

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики
доцент Нипорко Олексій Юрійович
Протокол № _____ засідання кафедри
від “ _____ ” _____ 2024 р.

ІНГІБІТОРИ РОСЛИННИХ АВРОРА-КІНАЗ

Випускна кваліфікаційна робота магістра
студента спеціальності 091 Біологія
Біоінформатика та структурна біологія
Мусієнка Андрія Максимовича

Науковий керівник
доцент кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
Нипорко Олексій Юрійович

Оцінка захисту роботи

Київ – 2024 р.

Зміст.

Анотація	3
Вступ	4
РОЗДІЛ.1 ХАРАКТЕРИСТИКА АВРОРА-КІНАЗ	5
1.1. Локалізація аврора-кіназ	9
1.2. Партнери по взаємодії та специфічність	11
1.3. Функції Аврора-кіназ у рослин	14
1.3.1. Рослинні Аврора-кінази керують модифікаціями хроматину під час мітозу	14
1.3.2. Роль Аврора-кіназ під час розвитку рослин	15
1.3.3. Роль Аврора-кіназ у встановленні асиметрії у рослин	20
1.4. Характеристика відомих інгібіторів	24
1.4.1. Барасертиб (<i>AZD1152</i>)	24
1.4.2. Алісертиб (<i>MLN8237</i>)	28
1.4.3. Данусертиб (<i>PNA-739358</i>)	29
1.4.4. АТ9283	31
1.4.5. PF-03814735	31
1.4.6. AMG 900	32
1.5. Інгібітори Аврора-кіназ в гематології злоякісних новоутворень	33
1.6. Інгібітори Аврора-кіназ при нейробластомі	36
1.7. Інгібітори Аврора-кіназ та пошкодження ДНК	37
1.8. Майбутні перспективи	39
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ, МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ ДОСЛІДЖЕННЯ	42
2.1. Об'єкт дослідження	42
2.2. Пошук оптимальної кишені зв'язування на поверхні білка	44
2.3. Виконання докінгу	46
2.4. Перевірка отриманих кандидатів з гербіцидними властивостями	47
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	57
3.1. Відбір сполук з гербіцидними властивостями	57
ВИСНОВКИ	76
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	77
ДОДАТОК	93

АНОТАЦІЯ

Мусієнко А.М. Інгібітори рослинних аврора-кіназ – випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 091 Біологія (біоінформатика та структурна біологія).

За допомогою методу молекулярного докінгу у цій роботі був проведений віртуальний скринінг бібліотеки сполук “Олександрійська”. В даній роботі, було знайдено сполуку, під номером 519279 {метил2-(бутириламін)-4-(4-хлорфеніл)-3-тіофенкарбоксилат}, що має гербіцидні властивості проти бур’янів родів *Chenopodium* (Лобода) та *Setaria* (Мишій), а також підвищену селективність дії до *Zea mays* (Кукурудза звичайна). Отримані результати, можуть бути використані для подальшого вивчення механізмів інгібування рослинних Аврора-кіназ, а також для розробки нових селективних гербіцидних сполук, що діють за вищезгаданим методом.

Ключові слова: Гербіцид, аврора-кіназа, молекулярний докінг, сайт зв’язування, аффіність.

ВСТУП

У сучасному сільському господарстві розробка гербіцидів відіграє ключову роль у підвищенні врожайності та вирішенні проблем, пов'язаних із бур'янами. Традиційні гербіциди часто виявляють широкий спектр дії, невибірково впливаючи на клітинні процеси рослин і призводячи до небажаних екологічних наслідків. Проте досягнення в молекулярній біології та фізіології рослин дозволяють розробляти гербіциди з більшою селективністю та ефективністю.

Ця дипломна робота присвячена інноваційному структурно-орієнтованому підходу до розробки гербіцидів на основі інгібування рослинних Аврора-кіназ. Аврора-кінази є ключовими регуляторами поділу клітин і є висококонсервативними у різних видів рослин. Націлюючись на ці основні білки, можна порушити найважливіші клітинні процеси, пов'язані з ростом бур'янів, мінімізуючи нецільовий вплив на корисні рослинні культури. Обґрунтування цієї стратегії полягає в унікальній ролі Аврора-кіназ в координації мітотичних подій, включаючи сегрегацію хромосом і цитокінез. Інгібування цих кіназ призводить до мітотичних дефектів, що зрештою завершується зупинкою клітинного циклу та порушенням росту. Важливо, що Аврора-кінази демонструють чіткі структурні та функціональні відмінності між рослинами та тваринами, створюючи можливість для вибіркового націлювання.

Ця дипломна робота має на меті дослідити доцільність і ефективність використання інгібіторів Аврора-кіназ, як нового механізму розробки гербіцидів. Завдяки детальному моделюванню і аналізу, це дослідження намагається зробити свій внесок у поточні зусилля в галузі інновацій у сільському господарстві, пропонуючи індивідуальний підхід до боротьби з бур'янами, який є екологічно чистим і економічно життєздатним. Зрештою, результати цього дослідження можуть прокласти шлях до розробки гербіцидів наступного покоління з підвищеною селективністю та зменшеним екологічним слідом.

РОЗДІЛ 1.

ХАРАКТЕРИСТИКА АВРОРА-КІНАЗ

Аврора-кінази — це сімейство консервативних серин-треонін-кіназ, які є основними регуляторами мітотичної прогресії та цитокінезу. Аврора-кінази, які фосфорилують різні мітотичні регулятори, надмірно експресуються в багатьох типах ракових клітин [1]. Даний тип кіназ був вперше виявлений у дрозофіли, де аналіз мутантів виявив формування монополярного веретена поділу, тому білок був названий Аврора, що нагадує північне сяйво (полярне сяйво) [2]. У рослинних клітинах присутні три Аврора-кінази, а саме Аврора 1, 2, 3. У тваринних клітинах також присутні три представники родини Аврора-кіназ, Аврора А, В і С, які демонструють різні субклітинні розподіли. Аврора А локалізується в центросомі та вздовж мікротрубочок мітотичного веретена в клітинах, що діляться, де вона відіграє важливу роль у дозріванні центросоми та організації і підтримці полюса веретена [2]. Було також показано, що Аврора А асоціюється з центросоміном у місці зародження мікротрубочок у клітинах дрозофіли та ссавців [3]. Окрім своїх центросомальних функцій, Аврора А регулює багато процесів під час ініціації мітозу. Наприклад, вона бере участь у регулюванні прогресування клітинного циклу, оскільки нестача Аврора А затримує хромосомну конденсацію та активацію *CDK1* (циклінзалежної кінази 1) [4]. Аврора А разом зі своїм активатором *TPX2* (таргет білок для *Xklp2*), відіграє важливу роль у складанні веретена, і взаємодія між двома молекулами необхідна для визначення довжини веретена, головним чином через зародження мікротрубочок [5,6]. Крім того, *RanGTP* (пов'язаний з *RAs* ядерний білок, зв'язування *GTP*) вивільняє *TPX2* із комплексу з імпортином, стимулює *TPX2* взаємодіяти з Аврора А, а активована Аврора індукує утворення біполярних веретен шляхом фосфорилування численних мішеней [7].

Аврора В локалізується вздовж хромосом під час профазі, накопичується в центромерах під час метафазі та локалізується в борозні

розщеплення в анафазі та в середині тільця Флеммінга в телофазі. Крім того, як хромосомний пасажир, Аврора В необхідна для нормальної хромосомної сегрегації та цитокінезу [1]. Мутація одного сайту в каталітичному домені Аврора А перетворює її на кіназу типу Аврора В, яка взаємодіє з білками-пасажирами хромосоми замість білка *TPX2* і демонструє субклітинні локалізації та функції, характерні для Аврора В [8]. Крім того, Аврора В відповідає за зупинку мітозу за відсутності функціональної Аврора А [9]. Також було показано, що активна Аврора В, пов'язана з мікротрубочками веретена, сприяє формуванню веретена шляхом передачі просторових сигналів від хромосом [10].

Аврора-кінази є надважливими для поділу еукаріотичних клітин і наразі інтенсивно вивчаються [11,12]. Було показано, що дерегуляція активності деяких аврора-кіназ бере участь у мітотичних збоях, що призводять до раку [13]. Таким чином, вони є цінними мішенями для протипухлинної терапії, і величезна кількість досліджень сприяла до детального розуміння молекулярних шляхів, у яких вони задіяні (рис. 1).

(А) Аврора-кінази тварин і рослин беруть участь у різних мітотичних процесах. Тварини мають три Аврора-кінази (А,В,С) [13]. Рослини, зокрема, Арабідопсис (Гусимка звичайна) також мають три Аврора-кінази, які підрозділяються на групи α -Аврора (Аврора 1 і 2) і β -Аврора (Аврора 3) [14]. Подібно до тваринної Аврори А, група α -Аврора Арабідопсис бере участь у створенні біполярних веретен, модифікацій хроматину (гістону) і асиметрії при формувальних поділах клітин [15,16,17]. Подальші функції Аврора-кінази А тварин включають дозрівання центросом, їх відокремлення і, потенційно, відновлення ДНК [18]. Крім того, передбачається функція цитокінезу, а також, особливості притаманні тваринним Аврорам В/С, також відносять до α -Аврора-кіназ [13,14,19,20]. β -Аврора-кіназа Аврора 3 бере участь у прикріпленні кінетохорів до мікротрубочок, подібним чином які і тваринні Аврори В/С [13,21]. Крім того, Аврора В сприяє конденсації хроматину, зчепленості сестринських хроматид, збірці мітотичного веретена

та бі-орієнтації хромосом, але дані функції ще не були доведені для рослинних Аврора-кіназ [22,23,24]. Пунктирні лінії позначають гіпотетичні зв'язки.

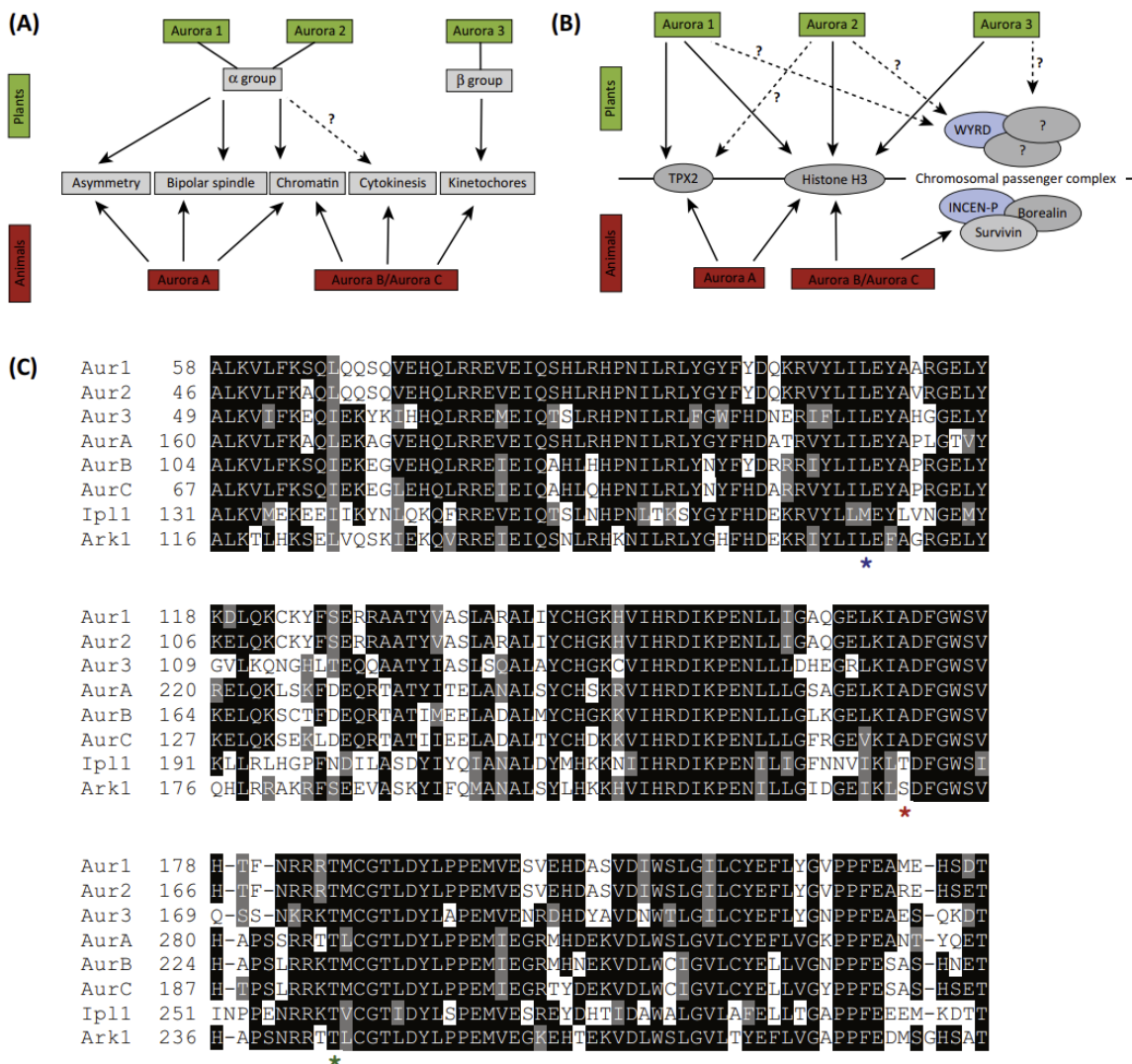


Рисунок 1.1 – Функціональна відмінність Аврора-кіназ рослин і тварин.

(B) Специфічність Аврора-кіназ залежить від їхніх партнерів по взаємодії. Тваринна Аврора А в основному взаємодіє з *TPX2* (цільовим білком для кінезиноподібного білка 2 Ксенопус (Хенорус)) [25], тоді як Аврори В/С в основному функціонують як члени хромосомно-пасажирського комплексу (*CPC*). Партнери по взаємодії та субстрати для рослинних Аврора-кіназ залишаються дефіцитними. Усі три Аврора-кінази Арабідопсису можуть фосфорилувати гістон *H3*, як і тваринні Аврори А/В/С [13,26]. Крім

того, Аврора 1 може взаємодіяти з рослинним гомологом *TPX2* і фосфорилувати його [27]. Чи є дана особливість унікальною для Аврора 1, або *TPX2* є субстратом для обох членів групи α - Аврора, все ще залишається невідомим і потребує подальшого дослідження. На сьогоднішній день *CPC* не виявлено в рослинах. Однак нещодавно було висловлено припущення, що білок *WYRD* (передбачуваний гомолог *INCEN-P* Арабідопсису) може бути частиною рослинного *CPC* [28]. Пунктирні лінії позначають гіпотетичні зв'язки.

(С) Часткове вирівнювання послідовності Аврора-кінази 1 Арабідопсису (*AT4G32830*; *UniProtKB: Q9M077*), Аврора-кінази 2 (*AT2G25880*; *UniProtKB: Q683C9*) і Аврора-кінази 3 (*AT2G45490*; *UniProtKB: Q64629*), людської Аврора-кінази А (*UniProtKB: O14965*), Аврора-кінази В (*UniProtKB: Q96GD4*) і Аврора-кінази С (*UniProtKB: Q9UQB9*), а також гомологів *Ipl1p* (*UniProtKB: J8PVQ6*) і *Ark1* (*UniProtKB: O59790*) *S. cerevisiae* і *S. pombe* відповідно. Синя зірочка вказує на залишок “gatekeeper” в шарнірній області домену кінази, який був модифікований (*L166A*) для отримання аналого-чутливої кінази *Ark1* [29]. Червона зірочка позначає залишок *T244 Ipl1p* у АТФ - зв'язувальній кишені. Модифікація цього залишка до *T244A* призводить до появи чутливості до об'ємного аналога АТФ *1-NA-PP1* [30]. Аврора-кінази як людини, так і Арабідопсису мають залишок аланіну в цьому положенні. Зелена зірочка вказує на *T288* Аврора-кінази А людини, петля активації кінази, яка зберігається в усіх наведених тут гомологах [31]. Для повного вирівнювання послідовності Аврора-кінази з різних видів див. [14].

У той час як дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* і *Schizosaccharomyces pombe* містять лише один гомолог Аврора-кіназ, *Ipl1p* (збільшення плоідності 1) і *Ark1* (споріднена з Аврора-кіназою 1), відповідно [32,33], *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila mela nogaster*, і *Xenopus laevis* містять дві Аврора-кінази: Аврора А і Аврора В [13]. Ссавці мають три Аврора-кінази, А, В і С (рис. 1). У тварин і дріжджів було охарактеризовано кілька субстратів для

обговорюваного типу кіназ [13], більшість з яких беруть участь у мітозі з різними ролями: вирівнювання хромосом, розділення та дозрівання центросом, модифікації хроматину та конденсація до (біполярного) веретена поділу, контроль точки веретена та цитокінез [13,22,23].

Перший консенсусний сайт фосфорилування Аврора-кіназ був ідентифікований для *Ipllp* [34] і пізніше також адаптований для людської Аврори А [35-37].

На відміну від дріжджів і тварин, роль рослинних Аврора-кіназ тільки починає досліджуватися. На основі філогенетичного аналізу, локалізації та функціональної дивергенції рослинні Аврора-кінази можна згрупувати у дві групи, α -Аврора та β -Аврора (рис. 1 А, В). Тоді у вищих рослин присутні члени з обох груп, нижчі рослини, такі як *Marsilea* (*M. vestita*) і *Physcomitrella* (*P. patens*), містять лише α -Аврора кінази [14]. Геном Арабідопсису (*A. thaliana*) кодує три Аврора-кінази, які належать до двох некомплементарних груп α -Аврора (Аврора 1 і Аврора 2) і β -Аврора (Аврора 3) (рис. 1).

α -Аврори Арабідопсису демонструють дуже схожу інтрон-екзонну структуру і, можливо, походять від ранньої події дуплікації [14]. Цікаво, що геноми ячменю (*Hordeum vulgare*) [38] і рису (*Oryza sativa*) [39] кодують лише одну Аврора-кіназу в кожній групі. Також, було передбачено збережений простір деградації з сайтами для убіквітування, сайтами для сумоїлювання, а також для взаємодія з циклінами, *MAPK* (протеїнкіназа, що активується мітогеном), *PPI* (протеїнфосфатаза 1) і *pRb* (білок ретинобластоми) [14,20]. Хоча наявність цих доменів потенційно пов'язує Аврора-кінази з важливими регуляторами клітинного циклу, прямі функціональні докази цього відсутні.

1.1. Локалізація аврора-кіназ

Транскрипти рослинних Аврора-кіназ у великій кількості присутні в молодих тканинах коренів і квіток [14,15], що відповідає їх ролі в клітинах,

що активно діляться. Експресія Аврора 1, Аврора 2 і Аврора 3 досягає піку на початку мітозу і знижується в кінці мітозу [14,40].

Під час дослідження Аврора-кіназ в клітинах яскраво-жовтого 2 тютюну (*BY-2*) і клітинах меристем кореня Арабідопсису, було виявлено їх внутрішньоклітинне націлювання під час інтерфази та мітозу. Перед поділом Аврора 1 і Аврора 2 були виявлені в цитоплазмі, але в основному локалізовані в нуклеоплазмі [14,19,20,15]. Перед руйнуванням ядерної оболонки, Аврора 1 і Аврора 2 виходять з ядра і мігрують до профазного веретена [14]. Обидві кінази демонструють динамічну локалізацію протягом мітозу, оскільки вони є асоційованими з мікротрубочками профазного та кінетохорного веретен, під час метафази та анафази, а також зі зростаючою клітинною пластинкою під час цитокінезу [14,41,19,20,15]. Локалізація Аврора 1 і Аврора 2 виявилася подібною до локалізації *g*-тубуліну, і тому була запропонована роль Аврора-кіназ в стабільності мікротрубочок [14,19,20]. Незважаючи на те, що локалізації Аврора 1 і Аврора 2 подібні, Аврора 2, ймовірно, накопичується менше на клітинній пластині, що розширюється, ніж Аврора 1 [14,19]., що може бути пов'язаним зі специфічною для цитокінезу функцією Аврора 1 і функціональною диверсифікацією, коли присутні як Аврора 1, так і Аврора 2. Однак, за відсутності функціональної Аврора 1, Аврора 2 концентрується більш рясно на клітинній пластині [15].

β -Аврора-кіназа (Аврора 3) присутня в нуклеоплазмі та в хромоцентрах інтерфазних ядер меристем. Її локалізація в центромерах під час метафази [14] свідчить про те, що вона, ймовірно, відіграє певну роль у розділенні хромосом. Надмірна експресія Аврора 3 у клітинах *BY-2* призводить до незвичайних моделей поділу клітин з аномальною орієнтацією поділу та дефектами формування веретена, тоді як надекспресія Аврора 1 та Аврора 2 не показала подібних фенотипів [19]. Аномальні веретена поділу в клітинах з надлишковою експресією Аврора 3 можуть вказувати на певну роль даної кінази у динаміці мікротрубочок, тоді як на утворення препрофазної смуги

(PPV), яка визначає майбутню площину поділу в рослинах, впливу виявлено не було [19]. Досі залишається відкрите питання, чи бере Аврора 3 безпосередню участь у динаміці мікротрубочок, і чи значно підвищені рівні Аврора 3 заважають функціонуванню групи α - Аврора. Нещодавно було виявлено, що всі три Аврора-кінази (1, 2, 3) локалізуються в чоловічих і жіночих гаметофітах, що свідчить про їх можливу важливу функцію під час мейозу рослин [42].

Хоча рослинні Аврора-кінази можна чітко згрупувати у функціональні класи, ролі відповідних класів, ймовірно, еволюційно не збереглися. Аврора 1 маркує кінетохорні мікротрубочки [15], подібно до Аврори А ссавців, тоді як її націлювання на клітинну пластинку нагадує особливості Аврори В у борозні розщеплення. Функція білків Аврори 3 на кінетохорах відповідає функції В-типу, але, натомість, вона не переміщується до клітинної пластинки, що формується, як це робить Аврора В під час цитокінезу. В порівнянні з тваринними Аврора-кіназами, всі рослинні Аврора-кінази містять гліцин у своєму кіназному домені, та амінокислоту, типову для людської Аврора А в цій позиції [20]. Крім того, рослини не мають класичних центросом, куди спрямована Аврора А, щоб посилити полімеризацію мікротрубочок для формування веретена [37]. Однак рослини містять центри організації мікротрубочок (МТОС) на своїй ядерній поверхні [41,43], де розташовані Аврора 1 і Аврора 2 [14], що можна розглядати як додаткову ознаку змішаної особливості Аврора-кіназ тварин і рослин. Крім того, як Аврора 1, так і Аврора 2 демонструють динамічну релокалізацію під час мітозу, подібно до Аврори В. Це доводить те, що рослинні Аврора-кінази мають більш змішані характеристики порівняно з Аврора-кіназами тваринного типу (рис. 1).

1.2. Партнери по взаємодії та специфічність

Аврора-кінази набувають своєї функціональної специфічності через асоціацію з різними партнерами по взаємодії. Аврора А, наприклад,

взаємодіє з *TPX2* (націлений білок для кінезиноподібного білка 2 *Xenopus*), який важливий для зародження мікротрубочок та для складання веретена поділу [25] (рис. 1B), тоді як Аврора В пов'язана із внутрішніми субодиницями хромосомного пасажирського комплексу білок-центромера (*INCEN-P*), сурвівіном та бореаліном [13] (рис. 1B). Зв'язування з різними партнерами по взаємодії, ймовірно, визначає просторову компартменталізацію і, як наслідок, різні функції Аврора-кіназ [44].

Важливість інтеракторів для функції Аврора-кіназ підкреслюється тим фактом, що одна точкова мутація в людському каталітичному домені Аврора А (*G198N*) може перетворити його в Аврора В шляхом сприяння його взаємодії з *CPC* [45]. Крім того, Аврора В може індукувати зупинку мітозу в клітинах *HeLa*, якщо Аврора А не функціонує [46]. У мишей Аврора С функціонує у встановленні мейотичного веретена в ооцитах [47] і під час сперматогенезу [48]. Однак Аврора С, що експресується під промотором Аврора В, може зменшити недостачу Аврора В, що вказує на те, що обидві вони функціонують подібним чином [49]. Подібно до Аврора-кіназ з інших королівств, рослинні Аврора-кінази також можуть досягти функціональної специфічності через своїх партнерів по взаємодії. Генотип Арабідопсису кодує один гомолог *TPX2* [50] і вісім *TPX2*-подібних білків. *TPX2* і чотири *TPX2*-подібних білків містять Аврора-зв'язувальні мотиви [27,51]. За винятком одного *TPX2*-подібного білка у дрозофіли [52], жодних інших *TPX2*-подібних білків на сьогоднішній день не було зареєстровано в інших королівствах, і можна припустити, що розширення цієї родини в геномах рослин корелює з встановленням ацентросомального біполярного веретена поділу. *TPX2* Арабідопсису працює в біполярному шпиндельному вузлі і його активність контролюється через ядерну секвестрацію [50]. Аврора 1 Арабідопсису також динамічно локалізується разом з *TPX2* протягом мітозу від профазного веретена до ранньої телофази. *TPX2* містить два мотиви зв'язування з Аврора-кіназою та сайти націлювання для мікротрубочок [20,50]. Було припущено, що взаємодія Аврора 1 з *TPX2* необхідна для його стабілізації та

залежної від клітинного циклу локалізації на мікротрубочках під час мітозу [20]. Нещодавно було показано, що *TPX2* більш імовірний бути субстратом Аврора 1, ніж Аврора 3, але точні сайти фосфорилування ще належить визначити. *In vitro*, *TPX2* повної довжини не фосфорилується Авророю 3, але, натомість, можна спостерігати низькі рівні фосфорилування більш стабільної форми *TPX2* (*TPX2DN*) Авророю 3 [27]. Залишається невідомим, чи це також відображає ситуацію *in vivo*. Крім того, взаємодія *TPX2* і Аврора 1 збільшує фосфорилування наступних мішеней, таких як гістон *H3* [27]. Крім того, було запропоновано, що *TPX2* має функцію автофосфорилування Аврори 1, опосередкованого Аврора-зв'язуючим доменом в *TPX2* [27]. Однак ще належить показати, якою мірою автофосфорилування рослинних кіназ Аврора відіграє роль у їх активності *in vivo* і чи існує, крім самого *TPX2*, функціональний зв'язок між *TPX2*-подібними білками та досліджуваними кіназами.

На відміну від *TPX2*, члени *CPC* (рис. 1B), такі як сурвівін, бореалін і *INCEN-P*, які асоціюються з Аврора В/С у тварин, не мають очевидних гомологів у рослинах. Однак нещодавно було виявлено ймовірний гомолог *INCEN-P*, названий *WYRD* [28].

Порівняння послідовностей між тваринним *INCEN-P* і рослинним *WYRD* показує, що загальне збереження надзвичайно погане і що рослинний гомолог вдвічі більший, ніж його тваринний аналог [28]. Незважаючи на це, *WYRD* містить характерний С-кінцевий спіральний домен та домен *IN-Box*, що зв'язують Аврора-кінази, та зберігаються в усіх королівствах [53]. Гомозиготні мутанти *WYRD* є гаметофітично летальними, натомість гетерозиготні рослини демонструють чіткі фенотипи розвитку, такі як порушення мітотичних поділів у чоловічому гаметофіті та ендоспермі. Крім того, гетерозиготні мутанти *WYRD* демонструють аберрантні площини ембріонального поділу [28], але чи є це дозуванням чи домінантно-негативним ефектом, залишається невідомим.

Поки що *WYRD* не був пов'язаний з жодною з трьох рослинних Аврора-кіназ. Встановлення того, чи *WYRD* є субстратом і чи функціонує як частина передбачуваного *CPC* комплексу, представляє майбутній виклик.

1.3. Функції Аврора-кіназ у рослин

1.3.1. Рослинні Аврора-кінази керують модифікаціями хроматину під час мітозу

Гістон *H3*, один із основних субстратів тваринних Аврора-кіназ [13,26], був першим ідентифікованим субстратом рослинних Аврора-кіназ. Усі три рослинні Аврори можуть фосфорилювати гістон *H3* за серином 10 [14,19], а обробка клітин *BY-2* або саджанців *Арабідопсису* інгібітором Аврора-кіназ гесперадином, пригнічує фосфорилювання гістону *H3* [54,55]. Незважаючи на те, що гістон *H3* є справжнім субстратом тваринних і рослинних Аврора-кіназ, його мотив фосфорилювання відрізняється від консенсусного мотиву. Однак відомі субстрати тваринних Аврора-кіназ, такі як пухлиносупресорний білок *p53*, також можуть бути фосфорильовані за дещо іншими мотивами [56,57]. Залишається невідомим, чи є ці приклади винятками, чи це вказує на те, що фактичний мотив є більш виродженим. Поки що тільки Аврора 1 була протестована на її здатність фосфорилювати інші залишки на гістоні *H3*, такі як *Thr3*, *Thr11* або *Thr32*, але жодного фосфорилювання не вдалося виявити [14]. Проте *Thr3* і *Thr11* були фосфорильовані мітотичною кіназою *haspin* [58], яка неохідна для активації Аврора В у клітинах тварин [59]. *Haspin* мутанти виявляють дефекти орієнтації площини поділу під час ембріогенезу в *Арабідопсису* [60], фенотип якого він поділяє з подвійним мутантом α -Аврора кінази [15].

До теперішнього часу гістон *H3* є єдиним білком хроматину, що описаний як субстрат рослинних Аврора-кіназ. Проте дослідження візуалізації живих клітин показало, що у клітинах *BY-2*, вирівнювання

центромерного гістону *H3* (*CenH3*) відбувається на екваторі веретена поділу та сегрегація хромосом сповільнюються після дії інгібітора гесперадина. Це відбувається, ймовірно, через аномальне прикріплення кінетохору до мікротрубочки [61].

