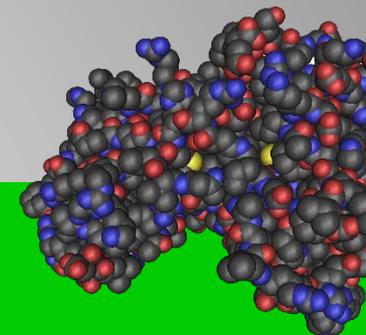




X Всероссийская научная конференция «Химия и технология
растительных веществ»



Нейропротекторные функции низкомолекулярных активаторов АМФК

А.В. Гарабаджиу

проф., д.х.н.

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

Казань

5-9 июня 2017 г.

Функции АМФК

Основной регулятор энергетики



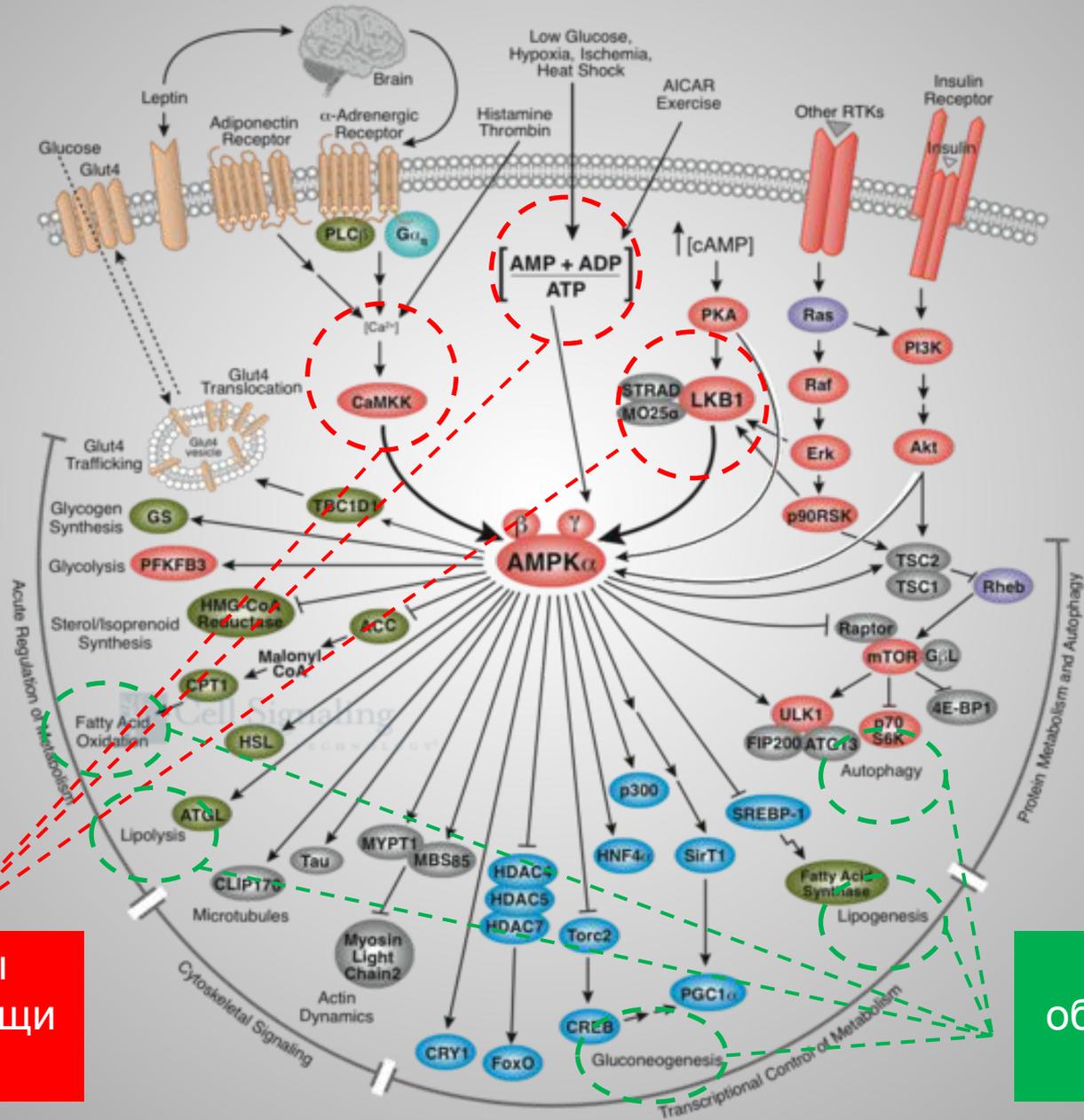
Метаболизм липидов

Метаболизм углеводов

Метаболизм белков

Энергетический метаболизм всего организма

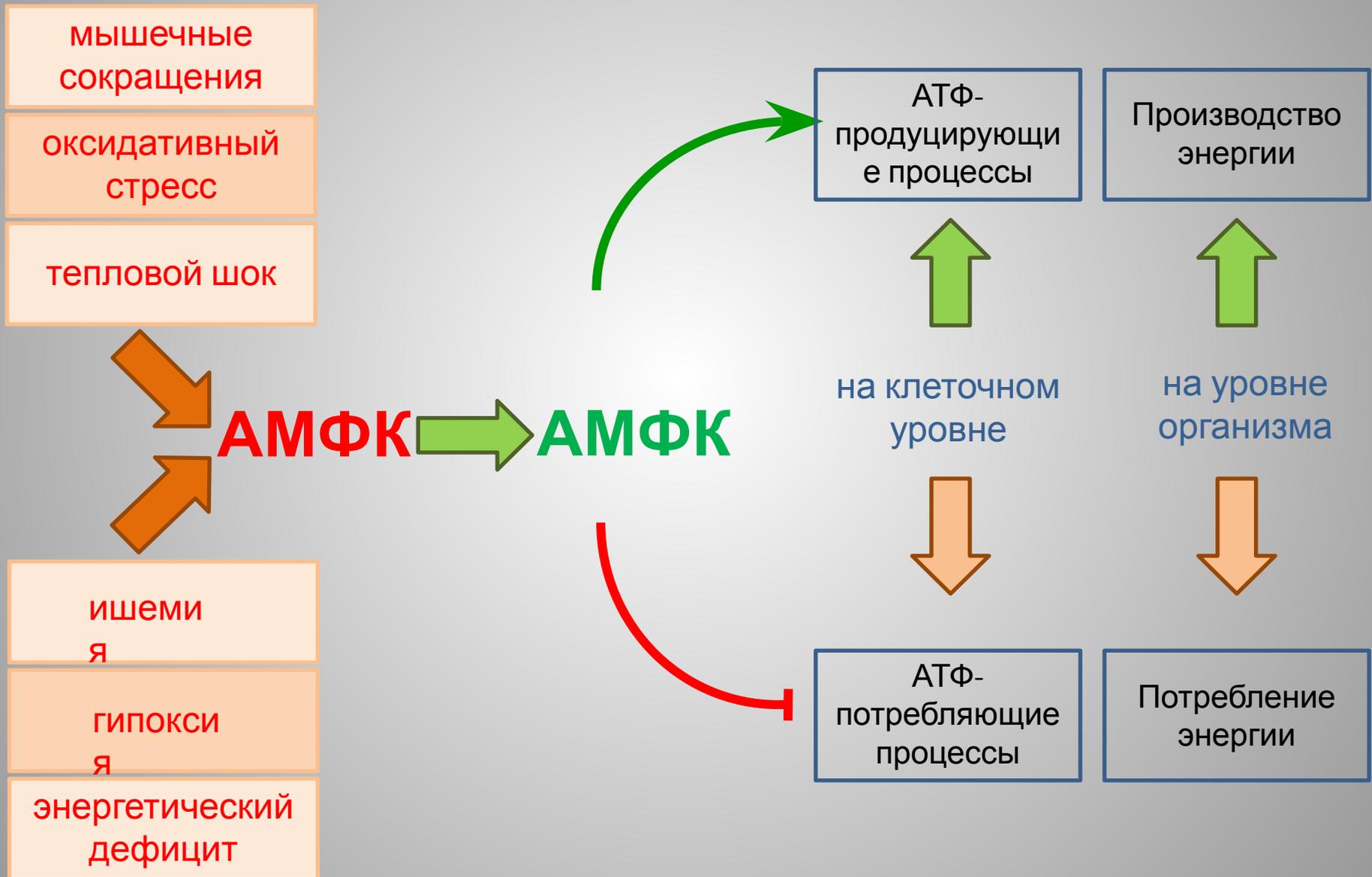
Сигнальный каскад АМФК



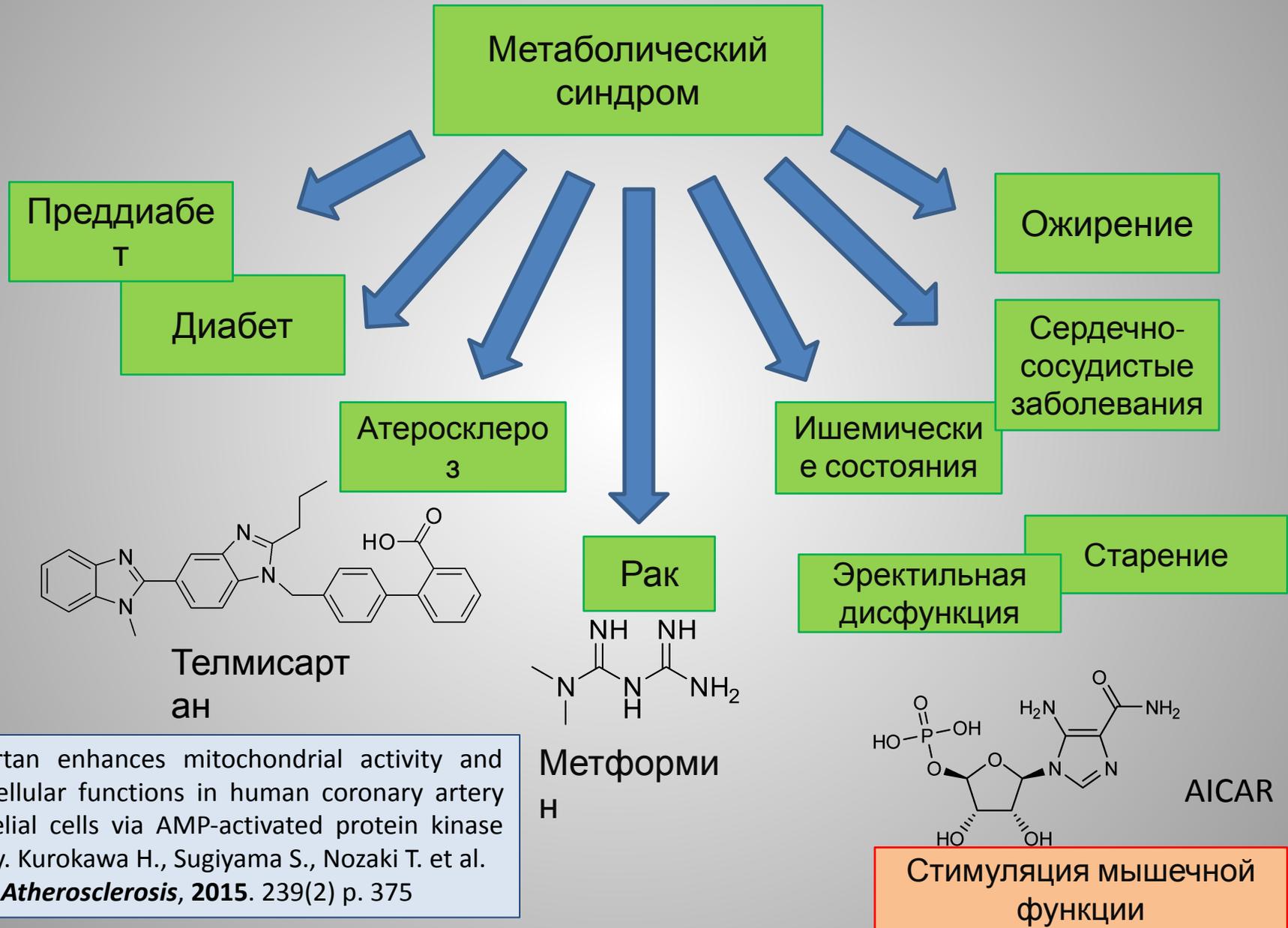
Факторы активизирующие АМФК

Процессы обусловленные активацией АМФК

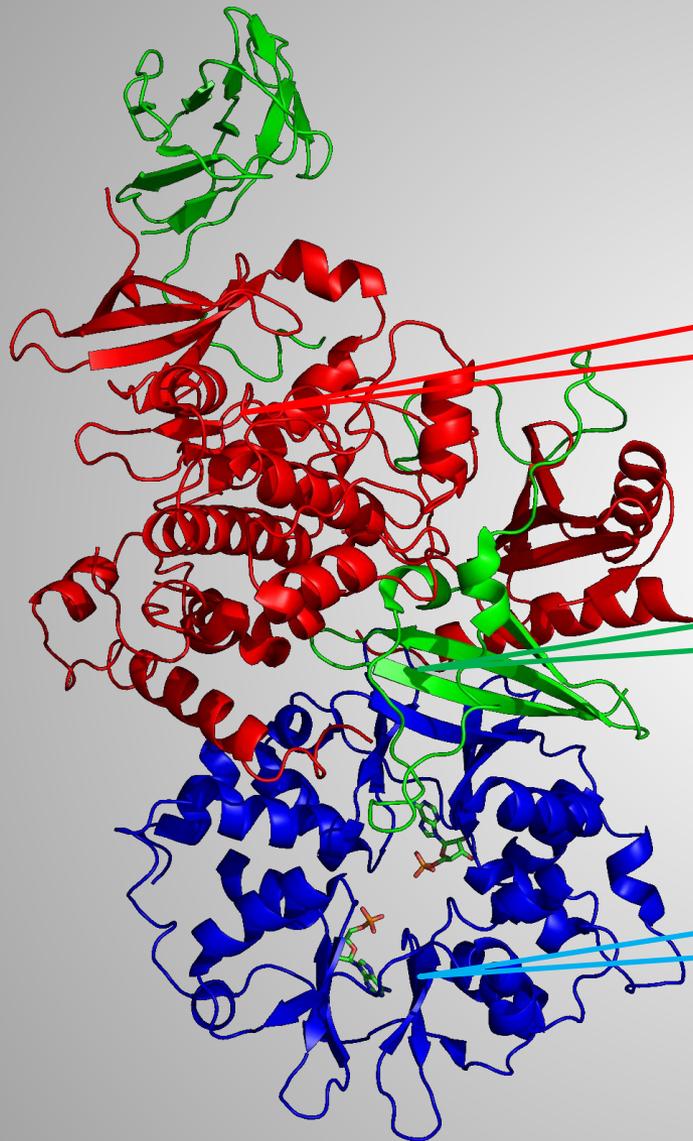
АМФК - регулятор энергетического баланса



Терапевтическая значимость активации АМФК



Структура АМФК



α -субъединица

Отвечает за киназную
активность
и внутриклеточную
локализацию

β -субъединица

Выполняет роль скаффолд-
белка и регулирует углеводный
метаболизм

γ -субъединица

сенсор АМФ/АТФ

Активаторы АМФК

Прямы

e

Непрямы

e

1

АМФ-связывающий сайт

2

Аллостерический сайт

