

FAMY-AMYL-FAMY Norrbotten

2017

Forskarrapport

Projektledare:

Professor Elisabeth Sauer-Eriksson

Institutionen för Kemi

Umeå universitet

90187 Umeå

Tel: 090-7865923

Hemsida: <http://www.biostruct.umu.se>

E-mail: elisabeth.sauer-eriksson@umu.se

Stabilisering av transthyretin strukturen för att förhindra bildandet av amyloidfibrer

Den tetrameriska strukturen av humant plasma transthyretin (hTTR) måste först brytas ner till enskilda monomerer innan amyloidfibrer kan bildas. Vi letar efter små molekyler som binder till hormoninbindningsfickan i hTTR och på så sätt förhindra att tetramerern bryts ner och att monomerer bildas. Detta är en beprövad metod för att förhindra amyloidbildning och har lett fram till läkemedlet Vyndaqel (baserat på den aktiva substansen Tafamidis). Hur bra läkemedlet fungerar är ännu inte klart och Vyndaqel är inte godkänt i USA.

Vi har sedan flera år drivit ett samarbetsprojekt med mål att identifiera nya molekyler som binder och förhindrar hTTRs nedbrytning till monomerer. Samarbetet inkluderar Drs. Anders Öhman (farmakologi och klinisk neurovetenskap) och Anders Olofsson (medicinsk biokemi och biofysik). I det första steget testades över 1500 fragment från Maybridge biblioteket och ett 90-tal hTTR-bindande molekyelfragment identifierades i det arbetet. I ytterligare en studie av redan godkända läkemedel i det så kallade Prestwick biblioteket har ytterligare ett 10-tal läkemedel identifierats, inklusive luteolin, som bindare till hTTR. Den biologiska karakteriseringen av luteolins effekter i hTTR gjordes av Anders Olofsson och vår gemensamma doktorand Lina Nilsson. Tyvärr så har det visat sig att luteolin metaboliseras snabbt till verkningslösa analoger i plasma. Under 2015-16 har vi därför arbetat med att ta fram stabila luteolinanaloger och vi har även löst strukturerna av två av dem: 7-CI-Lut och 7-MeO-Lut. Dessa analoger binder starkt till hTTR men är inte lika selektiva för hTTR i plasma vilket gör dem inte lämpliga som läkemedel mot hTTR. Under 2016-17 har vi överraskande nog även identifierat ett antal flamskyddsmedel som starka bindare till hTTR. Ett av dessa, Tetrabromobisphenol A (TBBPA), binder väldigt starkt till hTTR även i plasma. Detta arbete utfördes i samarbete med Prof. Patrik Andersson (kemiska institutionen). TBBPA är inte speciellt toxiskt för människa – kanske är det därför möjligt att vidareutveckla det ämnet till mer lämpliga analoger. Vi har vidare bestämt strukturen på hTTR i komplex diklofenak och diflunisal då vi misstänkte att strukturerna som redan fanns tillgängliga i proteindatabanken är felaktiga. Det visar sig mycket riktigt att diklofenak-hTTR strukturen var felbestämd och att diklofenakmolekylen skall roteras med 180 grader i hTTR bindningsfickan. Vår hTTR-diflunisalstruktur stämde dock i stort sett överens med den deponerade strukturen.

Vi har avslutat 25 olika strukturer på hTTR i komplex med ligander från Maybridge och Prestwick biblioteken. Vi har även gjort bindingsstudier på liganderna både med ITC (isothermal titration calorimetry) och i ett plasma test framtagen av Anders Olofsson. Detta arbete avser vi att sammanställa och publicera. Analys av strukturerna pågår, men det går tyvärr långsamt då det är många strukturer att gå igenom. Dessutom finns det cirka 200 andra strukturer att ta del av i protein data banken. Vi har dock fått fram ny kunskap. Vi ser att om vi kopplar bindningens styrka, mätt med ITC, till de interaktioner liganderna gör med hTTR så ser vi att vätebindningar mellan ligand och Ser117 är viktiga. Detta är dock känt sedan länge. Vad vi också har noterat är dock att sidokedjan från Lys15 kan med fördel bilda en saltbrygga med andra delar av liganden men detta sker endast i ett fåtal av strukturerna som vi undersökt. Tafamidis till exempel binder med vätebindningar till Ser117 men har ingen kontakt med Lys15. Vi kommer under 2018-2019 att försöka koppla ihop delar av befintliga ligander för att få en ny molekyl som interagerar med både Ser117 och Lys15. För analys av dessa kommer vi att använda oss av ITC och röntgenkristallografi som ger *in vitro* kunskap, och plasma testet som ger *in vivo* kunskap. Vi kommer även att göra kemiska beräkningar, så kallade molekyllär

dynamik (MD) simuleringar, på interaktionen mellan ligand och hTTR. Jag har sedan januari 2018 två nya post-doktorer i min grupp: Cecilia Lindgren och Irina Iakovleva som båda kommer att arbeta på hTTR projektet. Cecilia disputerade på MD simuleringar i Anna Linussons grupp och Irina disputerade i Anders Olofssons grupp och har lång erfarenhet med arbetet på hTTR. Sedan förra året har jag också en doktorand, Melanie Oelker, som är tränad kristallograf och har dessutom ett stort intresse i beräkningskemi. Jag har stora förhoppningar att projektet ska kunna avslutas under året.

Publikationer under 2016:

- 1) *Modifications of the 7-hydroxyl Group of the Transthyretin Ligand Luteolin Provide Mechanistic Insights into its Binding Properties and High Plasma Specificity* Nilsson, L., Larsson, A., Begum, A., Iakovleva, I., Carlsson, M., Brännström, K., Sauer-Eriksson, A.E. and Olofsson, A. *PLoS One*, *PLoS One*. (2016) 11(4):e0153112.
- 2) *Tetrabromobisphenol A is an efficient stabilizer of the transthyretin tetramer.* Iakovleva, I., Begum, A., Brännström, K., Wijsekera, A., Zhang, J., Andersson, P., Sauer-Eriksson A.E. and Olofsson, A., *PLoS One*. (2016) 11(4):e0153529.
- 3) *Crystal Structures of Human Transthyretin Complexes with Environmental Pollutants Aids Identification of Potential Thyroid Disrupting Chemicals* Zhang, J., Begum, A., Brännström, K., Andersson, C.D., Iakovleva, I., Olofsson, A., Sauer-Eriksson, A.E. Andersson, P.L. *Environ Sci Technol*. (2016) 50(21):11984-11993.

