XXIII Российский национальный конгресс
«Человек и лекарство»

ПРОБЛЕМАТИКА КОМПЬЮТЕРНОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ АМФ-ПОДОБНЫХ ПРЯМЫХ АКТИВАТОРОВ АМФ-АКТИВИРУЕМОЙ ПРОТЕИНКИНАЗЫ

В.Г. Трибулович

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), НИЛ «Молекулярная фармакология»

Апрель 2016

Функции АМФК

Регуляция клеточного энергетического гомеостаза

Метаболизм липидов

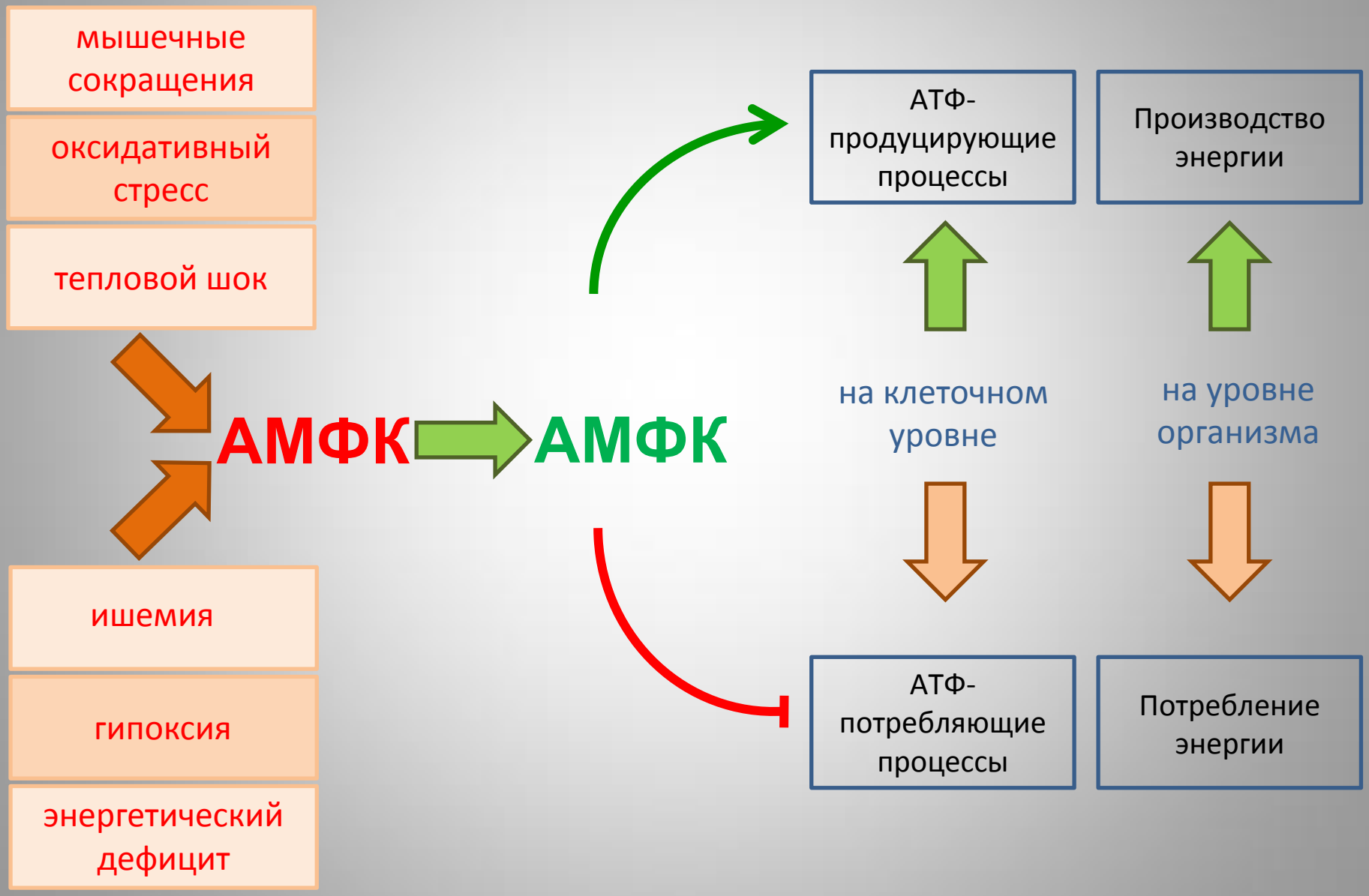
Метаболизм углеводов

Метаболизм белков

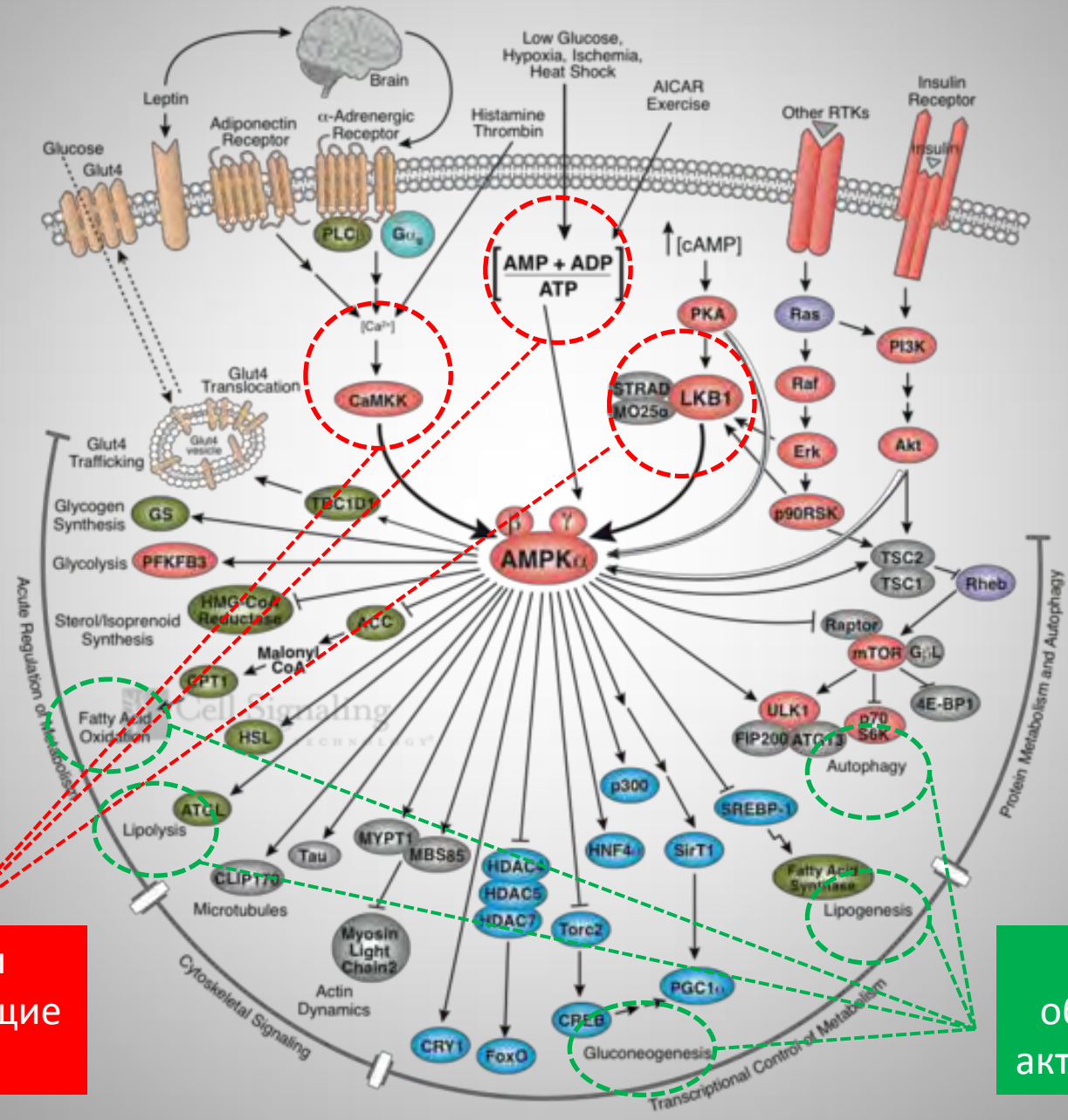
Энергетический метаболизм всего организма

AMP-Activated Protein Kinase: Structure, Function, and Role in Pathological Processes. D. S. Novikova, A. V. Garabadzhiu, G. Melino, N. A. Barlev, and V. G. Tribulovich. Biochemistry (Moscow) **2015** 80(2)pp.127-144

АМФК - регулятор энергетического баланса



Сигнальный каскад АМФК



Факторы активирующие АМФК

Процессы обусловленные активацией АМФК

Терапевтическая значимость активации АМФК

Метаболический синдром

Преддиабет

Диабет

Ожирение

Сердечно-сосудистые заболевания

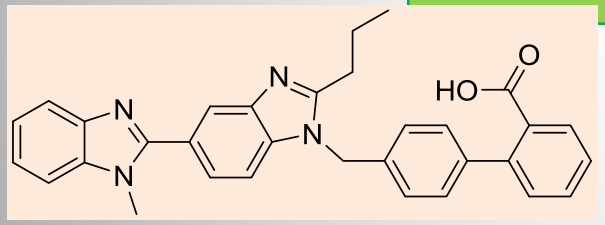
Ишемические состояния

Атеросклероз

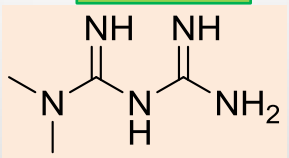
Рак

Эректильная дисфункция

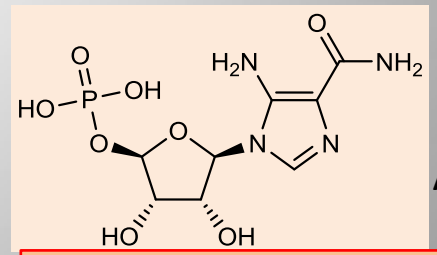
Старение



Телмисартан



Метформин

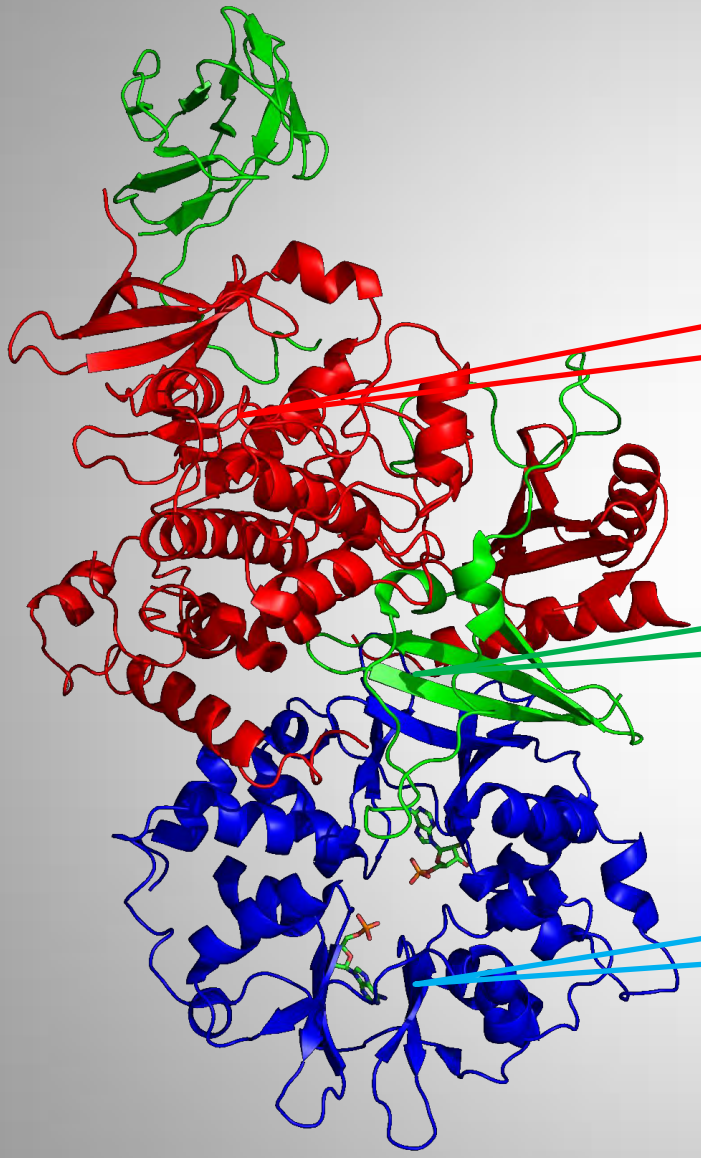


AICAR

Стимуляция мышечной функции

Telmisartan enhances mitochondrial activity and alters cellular functions in human coronary artery endothelial cells via AMP-activated protein kinase pathway. Kurokawa H., Sugiyama S., Nozaki T. et al. *Atherosclerosis*, **2015**. 239(2) p. 375

Структура АМФК



α-субъединица

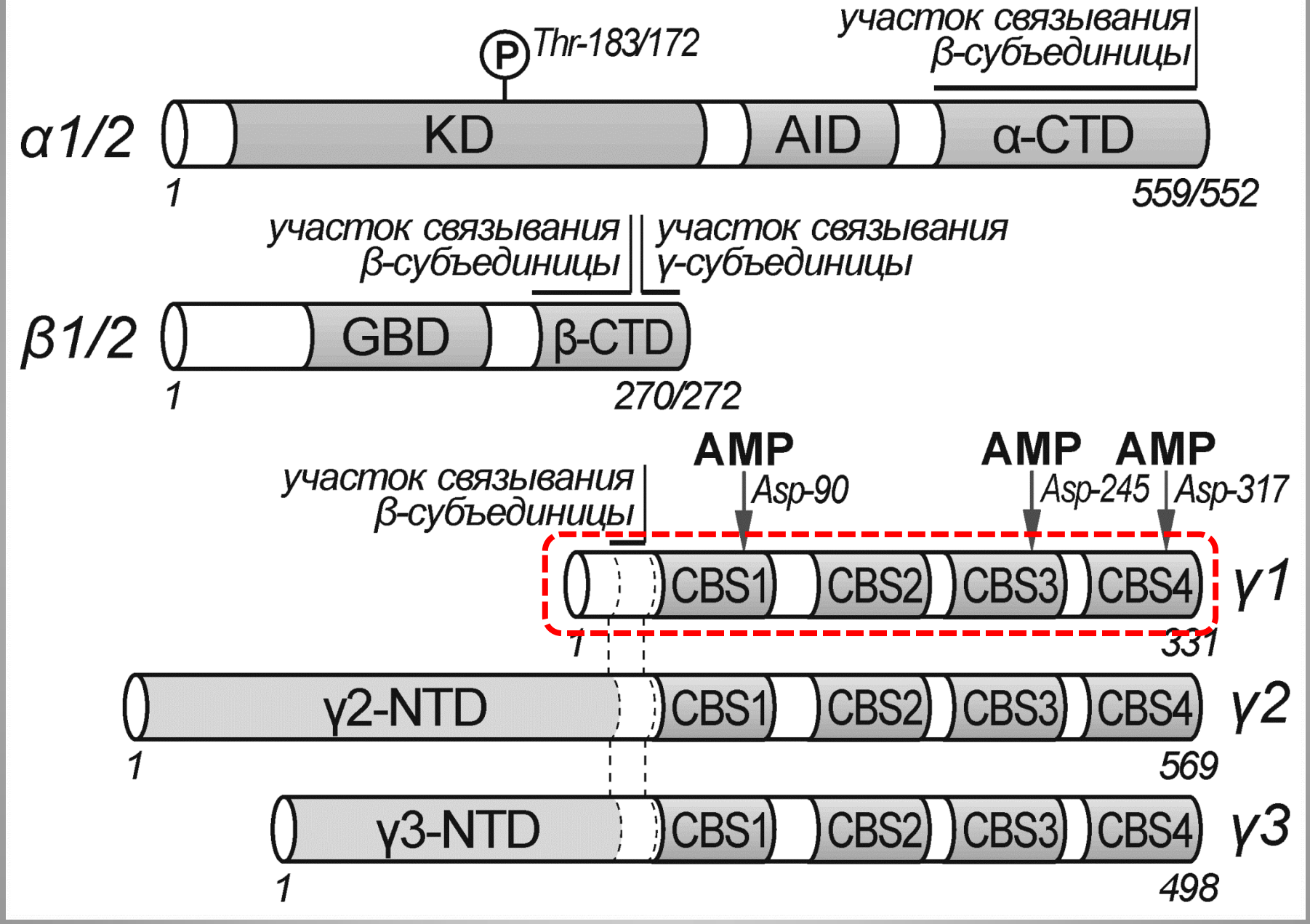
Отвечает за киназнаую активность и внутриклеточную локализацию