3

Автоингибиторный домен

Изменение соотношения АМФ/АТФ

1

Активация САМКК киназы

2

Активация LKB1 киназы

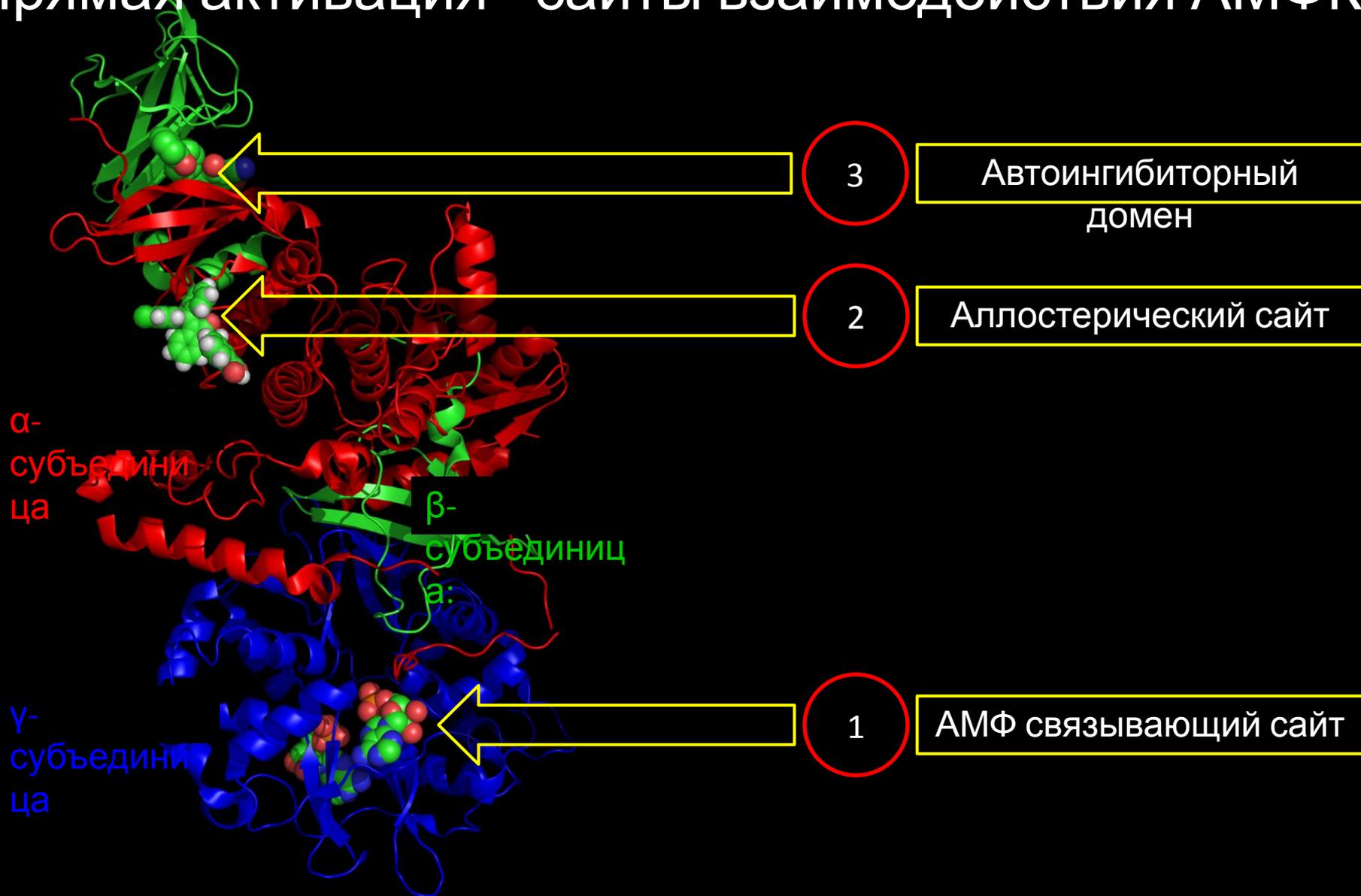
3

Непосредственное взаимодействие

Имитация естественного сигнала

Воздействие на активирующие факторы

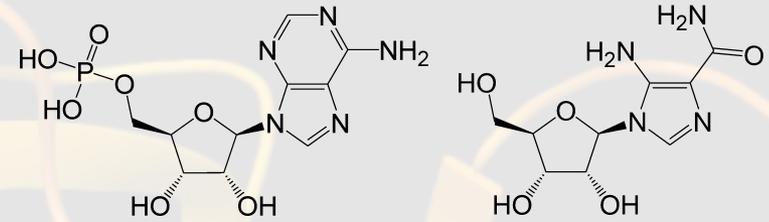
Прямая активация - сайты взаимодействия АМФК



Прямые активаторы АМФК

1

АМФ связывающий сайт



АМ

АИКАР

Активные соединения условно можно разделить на три типа:

- воспроизводящие азотистое основание АИКАР или АМФ

- воспроизводящие рибозный остаток,

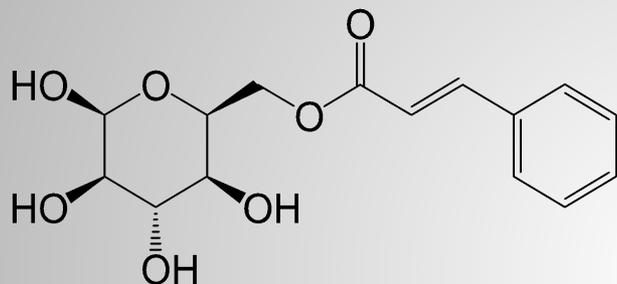
УСКОРЕНИЕ МИМЕТИКИ ЦИКЛОСИДОВ

Прямые активаторы АМФК

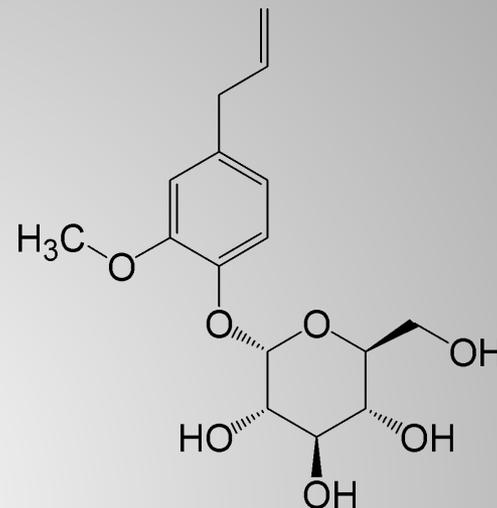
1

АМФ связывающий

сайт
воспроизводящие рибозный
остаток



Эвгенил- β -D-
глюкопиранозид



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. Далее отбор проводился по критериям биодоступности и максимального расчетного подобия с АМФ. Динамическое моделирование показало, что соединения способны связываться аналогично АМФ.

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.