У *S. cerevisiae* *Ipl1p* фосфорилує гістоновий *H3*-подібний центромерний білок *Cse4* (білок сегрегації хромосом *4X*) [62], необхідний для сегрегації хромосом. Крім того, людський центромерний гомолог гістону *H3* *CENPA* фосфорилується Аврора В [63], що дозволяє припустити, що рослинний *CenH3* також є субстратом рослинних Аврора-кіназ. Доза гесперадину, використана для вищезазначених експериментів, однак була в 40 разів більшою, ніж це було необхідно для блокування активності досліджуваної кінази у тварин. Таким чином, залишається ще визначити, чи спостережуваний ефект є специфічним саме для Аврор, чи інші кінази також йому піддаються. Крім того, була запропонована роль рослинних Аврора-кіназ в дисоціації когезії під час сегрегації хромосом. Однак тривалість мітозу та динаміка мікротрубочок суттєво не змінилися під час обробки інгібітором [61], що вказує на те, що індуковане гесперадином інгібування Аврор може бути знешкоджено.

1.3.2. Роль Аврора-кіназ під час розвитку рослин

Були використані різні підходи для функціональної характеристики рослинних Аврора-кіназ. У Арабідопсису поодинокі нокауті Аврора 1 і Аврора 2 за допомогою вставок транспортної ДНК (*T-DNA*) не показали явно розбіжних фенотипів порівняно з рослинами дикого типу. Алельні комбінації вставок *T*-ДНК α -Аврора-кіназ виявилися гаметофітично смертельними, і лише комбінація слабкого, ймовірно негерметичного алеля Аврора 1 і сильного алеля Аврора 2 давала життєздатні рослини [15]. Макроскопічно цей подвійний мутант має невеликий і куцистий вигляд порівняно з рослинами дикого типу та демонструє переривання розвитку насіння та пилку [15,42] (рис. 2). І Аврора 1, і Аврора 2, керовані своїми нативними

промоторами, зберігають подвійний мутантний фенотип, на відміну від експресії Аврора 3 під промотором Аврора 1. Це свідчить про надмірність у групі α - Аврора та функціональну розбіжність з β -групою Аврора. У мутанта з подвійним нокдауном α -Аврора фосфорилування гістону *H3* не зазнає суттєвого впливу [15], що свідчить про те, що фосфорилування гістону *H3* може здійснюватися адекватно Аврора 3 (рис. 1.2).

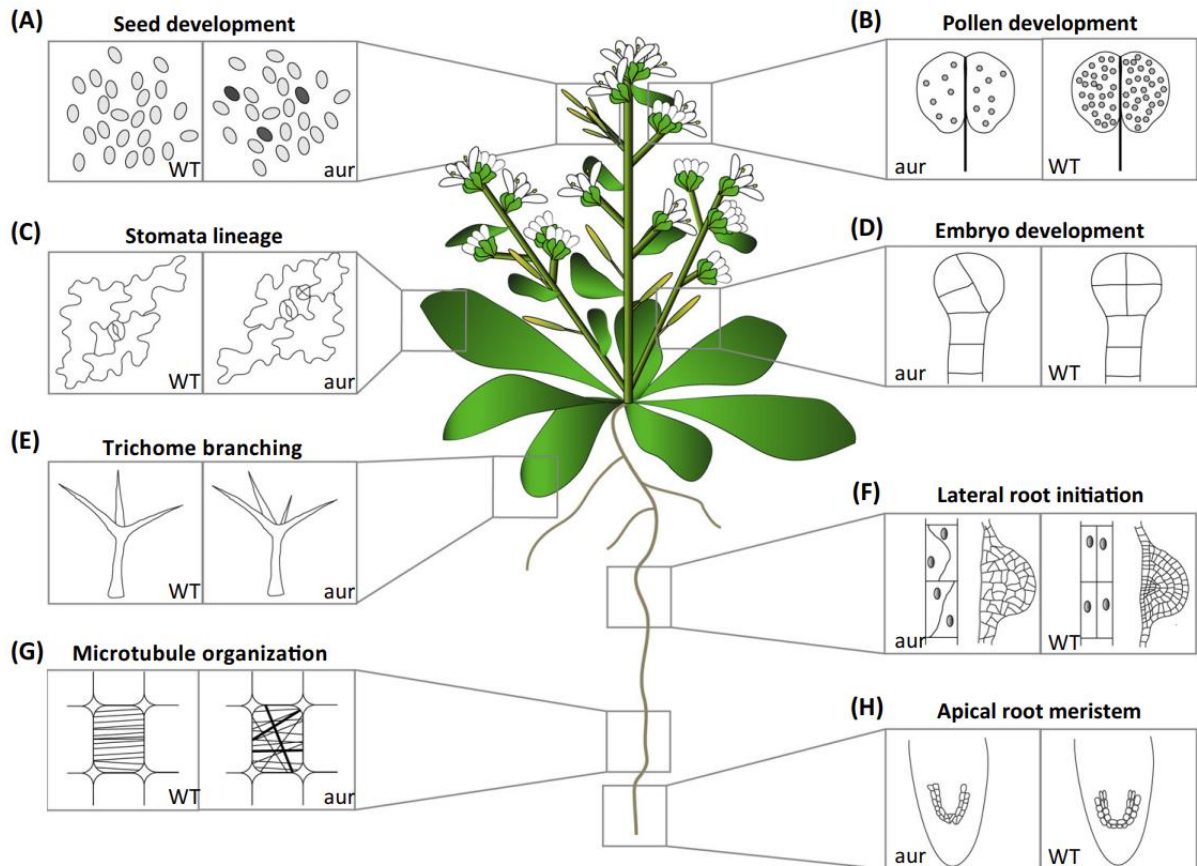


Рисунок 1.2 – Рослинні Аврора-кінази беруть участь у різних процесах розвитку.

Мутантний аналіз Арабідопсису виявив багато систем розвитку, в яких задіяні Аврора-кінази. Життєздатний подвійний мутант α -Аврори менший і густіший порівняно з рослинами дикого типу [15]. Фенотипи мутантної Аврори (*aur*) відображаються у квадратах у відповідних позиціях. Зовнішні квадрати зображують дикий тип (*WT*) для порівняння. Мутантні Аврори характеризуються: (A) низькою частотою (12%) абортів насіння

[15,42]; (B) дефектами під час розвитку пилку, що призводить до його меншої життєздатності [42]; (C) нерегулярними малими додатковими поділами в стоматальній лінії [20,15]; (D) дефекти орієнтації площини поділу під час розвитку ембріона [15]; (E) надмірно розгалужені трихоми [20]; (F) зв'язані та випадково розташовані мікротрубочки в клітинах кореня [20]; (G) аберантні периклінальні поділи замість антиклінальних орієнтованих поділів під час зародження бічного кореня [15] і (H) неправильні площини поділу навколо центру в апікальній кореневій меристемі [15].

Так само як додаток до вставок Т-ДНК, подібним чином експресія Аврора-кіназ може бути також знижена за допомогою конструкцій *RNAi*. Так як *RNAi*, націлена на Аврору 1, вплинула на чисельність усіх трьох рослинних Аврора-кіназ, тому *RNAi* не має специфічності, щоб зробити висновок щодо функції окремих членів [20]. Аналіз проточної цитометрії цих ліній *RNAi* показав підвищені рівні плоідності у молодих рослин в результаті передчасної ендореplikації [20], і це підкреслює важливу роль Аврора-кіназ під час мітозу, що додатково підтверджується спостереженням надрозгалужених трихом, для яких рівні ендореplikації є вирішальними [64]. Ендореplikація зазвичай також збільшує розмір ядра, але це не аналізувалося спеціально. Нещодавно була виділена лінія *RNAi* проти Аврори 3, яка демонструє сильне специфічне зниження її транскрипту, але не має очевидного мутантного фенотипу. Натомість, жодна рослина з сильним зниженням експресії Аврори 3 не може бути виявлена в мутантному фоні Аврори 1 [42]. Також спостерігається, що сильне зниження Аврори 3 є летальним у поєднанні з втратою Аврори 1. Тому Аврора 1 може, принаймні, частково замінити Аврора 3 *in vivo*. Аналіз подвійних мутантів Аврора 1 Аврора 2 і Аврора 3 *RNAi* трансформантів на фоні мутанта Аврора 1 показав, що вони демонструють порушений мейоз і утворюють триплоїд (2%) або комбінацію триплоїду (1%) і тетраплоїдні (10%) насіння відповідно [42]. У Арабідопсису не тільки знижена експресія Аврора-кіназ, але й надмірна експресія призводять до геномної нестабільності. Можна було отримати

лише рослини з надмірною експресією мічених [*GFP*, тег тандемної афінної очистки (*TAP*)] або усічених варіантів Аврора-кіназ. Наявність афінної мітки може впливати на активність Аврора-кіназ, таким чином роблячи їх надмірну експресію прийнятною для рослин. Однак трансформанти *35S::At* Аврора 1-*TAP* продемонстрували підвищену ендополіплоїдизацію, порушений мейоз і утворення невеликої кількості тетраплоїдного насіння (2%). Надмірна експресія усіченої Аврори 1 (300 *bp* нижче стартового кодону, включаючи невелику частину домену кінази) призвела до незбалансованої сегрегації хромосом під час мейозу та утворення 39% анеуплоїдного насіння [42]. Таким чином, у рослинах збалансована експресія Аврора-кіназ є важливою для належного виконання мітотичного та мейотичного поділів, а отже, для загального росту та розвитку (вставка 1).

Вставка 1. Анеуплоїдизація та поліплоїдизація в рослинах із зміненою транскрипцією Аврора-кіназ

Точна сегрегація хромосом під час поділу клітини є необхідною умовою стабільності геному. Таким чином, мітотичні та мейотичні поділи в усіх еукаріотичних організмах суворо контролюються, щоб забезпечити рівне розділення генетичного матеріалу між дочірніми клітинами. Однак деякі мутації або подразники навколишнього середовища зумовлюють незбалансовану регуляцію цього контрольного механізму, що призводить до утворення анеуплоїдного або поліплоїдного потомства. Анеуплоїди утворюються шляхом розмноження або делеції однієї або кількох хромосом у результаті їх нерозходження під час поділу клітини. Анеуплоїдизація може зустрічатися як у тварин, так і у рослин і може бути летальною або призвести до серйозних дефектів розвитку та фенотипових аномалій. Типовим прикладом анеуплоїдії є синдром Дауна у людей, пов'язаний з материнськими гаметами, що містять додаткову копію хромосоми 21. Хоча рослини більш толерантні до анеуплоїдизації, анеуплоїдні рослини демонструють затримку розвитку та знижену фертильність [65,66,67].

Поліплоїди можуть утворюватися, коли гамети обох або одного з батьків є передупкованими і містять повний набір дубльованих хромосом. Це може відбуватися в разі повного нерозходження хромосом під час мітотичного або мейотичного поділів. Якщо диплоїдна гамета зливається з гаплоїдною гаметою, може утворитися триплоїдна зигота. Однак у багатьох випадках триплоїдні організми нестабільні та стерильні.

У Арабідопсисису триплоїдні рослини є життєздатними та фертильними, але генетично нестабільними та дають анеуплоїдне потомство [68]. Поліплоїди, такі як тетраплоїди або гексаплоїди, більш стійкі і дуже поширені серед рослин (тетраплоїди - ріпак; гексаплоїди - хлібна пшениця). Штучне генерування поліплоїдів може мати вплив на сільське господарство, оскільки поліплоїдні нащадки зазвичай більш здорові, ніж їхні диплоїдні батьки. Однак, на відміну від природних форм, синтетичні поліплоїди менш стабільні та демонструють знижений ріст і фертильність, швидше за все, через несумісність генома, що призводить до змін у регуляції генів, включаючи мовчання генів [69].

Було показано раніше, що Аврора-кінази тварин беруть участь у регуляції складання кінетохорів і сприйнятті прикріплення мікротрубочок до центромер через фосфорилування компонентів CPC і веретена складання (SAC) відповідно [33,62]. Дерегуляція активності Аврора-кіназ призводить до мітотичних збоїв, анеуплоїдизації та прогресування раку [13]. У рослин участь Аврора-кіназ у фосфорилуванні компонентів CPC і SAC ще не досліджено. Однак той факт, що їх дерегульована експресія у Арабідопсису призводить до мітотичних і мейотичних дефектів, а саме до зниження росту та утворення невідновлених або анеуплоїдних гамет, свідчить про функціональне збереження Аврора-кіназ між тваринами та рослинами [42]. Таким чином, дослідження функціональної специфічності рослинних Аврора-кіназ дадуть розуміння еволюційних аспектів сегрегації хромосом в еукаріотів. Крім того, ці знання можуть допомогти знайти спосіб

контролювати та запобігати нестабільності генома видів сільськогосподарських культур.

1.3.3. Роль Аврора-кіназ у встановленні асиметрії у рослин

Життєздатний подвійний нокдаун-мутант в обох кіназах α -Аврори характеризується появою периклінальних замість антиклінальних поділів перициклу на початку утворення бічних коренів (вставка 2), що призводить до значного зниження їх щільності через перешкоджання росту бічних кореневих зачатків [15] (рис. 2). Це спостереження вказує на участь кіназ α -Аврори в орієнтації клітинних поділів і/або встановленні асиметрії. Дефекти визначення площини поділу, які спостерігаються у подвійних мутантів α -Аврори, ймовірно, не пов'язані з функцією утворення клітинної пластинки, оскільки клітинні пластинки динамічно розширюються в цьому мутантному фоні, а рятувальна конструкція обмежує активність Аврори 1 перед цитокінезом, націлюючи її на деградацію після метафазно-анафазного переходу, що може врятувати мутантний фенотип [15]. Принаймні під час ініціації бічного кореня виражені дефекти під час перших формуючих поділів (*FCD*) можуть бути наслідком того факту, що залишкова активність кінази, розведена в цих великих клітинах перицикла, залишається нижче критичного рівня для орієнтації клітинного поділу, що вказує на функцію, що залежить від рівня кінази. Подібна регуляція *FCD* спостерігалася для початкового дочірнього відділу кора-ендодерма в апікальній меристемі кореня, яка залежить від рівня активності циклінзалежної кінази *A1* (*CDKA1*), основного регулятора клітинного циклу [70]. Функція *CDKA1* у *FCD* працює через систему контролю транскрипції, опосередковану мішенню *CDKA1* - *RETINOBLASTOMARELATED 1* (*RBR1*). *RBR1* не тільки контролює гени клітинного циклу, але також гени, необхідні для *FCDs* і отримання клітинної долі. Таким чином, модуль *CDKA1/RBR1* безпосередньо пов'язує клітинну проліферацію з диференціюванням, і низькі рівні кінази достатні для симетричного поділу, але високі рівні необхідні для асиметричного поділу

клітин (*ACD*) у лінії коренів і продихів [70]. Подібний механізм можна віднести до функції кіназ α -Аврори, до того ж, і Аврора 1 містить передбачуваний сайт зв'язування *RBR* [20]. Проте те, які субстрати Аврора-кіназ спрямовані на регуляцію формуючих поділів, є відкритим полем для майбутніх досліджень.

Вставка 2. Асиметричний, формуючий, периклінальний та антиклінальний поділ клітини

Рослини в основному розвиваються постембріонально і демонструють величезну фенотипову пластичність. Тверда рослинна клітинна стінка фіксує клітини в тканинах, тому локальна організація та контроль орієнтації клітинного поділу має вирішальне значення для створення нових органів і типів клітин для збирання тіла рослини. Більшість клітинних поділів відбувається симетрично; однак це лише додає клітини до вже існуючих клітинних скупчень одного типу. Створення нових органів вимагає різноманітності клітин і, отже, жорсткої просторово-часової регуляції та порушення симетрії. Це відбувається шляхом так званих формуючих або асиметричних поділів (*FCDs*, *ACDs*). Термін формуючий поділ використовується для опису цих поділів з точки зору розвитку, що призводить до синтезу *de novo* органів і клітинних скупчень, які зазвичай знаходяться в нішах стовбурових клітин і клітинних ліній, що походять зі стовбурових клітин. У той час як формотворчі поділки здебільшого також асиметричні, симетричний поділ захисної материнської клітини, що виробляє дві захисні клітини продихів, також можна розглядати як формуючий поділ. З іншого боку, термін *ACD* використовується для опису поділів з клітинної точки зору, в яких утворюються дочірні клітини з різними клітинними долями та/або формами. *ACD* далі поділяються на дві категорії: (і) материнська клітина ділиться і виробляє дві клітини, одна з яких зберігає долю материнської стовбурової клітини, а дочірня клітина набуває іншої

клітинної ідентичності. (ii) Материнська клітина ділиться, утворюючи дві дочірні клітини з різними клітинними долями, в яких обидві відрізняються від ідентичності материнської клітини. Порушення симетрії може відбуватися через різні клітинні процеси, наприклад, через полярну локалізацію білків [71], встановлення градієнта [72,73,74], ядерний рух [75], міжклітинну комунікацію [76,77], рух клітини до клітини [78], або локальна експресія факторів транскрипції [79]. Асиметричні та формотворчі поділи часто супроводжуються специфічною зміною орієнтації площини поділу, як у випадку антиклінальних і периклінальних поділів. Геометричні терміни антиклінальний і периклінальний описують різні площини поділу клітини по відношенню до поверхні вже існуючого органу. Антиклінальний поділ клітин відбувається перпендикулярно, тоді як периклінальний поділ — паралельно поверхні органу. Фактичний механізм, за допомогою якого рослинні клітини діляться асиметрично та змінюють площину поділу, є давнім біологічним питанням. Однак спостереження про те, що подвійні нокдаун-мутанти Аврори переважно демонструють змінену орієнтацію площини поділу під час різних формуючих поділів протягом розвитку рослини, підтверджує їх роль у цьому процесі.

Незважаючи на те, що дефекти формувальної орієнтації площини поділу у мутантів α -Аврори були найсильнішими під час ініціації бічного кореня, інші *FCD* також впливають протягом усього розвитку [15]. Аберантні площини поділу спостерігалися для клітин, що оточують спокійний центр, а також під час ембріогенезу [15] (рис. 2). Хоча ці дефекти навряд чи відображають розчинення залишків кінази, аберантні ембріональні площини поділу подвійного мутанта Аврори дуже нагадують ті, що спостерігаються для мутантів *Wyrd* [28], що вказує на функціональний зв'язок між ними.

Навпаки, найвиразнішим фенотипом ліній, що містять Аврору 1 з *PHKi*, була серйозно пошкоджена первинна коренева апікальна меристема в результаті дефектного формування клітинної пластини [20], а рослини з *PHKi* демонстрували скупчення продихів і дефекти поділу захисних клітин [20].

Спостереження про те, що формативні поділки зазнають сильнішого впливу порівняно з проліферативними поділами у мутантів Аврори, вказує на важливу функцію цих кіназ у встановленні асиметрії.

Орієнтування площина поділу є вирішальним кроком для росту рослин і диференціації клітин, а організація цитоскелету є важливим компонентом цього розвитку [80]. Дивно, що кортикальні мікротрубочки були вражені в лініях *RHKi*, спрямованих на Аврора-кінази. У той час як рослини дикого типу демонструють регулярно організовані кортикальні мікротрубочки в подовжених корневих клітинах, трансформанти *RHKi* відображаються випадково розташовані та згруповані мікротрубочки [20] (рис. 1.2). *MAP65* (білок, асоційований з мікротрубочками приблизно 65 кДа), рослинний гомолог подовження веретена 1 анафази *S. cerevisiae* (*Ase1p*), був запропонований як передбачуваний субстрат рослинних Аврора-кіназ на основі присутності консенсусного мотиву фосфорилування тварин [81]. У дріжджах *Ase1p* фосфорилується за допомогою *Ipl1p* [82], тоді як *PRC1* (білковий регулятор цитокінезу 1), тваринний гомолог *MAP65* і *Ase1p*, не може фосфорилуватися за допомогою Аврора-кінази В тварин і не має консенсусних сайтів фосфорилування тваринних Аврора-кіназ [83]. Хоча функція Аврора-кіназ в організації мікротрубочок відповідатиме спостережуваним дефектам орієнтації площини поділу, механізм того, як Аврори можуть впливати на цитоскелет, ще має бути встановлений, а у функціонально позначених Аврора-кіназ ще не спостерігалася асаціяція з кортикальним цитоскелетом для Арабідопсису. На відміну від гомолога *CALK Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlamydomonas Aurora/Ipl1p*-подібний білок), який має домен, що зв'язує мікротрубочки [84], натомість жодного передбачуваного домену, що зв'язує мікротрубочки, не вдалося ідентифікувати в рослинних Аврора-кіназах на сьогоднішній день [14]. Тим не менш, функція Аврор в динаміці мікротрубочок ймовірна, враховуючи, що *TPX2* позначає мітотичні та кортикальні мікротрубочки [50,85]. Однак ні *TPX2*, ні Аврора 1 не позначають препрофазну смугу (*PPB*) у Арабідопсису.

1.4. Характеристика відомих інгібіторів

1.4.1. Барасертиб (AZD1152)

Барасертиб (AZD1152, таблиця 1.1) — це проліки на основі фосфатів, які швидко перетворюються на барасертиб-*hQPA* (таблиця 1) *in vivo* [86,87]. Барасертиб -*hQPA* вибірково пригнічує кіназу Аврора-В (Аврора В-*INCENP* $K_i < 0,001$ мкМ) порівняно з Аврора-А $K_i = 1,4$ мкМ [86]. У клінічних дослідженнях барасертиб оцінювався у пацієнтів із суцільними злоякісними пухлинами [88], розвиненими суцільними пухлинами [89] і гематологічним раком [90-93]. Фармакокінетичні профілі барасертибу та барасертибу-*hQPA* були досліджені в невеликому дослідженні фази I за участю пацієнтів із вперше діагностованим, рецидивуючим або рефрактерним гострим мієлоїдним лейкозом [87], і в цьому дослідженні один пацієнт досяг повної відповіді. У дослідженні фази 1/2 для вивчення безпеки, ефективності та фармакокінетики барасертибу у пацієнтів із пізнім ГМЛ (Гострий мієлобластний лейкоз) барасертиб вводили у вигляді безперервної 7-денної інфузії кожні 21 день, а *MTD* було встановлено як 1200 мг [90]. У частині В цього дослідження 32 пацієнти отримували барасертиб у дозі 1200 мг. Найчастішими побічними ефектами ≥ 3 ступеня були фебрильна нейтропенія та стоматит/запалення слизової [90]. У цьому дослідженні лікування барасертибом призвело до загальної частоти гематологічної відповіді у 25% із керованим профілем токсичності [90]. Дослідження фази I для вивчення безпеки, фармакокінетики та ефективності барасертибу при поширеному ГМЛ також було проведено за участю японських пацієнтів [91]. Пацієнти отримували барасертиб безперервно протягом 7 днів внутрішньовенно [90]. Фебрильна нейтропенія, нейтропенія, лейкопенія та тромбоцитопенія були найчастішими побічними явищами ≥ 3 ступеня [91], і в цьому дослідженні загальна частота гематологічної відповіді 19% відповідала частоті відповіді, яку спостерігали Lowenberg та ін. [90].

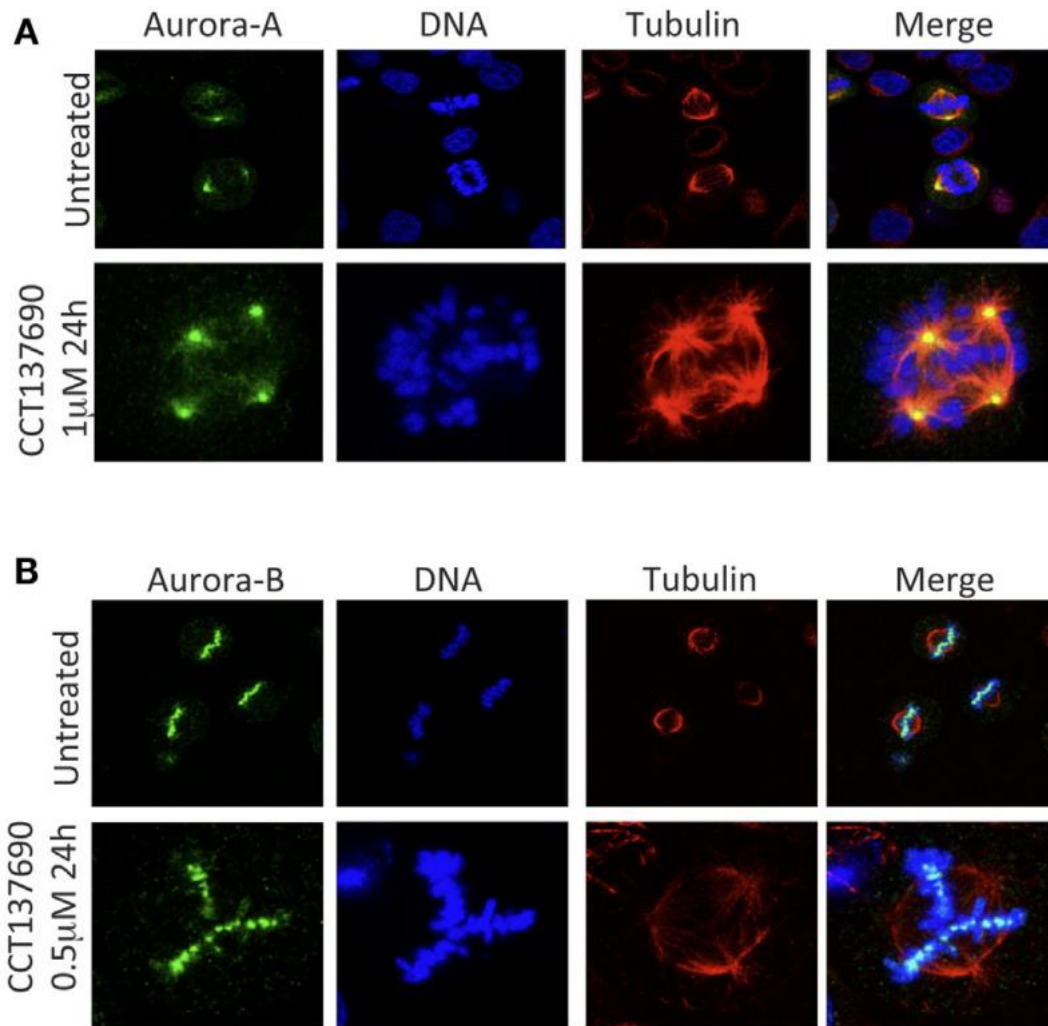


Рисунок 1.3 – Інгібування Аврор-А та Аврор-В викликає мітотичні аберації.

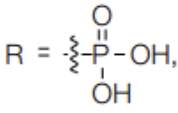
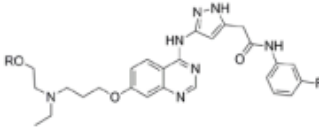
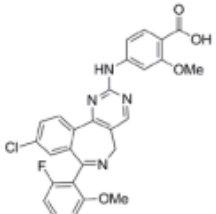
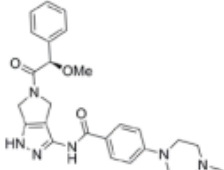
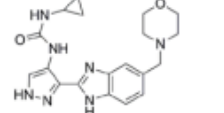
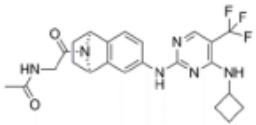
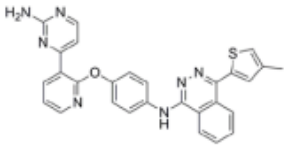
(А) Інгібування Аврор-А індукує тимчасову зупинку мітозу, клітини виходять із мітозу з формуванням мультиполярного та монополярного веретен, що призводить до апоптозу. (В) Інгібування Аврор-В викликає ендоредублікацію, зміщення хромосом і поліплоїдію.

У частині В цього дослідження, 32 пацієнти отримували барасертиб у дозі 1200 мг. Найчастішими побічними ефектами були фебрильна нейтропенія та стоматит/запалення слизової [90]. У цьому дослідженні лікування барасертибом призвело до загальної частоти гематологічної відповіді у 25% із керованим профілем токсичності [90]. Дослідження фази І для вивчення безпеки, фармакокінетики та ефективності барасертибу при поширеному МПД також було проведено за участю японських пацієнтів [91].

Пацієнти отримували барасертиб безперервно протягом 7 днів у вигляді внутрішньовенної інфузії кожні. Фебрильна нейтропенія, нейтропенія, лейкопенія та тромбоцитопенія були найчастішими побічними явищами ≥ 3 ступеня [91], і в цьому дослідженні загальна частота гематологічної відповіді 19% відповідала частоті відповіді, яку спостерігали Lowenberg та ін. [90].

