга представлены в приложении Б (таблицы Б.1 и Б.2).

Способность каждого соединения к связыванию с конкретным белком определена как разность между значениями XP GScore нативного лиганда и соединения библиотеки по формуле ниже (формула 3):

$$\Delta \text{XP GScore} = \text{XP GScore}_{(\text{native})} - \text{XP GScore}_{(\text{ligand})} \quad (3)$$

где $\text{XP Gscore}_{(\text{native})}$ и $\text{XP Gscore}_{(\text{ligand})}$ — значения скоринга для нативного лиганда и соединения библиотеки соответственно, взятые по абсолютной величине, ккал/моль.

Сумма значений ΔXP GScore каждого лиганда позволяет судить о кинемной селективности.

Действительно, согласуясь с результатами кинемного скрининга, стауроспорин демонстрирует более низкие значения XP GScore в целом по панели и, соответственно, более низкое значение суммы $\square XP$ GScore, по сравнению с Chk2 ингибитором **15** (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты валидационного докинга

Соединение	Группа	ΔXP GScore (группа), ккал/моль	ΔXP GScore (суммарно), ккал/моль
BML-277 16	TK	71.786	563.143
	STK	298.066	
	ST/TK	28.133	
	ERK	9.440	
	Lipid	5.990	
	RTK	14.365	
	TKL	40.489	
	Другие	94.874	
Staurosporine 15	TK	56.416	289.616
	STK	122.344	
	ST/TK	16.295	
	ERK	5.446	
	Lipid	2.719	
	RTK	10.129	
	TKL	39.442	
	Другие	36.825	

В частности, Chk2 ингибитор демонстрирует, очевидно, низкие значения энергии при связывании с комплексом, содержащим CHEK2 киназу, и, что также подтверждается результатами *in vitro* скрининга, высокое сродство к структурам, содержащим FLT3 (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты валидационного докинга для некоторых комплексов

Соединение	Киназа	PDB	XP GScore (нативный), ккал/моль	XP GScore (соединение), ккал/моль	Δ XP GScore, ккал/моль
BML-277 16	CHEK2	2W0J	-8.673	-8.254	0.509
	CHEK1	2R0U	-11.449	-3.298	8.151
	CDK2	3R8L	-8.981	-6.125	2.856
	FLT3	6IL3	-7.440	-7.101	0.311

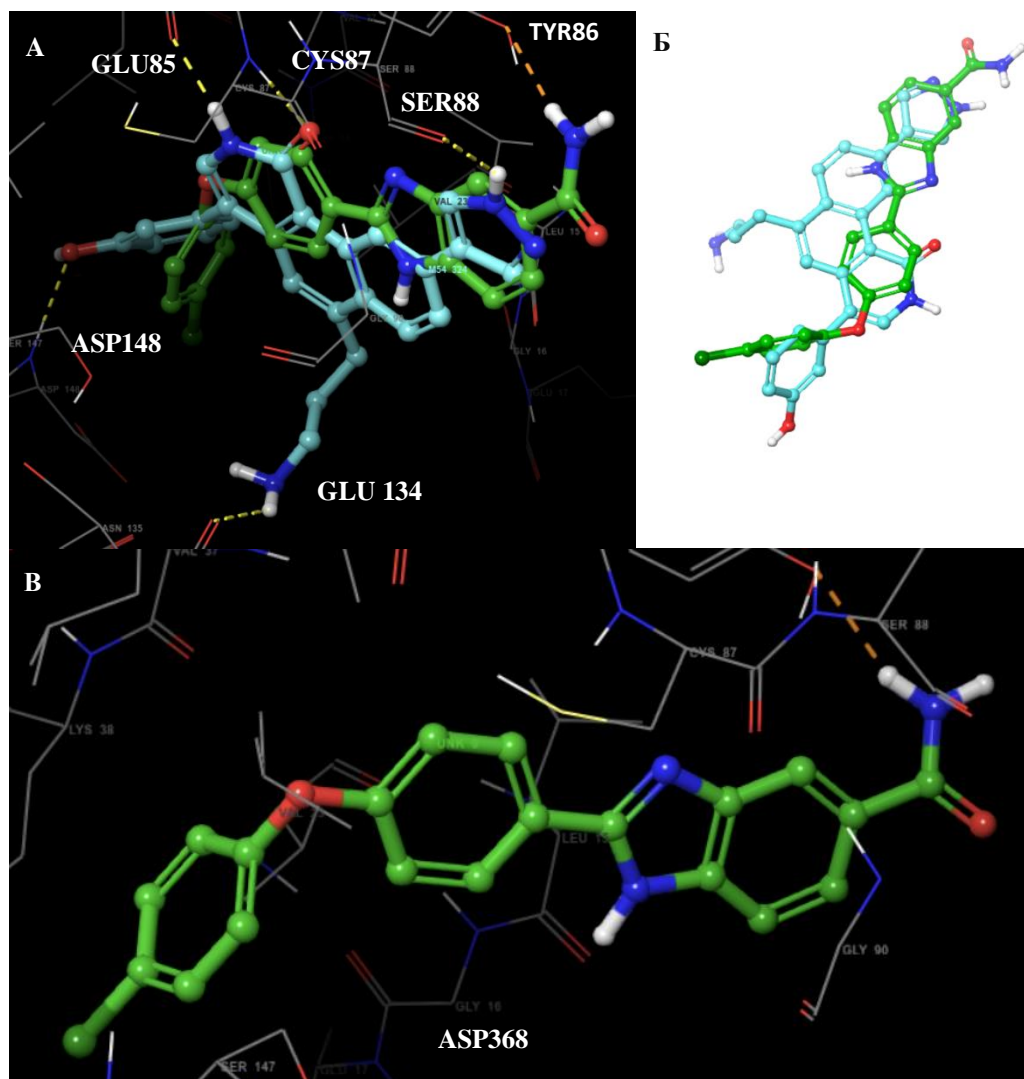
Вместе с тем, данное соединение хуже связывается с CDK киназами (представлены результаты только для CDK2) и CHEK1.

На рисунке 10 изображены некоторые позы связывания соединения **16** с упомянутыми выше комплексами.

Как видно из рисунка 10, нативный лиганд представляет собой вытянутую структуру с большим числом подвижных связей.

Нативный лиганд образует обширные водородные взаимодействия с остатками Ser, Glu, Cys, Asp и Tyr в активном сайте.

Соединение **16** не демонстрирует образования сильных водородных связей вообще и значение его энергии связывания обусловлено лишь вкладом гидрофобных и ван-дер-Ваальсовых взаимодействий.

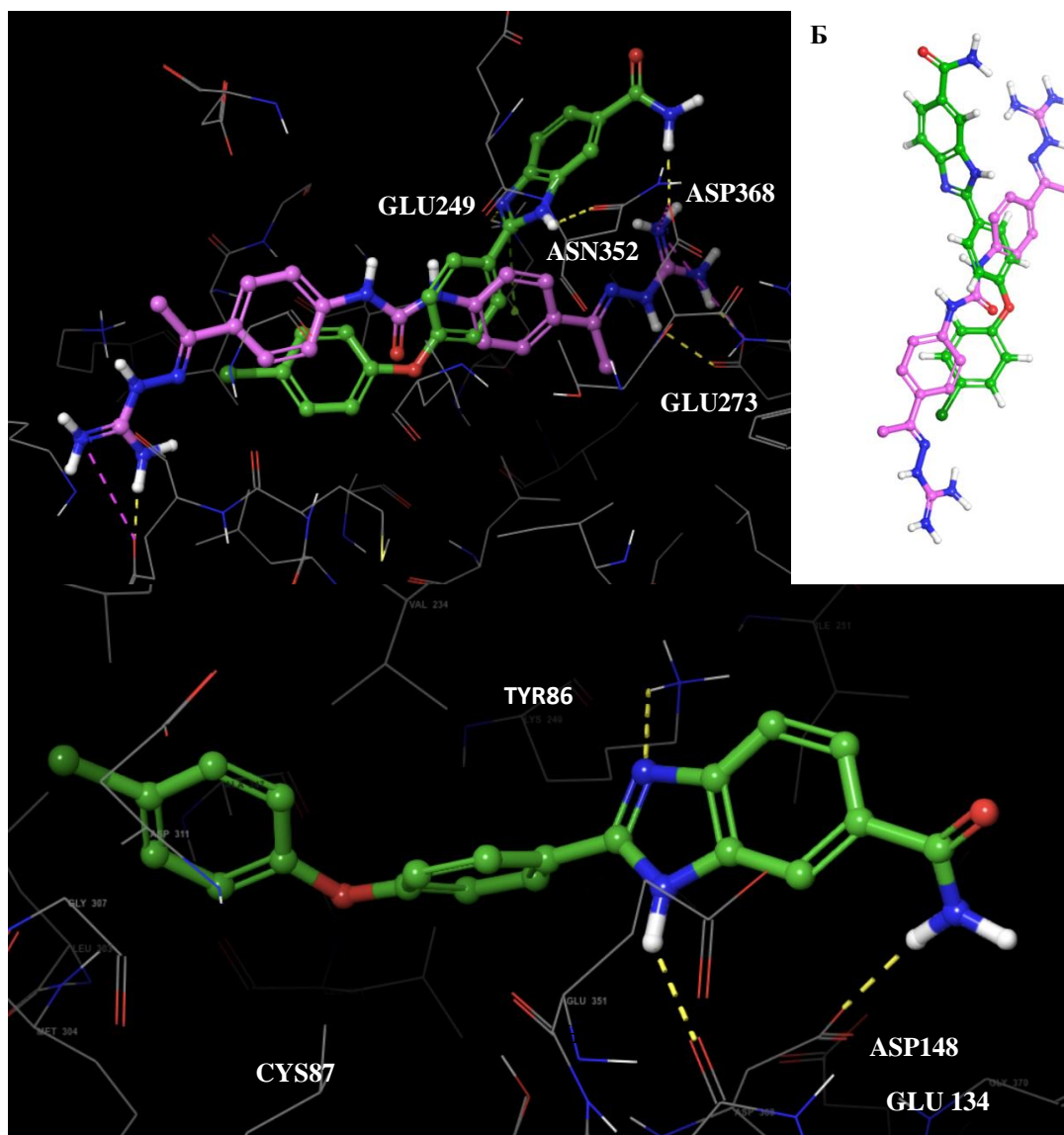


А – Связывание нативного лиганда (голубой) и **16** (зеленый); Б – наложение структур нативного лиганда и **16**; В – нативного лиганда; желтый пунктир – сильные водородные связи, оранжевый пунктир – слабые водородные связи.

Рисунок 10 – Связывание соединения **16** в комплексе CHEK1 (PDB ID: 2R0U)

На рисунке ниже представлена визуализация результата стыковки все того же соединения **16**, но уже в комплексе CHEK2 (рисунок 11). Результаты панельного докинга указывают на значительную селективность соединения **16** ко 2-ой изоформе Chk-киназы по сравнению с 1-ой. Действительно – соединение **16** образует многочисленные сильные водородные связи с Glu, Asn

и Asp, к тому же структура данного лиганда позволяет выгодно занять положение в активном сайте, ориентируя пара-хлор-замещенное бензольное кольцо в гидрофобную область сайта



А – Связывание нативного лиганда (фиолетовый) и **16** (зеленый); Б – наложение структур нативного лиганда и **16**; В – нативного лиганда; желтый пунктир – сильные водородные связи, оранжевый пунктир – слабые водородные связи, лиловый пунктир – солевые мостики.

Рисунок 11 – Связывание соединения **16** в комплексе CHEK2 (PDB ID: 2W0J)

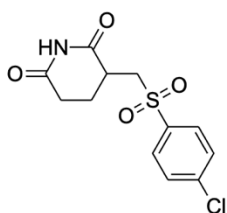
Стауроспорин, в свою очередь, демонстрирует достаточно плохую способность к связыванию с BRAF и p38/МАРК, также согласуясь с результатами скрининга в статье (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты валидационного докинга для некоторых комплексов

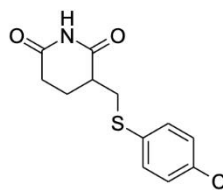
Соединение	Киназа	PDB	XP GScore (нативный), ккал/моль	XP GScore (соединение), ккал/моль	Δ XP GScore, ккал/моль
Staurosporine	BRAF	6XFP	-17.012	-3.011	14.001
	МАРК13 p38-delta	5EKO	-10.471	-6.538	3.933

2.2 Панельный докинг

В ходе скрининга Open HTS совместно с нашими коллегами из СПбГУ разрабатываются глутаримид-содержащие сульфоны и сульфиды, призванные обладать анти-ММ свойствами. Несколько таких структур представлены на рисунке 12.