Прямые активаторы АМФК

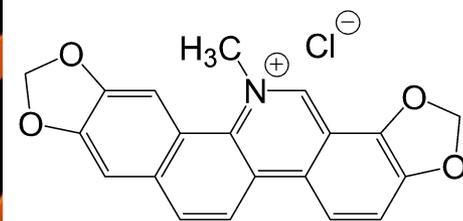
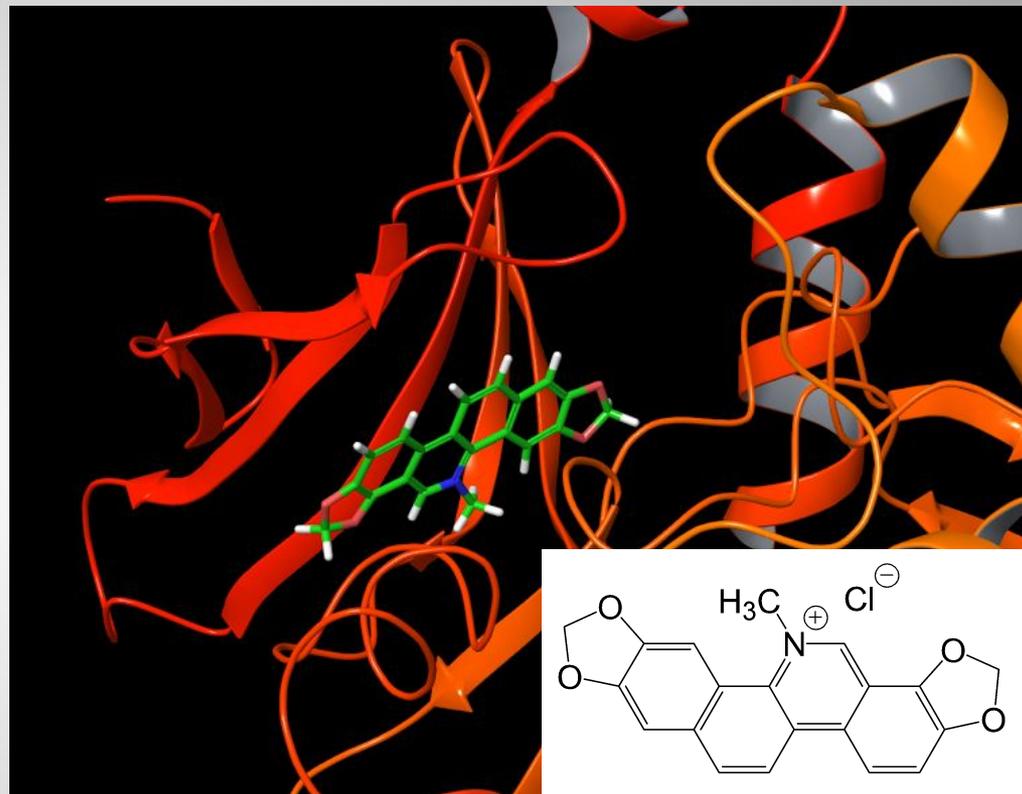
2

Аллостерический сайт



Chelidonium
Чистотел

В качестве активатора АМФК сангвинарин зафиксирован при исследовании *in vitro* на основе FRET-эффекта



Сангвинарин

Sanguinarine is an allosteric activator of AMP-activated protein kinase
J. Choi, N. He, M.K. Sung et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*,
2011, 413, pp. 259-63

Непрямые активаторы АМФК

Имитация природного сигнала

1

изменение соотношения АМФ/АТФ
внутри клетки, приводящее к
аллостерической активации за счет
связывания АМФ

инактивация
деактивирующих
фосфатаз

фосфорилирование активирующими
киназами

CaMKK

Активирующие
субстраты

LKB1

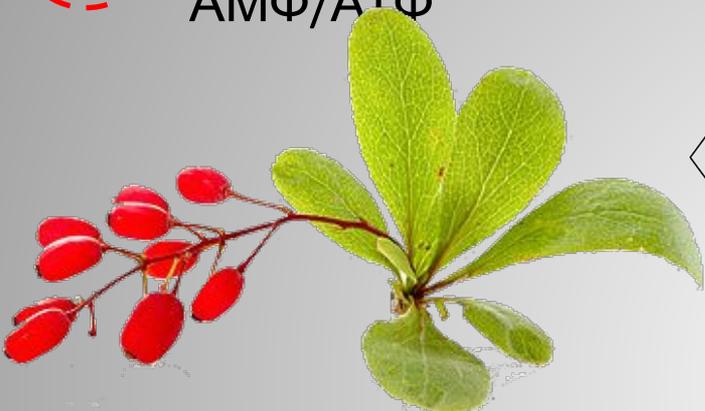
2

3

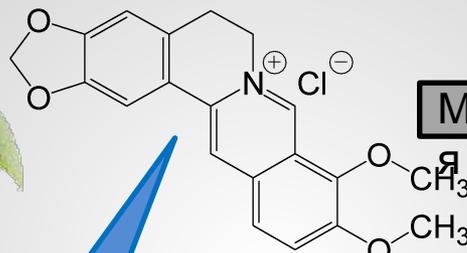
Непрямые активаторы АМФК

1

Изменение соотношения АМФ/АТФ

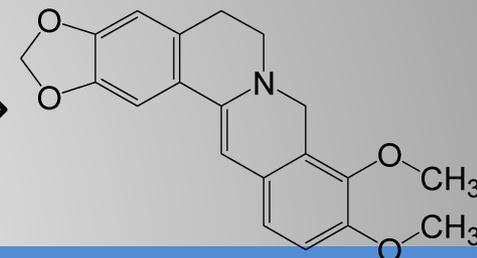


Berberis vulgaris



Берберин

Модификация



Улучшенная пероральная биодоступность

Дигидроберберин

Ингибирование комплекса I дыхательной цепи приводит к снижению синтеза АТФ

Изменение соотношения АМФ/АТФ является естественным сигналом к активации АМФК

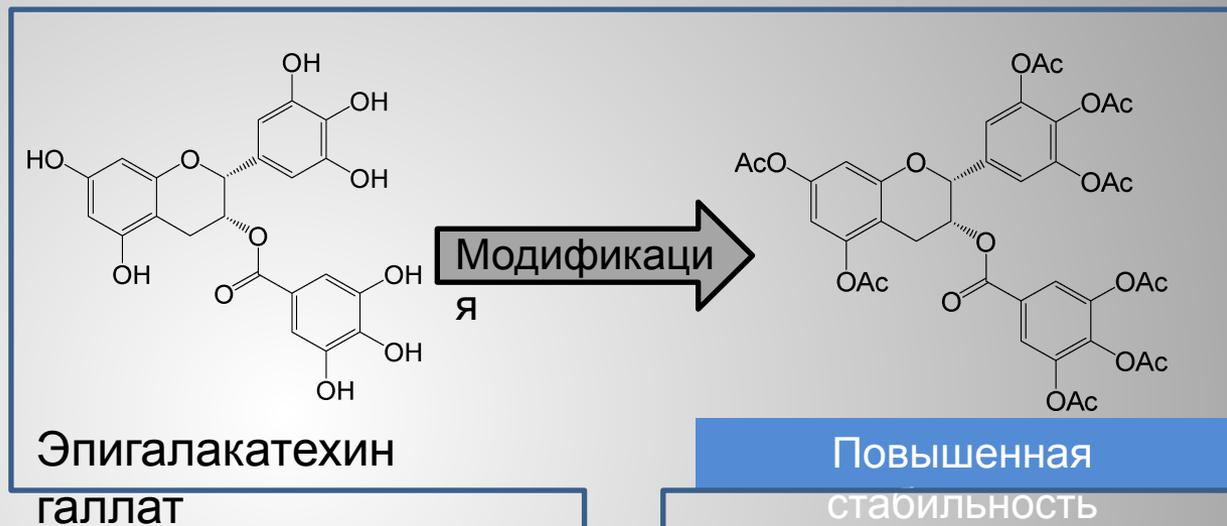
Непрямые активаторы АМФК

2

Активаторы киназы CaMKK β , активирующей AMPK

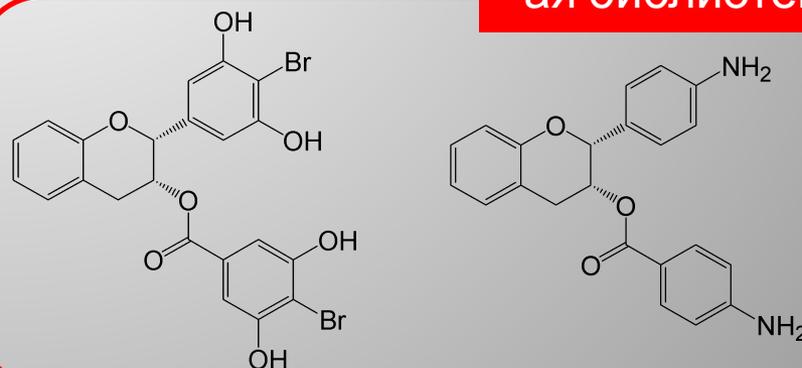


Camellia sinensis
Чай



Более эффективные активаторы АМФК по сравнению с эпигаллакатехин галлатом и его ацетилированным аналогом

Сфокусированная библиотека

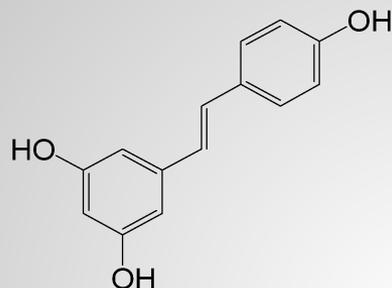


AMP-activated protein kinase: 'a cup of tea' against cholesterol-induced neurotoxicity. de Morentin PB. M., Gonzalez CR., Lopez M. *J. Pathol.* **2010**, 222(4), pp 329-334.

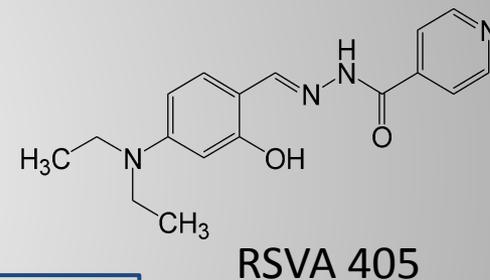
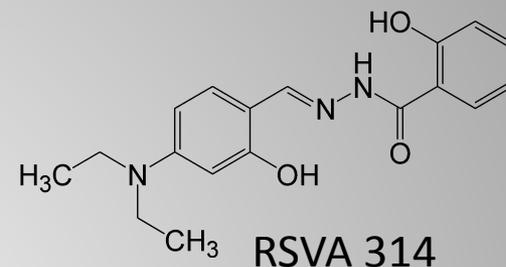
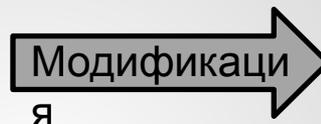
Непрямые активаторы АМФК

2

Активаторы киназы СаМКК β , активирующей АМРК



Ресвератрол



Механизм активации АМФК посредством ресвератрола исследовался в рамках разработки препарата для борьбы с болезнью Альцгеймера путем снижения уровня β -амилоидных пептидов за счет стимуляции аутофагии

AMP-activated Protein Kinase Signaling Activation by Resveratrol Modulates Amyloid- β Peptide Metabolism. V. Vingtdeux, L. Giliberto et al. *Biol. Chem.*, 2010, **285**, 9100.