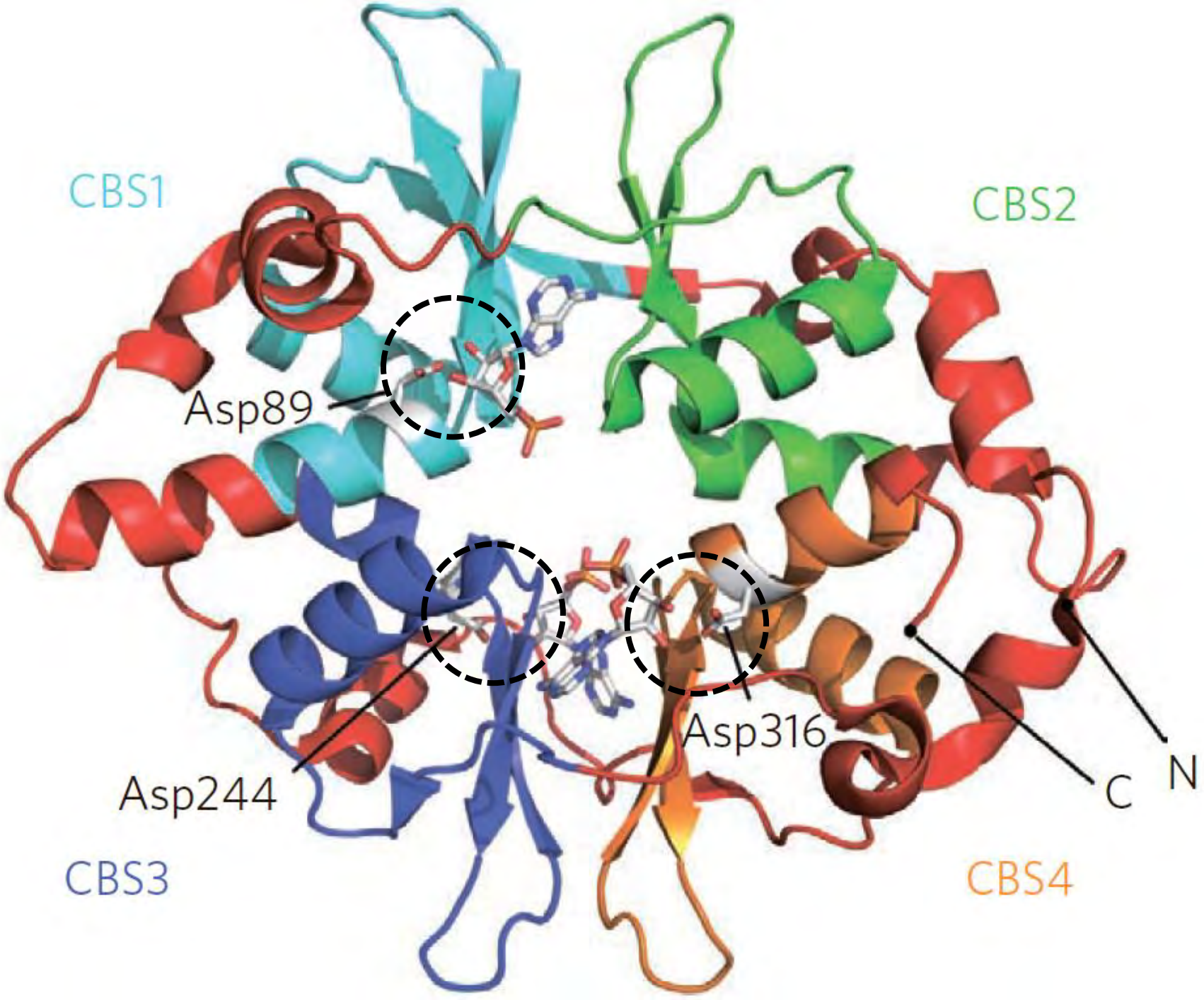
β-субъединица

Выполняет роль скаффолд-белка и регулирует углеводный метаболизм

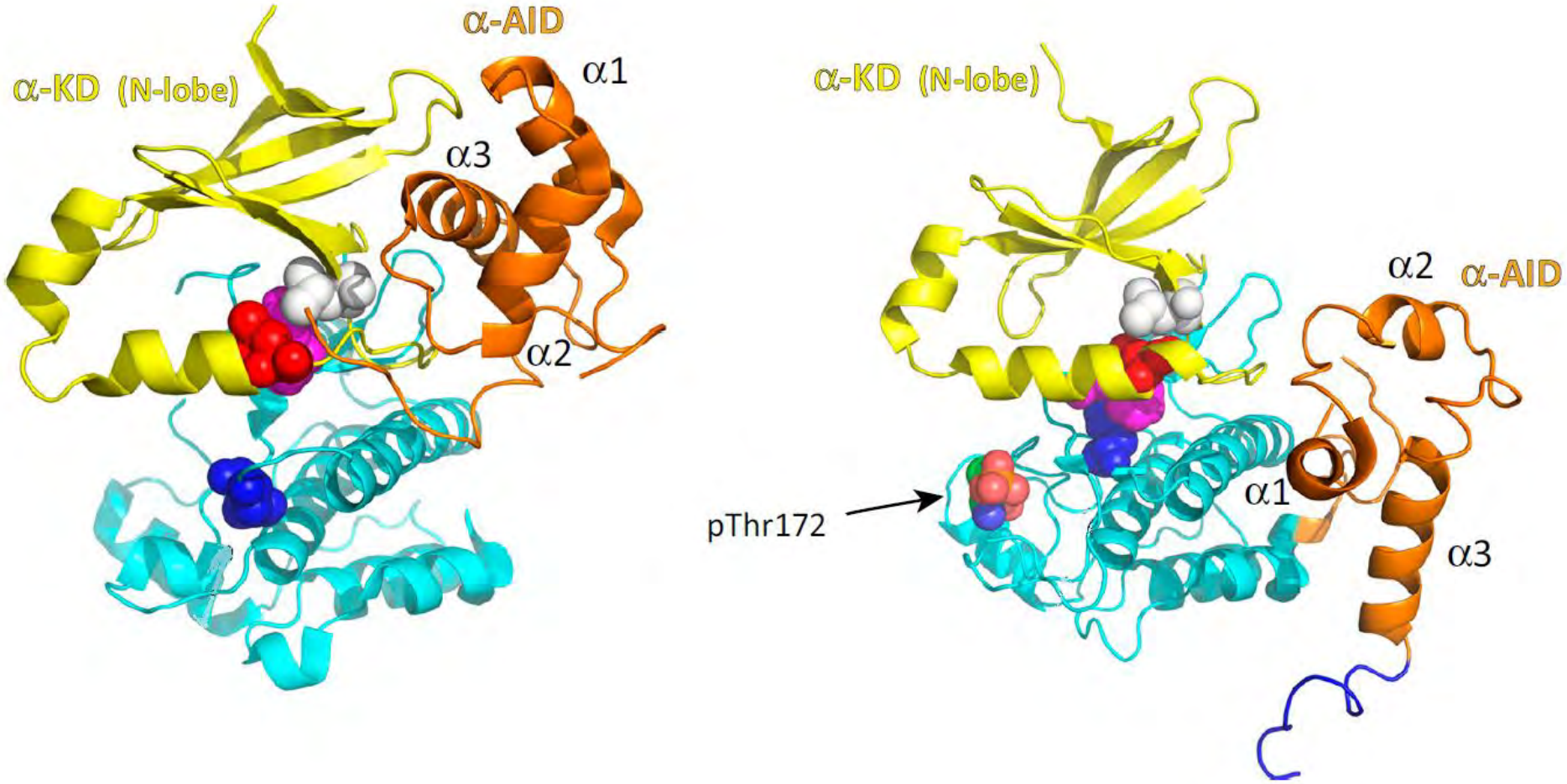
γ-субъединица

сенсор АМФ/АТФ


участок связывания
β-субъединицы
P
Thr-183/172
α1/2
KD
AID
α-CTD
1
559/552
участок связывания
β-субъединицы
участок связывания
γ-субъединицы
β1/2
GBD
β-CTD
1
270/272
AMP
AMP
AMP
участок связывания
β-субъединицы
Asp-90
Asp-245
Asp-317
CBS1
CBS2
CBS3
CBS4
γ1
1
331
γ2-NTD
CBS1
CBS2
CBS3
CBS4
γ2
1
569
γ3-NTD
CBS1
CBS2
CBS3
CBS4
γ3
1
498


CBS1
CBS2
Asp89
Asp316
Asp244
C
N
CBS3
CBS4

Хореография активации АМФК



Choreography of AMPK activation. Langendorf C.G., Kemp B.E. Cell Res. 2015 ;25(1), pp.5-6.

Активаторы АМФК

Прямые

1. АМФ-связывающий сайт
2. Аллостерический сайт
3. Автоингибиторный домен

Непрямые

Барбитураты

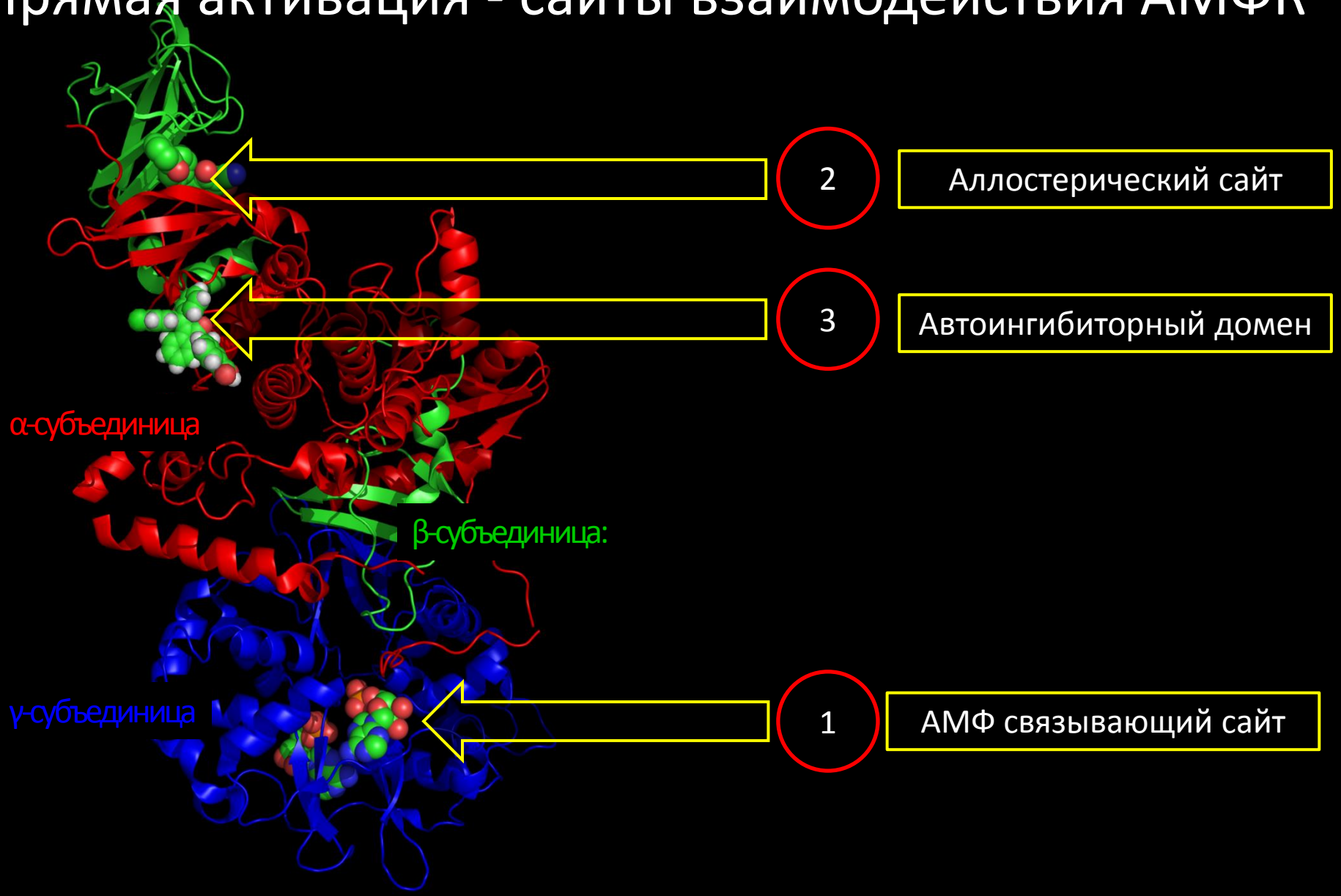
1. Изменение соотношения АМФ/АТФ
2. Активация CAMKK киназы
3. Активация LKB1 киназы

Непосредственное взаимодействие

Имитация естественного сигнала

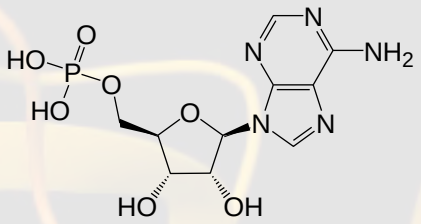
Воздействие на активирующие факторы

Прямая активация - сайты взаимодействия АМФК

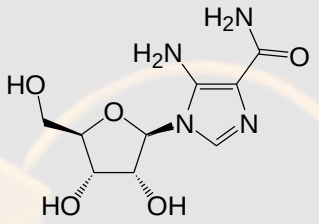


Прямые активаторы АМФК

1 АМФ связывающий сайт



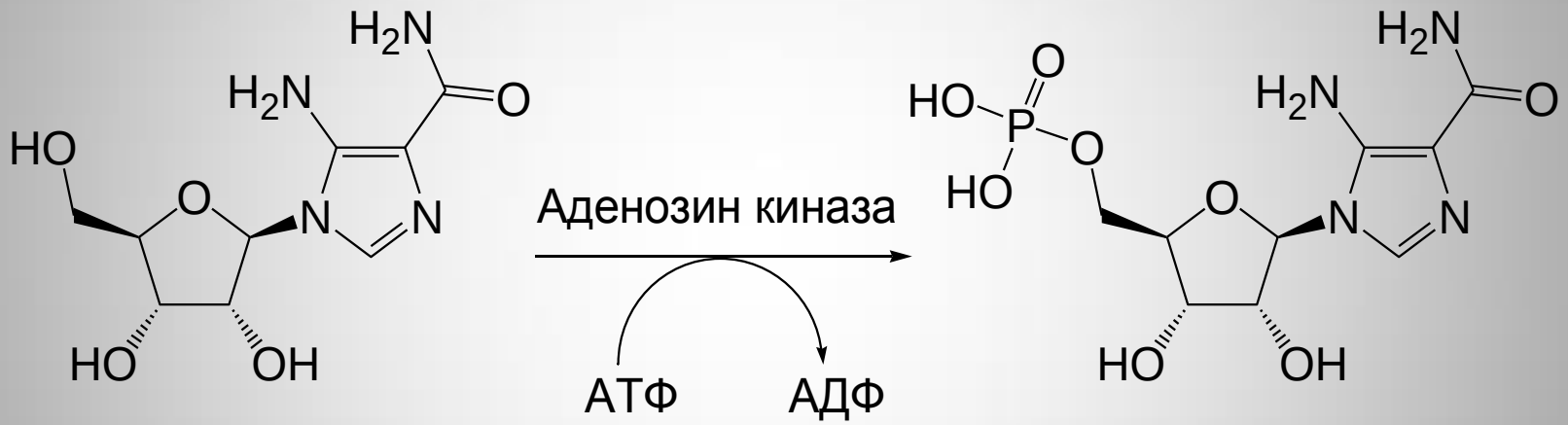
АМФ



AICAR

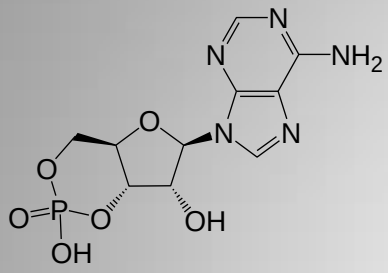
Активные соединения условно разделяют на три типа:
- воспроизводящие азотистое основание AICAR или АМФ
- воспроизводящие рибозный остаток,
- условные миметики нуклеозидов.