17



18

Рисунок 12 – Соединения библиотеки

В попытках идентифицировать природу и механизм цитотоксического эффекта соединений **17** и **18** нами был осуществлен панельный докинг в собранную киназную панель. Результаты представлены в приложении В.

В таблице 7 – значения суммарного Δ XP GScore, демонстрирующие относительно низкую способность данных соединений связываться с киназами. Соответственно, цитотоксичность на клетках ММ человека нельзя связать с киназным ингибированием.

Таблица 7 – Результаты панельного докинга для соединений и помалидомида

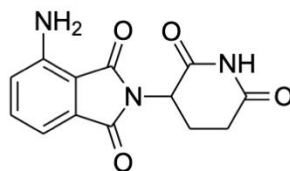
Соединение	Δ XP GScore (суммарно), ккал/моль
17	450.256
18	467.354
Pomalidomide	630.862

Дополнительно нами был проведен панельный докинг помалидомида – известного и высокоаффинного лиганда к ферменту, относящемуся к классу убиквитинлигаз – CRBN [72]. Структура помалидомида представлена на рисунке ниже. Обратите внимание на схожесть глутаримидного мотива в структуре помалидомида и соединений **17** и **18**.

Отметим, что именно этот мотив образует ключевые взаимодействия с Ub-лигазой [73]. Известно, что аналоги талидомида (в частности, помалидомид) могут действовать как молекулярные клеи: связываясь с церебллоном такие соединения изменяют его субстратную специфичность, способствуя взаимодействию комплекса CRBN-DDB1 с важным для развития ММ фактором транскрипции – IKZF1, вызывая убиквитинилирование и протеосомальную деградацию последнего. Истощение IKZF1 CRBN-зависимым образом является мощной терапевтической стратегией для борьбы с ММ [74, 75].

Мы предположили, что соединения **17-22** могут действовать в качестве молекулярных клеев и опосредовать цитотоксический эффект на клетках ММ

именно путем индуцирования взаимодействий между IKZF1 и CRBN (рисунок 13).

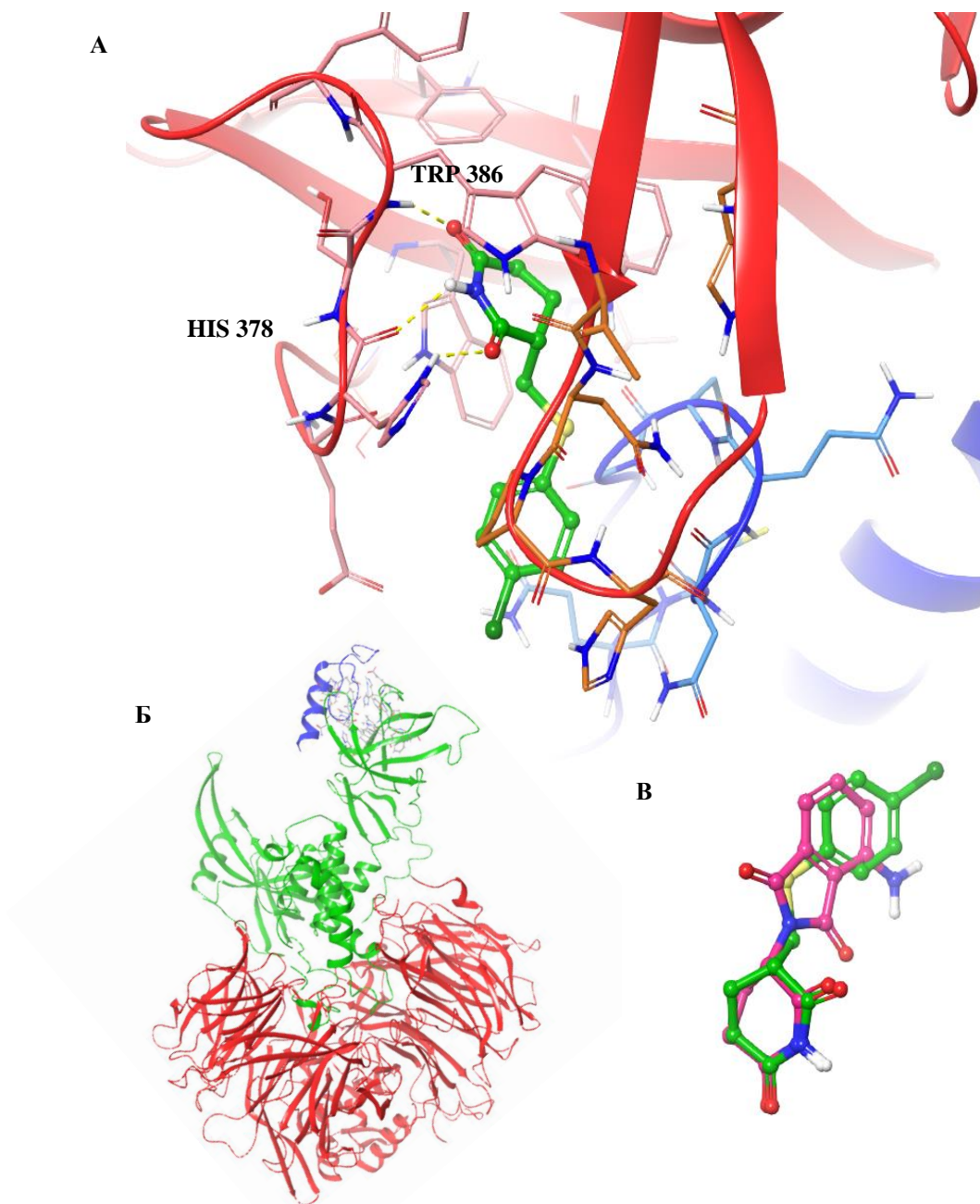


19

Рисунок 13 - Структура помалидомида

Для первичного подтверждения данной гипотезы нами был проведен докинг в предварительно подготовленный тройной комплекс CRBN-DDB1-IKZF1(ZF). Помалидомид **19**, **17** и **18** были загружены и подготовлены так, как сообщалось ранее.

На рисунке 14 представлены результаты докинга **17** в тройной комплекс. Значения XP GScore рассчитаны как -10.258 ккал/моль и -11.737 ккал/моль для соединения **17** и помалидомида **23** соответственно.



А – Связывание соединения **17** в сайте CRBN (DDB1-CRBN-IKZF1(ZF) PDB ID: 6H0F [73]); желтый пунктир – водородные связи; красным цветом – CRBN; Б – структура комплекса DDB1 (красный)-CRBN (зеленый)-ZF IKZF1 (синий); В – наложение поз связывания помалидомида **19** (розовый) и **17** (зеленый).

Рисунок 14 – Связывание соединения **17** в активном сайте CRBN

Наложение структур **17** и помалидомида в конформациях, соответствующих позам в активных сайтах по результатам стыковки, указывает на схожесть режимов связывания данных молекул.

Действительно, и **1** и помалидомид демонстрируют одинаковые ключевые взаимодействия, возникающие при участии глутаримидного мотива. Один карбонильный кислород образует водородную связь с водородом имидазольного кольца His 378, другой – с амино-группой Trp 386. Атом азота глутаримида в свою очередь служит донором водородной связи, образованной с карбонилем амидной группы His 378.

Остальной структурный мотив соединения **17** ориентирован во внешнюю область и не образует значимых взаимодействий. Значения скоринговой функции указывают на незначительную разницу в сродстве помалидомида и соединения **1** к CRBN. Таким образом, цитотоксический эффект соединений **1-6** на клетках ММ человека можно первично связать с CRBN-зависимой деградацией фактора IKZF1.

3 Экспериментальная часть

Все расчеты в рамках данной ВКР проводили с помощью программного пакета Schrodinger Suite, интегрированного в графический интерфейс Maestro 2021-4.

3.1 Подготовка белковых молекул

Кристаллические структуры киназ, представленные в панели и использованные нами для докинга, были загружены из Protein Data Bank [9] — открытой базы данных белковых структур. Трехмерные структуры всех загруженных комплексов определены с помощью рентгено-структурного анализа с разрешением менее 3 Å.

Всего было загружено 347 комплексов, содержащих суммарно 145 киназ.

Кристаллическая структура комплекса DDB1-CRBN-IKZF1 (ZF) также загружена из PDB, решена методом RSA с разрешением 3.25 Å.

Все комплексы были подготовлены и оптимизированы с помощью модуля подготовки белка Maestro ProteinPreparationWizard [67]: произведено протонирование, уточнение типов атомов и порядков связей, в некоторых случаях добавлены остатки боковых цепей аминокислот. Структуры очищены от молекул растворителя, их энергии подвергнуты минимизации.

3.2 Подготовка лигандов

Все соединения были подвергнуты генерации трехмерной структуры с помощью панели сборки лигандов Maestro, а также оптимизации и минимизации потенциальной энергии (с учетом состояний протонирования

ния/депротонирования в условиях физиологического pH в диапазоне pH 7 ± 2) с помощью модуля LigPrep [67]

3.3 Молекулярный докинг

3.3.1 Нативный докинг

Для валидации загруженных комплексов относительно качества кристаллографических структур и правильности их подготовки была выполнена процедура нативного докинга с оценкой точности воспроизведения интактной конформации лиганда на основе RMSD и расчета энергии связывания на основе скоринговой функции Glide XP GScore [76].

Первоначально нами были сгенерированы области докинга (грид-боксы) с указанием ключевых взаимодействий между нативным лигандом и рецептором с помощью модуля Receptor grid generation.

Нативный докинг выполнялся в модуле Glide [21] на протоколе точности стыковки XP.

Результаты нативного докинга представлены в Приложении А (таблица А1). На основе RMSD из 347 первоначальных комплексов киназ нами было отобрано 312, которые обладали удовлетворительным RMSD менее 1.8 Å.

3.3.2 Панельный докинг

Панельный докинг соединений валидационной библиотеки был выполнен в активные сайты 311 комплексов 138 киназ с помощью модуля CrossDocking на протоколе точности XP. Результаты докинга для каждого комплекса соответствующей киназы проранжированы относительно величины XP GScore, выбраны лучшие.

Панельный докинг библиотеки соединений **17**, **18** и помалидомида **19** выполнен в активные сайты 138 комплексов 138 киназ с помощью модуля CrossDocking на протоколе точности XP. Результаты панельного докинга представлены в приложении В (таблицы В1,2 и 3).

Заключение

По результатам проделанной работы можно сделать следующие выводы:

– Был проведен подбор комплексов, содержащих различные киназы, их подготовка и оценка с помощью нативного докинга. Суммарно было подготовлено более 300 комплексов, содержащих 145 киназ;

– Проведена валидация и финальная оптимизация комплексов в составе панели. Киназная панель в таком виде может использоваться во всех дальнейших проектах Центра медицинской химии;

– Для соединений, обладающих анти-ММ активностью был проведен докинг на подготовленной панели с целью идентификации механизма и мишеней цитотоксичности. Его результаты указывают на низкие значения сродства к киназам.

– Дополнительно была подготовлена структура, содержащая CRBN-IKZF1(ZF). Был проведен докинг библиотеки исследуемых соединений в данный комплекс, значения скоринга указывают на отличные значения сродства. Таким образом, механизм цитотоксичности на клетках ММ человека можно предварительно объяснить деградацией IKZF1, то есть действием соединений 17, 18 в качестве лигандов CRBN и молекулярных клеев. Подтверждение данной гипотезы необходимо подтвердить в дальнейшем в тестах на истощение уровней IKZF в присутствии данных соединений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Oglic D. Active Search for Computer-aided Drug Design / D. Oglic // *Molecular Informatics*. – 2018. – № 37. – P. 1-
2. Kapetanovic I. M. Computer aided drug discovery and development: in silico-chemico-biological approach / I.M. Kapetanovic // *Chem. Biol. Interact.* – 2008. – № 171. – P. 165-176.
3. Seifollah N. Modern analytical techniques in failure analysis of aerospace, chemical, and oil and gas industries / N. Seifollah // *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Oil and Gas Industry*. – 2016. – №
4. Jumper J. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold / J. Jumper, R. Evans // *Nature*. – 2021. – № 596. – P. 583-589.
5. Wang X. Structure-Based Drug Design Strategies and Challenges / X. Wang // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – № 18. – P. 998-1006.
6. Хельтье Х.-Д., Зиппль В., Фолькерс Г., Роньян Д. Молекулярное моделирование. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010, 124 с.
7. Devereux J. A comprehensive set of sequence analysis programs for the VAX / J. Devereux, P. Haeblerli, O. Smithies // *Nucleic Acids Research*. – 1984. – № 12. – P. 387-395.
8. The universal protein resource / A. Bairoch, R. Apweiler, C. Wu et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2005. – № 33. – P. 59-154.
9. The Protein Data Bank / H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – № 28. – P. 235–242.
10. Yan C. *Comprehensive Medicinal Chemistry III*. - 3rd ed. - University of Missouri, Columbia, MO, United States, 2017, 319–328 p.
11. Хельтье Х.-Д., Зиппль В., Фолькерс Г., Роньян Д. Молекулярное моделирование. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010, 11 с.
12. Friesner R. A. A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy / R.A. Friesner // *J. Med. Chem.* – 2004. – № 47. – P. 1739-1749.