Novel synthetic small-molecule activators of AMPK as enhancers of autophagy and amyloid- β peptide degradation. V. Vingtdeux, P. Chandakkar et al. *FASEB J.*, 2011, **25**, 219.

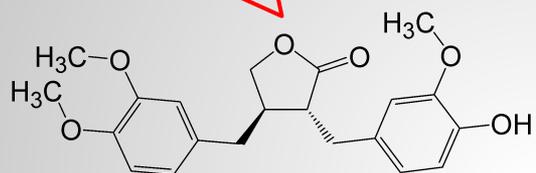
Непрямые активаторы АМФК

3 Активаторы киназы LKB1, активирующей АМРК

Скрининг библиотеки природных соединений



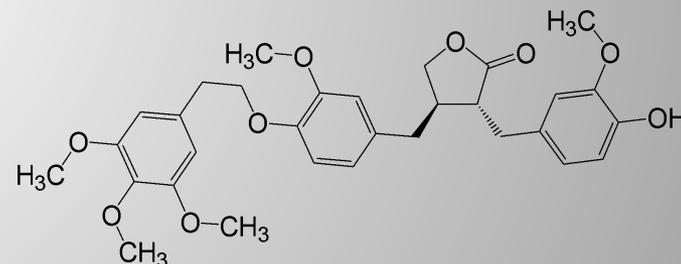
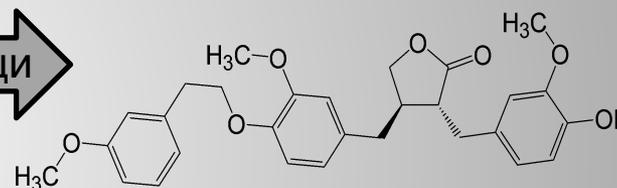
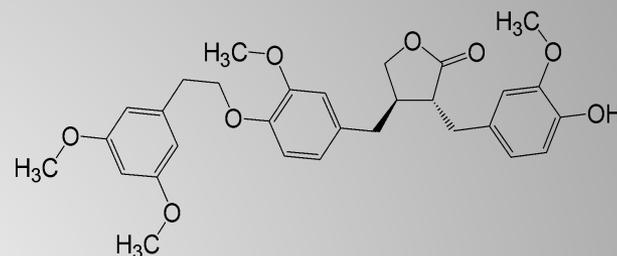
Arctium lappa
Лопух
большой



Арктигенин

Н

Модификация



При применении препарата
мыши показали
значительное повышение
выносливости

Arctigenin efficiently enhanced sedentary mice treadmill endurance. X. Tang, J. Zhuang et al. **PLoS One**, 2011, 6, e24224.

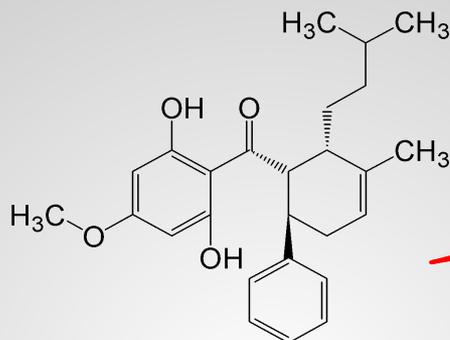
Synthesis and biological evaluation of arctigenin ester and ether derivatives as activators of AMPK. S. Shen, J. Zhuang et al, **Bioorg. Med. Chem.**, 2013, 21, 3882.

Непрямые активаторы АМФК

3 Активаторы киназы LKB1, активирующей АМРК



Boesenbergia pandurata
Китайский имбирь



Пандуратин
А

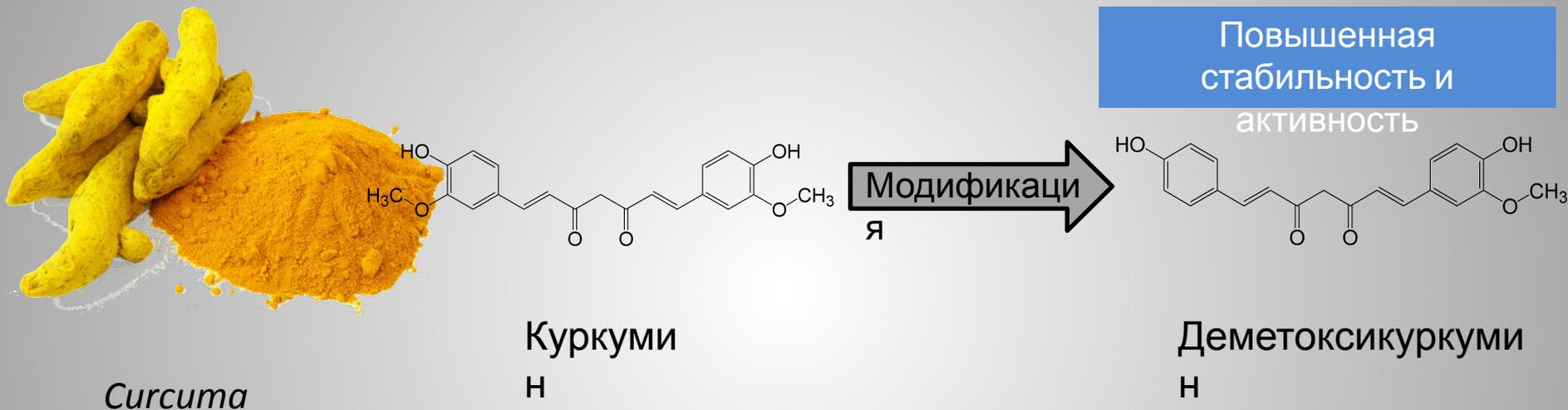
Скрининг библиотеки природных соединений

Пероральное применение Пандуратина на мышинных моделях с индуцированным ожирением способствовало снижению веса и содержания жира в организме, уменьшению стеатоза печени и улучшению липидного профиля сыворотки крови.

Therapeutic potential of panduratin A, LKB1-dependent AMP-activated protein kinase stimulator, with activation of PPAR α/δ for the treatment of obesity. D. Kim, M.S. Lee et al. *Diabetes Obes. Metab.*, 2011, **13**, 584.

Непрямые активаторы АМФК

3 Активаторы киназы LKB1, активирующей АМРК



Было показано, что куркумин подавляет экспрессию генов глюконеогенеза и увеличивает усвоение глюкозы в периферических тканях АМРК-зависимым образом. В более поздних исследованиях производное куркумина - деметоксикуркумин показало большую активность и оказалось более стабильно.

Demethoxycurcumin modulates prostate cancer cell proliferation via AMPK-induced down-regulation of HSP70 and EGFR. M. Hung, Y.H. Su, H.Y. Lin et al. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60, pp. 8427-8434

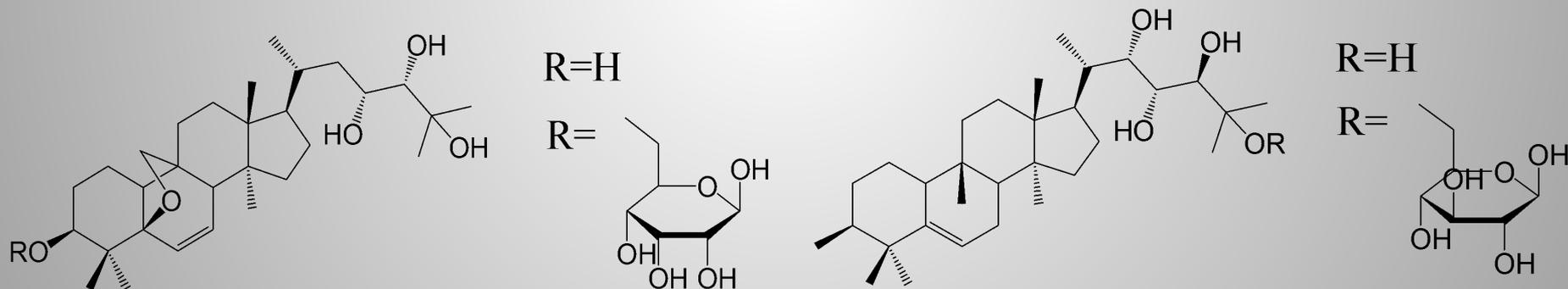
Непрямые активаторы АМФК

3 Активаторы киназы LKB1, активирующей АМРК



Momordica charantia
Горькая дыня

Среди терпеноидов также находятся структуры, способные активировать АМРК. В частности, тритерпеноиды и их гликозиды, выделенные из *Momordica charantia*, вызывают активацию АМРК в мышечных клетках и адипоцитах и стимулируют усвоение глюкозы периферическими тканями



Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. M.J. Tan, J.M. Ye, N. Turner et al, **Chem. Biol.**, 2008, **15**, 263.

Непрямые активаторы АМФК

?

Неизвестный механизм



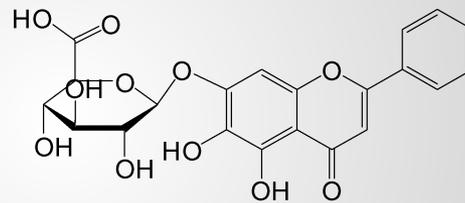
*Scutellaria
baicalensis Georgi*

Шлемник
байкальский

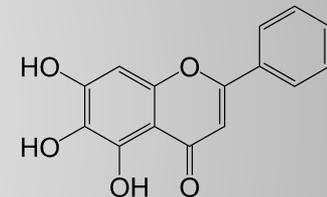
Флавоноиды, флавоны,
изофлавоны

Существует большое количество соединений природного происхождения, которые, обладая широким спектром биологической активности, способны вызывать активацию АМФК, как правило, непрямым образом

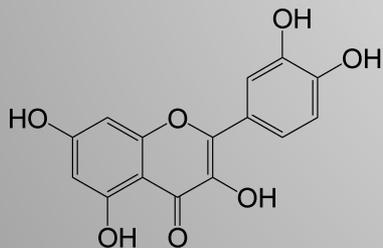
Астено-
депрессивные
СОСТОЯНИЯ



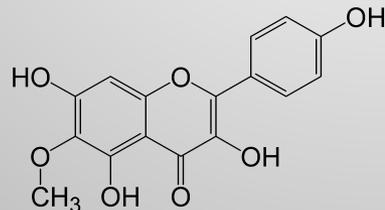
Байкали
Н



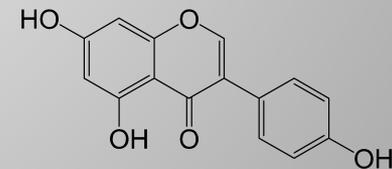
Байкалеи
Н



Квертици
Н



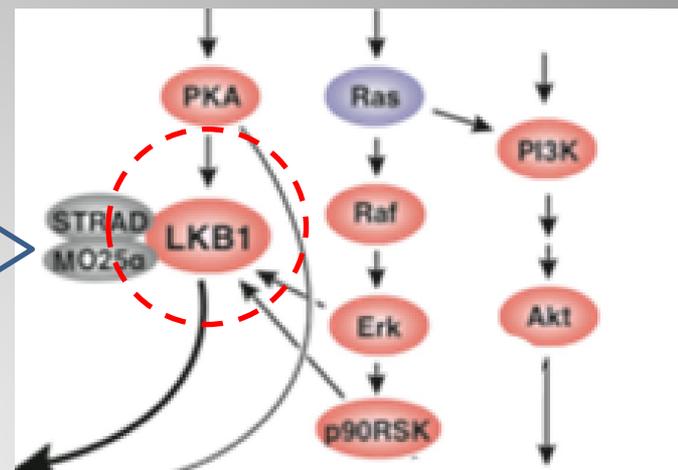
Гиспидули
Н



Генестеи
Н

Непрямые активаторы АМФК

Активирующая способность не прямых активаторов, как правило, является результатом за действия многоступенчатых сигнальных каскадов и даже если определено, что соединение действует на АМФК через LKB1, это означает лишь то, сигнал на активацию передается посредством LKB1, но не определяет LKB1 как непосредственную мишень.