Фосфорилирование AICAR

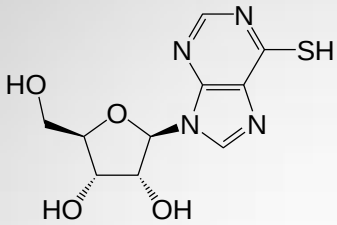


AICAR **ZMP**

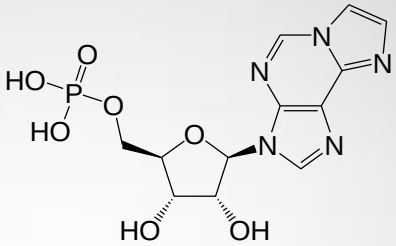
Производные АМФ



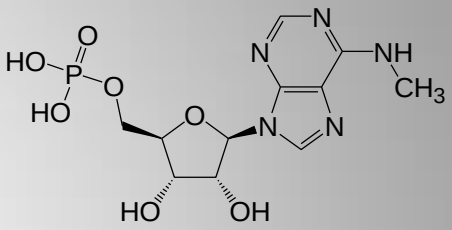
cAMP



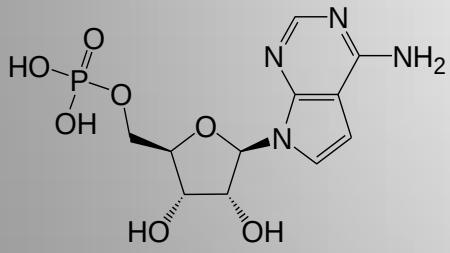
6-SH-AMP



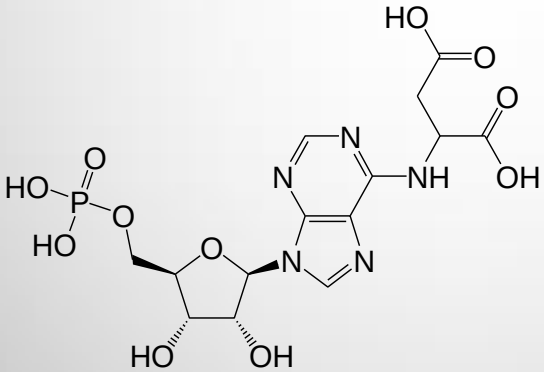
1,N^6-Etheno-AMP



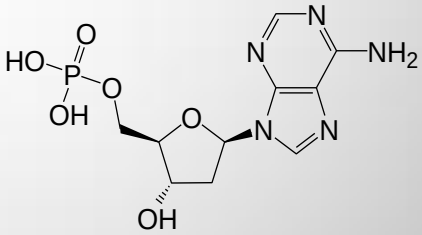
N^6-Methyl-AMP



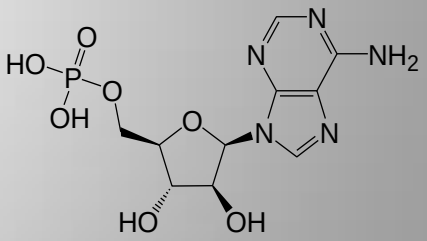
Tu-MP



S-AMP

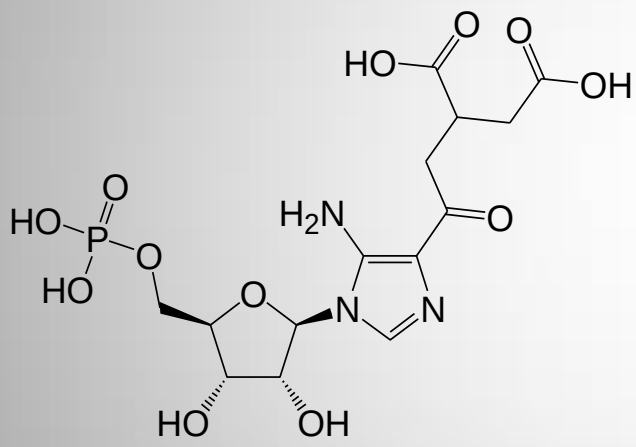


dAMP

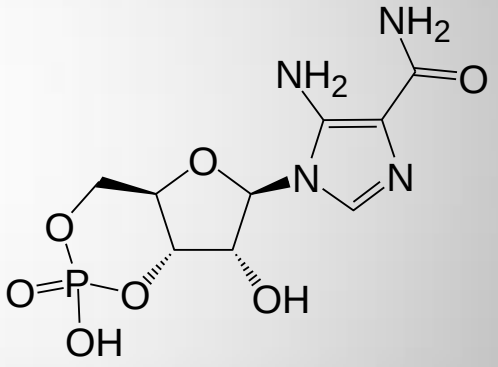


Ara-AMP

Производные AICAR

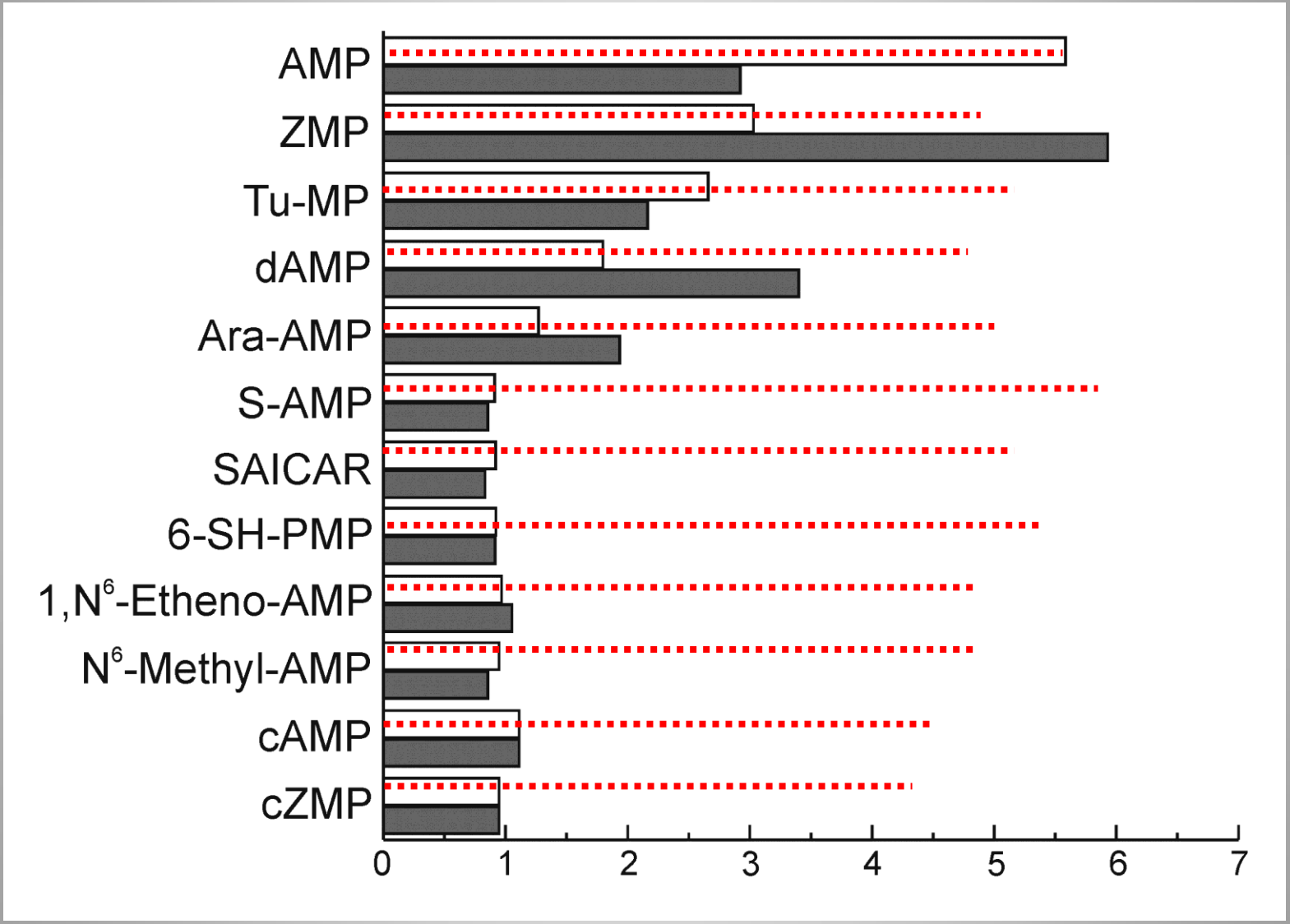


SAICAR



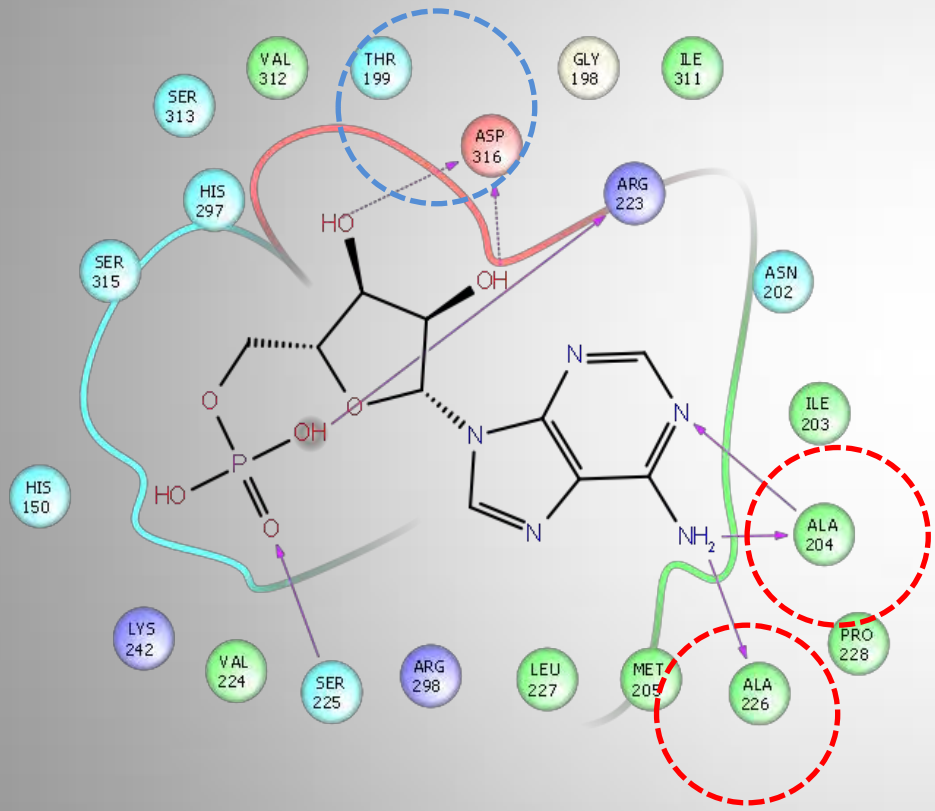
cZMP

Сравнительная активность

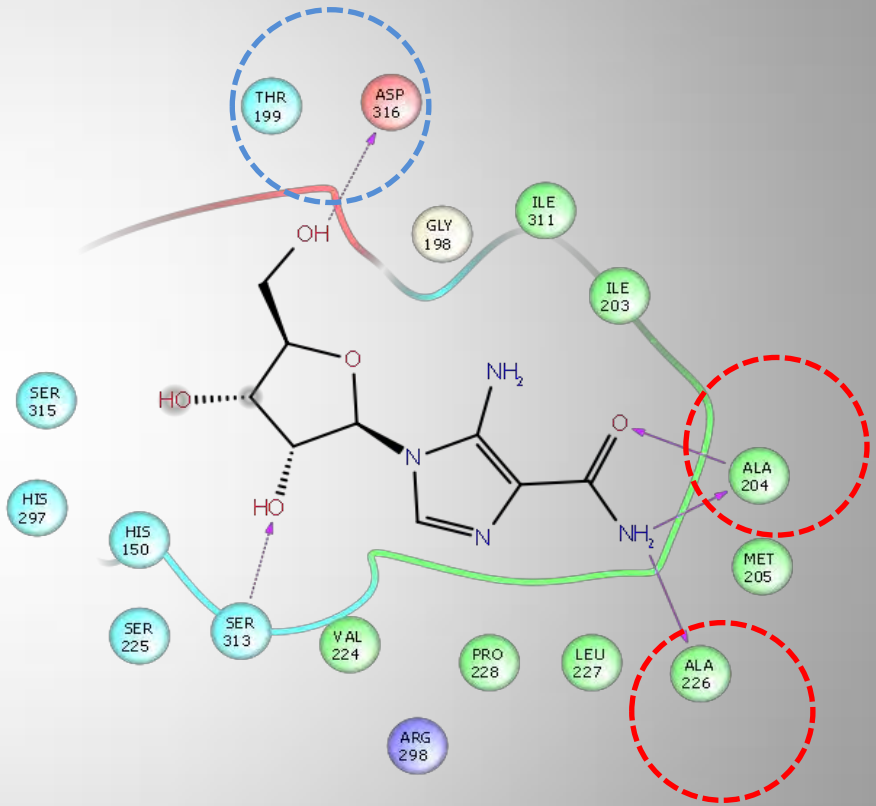


Goldscore

Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта

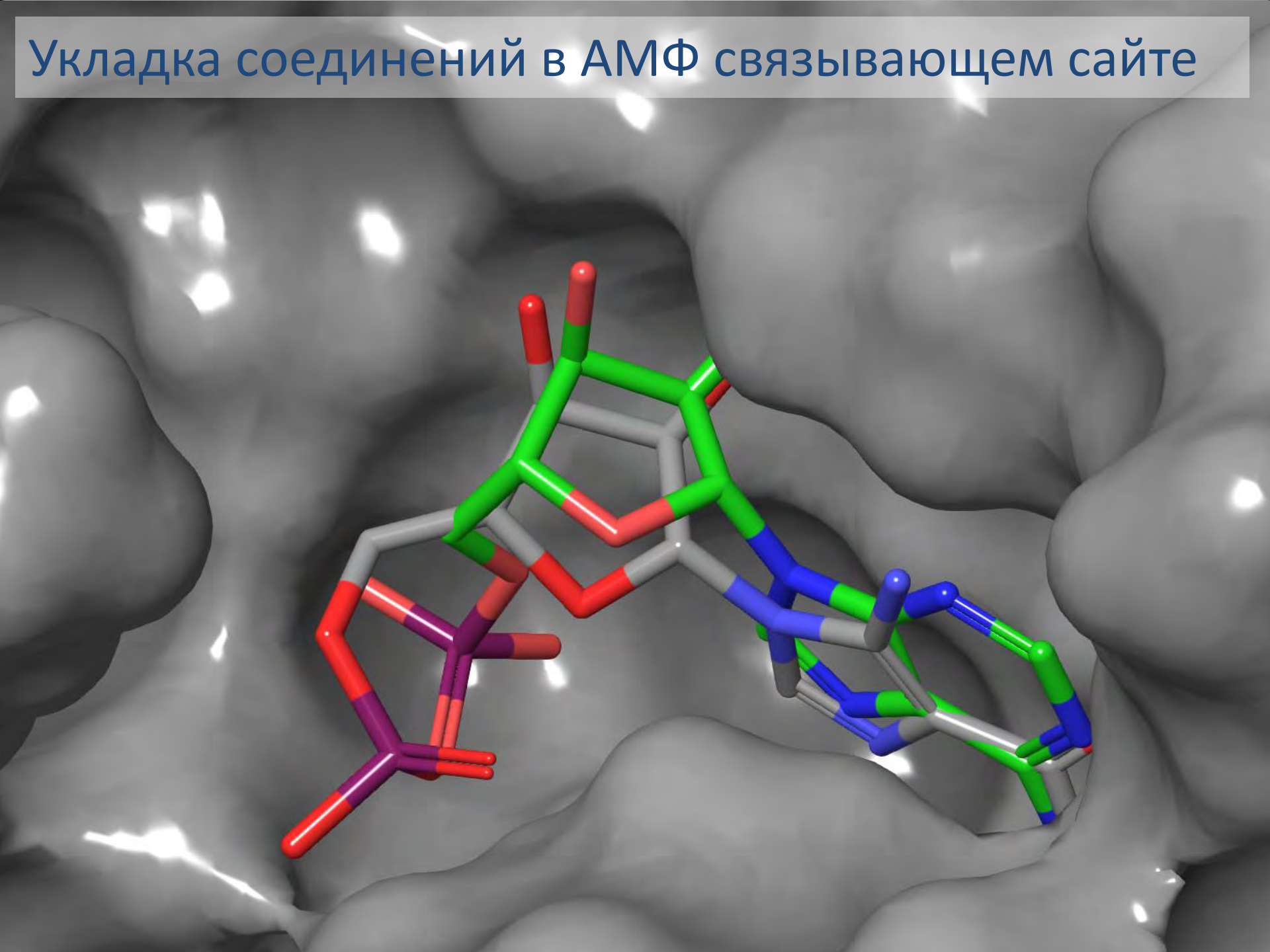


АМФ

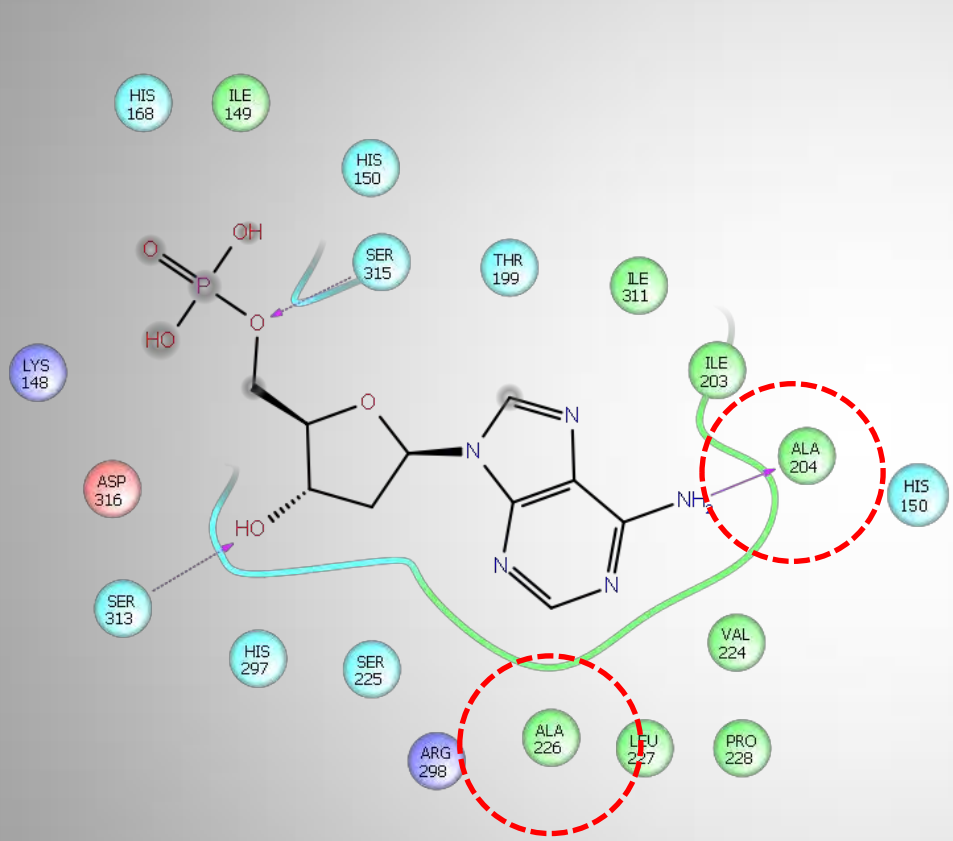