13. Хёльтье Х.-Д., Зиппль В., Фолькерс Г., Роньян Д. Молекулярное моделирование. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010, 25 с.
14. Equation of state calculations by fast computing machines / N. Metropolis, A.W. Rosenbluth, M.N. Rosenbluth et al. // J. Chem. Physic. – 1953. – № 21. – P. 1087-1092.
15. Chang G. An internal coordinate Monte-Carlo method for searching conformational space / G. Chang // J. Am. Chem. Soc. – 1989. – № 111. – P. 4879-4886.
16. Saunders M. Stochastic exploration of molecular mechanics energy SU faces - hunting for the global minimum / M. Saunders // J. Am. Chem. Soc. – 1987. – № 109. – P. 3150-3152.
17. Saunders M. Stochastic Search for the Conformations of Bicyclic Hydrocarbons / M. Saunders // J. Comp. Chem. – 1989. – № 10. – P. 203-208.
18. Saunders M. Conformations of cyclohepta-decane-a comparison of methods for conformational searching / M. Saunders, K.N. Houk // J. Am. Chem. Soc. – 1990. – № 112– P. 1419-1427.
19. Smellie A. Analysis of conformational coverage. Applications of conformational models. / A. Smellie // J. Chem. Inf. Comput. Sci. – 1995. – № 35. – P. 295-304.
20. Eldridge M. D. Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes / M.D. Eldridge // J. Comput.-Aided Mol. Des. – 1997. – № 11. – P. 425-445.
21. Murphy R. B. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 2. Enrichment Factors in Database Screening / R.B. Murphy // J. Med. Chem. – 2004. – № 47. – P. 1750-1759.
22. Babine R. E. Molecular recognition of proteinligand complexes: Applications to drug design / R.E. Babine, S.L. Bender // Chem. Rev. – 1997. – № 97. – P. 1359-1472.

23. Whittaker M. Design and therapeutic application of matrix metalloproteinase inhibitors / M. Whittaker // *Chem. Rev.* – 1999. – № 99. – P.2735-2776.
24. Bell I. M. 3-Aminopyrrolidinone farnesyltransferase inhibitors: design of macrocyclic compounds with improved pharmacokinetics and excellent cell potency / I.M. Bell // *J. Med. Chem.* – 2002. – № 45. – P. 2388-2409.
25. Surabhi S. Computer aided drug design: an overview / S. Surabhi, B. Singh // *J. Drug Deliv. Ther.* – 2018. – № 8. – P. 504-509.
26. Hamza A. Ligand-Based Virtual Screening Approach Using a New Scoring Function / A. Hamza , N.-N. Wei, C.-G. Zhan // *J. Chem. Inf. Model.* – 2012. – № 52. – P. 963-974.
27. Sass P. *Antibiotics. Methods and Protocols.* - 1st ed. - New York: Springer, 2017, 85–106 p.
28. Santana K. Applications of Virtual Screening in Bioprospecting: Facts, Shifts, and Perspectives to Explore the Chemo-Structural Diversity of Natural Products/ K. Santana // *Front. Chem.* – 2021. – № 9. – P. 662-688.
29. Horvath D. A virtual screening approach applied to the search for trypanothione reductase inhibitors. / D. Horvath // *J. Med. Chem.* – 1997. – № 2623. – P. 2412-2423.
30. Octopus: a platform for the virtual high-throughput screening of a pool of compounds against a set of molecular targets. / E.H. Maia, V.A. Campos, B. dos Reis Santos B et al. // *J. Mol. Model.* – 2017. – № 23. – P. 23-26.
31. Liu J. On classification of current scoring functions. / J. Liu, R. Wang // *J. Chem. Inf. Model.* – 2015. – № 55. – P. 475-482.
32. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery / X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei et al. // *Curr. Comput. Aided. Drug Des.* – 2011. – № 7. – P. 146-157.
33. Kuntz I. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions / I. Kuntz // *J. Mol. Biol.* – 1982. – № 161. – P. 269-288.
34. Leelananda S. P. Computational methods in drug discovery. Beilstein / S.P. Leelananda, S. Lindert // *J. Org. Chem.* – 2016. – № 12. – P. 2694-2718.

35. Gore M. Computational Drug Discovery and Design. - 1st ed. - New York: Springer, 2018 31–50 p.
36. A critical assessment of docking programs and scoring functions / G.L. Warren, C.W. Andrews, A. Capelli et al. // *J. Med. Chem.* – 2006. – № 49. – P. 5912-5931.
37. Koonin E.V. The structure of the protein universe and genome evolution / E.V. Koonin, Y.I. Wolf, G.P. Karev // *Nature.* – 2002. – № 420. – P. 218-223.
38. Blom N.S. High resolution fast quantitative docking using Fourier domain correlation techniques / N.S. Blom, J. Sygusch // *Proteins.* – 1997. – № 27. – P. 493-506.
39. Kellenberger E. Similar interactions of natural products with biosynthetic enzymes and therapeutic targets could explain why nature produces such a large proportion of existing drugs. / E. Kellenberger, A. Hofmann, R.J. Quinn // *Nat. Prod. Rep.* – 2011. – № 28. – P. 1483-1492.
40. Drug discovery using chemical systems biology: repositioning the safe medicine Comtan to treat multi-drug and extensively drug resistant tuberculosis / S.L. Kinnings, N. Liu, N. Buchmeier et al. // *PLoS Comput. Biol.* – 2009. – № 5. – P. 1-8.
41. Binding of protein kinase inhibitors to synapsin I inferred from pairwise binding site similarity measurements / E. Defranchi, C. Schalon, M. Messa et al. // *PLoS ONE.* – 2010. – №5. – P. 1-9
42. McArdle B. A common protein fold topology shared by flavonoid biosynthetic enzymes and therapeutic targets / B. McArdle, M. Campitelli, R.J. Quinn // *J. Nat. Prod.* – 2006. – № 69. – P. 14-17.
43. Inverse virtual screening of antitumor targets: pilot study on a small database of natural bioactive compounds / G. Lauro, A. Romano, R. Riccio et al. // *J. Nat. Prod.* – 2011. – № 74. – P. 1401-1407.
44. Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore Approach / C. Acharya, A.

Coop, E.J. Polli et al. // *Curr. Comp. Aided-Drug Design.* – 2011. – № 7. – P. 10-22.

45. Akamatsu M. Current state and perspectives of 3D-QSAR. / M. Akamatsu // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2002. – № 2. – P. 1381-1394.

46. Verma R. P. Camptothecins: A SAR/QSAR Study / R. P. Verma, C. Hansch // *Chem. Rev.* – 2009. – №109. – P. 213-235.

47. Klebe G. Virtual ligand screening: Strategies, perspectives and limitations / G. Klebe // *Drug Discov. Today.* – 2006. – № 11. – P. 580-594.

48. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications / D.B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr et al // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2004. – № 3. – P.935-949.

49. Ji H.-F. Natural products and drug discovery. Can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia? / H.-F. Ji, X.-J. Li, H.-Y. Zhang // *Viewpoint.* – 2009. – № 10. – P. 194–200.

50. Do Q.-T. Pharmacognosy and reverse pharmacognosy: a new concept for accelerating natural drug discovery / Q.-T. Do, P. Bernard // *IDrugs.* 2004. № 7. P. 1017–1027.

51. Reverse pharmacognosy: application of selnergy, a new tool for lead discovery. The example of epsilon-viniferin/ Q.-T. Do, I. Renimel, P. Andre et al. // *Curr. Drug Discov. Technol.* – 2005. – № 2. P. 161-167.

52. Reverse pharmacognosy: identifying biological properties for plants by means of their molecule constituents: application to meranzin / Q.-T. Do, I. Renimel, P. Andre et al. // *Planta Med.* – 2007. – № 73. – P. 1235– 1240.

53. Inverse Virtual Screening allows the discovery of the biological activity of natural compounds / G. Lauro, M. Masullo, S. Piacente et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2012. – № 20. – P. 3596-3602.

54. Fogel D. B. Factors associated with clinical trials that fail and opportunities for improving the likelihood of success: A review / D.B. Fogel // *Contemporary Clinical Trials Communications.* – 2018. – № 11. – P. 156-164.

55. Failure of Investigational Drugs in Late-Stage Clinical Development and Publication of Trial Results / T. J. Hwang, D. Carpenter, J. C. Lauffenburger et al. // *JAMA Internal Medicine*. – 2016. – № 176. – P. 18-26.
56. Development of In Vitro Drug-Induced Cardiotoxicity Assay by Using Three-Dimensional Cardiac Tissues / T. Maki, M. Shigeru, F. Satsuki et al. // *Tissue Engineering Part C: Methods*. – 2018. – № 24. – P. 56-67.
57. Chen Y.Z. Ligand–protein inverse docking and its potential use in the computer search of protein targets of a small molecule / Y.Z. Chen, D.G. Zhi// *Proteins*. 2001. – № 43. – P. 217-226.
58. Chen Y.Z. Prediction of potential toxicity and side effect protein targets of a small molecule by a ligand–protein inverse docking approach / Y.Z. Chen, C.Y. Ung // *J. Mol. Graph. Model*. – 2001. – № 20– P. 199-218.
59. In silico search of putative adverse drug reaction related proteins as a potential tool for facilitating drug adverse effect prediction / Z.L. Ji, Y. Wang, L. Yu et al. // *Toxicol Lett*– 2006. – № 164. – P. 104-112.
60. Kores K. Mechanistic Insights into Side Effects of Troglitazone and Rosiglitazone Using a Novel Inverse Molecular Docking Protocol / K. Kores, J. Konc, U. Bren // *Pharmaceutics*. – 2021. – № 13. – P. 3-15.
61. Lebovitz H. E. Thiazolidinediones: the Forgotten Diabetes Medications / H.E. Lebovitz // *Curr. Diabetes Reports*. – 2019. – №19. – P. 2-11.
62. Troglitazone Exerts Metabolic and Antitumor Effects on T47D Breast Cancer Cells by Suppressing Mitochondrial Pyruvate Availability / K.-H. Jung, J.H. Lee, J.-W. Park et al. // *Oncol. Rep*. – 2020. – № 43. – P. 711-717.
63. Zanger U. M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation / U. M. Zanger, M. Schwab // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2013. – № 138. – P. 103-141.
64. Kim S. S. Improving inverse docking target identification with Z-score selection / S. S. Kim, M. L. Aprahamian, S. Lindert // *Chemical Biology & Drug Design*. – 2019. – P. 2-10.