Безпека та переносимість барасертибу також оцінювалися в комбінації з низькими дозами цитозин-арабінозиду (*LDAC*) у пацієнтів літнього віку з нещодавно діагностованим *ГМЛ*, які вважаються непридатними для інтенсивної індукційної хіміотерапії [92]. У цьому дослідженні пацієнти отримували барасертиб (7-денна безперервна внутрішньовенна інфузія з 1 по 7 день) і *LDAC* 20 мг (підшкірно двічі на день з 1 по 10 день) у 28-денних циклах лікування. Ця комбінація показала прийнятну переносимість у дозах до 1000 мг барасертибу включно, що було встановлено як *МПД*; найпоширенішою побічною подією ≥ 3 ступеня була фебрильна нейтропенія. У цьому дослідженні комбінація барасертибу та *LDAC* призвела до загальної відповіді на лікування 45% [92]. Ефективність, безпека та переносимість барасертибу порівняно з *LDAC* у пацієнтів похилого віку з *ГМЛ* також досліджувались у рандомізованому дослідженні II фази [93]. У цьому дослідженні пацієнти були рандомізовані 2:1 для введення або барасертибу 1200 мг (у вигляді 7-денної безперервної внутрішньовенної інфузії) або *LDAC* 20 мг (підшкірно двічі на день протягом 10 днів) у 28-денних циклах. Повідомлялося, про вищу об'єктивну повну відповідь при лікуванні барасертибом: 35,4% порівняно з 11,5%, що спостерігалось при лікуванні *LDAC*. Середня загальна виживаємість пацієнтів, які отримували лікування барасертибом, була довшою порівняно з тією, що спостерігалася при лікуванні *LDAC* [93]. Барасертиб мав більш токсичний профіль безпеки порівняно з таким при лікуванні *LDAC*, побічними ефектами, які найчастіше спостерігалися, були стоматит (71% у групі барасертибу проти 15% у групі *LDAC*) і фебрильна нейтропенія (67% у групі барасертибу проти 19% у групі *LDAC* ; [93])

Таблиця 1.1 – Інгібітори Аврора-кінази в клінічних випробуваннях

Compound	Structure	Aurora inhibition	Reference
<p>R = </p> <p>Barasertib (AZD1152) R = H, Barasertib-hQPA</p>		Aurora-A $K_i = 1.4 \mu\text{M}$ Aurora-B $K_i < 0.001 \mu\text{M}$; for barasertib-hQPA	(28–35)
Alisertib (MLN8237)		Aurora-A $IC_{50} = 1.2 \text{ nM}$ Aurora-B $IC_{50} = 396.5 \text{ nM}$	(36–47)
Danusertib (PHA-739358)		Aurora-A $IC_{50} = 13 \text{ nM}$ Aurora-B $IC_{50} = 79 \text{ nM}$	(48–56)
AT9283		Aurora-A: 52% inhibition at 3 nM Aurora-B: 58% inhibition at 3 nM	(57–64)
PF-03814735		Aurora-A $IC_{50} = 5 \text{ nM}$ Aurora-B $IC_{50} = 0.8 \text{ nM}$	(65, 66)
AMG 900		Aurora-A $IC_{50} = 5 \text{ nM}$ Aurora-B $IC_{50} = 4 \text{ nM}$	(67–70)

1.4.2. Алісертіб (MLN8237)

Алісертіб (MLN8237; таблиця 1.1) є селективним інгібітором кінази Аврора-А з IC₅₀ проти Аврора-А 1,2 нМ і 396,5 нМ проти Аврора-В [94,95]. Алісертіб було детально охарактеризовано на доклінічних моделях *in vitro* та *in vivo*. Він демонструє антипроліферативну активність у широкому діапазоні людських пухлинних клітинних ліній, включаючи клітини легенів, передміхурової залози, яєчників і лімфоми [94]. Що стосується педіатричних ракових захворювань, MLN8237 має активність проти клітинних ліній нейробластоми та саркоми Юінга та є ефективним у моделях ксенотрансплантата нейробластоми та гострого лімфобластного лейкозу [96]. *In vitro* алісертіб також порушує життєздатність клітинних ліній ГМЛ і первинних клітин ГМЛ [97] і значно підвищує *in vitro* та *in vivo* ефективність нілотинібу [98]. З огляду на його широкий спектр активності на доклінічних моделях, алісертіб оцінювався в клінічних дослідженнях фази I та II у пацієнтів із прогресуючими суцільними пухлинами [99-101], у дітей з рефрактерними/рецидивними суцільними пухлинами [102] та при гематологічних злоякісних пухлинах. У фазі I дослідження MLN8237 у рецидивній/рефрактерній множинній мієломі, неходжкінській лімфомі та хронічній лімфолейкемії пацієнти отримували алісертіб перорально у формі порошку в капсулах (PIC) або таблеток з кишковорозчинною оболонкою (ECT) [103]. Найпоширенішими побічними ефектами ≥ 3 ступеня були нейтропенія, тромбоцитопенія, анемія та лейкопенія. У цьому дослідженні часткові відповіді спостерігалися у 6 пацієнтів (13%), а у 13 пацієнтів (28%) захворювання було стабільним протягом 1,9–11 місяців [103]. Рекомендована доза II фази алісертіб (препарат ECT) становила 50 мг двічі на день протягом 7 днів у 21-денних циклах (тобто 7-денне лікування з подальшим 14-денним періодом відновлення; [103]).

Алісертіб оцінювали в дослідженні II фази у пацієнтів з рецидивуючими та рефрактерними агресивними В- і Т-клітинними неходжкінськими лімфомами, і в цьому дослідженні алісертіб застосовували

перорально по 50 мг двічі на день протягом 7 днів у 21-денних циклах [104]. Найчастішими побічними ефектами ≥ 3 ступеня були нейтропенія, лейкопенія, анемія та тромбоцитопенія. У цьому дослідженні загальний рівень відповіді для всіх пацієнтів, які отримували лікування, становив 27% [104]. У дослідницькому дослідженні фази II алісертиб оцінювали при ГМЛ і мієлодиспластичному синдромі (МДС; [105]). У цьому дослідженні алісертиб застосовували по 50 мг двічі на добу протягом 7 днів у 21-денних циклах і продемонстрували помірну антилейкемічну активність окремого препарату. У пацієнтів з ГМЛ спостерігався 17% загальний рівень відповіді із стабільним захворюванням [105], але не було повідомлено про відповіді у пацієнтів з МДС. Найпоширенішими побічними ефектами ≥ 3 ступеня були фебрильна нейтропенія, анемія, тромбоцитопенія, нейтропенія та втома [105].

1.4.3. Данусертиб (PNA-739358)

Данусертиб (PNA-739358, таблиця 1.1) є потужним інгібітором усіх трьох ізоформ кінази Аврора (Аврора -А $IC_{50} = 13$ нМ, Аврора -В $IC_{50} = 79$ нМ, Аврора -С $IC_{50} = 61$ нМ) [106,107]. На додаток до кіназ Аврора, PNA-739358 має інгібіторну активність щодо ряду інших кіназ, які є значущими як протипухлинні мішені, таких як *ABL*, *RET* і *TRK-A* [106-107]. PNA-739358 інгібує як дикий тип, так і мутантну ізоформу *ABL*-кінази з клінічним значенням, зокрема *ABL (T315I)*, яка є однією з найпоширеніших мутацій, виявлених у резистентних до імаїнібу пацієнтів [108].

У клінічних умовах данусертиб оцінювався у пацієнтів із прогресуючими або метастатичними суцільними пухлинами [109,110]. У цих дослідженнях фази I та II данусертиб загалом добре переносився, нейтропенія була однією з найбільш поширених гематологічних токсичних явищ, але виявив лише незначну протипухлинну активність у пацієнтів із розповсюдженими суцільними пухлинами, які не мали результату системної терапії [110]. Крім того, данусертиб продемонстрував лише мінімальну ефективність, коли його оцінювали в рандомізованому дослідженні фази II у

пацієнтів з метастатичним кастраційно-резистентним раком передміхурової залози після невдачі доцетакселу [111]. В іншому дослідженні фази I данусертиб вводили у вигляді 24-годинної інфузії кожні 14 днів з гранулоцитарним колонієстимулюючим фактором (*G-CSF*) і без нього та оцінювали його у пацієнтів із прогресуючими солідними пухлинами [112]. *PNA-739358* також досліджували при гематологічних злоякісних новоутвореннях, включаючи дослідження II фази у пацієнтів із хронічним мієлоїдним лейкозом (*ХМЛ*), які рецидивували на іматинібі або іншій таргетній терапії [113]. У цьому дослідженні було зареєстровано дві повні гематологічні відповіді у пацієнтів, обидва з яких мали мутацію *T315I BCR-ABL*. Пацієнти отримували данусертиб у вигляді 6-годинної інфузії один раз на тиждень, яка, як повідомляється, добре переносилася [113]. Данусертиб також оцінювали в дослідженні I фази у дорослих пацієнтів із прискороною або бластною фазою *ХЛЛ* (хронічний лімфатичний лейкоз) та *ГМЛ* із позитивною філадельфійською хромосомою, резистентними або непереносимими до іматинібу та/або інших інгібіторів *ABL*-кінази другого покоління [114]. У цьому дослідженні данусертиб вводили шляхом 3-годинної внутрішньовенної інфузії щодня протягом 7 днів поспіль у 14-денному циклі (схема А) або 14 днів поспіль у 21-денному циклі (схема В). Найчастішими побічними ефектами 3–4 ступеня були анемія, діарея та фебрильна нейтропенія. Четверо (20%) із двадцяти пацієнтів, які підлягали оцінці, відповіли на лікування, усі проходили лікування за схемою А та мали мутацію *T315I BCR-ABL* [114]. Загалом у цьому дослідженні данусертиб продемонстрував прийнятний профіль токсичності, а також багатообіцяючу активність у пацієнтів із прогресуючими гематологічними злоякісними новоутвореннями, резистентними до іматинібу та/або інших інгібіторів *ABL*-кінази другого покоління [114].

1.4.4. AT9283

AT9283 (Таблиця 1.1) є маломолекулярним багатоцільовим інгібітором кінази з потужною активністю проти Аврора-кіназ (Аврора -А: 52% інгібування при 3 нМ; Аврора-В: 58% інгібування при 3 нМ; [115]). Інші кінази, які пригнічуються AT9283, мають значення як протипухлинні мішені, включають *JAK2*, *FLT-3* і *ABL(T315I)* [115]. AT9283 продемонстрував потужну антипроліферативну активність проти резистентних до іматинібу клітин *BCR-ABL+*, включаючи ті, що несуть мутацію *ABL(T315I)* [116]. AT9283 виявляв потужну інгібіторну активність щодо ряду клітинних ліній твердотільних пухлини людини [117] і антипроліферативну активність проти агресивних ліній *B-NHL* (неходжкінської лімфоми) людини [118]. AT9283 оцінювали в фазі I клінічних випробувань у пацієнтів із прогресуючими твердотільними злоякісними пухлинами [119], прогресуючими злоякісними новоутвореннями (вводять у вигляді щотижневої 24-годинної інфузії; [120]) та у дітей та підлітків із твердотільним пухлинами [121]. Також повідомлялося про фазу I та фармакодинамічне дослідження AT9283 у пацієнтів з рецидивним/рефрактерним лейкозом або мієлофіброзом [122]. У початковій частині цього дослідження, AT9283 вводили у вигляді 72-годинної безперервної інфузії кожні 21 день; а в другій частині дослідження тривалість інфузії збільшували послідовно (із кроком 24 години) до 96 і 120 годин. МПД для 72-годинної інфузії була встановлено як 108 мг/м²/день, а токсичність, що обмежує дозу, включала інфаркт міокарда, гіпертензію, кардіоміопатію, синдром лізису пухлини та пневмонію [122]. Приблизно у однієї третини пацієнтів із рецидивним/рефрактерним ГМЛ, бласти кісткового мозку зменшилися принаймні на 38% після лікування. Однак це зниження бластів було тимчасовим і об'єктивної відповіді досягнуто не було [122].

1.4.5. PF-03814735

PF-03814735 (Таблиця 1.1) є потужним біодоступним інгібітором Аврора-А і Аврора-В кіназ (Аврора -А IC₅₀ = 5 нМ, Аврора -В IC₅₀ = 0,8

нМ); а також інгібує кілька інших кіназ (наприклад, *FLT3*, *JAK2*, *TrkB*, *RET*, *MST3*) на $\geq 90\%$ при концентрації сполуки 100 нМ [123]. *PF-03814735* виявляв антипроліферативну активність проти ряду клітинних ліній пухлин людини, таких як *HCT-116*, *HL-60*, *A549* і *H125* [123]. У фазі I клінічного дослідження *PF-03814735* оцінювали у пацієнтів із прогресуючими твердотільними пухлинами [124]. *PF-03814735* застосовували перорально, один раз на день, як єдину дозу препарату в дні 1–5 або 1–10, 21-денного циклу. Токсичність, що обмежує дозу, включала фебрильну нейтропенію та підвищення рівня аспартатамінотрансферази. Загалом даний препарат добре переносився і мав клінічно керований профіль побічних ефектів, але повідомлялося про обмежену протипухлинну активність у 19 пацієнтів, у яких захворювання було стабільним [124].

1.4.6. AMG 900

AMG 900 (таблиця 1.1) є біодоступним, сильним і селективним інгібітором пан-Аврора-кінази [125-128]. Він інгібує Аврори-А, -В і -С зі значеннями IC_{50} 5, 4 і 1 нМ відповідно, і в клітинах демонструє фенотип, що відповідає інгібуванню Аврора-В [125]. *AMG 900* продемонстрував потужну антипроліферативну активність проти ряду пухлинних клітин людини, включаючи клітинні лінії, стійкі до паклітакселу та інших інгібіторів Аврора-кіназ (*AZD1152*, *MK-0457* і *PHA739358*) [125]. Примітно, що *AMG 900* був стабільно потужним проти пухлинних клітин, незалежно від статусу *P-gp* або *BCRP*) [125]. Згідно з результатами досліджень *in vitro*, *AMG 900* пригнічував ріст багатьох моделей ксенотрансплантата пухлини людини (наприклад, *MDA-MB-231*, *HCT116*, *NCI-H460-PTX (MDR)*, *MES-SA*, *MES-SA-Dx5 (MDR)*) *in vivo*, використовуючи переривчастий або безперервний режим дозування [125]. Була також досліджена активність *AMG 900* як окремого агента та в комбінації з паклітакселом або іксабепілоном у мультирезистентних клітинних лініях *TNBC* (потрійний негативний рак молочної залози) [128]. *AMG 900* потужно інгібував ріст клітинних ліній

TNBC, що експресують *P-gp*. У поєднанні з паклітакселом або іксабепілоном *AMG 900* підсилює антипроліферативну активність цих агентів, націлених на мікротрубочки, в клітинах *TNBC in vitro* та в моделях ксенотрансплантата пухлини людини *in vivo* [128]. *AMG 900* наразі оцінюється у фазі I клінічних випробувань у дорослих пацієнтів із прогресуючими солідними та гематологічними раками [126].

1.5. Інгібітори Аврора-кіназ в гематології злоякісних новоутворень

Найбільш глибоким поясненням обмеженої відповіді інгібіторів кінази Аврора на тверdotільні пухлини в клінічних умовах є необхідність впливу препарату протягом ряду клітинних циклів (для інгібіторів Аврора-В та *rap* Аврора) або протягом тривалого часу в мітоз (для інгібіторів Аврора-А), щоб викликати їх максимальний ефект у пухлинних клітинах до появи серйозних токсичних ефектів, таких як нейтропенія. Клінічна оцінка інгібіторів кінази Аврора-кіназ, як обговорювалося раніше, показала токсичність, яка узгоджується з механізмом дії цього класу сполук. У клінічних умовах ефективність проти тверdotільних пухлин обмежена, але загалом інгібітори показали кращі перспективи проти гематологічних злоякісних новоутворень. Бурхливіша реакція, що спостерігається у пацієнтів із гематологічним раком, може бути пов'язана зі швидкістю його проліферації, а також із вторинною фармакологією, яку демонструють деякі з цих інгібіторів, яка пов'язана із захворюванням (рис. 4А).

ГМЛ є гетерогенним класом лейкемії, прогноз якого визначається низкою генетичних і молекулярних аномалій. Мутації гена *fms*-подібної тирозинкінази 3 (*FLT3*) є одними з найкраще охарактеризованих генетичних змін, які часто мутують у *AML*. Ці мутації можуть складатися з внутрішньої тандемної дуплікації (*ITD*) кодуючої області юкстамембранного домену або точкових мутацій домену тирозинкінази (*TKD*). Мутації як *FLT3-ITD*, так і *FLT3-TKD* призводять до ліганд-незалежної проліферації та пов'язані з поганим прогнозом у дорослих і дітей [129]. *AZD1152* був першим

селективним інгібітором Аврора-В, який оцінювався в доклінічних і клінічних дослідженнях. *AZD1152* продемонстрував вражаючу ефективність на тваринних моделях з використанням ксенотрансплантатів людських пухлин клітинних ліній ГМЛ з диким типом і мутантним *FLT3* [130-132].

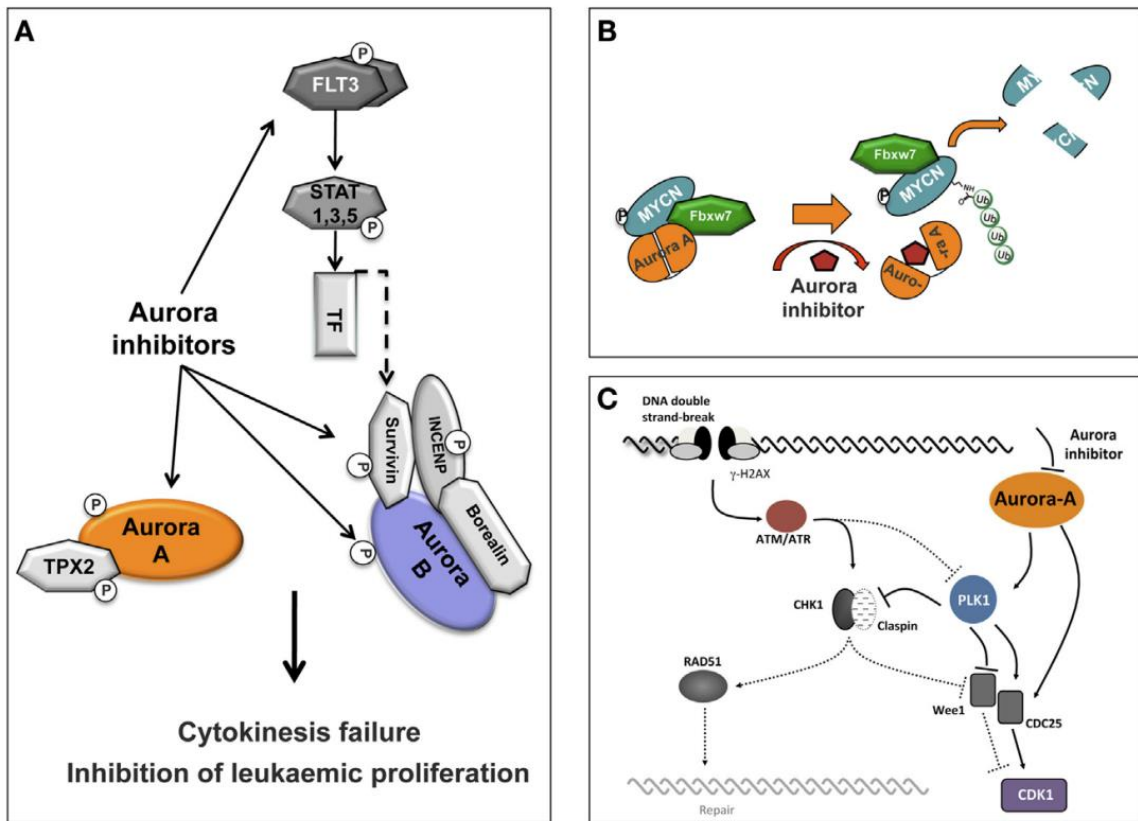


Рисунок 1.4 – Схематичне зображення шляхів, націлених на інгібітор Аврора.

(А) Селективне інгібування сполук Аврора-А та Аврора-В або подвійної специфічності Аврора/*FLT3* викликає збій цитокінезу та інгібування лейкемічної проліферації. (В) Конформаційні зміни Аврора-А за допомогою сполуки, індукують розбирання комплексу Аврора-А-*FBXW7-MYCN* і протеолітичну деградацію *MYCN*. (С) Аврора-А бере участь у шляхах відновлення ДНК, а інгібітори Аврора-А підвищують чутливість клітин до загибелі.

Було продемонстровано інгібування Аврора-В за допомогою фосфорилування гістону H3 (відомого субстрату Аврора-В) як біомаркера для залучення мішені *in vitro* та *in vivo*. Поліплоїдія була переважачим

фенотипом, пов'язаним з інгібуванням Аврора-В через недостачу цитокінезу та ендоредуплікацію. Було також показано, що вторинною мішенню AZD1152 є *FLT3*, що призводить до вищої чутливості *FLT3*-мутованих клітинних ліній *MV4-11* і *MOLM-13* до інгібування AZD1152 порівняно з клітинними лініями *FLT3-WT* [133]. На основі цих даних AZD1152 увійшов до ряду клінічних випробувань у пацієнтів із твердотільними пухлинами або гематологічними злоякісними новоутвореннями, включаючи ГМЛ.

Незважаючи на те, що останнім часом кіназа *FLT3* привернула великий інтерес як мішень для лікування ГМЛ, клінічний вплив ранніх інгібіторів *FLT3* був обмеженим при використанні як окремих агентів через набуту резистентність [134]. Новіші інгібітори *FLT3* з покращеною селективністю, фармакокінетичними та фармакодинамічними властивостями можуть мати покращену ефективність монотерапії [135], але з'являється клінічна стійкість, включаючи набуті вторинні мутації у *FLT3-TKD*. Однак інгібітори *FLT3*, які виявляють фармакологічне пригнічення вторинної кінази, показали перспективу в подоланні цього опору. Наприклад, було продемонстровано, що лінія клітин *FLT3-ITD+* ГМЛ людини, що містить вторинну мутацію *D835Y*, має високу відносну резистентність до інгібіторів *FLT3* AC220, *MLN518* і сорафенібу, але не до *CST137690*, подвійного інгібітора *FLT3*-Аврора кінази [136]. *CST241736*, вдосконалений аналог *CST137690*, є кандидатом на доклінічні розробки для лікування злоякісних новоутворень людини, зокрема ГМЛ у дорослих і дітей [137]. *CST241736* є пероральним біодоступним подвійним інгібітором *FLT3*/Аврора-кінази, який також пригнічує клінічно значущі стійкі до *FLT3* мутанти, включаючи *FLT3-ITD* і *FLT3 (D835Y)*; [137]. *CST241736* суттєво пригнічував ріст ксенотрансплантатів *MV4-11* людської *FLT3-ITD*-позитивної пухлини ГМЛ *in vivo*, з модуляцією біомаркерів і вільним впливом ліків, що відповідає подвійному інгібуванню цільової *FLT3* та кінази Аврора [137].

1.6.Інгібітори Аврора-кіназ при нейробластомі

Нейробластома є найпоширенішою позачерепною твердотільною пухлиною дитячого віку, що становить приблизно 10% педіатричних випадків, що вражає понад десять тисяч дітей у всьому світі щороку. Нейробластома 4 стадії становить приблизно 50% випадків з метастатичною дисемінацією на момент діагностики, і її прогноз поганий. Тому терміново необхідні нові терапевтичні стратегії для покращення прогнозу пацієнтів з нейробластомою. Ампліфікація гена *MYCN* пов'язана з агресивною формою нейробластоми, що призводить до особливо поганого клінічного результату [138]. Нокаут білка *MYCN* шляхом націлювання за допомогою міРНК або, альтернативно, дестабілізації білка за допомогою інгібітора вищестоящого сигнального шляху РІЗК було показано як ефективний доклінічний метод лікування нейробластоми [139,140].

Дослідження з використанням інгібітора *rap*-Аврора *CST137690* показало, що лікування клітинних ліній нейробластоми, ампліфікованих *MYCN*, пригнічує проліферацію клітин і знижує експресію білка *MYCN* [141]. Важливо, що в трансгенній мишачій моделі нейробластоми (*TH-MYCN*), яка надмірно експресує білок *MYCN* і схильна до спонтанного утворення нейробластоми, ця сполука значно пригнічує ріст пухлини [141]. Пізніше додаткове механістичне дослідження показало, що Аврора-А утворює комплекс з *MYCN* у клітинах нейробластоми, ампліфікованих *MYCN*, що захищає *MYCN* від протеасомної деградації в мітозі [142]. Ця активність була специфічною для Аврора-А, оскільки ні інгібування, ні виснаження Аврора-В не впливали на рівні білка *MYCN*. Цікаво, що для стабілізації *MYCN* не потрібна каталітична активність Аврора-А [142]. Крім того, дестабілізація *MYCN* не була спричинена зупинкою клітинного циклу в *G2/M* через інгібування каталітичної активності Аврора-А. Проте кристалографічні дані показали, що специфічний інгібітор Аврора-А *MLN8054* [143] індукує конформацію *DFG-up*, порушуючи комплекс Аврора-А/*MYCN*, що

призводить до деградації *MYCN*. Висновки цього дослідження полягали в тому, що руйнування комплексу Аврора-А/*MYCN* сприяє деградації *MYCN* за допомогою убіквітинлігази *FBXW7*. Таким чином, інгібування кіназ Аврора може бути ефективною стратегією лікування нейробластоми, ампліфікованої *MYCN*. У зовсім іншому підході нещодавнє дослідження надало докази конформаційно-специфічного впливу Аврора-А на протеолітичну деградацію *MYCN*. *CD532*, *ATP*-міметичний ліганд, зв'язує Аврора-А в *DFG-in*, в неактивну конформацію, що призводить до блокування як кіназозалежних, так і незалежних функцій Аврора-А [144]. Важливо, що *CD532* інгібує Аврора-А при низьких наномолярних концентраціях і, паралельно, впливає на протеолітичну деградацію *MYCN*, пропонуючи додаткову стратегію блокування *MYCN* при раку (рис. 3В).

1.7.Інгібітори Аврора-кіназ та пошкодження ДНК

Великі зусилля були зосереджені на дослідженні різних підходів до посилення ефекту інгібіторів Аврора-кіназ на доклінічних моделях і в клінічних випробуваннях, включаючи дослідження ролі Аврора -А у відповіді на пошкодження ДНК (*DDR*). Відомо, що активність Аврора-А жорстко регулюється під час відповіді на генотоксичні агенти і є важливою для нормального *DDR* [145,146]. Між *DDR* і клітинним циклом існує складний зв'язок на багатьох рівнях. Коли механізм гомологічної рекомбінації (*HR*) повністю активний, клітинний цикл зазвичай зупиняється через активацію контрольних точок пошкодження ДНК. Для контрольної точки пошкодження ДНК *G2/M* зупинка клітинного циклу в основному досягається шляхом регуляції фосфатаз *CDC25* і *WEE1* або кіназами контрольних точок *CHK1* і *CHK2*, або залежним від *ATM/ATR* кіназ фосфорилуванням *PLK1* (рис. 3С). Ці два шляхи зближуються, щоб підтримувати ефективне інгібування *CDK1* і, отже, запобігати прогресуванню клітинного циклу. Нарешті, під час відновлення контрольної точки пошкодження ДНК сигнал, що виходить від мітотичної кінази *PLK1*,

стає домінуючим і стимулює прогресування клітинного циклу. Цікаво, що під час цієї пізньої фази *DDR*, а також під час незміненого клітинного циклу, Аврора-А було ідентифіковано як передній активатор *PLK1* [147,148].

Недавнє дослідження показало, що Аврора-А модулює відновлення дволанцюгових розривів ДНК (DSBs; [149]). Експресія Аврора-А пригнічує залучення *RAD51* до *DSB* ДНК, зменшує відновлення *DSB* за допомогою *HR* і підвищує чутливість ракових клітин до інгібування *PARP* [149]. Це порушення функції *RAD51* вимагає інгібування *CHK1* *PLK1*. Ці результати ідентифікують нову функцію Аврора-А у модулюванні відповіді на *DSB* ДНК, яка, ймовірно, сприяє канцерогенезу, і пропонують новий терапевтичний підхід до лікування раку, що має надмірну експресію цього білка. Зв'язок *DDR* з Аврора-кіназами викликав низку випробувань поєднання радіотерапії з інгібіторами Аврора-кіназ. Показано, що *AZD1152*, інгібітор кінази Аврора-В, посилює ефект іонізуючого випромінювання (*IP*) у трьох різних ситуаціях: неоад'ювант (*AZD1152* перед *IP*), ад'ювант (*IP* перед *AZD1152*) або супутнє лікування (*AZD1152* плюс одна доза *IP*; [150]). Більш виражена затримка росту пухлини спостерігалася в неоад'ювантній та ад'ювантній схемах порівняно з супутньою схемою. Однак *AZD1152* підвищував ефективність *IP*, коли супутнє *IP* фракціонували протягом кількох днів. Патогістологічне дослідження показало, що *AZD1152* + *IR* індукує поліплоїдію, мультинуклеацію та мікроядра *in vivo*. Інгібування каспази або видалення проапоптозного білка *BAX* не сприяло довготривалому виживанню ракових клітин, оброблених *AZD1152*. Навпаки, хімічний інгібітор *CHK1*, *CHIR124*, сенсibilізував ракові клітини до летального ефекту *AZD1152*, підтверджуючи твердження про те, що *AZD1152* опосередковує радіосенсibilізацію *in vivo* шляхом посилення мітотичної катастрофи [150]. Нещодавні дослідження з використанням селективного інгібітора Аврора-А *MLN8237* продемонстрували вплив *MLN8237* з темозоломідом та *IP* на проліферацію стовбурових клітин пухлини гліобластоми. Повідомлялося, що інгібування Аврора-А за допомогою

MLN8237 було синергічним з темозоломідом і посилювало вплив *IP* на утворення колоній у стовбурових клітинах пухлини нейросферної гліобластоми, що підтверджує потенціал інгібіторів Аврора-А як первинних хіміотерапевтичних агентів або модифікаторів біологічної відповіді при гліобластомі [151].