AICAR

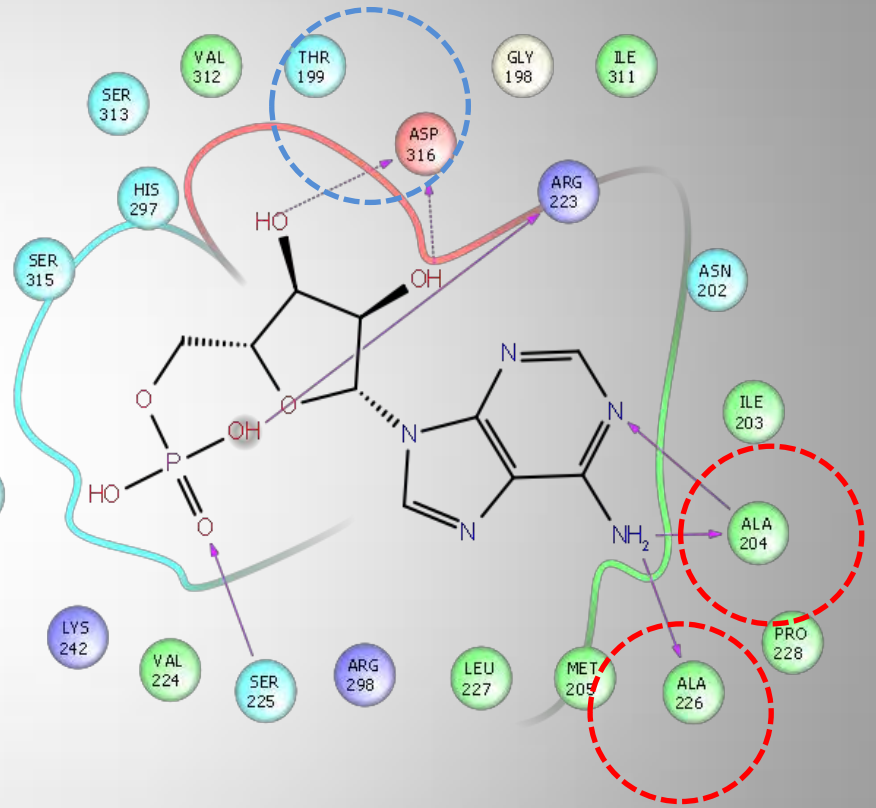
Укладка соединений в АМФ связывающем сайте



Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта

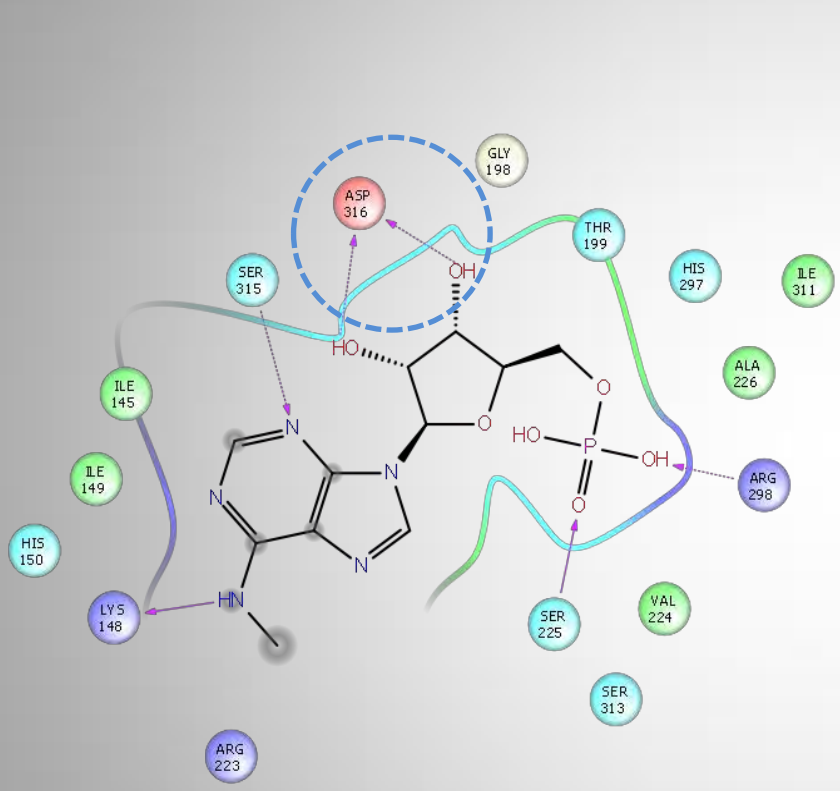


dAMP

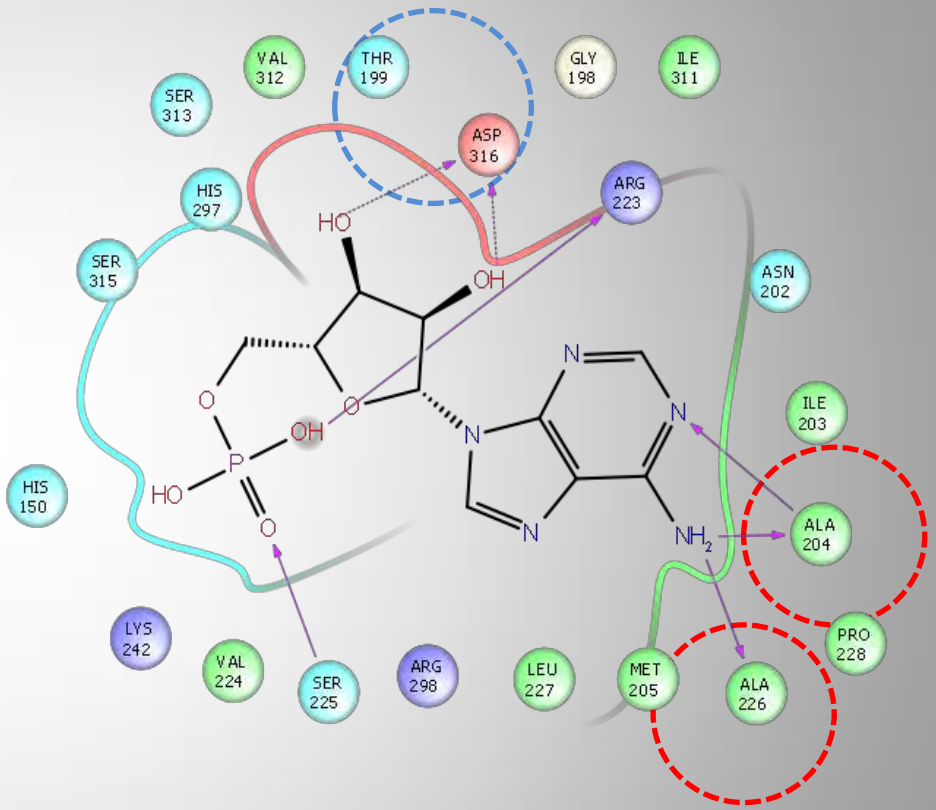


AMP

Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта



N6-Methyl-AMP



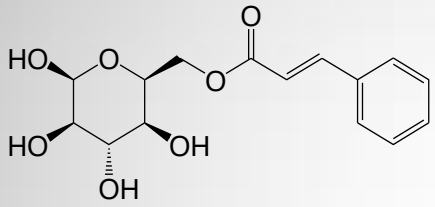
AMP

Новые активаторы АМФК

АМФ связывающий сайт

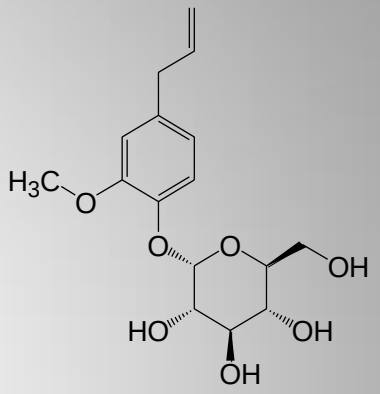
воспроизводящие рибозный остаток

Scoparia dulcis



Эвгенил-β-D-глюкопиранозид

Vaccinium vitis-idaea
Брусника



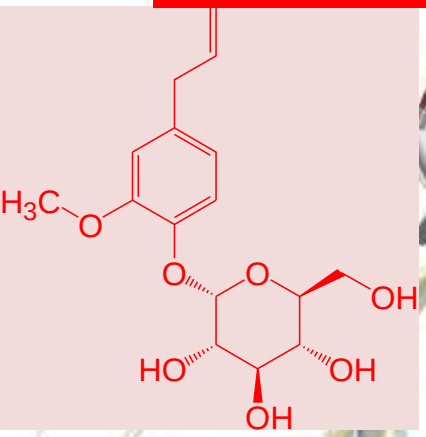
6-O-циннамоил-D-глюкопираноза

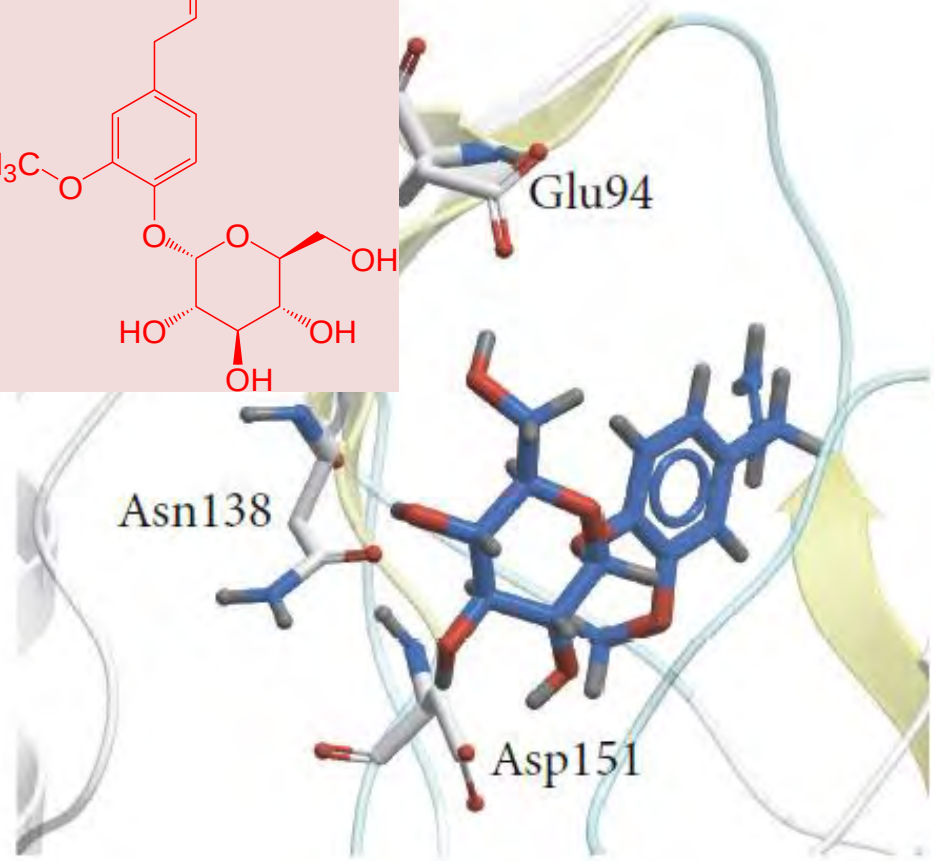
Были выявлены в результате виртуального скрининга базы природных соединений. Первичным критерием отбора служила расчетная энергия связывания с АМФ-связывающими сайтами.