65. Cohen P. Kinase drug discovery 20 years after imatinib: progress and future directions / P. Cohen, D. Cross, P. A. Janne // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2021. – Vol. 20. – P. 551-569.
66. Fabbro D. Ten things you should know about protein kinases / D. Fabbro, S. W. Cowan-Jacob, H. Moebitz // *Br. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 172. – P. 2675-2700.
67. Madhavi Sastry G. Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments / G. Madhavi Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman // *J. Comp. Aided. Mol. Des.* – 2013. – Vol. 27. № 3. – P. 221-234.
68. Kinase inhibitor profiling reveals unexpected opportunities to inhibit disease-associated mutant kinases / K. C. Duong-Lu, K. Devarajan, S. Liang et al. // *Cell Rep.* – 2016. – Vol. 14, № 4. – P. 772-781.
69. Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity / T. Anastassiadis, S. W. Deacon, K. Devarajan et al. // *Nat. Biotech.* – 2011. – Vol. 29. – P. 1039-1045.
70. Omura S. Staurosporine: new lease of life for parent compound of today's novel and highly successful anti-cancer drugs / S. Omura, Y. Asami, A. Crump // *J. Antibiot.* – 2018. – Vol. 71. – P. 688-701.
71. Checkpoint kinase inhibitors: SAR and radioprotective properties of a series of 2-arylbenzimidazoles / K. L. Arienti, A. Brunmark, F. U. Axe et al. // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48, № 6. – P. 1873-1885.
72. Ito T. Molecular mechanisms of thalidomide and its derivatives / T. Ito, H. Handa // *Proc. Jpn. Acad., Ser. B, Phys. Biol. Sci.* — 2020. — Vol. 96, № 6. — P. 89-203.
73. Defining the human C₂H₂ zinc-finger degrome targeted by thalidomide analogs through CRBN / Q. L. Sievers, G. Petzold, R. D. Bunker et al // *Science.* — Vol. 362, № 6414. — P. 1-9.

74. Asatsuma-Okumura T. Molecular mechanisms of cereblon-based drugs / T. Asatsuma-Okumura, T. Ito, H. Handa // *Pharmacol. Ther.* — 2019. — Vol. 202. — P. 132-139.

75. Lenalidomide causes selective degradation of IKZF1 and IKZF3 in multiple myeloma cells / J. Kronke, N. D. Uteshi, A. Narla et al // *Science.* — 2013. — Vol. 343, № 6168. — P. 301-305.

76. Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes / R.A. Friesner, R.B. Murphy, M.P. Repasky et al. // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49, № 21. — P. 6177-6196.

Приложение А
Результаты нативного докинга

Таблица А.1 – Результаты нативного докинга

Группа	Белок	PDB	XP GScore, ккал/моль	RMSD, Å
1	2	3	4	5
TKL	ACVR1	4BGG	-10.909	0.795
		6Z36	-9.311	1.253
		3MTF	-11.258	0.316
		3Q4U	-10.188	0.930
		7NNS	-9.069	0.847
	ACVR2A	4ASX	-6.524	0.408
		3Q4T	-7.640	2.682
	DLK	5VO2	-10.614	4.303
		5VO1	-10.510	2.013
		5CEQ	-10.231	1.031
		5CEO	-9.136	1.779
		5CEP	-10.471	0.473
	TNNI3K	4YFI	-8.585	0.313
		4YFF	-8.810	0.625
		6B5J	-8.331	1.273
	IRAK1	6BFN	-7.388	0.770
	IRAK4	6F3D	-12.361	0.593
	LIMK1	7ATS	-11.671	0.305
		5NXC	-11.283	1.140
	LIMK2	5NXD	-8.791	0.274
		4TPT	-9.121	0.294
LRRK2(G2019S)	7LI3	-10.189	2.229	
MILK1	3DTC	-10.933	0.663	
RIPK1	4ITH	-9.346	0.385	
RIPK2	6UL8	-10.074	0.263	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
TK	BRAF	6XFP	-17,012	0.856
	PTK6	5H2U	-11.043	4.994
	EPHA2	5IA5	-12.919	0.825
		5I9X	-9.499	1.462
		5I9Z	-10.342	1.017
	EPHA3	3DZQ	-10.087	0.656
	ERBB2	3RCD	-10.483	1.269
	ERBB3	6OP9	-11.062	2.609
	TIE2	2O08	-15.704	0.972
	ITK	3MJ1	-9.467	0.832
		3MJ2	-10.948	2.718
		4M12	-14.664	0.173
		4HCT	-14.234	0.761
		4M0Y	-14.236	0.170
	JAK3	7C3N	-8.394	0.618
	FLT3	6IL3	-7,44	0.345
RET	6NEC	-13,032	0.411	
STK	AKT1	3OCB	-10.264	1.033
		3MV5	-9.022	1.246
	AKT2	3D0E	-7.939	0.236
		3E8D	-5.122	0.667
		3 E 88	-8.719	0.363
		2JDR	-12.459	0.435
	AMPK-alpha2	6BX6	-9.006	2.444
		3AQV	-9.032	0.939
	ASK1	2CLQ	-12.096	0.409
		5VIO	-8.819	0.289
		5VIL	-7.273	3.230
		6VRE	-6.860	0.981
	STK1	6CCF	-10.488	2.629
		6CD6	-14.761	0.739

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5	
STK	STK2A	2VZ6	-13.021	1.580	
	STK2B	5VT1	-9.022	0.484	
	STK2D	6BAB	-9.528	1.004	
	STK2D	2W4O	-7.926	2.033	
	CDK2	3UNK		-12.344	0.490
		3R7Y		-7.181	0.674
		3R8P		-8.926	0.566
		3R8L		-8.981	0.468
		3QWK		-6.782	0.473
		6GUE		-10.052	0.442
	CDK8	4F70		-8.617	2.060
		6Y0A		-8.954	0.258
		5XQX		-7.068	5.870
		5XS2		-9.802	0.298
	CDK9	4BCF		-8.722	1.617
		6Z45		-8.928	0.467
	CHEK1	2E9V		-7.913	1.670
		2QHM		-10.033	0.363
		2R0U		-11.449	0.725
	CHEK2	2XM9		-8.228	0.435
		4A9R		-3.892	0.835
		2YCQ		-7.650	0.257
		2W0J		-8.673	1.701
	DAPK1	5AUW		-13.480	0.767
		4TXC		-11.299	0.900
	DAPK3	5A6N		-3.537	1.570
	CSNK1	1EH4		-7.145	5.787
	CASEIN				
	KINASE-1				
	CSNK1E	4HNI		-10.679	0.939

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	CSNK1G1	2CMW	-10.711	0.342
		4G16	-11.059	0.935
		4G17 S2	-10.148	2.678
		2CHL	-10.205	0.745
	CSNK1G3	2IZU	-10.434	0.849
		2IZS	-10.485	0.394
	CSNK1G2	2C47	-10.067	0.734
	CSNK2A1	5CSV	-7.022	0.905
		5M4U	-6.893	0.482
	DCLK1	5JZN	-11.157	1.066
	DYRK1A	4YU2	-9.048	0.384
		7AKB	-10.568	1.713
	DYRK2	4AZF	-10.429	0.448
		3KVW	-11.715	0.749
	GRK1	4WBO	-6.133	0.624
	HIPK2	6P5S	-12.098	0.413
	PIM1	3R04	-8.989	0.753
		3R02	-8.674	1.921
		3R01	-7.510	0.703
		3R00	-7.692	0.182
		2XJ2	-9.648	1.662
	PIM2	4X7Q	-5.151	0.905
	PKN1	4OTH	-12.525	0.289
		4OTI	-8.939	0.464
	ERK2	1TVO	-7.193	0.410
		4XNE	-7.997	0.513
		4XOY	-5.115	0.756
		4XOZ	-8.001	0.371
		4XP0	-7.719	0.402
		4XP2	-7.719	0.542
ERK3	6YLL	-8.376	0.913	
	6YLC	-10.284	0.964	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	ERK5	4B99	-11.355	5.344
		4ZSG	-7.323	0.506
		4ZSJ	-6.333	0.974
		5BYY	-8.164	0.932
	ERK5	6HKN	-9.845	0.536
	GRK2	5UVC	-10.060	2.196
		5UUU	-10.750	1.290
	VRK2	5UU1	-10.982	0.434
	TNIK	6NCG	-7.995	0.818
		2X7F	-15.761	0.279
		6RA5	-8.956	1.556
		5D7A	-11.141	0.581
	PRKCI	6ILZ	-13.409	0.991
	MST1	6YAT	-10.114	0.620
	MST3	7B32	-11.423	1.843
		7B33	-14.082	1.162
	MST4	3GGF	-10.720	0.965
	PAK1	4ZJJ	-9.359	0.505
	PRKCQ	1XJD	-11.618	0.419
		2JED	-14.447	0.445
	STK10	2J7T	-10.933	0.722
		5OWQ	-7.390	2.017
		5AJQ	-10.857	0.892
		4BC6	-9.654	1.443
		6GTT	-11.404	0.422
		6I2Y	-16.288	1.769
	MKNK1	5WVD	-13.680	0.758
PAK1	4ZJJ	-9.171	1.775	
MKNK2	6CK6	-8.621	0.646	
	6CJW	-7.849	0.827	
MRCKB	3QFV	-7.036	0.657	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	MRCKB	3TKU	-9.593	0.539
		5OTE	-10.070	1.797
		5OTF	-11.939	1.752
	RSK2	3G51	-12.062	1.928
		3UBD	-10.067	3.065
	RSK2	4EL9	-11.969	0.367
	SGK1	3HDM	-11.366	0.507
		3HDN	-11.400	0.549
	MAP4K4	4U41	-10.910	1.555
		4OBO	-11.559	0.316
	MAP4K4	4OBP	-11.992	0.173
		4OBQ	-12.963	1.033
		5J95	-13.230	0.908
		5DI1	-13.330	0.881
		4ZP5	-11.446	0.780
		5W5Q	-13.151	0.312
	MAP4K3	5J5T	-8.642	0.700
	MARK4	5ES1	-11.740	0.523
	MARK3	7P1L	-9.244	0.936
	PAK6	4KS7	-11.823	4.341
		4KS8	-10.109	0.460
	GSK3B	6TCU	-9.321	1.765
	MAPK11	3GC8	-13.522	0.554
	p38-beta	3GC9	-13.061	0.297
	GSK3B	1Q4L	-11.237	0.291
		1Q5K	-7.925	0.812
		2OW3	-10.149	0.309
		7B6F	-10.861	3.928
	HPK1	7M0L	-10.220	0.264
		7M0M	-12.745	0.574
7M0K		-11.267	0.268	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	HPK1	7L26	-6.871	1.745
		6CQF	-8.242	1.479
	JNK1	3ELJ	-13.410	0.562
		3PZE	-6.905	0.354
	JNK1	4L7F	-10.195	0.241
		4AWI	-11.362	0.772
	JNK2	3NPC	-13.202	0.553
		3E7O	-11.137	0.803
	JNK3	2ZDU	-12.178	0.875
		6EKD	-10.891	0.371
		6EMH	-10.081	0.720
		7KSJ	-6.317	2.011
	MELK	6VXR	-8.900	0.253
		4D2V	-6.435	1.102
		5TVT	-11.513	1.162
		5MAH	-9.686	1.233
	MYLK4	2X4F	-10.400	1.220
	MAPKAPK2	6T8X	-9.536	0.268
		3M42	-8.715	0.727
		3R2Y	-7.153	0.532
		3WI6	-7.679	0.308
		3KGA	-9.789	1.317
		3KC3	-10.343	0.427
		3FYJ	-7.408	0.464
		2P3G	-7.302	1.600
	MAPK13 p38-delta	4EYJ	-10.226	0.843
		4EYM	-9.563	0.692
5EKO		-10.471	1.051	
5EKN		-11.355	0.746	
PAK4	7CMB	-12.258	0.448	
	7CP4	-13.099	1.372	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	PAK4	2X4Z	-12.188	0.460
	CDK16	5G6V	-14.223	1.311
		3MTL	-9.451	0.962
	PDPK1	1OKZ	-12.526	0.314
		2XCH	-9.195	0.297
	PRKCH	3TXO	-10.633	0.813
	SLK	2JFL	-10.145	0.466
		2J51	-10.090	2.073
		6HVD	-6.160	0.445
		4USF	-11.512	0.658
	SRPK1	5XV7	-8.113	1.555
		5MXX	-9.899	0.397
	SRPK2	5MYV	-9.097	1.117
	PRKG1	5L0N	-7.306	0.170
	PRKG1	4Z07	-9.841	0.271
	PRKG2	5C8W	-8.326	0.422
	ROCK1	2ETR	-7.257	0.383
		3TWJ	-8.712	1.054
		2ESM	-9.843	1.416
		4YVE	-10.319	0.478
		5HVU	-11.697	0.987
		5KKT	-15.550	1.957
		7JOU	-10.584	0.386
		3NCZ	-11.551	1.155
		3D9V	-9.640	0.711
		5WNG	-9.148	0.764
		3V8S	-10.247	0.582
5WNE		-7.710	0.722	
2ESM		-9.843	1.416	
3TJW		-8.694	1.015	
ROCK2	6ED6	-11.212	0.218	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
STK	ROCK1	7JOV	-10.982	0.510
		4L6Q	-6.549	0.311
	ROCK2	4WOT	-12.657	0.779
		6P5M	-7.972	0.386
ST/TK	CLK1	6RAA	-14.896	0.953
		6I5H	-11.127	5.387
		6I5K	-9.072	0.282
	CLK2	5UNP	-12.692	0.699
		6FYL	-11.397	2.315
		6KHE	-11.716	1.154
CLK3	6KHF	-9.080	0.995	
RTK	IGF1R	3I81	-11.101	1.015
		3O23	-12.012	0.574
		3D94	-12.668	0.533
	C-Kit	6GQK	-11,518	0.145
	EGFR	5XGN	-8.858	0.987
	FGFR			1.002
STK	CSNK1D	6F1W	-12.678	0.969
		6RCG	-11.470	3.844
STK	PI3KD	6PYR	-10.118	0.382
		7JIS	-8.567	0.444
		6PYU	-9.675	0.576
		6G6W	-13.504	0.958
		6OCU	-8.165	1.312
		5M6U	-8.215	0.364
		5UBT	-9.559	0.962
	PI3KA	5XGI	-8.829	0.289
		6OAC	-6.365	0.564
	PI3KG	5JHB	-7.136	0.977
5OQ4		-7.290	0.420	
ST/TK	CDPK1	3MA6	-8.389	0.451

