

УДК: 615.1/3.014.03

Лекарственные средства на основе пептидов: применение, технологии получения.

Бабина С.А. Желтышева А.Ю., Шуклин Г.О., Шуклина А.А., Япаров А.Э.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26), e-mail:shuklinglebolegovich@gmail.com

Peptide-based drugs: application, production technologies.

Babina, S. A., Zheltysheva A. Yu, Shuklin, G. O., Shuklina A. A., Japarov A. E.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Perm, Russia (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26), e-mail: shuklinglebolegovich@gmail.com

Ключевые слова: Пептиды, пептидная терапия, получение пептидных препаратов.

Резюме

Пептиды являются универсальными биорегуляторами, контролирующими большинство биохимических процессов в любом живом организме. Получение лекарственных препаратов на основе пептидов открыло новую эру в фармакологии, и медицине, а именно эру возможностей регулирования любого биохимического процесса в организме человека, путем синтеза аналогов естественных биопептидов и их введения в организм с лечебной или профилактической целью. Лекарственные препараты на основе пептидов обладают высоко избирательным и эффективным действием, и в то же время они относительно безопасными и характеризуются хорошей переносимостью, что обуславливает повышенный интерес к их изучению и разработкам. Рынок пептидных препаратов сегодня переживает настоящий бум, связанный с появлением многочисленных пептидных лекарственных средств. В настоящее время приблизительно 140 пептидных терапевтических средств оцениваются в клинических испытаниях. Учитывая, что самые простые механизмы воздействия пептидов уже используются, необходимо исследовать новые пути воздействия пептидов и возможности их применения. Примерами таких подходов являются многофункциональные и проникающие в клетку пептиды, а также конъюгаты пептидных лекарственных средств. Индивидуализированный подход к лечению больных, который может быть обеспечен с помощью использования пептидных лекарственных средств в будущем может стать нормой для лечения каждого больного.

Summary

Peptides are universal bioregulators that control most biochemical processes in any living organism. Preparation of drugs based on peptides has opened a new era in pharmacology and

medicine, namely the era of the possibility of regulating any biochemical process in the human body, through the synthesis of analogues of natural biopeptides and their introduction into the body for therapeutic or prophylactic purposes. Peptide-based drugs have a highly selective and effective action, and at the same time they are relatively safe and are characterized by good tolerability, which leads to increased interest in their study and development. The peptide drugs market is currently experiencing a boom associated with the emergence of numerous peptide drugs. Currently, approximately 140 peptide therapeutics are being evaluated in clinical trials. Given that the simplest mechanisms of action of peptides are already used, it is necessary to investigate new ways of action of peptides and the possibility of their application. Examples of such approaches are multifunctional and cell-penetrating peptides, as well as peptide drug conjugates. An individualized approach to the treatment of patients that can be achieved through the use of peptide drugs in the future may become the norm for the treatment of each patient.

Цель исследования – изучение преимуществ и недостатков пептидных препаратов, их применения, путей введения, традиционных и новых возможностей в разработке пептидных препаратов.

Материалы и методы: Повествовательный обзор, основанный на поисках литературы в текстовой базе данных медицинских и биологических публикаций PubMed, а также в российской научной электронной библиотеке eLIBRARY до июня 2019 года без ограничений по срокам. Поиск включал такие термины, как «пептиды», «пептидная терапия», «пептидные технологии».

Введение

На сегодняшний день известно более 7000 встречающихся в природе пептидов, многие из которых выполняют важные функции в организме, включая действия в качестве гормонов, нейротрансмиттеров, факторов роста, лигандов ионных каналов или противомикробных средств [1]. Пептиды являются селективными сигнальными молекулами, которые связываются со специфическими поверхностными рецепторами клеток, такими как G-белок-связанные рецепторы (GPCR) или ионными каналами, запуская тем самым внутриклеточные реакции. Учитывая их привлекательный фармакологический профиль и другие свойства, такие как безопасность, хорошая переносимость и эффективность, пептиды представляют собой оптимальную основу для разработки новых терапевтических средств. Кроме того, получение пептидов связано с более низкой сложностью производства по сравнению с биофармацевтическими препаратами на основе белков и, следовательно, связано с более низкими расходами. Однако встречающиеся в природе пептиды часто не подходят для использования в качестве терапевтических средств, так как они имеют ряд недостатков, включая химическую и физическую нестабильность, а также короткий период полураспада в

циркулирующей плазме крови. Некоторые из этих недостатков могут быть успешно устранены с помощью методов традиционной конструкции и ряда других разрабатываемых в настоящее время технологий. К таким технологиям относятся многофункциональные и проникающие в клетку пептиды, а также конъюгаты пептидных лекарственных [2,3].