In Silico Design for Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase Agonist from Traditional Chinese Medicine for Treatment of Metabolic Syndromes H.C. Tang, C.Y. Chen, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2014**, 928589.

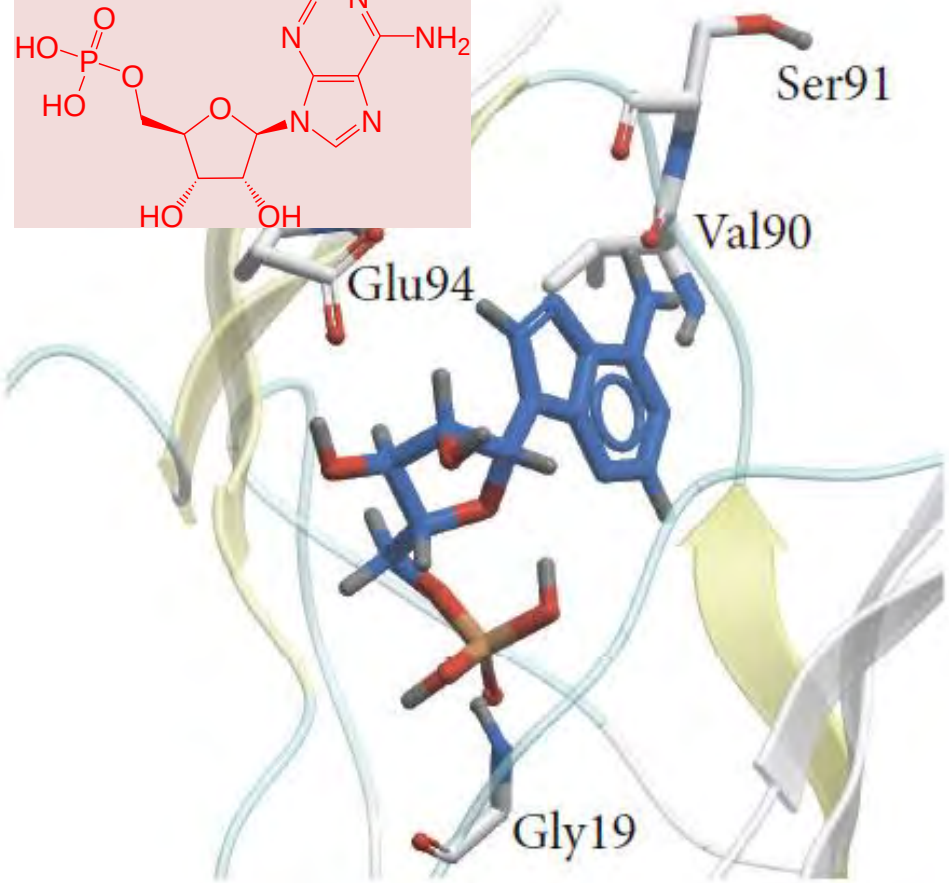
Новые активаторы АМФК

6-О-циннамоил-D-глюкопираноза

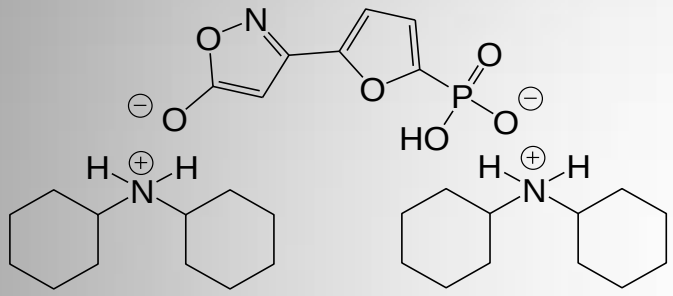




АМФ

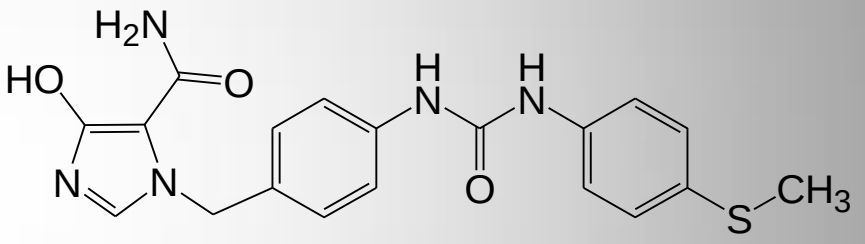


Новые активаторы АМФК

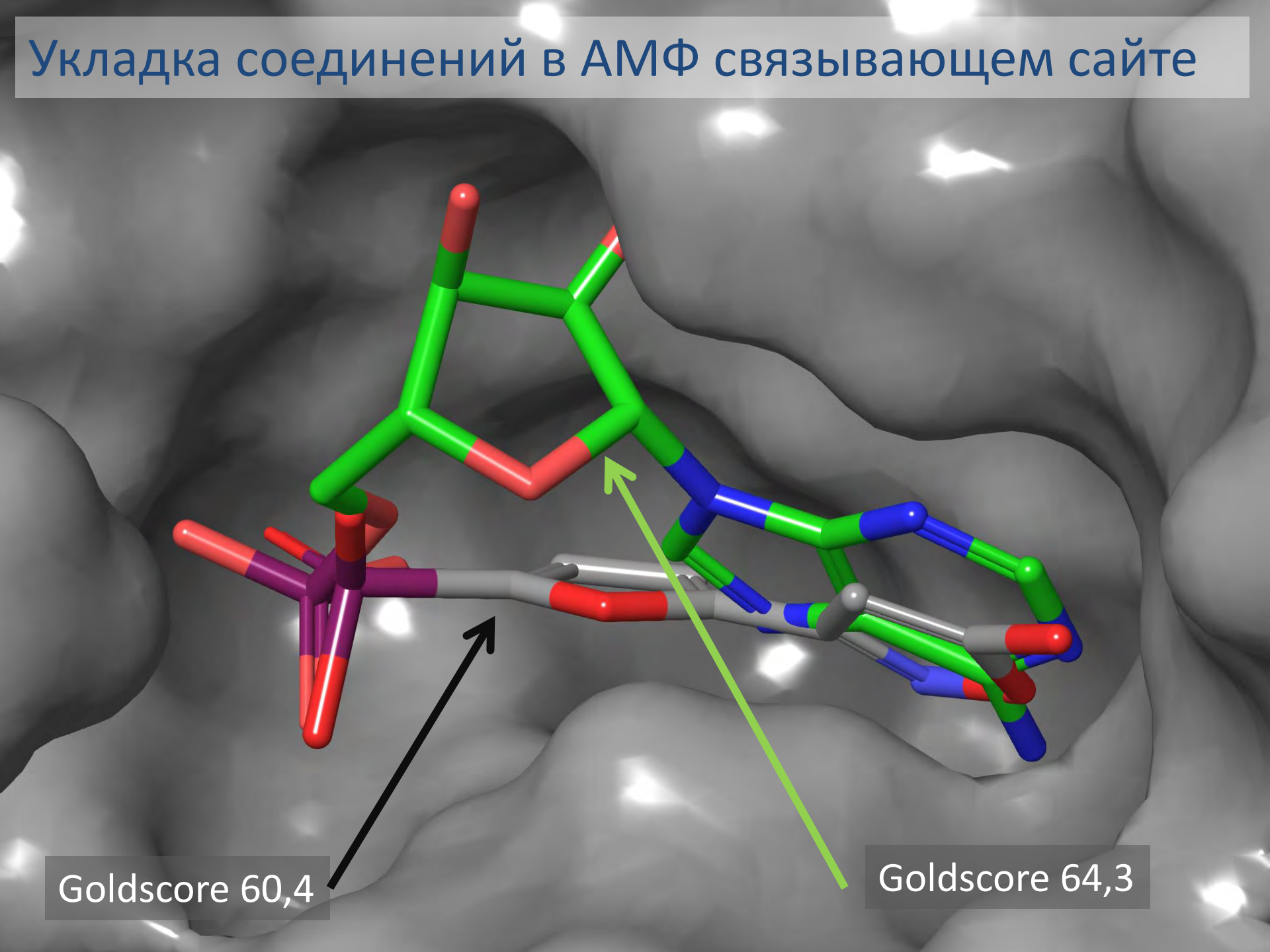


Compound 2