1.8. Майбутні перспективи

Той факт, що мутанти Аврора в Арабідопсису мають дуже чіткі фенотипи розвитку, робить пошук (специфічних для рослин) субстратів дуже цікавим, і це є однією з головних проблем для цієї галузі. Диференціальні підходи до фосфопротеоміки, що порівнюють мутанти дикого типу та нокдаун-мутанти Аврора, можуть потенційно вирішити це питання. Ідентифікація нових рослинних субстратів Аврора-кіназ також проллє світло на питання, чи зберігається консенсусний мотив фосфорилування для рослинних Аврора-кіназ. На сьогоднішній день мутанти в Аврора-кіназах рослин є негерметичними, летальними або неспецифічними для однієї з трьох Аврора-кіназ. Потужним інструментом для вивчення кіназ є, так званий, підхід «чарівної кулі» або «вибоїни та дірки», який націлює невеликі молекули, такі як аналоги АТФ, на АТФ-зв'язувальні кишені кінази, щоб вибірково пригнічувати активність кінази. АТФ-зв'язувальні кишені *Ark1+* та *Ipl1p* були модифіковані для створення чутливої до аналога алелі кінази за допомогою інгібітора кінази широкого спектру дії, 4-анілінохіназоліну або об'ємного аналога АТФ 1-*NA-PP1* відповідно [29,30]. Однак одна з мутацій, яка була введена в *Ipl1p* (*T244A*), вже присутня у всіх трьох Аврора-кіназах Арабідопсису (рис. 1С). Слід ще дослідити, чи є це перевагою для використання цього типу хімічних інгібіторів для рослинних Аврора-кіназ, оскільки на сьогоднішній день немає кристалічної структури АТФ-зв'язуючої кишені рослинних Аврор. Крім того, потенційним способом тестування вимог до активності Аврора-кіназ протягом усього розвитку рослини було б використання підходу комплементатії умовних мутантів на основі *N*-кінцевого правила, залежного від температури шляху деградації [152].

Дефекти визначення площини поділу в мутантних Аврорах натякають на їх роль в асиметрії [15]. Залежне від Аврора-кіназ фосфорилування детермінантів полярності, відіграє важливу роль у розвитку нейронів тварин [153-156]. Тваринні клітини досягають *ACD*, перетворюючи поляризаційні сигнали в асиметричний розподіл регуляторів полярності, наприклад, комплекс дефекту розподілу (*PAR*), важливий регулятор під час розвитку нейронів [157].

Гомологи комплексу *PAR* відсутні в геномах рослин, що свідчить про те, що рослинні клітини використовують альтернативні механізми для встановлення клітинної асиметрії [158]. Формувальні поділки мають вирішальне значення для багатьох важливих етапів розвитку та постембріонального росту органів, таких як розгалуження коренів, щоб забезпечити оптимальне отримання води та поживних речовин і закріплення ґрунту. Однією зі стратегій, які рослини використовують для збільшення складності своєї кореневої системи, є безперервне постембріональне утворення нових бічних коренів. Таким чином, подальші дослідження Аврора-кіназ рослин, які беруть участь у формуючих поділах і полярності, є важливими, оскільки зможуть, ймовірно, пояснити фактори, що потенційно впливають на модуляцію архітектури коренів загалом і формування бічних коренів зокрема, а також фактори, що відповідають за формування стійкості до стресу, та врожайність.

У рослинах змінена експресія Аврора-кіназ призводить до порушення мейотичних поділів з наступним утворенням анеуплоїдних або поліплоїдних нащадків [42]. Це спостереження цікаве з еволюційної точки зору, оскільки можна припустити, що в ході еволюції вплив біотичних і абіотичних факторів на активність Аврора-кіназ, призвів до утворення анеуплоїдів або поліплоїдів, які послужили основою для утворення нових видів. Крім того, ці знання можуть бути використані для прикладних досліджень, оскільки було показано, що маніпуляція активністю Аврора-кіназ їх інгібіторами ефективно призводила до утворення анеуплоїдів і поліплоїдів [42].

Тому інгібітори Аврора-кінази можуть бути впроваджені в селекційну практику для отримання анеуплоїдів і поліплоїдів, крім колхіцину, який зараз інтенсивно використовується селекціонерами. Крім того, детальні дослідження в цьому напрямку можуть допомогти зрозуміти проблему стабільності геному рослин.

Хоча переважна більшість досліджень інгібіторів Аврора-кінази зосереджується на їхньому потенціалі в боротьбі проти онкології людини, заглиблення у світ рослинних Аврора-кіназ відкриває захоплюючі та недосліджені межі. Хоча як рослинна, так і людська версії мають структурну та функціональну подібність, дослідницькі зусилля в основному йшли різними шляхами. Це дає унікальну можливість дослідити потенціал інгібіторів Аврора-кінази, специфічних для рослин, для застосування поза межами здоров'я людини.

Таким чином, метою даної роботи є пошук нових інгібіторів рослинних Аврора-кіназ.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ, МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні задачі:

1. Побудова моделей з білкової послідовності Аврора-кінази 1.
2. Пошук оптимальної кишені зв'язування на поверхні білка.
3. Виконання молекулярного докінгу.
4. Підготовка послідовностей Аврора-кіназ з інших організмів для перевірки на зв'язування з отриманими кандидатами, що мають гербіцидні властивості.

Вирішення цих задач дозволить нам знайти нові інгібітори рослинних Аврора-кіназ.

2.1. Об'єкт дослідження

Як об'єкт дослідження було обрана білкова послідовність Аврора 1 модельної рослини *Arabidopsis thaliana* (у форматі FASTA, отримана з Національного центру біотехнологічної інформації (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). За допомогою сервісу SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>), було отримано pdb структуру вищезгаданого білка (Рис.2.1).

Амінокислотна послідовність Аврори 1:

>sp|Q9M077.1|AUR1_ARATH RecName: Full=Serine/threonine-protein kinase Aurora-1; Short=AtAur1; AltName: Full=Aurora-like kinase 1

MAIPTETQHQEKEASDASAAAAQKRWTLSDFDIGKPLGRGKFGHVYLARE
 KRSNHVVALKVLFKSQLQSQVEHQLRREVEIQSHLRHPNILRLYGYFYD
 QKRVYLILEYAARGELYKDLQKCKYFSERRAATYVASLARALIYCHGKHV
 IHRDIKPENLLIGAQGELKIADFGWSVHTFNRRRTMCGTLDYLPPEMVESV
 EHDASVDIWSLGLCYEFLYGVPPFEAMEHSDTYRRIVQVDLKFPPKPIISAS
 AKDLISQMLVKESSQRLPLHKLLEHPWIVQNADPSGIYRV

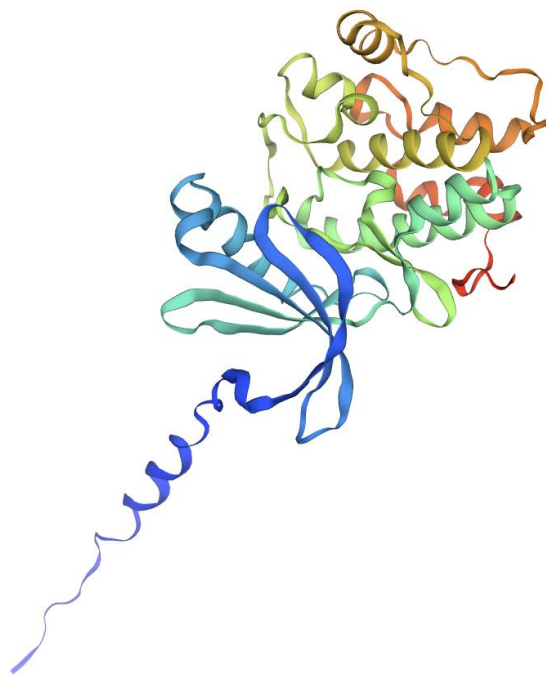


Рисунок 2.1 – Структура Авори 1

MolProbity Score	0.91
Clash Score	0.00
Ramachandran Favoured	94.86%
<input type="checkbox"/> Ramachandran Outliers	0.34%
A4 PRO	
<input type="checkbox"/> Rotamer Outliers	1.17%
A18 SER, A5 THR, A7 THR	
<input type="checkbox"/> C-Beta Deviations	5
A172 ASP, A252 SER, A7 THR, A6 GLU, A241 VAL	
Bad Bonds	0 / 2459
<input type="checkbox"/> Bad Angles	23 / 3325
A191 ASP, A7 THR, A178 HIS, A274 HIS, A44 HIS, A88 HIS, A100 ASP, A55 HIS, A74 HIS, (A2 ALA-A3 ILE), A149 HIS, A279 HIS, A233 ASP, A85 HIS, (A156 LYS-A157 PRO), A152 HIS, A9 HIS, A203 HIS, A146 HIS, A231 HIS, A3 ILE	
<input type="checkbox"/> Cis Prolines	1 / 14
(A248 LYS-A249 PRO)	
<input type="checkbox"/> Twisted Non-Proline	2 / 279
(A2 ALA-A3 ILE), (A5 THR-A6 GLU)	

Рисунок 2.2 – Результаты MolProbity

2.2. Пошук оптимальної кишені зв'язування на поверхні білка

Для вирішення даного завдання було використано веб-сервіс Prankweb(<https://prankweb.cz/>).

PrankWeb - це веб-сервіс, що використовує машинне навчання для прогнозування та візуалізації сайтів зв'язування лігандів з білками. Він ґрунтується на методі P2Rank, який дозволяє дослідникам:

- 1) Прогнозувати сайти зв'язування лігандів: PrankWeb використовує машинне навчання для аналізу структури білків та ідентифікації ймовірних місць зв'язування лігандів.
- 2) Візуалізувати сайти зв'язування: PrankWeb надає 3D-моделі білків з виділеними сайтами зв'язування лігандів, що дозволяє дослідникам краще зрозуміти їхню структуру та розташування.
- 3) Порівнювати сайти зв'язування: PrankWeb дає можливість порівняти прогнозовані сайти зв'язування з консервативними ділянками білка та фактичними сайтами зв'язування лігандів, що може допомогти у валідації прогнозів.

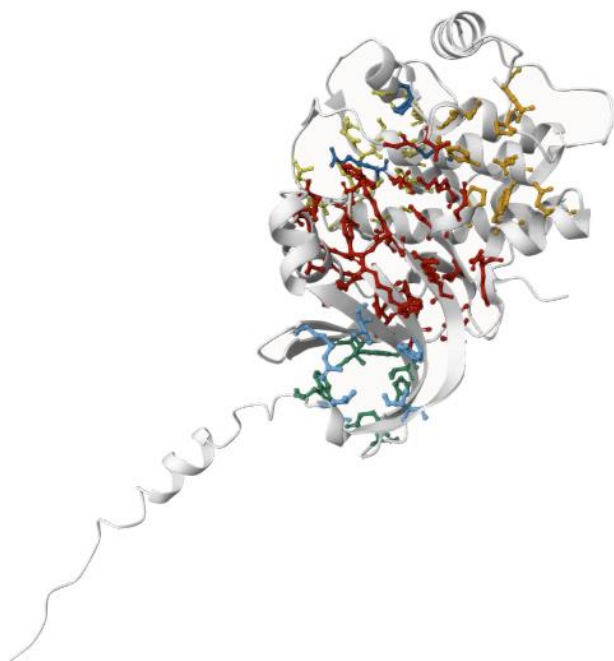


Рисунок 2.3 – Отримані кишені зв'язування для Аврори 1.

POCKETS INFO TASKS

Pockets

	Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
▼		1	48.21	0.974	33	2.316
▼		2	3.36	0.123	15	0.912
▼		3	2.46	0.067	10	1.322
▼		4	1.21	0.012	5	0.851
▼		5	0.99	0.006	7	1.091
▼		6	0.75	0.002	5	3.031

Rows per page: 10 ▼ 1–6 of 6 < >

Рисунок 2.4 – Інформація про отримані кишені для докінгу

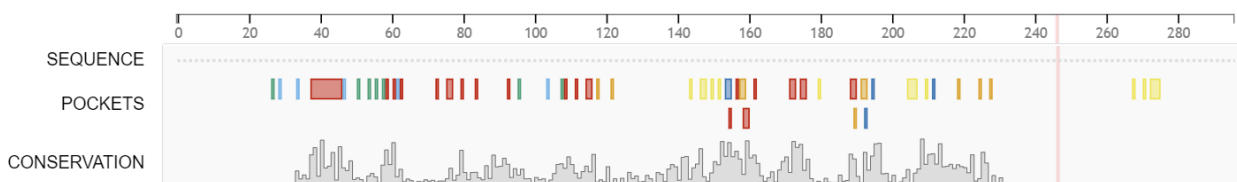


Рисунок 2.5 – Порівняння отриманих сайтів зв'язування з консервативними ділянками даного білка.

Таким чином, для подальшого дослідження було обрано сайт, позначений червоним кольором, оскільки він має найвищу оцінку серед аналогів. Амінокислотні залишки, що увійшли до вибраного сайту:

LEU , ALA, GLY, GLU, ASP, LYS, GLU, ASN, LEU, ALA, ASP, GLY, TRP, GLY, THR, LEU, GLY, ARG, GLY, LYS, PHE, GLY, HIS, VAL, ALA, LYS, LEU, VAL, GLN, LEU, GLU, GLN, LEU.

2.3. Виконання докінгу

Докінг - це комп'ютерний метод прогнозування взаємодії між біомолекулами, зазвичай між білками та лігандами. Цей процес включає у себе прогнозування і оцінку стабільності комплексу, а також визначення найбільш ймовірної орієнтації ліганду в сайті зв'язування білка. Платформою для виконання даного завдання було обрано програмний пакет BioSolveIT SeeSAR 13.0.5.

BioSolveIT SeeSAR 13.0.5 - це програмне забезпечення для віртуального скринінгу та докінгу, спеціально призначене для прогнозування взаємодій між біомолекулами, зокрема між білками та маленькими органічними сполуками, які можуть бути потенційними ліками або лігандами, або в нашому випадку, потенційно новими гербіцидами.

Також, для дослідження була надана бібліотека сполук "Олександрійська", в якій міститься 59105 сполук, серед яких і буде здійснюватися пошук потенційних сполук з гербіцидними властивостями. Усю бібліотеку, було поділено на фрагменти по 5000 сполук, у кожній, всього таким чином, було отримано 12 фрагментів.

Для кожної сполуки з цих 12 фрагментів було згенеровано по 5 поз приєднання до сайту зв'язування білка. Вибір саме такої кількості поз обумовлена такими факторами:

1. **Баланс між точністю та ефективністю.** Використання 5 поз дозволяє отримати достатньо інформації про можливі пози сполуки в активному сайті мішені, не витрачаючи надто багато часу та ресурсів на генерування та оцінку великої кількості поз. Більша кількість поз може призвести до більш точних результатів, але це також може значно збільшити час та обчислювальні витрати на докінг.

2. **Покращене охоплення простору.** 5 поз, ретельно відібраних за допомогою методів вибірки, можуть забезпечити більш репрезентативне охоплення простору активного сайту мішені, порівняно з випадковим вибором поз. Це може призвести до кращого виявлення потенційних

гербицидів-кандидатів, які можуть зв'язуватися з мішенню в різних конформаціях.

3. **Зниження ризику помилок.** Використання 5 поз може допомогти зменшити ризик помилок, які можуть виникнути при використанні лише однієї або двох поз. Це пов'язано з тим, що 5 поз дають більше інформації про те, як сполука може взаємодіяти з мішенню, що може допомогти уникнути помилкових позитивних або негативних результатів.

4. **Практичність.** Використання 5 поз є практичним вибором для докінгу великих бібліотек сполук. Це пов'язано з тим, що 5 поз зазвичай можна генерувати та оцінити за прийнятний час, використовуючи сучасні комп'ютерні ресурси.

2.4. Перевірка отриманих кандидатів з гербицидними властивостями

Щоб з'ясувати безпеку отриманих кандидатів, та ефективність їх зв'язування з окремими видами бур'янів, була використана програма BLAST, що вбудована в веб-сайт відкритої бази білкових послідовностей UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Програма BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) - це інструмент для порівняння послідовностей ДНК, РНК або білків. У UniProt, вона використовується для пошуку подібних послідовностей в базі даних UniProt, що містить інформацію про білки. Користувачі можуть ввести послідовність білка та використати BLAST для знаходження подібних білків в базі даних UniProt, що допомагає в пошуку гомологів, оцінці схожості та аналізі еволюції взаємозв'язків білкових послідовностей, дослідженні функціональних характеристик та інших аспектів білкових послідовностей.

Таким чином, було отримано 2 амінокислотні послідовності культурних рослин подібних до досліджуваної послідовності Аврори 1, а саме білкові послідовності *Zea mays* (Кукурудза звичайна) та *Triticum turgidum* (Пшениця тучна). Подібність до оригінальної послідовності Аврори 1 становить відповідно 83,3% для *Zea mays* та 82,3% для *Triticum turgidum*.

Також було отримано послідовність людського Аврора-подібного білка (подібність 61,8%), і дві послідовності рослин з родів поширених на території України бур'янів, а саме з родів *Chenopodium* (Лобода), подібність 86,7% , та *Setaria* (Мишій), подібність 84%.

Відповідні отримані білкові послідовності для культурних рослин:

>tr|A0A3L6FJ42|A0A3L6FJ42_MAIZE Aurora kinase OS=**Zea mays** OX=4577
GN=AUR1_0 PE=3 SV=1

MAIATESRGCEDRDSAHANEEKRWVLSDFEVGKPLGRGKFGHVYLAREK
RSNQIVALKVLFKSQLKQSQVEHQLRREVEIQSHLRHPNILRLYGYFYDQT
RVYLILEYAAKGELYKELTRCKHFSERRSATYIASLARALIYLHGKHVIHR
DIKPENLLVGAQGEIKIADFGWSVHTFNRRRTMCGTLDYLPPEMVEKTEH
DYHVDIWSLGLCYEFLYGVPPFEAKEHSETYRRIVKVDLKFPLKPFVSPA
AKDLISQMLVKNSAQRLPLHKVLEHPWIVQNADPSGVCGRG

>tr|A0A9R1Q9T7|A0A9R1Q9T7_TRITD Aurora kinase OS=**Triticum turgidum**
subsp. durum OX=4567 GN=TRITD_3Bv1G041260 PE=3 SV=1

MAISTDSRSEEEKPSQHSQVEKRWVLSDFDVGKALGRGKFGHVYLAREKRS
SHIVALKVLFKSQLKQSQVEHQLRREVEIQSHLRHPNILRLYGYFYDQTRV
YLILEHAAKGELYKELQRCKHFSERRSATYIASLARALIYLHGKHVIHRDIK
PENLLVGVQGELKIADFGWSVHTFNRRRTMCGTLDYLPPEMVEKTEHDY
HVDIWSLGLCYEFLYGLPPFEAKEHSETYRRIVKVDLKFPLKPFVSPA
AKDLISQMLVKNSAHRLPLHKVLEHPWIVQNADPSGVYRG

Відповідні отримані білкові послідовності для рослин-шкідників:

>tr|A0A803LBH6|A0A803LBH6_CHEQI Aurora kinase OS=**Chenopodium**
quinoa OX=63459 PE=3 SV=1

MAIAAENQAEEKASAEVPAAEKQRWVLNDFDIGKPLGRGKFGHVYLARE
KRSNHIVALKVLFKSQLKQSQVEHQIRREVEIQSHLRHPNILRLYGYFYDQ
KR VYLILEYAPKGELYKELQKCKYFAEKRAATYIASLARALIYCHGKHVIH
RDIKPENLLIGAQGELKIADFGWAVHTFNRRKTMCGTLDYLPPEMVESVE
HDASVDIWSLGLCYEFLYGFPPFEAKEHSDTYRRIVLVDLKFPPKPIVSSA
AKDLISKMLVKDSADRLPLHKLLEHPWIVQNADPSGLYKF

>tr|A0A4U6UD61|A0A4U6UD61_SETVI Aurora kinase OS=**Setaria viridis**
OX=4556 GN=SEVIR_5G133900v2 PE=3 SV=1

MAIATESRGSEDKASAHANEEKRWVLSDFEVGKPLGRGKFGHVYLAREK
RSNQIVALKVLFKSQLKQSQVEHQLRREVEIQSHLRHPNILRLYGYFYDQT
RVYLILEYAAKGELYKELTRCKHFSERRSATYIASLARALIYLHGKHVIHR

DIKPENLLIGVQGELKIADFGWSVHTFNRRRTMCGTLDYLPPEMVEKTEH
 DYHVDIWSLGLCYEFLYGVPPFEAKEHSETYRRIVKVDLKFPLKPFVSPAA
 KDLISQMLVKNSAHLRPLHKVLEHPWIVQNADPSGVYRG

Послідовність людського Аврора-подібного білка:

>sp|Q96GD4|AURKB_HUMAN Aurora kinase B OS=**Homo sapiens** OX=9606
 GN=AURKB PE=1 SV=3

MAQKENSYPWPYGRQTAPSGLSTLPQRVLRKEPVTPSALVLMRSRNVQPT
 AAPGQKVMENSSGTPDILTRHFTIDDFEIGRPLGKGGKFGNVYLAREKKSHFI
 VALKVLFKSQIEKEGVENQLRREIEIQAHLHHPNILLRNYFYDRRRIYLILE
 YAPRGELYKELQKSCTFDEQRTATIMEELADALMYCHGKKVIHRDIKPEN
 LLLGLKGELKIADFGWSVHAPSLRRTMCGTLDYLPPEMIEGRMHNEKVD
 LWCIGVLCYELLVGNPPFESASHNETYRRIVKVDLKFPAVPMGAQDLISK
 LLRHNPSERLPLAQVSAHPWVRANSRRVLPPSALQSV

Також для цих послідовностей були виконані аналогічні кроки моделювання білкової послідовності за допомогою SWISS-MODEL, та пошук кишень зв'язування за допомогою PrankWeb, як описано у пунктах 2.1 та 2.2. Найоптимальніші кишень зв'язування для кожного з модельованих білків також позначені червоним кольором.

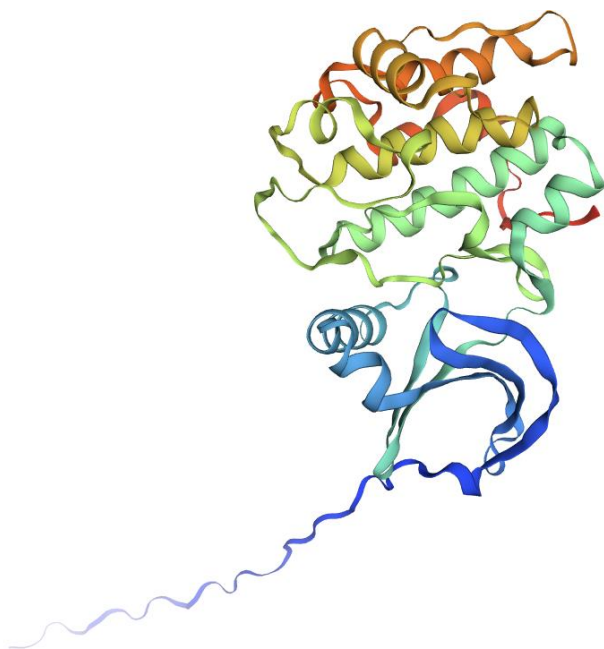


Рисунок 2.6 – Структура білкової Аврора-подібної послідовності *Zea mays* (Кукурудза звичайна).

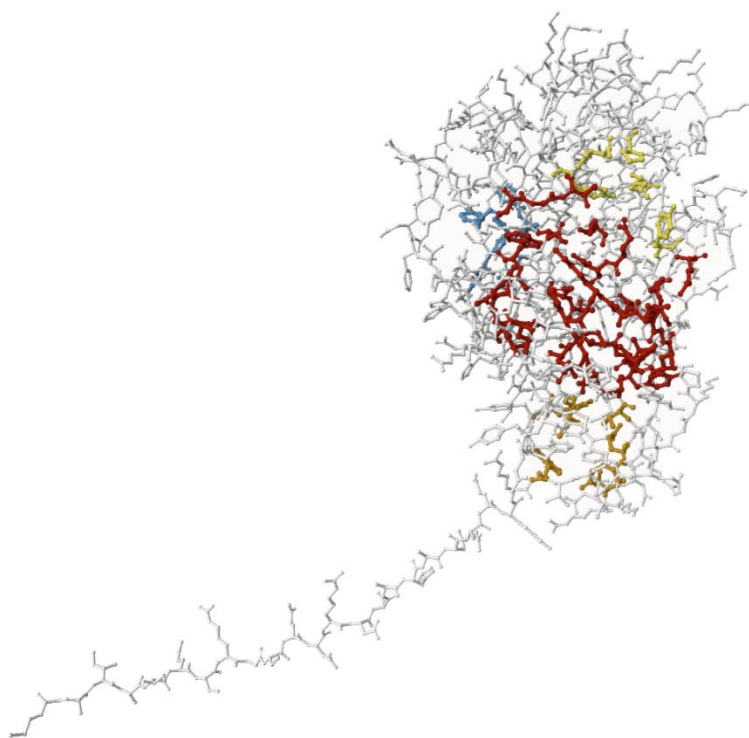


Рисунок 2.7 – Отримані кишені зв'язування для Аврора-подібної послідовності *Zea mays* (Кукурудза звичайна)

POCKETS INFO TASKS

Pockets

Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
	1	51.48	0.978	36	2.218
	2	1.69	0.028	7	1.468
	3	1.48	0.020	7	1.169
	4	1.45	0.019	7	0.758

Rows per page: 10 ▾ 1-4 of 4 < >

Рисунок 2.8 – Інформація про отримані кишені для докінгу для Аврора-подібної послідовності *Zea mays* (Кукурудза звичайна)

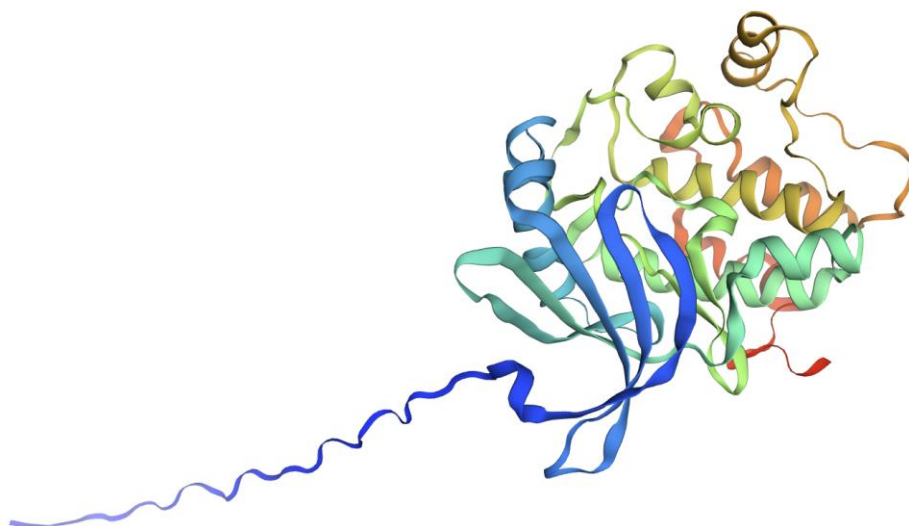


Рисунок 2.9 – Структура білкової Аврора-подібної послідовності *Triticum turgidum* (Пшениця тучна).

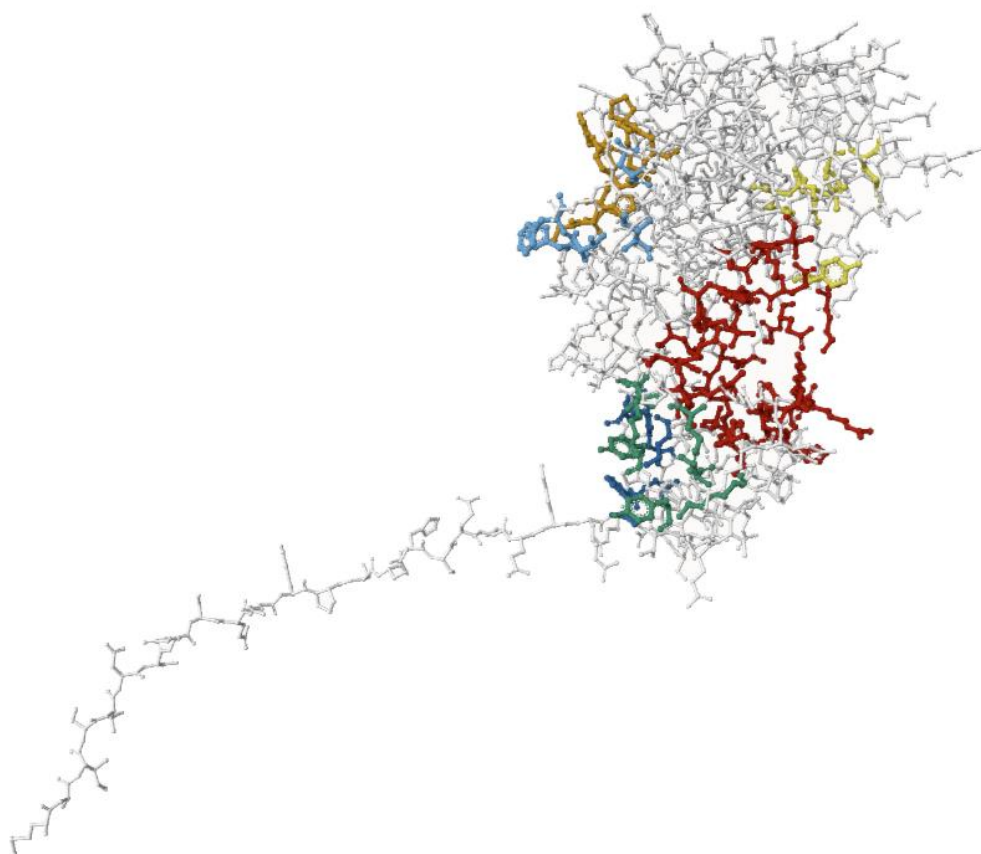















Рисунок 2.10 – Отримані кишень зв'язування для Аврора-подібної послідовності *Triticum turgidum* (Пшениця тучна)

POCKETS INFO TASKS

Pockets 

	Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
▼	 	1	44.56	0.969	36	2.219
▼	 	2	2.32	0.060	8	1.35
▼	 	3	2.26	0.056	8	0.786
▼	 	4	1.77	0.032	7	1.387
▼	 	5	1.74	0.030	9	0.793
▼	 	6	1.50	0.021	5	0.981

Rows per page: 10 ▼ 1–6 of 6 < >

Рисунок 2.11 – Інформація про отримані кишені для докінгу для Аврора-подібної послідовності *Triticum turgidum* (Пшениця тучна).