Основная часть

Рынок пептидных препаратов

За последнее десятилетие пептиды нашли широкое применение в медицине и биотехнологии. В настоящее время существует более 60 утвержденных управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) пептидов на рынке, и эта цифра, как ожидается, значительно вырастет, так как приблизительно 140 пептидных препаратов в настоящее время уже проходят клинические испытания, а доклинические - более 500 [4].

Применение пептидов

Основными заболеваниями, при которых в настоящее время используются и активно изучаются пептидные препараты, являются метаболические и онкологические заболевания. Заболевания из первой группы включают в себя ожирение и сахарный диабет 2 типа, характеризующиеся в последнее время эпидемическим ростом, заболевания второй группы характеризуются ростом смертности и необходимости замены химиотерапии, а также поддерживающей терапии. Примером пептидных препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа (СД2) является новый класс пептидов - агонистов глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) [5].

Помимо перечисленных заболеваний в последнее время разрабатываются пептидные препараты для лечения редких заболеваний, например, тедуглутид - агонист рецептора GLP-2, используемый для лечения синдрома короткой кишки, а также пасиреотид - агонист соматостатиновых рецепторов, используемый для лечения синдрома Кушинга. Кроме того, рассматривается возможность применения пептидов при заболеваниях инфекционного и воспалительного характера, при этом несколько пептидов уже проходит клинические испытания [6].

Помимо применения пептидов в качестве лекарственных средств, возможно их использование в качестве биомаркеров с диагностической целью. Наконец, пептиды также нашли применение в качестве вакцин [7].

Пути введения пептидов в организм

В настоящее время большинство пептидных лекарств вводят парентеральным путем, тем не менее, разрабатываются альтернативные формы введения, включая пероральный, интраназальный, и трансдермальный пути, в соответствии с развитием технологий. Одним из примеров альтернативных путей введения пептидов является препарат мидазол, с

трансбукальным способом введения. В настоящее время разрабатываются системы трансбуккальной доставки, в которых используются гликонаночастицы золота [8]. Другие разрабатываемые системы могут обеспечить пероральную доставку пептидов, непосредственно экспрессируемых в желудочно-кишечном тракте.

Использование альтернативных форм введения может также обеспечить более широкое использование пептидной терапии при других состояниях, таких как воспаление, где местное введение пептидов может стать эффективным методом лечения [9].

Традиционные технологии конструирования пептидов

С целью избавления от таких недостатков применения природных пептидов как короткий период полувыведения и плохие физико-химические свойства, с которыми связана агрегация и плохая растворимость пептидов, используют ряд технологий

Вначале проводится определение аминокислотной структуры пептида и выявление в ней константных участков и участков возможной замены без изменения свойств. Данный анализ возможно осуществить, например, с помощью аланиновых замен отдельных аминокислот с последующим изучением полученного пептида. Важным в этом процессе, особенно когда необходимо получение жидких лекарственных форм, является определение химически лабильных аминокислот, подверженных таким процессам как изомеризация, гликозилирование или окисление, что является нежелательным [10].

В дальнейшем возможно ограничение ферментативного расщепления пептида путем идентификации возможных сайтов молекулярного расщепления с последующей заменой соответствующих аминокислот. Защита от ферментативного расщепления также может быть достигнута путем усиления вторичной структуры пептидов. Этот подход включает в себя вставку зонда, определяющего новую структуру, вставку лактамных мостиков, сшивание или клипирование пептидных последовательностей, а также циклизацию пептидов. Полиэтиленгликольилирование было использовано для ограничения глобулярной фильтрации и тем самым увеличения периода полувыведения пептидов из плазмы крови. К другим способам стабилизации пептидов относится связывание их с циркулирующим белком альбумином, в качестве носителя, для продления периода полураспада, что приводит к появлению пептидных препаратов пролонгированного действия, которые можно вводить до одного раза в неделю [11].