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
ST/TK	CDPK1	3T3U	-12.866	0.600
		4M84	-10.144	0.660
		4MX9	-12.044	0.865
	PKNB	3F69	-11.430	0.947
Другие	AAK1	7LVH	-9.474	0.395
		4WSQ	-12.851	0.326
		5TE0	-11.174	1.067
	Aurora A	4ZS0	-8.325	0.902
		4ZTQ	-10.775	0.913
		3UOH	-10.894	1.809
	Aurora B	2VGO	-9.144	1.505
		2VGP	-8.978	0.454
	BIKE	4W9X	-10.476	0.579
		4W9W	-4.816	0.838
	NEK1	4B9D	-8.476	0.523
	GAK	4Y8D	-8.214	0.992
		5Y80	-8.867	1.974
	PLK1	2OWB	-13.287	0.805
	ERN1/IRE1	4YZ9	-7.889	0.462
		4YZC	-10.299	0.749
		6XDF	-10.722	0.526
		3LJ2	-10.123	0.440
		6URC	-14.057	0.386
	eIF2-alpha Kinase 4	6N3N	-12.440	0.349
	GCN2	6N3L	-16.002	0.300
	WNK1	5WDY	-10.184	2.138
		6OL2	-12.979	0.591
WNK3	5O2B	-10.651	0.389	
WEE1	3CR0	-12.623	0.468	
TTK	5N93	-10.776	0.510	

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
Другие	ТТК	5N9S	-11.513	0.864
		4BHZ	-6.965	4.891
	NEK7	6S75	-7.616	1.019
	PLK2	4I6H	-9.160	1.073
	ТБК1	4IM0	-10.371	1.464
		4IM2	-8.416	1.232
	GSG2	7OPS	-10.100	3.234
		6Z5B	-10.126	0.349
		6Z5C	-11.553	0.118
		3F2N	-10.566	0.412
		3FMD	-9.763	1.268
	NEK2	6G35	-11.351	0.580
		2JAV	-8.770	0.954
		2XKC	-11.472	0.457
		2XK6	-8.291	1.507
		2XNM	-7.451	1.002
		5M57	-7.878	0.927
		5M53	-10.467	2.807
	NIK	4G3E	-15.313	0.276
		4G3F	-10.160	0.308
		4G3G	-7.750	0.413
		4IDT	-10.493	0.146
		4IDV	-11.950	0.486
		5T8Q	-5.799	0.237
		5T8P	-5.446	0.394
		6Z1Q	-12.054	0.668
		6WPP	-9.037	0.815
	PKMYT1	5VD3	-9.166	1.011
	PLK3	4B6L	-5.244	0.781
	PLK4	4YUR	-9.921	1.013

Продолжение Приложения А

Продолжение таблицы А.1

1	2	3	4	5
Другие		4JXF	-10.163	0.793
	ULK1	6QAS	-9.995	0.689
		4WNO	-10.107	0.431
		4WNP	-9.033	0.635
	ULK2	6YID	-9.132	0.453
		6QAV	-9.673	1.295
		6QUA	-8.293	0.873
Lipid	VPS34	4OYS	-7.628	1.972
		5ENN	-13.230	0.326
ERK	MEK1	3E8N	-11.637	2.035
		3ZLX	-9.842	1.042
	MEK6	3FME	-11.552	0.632
Другие	RIOK1	3RE4	-12.838	0.750
	RIOK2	6HK6	-9.938	1.270

Приложение Б
Результаты валидации

Таблица Б.1 – Результаты панельного докинга стауроспорина 15

Группа	Белок	PDB	XP GScore _(native) , ккал/моль	XP GScore _(comp) , ккал/моль	ΔXP GScore, ккал/моль
1	2	3	4	5	6
Другие	AAK1	4WSQ	-12.851	-11.865	0.986
TKL	ACVR1	3Q4U	-10.188	-10.805	-0.617
	ACVR2A	4ASX	-6.524	-7.626	-1.102
	CDK2	3R8L	-8.981	-9.201	-0.22
	DLK	5CEO	-9.136	-8.803	0.333
	IRAK1	6BFN	-7.388	-11.077	-3.689
	IRAK4	6F3D	-12.361	-10.92	1.441
	LIMK1	7ATS	-11.671	0	11.671
	LIMK2	5NXD	-8.791	0	8.791
	LRRK2	7LI3	-10.189	-9.09	1.099
	MILK1	3DTC	-10.933	-12.569	-1.636
	RIPK1	4ITH	-9.346	0	9.346
	RIPK2	6UL8	-10.074	-10.986	-0.912
	BRAF	6XFP	-17.012	-3.011	14.001
TK	EPHA2	5I9Z	-10.342	-10.042	0.3
	EPHA3	3DZQ	-10.087	0	10.087
	ERBB2	3RCD	-10.483	-6.056	4.427
	ERBB3	6OP9	-11.062	0	11.062
	TIE2	2O08	-15.704	0	15.704
	ITK	4HCT	-14.234	-9.525	4.709
	JAK3	7C3N	-8.394	-7.552	0.842
	FLT3	6IL3	-7.44	-8.159	-0.719
	RET	6NEC	-13.032	-14.479	-1.447
	PTK6	5H2U	-11.043	0	11.043
STK	AKT1	3OCB	-10.264	-4.548	5.716
	AKT2	2JDR	-12.459	-6.988	5.471
	AMPK-alpha2	3AQV	-9.032	-4.524	4.508
	ASK1	2CLQ	-12.096	-12.164	-0.068
	CAMK1	6CD6	-14.761	-13.696	1.065
	CAMK2A	2VZ6	-13.021	-9.641	3.38
	CAMK2B	5VT1	-8.689	-11.051	-2.362

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.1

1	2	3	4	5	6
STK	CAMK2D	6BAB	-9.528	-12.183	-2.655
	CDK8	5XS2	-9.802	-8.427	1.375
	CDK9	6Z45	-8.928	-10.12	-1.192
	CHEK1	2R0U	-11.449	-10.334	1.115
	CHEK2	2W0J	-8.673	-3.694	4.979
	CSNK1D	6F1W	-12.678	-8.227	4.451
	<u>DAPK1</u>	5AUW	-13.48	-11.529	1.951
	DAPK3	5A6N	-3.537	0	3.537
	CSNK1	1EH4	-7.145	0	7.145
	CSNK1E	4HNI	-10.679	0	10.679
	CSNK1G1	2CMW	-10.711	-10.243	0.468
	CSNK1G3	4G16	-11.059	-10.552	0.507
	CSNK1G2	2C47	-10.067	-10.391	-0.324
	CSNK2A1	5M4U	-6.893	-6.443	0.45
	DCLK1	5JZN	-11.157	-7.287	3.87
	DYRK1A	4YU2	-9.048	-13.234	-4.186
	DYRK2	4AZF	-10.429	-12.772	-2.343
	GRK1	4WBO	-6.133	-9.202	-3.069
	HIPK2	6P5S	-12.098	-11.028	1.07
	PIM1	3R04	-8.989	-10.982	-1.993
	PIM2	4X7Q	-5.151	-10.876	-5.725
	PKN1	4OTH	-12.525	-12.103	0.422
	ERK2	4XOZ	-8.001	-8.076	-0.075
	ERK3	6YLC	-10.284	-10.144	0.14
	ERK5	5BYY	-8.164	-9.432	-1.268
	GRK2	5UUU	-10.75	-6.074	4.676
	VRK2	6NCG	-7.995	-8.123	-0.128
	TNNI3K	4YFI	-8.585	-9.204	-0.619
	TNIK	2X7F	-15.761	-17.201	-1.44
	PRKCI	6ILZ	-13.409	-9.943	3.466
	<u>MST1</u>	6YAT	-10.114	-12.491	-2.377
	MST3	7B33	-14.082	-8.444	5.638
	MST4	3GGF	-10.72	-9.445	1.275
NEK7	6S75	-7.616	0	7.616	
PAK1	4ZJJ	-9.359	-6.064	3.295	
PRKCQ	1XJD	-11.618	-12.166	-0.548	

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.1

1	2	3	4	5	6
СТК	STK10	6I2Y	-16.288	-15.989	0.299
	MKNK1	5WVD	-13.68	-4.51	9.17
	PAK1	4ZJJ	-9.171	0	9.171
	MKNK2	6CJW	-7.849	-10.334	-2.485
	MRCKB	3TKU	-9.593	-8.826	0.767
	RSK2	3G51	-12.062	-6.384	5.678
	SGK1	3HDM	-11.366	-11.177	0.189
	MAP4K4	5DI1	-13.33	-3.093	10.237
	MAP4K3	5J5T	-8.642	-11.301	-2.659
	MARK4	5ES1	-11.74	-9.407	2.333
	MARK3	7PIL	-9.244	-6.216	3.028
	PAK6	4KS8	-10.109	-11.581	-1.472
	GSK3B	6TCU	-9.321	-9.839	-0.518
	MAPK11b	3GC9	-13.061	-8.652	4.409
	GSK3B	1Q5K	-7.925	-9.906	-1.981
	GSG2	6Z5B	-10.126	-12.556	-2.43
	HPK1	7M0L	-10.22	-10.893	-0.673
	JNK1	4AWI	-11.362	-11.714	-0.352
	JNK2	3NPC	-13.202	-12.969	0.233
	JNK3	2ZDU	-12.178	-9.808	2.37
	MELK	6VXR	-8.9	-9.268	-0.368
	MYLK4	2X4F	-10.4	-5.503	4.897
	MAPKAPK2	3WI6	-7.679	-7.365	0.314
	MAPK13d	5EKO	-10.471	-6.538	3.933
	PAK4	7CMB	-12.258	-9.919	2.339
	CDK16	5G6V	-14.223	-4.894	9.329
	PDPK1	1OKZ	-12.526	-11.199	1.327
	PRKCH	3TXO	-10.633	-6.526	4.107
	SLK	4USF	-11.512	-11.521	-0.009
	SRPK1	5MXX	-9.899	-11.272	-1.373
	SRPK2	5MYV	-9.097	-11.01	-1.913
	PRKG1	4Z07	-9.841	-3.6	6.241
PRKG2	5C8W	-8.326	-3.985	4.341	
ROCK1	5HVU	-11.697	-8.018	3.679	
ROCK2	4WOT	-12.657	-5.97	6.687	
Другие	ULK1	6QAS	-9.995	-10.256	-0.261