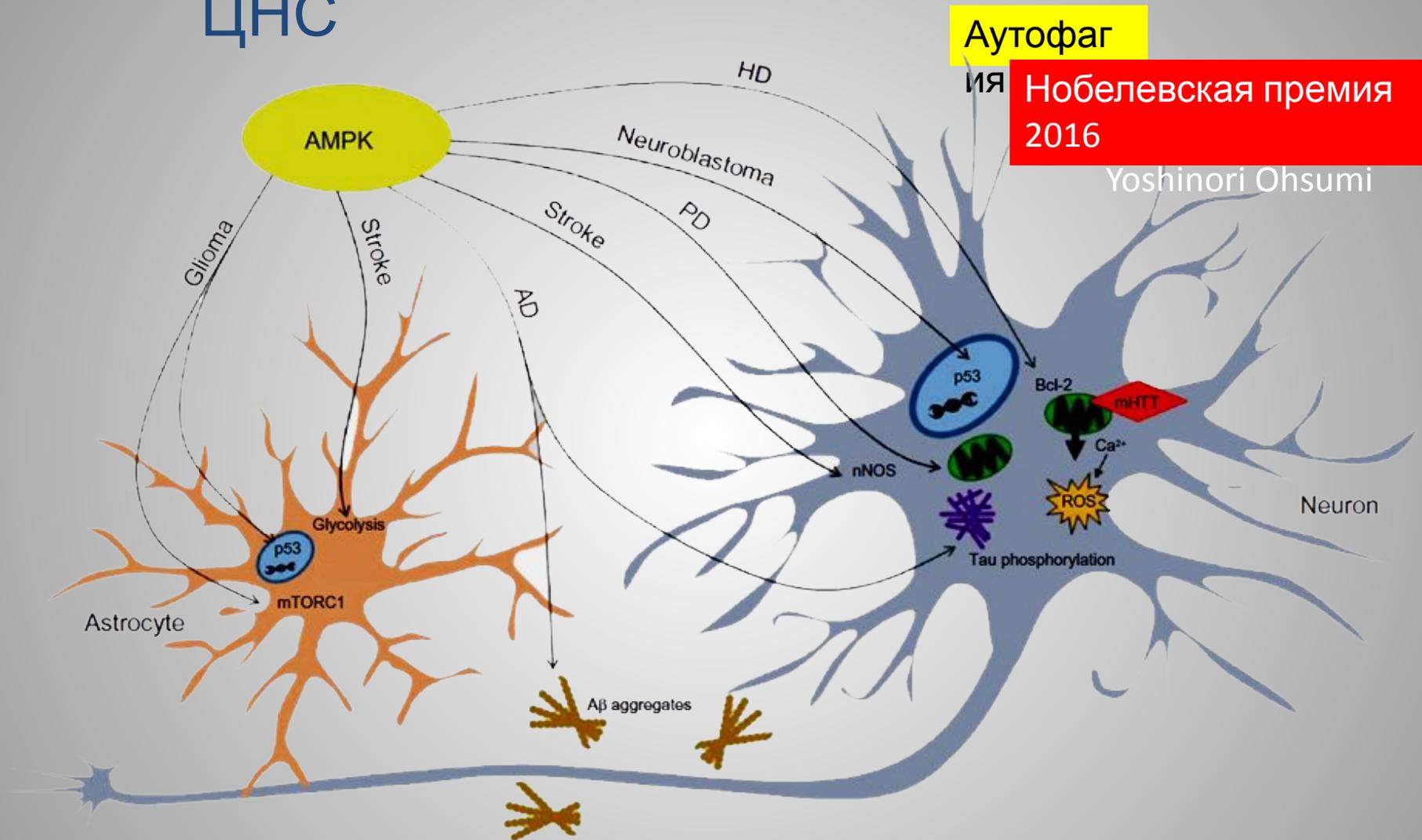


Прямые активаторы имеют несомненное преимущество в силу прозрачности механизма взаимодействия и определенности сайта связывания, что особенно ценно при разработке терапевтически значимых соединений

Однако не стоит забывать возможности синергического эффекта при совместном применении прямых и не прямых активаторов АМФК, поскольку именно вторые за действуют киназы, фосфорилирующие АМФК

Низкомолекулярные активаторы АМФ активируемой протеинкиназы - модуляторы энергетического метаболизма. Новикова Д.С., Гарабаджиу А.В., Мелино Дж., Барлев Н.А., Трибулович В.Г. Изв. Акад. наук. Сер. хим., 2015, 7, 1497- 1517

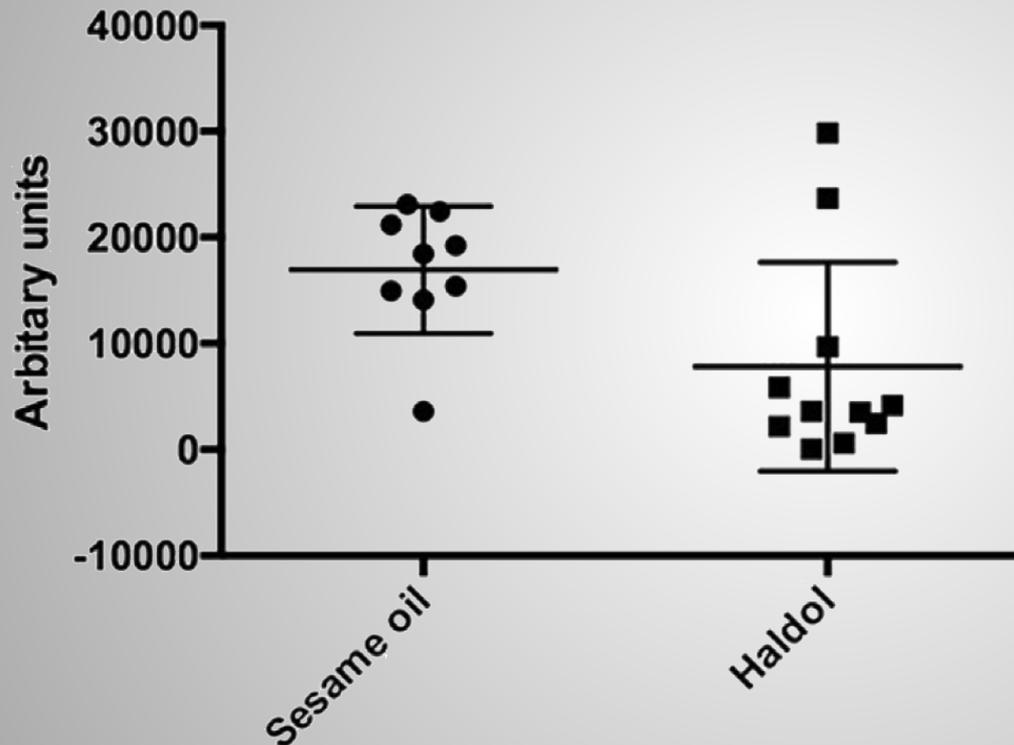
Физиологические функции АМФК в ЦНС



AMPK in the central nervous system: physiological roles and pathological implications. Rosso P., Fioramonti M., et al. **Research and Reports in Biology**. 2016, 7, pp 1-13.

Снижение активности АМФК во фронтальном кортексе при применении галоперидола

Phospho-AMPK

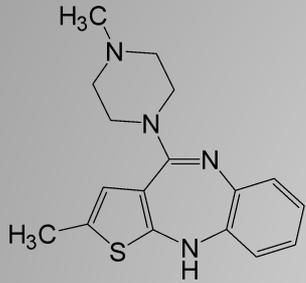


Проблематика метаболических нарушений при применении антипсихотических препаратов

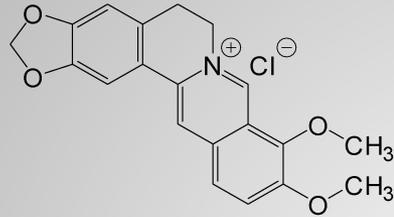
- Оланзапи
- Клозапи
- Галоперидо
- Рisperидо

Haloperidol inactivates AMPK and reduces tau phosphorylation in a tau mouse model of Alzheimer's disease. Koppela J., Jimenez H., et al. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2016, 2(2), pp 121–130.

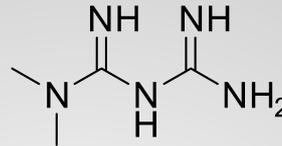
Компенсация метаболических нарушений при приеме нейролептиков