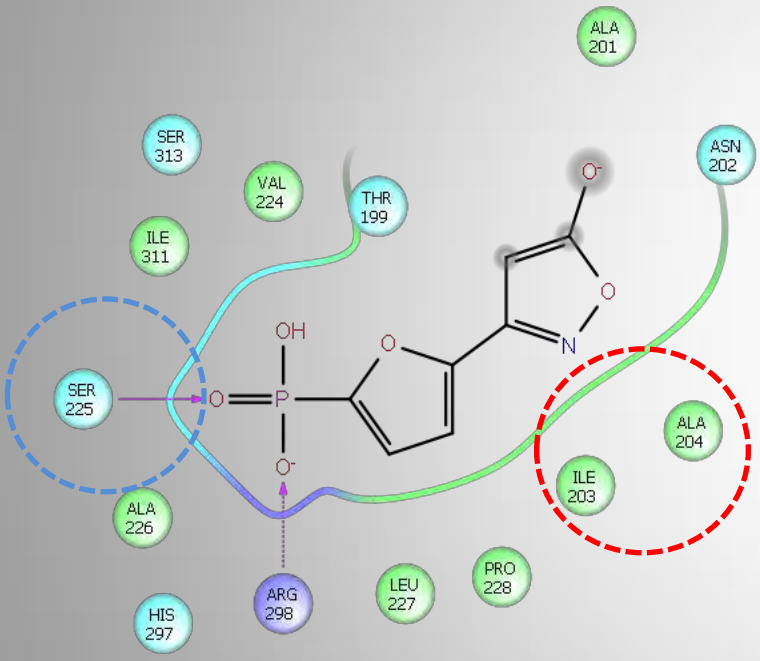
EC_{50}=6,3 ηM

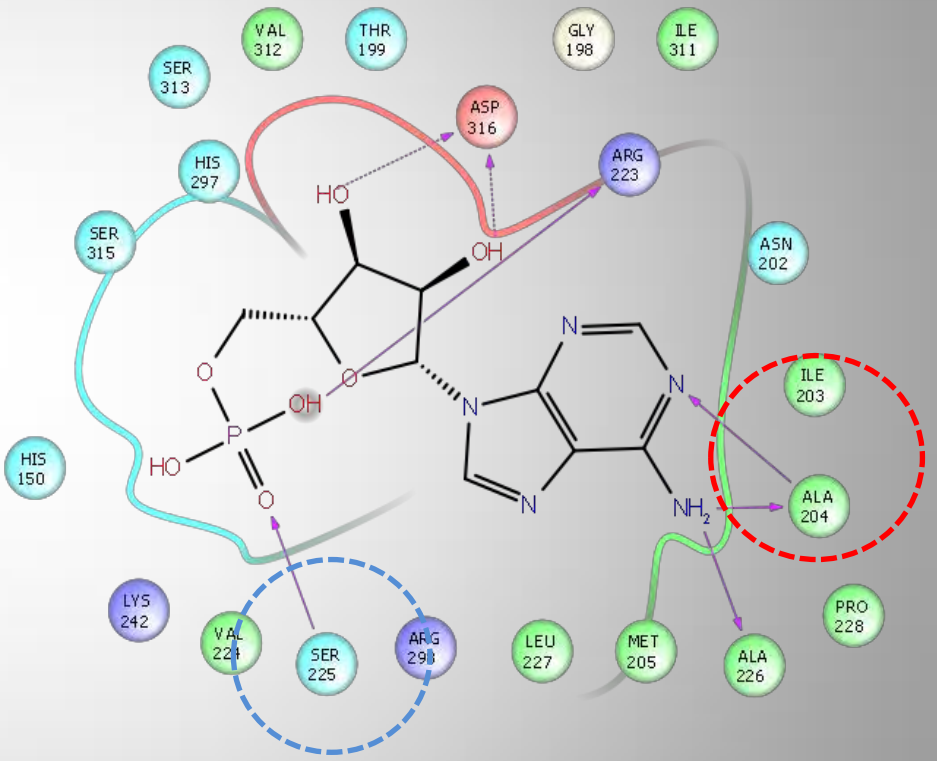


Укладка соединений в АМФ связывающем сайте

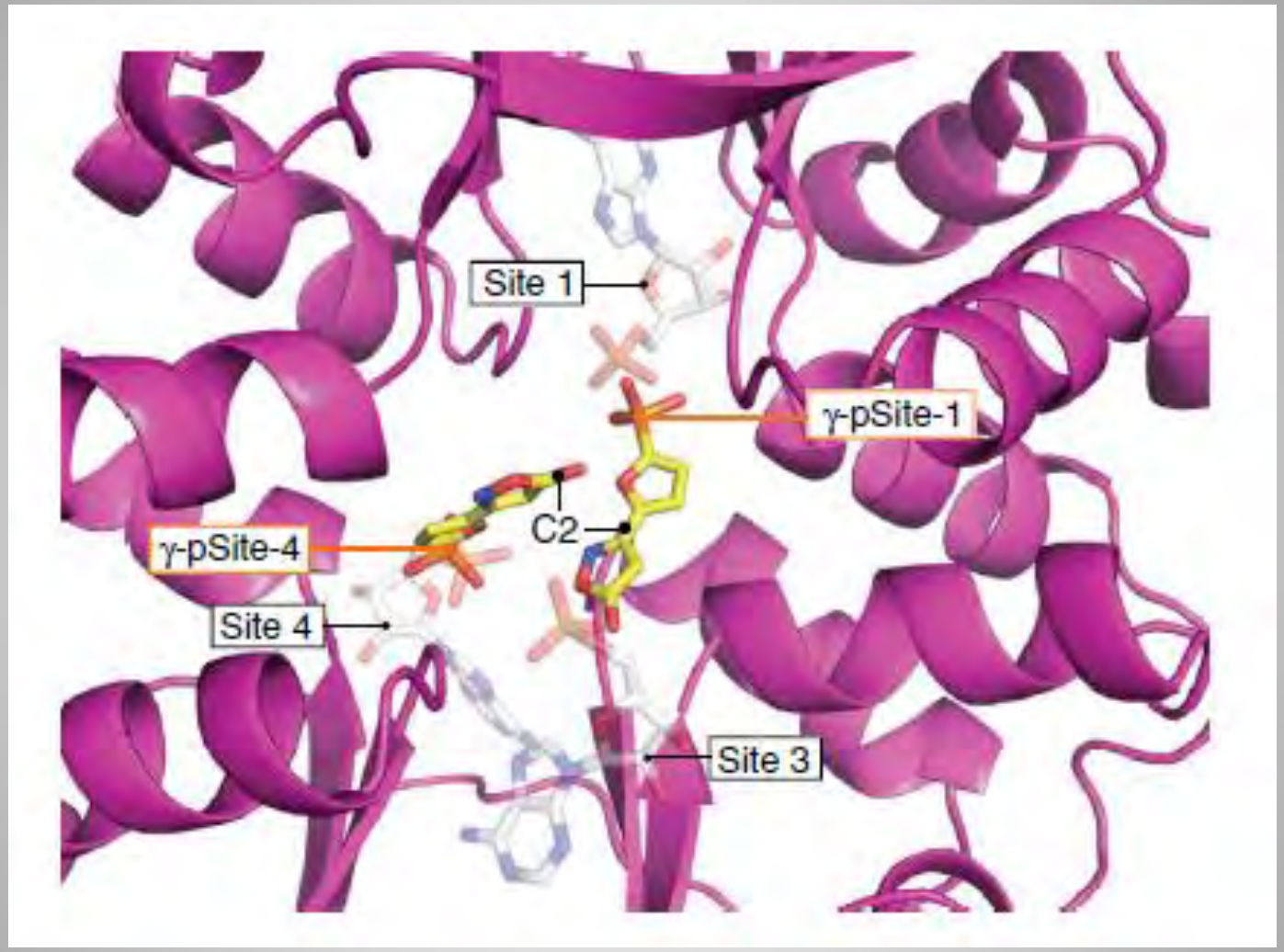


Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта



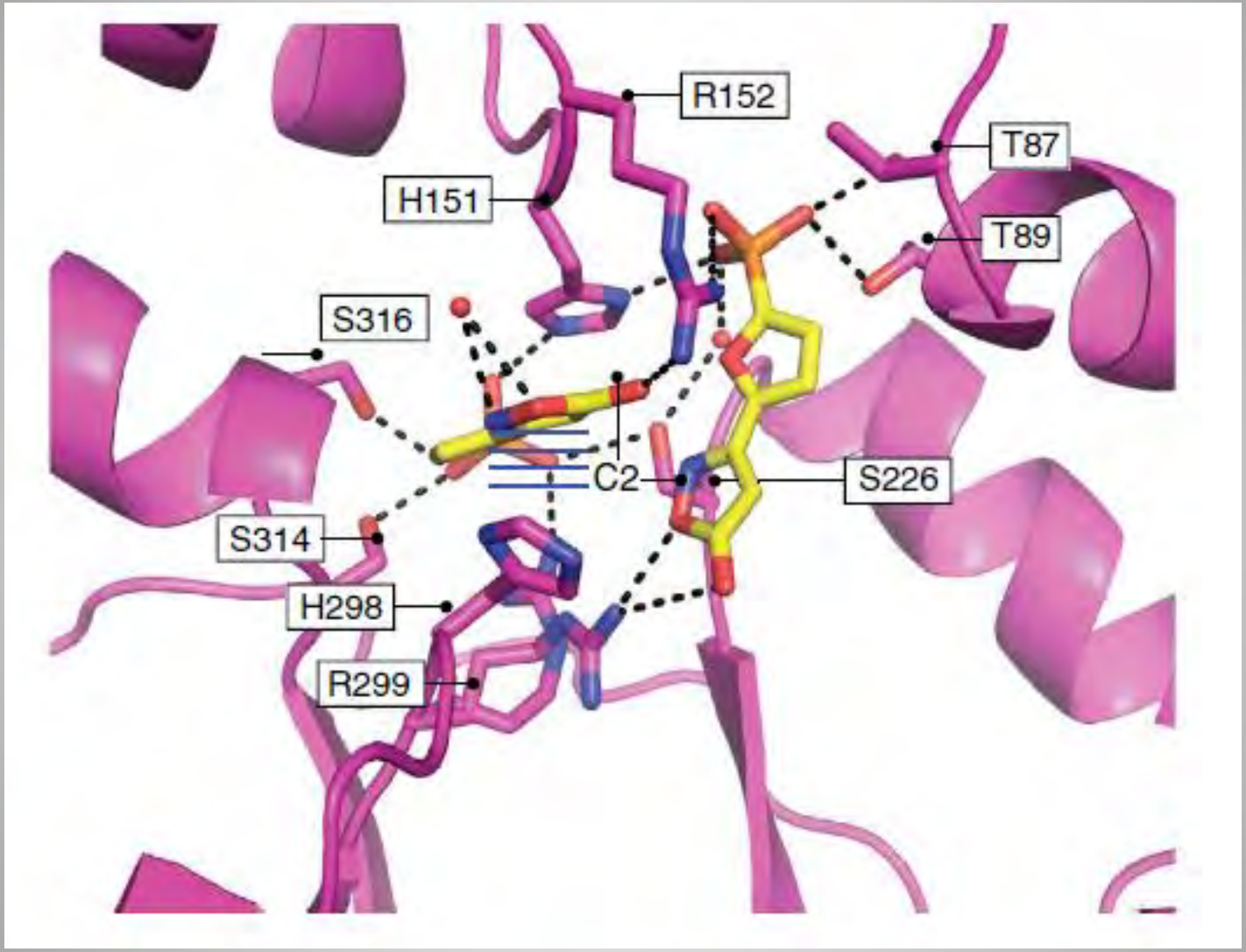


Новый активатор АМФК

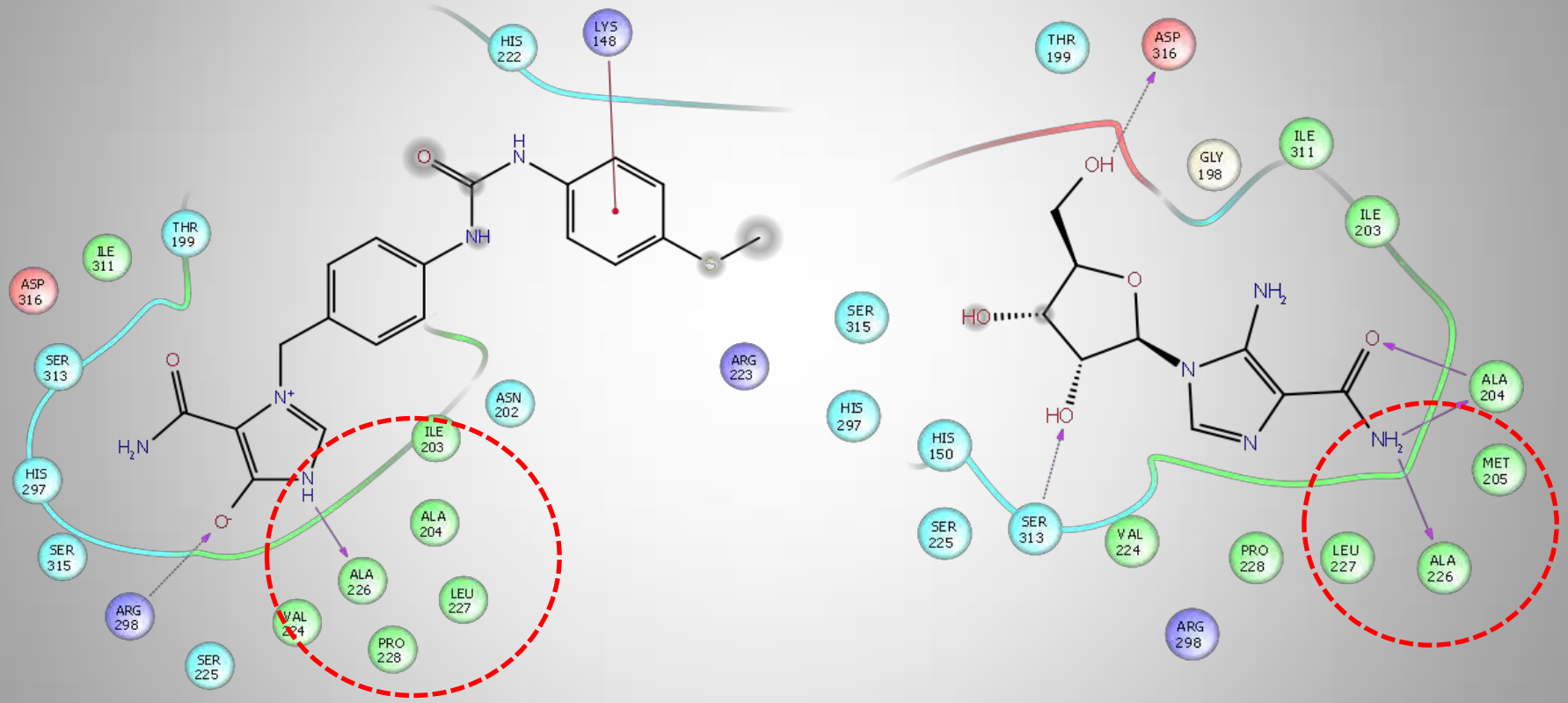


Structural basis of allosteric and synergistic activation of AMPK by furan-2-phosphonic derivative C2 binding. Langendorf C. G., Kevin R.W., Scott J. W., et al. Nat Commun. **2016**; 7: 10912

