

Скрининг молекулярных мишеней, обуславливающих гипогликемическое действие лупановых тритерпеноидов

РНИ УП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Сахарный диабет – одна из важнейших медико-социальных проблем современности, занимающая значительное место в структуре хронической патологии всех возрастных групп. Целевыми задачами фармакотерапии сахарного диабета являются достижение стабильной компенсации гипергликемии, предотвращение развития осложнений и поиск способов профилактики. Учитывая относительную ограниченность и значительное количество побочных эффектов синтетических препаратов, огромный интерес представляет поиск природных субстанций, обладающих гипогликемическим действием. Перспективными в указанном аспекте являются лупановые терпеноиды (ЛТ) – бетулин, лупеол, бетулин-3,28-диацетат, бетулиновая и бетулоновая кислоты, аллобетулин. Ранее нами показан гипогликемический эффект некоторых ЛТ при экспериментальном сахарном диабете, однако механизмы их действия не установлены.

Цель работы заключалась в установлении белков-мишеней, опосредующих гипогликемическое действие тритерпеноидов группы лупана.

Материалы и методы исследования. Предварительно выбраны 48 различных ключевых регуляторов обмена глюкозы, среди которых регуляторные белки гликолиза и глюконеогенеза, транспортеры глюкозы, а также ряд белков, являющихся мишенями для действия из-

вестных синтетических гипогликемических препаратов всех групп – инсулина, средств, повышающих секрецию инсулина (производные сульфонилмочевины и меглитиниды), сенситайзеров инсулина (бигуаниды и тиазолидиндионы), ингибиторов α -глюкозидаз, глифлозинов, агонистов ГПП-1, глиптинов. Файлы белков-мишеней из Protein Data Bank подготавливали для докинга с использованием MGLTools. Докинг проводился в 2 этапа. Отборочный докинг проводили с использованием дарвиновского генетического алгоритма при помощи iGemdock. Выходные данные по каждому лиганду были ранжированы по энергии взаимодействия. Для последующего анализа были выбраны по 6 белков, с которыми взаимодействие лиганда энергетически наиболее выгодно. После первого, отборочного этапа, использовали AutoDock Tools 4.2.6. Комплексы белок-лиганд исследовали в области размером 20 куб. Å для известных по литературным данным участкам связывания, либо по целой молекуле белка, с шагом 0,375 Å в случае отсутствия данных сайтах связывания. Атомные заряды для построения сетки потенциалов рассчитывали методом Gasteiger-Marsili. Для визуализации, постпроцессинга и анализа использовали UCSF Chimera. Для оценки влияния ЛТ на активность ферментов проводили их инкубацию с ферментными препаратами на протяжении 30 мин (без субстратов) в диапазоне концентраций от 0 до 25 мкМ, после чего определяли соответствующие ферментативные активности.

Результаты и выводы. В результате докинга установлен ряд белков имеющих высокое сродство к ЛТ – фосфоенолпируваткарбокскиназа – 1KNF, GLUT1 – 4PYP, гликогенфосфорилаза – 1EM6, инсулилин – 2WBY, фосфофруктокиназа-1 – 4OMT, глюкокиназа – 4NO7, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа – 2VHL, регуляторный белок глюкокиназы – 4LC9, панкреатическая α -амилаза – 1B2Yc, и, вероятно, опосредующих наблюдаемое гипогликемическое действие ЛТ. Для гликогенфосфорилазы печени крыс, гексокиназы печени и скелетных мышц крысы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы печени крыс, фосфофруктокиназы печени и скелетных мышц крысы исследовано взаимодействие в лупановыми терпеноидами *in vitro*. Показано, что бетулин, бетулин-3,28-диацетат, аллобетулин, бетулоновая и бетулиновая кислоты, обладают ингибирующим действием на гликогенфосфорилазу печени и мышц и на глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу печени крыс. Ингибирующий эффект дозозависим и возрастает с увеличением в среде инкубации концентраций ЛТ. Наиболее выраженным ингибирующим действием на указанные ферменты обладают бетулин и бетулиновая кислота.