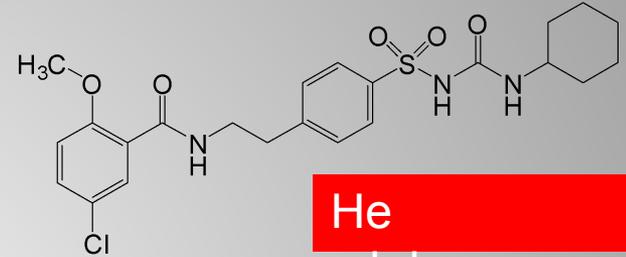
Оланзапи
Н



Бербери
Н



Метформи
Н



Глибенклами
Д

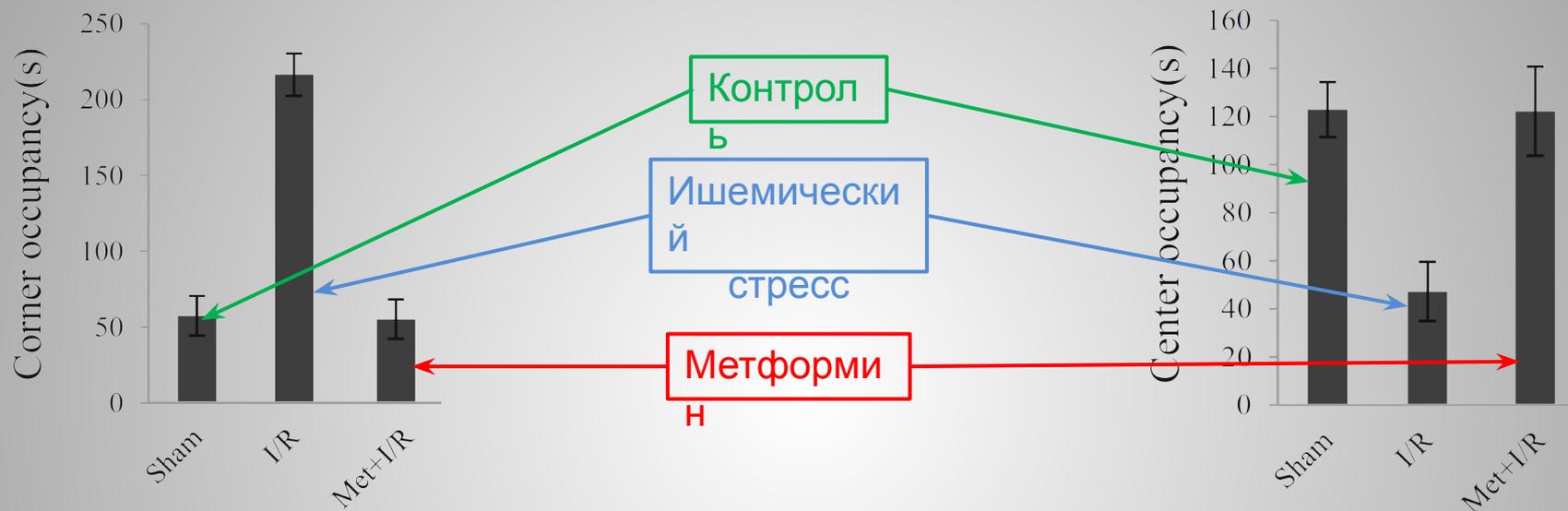
He
эффективен

Group	Weight gain (g)	White fat (g)	Brown fat (g)
Ctrl	14.5 ± 2.41	1.93 ± 0.17	0.52 ± 0.02
Olan	30.65 ± 1.93	3.02 ± 0.19	0.33 ± 0.05
Olan+Ber	24.26 ± 2.29	2.23 ± 0.19	0.46 ± 0.03
Olan+Met	24.88 ± 2.74	2.0 ± 0.14	0.6 ± 0.03

Metformin and Berberine Prevent Olanzapine-Induced Weight Gain in Rats. Hu Y., Young A. J., et al, **PLoS One**. 2014, 9(3), e93310.

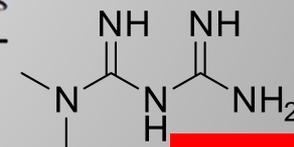
Differential effects of 3 classes of antidiabetic drugs on olanzapine-induced glucose dysregulation and insulin resistance in female rats. Boyda H.N., Procyshyn R.M., et al. **J.Psychiatry Neurosci**. 2012, 37(6), pp 407-415.

Коррекция тревожного поведения при ишемическом стрессе путем активации АМФК



Neurological scores in 3 days after ischemia

Groups	Neurological scores
Sham	20.37±0.51
I/R	6.25±0.46
Metformin	20.29±0.66



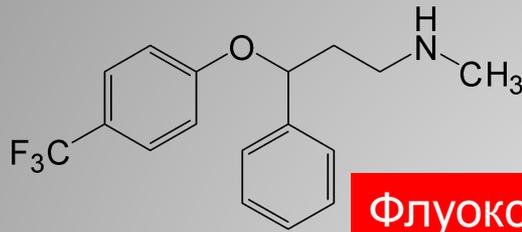
Метформин

H

Neurological score – совокупная оценка двигательных и поведенческих реакций

Metformin improves anxiety-like behaviors through AMPK-dependent regulation of autophagy following transient forebrain ischemia. Sarkaki A., Farbood Y. et al. **Metab. Brain Dis.** 2015, 30(5), pp 1139-1150.

Поведенческие реакции контролируемые АМФК



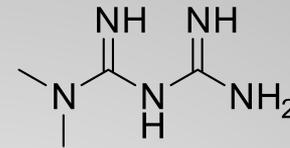
Проза

Флуоксефин

Антидепрессант, селективный ингибитор обратного захвата серотонина.

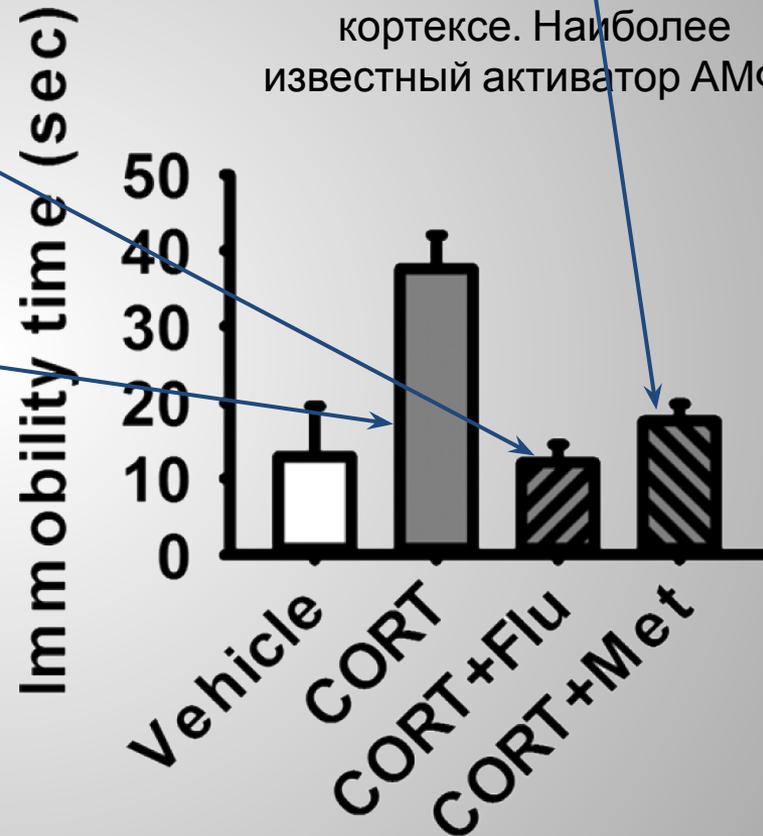
CORT - кортикостерон индуцируемый стресс. Модель тяжелой депрессии.

Аналогом кортикостерона в человеческом организме является кортизол. Излишек кортизола повышает кровяное давление, редуцирует мышечную ткань, уменьшает плотность костей, вызывает гипергликемию и ожирение, снижает иммунитет и подавляет функцию щитовидной железы



Метформин

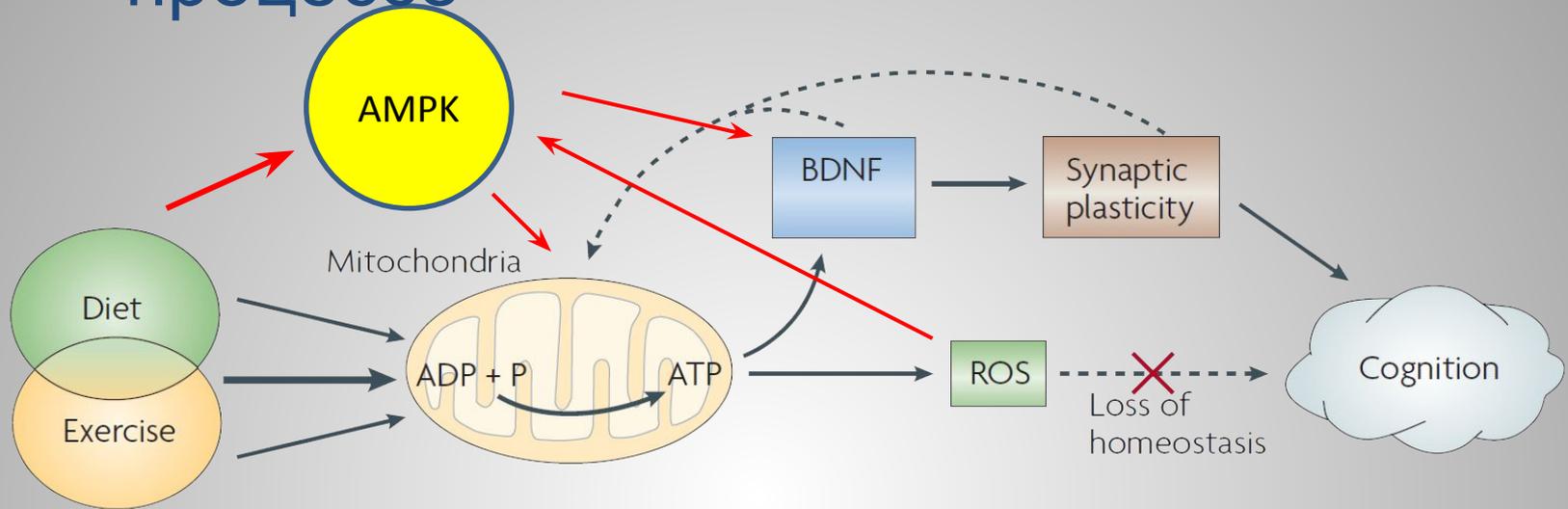
Активирует АМФК в кортексе. Наиболее известный активатор АМФК



Применение активатора АМФК компенсирует стресс-обусловленное поведение

AMPK Mediates Glucocorticoids Stress-Induced Downregulation of the Glucocorticoid Receptor in Cultured Rat Prefrontal Cortical Astrocytes. Yuan S.Y., Liu J., et al. *PLoS One*. 2016, 11(8), e0159513.

Роль АМФК в когнитивном процессе



Curcumin	Amelioration of cognitive decay in mouse model of Alzheimer's disease ; amelioration of cognitive decay in traumatic brain injury in rodents	Turmeric (curry spice)
Flavonoids	Cognitive enhancement in combination with exercise in rodents ; improvement of cognitive function in the elderly	Cocoa, green tea, Ginkgo tree, citrus fruits, wine (higher in red wine), dark chocolate

Brain foods: the effects of nutrients on brain function. Gómez-Pinilla F. **Nat. Rev .Neurosci.** 2008, 9(7), pp 568–578.

