

П.Д. Янчук

**АНАЛИЗ АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ ГЛЮКОНАМИДА
СТРЕПТОЦИДА С ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ПИРУВАТКИНАЗОЙ**

Научный руководитель: канд. хим. наук, доц. Ф.Ф. Лахвич

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

P.D. Yanchuk

**ALLOSTERIC BINDING ANALYSIS OF GLUCONAMIDE-STREPTOCIDE
CONJUGATE TO HUMAN PYRUVATE KINASE**

Tutor: PhD in chemistry, associate professor T.T. Lakhvich

Department of General Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В работе проведено *in silico* исследование взаимодействия глюконамида стрептоцида с аллостерическим центром человеческой пируваткиназы (HsPK). С использованием молекулярного докинга и структурного анализа установлено, что исследуемое соединение связывается с FBP-зависимым аллостерическим сайтом с энергией связывания -8.0 ккал/моль. Показано, что ключевые аминокислотные остатки ARG501, TRP494 и GLY530 участвуют в стабилизации комплекса. Сравнительный анализ конформаций продемонстрировал, что лиганд стабилизирует активную (R) форму фермента, что позволяет рассматривать его как потенциальный аллостерический активатор.

Ключевые слова: пируваткиназа, аллостерическая регуляция, молекулярный докинг, глюконамид стрептоцида, FBP-связывающий центр.

Resume. This study presents an *in silico* analysis of streptocide gluconamide binding to the allosteric site of human pyruvate kinase (HsPK). Molecular docking revealed a binding affinity of -8.0 kcal/mol within the FBP-binding site. Key residues ARG501, TRP494, and GLY530 were involved in ligand stabilization. Structural comparison demonstrated that the ligand stabilizes the active (R) conformation of the enzyme, suggesting its potential as an allosteric activator.

Keywords: pyruvate kinase, allosteric regulation, molecular docking, streptocide gluconamide.

Актуальность. Пируваткиназа человека (HsPK) является ключевым ферментом гликолиза, катализирующим превращение фосфоенолпирувата в пируват с образованием АТФ. Аллостерическая регуляция фермента играет важную роль в поддержании энергетического гомеостаза клетки. Нарушения активности пируваткиназы связаны с рядом патологических состояний, включая наследственные гемолитические анемии и онкологические заболевания. Аллостерический активатор фруктозо-1,6-бисфосфат (FBP) стабилизирует активную конформацию фермента. Поиск низкомолекулярных соединений, способных модулировать данный сайт, представляет значительный интерес для разработки лекарственных средств, аналогичных препарату Mitapivat.

Цель: оценить способность глюконамида стрептоцида связываться с аллостерическим центром HsPK и определить характер его влияния на состояние фермента.

Задачи:

1. Провести молекулярный докинг глюконамида стрептоцида в аллостерический сайт HsPK.

2. Определить ключевые аминокислотные остатки, участвующие во взаимодействии.

3. Выполнить сравнительный структурный анализ активной и неактивной конформаций фермента.

4. Оценить потенциальный механизм аллостерической модуляции.

Материалы и методы. В качестве референсной структуры использована кристаллографическая модель HsPK в комплексе с фруктозо-1,6-бисфосфатом (PDB ID: 7fs3, цепь B). Для сохранения нативного строения аллостерического центра докинг проводился на тетрамерной форме фермента. Координаты аллостерического сайта определены по локализации FBP. Молекулярный докинг выполнен с использованием стандартных алгоритмов оценки энергии связывания. Для анализа конформационных изменений применялась программа ChimeraX. Были использованы три структуры:

1. комплекс с исследуемым лигандом,
2. активная форма (7fs3),
3. апо-форма (PDB ID: 3srd).

Выравнивание структур проводилось по C α -атомам основной цепи.

Результаты и их обсуждение. Докинг показал, что глюконамид стрептоцида связывается в нативном FBP-связывающем сайте с энергией -8.0 ккал/моль. Ключевые взаимодействия включают:

1. TRP494 – формирует ароматическое взаимодействие и стабилизирует конформацию,
2. ARG501 – участвует в межсубъединичной коммуникации и образует водородные связи,
3. GLY530 – входит в состав подвижной регуляторной петли.

Эти остатки критически важны для аллостерической регуляции фермента, что подтверждает корректность выбранного сайта связывания. Сравнительный анализ показал, что положение аллостерической петли (область TRP494–ARG501) в комплексе с глюконамидом стрептоцида совпадает с активной формой фермента.

В отличие от апо-структуры:

1. петля находится в «закрытом» положении
2. активный центр структурно стабилизирован
3. ARG501 ориентирован на взаимодействие с лигандом, аналогично FBP

Полученные данные свидетельствуют о том, что глюконамид стрептоцида действует как аллостерический активатор, стабилизируя R-состояние фермента.

Это делает его перспективной основой для разработки:

1. активаторов пируваткиназы при наследственных анемиях,
2. метаболических модификаторов энергетического обмена.

Дополнительно, учитывая роль изоформы PKM2 в опухолевом метаболизме (эффект Варбурга), подобные соединения могут иметь значение в противоопухолевой терапии.

Выводы:

1. Глюконамид стрептоцида эффективно связывается с FBP-зависимым аллостерическим центром HsPK ($\Delta G = -8.0$ ккал/моль).

2. Взаимодействие реализуется через ключевые регуляторные остатки ARG501, TRP494 и GLY530.

3. Лиганд стабилизирует активную (R) конформацию фермента.

4. Соединение может рассматриваться как потенциальный аллостерический активатор пируваткиназы и основа для разработки новых терапевтических агентов.

Литература

1. Valentini G., et al. Pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects / G. Valentini, et al. // British Journal of Haematology. – 2007. – Vol. 130, № 1. – P. 11–25.

2. Israelsen W.J., Vander Heiden M.G. Pyruvate kinase: function, regulation and role in cancer / W.J. Israelsen, M.G. Vander Heiden // Seminars in Cell & Developmental Biology. – 2015. – Vol. 43. – P. 43–51.

3. Grace R.F., et al. Safety and efficacy of Mitapivat in pyruvate kinase deficiency / R.F. Grace, et al. // New England Journal of Medicine. – 2019. – Vol. 381, № 10. – P. 933–944.

4. Webb B., Sali A. Comparative protein structure modeling / B. Webb, A. Sali // Current Protocols in Bioinformatics. – 2016. – Vol. 54. – P. 5.6.1–5.6.37.