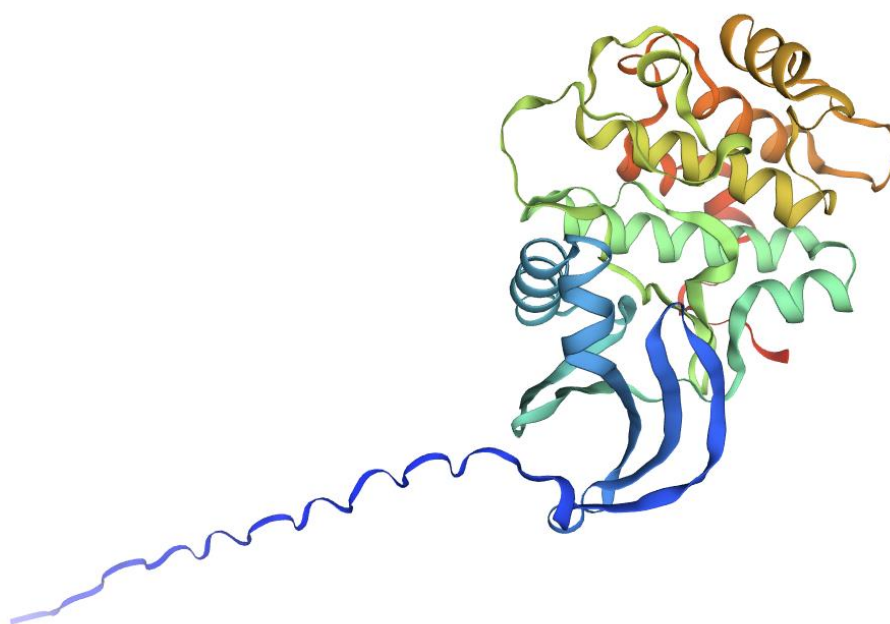


Рисунок 2.12 – Структура білкової Аврора-подібної послідовності *Chenopodium quinoa* (Кіноа)

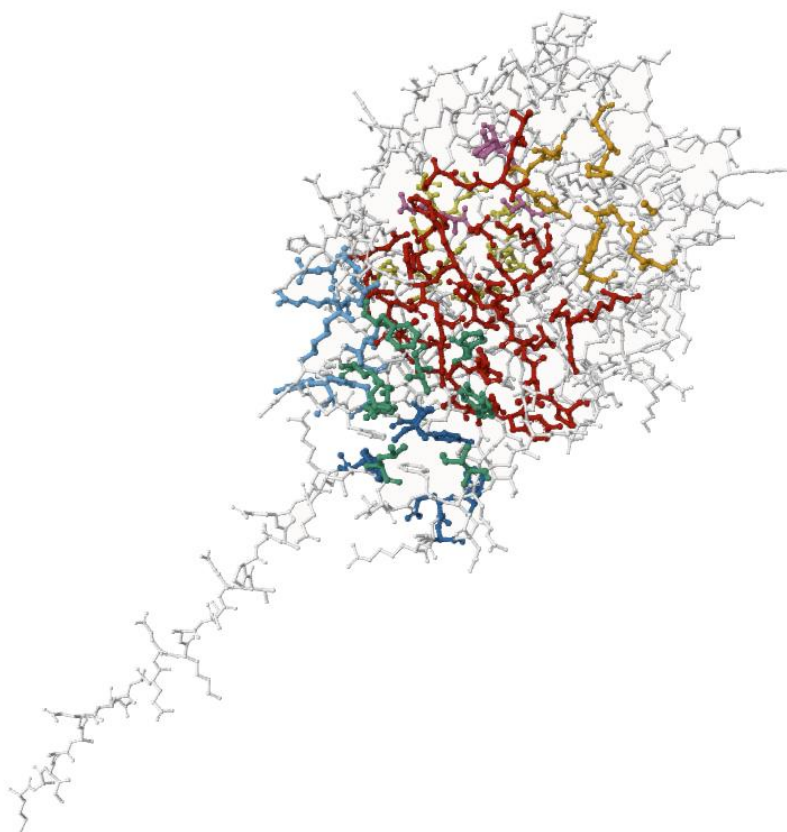


Рисунок 2.13 – Отримані кишені зв'язування для Аврора-подібної послідовності *Chenopodium quinoa* (Кіноа)

POCKETS INFO TASKS

Pockets

Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
▼	1	45.31	0.970	37	2.242
▼	2	3.40	0.126	12	1.075
▼	3	2.96	0.097	10	1.342
▼	4	1.70	0.029	9	0.788
▼	5	1.45	0.019	8	0.777
▼	6	1.35	0.016	6	0.945
▼	7	0.70	0.002	9	2.504

Rows per page: 10 ▼ 1–7 of 7 < >

Рисунок 2.14 – Інформація про отримані кишені для докінгу для Аврора-подібної послідовності *Chenopodium quinoa* (Кіноа)

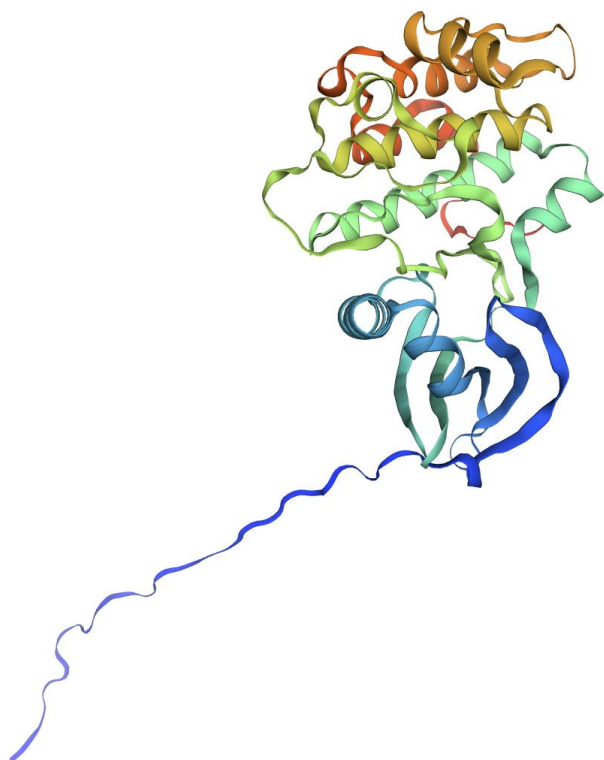


Рисунок 2.15 – Структура білкової Аврора-подібної послідовності *Setaria viridis* (Мишій зелений)

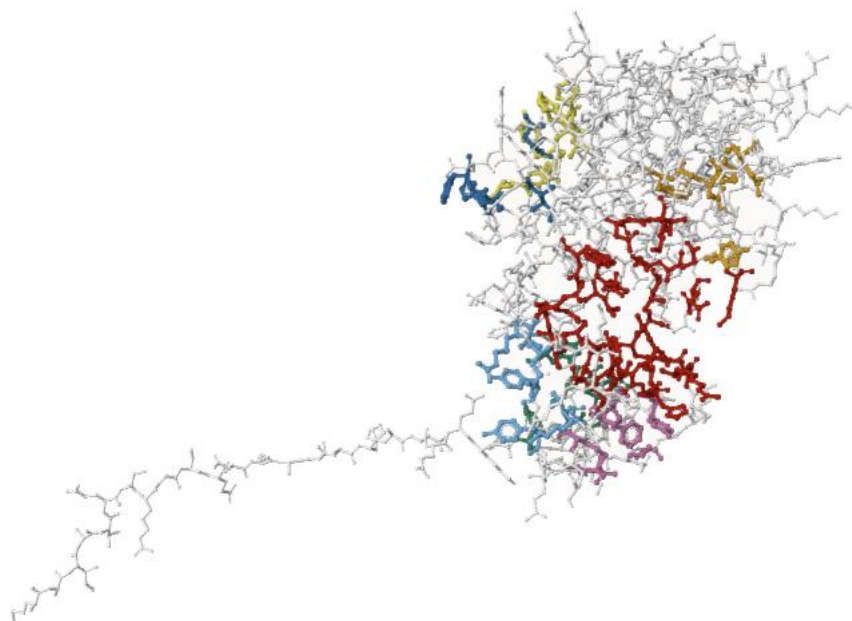

















Рисунок 2.16 – Отримані кишені зв'язування для Аврора-подібної послідовності *Setaria viridis* (Мишій зелений)

POCKETS INFO TASKS

Pockets 

	Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
▼	 	1	43.01	0.966	35	2.233
▼	 	2	2.26	0.056	8	0.799
▼	 	3	1.99	0.041	8	1.306
▼	 	4	1.97	0.040	9	0.817
▼	 	5	1.95	0.039	7	1.097
▼	 	6	1.73	0.030	7	1.332
▼	 	7	1.37	0.017	8	0.89

Rows per page: 10 ▼ 1-7 of 7 < >

Рисунок 2.17 – Інформація про отримані кишені для докінгу для Аврора-подібної послідовності *Setaria viridis* (Мишій зелений)

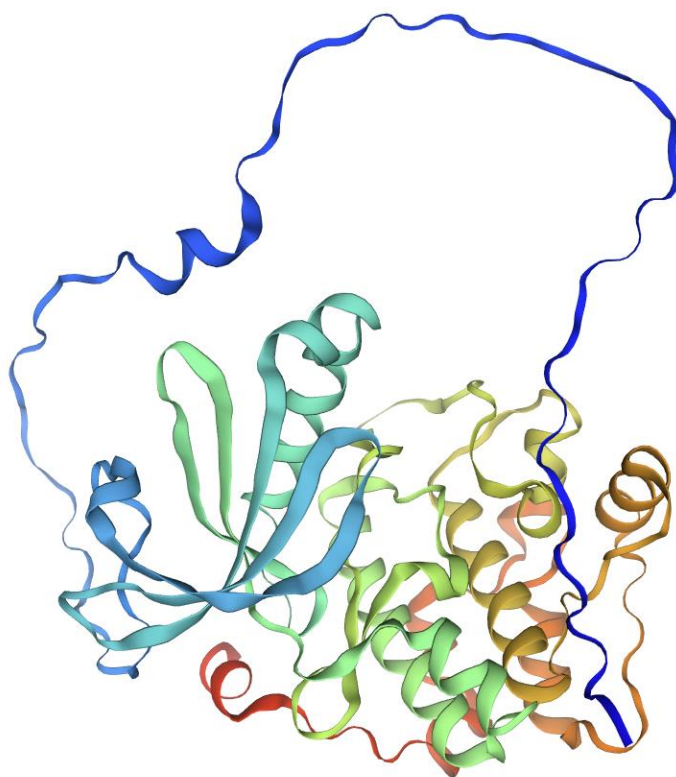


Рисунок 2.18 – Структура білкової Аврора-подібної послідовності *Homo sapiens* (Людина розумна)

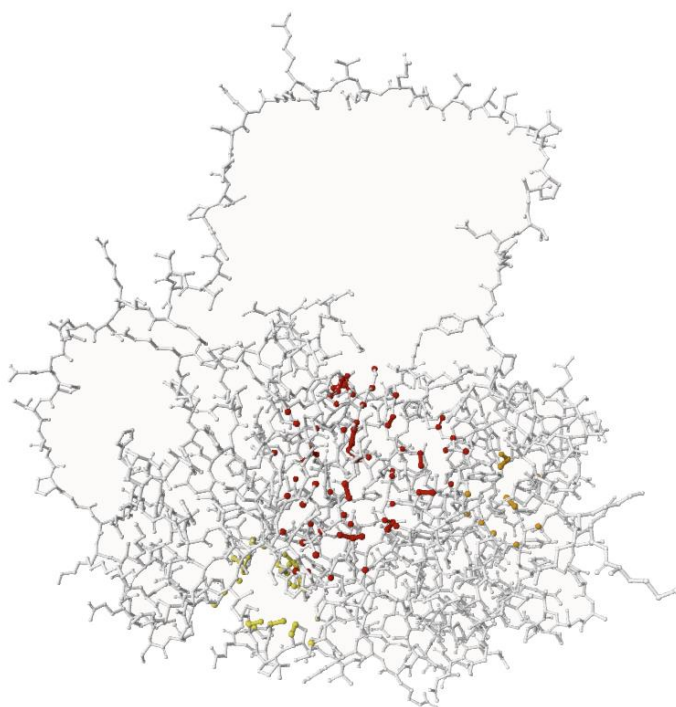


Рисунок 2.19 – Отримані кишені зв'язування для Аврора-подібної послідовності *Homo sapiens* (Людина розумна)

POCKETS INFO TASKS

Pockets

Tools	Rank ↑	Score	Probability	# of residues	Avg conservation
	1	41.88	0.964	33	2.355
	2	6.25	0.338	16	1.027
	3	2.25	0.055	11	1.321

Rows per page: 10 ▾ 1-3 of 3 < >

Рисунок 2.20 – Інформація про отримані кишені для докінгу для Аврора-подібної послідовності *Homo sapiens* (Людина розумна)

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Відбір сполук з гербіцидними властивостями

Отримані результати докінгу бібліотеки сполук “Олександрійська” (близько 295525 поз), були опрацьовані, використовуючи фільтр Drug-likeness, який включав у себе такі параметри:

- 1) молекула не може мати більше ніж 5 донорів водневих зв'язків (O-H та N-H зв'язків);
- 2) молекула не може мати більше ніж 10 акцепторів водневих зв'язків (кількість атомів кисню та нітрогену);
- 3) молекулярна маса має бути менше 500 а.о.м.;
- 4) коефіцієнт розподілу октанол-вода ($\log P$) не перевищує 5;

Обрані параметри доцільно використовувати для оптимальної фільтрації отриманих результатів, оскільки гербіциди з низькою молекулярною масою, як правило, мають кращу проникність через мембрани рослинних клітин. Також, потенційні сполуки-кандидати з низьким октано/водним співвідношенням, як правило, більш розчинні у воді, що полегшує їх транспорт до місця дії. Невелика ж кількість донорів та акцепторів водневого зв'язку, як правило, свідчить про те, що майбутня гербіцидна сполука є менш полярною, що, в свою чергу, може полегшити її проникнення через мембрани.

Отримані після цього відбору кандидати в подальшому фільтрувалися за значеннями вільної енергії зв'язування, та параметром LE (Ligand Efficiency), що показує середнє значення вільної енергії на кожний “важкий” атом сполуки-кандидата.

Всього було отримано 31 кандидат, що відповідає усім вищезгаданим критеріям. Це сполуки під такими номерами: 59166, 169063, 420135, 519279, 1113322, 1183093, 14123700, 142173, 137130, 1029, 1032, 220247, 201340, 240596, 242130, 266983, 412852, 412868, 370407, 570493, 519260, 549292, 683492, 758737, 827030, 872133, 862259, 862087, 862307, 861912, 862096.

Надалі, отримані сполуки перевірялися на зв'язування з двома сільськогосподарськими культурами, а саме *Zea mays* та *Triticum turgidum*.

	Name	Src	Estimated Affinity				LLE	LE	Tor	Intra-clash	Inter-clash	MW	LogP	TPSA	Mol. ID	USMILES ID
			pM	nM	μM	mM										
1	59166_1_002										304.41	3.77	51.2	302	1	
2	862307_1_003										396.48	0.56	103.3	292	27	
3	412852_1_004										490.58	4.46	94.8	289	17	
4	242130_1_003										431.51	3.40	105.1	284	15	
5	14123700_1_001										340.46	3.07	68.2	278	7	
6	420135_1_003										334.85	4.17	43.1	276	3	
7	683492_1_005										319.38	3.10	64.6	273	21	
8	201340_1_001										306.38	3.71	68.3	271	13	
9	142173_1_003										401.52	4.91	64.6	258	8	
10	862096_1_001										410.51	1.71	72.7	253	29	
11	1029_1_001										416.91	4.80	42.3	248	10	
12	570493_1_004										387.46	4.13	46.9	241	31	
13	861912_1_001										396.50	1.70	94.1	226	28	
14	827030_1_001										351.45	2.82	67.2	223	23	
15	1183093_1_005										387.54	4.28	80.3	221	6	
16	412868_1_002										476.55	4.07	94.8	218	18	
17	862259_1_003										428.52	2.15	94.1	216	25	
18	862087_1_001										414.49	1.84	94.1	215	26	
19	1032_1_003										402.88	4.50	42.3	212	11	
20	137130_1_001										397.52	1.09	93.5	211	9	
21	758737_1_004										459.54	4.39	74.6	209	22	
22	370407_1_001										362.40	4.09	101.2	204	30	
23	1113322_1_002										337.44	3.50	54.9	203	5	
24	169063_1_001										317.41	4.33	55.4	202	2	
25	519260_1_005										303.38	3.78	55.4	199	19	
26	872133_1_004										492.57	3.90	120.9	193	24	
27	266983_1_001										341.42	1.69	72.9	192	16	
28	220247_1_003										417.52	4.85	81.7	191	12	
29	549292_1_004										360.39	3.85	101.2	189	20	
30	240596_1_004										467.57	4.62	90.3	187	14	
31	519279_1_001										337.82	4.59	55.4	334	4	

Рисунок 3.1 – Таблиця отриманих результатів докінгу 31 найкращого кандидата з Аврора-подібною послідовністю *Zea mays* (Кукурудза звичайна). Для візуалізації у таблиці використовувалися значення з найкращими енергіями зв'язування для кожної сполуки-кандидата.

Серед отриманих сполук кандидатів, в першу чергу цікаві сполуки під номерами : 59166, 862307, 412852, 242130, оскільки мають достатньо низьку аффіність до Аврора-подібного білка *Zea mays* (лежить у мілі-мікромолярних межах), і ймовірно, не будуть гарно зв'язуватися з досліджуваною послідовністю. Особливої уваги заслуговує сполука під номером 519279, оскільки результати дослідження показали, що дана сполука взагалі не виявляє ознак аффіності до досліджуваної послідовності кукурудзи (для усіх 5 варіантів позицій, що обраховувалися під час докінгу, енергія зв'язування повністю відсутня).

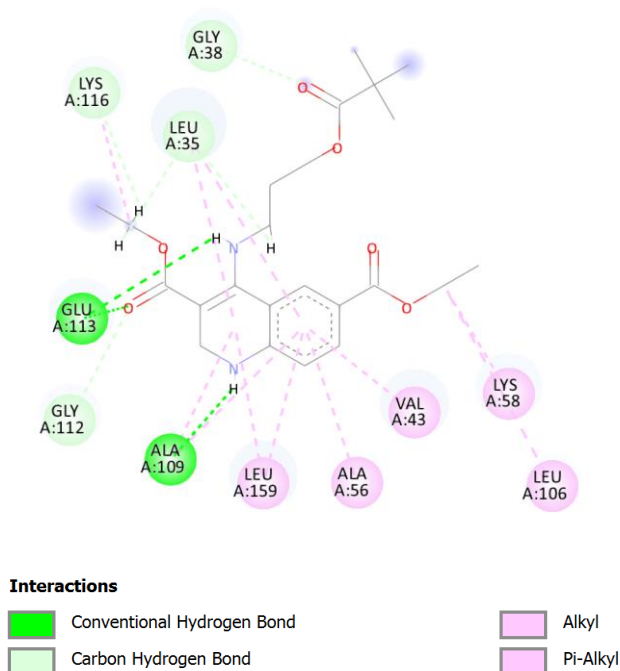


Рисунок 3.2 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 242130 з Аврора-подібною послідовністю *Zea mays* (Кукурудза звичайна) візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 22,205769 мкмоль – 2,206274 ммоль.

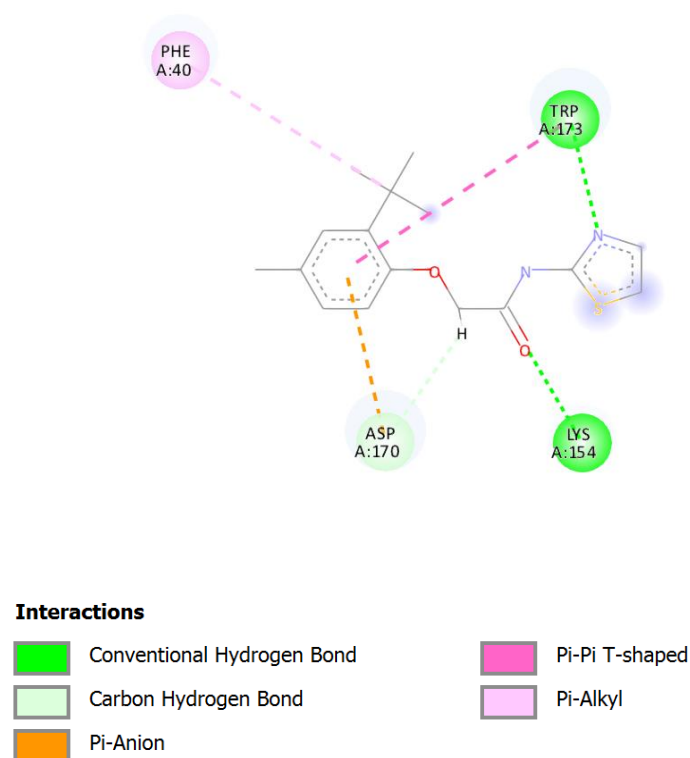
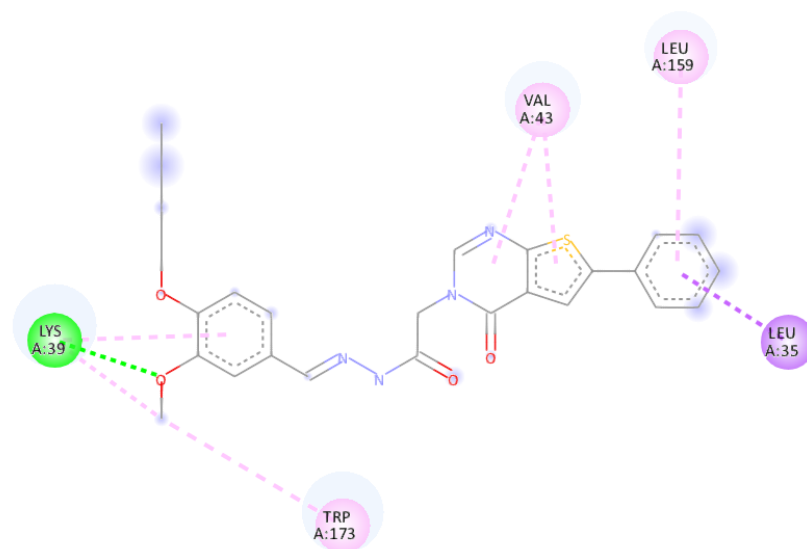


Рисунок 3.3 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 59166 з Аврора-подібною послідовністю *Zea mays* (Кукурудза звичайна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 77,829761 мкмоль – 7,732827 ммоль.



Interactions





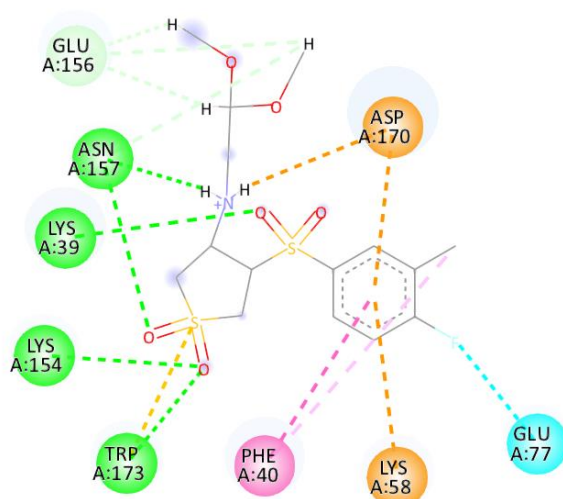
	Conventional Hydrogen Bond		Alkyl
	Pi-Sigma		Pi-Alkyl

Рисунок 3.4 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 412852 з Аврора-подібною послідовністю *Zea mays* (Кукурудза звичайна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 22,205769 мкмоль – 2,206274 ммоль.



Interactions










	Salt Bridge		Pi-Anion
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Sulfur
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Pi T-shaped
	Halogen (Fluorine)		Pi-Alkyl
	Pi-Cation		

Рисунок 3.5 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 862307 з Аврора-подібною послідовністю *Zea mays* (Кукурудза звичайна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 29,654014 мкмоль – 0,029654 ммоль.

Name	Src	Estimated Affinity				LLE	LE	Tor.	Intra-clash	Inter-clash	MW	LogP	TPSA	Mol. ID	USMILES ID
		µM	nM	µM	nM										
1 862307_1_001											395.47	1.58	98.8	305	27
2 412852_1_002											490.58	4.46	94.8	303	17
3 242130_1_004											430.50	3.98	103.8	296	15
4 862096_1_005											410.51	1.71	72.7	286	29
5 827030_1_001											351.45	2.82	67.2	267	23
6 201340_1_002											306.38	3.71	68.3	263	13
7 14123700_1_001											340.46	3.07	68.2	258	7
8 862087_1_004											414.49	1.84	94.1	257	26
9 862259_1_005											428.52	2.15	94.1	256	25
10 861912_1_002											396.50	1.70	94.1	245	28
11 420135_1_002											334.85	4.17	43.1	242	3
12 758737_1_004											459.54	4.39	74.6	240	22
13 220247_1_001											417.52	4.85	81.7	238	12
14 412868_1_005											476.55	4.07	94.8	237	18
15 570493_1_002											387.46	4.13	46.9	230	31
16 169063_1_001											317.41	4.33	55.4	228	2
17 683492_1_003											319.38	3.10	64.6	227	21
18 519260_1_001											303.38	3.78	55.4	222	19
19 872133_1_001											492.57	3.90	120.9	221	24
20 59166_1_003											304.41	3.77	51.2	220	1
21 1029_1_001											416.91	4.80	42.3	219	10
22 370407_1_002											362.40	4.09	101.2	214	30
23 1113322_1_003											337.44	3.50	54.9	209	5
24 1032_1_003											402.88	4.50	42.3	208	11
25 142173_1_004											401.52	4.91	64.6	204	8
26 519279_1_001											337.82	4.59	55.4	200	4
27 137130_1_005											397.52	1.09	93.5	198	9
28 1183093_1_001											387.54	4.28	80.3	194	6
29 266883_1_004											341.42	1.69	72.9	190	16
30 549292_1_002											360.39	3.85	101.2	189	20
31 240596_1_004											467.57	4.62	90.3	187	14

Рисунок 3.6 – Таблиця отриманих результатів докінгу 31 найкращого кандидата з Аврора-подібною послідовністю *Triticum turgidum* (Пшениця тучна). Для візуалізації у таблиці використовувалися значення з найкращими енергіями зв'язування для кожної сполуки-кандидата.

Серед отриманих результатів докінгу сполук-кандидатів з білковою послідовністю пшениці, найбільший інтерес представляють сполуки під номерами: 862307, 412852, 242130 та 862096. Дані сполуки мають найнижчу аффіність до досліджуваної послідовності, що знаходиться на мікро-мілі молярному рівні.

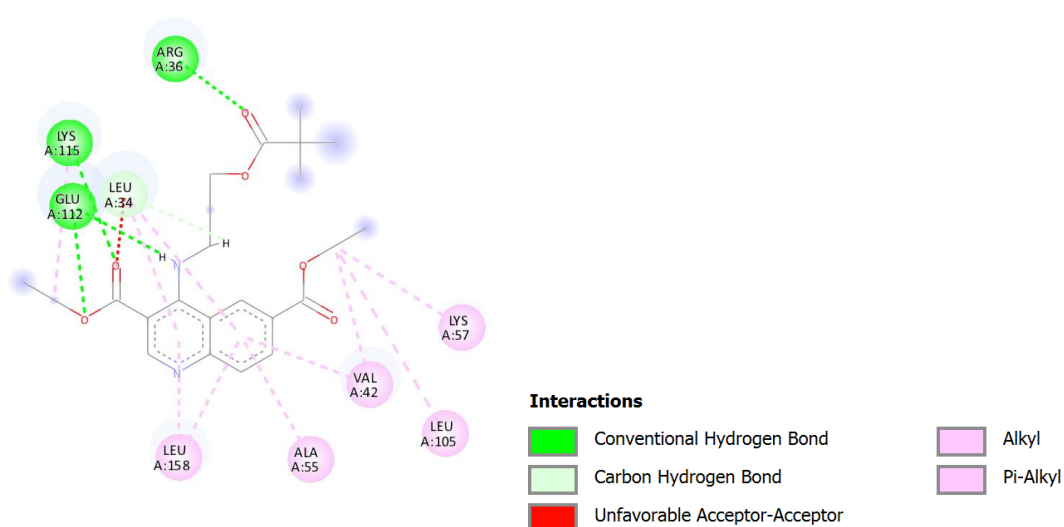


Рисунок 3.7 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 242130 з Аврора-подібною послідовністю *Triticum turgidum* (Пшениця тучна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 85,633792 мкмоль – 8,508224 ммоль.

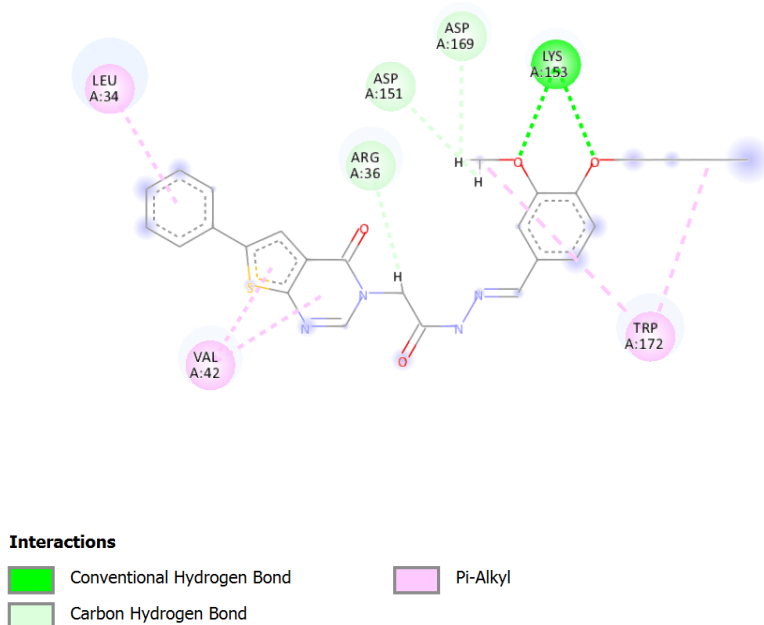


Рисунок 3.8 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 412852 з Аврора-подібною послідовністю *Triticum turgidum* (Пшениця тучна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 134,357923 мкмоль – 13,349254 ммоль.