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.1

1	2	3	4	5	6
STK	PI3KD	6PYR	-10.118	-10.513	-0.395
	PI3KA	6OAC	-6.365	-9.315	-2.95
	PI3KG	5JHB	-7.136	-11.185	-4.049
ST/TK	CLK1	6RAA	-14.896	-12.978	1.918
	CLK2	5UNP	-12.692	-11.32	1.372
	CLK3	6KHF	-9.08	0	9.08
	CDPK1	3T3U	-12.866	-7.323	5.543
	PKNB	3F69	-11.43	-13.048	-1.618
RTK	EGFR	5XGN	-8.858	-9.001	-0.143
	FGFR	4V05	-7.657	-6.998	0.659
	IGF1R	3I81	-11.101	-8.062	3.039
	C-Kit	6GQK	-11.518	-10.944	1.574
Lipid	VPS34	5ENN	-13.23	-10.511	2.719
ERK	MEK1	3E8N	-11.637	-6.191	5.446
	MEK6	3FME	-11.552	-11.552	0
Другие	Aurora A	4ZTQ	-10.775	-9.603	1.172
	Aurora B	2VGO	-9.144	-10.77	-1.626
	BIKE	4W9W	-4.816	-9.275	-4.459
	NEK1	4B9D	-8.476	-9.533	-1.057
	GAK	4Y8D	-8.214	-9.319	-1.105
	PLK1	2OWB	-13.287	-11.059	2.228
	ERN1/IRE1	6XDF	-10.722	-11.017	-0.295
	GCN2	6N3L	-16.002	-4.77	11.232
	WNK1	6OL2	-12.979	-6.16	6.819
	WNK3	5O2B	-10.651	0	10.651
	WEE1	3CR0	-12.623	-9.712	2.911
	PLK2	4I6H	-9.16	-8.957	0.203
	TBK1	4IM0	-10.371	-8.698	1.673
	NEK2	2XNM	-7.451	-9.522	-2.071
	NIK	5T8P	-5.446	0	5.446
	PKMYT1	5VD3	-9.166	-10.09	-0.924
	PLK3	4B6L	-5.244	-10.241	-4.997
	PLK4	4YUR	-9.921	-9.906	0.015
	RIOK1	3RE4	-12.838	-5.343	7.495
	RIOK2	6HK6	-9.938	-6.295	3.643
ULK2	6YID	-9.132	-9.000	0.132	

Продолжение Приложения Б

Таблица Б.2 – Результаты панельного докинга Chk2 inhibitor II 16

Группа	Белок	PDB	XP GScore _(native) , ккал/моль	XP GScore _(comp) , ккал/моль	ΔXP GScore, ккал/моль
1	2	3	4	5	6
Другие	AAK1	4WSQ	-12.851	-9.027	3.824
	Aurora A	4ZTQ	-10.775	-7.349	3.426
	Aurora B	2VGO	-9.144	-6.506	2.638
	BIKE	4W9W	-4.816	-6.209	-1.393
	NEK1	4B9D	-8.476	-5.847	2.629
	GAK	4Y8D	-8.214	-8.781	-0.567
	PLK1	2OWB	-13.287	-7.222	6.065
	ERN1/IRE1	6XDF	-10.722	-7.879	2.843
	GCN2	6N3L	-16.002	-10.658	5.344
	WNK1	6OL2	-12.979	0	12.979
	WNK3	5O2B	-10.651	0	10.651
	WEE1	3CR0	-12.623	0	12.623
	PLK2	4I6H	-9.16	-6.744	2.416
	TBK1	4IM0	-10.371	-5.115	5.256
	NEK2	2XNM	-7.451	-6.786	0.665
	NIK	5T8P	-5.446	-5.124	0.322
	PKMYT1	5VD3	-9.166	-6.356	2.81
	PLK3	4B6L	-5.244	-6.209	-0.965
	PLK4	4YUR	-9.921	-8.253	1.668
	RIOK1	3RE4	-12.838	-6.477	6.361
RIOK2	6HK6	-9.938	0	9.938	
ULK1	6QAS	-9.995	-7.056	2.939	
ULK2	6YID	-9.132	-6.73	2.402	
ERK	MEK1	3E8N	-11.637	-7.447	4.19
	MEK6	3FME	-11.552	-6.302	5.25
Lipid	VPS34	5ENN	-13.23	-7.24	5.99
RTK	EGFR	5XGN	-8.858	-3.057	5.801
	FGFR	4V05	-7.657	-2.698	4.959
	IGF1R	3I81	-11.101	-3.491	7.61
	C-Kit	6GQK	-11.518	-7.523	3.995
TKL	RIPK1	4ITH	-9.346	0	9.346
	RIPK2	6UL8	-10.074	-7.713	2.361
	BRAF	6XFP	-17.012	-3.638	13.374

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.2

1	2	3	4	5	6
ST/TK	CLK1	6RAA	-14.896	-8.81	6.086
	CLK2	5UNP	-12.692	-7.839	4.853
	CLK3	6KHF	-9.08	0	9.08
	CDPK1	3T3U	-12.866	-8.167	4.699
	PKNB	3F69	-11.43	-8.025	3.405
STK	AKT1	3OCB	-10.264	0	10.264
	AKT2	2JDR	-12.459	-6.837	5.622
	AMPK-alpha2	3AQV	-9.032	-8.325	0.707
	ASK1	2CLQ	-12.096	-7.3	4.796
	CAMK1	6CD6	-14.761	-8.665	6.096
	CAMK2A	2VZ6	-13.021	-7.311	5.71
	CAMK2B	5VT1	-8.689	-7.401	1.288
	CAMK2D	6BAB	-9.528	-6.096	3.432
	CDK8	5XS2	-9.802	-7.783	2.019
	CDK9	6Z45	-8.928	-5.587	3.341
	CHEK1	2R0U	-11.449	-3.298	8.151
	CHEK2	2W0J	-8.673	-10.254	-1.581
	CSNK1D	6F1W	-12.678	-8.692	3.986
	DAPK1	5AUW	-13.48	-6.815	6.665
	DAPK3	5A6N	-3.537	0	3.537
	CSNK1	1EH4	-7.145	0	7.145
	CSNK1E	4HNI	-10.679	-8.838	1.841
	CSNK1G1	2CMW	-10.711	-7.836	2.875
	CSNK1G3	4G16	-11.059	-7.833	3.226
	CSNK1G2	2C47	-10.067	-7.343	2.724
	CSNK2A1	5M4U	-6.893	-9.357	-2.464
	DCLK1	5JZN	-11.157	-5.463	5.694
	DYRK1A	4YU2	-9.048	-8.323	0.725
	DYRK2	4AZF	-10.429	-6.989	3.44
	GRK1	4WBO	-6.133	-6.38	-0.247
	HIPK2	6P5S	-12.098	-6.648	5.45
	PIM1	3R04	-8.989	-8.395	0.594
	PIM2	4X7Q	-5.151	-7.425	-2.274
	PKN1	4OTH	-12.525	-5.791	6.734
	ERK2	4XOZ	-8.001	-6.94	1.061

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.2

1	2	3	4	5	6
STK	ERK3	6YLC	-10.284	-6.523	3.761
	ERK5	6HKN	-9.845	-7.378	2.467
	GRK2	5UUU	-10.75	-5.942	4.808
	VRK2	6NCG	-7.995	-6.312	1.683
	TNNI3K	4YFI	-8.585	-6.01	2.575
	TNIK	2X7F	-15.761	-9.67	6.091
	PRKCI	6ILZ	-13.409	-7.647	5.762
	<u>MST1</u>	<u>6YAT</u>	-10.114	-6.299	3.815
	MST3	7B33	-14.082	-6.663	7.419
	MST4	3GGF	-10.72	-8.792	1.928
	NEK7	6S75	-7.616	0	7.616
	PAK1	4ZJZ	-9.359	-6.247	3.112
	PRKCQ	1XJD	-11.618	-5.659	5.959
	STK10	6I2Y	-16.288	-8.504	7.784
	MKNK1	5WVD	-13.68	-6.268	7.412
	PAK1	4ZJZ	-9.171	0	9.171
	MKNK2	6CJW	-7.849	-6.199	1.65
	MRCKB	3TKU	-9.593	-5.779	3.814
	RSK2	3G51	-12.062	-5.078	6.984
	SGK1	3HDM	-11.366	-6.571	4.795
	MAP4K4	5DI1	-13.33	-8.865	4.465
	MAP4K3	5J5T	-8.642	-5.707	2.935
	MARK4	5ES1	-11.74	-6.141	5.599
	MARK3	7PIL	-9.244	-5.795	3.449
	PAK6	4KS8	-10.109	-5.83	4.279
	GSK3B	6TCU	-9.321	-6.108	3.213
	MAPK11	3GC9	-13.061	-7.934	5.127
	GSK3B	1Q5K	-7.925	-6.318	1.607
	GSG2	6Z5B	-10.126	-8.518	1.608
	HPK1	7M0L	-10.22	-7.723	2.497
	JNK1	4AWI	-11.362	-7.868	3.494
	JNK2	3NPC	-13.202	-11.037	2.165
JNK3	2ZDU	-12.178	-7.693	4.485	
MELK	6VXR	-8.9	-4.037	4.863	
MYLK4	2X4F	-10.4	-5.928	4.472	

Продолжение Приложения Б

Продолжение таблицы Б.2

1	2	3	4	5	6
STK	MAPKAPK2	3WI6	-7.679	-5.576	2.103
	MAPK13d	5EKO	-10.471	-8.768	1.703
	PAK4	7CMB	-12.258	-6.488	5.77
	CDK16	5G6V	-14.223	-10.074	4.149
	PDPK1	1OKZ	-12.526	-5.531	6.995
	PRKCH	3TXO	-10.633	-7.311	3.322
	SLK	4USF	-11.512	-9.505	2.007
	SRPK1	5MXX	-9.899	-10.282	-0.383
	SRPK2	5MYV	-9.097	-8.928	0.169
	PRKG1	4Z07	-9.841	-5.87	3.971
	PRKG2	5C8W	-8.326	-4.546	3.78
	ROCK1	5HVU	-11.697	-7.777	3.92
	ROCK2	4WOT	-12.657	-7.6	5.057
	PI3KD	6PYR	-10.118	-8.648	1.47
	PI3KA	6OAC	-6.365	-5.826	0.539
PI3KG	5JHB	-7.136	-7.063	0.073	
TK	PTK6	5H2U	-11.043	0	11.043
	EPHA2	5I9Z	-10.342	-6.714	3.628
	EPHA3	3DZQ	-10.087	0	10.087
	ERBB2	3RCD	-10.483	-7.384	3.099
	ERBB3	6OP9	-11.062	0	11.062
	TIE2	2O08	-15.704	0	15.704
	ITK	4HCT	-14.234	-7.478	6.756
	JAK3	7C3N	-8.394	-5.054	3.34
	FLT3	6IL3	-7.44	-7.101	0.339
RET	6NEC	-13.032	-5.246	7.786	
TKL	ACVR1	3Q4U	-10.188	-7.376	2.812
	ACVR2A	4ASX	-6.524	-5.197	1.327
	CDK2	3R8L	-8.981	-6.125	2.856
	DLK	5CEO	-9.136	-6.995	2.141
	IRAK1	6BFN	-7.388	-8.064	-0.676
	IRAK4	6F3D	-12.361	-8.822	3.539
	LIMK1	7ATS	-11.671	-9.702	1.969
	LIMK2	5NXD	-8.791	-8.261	0.53
	LRRK2(G2019S)	7LI3	-10.189	-7.654	2.535
	MILK1	3DTC	-10.933	-8.558	2.375

Приложение В
Результаты панельного докинга

Таблица В.1 – Результаты панельного докинга соединения **17**

Белок	PDB	XP GScore _(native) , ккал/моль	XP GScore _(comp) , ккал/моль	Δ XP GScore, ккал/моль
1	2	3	4	5
AAK1	4WSQ	-12,851	0	0
ACVR1	3Q4U	-10,188	-7,192	2,996
ACVR2A	4ASX	-6,524	-6,514	0,01
AKT1	3OCB	-10,264	-6,245	4,019
AKT2	2JDR	-12,459	-6,113	6,346
AMPK-alpha2	3AQV	-9,032	-9,53	-0,498
ASK1	6VRE	-6,86	-9,087	-2,227
Aurora A	3UOH	-10,894	-8,139	2,755
Aurora B	2VGO	-9,144	-7,183	1,961
BIKE	4W9W	-4,816	-7,948	-3,132
PTK6	5H2U	-11,043	0	11,043
CAMK1	6CD6	-14,761	0	14,761
CAMK2A	2VZ6	-13,021	-7,481	5,54
CAMK2B	5VT1	-8,689	-7,297	1,392
CAMK2D	6BAB	-9,528	-7,404	2,124
CDK2	3R8L	-8,981	-8,808	0,173
CDK8	5XS2	-9,802	-6,912	2,89
CDK9	6Z45	-8,928	-8,856	0,072
CHEK1	2R0U	-11,449	-5,739	5,71
CHEK2	2W0J	-8,673	-4,738	3,935
CLK1	6I5K	-9,072	-6,655	2,417
CLK2	5UNP	-12,692	-7,968	4,724
CLK3	6KHF	-9,08	-8,964	0,116
CSNK1D	6F1W	-12,678	-10,687	1,991
DAPK1	4TXC	-11,299	-5,644	5,655
DAPK3	5A6N	-3,537	0	3,537
CSNK1 CASEIN KINASE-1	1EH4	-7,145	0	7,145
CSNK1E	4HNI	-10,679	-10,404	0,275
CSNK1G1	2CMW	-10,711	-6,704	4,007