Exercise in a bottle: Nestle is developing smart food that can recreate the effect of working out

Daily Mail

Exercise in a Bottle Is Next Food Frontier for Nestle

Bloomberg

АМФК активируется в областях мозга отвечающих за поведенческие реакции

Кора больших полушарий
Cerebri



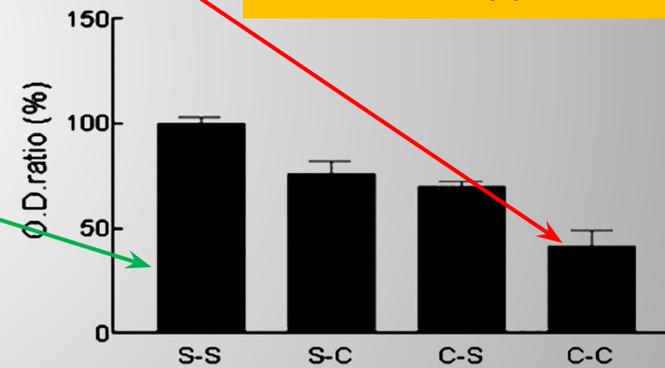
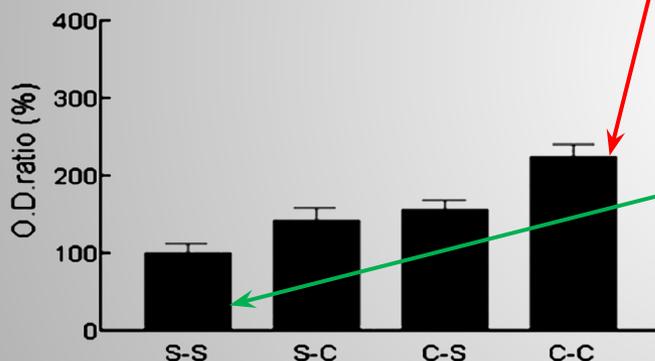
Полосатое тело
Striatum

Осуществление
высшей нервной
деятельности

Формирование
условных рефлексов,
пищедобывающее
поведение

Экспозиция
кокаином

Контроль



p-AMPKα
(Thr 172)



AMPKα



p-AMPKα
(Thr 172)



AMPKα

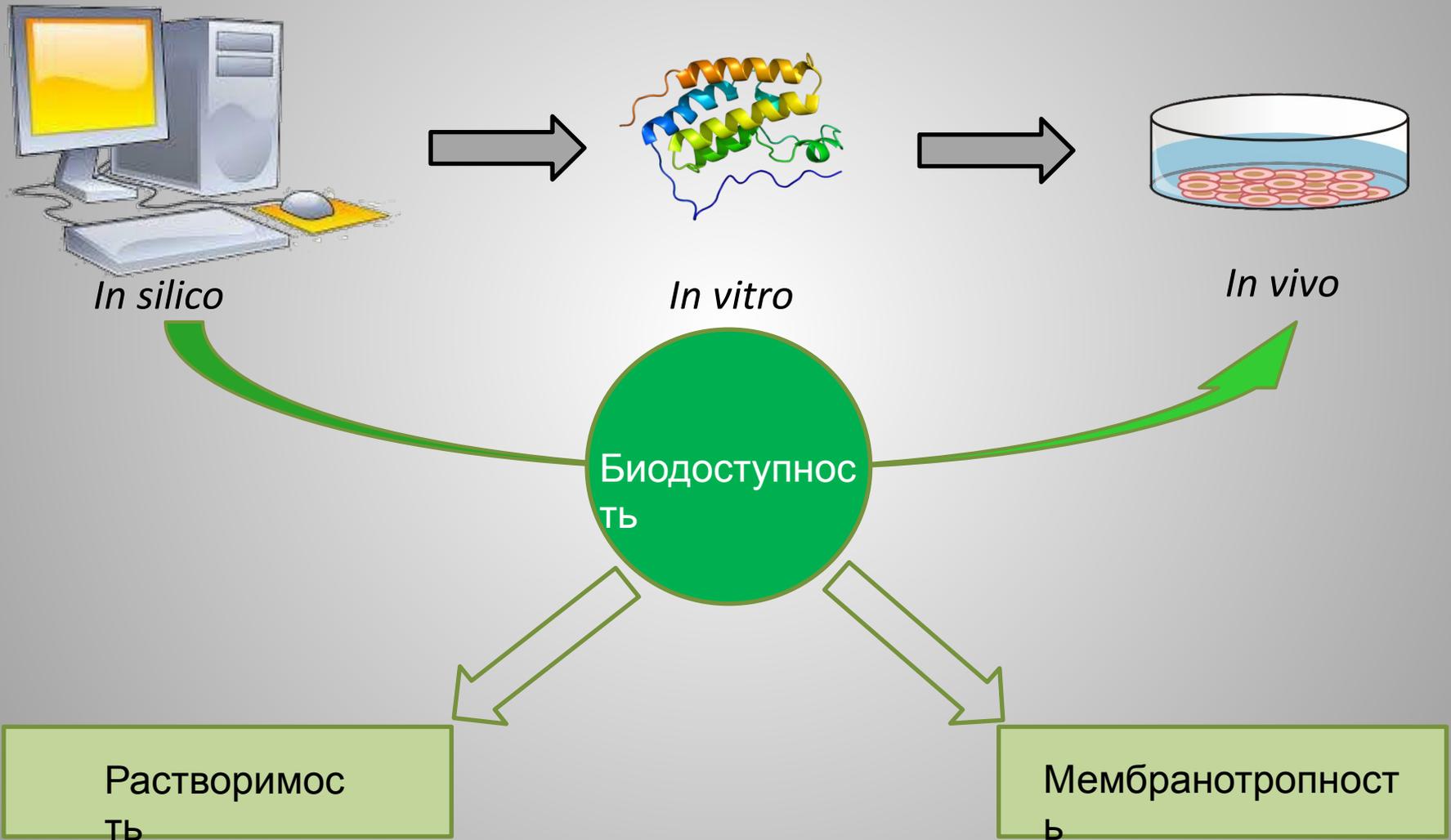


Степень фосфорилирования АМФК в кортексе выше в

5 раз

Region-specific activation of the AMPK system by cocaine: The role of D1 and D2 receptors. Xu S., Kang U.G. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* . 2016, 146–147, pp 28–34.