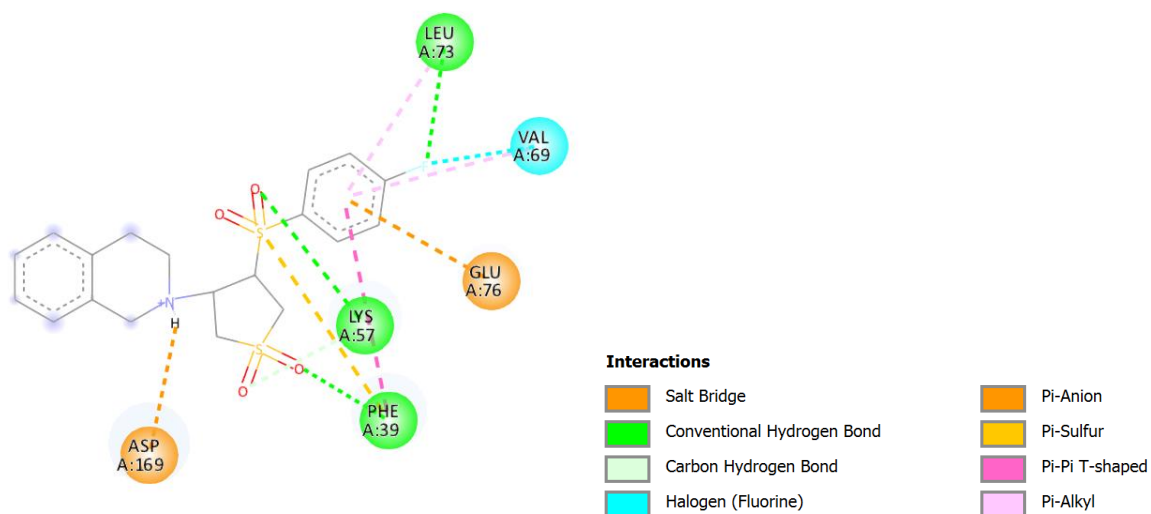


Рисунок 3.9 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 862096 з Аврора-подібною послідовністю *Triticum turgidum* (Пшениця тучна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 31,712723 мкмоль – 3,150847 ммоль.

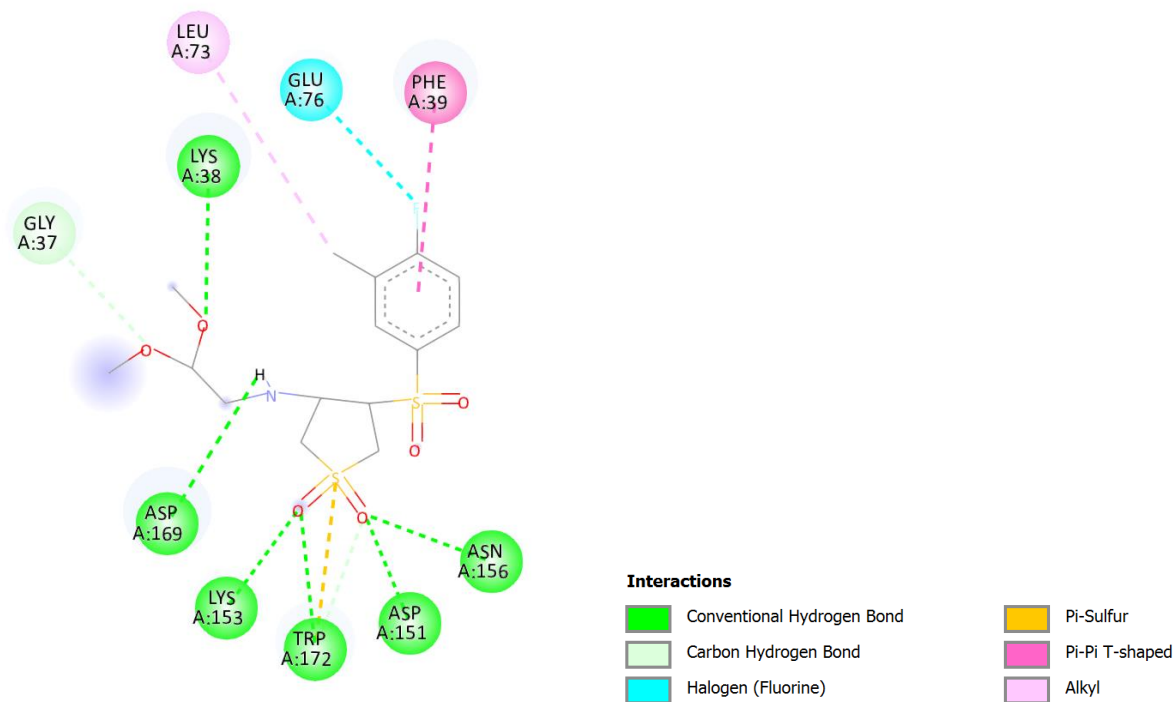


Рисунок 3.10 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 862307 з Аврора-подібною послідовністю *Triticum turgidum* (Пшениця тучна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 152,544837 мкмоль – 15,156231 ммоль.

Name	Src	Estimated Affinity	LLE	LE	Tor.	Intra-clash	Inter-clash	MW	LogP	TPSA	Mol. ID	USMILES ID
		pM	nM	μM	mM							
1	266983_1_001							341.42	1.69	72.9	187	16
2	519279_1_004							337.82	4.59	55.4	192	4
3	137130_1_005							397.52	1.09	93.5	193	9
4	169063_1_004							317.41	4.33	55.4	196	2
5	758737_1_002							459.54	4.39	74.6	197	22
6	519260_1_001							303.38	3.78	55.4	200	19
7	872133_1_005							492.57	3.90	120.9	205	24
8	570493_1_001							387.46	4.13	46.9	206	31
9	14123700_1_001							340.46	3.07	68.2	207	7
10	1183093_1_004							387.54	4.28	80.3	210	6
11	240596_1_001							467.57	4.62	90.3	213	14
12	861912_1_001							396.50	1.70	94.1	216	28
13	1029_1_002							416.91	4.80	42.3	219	10
14	827030_1_005							351.45	2.82	67.2	220	23
15	412852_1_001							490.58	4.46	94.8	221	17
16	862087_1_001							414.49	1.84	94.1	227	26
17	242130_1_003							431.51	3.40	105.1	229	15
18	201340_1_003							306.38	3.71	68.3	237	13
19	862096_1_002							410.51	1.71	72.7	241	29
20	683492_1_005							319.38	3.10	64.6	246	21
21	1113322_1_002							337.44	3.50	54.9	253	5
22	862307_1_005							396.48	0.56	103.3	254	27
23	59166_1_002							304.41	3.77	51.2	256	1
24	370407_1_005							362.40	4.09	101.2	258	30
26	142173_1_002							401.52	4.91	64.6	268	8
27	862259_1_001							428.52	2.15	94.1	271	25
28	226247_1_005							417.52	4.85	81.7	286	12
29	420135_1_002							334.85	4.17	43.1	290	3
30	412868_1_003							476.55	4.07	94.8	297	18
31	549292_1_005							360.39	3.85	101.2	301	20

Рисунок 3.11 – Таблиця отриманих результатів докінгу 31 найкращого кандидата з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoas* (Кіноа). Для візуалізації у таблиці використовувалися значення з найкращими енергіями зв'язування для кожної сполуки-кандидата.

Серед результатів докінгу з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа) найбільший інтерес представляють сполуки, що зв'язуються на наномолярному рівні, оскільки це свідчить про ефективні гербіцидні властивості. До цих сполук належать кандидати під номерами: 266983, 519279, 137130, 169063.

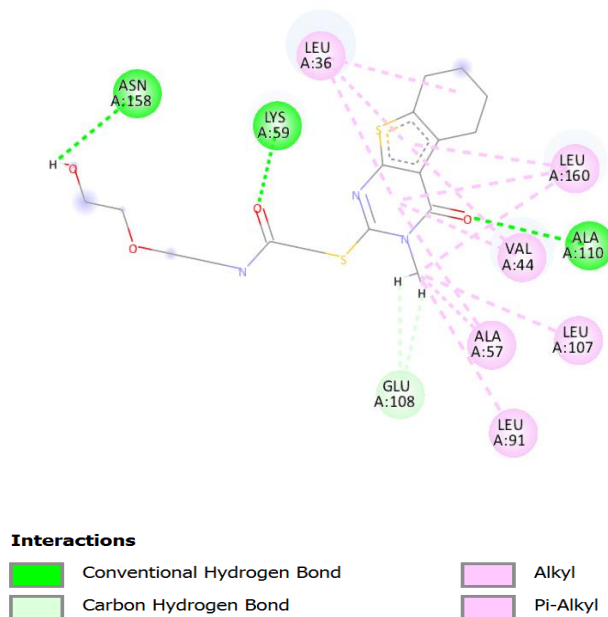


Рисунок 3.12 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 137130 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 25,233954 нмоль – 2,507143 мкмоль.

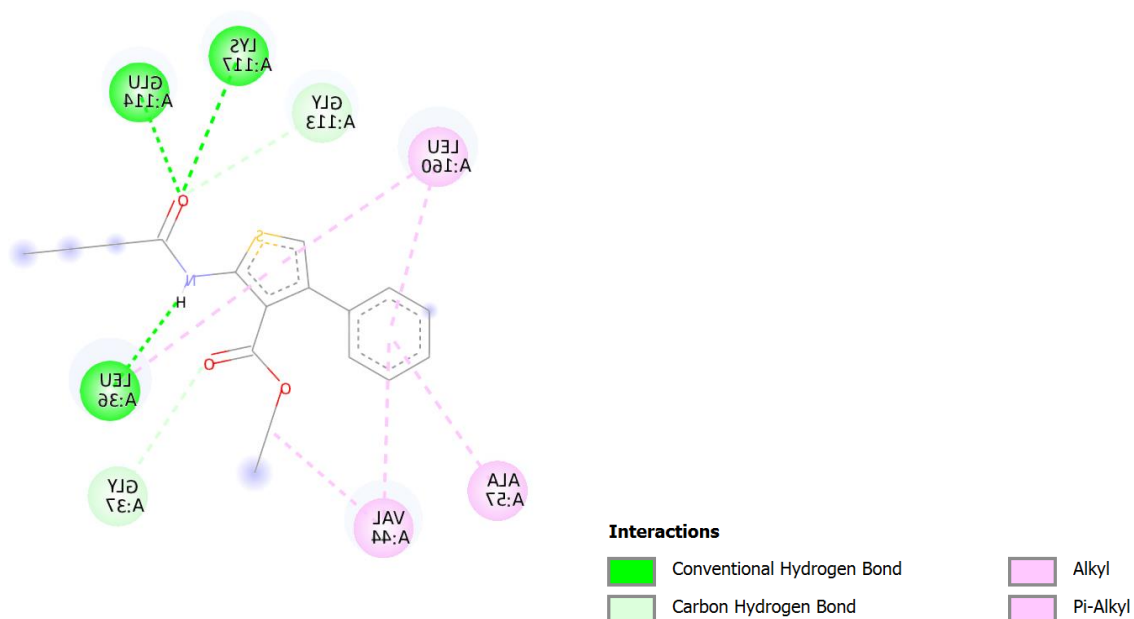


Рисунок 3.13 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 169063 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 41,25453 нмоль – 4,098882 мкмоль.

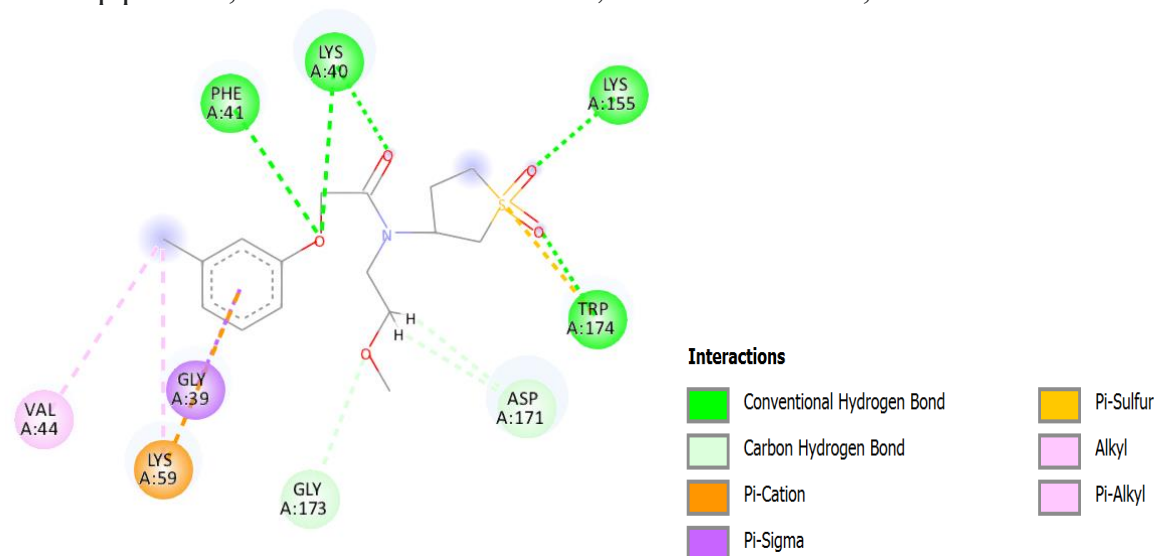
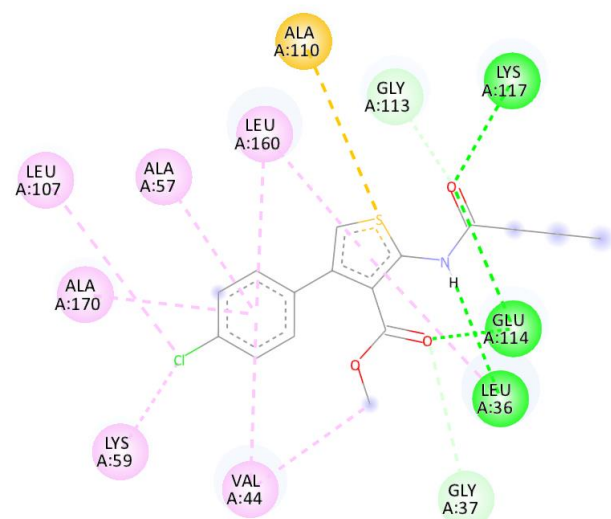


Рисунок 3.14 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 266983 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 0,801400 нмоль – 79,623790 нмоль.



Interactions






	Conventional Hydrogen Bond		Alkyl
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Alkyl
	Sulfur-X		

Рисунок 3.15 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 17,528231 нмоль – 1,741533 мкмоль.

Name	Src	Estimated Affinity				LLE	LE	Tor.	Intra-clash	Inter-clash	MW	LogP	TPSA	Mol. ID	USMILES ID
		pM	nM	µM	mM										
1	240596_1_005										467.57	4.62	90.3	187	14
2	370407_1_005										362.40	4.09	101.2	191	30
3	266983_1_004										341.42	1.69	72.9	192	16
4	137130_1_004										397.52	1.09	93.5	195	9
5	1113322_1_001										337.44	3.50	54.9	198	5
6	1183093_1_001										387.54	4.28	80.3	203	6
7	519279_1_001										337.82	4.59	55.4	204	4
8	872133_1_004										492.57	3.90	120.9	209	24
9	519260_1_005										303.38	3.78	55.4	210	19
10	549292_1_002										360.39	3.85	101.2	212	20
11	1032_1_004										402.88	4.50	42.3	214	11
12	1029_1_001										416.91	4.80	42.3	219	10
13	862259_1_005										428.52	2.15	94.1	223	25
14	758737_1_005										459.54	4.39	74.6	229	22
15	862087_1_003										414.49	1.84	94.1	230	26
16	861912_1_001										396.50	1.70	94.1	231	28
17	59166_1_001										304.41	3.77	51.2	233	1
18	683492_1_003										319.38	3.10	64.6	234	21
19	570493_1_004										387.46	4.13	46.9	236	31
20	220247_1_001										417.52	4.85	81.7	237	12
21	142173_1_003										401.52	4.91	64.6	246	8
22	827030_1_001										351.45	2.82	67.2	247	23
23	14123700_1_001										340.46	3.07	68.2	249	7
24	201340_1_002										306.38	3.71	68.3	250	13
25	420135_1_005										334.85	4.17	43.1	262	3
26	862307_1_003										395.47	1.58	98.8	263	27
27	862096_1_002										410.51	1.71	72.7	275	29
28	412852_1_001										490.58	4.46	94.8	303	17
29	242130_1_002										430.50	3.98	103.8	309	15
30	169063_1_004										317.41	4.33	55.4	313	2
31	412868_1_004										476.55	4.07	94.8	314	18

Рисунок 3.16 – Таблиця отриманих результатів докінгу 31 найкращого кандидата з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений). Для візуалізації у таблиці використовувалися значення з найкращими енергіями зв'язування для кожної сполуки-кандидата.

Аналогічно до попереднього аналізу, найбільш цікавими видаються результати, що мають наномольний рівень зв'язування з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений). Сполуки кандидати з найкращою аффіністю: 240596, 370407, 266983, 137130, 1113322, 1183093, 519279.

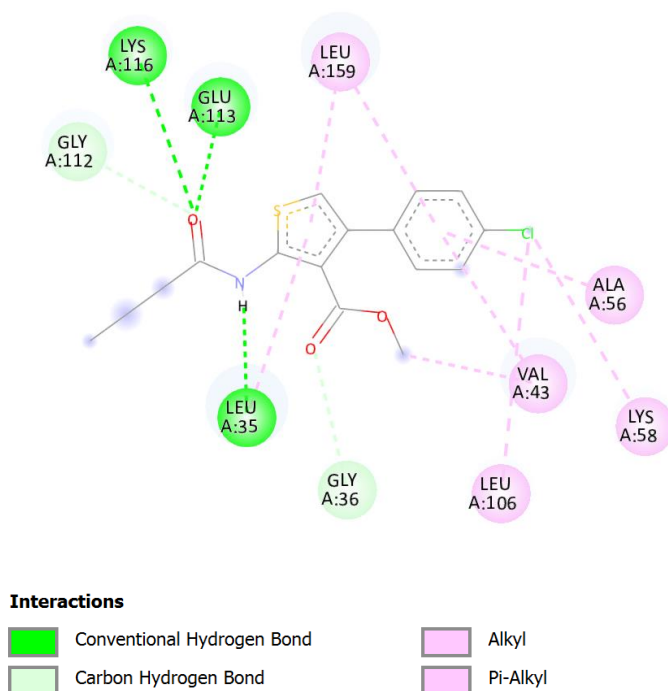
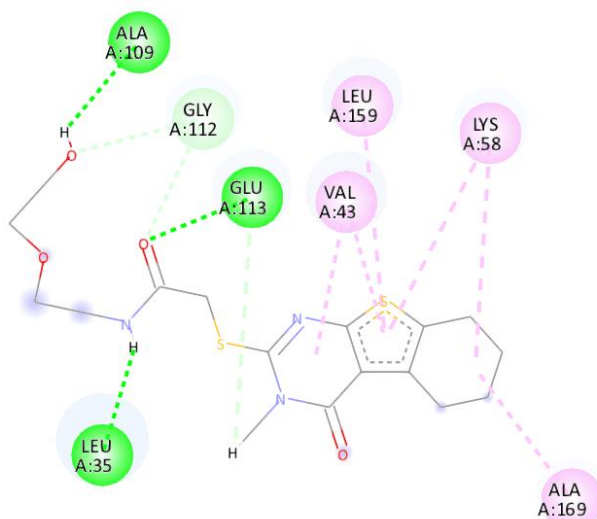


Рисунок 3.17 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 18,453769 нмоль – 1,833491 мкмоль.



Interactions





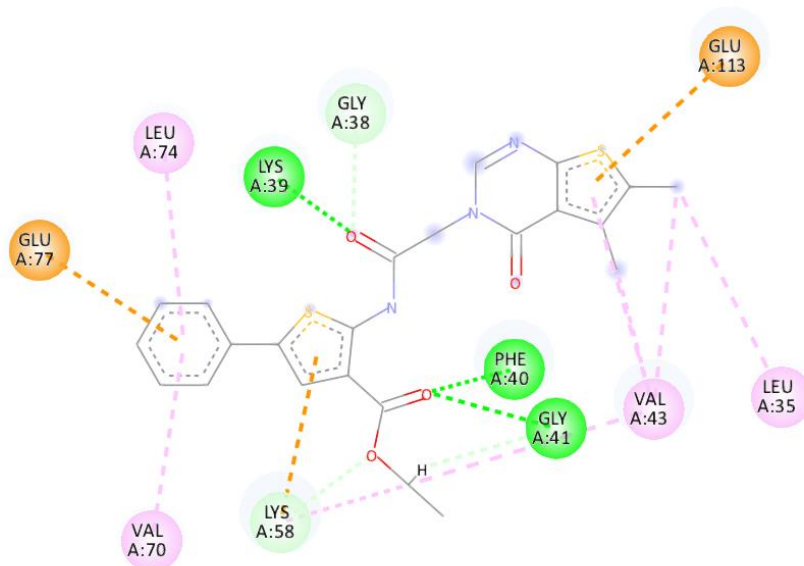
	Conventional Hydrogen Bond		Alkyl
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Alkyl

Рисунок 3.18 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 137130 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 4,015714 нмоль – 0,398986 мкмоль.



Interactions







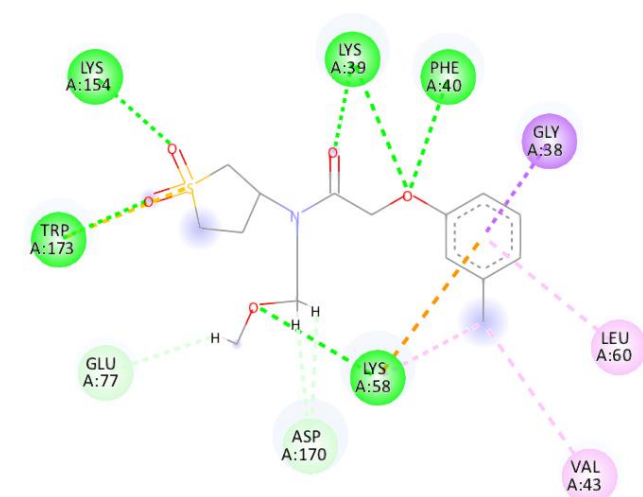
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Anion
	Carbon Hydrogen Bond		Alkyl
	Pi-Cation		Pi-Alkyl

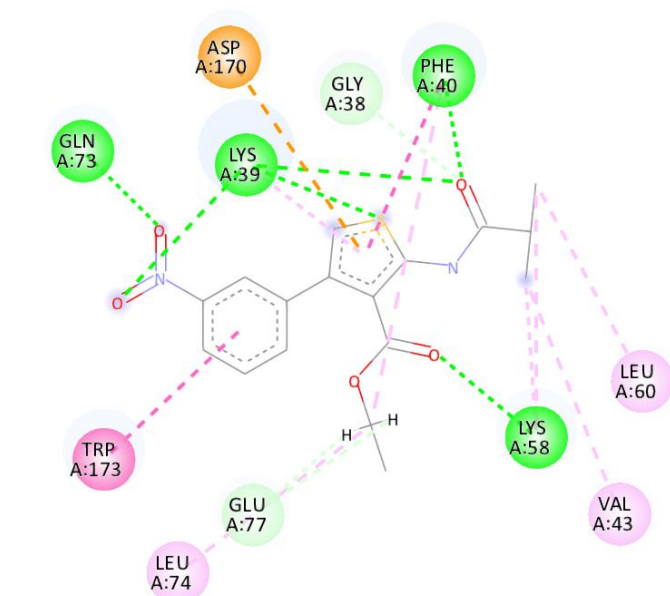
Рисунок 3.19 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 240596 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 0,075620 нмоль – 7,513246 нмоль.



Interactions

■ Conventional Hydrogen Bond	■ Pi-Sulfur
■ Carbon Hydrogen Bond	■ Alkyl
■ Pi-Cation	■ Pi-Alkyl
■ Pi-Sigma	

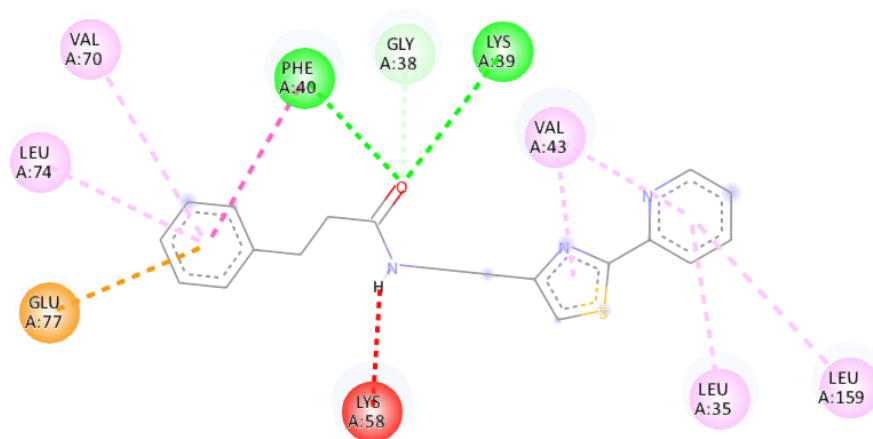
Рисунок 3.20 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 266983 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 2,694891 нмоль – 0,267753 мкмоль.



Interactions

■ Conventional Hydrogen Bond	■ Pi-Pi T-shaped
■ Carbon Hydrogen Bond	■ Alkyl
■ Pi-Anion	■ Pi-Alkyl
■ Pi-Pi Stacked	

Рисунок 3.21 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 370407 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 0,509197 нмоль – 50,591755 нмоль.



Interactions







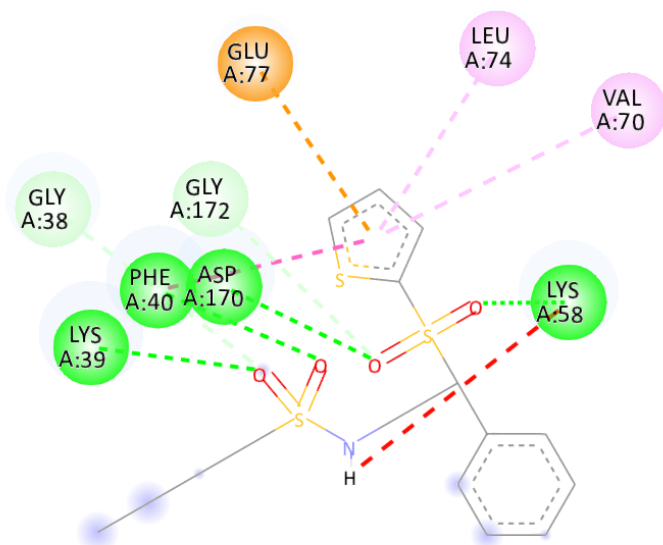
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Anion
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Pi T-shaped
	Unfavorable Donor-Donor		Pi-Alkyl

Рисунок 3.22 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 1113322 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 7,901750 нмоль – 0,785086 мкмоль.



Interactions







	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Anion
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Pi T-shaped
	Unfavorable Donor-Donor		Pi-Alkyl

Рисунок 3.23 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 1183093 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 17,554135 нмоль – 1,744107 мкмоль.

	Name	Src	Estimated Affinity				LLE	LE	Tor	Intra-clash	Inter-clash	MW	LogP	TPSA	Mol ID	USMILES ID
			pM	nM	μM	mM										
1	683492_1_004										319.38	3.10	64.6	296	21	
2	549292_1_002										360.39	3.85	101.2	285	20	
3	862307_1_001										396.48	0.56	103.3	282	27	
4	412868_1_001										476.55	4.07	94.8	276	18	
5	420135_1_003										334.85	4.17	43.1	263	3	
6	861912_1_004										396.50	1.70	94.1	257	28	
7	412852_1_002										490.58	4.46	94.8	256	17	
8	201340_1_004										306.38	3.71	68.3	253	13	
9	142173_1_005										401.52	4.91	64.6	245	8	
10	862087_1_003										414.49	1.84	94.1	241	26	
11	862259_1_003										428.52	2.15	94.1	232	25	
12	14123700_1_003										340.46	3.07	68.2	231	7	
13	266983_1_001										341.42	1.69	72.9	226	16	
14	59166_1_002										304.41	3.77	51.2	225	1	
15	370407_1_003										362.40	4.09	101.2	222	30	
16	1183093_1_004										387.54	4.28	80.3	219	6	
17	240596_1_004										467.57	4.62	90.3	216	14	
18	242130_1_002										430.50	3.98	103.8	212	15	
19	1029_1_001										416.91	4.80	42.3	210	10	
20	570493_1_004										387.46	4.13	46.9	208	31	
21	758737_1_003										459.54	4.39	74.6	207	22	
22	1032_1_005										402.88	4.50	42.3	206	11	
23	1113322_1_002										337.44	3.50	54.9	204	5	
24	169063_1_001										317.41	4.33	55.4	203	2	
25	827030_1_002										351.45	2.82	67.2	197	23	
26	519260_1_001										303.38	3.78	55.4	195	19	
27	519279_1_001										337.82	4.59	55.4	192	4	
28	220247_1_005										417.52	4.85	81.7	191	12	
29	862096_1_001										410.51	1.71	72.7	190	29	
30	872133_1_004										492.57	3.90	120.9	188	24	
31	137130_1_005										397.52	1.09	93.5	187	9	

Рисунок 3.24 – Таблиця отриманих результатів докінгу 31 найкращого кандидата з Аврора-подібною послідовністю *Homo sapiens* (Людина розумна). Для візуалізації у таблиці використовувалися значення з найкращими енергіями зв'язування для кожної сполуки-кандидата.