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5
CSNK1G3	4G16	-11,059	-6,876	4,183
CSNK1G2	2C47	-10,067	-8,872	1,195
CSNK2A1	5M4U	-6,893	-10,35	-3,457
DCLK1	5JZN	-11,157	0	11,157
DLK	5CEQ	-10,231	-5,539	4,692
DYRK1A	7AKB	-10,568	-8,214	2,354
DYRK2	4AZF	-10,429	-9,883	0,546
NEK1	4B9D	-8,476	-5,837	2,639
GAK	4Y8D	-8,214	-8,883	-0,669
GRK1	4WBO	-6,133	-6,129	0,004
HIPK2	6P5S	-12,098	-9,314	2,784
PIM1	3R02	-8,674	-6,098	2,576
PIM2	4X7Q	-5,151	-5,27	-0,119
PKN1	4OTH	-12,525	-8,957	3,568
PLK1	2OWB	-13,287	-8,168	5,119
ERK2	4XP0	-7,719	-7,953	-0,234
ERK3	6YLC	-10,284	-7,776	2,508
ERK5	6HKN	-9,845	-8,825	1,02
ERN1/IRE1	6XDF	-10,722	-8,832	1,89
GCN2	6N3L	-16,002	-7,631	8,371
GRK2	5UUU	-10,75	-5,968	4,782
EPHA2	5I9Z	-10,342	-7,465	2,877
EPHA3	3DZQ	-10,087	0	10,087
ERBB2	3RCD	-10,483	-4,907	5,576
ERBB3	6OP9	-11,062	0	11,062
WNK1	6OL2	-12,979	-9,77	3,209
WNK3	5O2B	-10,651	-9,546	1,105
EGFR	5XGN	-8,858	-5,021	3,837
FGFR	4V05	-7,657	-2,304	5,353
VPS34	5ENN	-13,23	-9,284	3,946
VRK2	6NCG	-7,995	-6,81	1,185
WEE1	3CR0	-12,623	-8,276	4,347
TNNI3K	4YFI	-8,585	-8,283	0,302
TNIK	2X7F	-15,761	-10,481	5,28
TIE2	2O08	-15,704	0	15,704
PRKCI	6ILZ	-13,409	-9,413	3,996
MST1	6YAT	-10,114	-7,589	2,525

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5
MST3	7B33	-14,082	-8,138	5,944
MST4	3GGF	-10,72	-7,331	3,389
NEK7	6S75	-7,616	0	7,616
PAK1	4ZJJ	-9,359	-6,817	2,542
PRKCQ	1XJD	-11,618	-7,273	4,345
PLK2	4I6H	-9,16	-5,213	3,947
IRAK1	6BFN	-7,388	-9,481	-2,093
IRAK4	6F3D	-12,361	-6,263	6,098
LIMK1	7ATS	-11,671	0	11,671
LIMK2	5NXD	-8,791	-9,674	-0,883
STK10	6I2Y	-16,288	-8,578	7,71
LRRK2(G2019S)	7LI3	-10,189	0	10,189
MKNK1	5WVD	-13,68	-9,922	3,758
MKNK2	6CJW	-7,849	-7,298	0,551
MILK1	3DTC	-10,933	-8,71	2,223
MRCKB	3TKU	-9,593	-8,087	1,506
RSK2	3G51	-12,062	-8,163	3,899
SGK1	3HDM	-11,366	-7,251	4,115
MAP4K4	5DI1	-13,33	-9,39	3,94
MAP4K3	5J5T	-8,642	-6,736	1,906
MARK4	5ES1	-11,74	-8,141	3,599
MARK3	7P1L	-9,244	-7,287	1,957
PAK6	4KS7	-11,823	-6,527	5,296
TBK1	4IM0	-10,371	-7,876	2,495
GSK3B	6TCU	-9,321	-8,013	1,308
MAPK11 p38-beta	3GC9	-13,061	-7,273	5,788
GSK3B	1Q5K	-7,925	-7,434	0,491
GSG2	3FMD	-9,763	-9,003	0,76
HPK1	7M0K	-11,267	-5,598	5,669
IGF1R	3I81	1,015	-8,766	-7,751
ITK	4M12	-14,664	-11,569	3,095
JAK3	7C3N	-8,394	-5,719	2,675
JNK1	3ELJ	-13,41	-6,754	6,656
JNK2	3NPC	-13,202	-10,154	3,048
JNK3	2ZDU	-12,178	-6,834	5,344
MELK	6VXR	-8,9	-6,317	2,583
MYLK4	2X4F	-10,4	-8,449	1,951

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.1

1	2	3	4	5
NEK2	2XK6	-8,291	-5,893	2,398
NIK	5T8P	-5,446	-3,242	2,204
МАРКАРК2	8	-7,679	-6,81	0,869
MEK1	3E8N	-11,637	-6,381	5,256
MEK6	3FME	-11,552	-7,773	3,779
МАРК13 p38-delta	4EYJ	-10,226	-9,725	0,501
PAK4	2X4Z	-12,188	-6,799	5,389
CDK16	3MTL	-9,451	-6,782	2,669
PDPK1	2XCH	-9,195	-6,926	2,269
CDPK1	3T3U	-12,866	-10,372	2,494
PKMYT1	5VD3	-9,166	-7,804	1,362
PKNB	3F69	-11,43	-8,522	2,908
PLK3	4B6L	-5,244	-5,725	-0,481
PLK4	4YUR	-9,921	-7,467	2,454
PRKCH	3TXO	-10,633	-6,632	4,001
SLK	4USF	-11,512	-9,535	1,977
SRPK1	5MXX	-9,899	-9,556	0,343
SRPK2	5MYV	-9,097	-7,481	1,616
RIOK1	3RE4	-12,838	-6,462	6,376
RIOK2	6HK6	-9,938	-6,76	3,178
RIPK1	4ITH	-9,346	-3,67	5,676
RIPK2	6UL8	-10,074	-8,929	1,145
PRKG1	4Z07	-9,841	-4,129	5,712
PRKG2	5C8W	-8,326	-5,841	2,485
ULK1	6QAS	-9,995	-5,098	4,897
ULK2	6YID	-9,132	-6,166	2,966
ROCK1	5HVU	-11,697	0	11,697
ROCK2	4WOT	-12,657	-6,29	6,367
PI3KD	6PYR	-10,118	-9,313	0,805
PI3KA	6OAC	-6,365	-8,687	-2,322
PI3KG	5JHB	-7,136	-6,694	0,442
C-Kit	6GQK	-11,518	-9,705	1,813
BRAF	6XFP	-17,012	-10,11	6,902
FLT3	6IL3	-7,44	-6,479	0,961
RET	6NEC	-13,032	-7,068	5,964
			Сумма	459,446

Продолжение Приложения В

Таблица В.2 – Результаты панельного докинга соединения **18**

Белок	PDB	XP GScore _(native) , ккал/моль	XP GScore _(comp) , ккал/моль	Δ XP GScore, ккал/моль
1	2	3	4	5
AAK1	4WSQ	-12,851	-7,321	5,53
ACVR1	3Q4U	-10,188	-5,989	4,199
ACVR2A	4ASX	-6,524	-6,987	-0,463
AKT1	3OCB	-10,264	-2,74	7,524
AKT2	2JDR	-12,459	-6,992	5,467
AMPK-alpha2	3AQV	-9,032	-9,69	-0,658
ASK1	6VRE	-6,86	-8,819	-1,959
Aurora A	3UOH	-10,894	-6,3	4,594
Aurora B	2VGO	-9,144	-7,213	1,931
BIKE	4W9W	-4,816	-5,581	-0,765
PTK6	5H2U	-11,043	0	11,043
CAMK1	6CD6	-14,761	-6,388	8,373
CAMK2A	2VZ6	-13,021	-8,711	4,31
CAMK2B	5VT1	-8,689	-7,669	1,02
CAMK2D	6BAB	-9,528	-7,039	2,489
CDK2	3R8L	-8,981	-6,891	2,09
CDK8	5XS2	-9,802	-7,109	2,693
CDK9	6Z45	-8,928	-6,736	2,192
CHEK1	2R0U	-11,449	-5,631	5,818
CHEK2	2W0J	-8,673	-5,724	2,949
CLK1	6I5K	-9,072	-8,595	0,477
CLK2	5UNP	-12,692	-8,886	3,806
CLK3	6KHF	-9,08	-7,871	1,209
CSNK1D	6F1W	-12,678	-6,283	6,395
<u>DAPK1</u>	4TXC	-11,299	-3,702	7,597
DAPK3	5A6N	-3,537	0	3,537
CSNK1 CASEIN KINASE-1	1EH4	-7,145	0	7,145
CSNK1E	4HNI	-10,679	-11,476	-0,797
CSNK1G1	2CMW	-10,711	-6,701	4,01
CSNK1G3	4G16	-11,059	-7,834	3,225
CSNK1G2	2C47	-10,067	-8,64	1,427
CSNK2A1	5M4U	-6,893	-8,505	-1,612
DCLK1	5JZN	-11,157	-6,889	4,268
DLK	5CEQ	-10,231	-5,734	4,497

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5
DYRK1A	7AKB	-10,568	-9,133	1,435
DYRK2	4AZF	-10,429	-10,609	-0,18
NEK1	4B9D	-8,476	-6,124	2,352
GAK	4Y8D	-8,214	-7,713	0,501
GRK1	4WBO	-6,133	-6,583	-0,45
HIPK2	6P5S	-12,098	-8,208	3,89
PIM1	3R02	-8,674	-5,876	2,798
PIM2	4X7Q	-5,151	-4,529	0,622
PKN1	4OTH	-12,525	-8,049	4,476
PLK1	2OWB	-13,287	-8,933	4,354
ERK2	4XP0	-7,719	-6,954	0,765
ERK3	6YLC	-10,284	-6,77	3,514
ERK5	6HKN	-9,845	-9,322	0,523
ERN1/IRE1	6XDF	-10,722	-8,388	2,334
eIF2-alpha Kinase 4 GCN2	6N3L	-16,002	-8,044	7,958
GRK2	5UUU	-10,75	-5,075	5,675
EPHA2	5I9Z	-10,342	-7,311	3,031
EPHA3	3DZQ	-10,087	0	10,087
ERBB2	3RCD	-10,483	-4,832	5,651
ERBB3	6OP9	-11,062	0	11,062
WNK1	6OL2	-12,979	-10,214	2,765
WNK3	5O2B	-10,651	-7,64	3,011
EGFR	5XGN	-8,858	-4,954	3,904
FGFR	4V05	-7,657	-3,081	4,576
VPS34	5ENN	-13,23	-9,878	3,352
VRK2	6NCG	-7,995	-5,667	2,328
WEE1	3CR0	-12,623	-8,618	4,005
TNNI3K	4YFI	-8,585	-6,436	2,149
TNIK	2X7F	-15,761	-9,24	6,521
TIE2	2O08	-15,704	0	15,704
PRKCI	6ILZ	-13,409	-8,672	4,737
<u>MST1</u>	6YAT	-10,114	-7,51	2,604
MST3	7B33	-14,082	-6,542	7,54
MST4	3GGF	-10,72	-8,003	2,717
NEK7	6S75	-7,616	0	7,616
PAK1	4ZJJ	-9,359	-9,623	-0,264