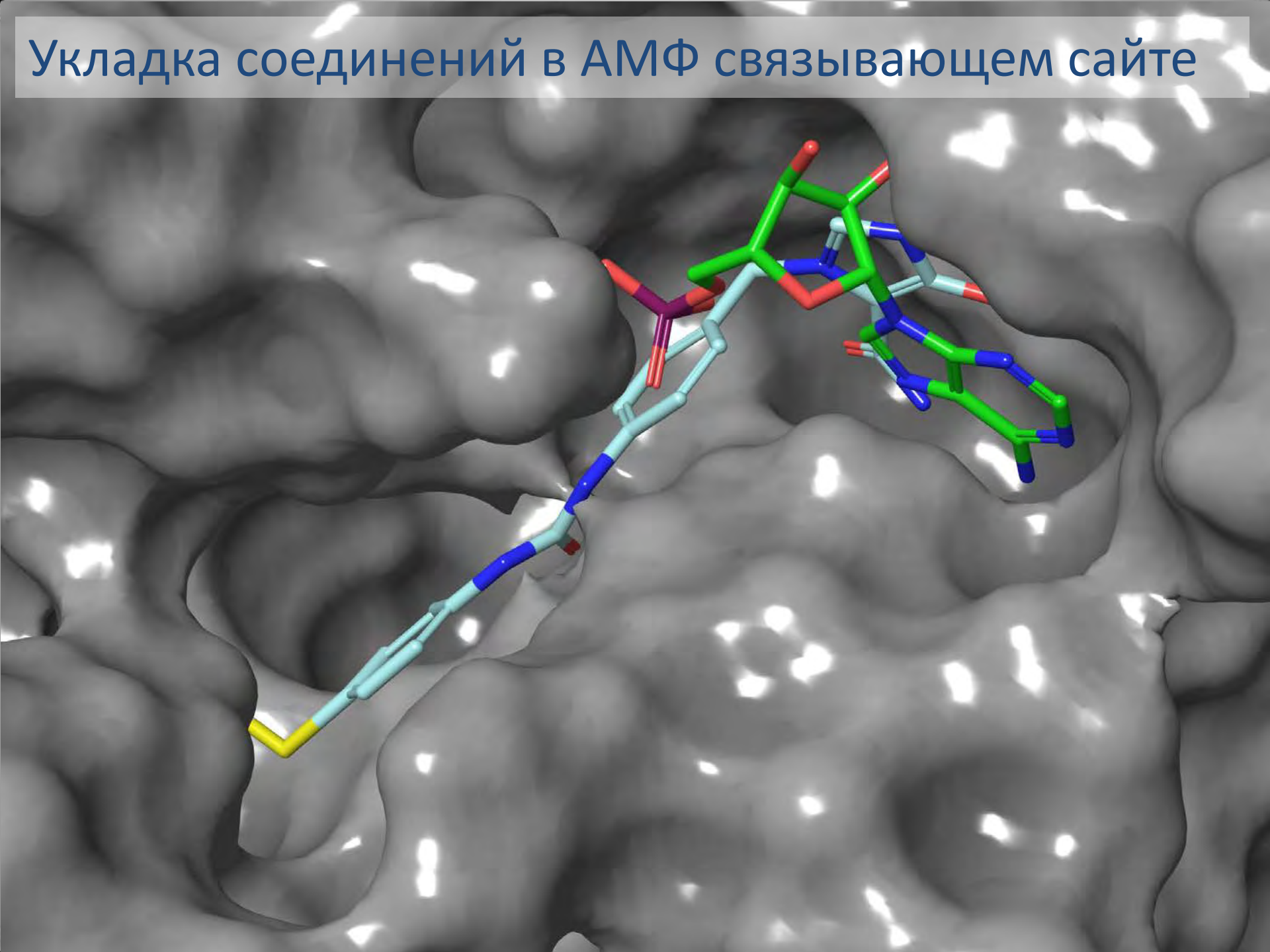
Новый активатор АМФК



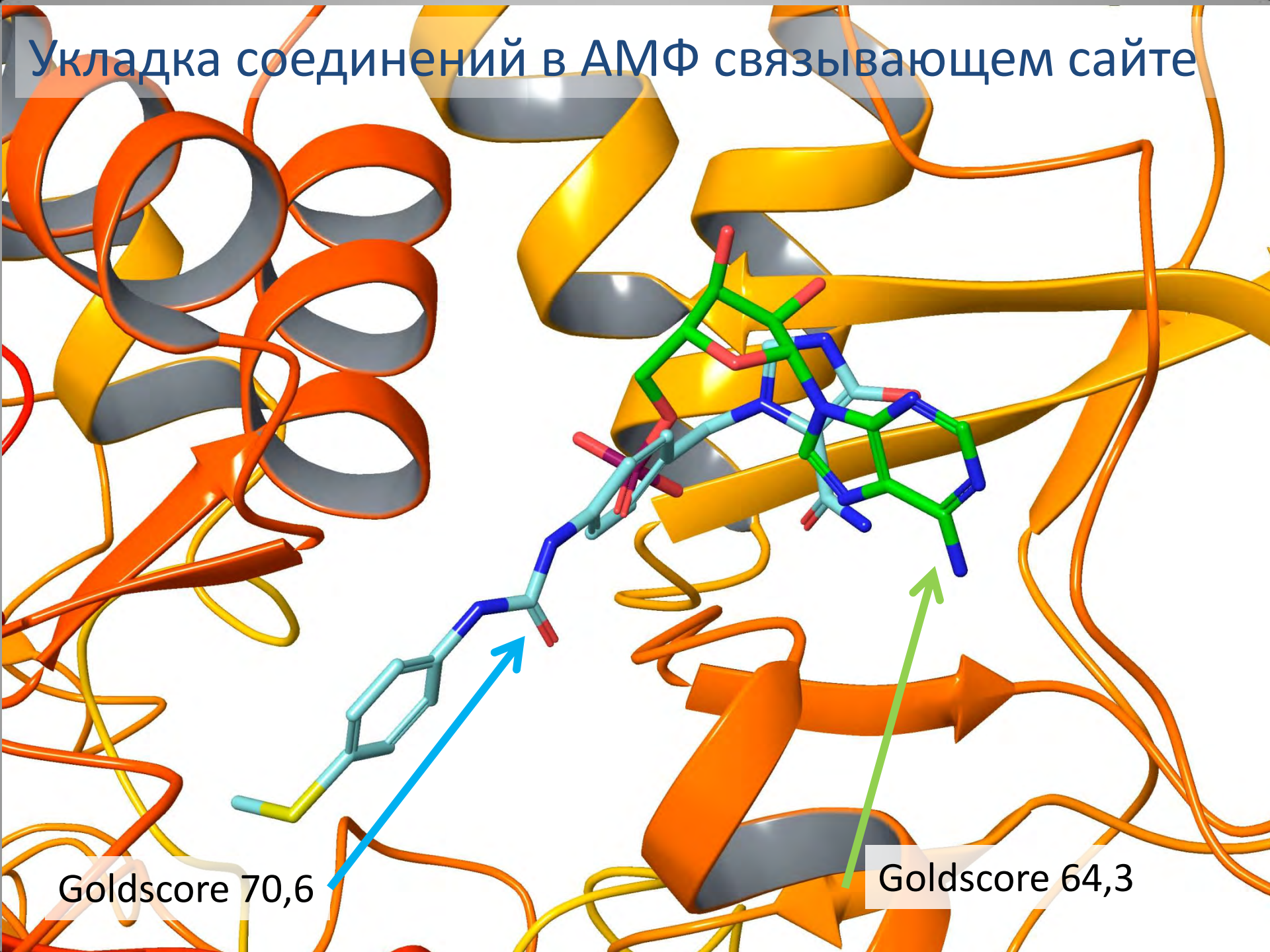
Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта



Укладка соединений в АМФ связывающем сайте



Укладка соединений в АМФ связывающем сайте



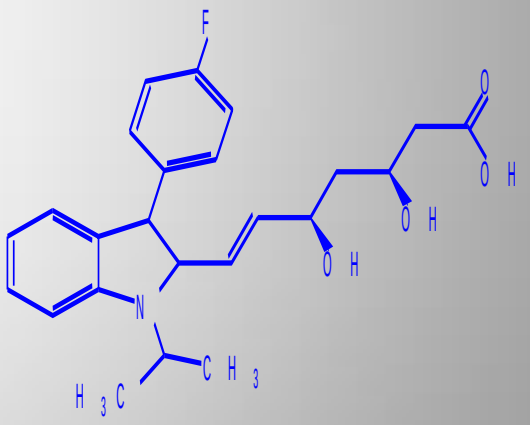
Снижение холестерина и триглицеридов

15 дневный прием препарата

Показатель	Дозировка	До	После
Холестерин общий, ммоль/л	5 мг	4,22±0,05	3,83±0,05
	1 мг	4,09±0,05	3,96±0,05
	Контроль	4,18±0,06	4,16±0,07
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	5 мг	1,33±0,03	1,21±0,03
	1 мг	1,24±0,03	1,23±0,03
	Контроль	1,26±0,05	1,24±0,04
Триглицериды, ммоль/л	5 мг	0,95±0,05	0,84±0,03
	1 мг	0,82±0,03	0,79±0,03
	Контроль	0,91±0,05	0,87±0,05

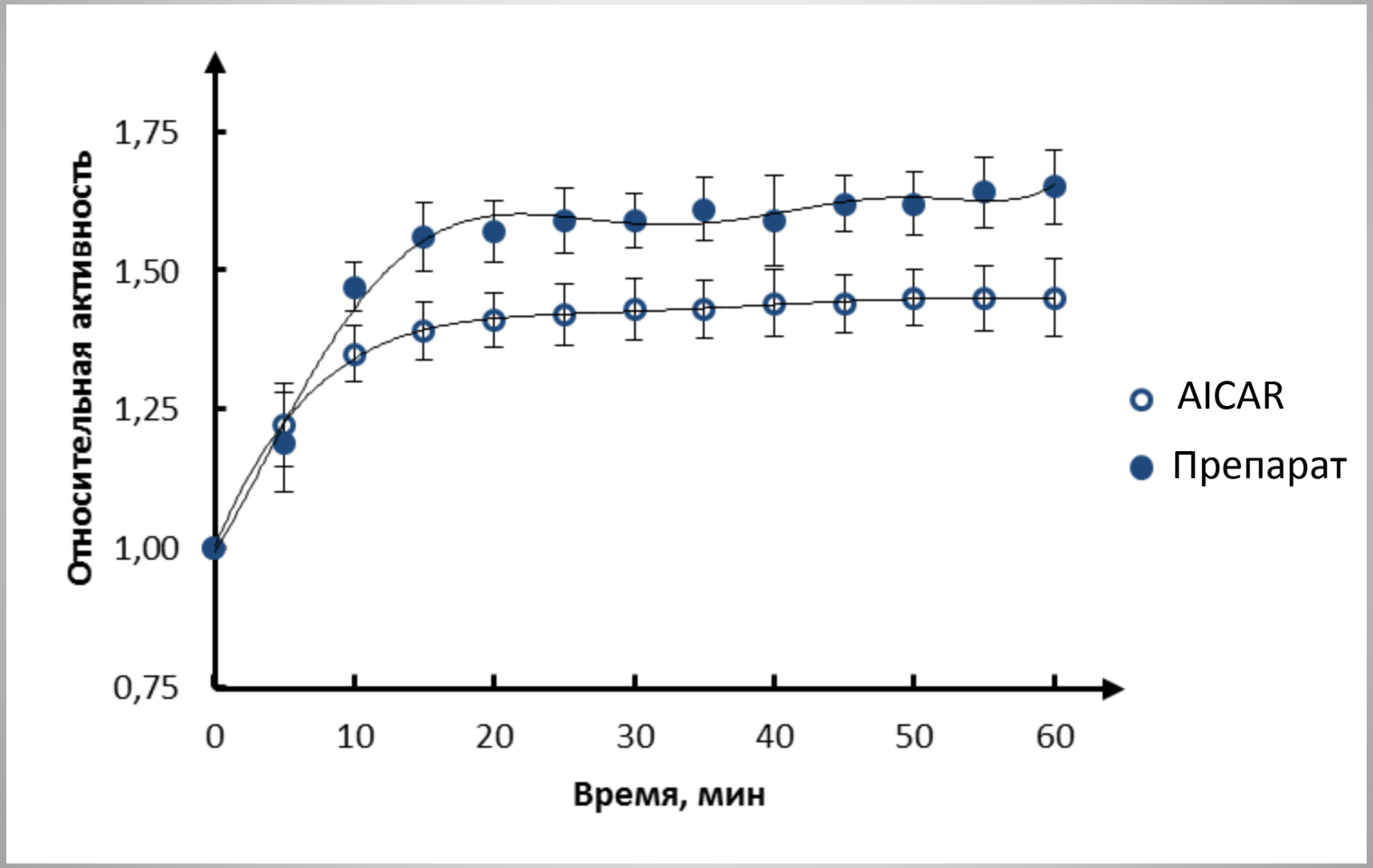
9%

Флувастатин 80 мг

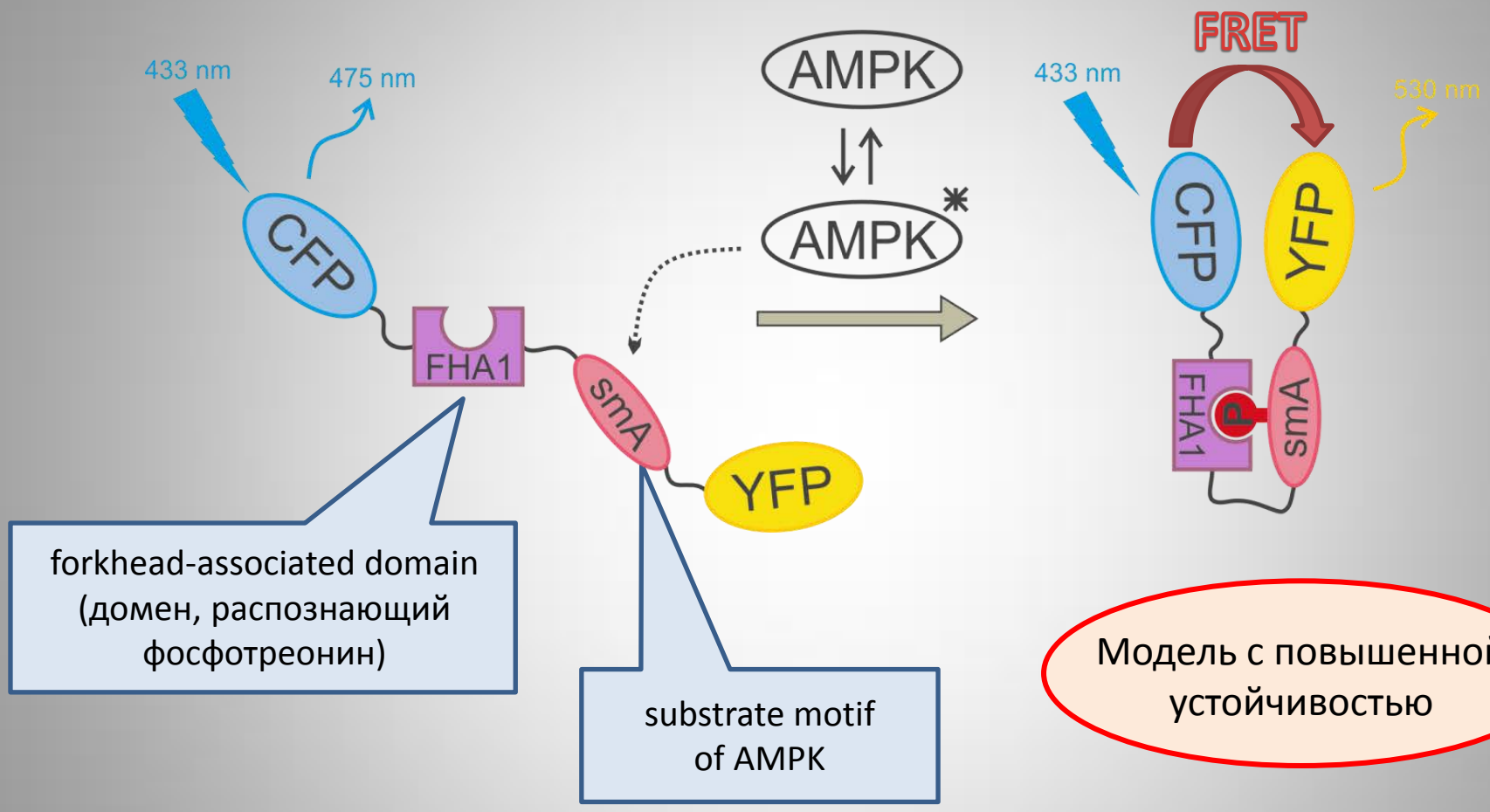


Препарат группы статинов

Исследование активности на клеточной тест-системе.