В цьому випадку, цікавими є сполуки кандидати, що погано зв'язуються з людською Аврора-подібною послідовністю, а саме ті, що будуть зв'язуватися в мілі-молярній концентрації, до цих сполук належать, кандидати під номерами 683492, 549292, 862307, 412868.

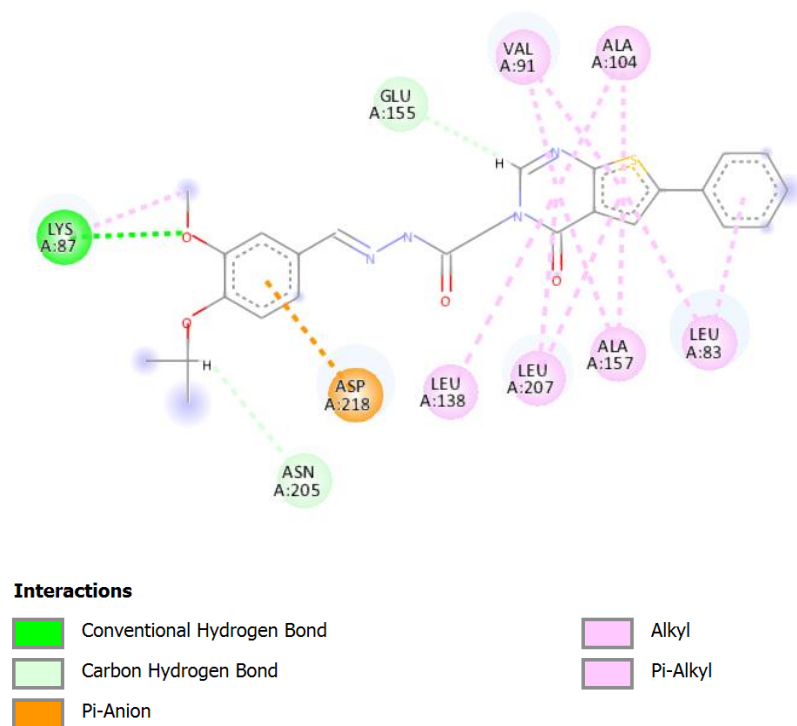


Рисунок 3.25 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 412868 з Аврора-подібною послідовністю *Homo sapiens* (Людина розумна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 0,331011 ммоль – 32,887906 ммоль.

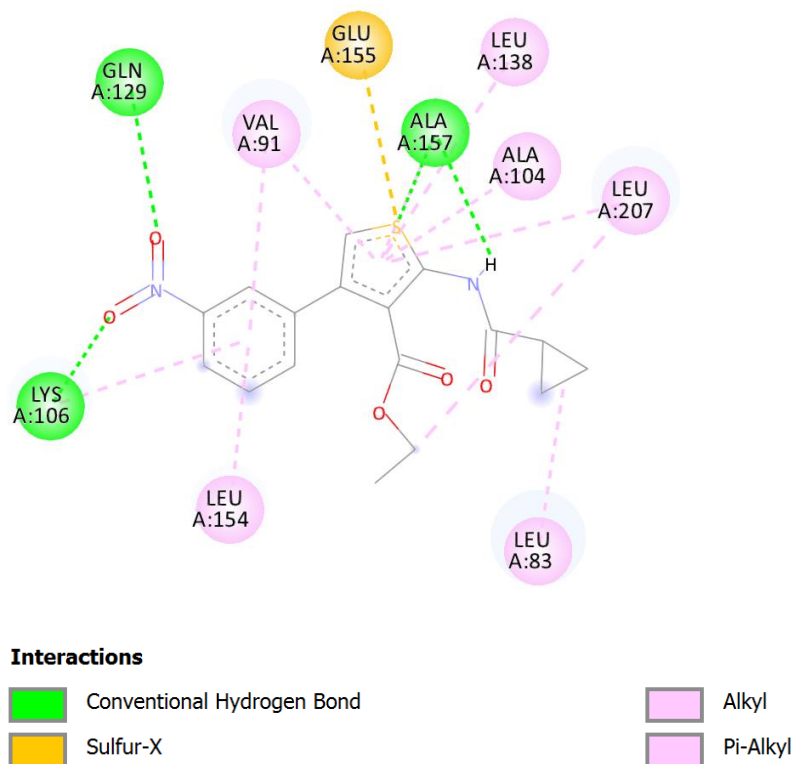


Рисунок 3.26 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 549292 з Аврора-подібною послідовністю *Homo sapiens* (Людина розумна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 0,555072 ммоль – 55,149716 ммоль.

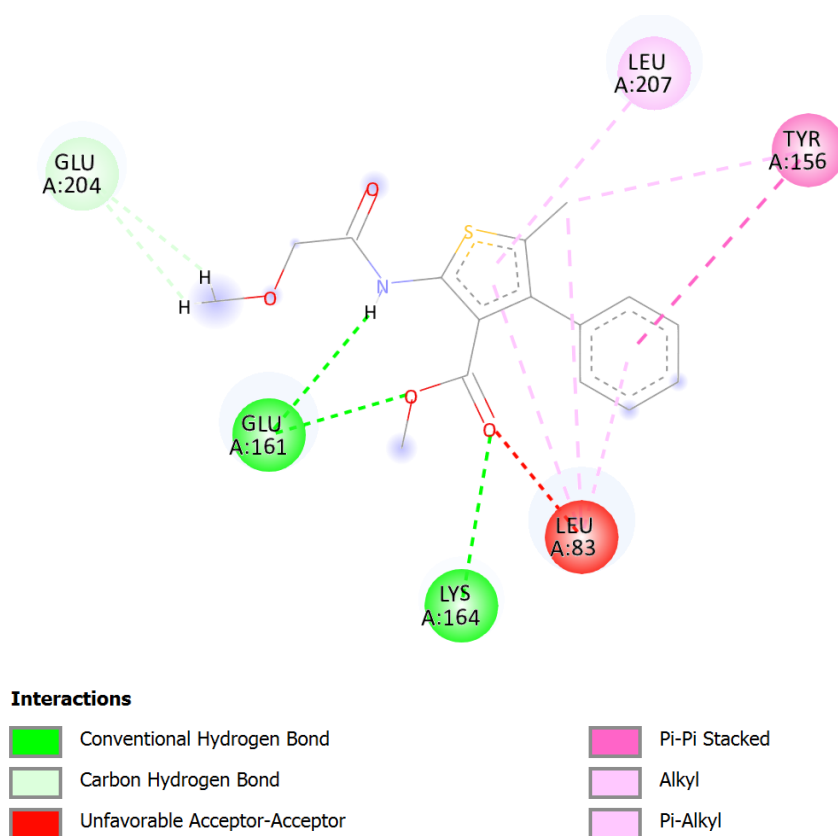


Рисунок 3.27 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 683492 з Аврора-подібною послідовністю *Homo sapiens* (Людина розумна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована аффіність, визначена SeeSar – 1,301198 ммоль – 129,281718 ммоль.

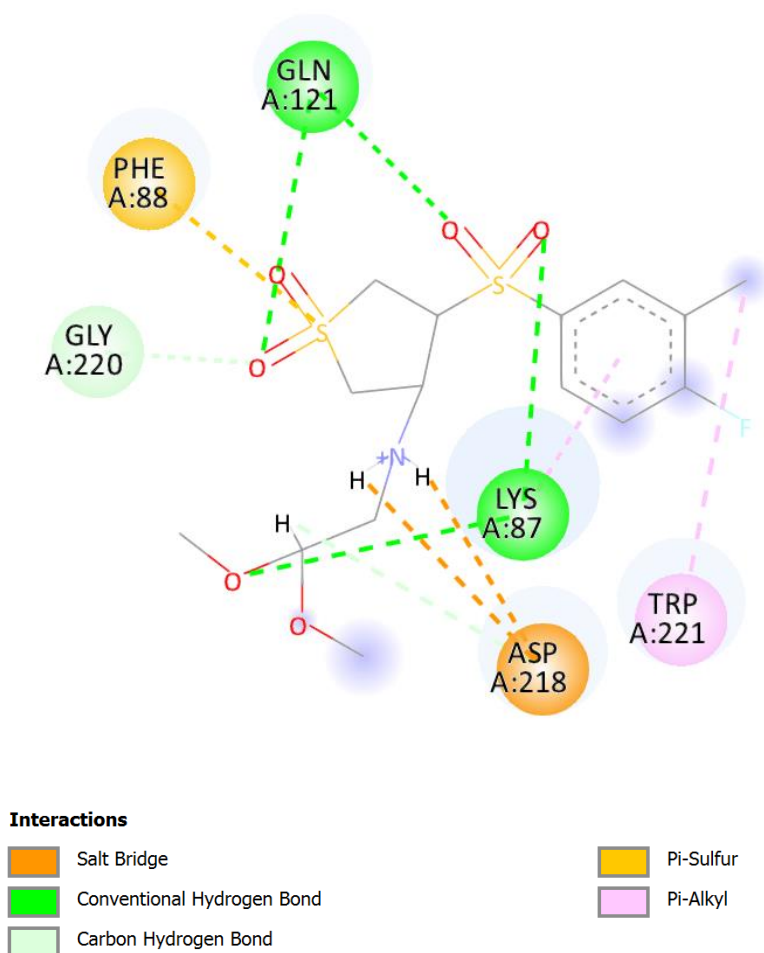


Рисунок 3.28 – 2D діаграма активного центру зв'язування сполуки під номером 862307 з Аврора-подібною послідовністю *Homo sapiens* (Людина розумна), візуалізовано за допомогою Discovery Studio. Прогнозована афінність, визначена SeeSar – 0,431980 ммоль – 42,919779 ммоль.

У результаті даного дослідження, вдалося виявити сполуку 519279 {метил2-(бутириламін)-4-(4-хлорфеніл)-3-тіофенкарбоксилат}, яка має сильні гербіцидні властивості до таких родів рослин-шкідників як *Chenopodium* (Лобода), та *Setaria* (Мишій) і виняткову селективність дії щодо *Zea mays* (Кукурудза звичайна). Вільна енергія зв'язування з представником родини *Chenopodium* становить -9,1626 ккал/моль, а коефіцієнт LE (ligand efficiency) становить 0,416. Вільна ж енергія зв'язування з представником родини *Setaria* становить -9,112 ккал/моль а коефіцієнт LE (ligand efficiency) становить 0,414. У результаті перевірки на зв'язування з людською Аврора-подібною послідовністю, було також виявлена значна афінність, а саме зв'язування в межах 22,112559 нмоль –

2,197013 мкмоль. Це може свідчити про значну токсичність та небезпеку для людини. Не зважаючи на це, враховуючи вражаючу селективність даної сполуки по відношенню до кукурудзи, та сильні гербіцидні властивості проти поширених бур'янів, пропонується використовувати вищезгадану сполуку як ефективний гербіцидний засіб для сортів кукурудзи, з яких виготовляють біопаливо, а саме High-Oil Corn (НОС), High-Starch Corn (НСС), Flint Corn. Дані сорти, найкраще підходять для обраної цілі, оскільки мають високий рівень вмісту олії та крохмалю, і успішно можуть бути перетворені на етанол. Розвиток виробництва біопалива на основі кукурудзи, сприяє скороченню викидів парникових газів, здатності до біологічного розкладання та чистоті займання, що підвищує енергетичну безпеку.

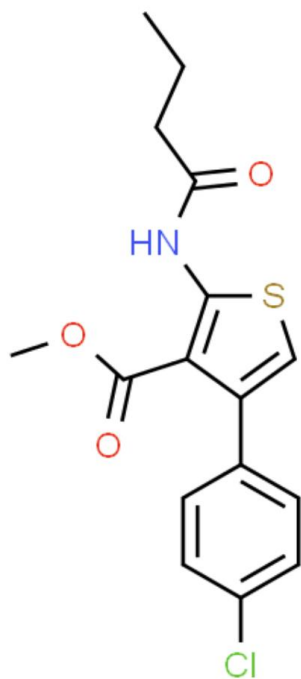


Рисунок 3.29 – сполука-кандидат 519279 {метил2-(бутириламін)-4-(4-хлорфеніл)-3-тіофенкарбоксилат}.

ВИСНОВКИ

1. За допомогою методу молекулярного докінгу у програмному пакеті SeeSAR було проведено віртуальний скринінг бібліотеки сполук “Олександрійська”, і знайдено 31 сполуку-кандидат, з високою аффіністю до рослини Аврори 1 (*Arabidopsis thaliana*).
2. Виявлено, що найкращою селективністю до *Zea mays* (Кукурудза звичайна) володіє сполука під номером 519279{метил2-(бутириламін)-4-(4-хлорфеніл)-3-тіофенкарбоксилат}, для якої було визначено повну відсутність зв’язування з таргетним Аврора-подібним білком для усіх 5 поз, отриманих під час докінгу.
3. Встановлено, що сполука-кандидат 519279 характеризується високою аффіністю до Аврора-подібних білків рослин-шкідників з родів *Chenopodium* (Лобода) та *Setaria* (Мишій), а саме -9,1626 ккал/моль та -9,112 ккал/моль відповідно. Очікувані концентрації зв’язування з родом *Chenopodium* становить 17,528231 нмоль – 1,741533 мкмоль, а з родом *Setaria* 18,453769 нмоль – 1,833491 мкмоль.
4. Показано, що сполука-кандидат 519279 також демонструє зв’язування в нано-молярних концентраціях з людським Аврора-подібним білком (22,112559 нмоль – 2,197013 мкмоль), внаслідок чого пропонується використовувати дану сполуку, як високоефективний гербіцид для сортів кукурудзи, що використовуються для виготовлення біопалива.
5. Інші ж 30 сполук-кандидатів або ж не продемонстрували достатньої селективності щодо Аврора-подібних послідовностей *Triticum turgidum*, *Zea mays* та *Homo sapiens*, або ж не мали достатньої аффіності до досліджуваних родів бур’янів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Carmena M, Earnshaw WC. 2003. The cellular geography of aurora kinases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 4: 842–854.
2. Glover D, Leibowitz M, McLean D, Parry H. 1995. Mutations in Aurora prevent centrosome separation leading to the formation of monopolar spindles. *Journal of Cell Biology* 81: 95–105.
3. Terada Y, Uetake Y, Kuriyama R. 2003. Interaction of Aurora-A and centrosomin at the microtubule-nucleating site in *Drosophila* and mammalian cells. *Journal of Cell Biology* 162: 757–764.
4. Liu Q, Ruderman JV. 2006. Aurora A, mitotic entry, and spindle bipolarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103: 5811–5816.
5. Kufer TA, Sillje HHW, Körner R, Gruss OJ, Meraldi P, Nigg EA. 2002. Human TPX2 is required for targeting Aurora-A kinase to the spindle. *Journal of Cell Biology* 158: 617–623.
6. Bird AW, Hyman AA. 2008. Building a spindle of the correct length in human cells requires the interaction between TPX2 and Aurora A. *Journal of Cell Biology* 182: 289–300.
7. Tsai MY, Zheng Y. 2005. Aurora A kinase-coated beads function as microtubule organizing centers and enhance RanGTP-induced spindle assembly. *Current Biology* 15: 2156–2163.
8. Fu J, Bian M, Liu J, Jiang Q, Zhang C. 2009. A single amino acid change converts Aurora-A into Aurora-B-like kinase in terms of partner specificity and cellular function. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 106: 6939–6944.
9. Yang H, Burke T, Dempsey J, Diaz B, Collins E, Toth J, Beckmann R, Ye X. 2005. Mitotic requirement for aurora A kinase is bypassed in the absence of aurora B kinase. *FEBS Letters* 579: 3385–3391.
10. Tseng BS, Tan L, Kapoor TM, Funabiki H. 2010. Dual detection of chromosomes and microtubules by the chromosomal passenger complex drives

spindle assembly. *Developmental Cell* 18: 903–912.

11. Carmena, M. et al. (2012) The chromosomal passenger complex (CPC): from easy rider to the godfather of mitosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 789–803
12. Nikonova, A.S. et al. (2013) Aurora A kinase (AURKA) in normal and pathological cell division. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 661–687
13. Goldenson, B. and Crispino, J.D. (2015) The aurora kinases in cell cycle and leukemia. *Oncogene* 34, 537–545
14. Demidov, D. et al. (2005) Identification and dynamics of two classes of aurora-like kinases in Arabidopsis and other plants. *Plant Cell* 17, 836–848
15. Van Damme, D. et al. (2011) Arabidopsis alpha Aurora kinases function in formative cell division plane orientation. *Plant Cell* 23, 4013–4024
16. Wirtz-Peitz, F. et al. (2008) Linking cell cycle to asymmetric division: Aurora-A phosphorylates the Par complex to regulate Numb localization. *Cell* 135, 161–173
17. Cowley, D.O. et al. (2009) Aurora-A kinase is essential for bipolar spindle formation and early development. *Mol. Cell. Biol.* 29, 1059–1071
18. Wang, Y. et al. (2014) The negative interplay between Aurora A/B and BRCA1/2 controls cancer cell growth and tumorigenesis via distinct regulation of cell cycle progression, cytokinesis, and tetraploidy. *Mol. Cancer* 13, 94
19. Kawabe, A. et al. (2005) Characterization of plant Aurora kinases during mitosis. *Plant Mol. Biol.* 58, 1–13
20. Petrovska, B. et al. (2012) Plant Aurora kinases play a role in maintenance of primary meristems and control of endoreduplication. *New Phytol.* 193, 590–604
21. Kurihara, D. et al. (2008) Live cell imaging reveals plant aurora kinase has dual roles during mitosis. *Plant Cell Physiol.* 49, 1256–1261
22. Vader, G. and Lens, S.M. (2008) The Aurora kinase family in cell division and cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 1786, 60–72
23. Ducat, D. and Zheng, Y. (2004) Aurora kinases in spindle assembly and chromosome segregation. *Exp. Cell Res.* 301, 60–67
24. Fu, J. et al. (2007) Roles of Aurora kinases in mitosis and tumorigenesis.

Mol. Cancer Res. 5, 1–10

25. Neumayer, G. et al. (2014) TPX2: of spindle assembly, DNA damage response, and cancer. *Cell. Mol. Life Sci.* 71, 3027–3047

26. Crosio, C. et al. (2002) Mitotic phosphorylation of histone H3: spatio-temporal regulation by mammalian Aurora kinases. *Mol. Cell. Biol.* 22, 874–885

27. Tomaščíková, E. et al. (2015) TPX2 Protein of Arabidopsis activates Aurora kinase 1, but not Aurora kinase 3 in vitro. *Plant Mol. Biol. Rep.* Published online April 23, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s11105-015-0890-x>

28. Kirioukhova, O. et al. (2011) Female gametophytic cell specification and seed development require the function of the putative Arabidopsis INCENP ortholog WYRD. *Development* 138, 3409–3420

29. Koch, A. et al. (2012) A chemical genetic approach for covalent inhibition of analogue-sensitive aurora kinase. *ACS Chem. Biol.* 7, 723–731

30. Pinsky, B.A. et al. (2006) The Ipl1-Aurora protein kinase activates the spindle checkpoint by creating unattached kinetochores. *Nat. Cell Biol.* 8, 78–83

31. Yasui, Y. et al. (2004) Autophosphorylation of a newly identified site of Aurora-B is indispensable for cytokinesis. *J. Biol. Chem.* 279, 12997–13003

32. Francisco, L. and Chan, C.S. (1994) Regulation of yeast chromosome segregation by Ipl1 protein kinase and type 1 protein phosphatase. *Cell. Mol. Biol. Res.* 40, 207–213

33. Petersen, J. et al. (2001) The *S. pombe* aurora-related kinase Ark1 associates with mitotic structures in a stage dependent manner and is required for chromosome segregation. *J. Cell Sci.* 114, 4371–4384

34. Cheeseman, I.M. et al. (2002) Phospho-regulation of kinetochore–microtubule attachments by the Aurora kinase Ipl1p. *Cell* 111, 163–172

35. Ferrari, S. et al. (2005) Aurora-A site specificity: a study with synthetic peptide substrates. *Biochem. J.* 390, 293–302.

36. Ohashi, S. et al. (2006) Phospho-regulation of human protein kinase Aurora-A: analysis using anti-phospho-Thr288 monoclonal antibodies. *Oncogene* 25, 7691–7702

37. Sardon, T. et al. (2010) Uncovering new substrates for Aurora A kinase. *EMBO Rep.* 11, 977–984
38. Lermontova, I. et al. (2015) Centromeric chromatin and its dynamics in plants. *Plant J.* 83, 4–17
39. Guo, L. et al. (2009) Evaluating the microtubule cytoskeleton and its interacting proteins in monocots by mining the rice genome. *Ann. Bot.* 103, 387–402
40. Menges, M. et al. (2003) Genome-wide gene expression in an Arabidopsis cell suspension. *Plant Mol. Biol.* 53, 423–442
41. Van Damme, D. et al. (2004) Molecular dissection of plant cytokinesis and phragmoplast structure: a survey of GFP-tagged proteins. *Plant J.* 40, 386–398
42. Demidov, D. et al. (2014) Altered expression of Aurora kinases in Arabidopsis results in aneu- and polyploidization. *Plant J.* 80, 449–46
43. Ashtiyani, R.K. et al. (2011) AtHaspin phosphorylates histone H3 at threonine 3 during mitosis and contributes to embryonic patterning in Arabidopsis. *Plant J.* 68, 443–454
44. Li, S. et al. (2015) Spatial compartmentalization specializes the function of Aurora A and Aurora B. *J. Biol. Chem.* 290, 17546–17558
45. Fu, J. et al. (2009) A single amino acid change converts Aurora-A into Aurora-B-like kinase in terms of partner specificity and cellular function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 6939–6944
46. Yang, H. et al. (2005) Mitotic requirement for aurora A kinase is bypassed in the absence of aurora B kinase. *FEBS Lett.* 579, 3385–3391
47. Yang, K.T. et al. (2013) Studying the roles of Aurora-C kinase during meiosis in mouse oocytes. *Methods Mol. Biol.* 957, 189–202
48. Kimmins, S. et al. (2007) Differential functions of the Aurora-B and Aurora-C kinases in mammalian spermatogenesis. *Mol. Endocrinol.* 21, 726–739
49. Sasai, K. et al. (2004) Aurora-C kinase is a novel chromosomal passenger protein that can complement Aurora-B kinase function in mitotic cells. *Cell Motil. Cytoskeleton* 59, 249–263

50. Vos, J.W. et al. (2008) The plant TPX2 protein regulates prospindle assembly before nuclear envelope breakdown. *Plant Cell* 20, 2783–2797
51. Evrard, J.L. et al. (2009) Plant TPX2 and related proteins. *Plant Signal. Behav.* 4, 69–72
52. Goshima, G. (2011) Identification of a TPX2-like microtubule-associated protein in *Drosophila*. *PLoS ONE* 6, e28120
53. Xu, Z. et al. (2009) INCENP–aurora B interactions modulate kinase activity and chromosome passenger complex localization. *J. Cell Biol.* 187, 637–653
54. Kurihara, D. et al. (2006) Aurora kinase is required for chromosome segregation in tobacco BY-2 cells. *Plant J.* 48, 572–580
55. Demidov, D. et al. (2009) Aurora1 phosphorylation activity on histone H3 and its cross-talk with other post-translational histone modifications in *Arabidopsis*. *Plant J.* 59, 221–230
56. Katayama, H. et al. (2004) Phosphorylation by aurora kinase A induces Mdm2-mediated destabilization and inhibition of p53. *Nat. Genet.* 36, 55–62
57. Gully, C.P. et al. (2012) Aurora B kinase phosphorylates and instigates degradation of p53. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, E1513–E1522
58. Kurihara, D. et al. (2011) Identification and characterization of plant Haspin kinase as a histone H3 threonine kinase. *BMC Plant Biol.* 11, 73
59. Kelly, A.E. et al. (2010) Survivin reads phosphorylated histone H3 threonine 3 to activate the mitotic kinase Aurora B. *Science* 330, 235–239
60. Ashtiyani, R.K. et al. (2011) AtHaspin phosphorylates histone H3 at threonine 3 during mitosis and contributes to embryonic patterning in *Arabidopsis*. *Plant J.* 68, 443–454
61. Kurihara, D. et al. (2008) Live cell imaging reveals plant aurora kinase has dual roles during mitosis. *Plant Cell Physiol.* 49, 1256–1261
62. Boeckmann, L. et al. (2013) Phosphorylation of centromeric histone H3 variant regulates chromosome segregation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell* 24, 2034–2044

63. Zeitlin, S.G. et al. (2001) CENP-A is phosphorylated by Aurora B kinase and plays an unexpected role in completion of cytokinesis. *J. Cell Biol.* 155, 1147–1157.
64. Bramsiepe, J. et al. (2010) Endoreplication controls cell fate maintenance. *PLoS Genet.* 6, e1000996
65. Matzke, M.A. et al. (2003) Does the intrinsic instability of aneuploid genomes have a causal role in cancer? *Trends Genet.* 19, 253–256
66. Birchler, J.A. and Veitia, R.A. (2007) The gene balance hypothesis: from classical genetics to modern genomics. *Plant Cell* 19, 395–402
67. Makarevitch, I. et al. (2008) Profiling expression changes caused by a segmental aneuploid in maize. *BMC Genomics* 9, 7
68. Henry, I.M. et al. (2007) Genetic basis for dosage sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet.* 3, e70
69. Comai, L. (2000) Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants. *Plant Mol. Biol.* 43, 387–399
70. Weimer, A.K. et al. (2012) Retinoblastoma related1 regulates asymmetric cell divisions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24, 4083–4095
71. Dong, J. et al. (2009) BASL controls asymmetric cell division in *Arabidopsis*. *Cell* 137, 1320–1330
72. Berger, F. and Brownlee, C. (1993) Ratio confocal imaging of free cytoplasmic calcium gradients in polarising and polarised *Fucus* zygotes. *Zygote* 1, 9–15
73. Pu, R. and Robinson, K.R. (1998) Cytoplasmic calcium gradients and calmodulin in the early development of the furoid alga *Pelvetia compressa*. *J. Cell Sci.* 111, 3197–3207
74. Breuninger, H. et al. (2008) Differential expression of WOX genes mediates apical–basal axis formation in the *Arabidopsis* embryo. *Dev. Cell* 14, 867–876
75. Cartwright, H.N. et al. (2009) PAN1: a receptor-like protein that promotes polarization of an asymmetric cell division in maize. *Science (N.Y.)* 323, 649–651

76. Hara, K. et al. (2009) Epidermal cell density is autoregulated via a secretory peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in Arabidopsis leaves. *Plant Cell Physiol.* 50, 1019–1031
77. De Smet, I. et al. (2008) Receptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the Arabidopsis root. *Science (N.Y.)* 322, 594–597
78. Cui, H. et al. (2007) An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants. *Science (N.Y.)* 316, 421–425
79. De Rybel, B. et al. (2013) A bHLH complex controls embryonic vascular tissue establishment and indeterminate growth in Arabidopsis. *Dev. Cell* 24, 426–437
80. Muller, S. et al. (2009) Division plane control in plants: new players in the band. *Trends Cell Biol.* 19, 180–188
81. Smertenko, A.P. et al. (2006) Control of the AtMAP65-1 interaction with microtubules through the cell cycle. *J. Cell Sci.* 119, 3227–3237
82. Kotwaliwale, C.V. et al. (2007) A pathway containing the Ipl1/ aurora protein kinase and the spindle midzone protein Ase1 regulates yeast spindle assembly. *Dev. Cell* 13, 433–445
83. Neef, R. et al. (2007) Choice of Plk1 docking partners during mitosis and cytokinesis is controlled by the activation state of Cdk1. *Nat. Cell Biol.* 9, 436–444
84. Pan, J. and Snell, W.J. (2000) Regulated targeting of a protein kinase into an intact flagellum. An aurora/Ipl1p-like protein kinase translocates from the cell body into the flagella during gamete activation in *Chlamydomonas*. *J. Biol. Chem.* 275, 24106–24114
85. Petrovska, B. et al. (2013) Overexpressed TPX2 causes ectopic formation of microtubular arrays in the nuclei of acentrosomal plant cells. *J. Exp. Bot.* 64, 4575–4587
86. Mortlock AA, Foote KM, Heron NM, Jung FH, Pasquet G, Lohmann J-JM, et al. Discovery, synthesis, and in vivo activity of a new class of pyrazoloquinazolines as selective inhibitors of aurora B kinase. *J Med Chem* (2007) **50**:2213–24. doi:10.1021/jm061335f