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5
PRKCQ	1XJD	-11,618	-5,715	5,903
PLK2	4I6H	-9,16	-7,89	1,27
IRAK1	6BFN	-7,388	-7,782	-0,394
IRAK4	6F3D	-12,361	-5,968	6,393
LIMK1	7ATS	-11,671	-8,782	2,889
LIMK2	5NXD	-8,791	-6,792	1,999
STK10	6I2Y	-16,288	-10,398	5,89
LRRK2(G2019S)	7LI3	-10,189	0	10,189
MKNK1	5WVD	-13,68	-4,22	9,46
MKNK2	6CJW	-7,849	-8,085	-0,236
MILK1	3DTC	-10,933	-8,769	2,164
MRCKB	3TKU	-9,593	-6,365	3,228
RSK2	3G51	-12,062	-5,617	6,445
SGK1	3HDM	-11,366	-8,48	2,886
MAP4K4	5DI1	-13,33	-7,823	5,507
MAP4K3	5J5T	-8,642	-6,211	2,431
MARK4	5ES1	-11,74	-7,183	4,557
MARK3	7P1L	-9,244	-8,151	1,093
PAK6	4KS7	-11,823	-6,547	5,276
TBK1	4IM0	-10,371	-5,828	4,543
GSK3B	6TCU	-9,321	-8,082	1,239
MAPK11 p38-beta	3GC9	-13,061	-7,145	5,916
GSK3B	1Q5K	-7,925	-8,516	-0,591
GSG2	3FMD	-9,763	-8,482	1,281
HPK1	7M0K	-11,267	-5,73	5,537
IGF1R	3I81	1,015	-8,229	-7,214
ITK	4M12	-14,664	-11,872	2,792
JAK3	7C3N	-8,394	-4,379	4,015
JNK1	3ELJ	-13,41	-6,877	6,533
JNK2	3NPC	-13,202	-10,741	2,461
JNK3	2ZDU	-12,178	-6,029	6,149
MELK	6VXR	-8,9	-5,194	3,706
MYLK4	2X4F	-10,4	-10,085	0,315
NEK2	2XK6	-8,291	-6,427	1,864
NIK	5T8P	-5,446	-0,566	4,88
MAPKAPK2	3WI6	-7,679	-7,642	0,037
MEK1	3E8N	-11,637	-5,719	5,918
MEK6	3FME	-11,552	-7,125	4,427

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.2

1	2	3	4	5
MAPK13 p38-delta	4EYJ	-10,226	-8,426	1,8
PAK4	2X4Z	-12,188	-7,81	4,378
CDK16	3MTL	-9,451	-6,506	2,945
PDPK1	2XCH	-9,195	-7,157	2,038
CDPK1	3T3U	-12,866	-7,583	5,283
PKMYT1	5VD3	-9,166	-5,903	3,263
PKNB	3F69	-11,43	-8,624	2,806
PLK3	4B6L	-5,244	-7,036	-1,792
PLK4	4YUR	-9,921	-7,862	2,059
PRKCH	3TXO	-10,633	-5,819	4,814
SLK	4USF	-11,512	-10,309	1,203
SRPK1	5MXX	-9,899	-9,933	-0,034
SRPK2	5MYV	-9,097	-7,396	1,701
RIOK1	3RE4	-12,838	-7,908	4,93
RIOK2	6HK6	-9,938	-5,134	4,804
RIPK1	4ITH	-9,346	-4,15	5,196
RIPK2	6UL8	-10,074	-6,275	3,799
PRKG1	4Z07	-9,841	-6,36	3,481
PRKG2	5C8W	-8,326	-4,735	3,591
ULK1	6QAS	-9,995	-5,431	4,564
ULK2	6YID	-9,132	-7,58	1,552
ROCK1	5HVU	-11,697	-6,149	5,548
ROCK2	4WOT	-12,657	-6,946	5,711
PI3KD	6PYR	-10,118	-9,405	0,713
PI3KA	6OAC	-6,365	-9,283	-2,918
PI3KG	5JHB	-7,136	-7,374	-0,238
C-Kit	6GQK	-11,518	-9,306	2,212
BRAF	6XFP	-17,012	-10,267	6,745
FLT3	6IL3	-7,44	-5,774	1,666
RET	6NEC	-13,032	-7	6,032
			Сумма	475,834

Продолжение Приложения В

Таблица В.3 – Результаты панельного докинга для помалидомида 19

Белок	PDB	XP GScore _(native) , ккал/моль	XP GScore _(comp) , ккал/моль	ΔXP GScore, ккал/моль
1	2	3	4	5
AAK1	4WSQ	-12,851	-6,104	6,747
ACVR1	3Q4U	-10,188	-5,626	4,562
ACVR2A	4ASX	-6,524	-6,097	0,427
AKT1	3OCB	-10,264	-4,621	5,643
AKT2	2JDR	-12,459	-5,85	6,609
AMPK-alpha2	3AQV	-9,032	-8,355	0,677
ASK1	6VRE	-6,86	-5,862	0,998
Aurora A	3UOH	-10,894	-9,997	0,897
Aurora B	2VGO	-9,144	-1,349	7,795
BIKE	4W9W	-4,816	-5,536	-0,72
PTK6	5H2U	-11,043	0	11,043
CAMK1	6CD6	-14,761	-7,495	7,266
CAMK2A	2VZ6	-13,021	-5,933	7,088
CAMK2B	5VT1	-8,689	-6,329	2,36
CAMK2D	6BAB	-9,528	-6,353	3,175
CDK2	3R8L	-8,981	0	8,981
CDK8	5XS2	-9,802	-6,556	3,246
CDK9	6Z45	-8,928	-6,665	2,263
CHEK1	2R0U	-11,449	-4,854	6,595
CHEK2	2W0J	-8,673	-4,948	3,725
CLK1	6I5K	-9,072	-8,147	0,925
CLK2	5UNP	-12,692	-8,997	3,695
CLK3	6KHF	-9,08	0	9,08
CSNK1D	6F1W	-12,678	-7,914	4,764
DAPK1	4TXC	-11,299	-5,35	5,949
DAPK3	5A6N	-3,537	0	3,537
CSNK1 CASEIN KINASE-1	1EH4	-7,145	0	7,145
CSNK1E	4HNI	-10,679	-8,735	1,944
CSNK1G1	2CMW	-10,711	-6,537	4,174
CSNK1G3	4G16	-11,059	-7,402	3,657
CSNK1G2	2C47	-10,067	-7,655	2,412
CSNK2A1	5M4U	-6,893	0	6,893
DCLK1	5JZN	-11,157	-5,441	5,716
DLK	5CEQ	-10,231	-5,632	4,599

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.3

1	2	3	4	5
DYRK1A	7AKB	-10,568	-8,175	2,393
DYRK2	4AZF	-10,429	-9,172	1,257
NEK1	4B9D	-8,476	-5,093	3,383
GAK	4Y8D	-8,214	-4,971	3,243
GRK1	4WBO	-6,133	-6,852	-0,719
HIPK2	6P5S	-12,098	-6,749	5,349
PIM1	3R02	-8,674	-6,162	2,512
PIM2	4X7Q	-5,151	-5,414	-0,263
PKN1	4OTH	-12,525	-7,411	5,114
PLK1	2OWB	-13,287	-7,931	5,356
ERK2	4XP0	-7,719	-5,185	2,534
ERK3	6YLC	-10,284	-6,776	3,508
ERK5	6HKN	-9,845	-5,853	3,992
ERN1/IRE1	6XDF	-10,722	-6,198	4,524
eIF2-alpha Kinase 4 GCN2	6N3L	-16,002	-5,294	10,708
GRK2	5UUU	-10,75	-6,377	4,373
EPHA2	5I9Z	-10,342	-5,982	4,36
EPHA3	3DZQ	-10,087	0	10,087
ERBB2	3RCD	-10,483	-5,254	5,229
ERBB3	6OP9	-11,062	0	11,062
WNK1	6OL2	-12,979	-5,883	7,096
WNK3	5O2B	-10,651	-7,273	3,378
EGFR	5XGN	-8,858	-4,078	4,78
FGFR	4V05	-7,657	-2,992	4,665
VPS34	5ENN	-13,23	-7,452	5,778
VRK2	6NCG	-7,995	-6,463	1,532
WEE1	3CR0	-12,623	-5,787	6,836
TNNI3K	4YFI	-8,585	-5,814	2,771
TNIK	2X7F	-15,761	-7,747	8,014
TIE2	2O08	-15,704	0	15,704
PRKCI	6ILZ	-13,409	0	13,409
<u>MST1</u>	6YAT	-10,114	-6,342	3,772
MST3	7B33	-14,082	-5,678	8,404
MST4	3GGF	-10,72	-4,936	5,784
NEK7	6S75	-7,616	0	7,616
PAK1	4ZJJ	-9,359	-7,261	2,098
PRKCQ	1XJD	-11,618	0	11,618

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.3

1	2	3	4	5
PLK2	4I6H	-9,16	-5,858	3,302
IRAK1	6BFN	-7,388	-8,009	-0,621
IRAK4	6F3D	-12,361	-5,745	6,616
LIMK1	7ATS	-11,671	0	11,671
LIMK2	5NXD	-8,791	-6,262	2,529
STK10	6I2Y	-16,288	-7,877	8,411
LRRK2(G2019S)	7LI3	-10,189	0	10,189
MKNK1	5WVD	-13,68	-4,739	8,941
MKNK2	6CJW	-7,849	-5,708	2,141
MILK1	3DTC	-10,933	-8,074	2,859
MRCKB	3TKU	-9,593	-6,218	3,375
RSK2	3G51	-12,062	-5,897	6,165
SGK1	3HDM	-11,366	-7,405	3,961
MAP4K4	5DI1	-13,33	-5,622	7,708
MAP4K3	5J5T	-8,642	-6,451	2,191
MARK4	5ES1	-11,74	-8,176	3,564
MARK3	7P1L	-9,244	-5,254	3,99
PAK6	4KS7	-11,823	-6,755	5,068
TBK1	4IM0	-10,371	-5,31	5,061
GSK3B	6TCU	-9,321	-6,324	2,997
MAPK11 p38-beta	3GC9	-13,061	-7,22	5,841
GSK3B	1Q5K	-7,925	-4,972	2,953
GSG2	3FMD	-9,763	-8,8	0,963
HPK1	7M0K	-11,267	-6,541	4,726
IGF1R	3I81	1,015	-7,232	-6,217
ITK	4M12	-14,664	-11,612	3,052
JAK3	7C3N	-8,394	-6,129	2,265
JNK1	3ELJ	-13,41	-6,738	6,672
JNK2	3NPC	-13,202	-7,739	5,463
JNK3	2ZDU	-12,178	-8,795	3,383
MELK	6VXR	-8,9	-6,456	2,444
MYLK4	2X4F	-10,4	0	10,4
NEK2	2XK6	-8,291	-7,133	1,158
NIK	5T8P	-5,446	-4,567	0,879
MAPKAPK2	3WI6	-7,679	-5,427	2,252
MEK1	3E8N	-11,637	-6,864	4,773
MEK6	3FME	-11,552	-6,743	4,809

Продолжение Приложения В

Продолжение таблицы В.3

1	2	3	4	5
MAPK13 p38-delta	4EYJ	-10,226	-3,82	6,406
PAK4	2X4Z	-12,188	-6,537	5,651
CDK16	3MTL	-9,451	-6,123	3,328
PDPK1	2XCH	-9,195	-5,023	4,172
CDPK1	3T3U	-12,866	-6,063	6,803
PKMYT1	5VD3	-9,166	-6,625	2,541
PKNB	3F69	-11,43	-6,649	4,781
PLK3	4B6L	-5,244	-7,834	-2,59
PLK4	4YUR	-9,921	-5,356	4,565
PRKCH	3TXO	-10,633	-6,813	3,82
SLK	4USF	-11,512	-8,045	3,467
SRPK1	5MXX	-9,899	-8,567	1,332
SRPK2	5MYV	-9,097	-7,708	1,389
RIOK1	3RE4	-12,838	-6,868	5,97
RIOK2	6HK6	-9,938	-7,156	2,782
RIPK1	4ITH	-9,346	-6,513	2,833
RIPK2	6UL8	-10,074	-7,92	2,154
PRKG1	4Z07	-9,841	0	9,841
PRKG2	5C8W	-8,326	0	8,326
ULK1	6QAS	-9,995	-6,3	3,695
ULK2	6YID	-9,132	-6,047	3,085
ROCK1	5HVU	-11,697	-6,341	5,356
ROCK2	4WOT	-12,657	-6,279	6,378
PI3KD	6PYR	-10,118	-4,846	5,272
PI3KA	6OAC	-6,365	-8,793	-2,428
PI3KG	5JHB	-7,136	-6,814	0,322
C-Kit	6GQK	-11,518	-6,415	5,103
BRAF	6XFP	-17,012	-7,195	9,817
FLT3	6IL3	-7,44	-5,394	2,046
RET	6NEC	-13,032	0	13,032
			Сумма	640,307