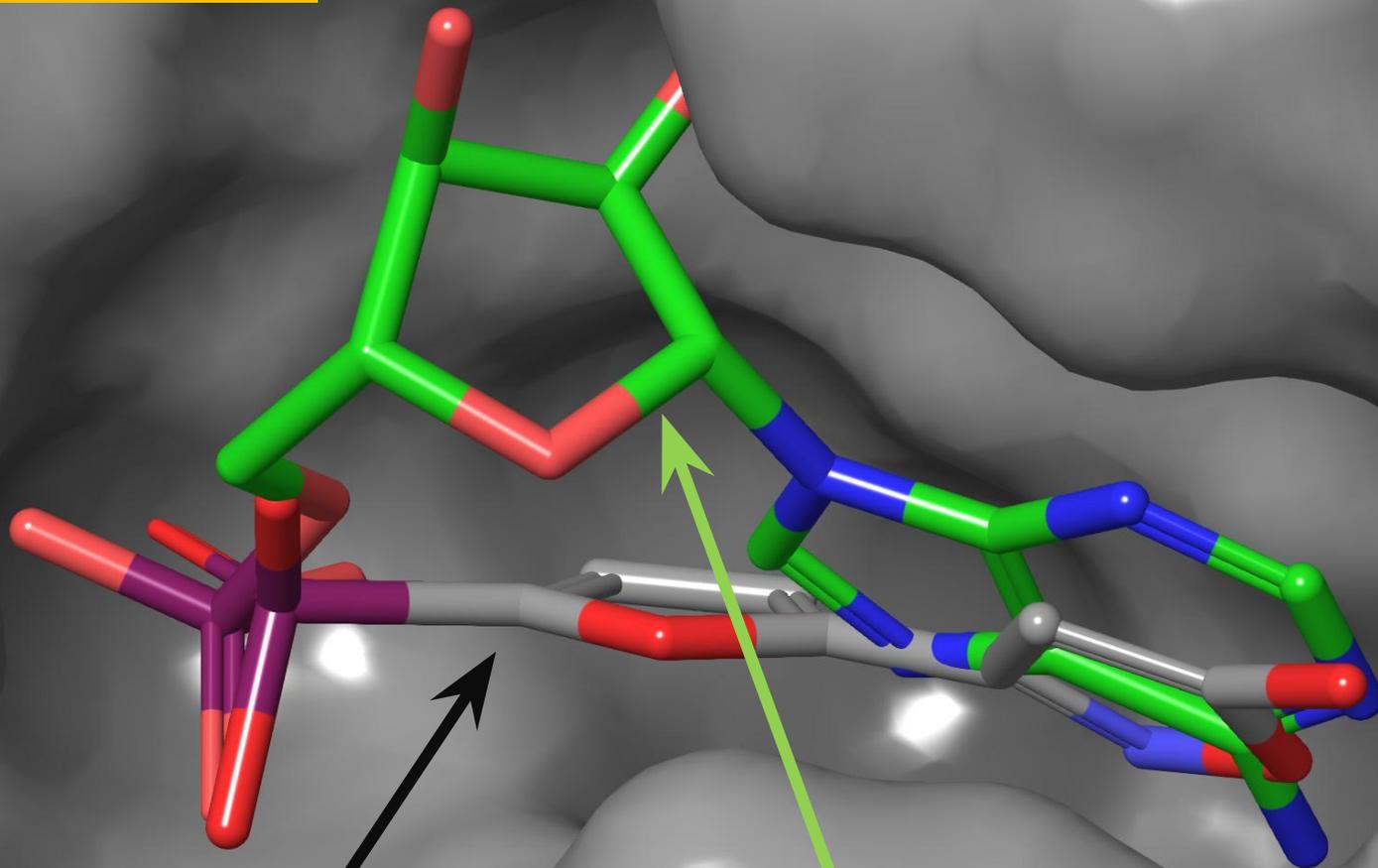
Поиск активаторов АМФК



Укладка соединений в АМФ связывающем сайте АМФК

Моделированы

е



МФ-
1

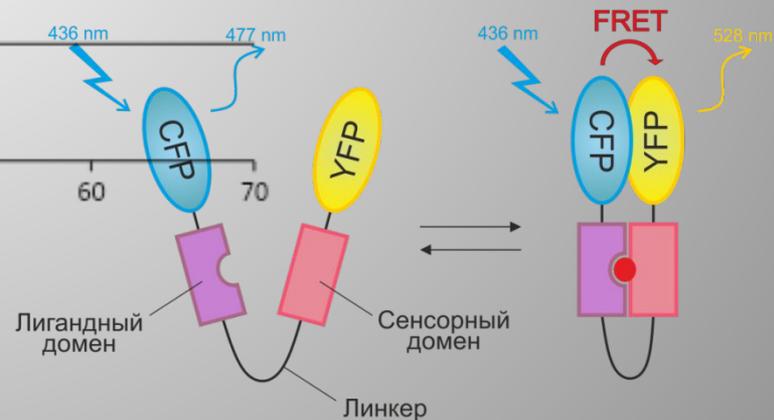
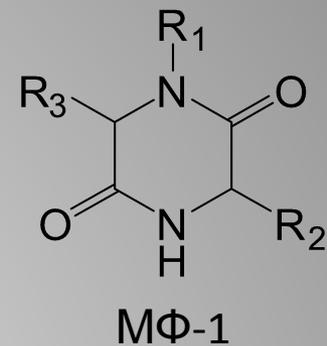
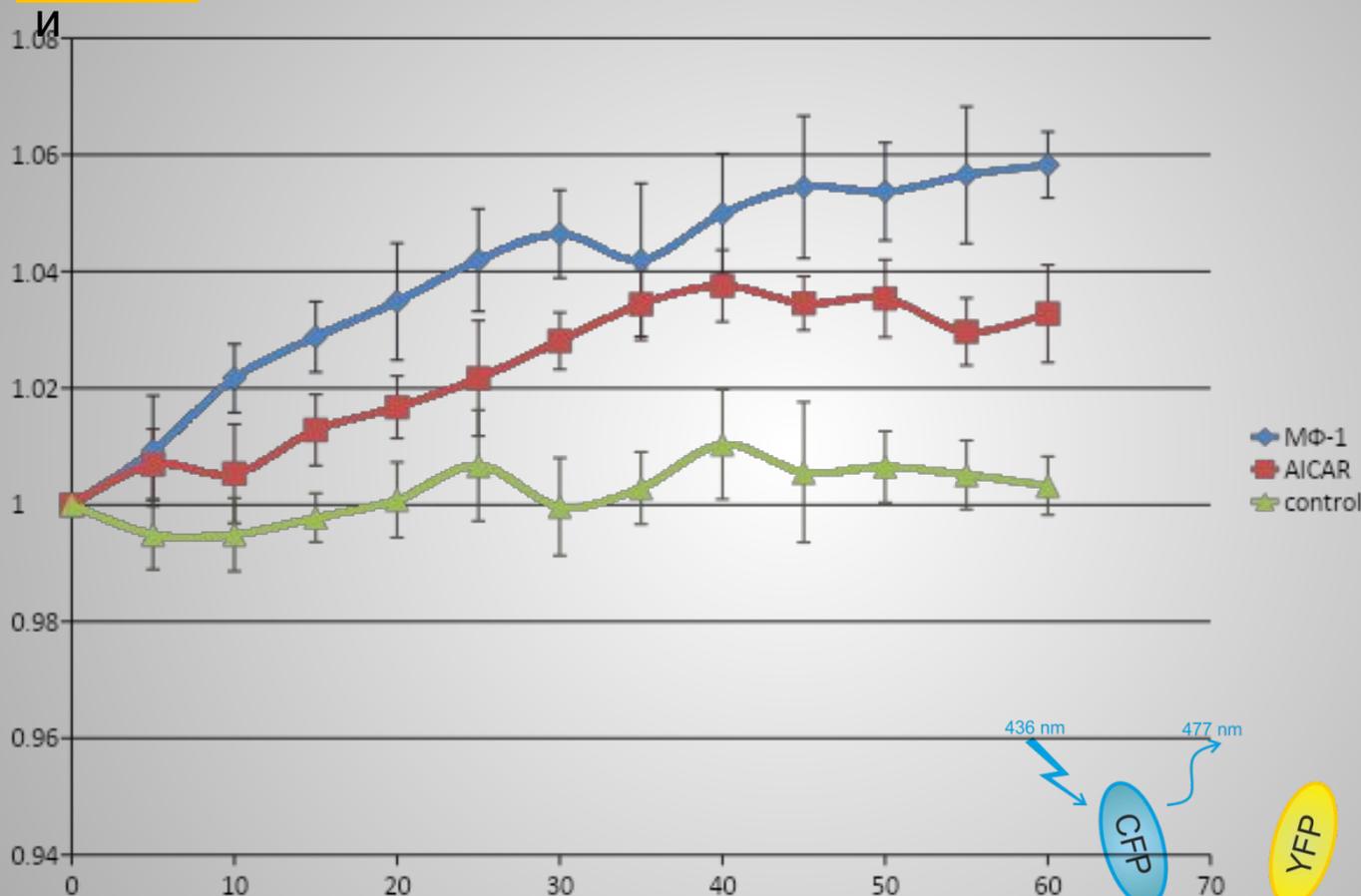
Goldscore 60,4

АМ
Ф

Goldscore 64,3

Исследование активности на клеточной тест-системе.

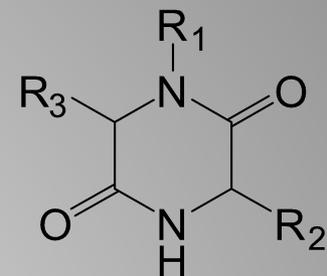
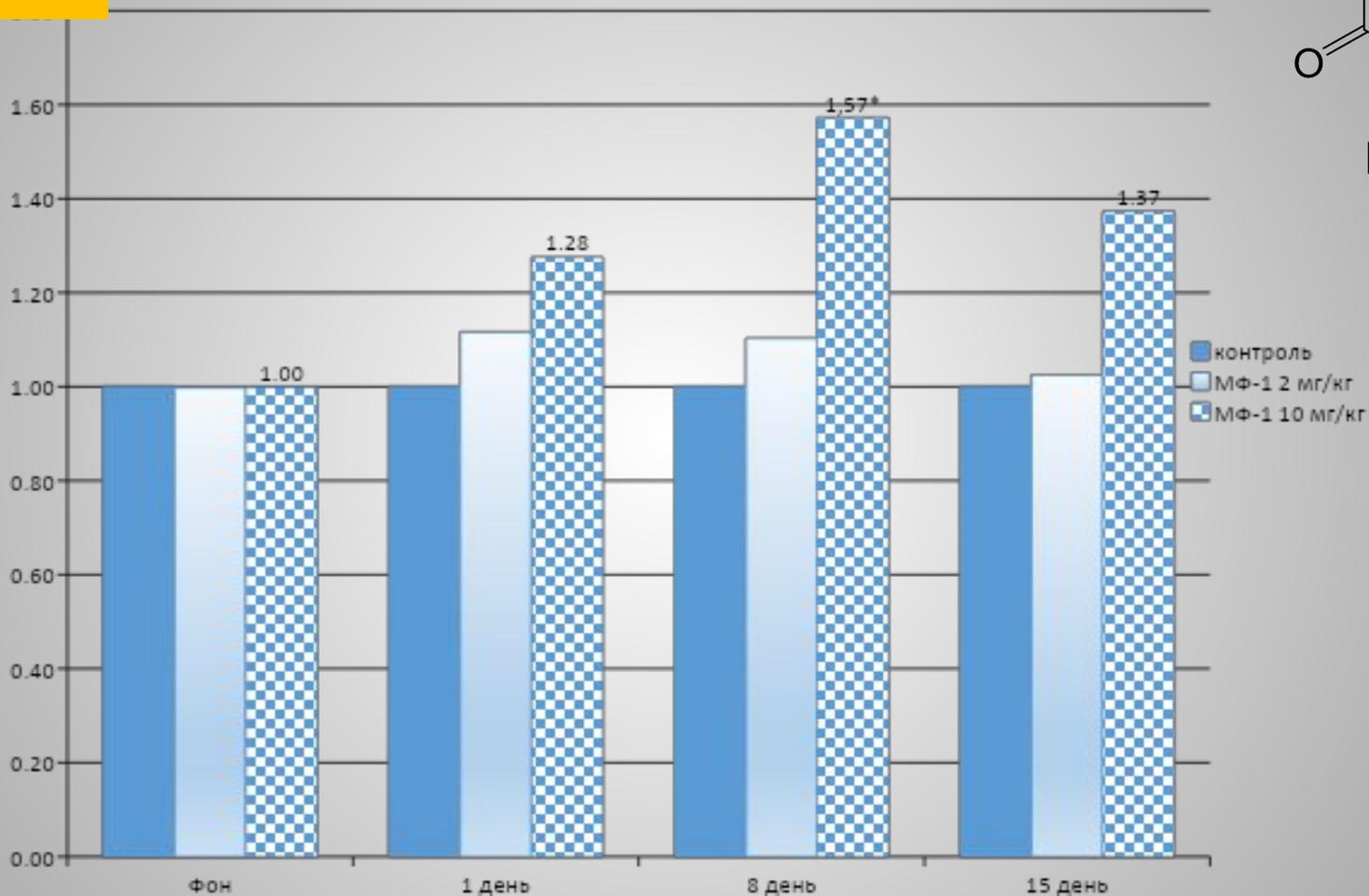
Клетк



Стимуляция двигательной активности

Мыш

И



MF-1

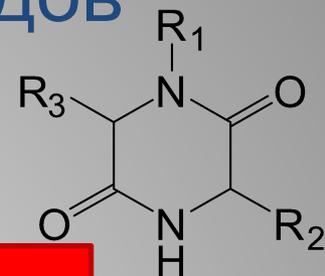
Снижение холестерина и триглицеридов

Добровольцы

15 дневный прием препарата

Показатель	Дозировка	До	После
Холестерин общий, ммоль/л	5 мг	4,22±0,05	3,83±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
	Контроль	1,26±0,05	1,24±0,04

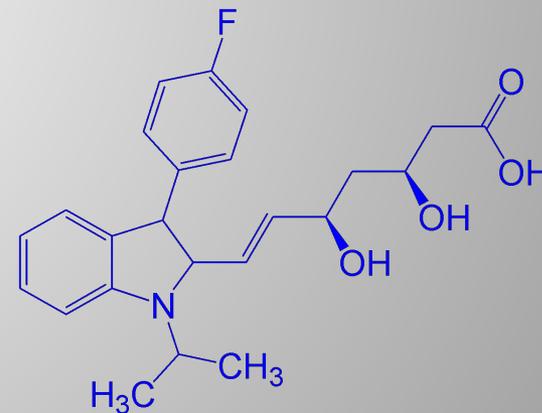
Триглицериды, ммоль/л	5 мг	0,95±0,05	0,84±0,03
	Контроль	0,91±0,05	0,87±0,05



МФ-1

9%

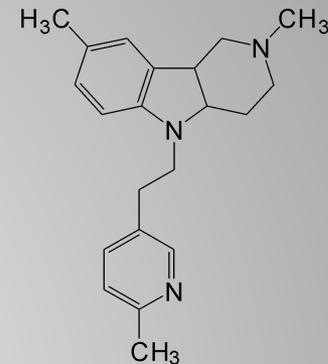
Флувастатин
80 мг



Препарат группы статинов

Новые старые знакомые

In vivo models	Dimebon treatment
γ-Synucleinopathy	Increase of average lifespan of transgenic animals
	Delay in the development of locomotor and coordination pathology
	Reduced amyloid deposits in the spinal cord gray matter
Tauopathy	Reduced accumulation of hyperphosphorylated tau in the spinal cord
	Slower decline of motor function compared to non-treated animals
	Autophagic machinery was not responsible for clearance of the intracellular tau deposits
FUSopathy	Mean lifespan increased compared to non-treated animals
	Experiment is ongoing
In vitro experiments	Dimebon treatment
Cell models of TDP-43 proteinopathy	Concentration-dependent reduction of TDP-43-positive aggregates
Fractionated spinal cord tissues of γ-synuclein mice	Decreased levels of aggregated γ-synuclein in the detergent-insoluble fraction
	Redistribution of monomeric ubiquitin to the buffer-soluble fraction
Mitochondria assays	Decreases calcium-induced depolarization and swelling
	Increases calcium retention capacity in the presence of β-amyloid
	Inhibition of swelling and lipid peroxidation of rat liver and brain mitochondria induced by TBHP



Димебо
н

Novel Sites of Neuroprotective Action of Dimebon (Latrepidine). Ustyugov A., Shevtsova E., Bachurin S. **Mol. Neurobiol.** 2015, 52(2), pp 970-9788.

АКТИВАЦИЯ
АМФК ?

Latrepidine is a potent activator of AMP-activated protein kinase and reduces neuronal excitability. Weisova P., Alvarez S.P., et al. **Transl. Psychiatry.** 2013, 3, e317.

Возможный спектр заболеваний ассоциированных с ЦНС

Контроль
энергетического
метаболизма

Активация АМФК

Болезнь
Альцгеймера

Болезнь
Паркинсона

Тревожные
состояния

Тяжелая депрессия

Когнитивная
дисфункция

Лаборатория молекулярной фармакологии



info@mol-pharm.com



СПАСИБО
ЗА
ВНИМАНИЕ!

www.mol-pharm.com