87. Dennis M, Davies M, Oliver S, D'Souza R, Pike L, Stockman P. Phase I study of the aurora B kinase inhibitor barasertib (AZD1152) to assess the pharmacokinetics, metabolism and excretion in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* (2012) **70**:461–9. doi:10.1007/s00280-012-1939-2
88. Boss DS, Witteveen PO, van der Sar J, Lolkema MP, Voest EE, Stockman PK, et al. Clinical evaluation of AZD1152, an i.v. inhibitor of aurora B kinase, in patients with solid malignant tumors. *Ann Oncol* (2011) **22**:431–7. doi:10.1093/annonc/mdq344
89. Schwartz GK, Carvajal RD, Midgley R, Rodig SJ, Stockman PK, Ataman O, et al. Phase I study of barasertib (AZD1152), a selective inhibitor of aurora B kinase, in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* (2013) **31**:370–80. doi:10.1007/s10637-012-9825-7
90. Lowenberg B, Muus P, Ossenkoppele G, Rousselot P, Cahn J-Y, Ifrah N, et al. Phase 1/2 study to assess the safety, efficacy, and pharmacokinetics of barasertib (AZD1152) in patients with advanced myeloid leukemia. *Blood* (2011) **118**:6030–6. doi:10.1182/blood-2011-07-366930
91. Tsuboi K, Yokozawa T, Sakura T, Watanabe T, Fujisawa S, Yamauchi T, et al. A phase I study to assess the safety, pharmacokinetics and efficacy of barasertib (AZD1152), an aurora B kinase inhibitor, in Japanese patients with advanced acute myeloid leukemia. *Leuk Res* (2011) **35**:1384–9. doi:10.1016/j.leukres.2011.04.008
92. Kantarjian HM, Sekeres MA, Ribrag V, Rousselot P, Garcia-Manero G, Jabbour EJ, et al. Phase I study assessing the safety and tolerability of barasertib (AZD1152) with low-dose cytosine arabinoside in elderly patients with AML. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* (2013) **13**:559–67. doi:10.1016/j.clml.2013.03.019
93. Kantarjian HM, Martinelli G, Jabbour EJ, Quintas-Cardama A, Ando K, Bay J-O, et al. Stage I of a phase 2 study assessing the efficacy, safety, and tolerability of barasertib (AZD1152) versus low-dose cytosine arabinoside in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Cancer* (2013) **119**(14):2611–9. doi:10.1002/cncr.28113

94. Manfredi MG, Ecsedy JA, Chakravarty A, Silverman L, Zhang M, Hoar KM, et al. Characterisation of alisertib (MLN8237), an investigational small-mole-cule inhibitor of aurora A kinase using novel in vivo pharmacodynamic assays. *Clin Cancer Res* (2011) **17**:7614–24. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1536 37.
95. Sells TB, Chau R, Ecsedy JA, Gershman RE, Hoar K, Huck J, et al. MLN8054 and alisertib (MLN8237): discovery of selective oral aurora A inhibitors. *ACS Med Chem Lett* (2015) **6**:630–4. doi:10.1021/ml500409n
96. Carol H, Boehm I, Reynolds CP, Kang MH, Maris JM, Morton CL, et al. Efficacy and pharmacokinetic/pharmacodynamics evaluation of the aurora kinase inhibitor MLN8237 against preclinical models of pediatric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* (2011) **68**:1291–304. doi:10.1007/s00280-011-1618-8
97. Kelly KR, Nawrocki ST, Espitia CM, Zhang M, Yang JJ, Padmanabhan S, et al. Targeting aurora A kinase activity with the investigational agent alisertib increases the efficacy of cytarabine through a FOXO-dependent mechanism. *Int J Cancer* (2012) **131**:2693–703. doi:10.1002/ijc.27579
98. Kelly KR, Ecsedy J, Medina E, Mahalingam D, Padmanabhan S, Nawrocki ST, et al. The novel aurora A kinase inhibitor MLN8237 is active in resistant chronic myeloid leukemia and significantly increases the efficacy of nilotinib. *J Cell Mol Med* (2011) **15**:2057–70. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01218.x
99. Dees EC, Cohen RB, von Mehren M, Stinchcombe TE, Liu H, Venkatakrisnan K, et al. Phase I study of aurora A kinase inhibitor MLN8237 in advanced solid tumors: safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and bioavailability of two oral formulations. *Clin Cancer Res* (2012) **18**:4775–84. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0589
100. Cervantes A, Elez E, Roda D, Ecsedy J, Macarulla T, Venkatakrisnan K, et al. Phase I pharmacokinetic/pharmacodynamics study of MLN8237, an investigational, oral, selective aurora A kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* (2012) **18**:4764–74. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0571

101. Matulonis UA, Sharma S, Ghamande S, Gordon MS, Del Prete SA, Ray-Coquard I, et al. Phase II study of MLN8237 (alisertib), an investigational aurora A kinase inhibitor, in patients with platinum-resistant or -refractory epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal carcinoma. *Gynecol Oncol* (2012) **127**:63–9. doi:10.1016/j.ygyno.2012.06.040
102. Mosse YP, Lipsitz E, Fox E, Teachey DT, Maris JM, Weigel B, et al. Pediatric phase I trial and pharmacokinetic study of MLN8237, an investigational oral selective small-molecule inhibitor of aurora kinase A: a children's oncology group phase I consortium study. *Clin Cancer Res* (2012) **18**:6058–64. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-3251
103. Kelly KR, Shea TC, Goy A, Berdeja JG, Reeder CB, McDonagh KT, et al. Phase I study of MLN8237 – investigational aurora A kinase inhibitor – in relapsed/refractory multiple myeloma, non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Invest New Drugs* (2014) **32**:489–99. doi:10.1007/s10637-013-0050-9
104. Friedberg JW, Mahadevan D, Cebula E, Persky D, Lossos I, Agarwal AB, et al. Phase II study of alisertib, a selective aurora A kinase inhibitor, in relapsed and refractory aggressive B- and T-cell Non-Hodgkin lymphomas. *J Clin Oncol* (2014) **32**:44–50. doi:10.1200/JCO.2012.46.8793
105. Goldberg SL, Fenaux P, Craig MD, Gyan E, Lister J, Kassis J, et al. An exploratory phase 2 study of investigational aurora A kinase inhibitor alisertib (MLN8237) in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res Rep* (2014) **3**:58–61. doi:10.1016/j.lrr.2014.06.003
106. Fancelli D, Moll J, Varasi M, Bravo R, Artico R, Berta D, et al. 1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-*c*]pyrazoles: identification of a potent aurora kinase inhibitor with a favorable antitumor kinase inhibition profile. *J Med Chem* (2006) **49**:7247–51. doi:10.1021/jm060897w
107. Carpinelli P, Ceruti R, Giorgini ML, Cappella P, Gianellini L, Croci V, et al. PHA-739358, a potent inhibitor of aurora kinases with a selective target inhibition

- profile relevant to cancer. *Mol Cancer Ther* (2007) **6**:3158–68. doi:10.1158/1535-7163.MCT-07-0444
108. Modugno M, Casale E, Soncini C, Rosettani P, Colombo R, Lupi R, et al. Crystal structure of the T315I Abl mutant in complex with the aurora kinases inhibitor PHA-739358. *Cancer Res* (2007) **67**:7987–90. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1825
109. Steeghs N, Eskens FALM, Gelderblom H, Verweij J, Nortier JWR, Ouwerkerk J, et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the aurora kinase inhibitor danusertib in patients with advanced or metastatic solid tumors. *J Clin Oncol* (2009) **27**:5094–101. doi:10.1200/JCO.2008.21.6655
110. Schoffski P, Besse B, Gauler T, de Jonge MJA, Scambia G, Santoro A, et al. Efficacy and safety of biweekly i.v. administrations of the aurora kinase inhibitor danusertib hydrochloride in independent cohorts of patients with advanced or metastatic breast, ovarian, colorectal, pancreatic, small-cell and non-small-cell lung cancer: a multi-tumor, multi-institutional phase II study. *Ann Oncol* (2015) **26**:598–607. doi:10.1093/annonc/mdu566
111. Meulenbeld HJ, Bleuse JP, Vinci EM, Raymond E, Vitali G, Santoro A, et al. Randomized phase II study of danusertib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer after docetaxel failure. *BJU Int* (2013) **111**:44–52. doi:10.1111/j.1464-410X.2012.11404.x
112. Cohen RB, Jones SF, Aggarwal C, von Mehren M, Cheng J, Spigel DR, et al. A phase I dose-escalation study of danusertib (PHA-739358) administered as a 24-hour infusion with and without granulocyte colony-stimulating factor in a 14-day cycle in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* (2009) **15**:6694–701. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1445
113. Paquette R, Shah N, Sawyers C, Martinelli G, Nicoll J, Chalukya M, et al. Pha-739358: a pan-aurora kinase inhibitor. *Hematol Meet Rep* (2008) **2**:92–3.
114. Borthakur G, Dombret H, Schafhausen P, Brummendorf TH, Boissel N, Jabbour E, et al. A phase I study of danusertib (PHA-739358) in adult patients with accelerated or blastic phase chronic myeloid leukemia and philadelphia

- chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia resistant or intolerant to imatinib and/or other second generation c-ABL therapy. *Haematologica* (2015) **100**:898–904. doi:10.3324/haematol.2014.115279
115. Howard S, Berdini V, Boulstridge JA, Carr MG, Cross DM, Curry J, et al. Fragment-based discovery of the pyrazol-4-yl urea (AT9283), a multitargeted kinase inhibitor with potent aurora kinase activity. *J Med Chem* (2009) **52**:379–88. doi:10.1021/jm800984v
116. Tanaka R, Squires MS, Kimura S, Yokota A, Nagao R, Yamauchi T, et al. Activity of the multitargeted kinase inhibitor, AT9283, in imatinib-resistant BCR-ABL-positive leukemic cells. *Blood* (2010) **116**:2089–95. doi:10.1182/blood-2009-03-211466
117. Curry J, Angove H, Fazal L, Lyons J, Reule M, Thompson N, et al. Aurora B kinase inhibition in mitosis, strategies for optimising the use of aurora kinase inhibitors such as AT9283. *Cell Cycle* (2009) **8**:1921–9. doi:10.4161/cc.8.12.8741
118. Qi W, Liu X, Cooke LS, Persky DO, Miller TP, Squires M, et al. AT9283, a novel aurora kinase inhibitor, suppresses tumor growth in aggressive B-cell lymphomas. *Int J Cancer* (2012) **130**:2997–3005. doi:10.1002/ijc.26324
119. Arkenau H-T, Plummer R, Molife LR, Olmos D, Yap TA, Squires M, et al. A phase I dose escalation study of AT9283, a small molecule inhibitor of aurora kinases, in patients with advanced solid malignancies. *Ann Oncol* (2012) **23**:1307–13. doi:10.1093/annonc/mdr451
120. Dent SF, Gelmon KA, Chi KN, Jonker DJ, Wainman N, Capier CA, et al. NCIC CTG IND.181: phase I study of AT9283 given as a weekly 24 hour infusion in advanced malignancies. *Invest New Drugs* (2013) **31**:1522–9. doi:10.1007/s10637-013-0018-9
121. Moreno L, Marshall LV, Pearson ADJ, Morland B, Elliott M, Campbell-Hewson Q, et al. A phase I trial of AT9283 (a selective inhibitor of aurora kinases) in children and adolescents with solid tumors: a cancer research UK study. *Clin Cancer Res* (2015) **21**:267–73. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1592

122. Foran J, Ravandi F, Wierda W, Garcia-Manero G, Verstovsek S, Kadia T, et al. A phase I and pharmacodynamic study of AT9283, a small-molecule inhibitor of aurora kinases in patients with relapsed/refractory leukemia or myelofibrosis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* (2014) **14**:223–30. doi:10.1016/j.clml.2013.11.001
123. Jani JP, Arcari J, Bernardo V, Bhattacharya SK, Briere D, Cohen BD, et al. PF-03814735, an orally bioavailable small molecule aurora kinase inhibitor for cancer therapy. *Mol Cancer Ther* (2010) **9**:883–94. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-0915
124. Schoffski P, Jones SF, Dumez H, Infante JR, Miegheem EV, Fowst C, et al. Phase I, open-label, multicentre, dose-escalation, pharmacokinetic and pharmacodynamic trial of the oral aurora kinase inhibitor PF-03814735 in advanced solid tumors. *Eur J Cancer* (2011) **47**:2256–64. doi:10.1016/j.ejca.2011.07.008
125. Payton M, Bush TL, Chung G, Ziegler B, Eden P, McElroy P, et al. Preclinical evaluation of AMG 900, a novel potent and highly selective pan-aurora kinase inhibitor with activity in taxane-resistant tumor cell lines. *Cancer Res* (2010) **70**:9846–54. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3001
126. Geuns-Meyer S, Cee VJ, Deak HL, Du B, Hodous BL, Nguyen HN, et al. Discovery of *N*-(4-(3-(2-aminopyrimidin-4-yl)pyridine-2-yloxy)phenyl)-4-(4-methylthiophen-2-yl)phthalazin-1-amine (AMG 900), a highly selective, orally bioavailable inhibitor of aurora kinases with activity against multi-drug-resistant cell lines. *J Med Chem* (2015) **58**:5189–207. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00183
127. Linardopoulos S, Blagg J. Aurora kinase inhibition: a new light in the sky? *J Med Chem* (2015) **58**:5186–8. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00918
128. Bush TL, Payton M, Heller S, Chung G, Hanestad K, Rottman JB, et al. AMG 900, a small-molecule inhibitor of aurora kinases, potentiates the activity of microtubule-targeting agents in human metastatic breast cancer models. *Mol Cancer Ther* (2013) **12**:2356–66. doi:10.1158/1535-7163.MCT-12-1178



















129. Moore AS, Blagg J, Linardopoulos S, Pearson AD. Aurora kinase inhibitors: novel small molecules with promising activity in acute myeloid and Philadelphia-positive leukemias. *Leukemia* (2010) **24**:671–8. doi:10.1038/leu.2010.15
130. Yang J, Ikezoe T, Nishioka C, Tasaka T, Taniguchi A, Kuwayama Y, et al. AZD1152, a novel and selective aurora B kinase inhibitor, induces growth arrest, apoptosis, and sensitization for tubulin depolymerizing agent or topoisomerase II inhibitor in human acute leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood* (2007) **110**:2034–40. doi:10.1182/blood-2007-02-073700
131. Walsby E, Walsh V, Pepper C, Burnett A, Mills K. Effects of the aurora kinase inhibitors AZD1152-HQPA and ZM447439 on growth arrest and polyploidy in acute myeloid leukemia cell lines and primary blasts. *Haematologica* (2008) **93**:662–9. doi:10.3324/haematol.12148
132. Oke A, Pearce D, Wilkinson RW, Crafter C, Odedra R, Cavenagh J, et al. AZD1152 rapidly and negatively affects the growth and survival of human acute myeloid leukemia cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* (2009) **69**:4150–8. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-3203
133. Grundy M, Seedhouse C, Shang S, Richardson J, Russell N, Pallis M. The FLT3 internal tandem duplication mutation is a secondary target of the aurora B kinase inhibitor AZD1152-HQPA in acute myelogenous leukemia cells. *Mol Cancer Ther* (2010) **9**:661–72. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-1144
134. Knapper S. The clinical development of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia. *Expert Opin Investig Drugs* (2011) **20**:1377–95. doi:10.1517/13543784.2011.611802
135. Levis MJ. Will newer tyrosine kinase inhibitors have an impact in AML? *Best Pract Res Clin Haematol* (2010) **23**:489–94. doi:10.1016/j.beha.2010.09.008
136. Moore AS, Faisal A, Gonzalez de Castro D, Bavetsias V, Sun C, Atrash B, et al. Selective FLT3 inhibition of FLT3-ITD+ acute myeloid leukemia resulting in secondary D835Y mutation: a model for emerging clinical resistance patterns. *Leukemia* (2012) **26**:1462–70. doi:10.1038/leu.2012.52

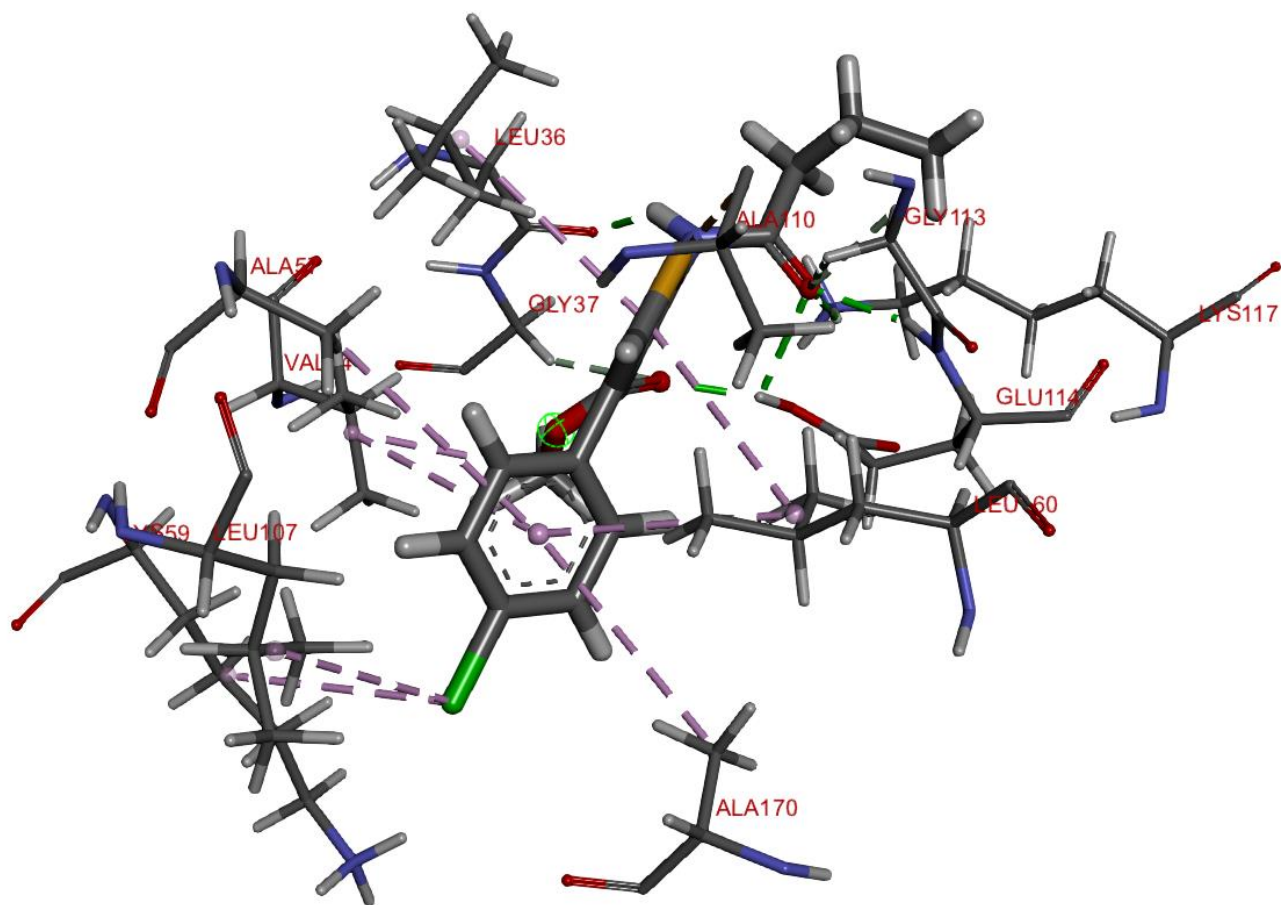
137. Bavetsias V, Crumpler S, Sun C, Avery S, Atrash B, Faisal A, et al. Optimization of imidazo[4,5-b]pyridine-based kinase inhibitors: identification of a dual FLT3/aurora kinase inhibitor as an orally bioavailable preclinical development candidate for the treatment of acute myeloid leukemia. *J Med Chem* (2012) **55**:8721–34. doi:10.1021/jm300952s
138. Grimmer MR, Weiss WA. Childhood tumors of the nervous system as disorders of normal development. *Curr Opin Pediatr* (2006) **18**:634–8. doi:10.1097/MOP.0b013e32801080fe
139. Burkhart CA, Cheng AJ, Madafiglio J, Kavallaris M, Mili M, Marshall GM, et al. Effects of MYCN antisense oligonucleotide administration on tumorigenesis in a murine model of neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst* (2003) **95**:1394–403. doi:10.1093/jnci/djg045
140. Chesler L, Schlieve C, Goldenberg DD, Kenney A, Kim G, McMillan A, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase destabilizes Mycn protein and blocks malignant progression in neuroblastoma. *Cancer Res* (2006) **66**:8139–46. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-2769
141. Faisal A, Vaughan L, Bavetsias V, Sun C, Atrash B, Avery S, et al. The aurora kinase inhibitor CCT137690 downregulates MYCN and sensitizes MYCN-amplified neuroblastoma in vivo. *Mol Cancer Ther* (2011) **10**:2115–23. doi:10.1158/1535-7163.MCT-11-0333
142. Otto T, Horn S, Brockmann M, Eilers U, Schüttrumpf L, Popov N, et al. Stabilization of N-Myc is a critical function of aurora A in human neuroblastoma. *Cancer Cell* (2009) **15**:67–78. doi:10.1016/j.ccr.2008.12.005
143. Manfredi MG, Ecsedy JA, Meetze KA, Balani SK, Burenkova O, Chen W, et al. Antitumor activity of MLN8054, an orally active small-molecule inhibitor of aurora A kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2007) **104**:4106–11. doi:10.1073/pnas.0608798104
144. Gustafson WC, Meyerowitz JG, Nekritz EA, Chen J, Benes C, Charron E, et al. Drugging MYCN through an allosteric transition in aurora kinase A. *Cancer Cell* (2014) **26**:414–27. doi:10.1016/j.ccr.2014.07.015

145. Cazales M, Schmitt E, Montembault E, Dozier C, Prigent C, Ducommun B. CDC25B phosphorylation by aurora-A occurs at the G2/M transition and is inhibited by DNA damage. *Cell Cycle* (2005) **4**:1233–8. doi:10.4161/ cc.4.9.1964
146. Krystyniak A, Garcia-Echeverria C, Prigent C, Ferrari S. Inhibition of aurora A in response to DNA damage. *Oncogene* (2006) **25**:338–48.
147. Macurek L, Lindqvist A, Lim D, Lampson MA, Klompmaker R, Freire R, et al. Polo-like kinase-1 is activated by aurora A to promote checkpoint recovery. *Nature* (2008) **455**:119–23. doi:10.1038/nature07185
148. Seki A, Coppinger JA, Jang CY, Yates JR, Fang G. Bora and the kinase aurora a cooperatively activate the kinase Plk1 and control mitotic entry. *Science* (2008) **320**:1655–8. doi:10.1126/science.1157425
149. Sourisseau T, Maniotis M, Tang C, Lord CJ, Ashworth A, Linardopoulos S. The mitotic kinase aurora-A suppresses homology-directed DNA double strand-break repair. *EMBO Mol Med* (2010) **2**:130–42. doi:10.1002/ emmm.201000068
150. Tao Y, Leteur C, Calderaro J, Girdler F, Zhang P, Frascogna V, et al. The aurora B kinase inhibitor AZD1152 sensitizes cancer cells to fractionated irradiation and induces mitotic catastrophe. *Cell Cycle* (2009) **8**:3172–81. doi:10.4161/ cc.8.19.9729
151. Hong X, O'Donnell JP, Salazar CR, Van Brocklyn JR, Barnett KD, Pearl DK, et al. The selective aurora-A kinase inhibitor MLN8237 (alisertib) potently inhibits proliferation of glioblastoma neurosphere tumor stem-like cells and potentiates the effects of temozolomide and ionizing radiation. *Cancer Chemother Pharmacol* (2014) **73**:983–90. doi:10.1007/s00280-014-2430-z
152. Araki K, Nozaki K, Ueba T, Tatsuka M, Hashimoto N. High expression of aurora-B/aurora and Ipll-like midbody-associated protein (AIM-1) in astrocytomas. *J Neurooncol* (2004) **67**:53–64. doi:10.1023/B:NEON.0000021784.33421.05

ДОДАТОК














Детальна інформація про організацію активного центру зв'язування для сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoas* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio.

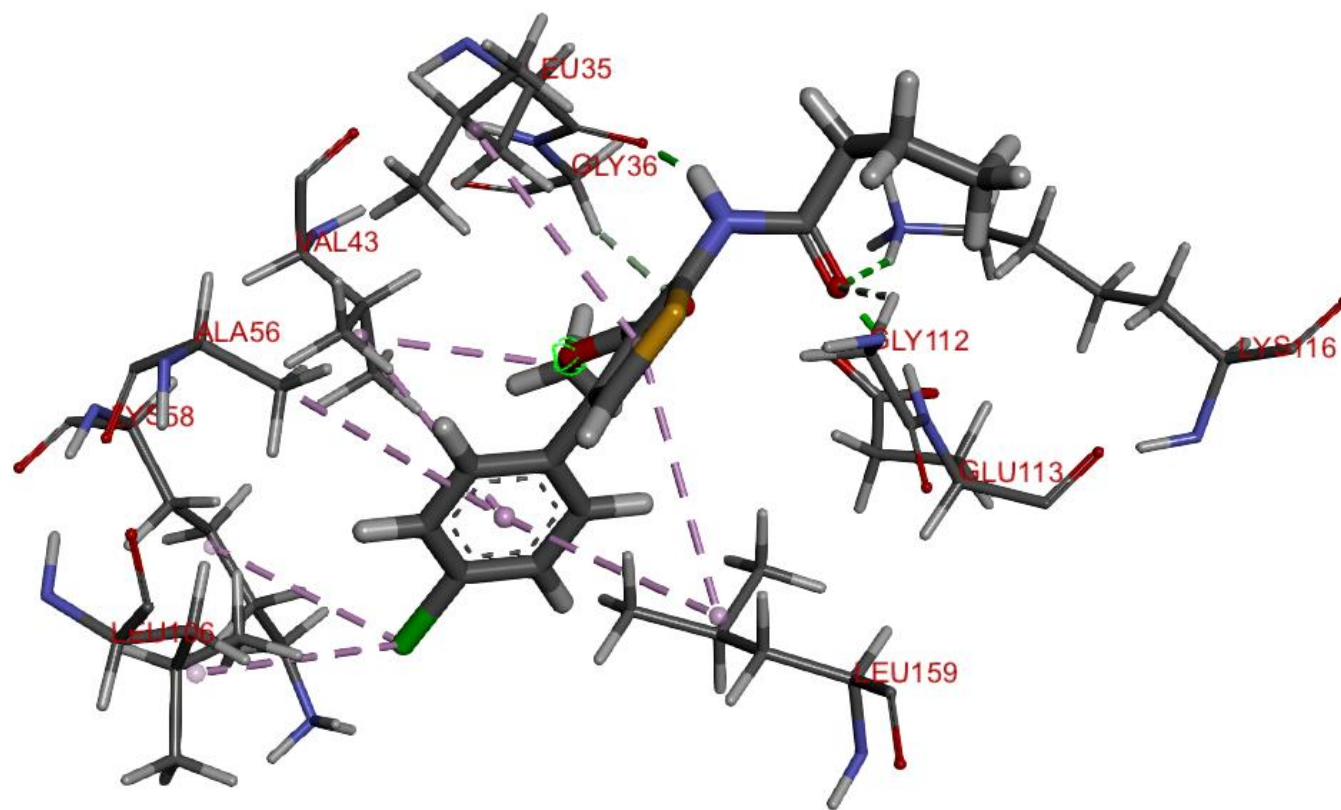
	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types	From	From Chemistry	To	To Chemistry
1	A:GLU11...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,01778	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	A:GLU114:HN	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
2	A:GLU11...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	1,82909	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	A:GLU114:HE1	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
3	A:GLU11...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,41384	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	A:GLU114:HE1	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
4	A:LYS117...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,64528	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	A:LYS117:HZ3	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
5	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	1,903	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	B:MOL294:H	H-Donor	A:LE...	H-Acceptor
6	A:GLY37...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,74255	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	A:GLY37:HA1	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
7	A:GLY113...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,8148	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	A:GLY113:HA1	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
8	A:GLY113...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	3,06638	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	A:GLY113:HA2	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
9	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	3,26413	Other	Sulfur-X	B:MOL294:S4	Sulfur	A:AL...	O,N,S
10	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,26075	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL294:Cl18	Alkyl	A:LYS...	Alkyl
11	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,5086	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL294:Cl18	Alkyl	A:LE...	Alkyl
12	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	3,8759	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL294:C20	Alkyl	A:VA...	Alkyl
13	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,55805	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl
14	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,70099	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl
15	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,46814	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:VA...	Alkyl
16	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	5,40015	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:AL...	Alkyl
17	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,70566	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl
18	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	5,15348	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL294	Pi-Orbitals	A:AL...	Alkyl



3D-діаграма активного сайту зв'язування для сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Chenopodium quinoa* (Кіноа), візуалізовано за допомогою Discovery Studio.

Детальна інформація про організацію активного центру зв'язування для сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio.

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types	From	From Chemistry	To	To Chemistry
1	A:GLU11...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	1,9706	Hydrogen Bo...	Conventi...	A:GLU11...	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
2	A:LYS116...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,76558	Hydrogen Bo...	Conventi...	A:LYS11...	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
3	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	1,88144	Hydrogen Bo...	Conventi...	B:MOL2...	H-Donor	A:LE...	H-Acceptor
4	A:GLY36:...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,62678	Hydrogen Bo...	Carbon H...	A:GLY36...	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
5	A:GLY112...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	2,8014	Hydrogen Bo...	Carbon H...	A:GLY11...	H-Donor	B:MO...	H-Acceptor
6	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,19996	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL2...	Alkyl	A:LYS...	Alkyl
7	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,65239	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL2...	Alkyl	A:LE...	Alkyl
8	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	3,96422	Hydrophobic	Alkyl	B:MOL2...	Alkyl	A:VA...	Alkyl
9	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,57381	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL293	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl
10	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,75027	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL293	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl
11	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,38609	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL293	Pi-Orbitals	A:VA...	Alkyl
12	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	5,45836	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL293	Pi-Orbitals	A:AL...	Alkyl
13	B:MOL29...	<input checked="" type="checkbox"/> Yes		Ligand No...	4,69915	Hydrophobic	Pi-Alkyl	B:MOL293	Pi-Orbitals	A:LE...	Alkyl



3D-діаграма активного сайту зв'язування для сполуки під номером 519279 з Аврора-подібною послідовністю *Setaria viridis* (Мишій зелений), візуалізовано за допомогою Discovery Studio.