Клеточная тест-система на основе FRET

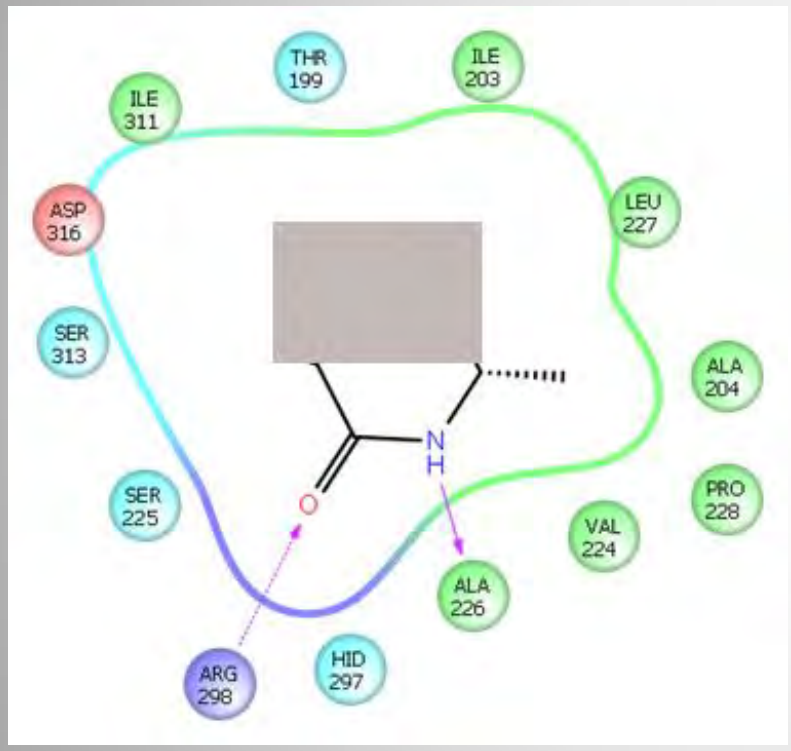


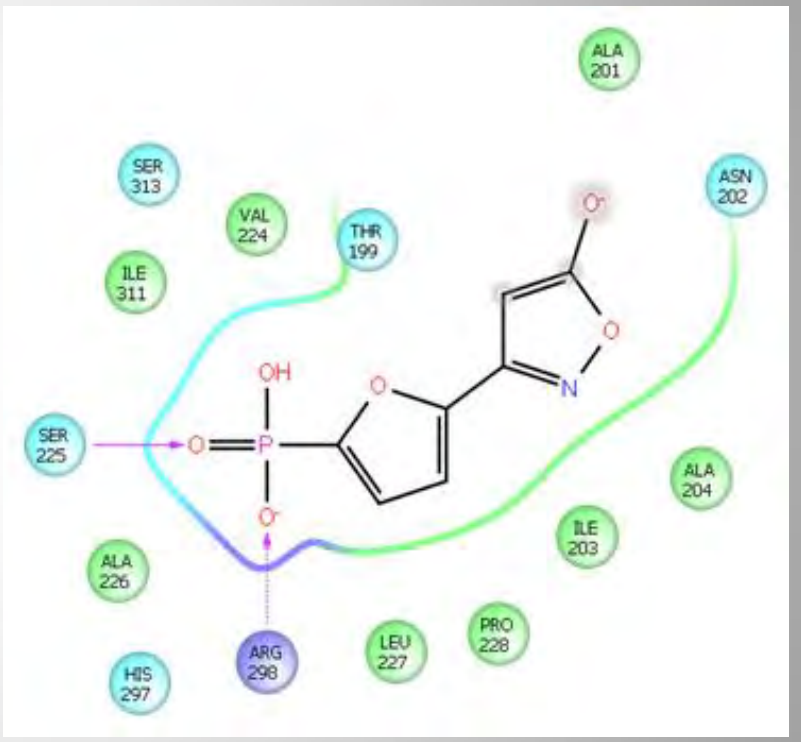
Модель с повышенной устойчивостью

Модель с лентивирусным вектором

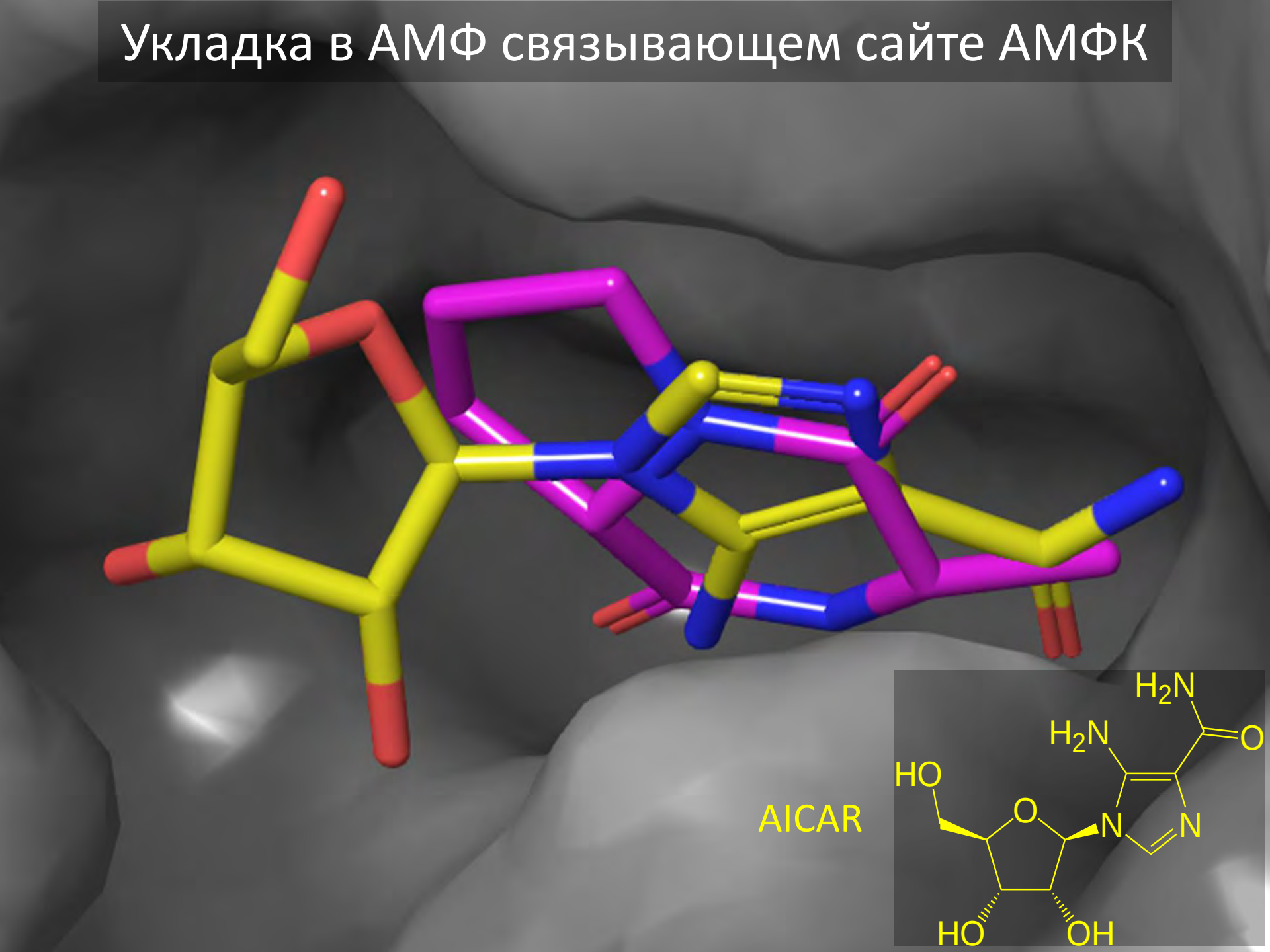
Tsou P., Zheng B., Hsu C.-H. et al. *Cell Metabolism*, **2011**.

Взаимодействие соединений с аминокислотными остатками АМФ связывающего сайта



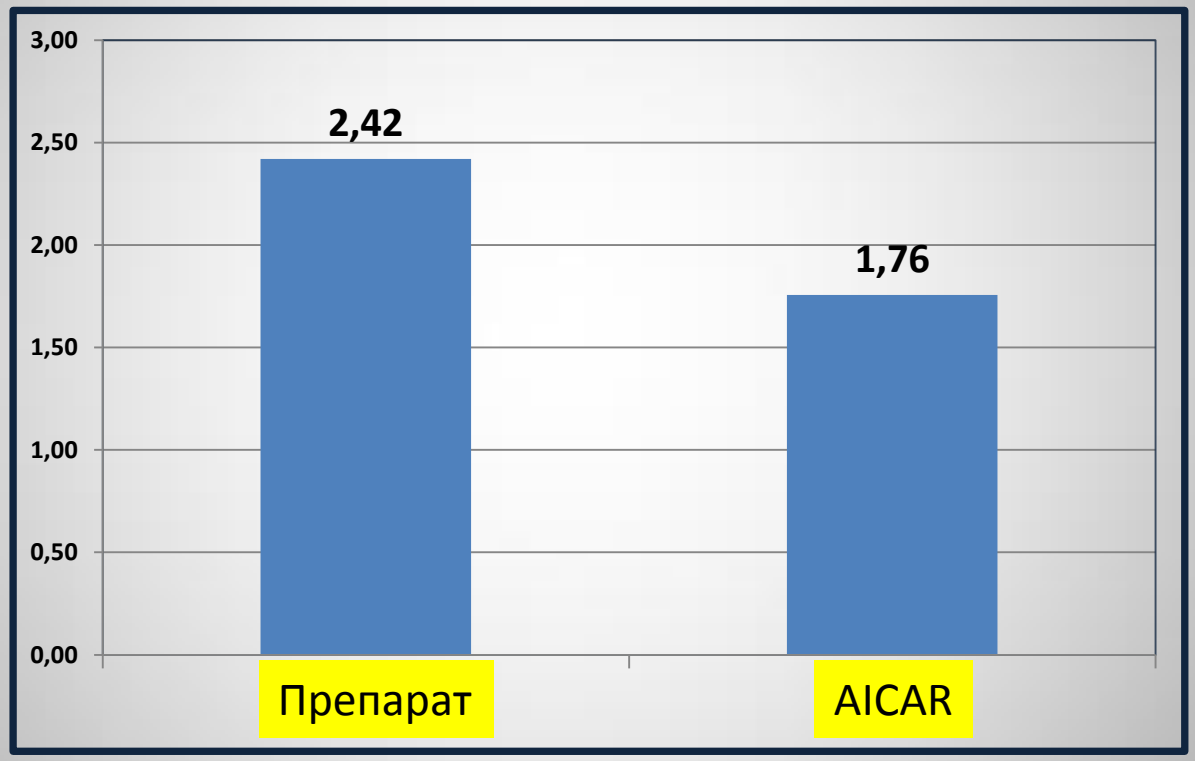


Укладка в АМФ связывающем сайте АМФК



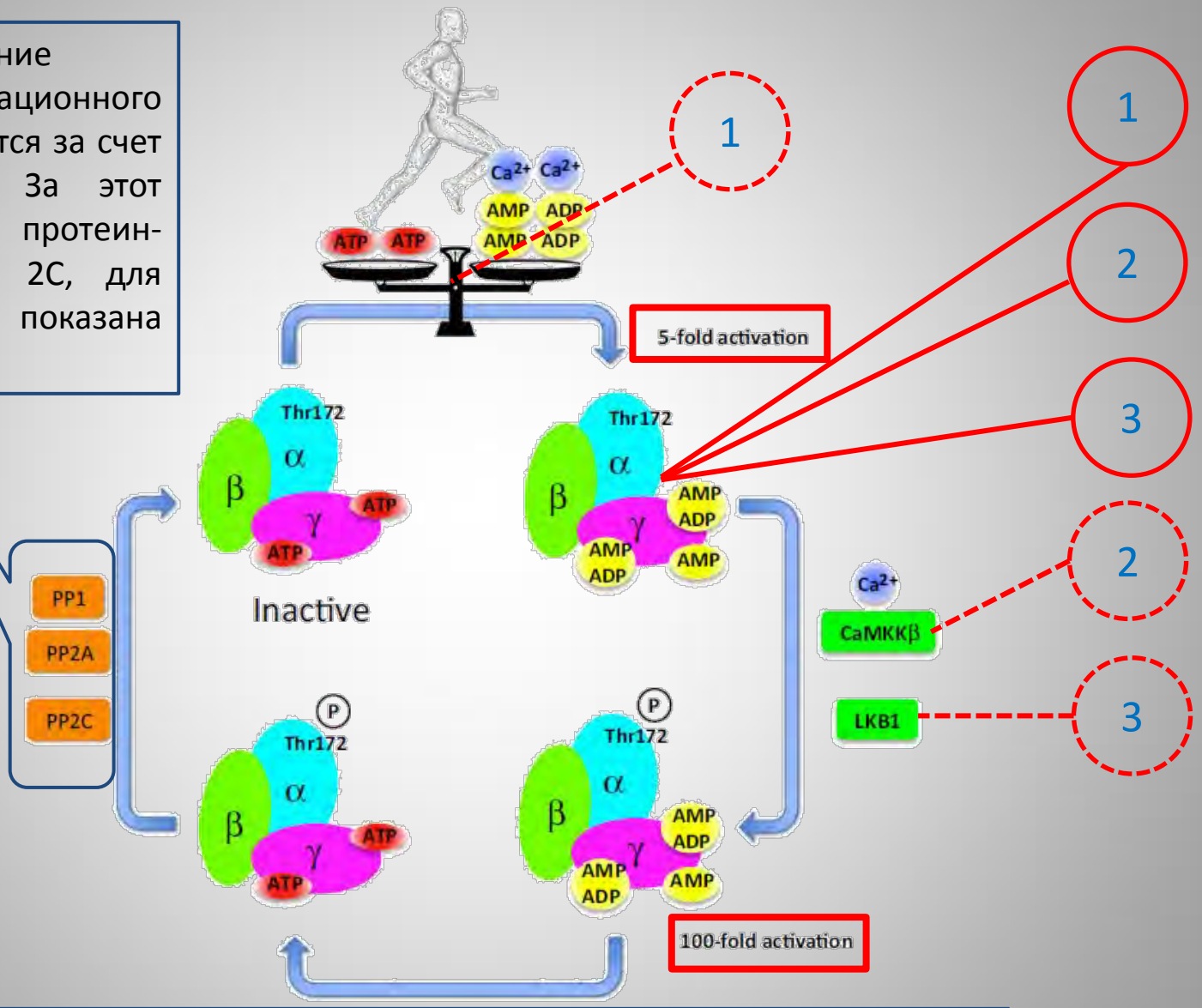
AICAR

Фосфорилирование ацетил коА-карбоксилазы



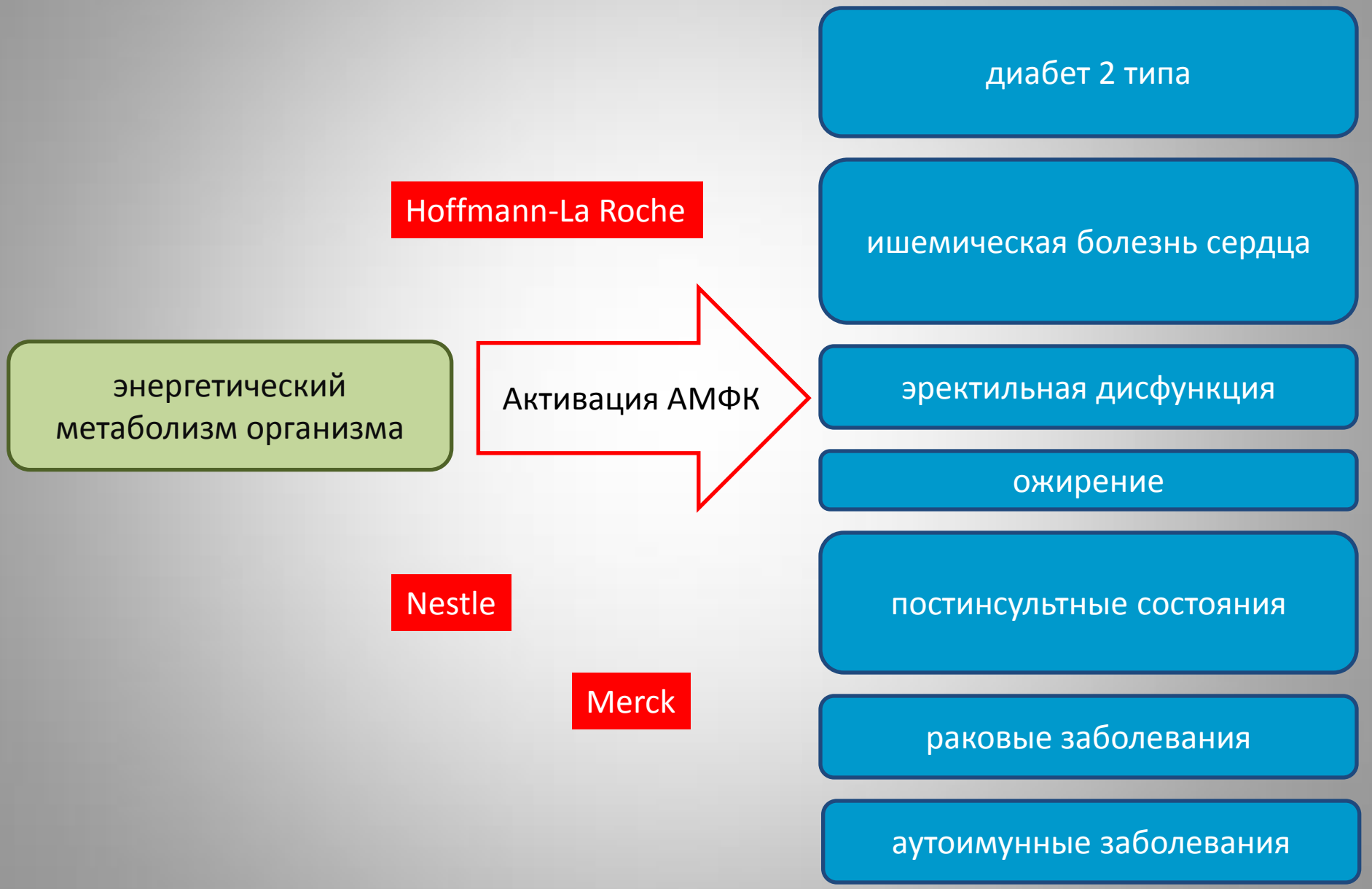
Синергизм прямой и непрямой активации

Дефосфорилирование основного активационного сайта осуществляется за счет протеинфосфатаз. За этот процесс отвечают протеин-фосфатазы 2A и 2C, для которых была показана активность *in vivo*



Expanding roles for AMPK in skeletal muscle plasticity. Mounier R., Théret M. et al. *Trends Endocrinol. Metab.* **2015**;26(6)pp. 275-86.

Возможный спектр заболеваний



Спасибо за внимание

www.mol-pharm.com