С целью улучшения физико-химических свойств пептидов, в частности уменьшения агрегации, производят разрушение гидрофобных участков в структуре пептида, что может быть достигнуто с помощью замены или N-метилирования определенных аминокислот. Для улучшения растворимости определенного пептидного препарата, изменяется распределение его зарядов, с помощью вставок или замены аминокислот что приводит к изменению

изоэлектрической точки пептида и его стабилизации при рН желаемой рецептуры конечного продукта. Физико-химические свойства пептидов также могут быть улучшены путем введения стабилизирующих структур, таких как α -спираль или лактамные мостики [12].

Считается что пептидные препараты второго поколения, оптимизированные для терапевтического использования с помощью перечисленных технологий, оказались более удобными для применения. Дальнейшее развитие пептидной терапии связывают с быстрым появлением и дальнейшей миниатюризацией специальных устройств, насосов и систем обратной связи с сенсорами, и автоматизированным управлением, что позволило бы осуществить умную доставку пептидов [13].

Новые пептидные технологии

Существует огромное количество природных пептидов, некоторые из которых могут являться хорошей основой для создания новых пептидных препаратов. Большой интерес на сегодняшний день представляют исследования обмена веществ в кишечнике, так как он богат разнообразными микроорганизмами, изучение которых может привести к идентификации новых пептидов из фрагментов микробных белков, продуктов распада или сигнальных молекул. Продолжающиеся исследования микроорганизмов помогут значительно обогатить спектр имеющихся пептидных препаратов и тем самым повысить возможности для пептидной терапии в будущем [14].

Многофункциональные пептиды

Среди новых технологий в этой области - многофункциональные пептиды, имеющие более одного фармакологического действия, например, двойной или даже тройной агонизм. Применение данных препаратов дает возможность осуществления более индивидуализированного подхода к лечению пациентов. Современные многофункциональные пептиды, находятся в стадии разработки, включая антимикробные пептидные препараты, которые имеют дополнительные биологические функции, такие как иммуностимуляция или заживление ран. Двойные агонисты GLP 1-GCG обеспечивают большую потерю веса при избыточной массе тела пациентов с сахарным диабетом 2 типа по сравнению с чистым агонистом GLP-1, благодаря увеличению энергозатрат на основе GCG. Эти примеры иллюстрируют, как добавление дополнительного действия к установленному, может обеспечить более индивидуализированный лечебным подходам с повышенной эффективностью.

Способы получения многофункциональных пептидов могут включать гибридизацию двух пептидов, связываемых вместе как модули либо напрямую, либо через линкер, либо с помощью образования химер, где вторая фармакологическая активность «спроектирована» для уже существующего пептидного остова [15].

Одной из проблем разработки многофункциональных пептидов является возможное несоответствие эффектов нового препарата, полученных *in vitro* и его воздействия *in vivo*, при этом в организме могут включиться новые пути действия препарата, не связанные с запланированным эффектом. Кроме того, перевод результатов исследований препаратов, полученных от животных моделей на человека, также является проблемой. В целом сложность предсказания эффектов многофункциональных пептидов в организме резко возрастает, что требует дальнейшего развития аналитического и экспериментального процесса в фармакологии.

Проникающие в клетку пептиды

Способы введения в организм лекарственных средств непрерывно совершенствуются. Возникают новые, более тонкие иглы и приборы, осуществляющие парентеральное введение лекарственных средств, разрабатываются пероральные системы со сложным механизмом высвобождения лекарственных средств, все это направлено на повышение эффективности терапии в результате повышения биодоступности лекарств в области нахождения их мишени.

Одной из важных проблем применения лекарственных средств на основе пептидов является плохая способность нативных пептидов переходить через клеточную мембрану, для воздействия на внутриклеточную мишень, что ранее ограничивало их терапевтическое применение.

В последние годы были изобретены «проникающие в клетку пептиды», использование которых повышает вероятность связывания пептидов с их внутриклеточными мишенями, так как при применении обычных лекарственных средств только часть пептидного препарата достигает цели [16].

Конъюгирование пептидов

К новым пептидным технологиям также можно отнести конъюгирование пептидов, например, с небольшими молекулами, олигорибонуклеотидами или антителами предоставляющее возможность для разработки новых пептидных терапевтических средств с улучшенной эффективностью и безопасностью. Например, в онкологии этот подход вызвал большой интерес, в результате чего более 20 пептидных конъюгатов проходят клинические испытания. Уже был продемонстрирован довольно удачный способ сопряжения пептидного агониста рецептора нейротензина 1 с радиоактивным лигандом для лечения рака поджелудочной железы, при этом первый компонент осуществляет прицельную доставку второго к органу мишени, создавая высокую местную концентрацию химиопрепарата в опухолевом очаге. Данный метод может помочь устранить главную проблему применения химиотерапии, уменьшая системные побочные эффекты и повышая эффективность

применения препарата. В конъюгатах пептид-антитело часть антитела может играть роль целевого объекта, тогда как пептид является эффекторной частью [17].

Заключение

Дальнейшая разработка пептидных препаратов будет основываться на встречающихся в природе пептидах с применением традиционных пептидных технологий для улучшения их слабых мест, таких как их химические и физические свойства, а также короткий период полураспада.

Также ожидается, что новые пептидные технологии, в том числе многофункциональные пептиды, пептиды, проникающие в клетки, и конъюгаты пептидных лекарственных средств, помогут расширить сферу применения пептидов в качестве терапевтических средств.

Пептиды обладают огромным потенциалом в качестве будущих препаратов для успешного решения многих медицинских проблем.

Список используемой литературы

1. Padhi, A. et al. (2014) Antimicrobial peptides and proteins in mycobacterial therapy: Current status and future prospects. *Tuberculosis* 94, 363–73.
2. Buchwald, H. et al. (2014) Effects on GLP-1, PYY, and leptin by direct stimulation of terminal ileum and cecum in humans: implications for ileal transposition. *Surg. Obes. Relat. Dis.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.soard.2014.01.032>.
3. Дедов, И.И. Новые возможности терапии сахарного диабета 2 типа /И. И. Дедов//.- Сахарный диабет.- 2009, спецвып-пуск.П С.1-3.
4. Giordano, C. et al. (2014) Neuroactive peptides as putative mediators of antiepileptic ketogenic diets. *Front. Neurol.* 5, 63.
5. Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х. Применение пептидных препаратов эпифиза (шишковидной железы) в онкологии: двадцатилетний опыт исследования эпиталамина // *Вопр. онкол.*—1993.—Т. 39.—С. 131–142.
6. Kaspar, A.A. and Reichert, J.M. (2013) Future directions for peptide therapeutics development. *Drug Discov. Today* 18, 807–817.
7. Steidler, L. et al. (2009) Actobiotics as a novel method for cytokine delivery. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1182, 135–145.
8. Robinson, S.D. et al. (2014) Diversity of conotoxin gene superfamilies in the venomous snail, *Conus victoriae*. *PLoS ONE* 9, e87648.
9. Transparency Market Research (2012) Peptide Therapeutics Market: Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast 2012–2018, Transparency Market Research.
10. Schulte, I. et al. (2005) Peptides in body fluids and tissues as markers of disease. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 5, 145–157.

11. Delgado, C. et al. (1992) The uses and properties of PEG-linked proteins. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 9, 249–304.
12. Hamley, I.W. (2007) Peptide fibrillization. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 46, 8128–8147.
13. Riber, D. et al. (2013) A novel glucagon analogue, ZP-GA-1, displays increased chemical and physical stability in liquid formulation. *Diabetes* 62, A99–A172.
14. Timmerman, P. et al. (2009) Functional reconstruction of structurally complex epitopes using CLIPSTM technology. *Open Vaccine J.* 2, 56– 67.
15. Poci, A. (2012) Unraveling oxyntomodulin, GLP1's enigmatic brother. *J. Endocrinol.* 215, 335–346.
16. Larsen, B. et al. Zealand Pharma A/S. Pharmacologically active peptide conjugates having a reduced tendency towards enzymatic hydrolysis. US 6,528,486 B1, WO 99/46283.
17. Knudsen, L.B. (2010) Liraglutide: the therapeutic promise from animal models. *Int. J. Clin. Pract.* XX[LM2], (Suppl.) 4–11.