

УДК 579.222

НЕРИБОСОМАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

Н.С. Ковзалов¹, А.Д. Манаева¹, Н.В. Немцева¹

¹федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Оренбургский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, e-mail: Nikita.kovzalov@yandex.ru

Аннотация. Представлен обзор литературы, в котором рассмотрены малые биоактивные белки, которые образуются в результате нерибосомальной полипептидной реакции. В отличие от других белков, их синтез не зависит от рибосомального механизма, а происходит в процессе модульной сборки при активном участии нерибосомных пептидных синтетаз. Как правило, каждый модуль состоит из трех доменов: А, РСР и С, которые непосредственно задействованы в синтезе нерибосомных пептидов. Порядок модулей обычно коллинеарен пептидным последовательностям продукта. В результате образуются разнообразные конечные продукты, представляющие собой вторичные метаболиты с широким спектром фармакологической и биологической активности, включая цитостатики, иммунодепрессанты, противораковые средства, антибиотики, токсины и др. Нерибосомальные пептиды имеют весомый потенциал применения в медицинской практике. Повышенная резистентность к антибиотикам у значительного процента населения заставляет научное общество искать антимикробные препараты с широким потенциалом действия и отсутствием резистентности у клеток-мишеней. Именно на роль этих препаратов могут претендовать средства на основе пептидов нерибосомального синтеза. Кроме того, применение нерибосомальных пептидов в качестве иммуносупрессоров и цитостатиков позволяет расширить вариативный ряд лечебных препаратов для персонализированного подхода при подборе лекарственных средств.

Ключевые слова: нерибосомальные пептиды, механизмы биосинтеза, антибиотики, биология, медицина

NON-RIBOSOMAL PEPTIDES AND THEIR APPLICATION IN MODERN MEDICINE

N.S. Kovzalov¹, A.D. Manaeva¹

¹Orenburg State Medical University (OrSMU), Orenburg, e-mail: nikita.kovzalov@yandex.ru

Abstract. A review of the literature is presented, which considers small bioactive proteins that are formed as a result of a nonribosomal polypeptide reaction. Unlike other proteins, their synthesis does not depend on the ribosomal mechanism, but occurs in the process of modular assembly with the active participation of nonribosomal peptide synthetases. As a rule, each module consists of three domains: A, PCP, and C, which are directly involved in the synthesis of nonribosomal peptides. The order of the modules is usually collinear with the peptide sequences of the product. As a result, a variety of end products are formed, which are secondary metabolites with a wide range of pharmacological and biological activities, including cytostatics, immunosuppressants, anticancer agents, antibiotics, toxins, etc. Nonribosomal peptides have a significant potential for use in medical practice. Increased antibiotic resistance in a significant percentage of the population is

forcing the scientific community to look for antimicrobials with a broad potential of action and no resistance in target cells. It is the role of these drugs that drugs based on peptides of nonribosomal synthesis can claim. In addition, the use of nonribosomal peptides as immunosuppressants and cytostatics makes it possible to expand the range of therapeutic drugs for a personalized approach in the selection of drugs.

Keywords: nonribosomal peptides, mechanisms of biosynthesis, immunosuppressors, antibiotics, biology, medicine

Введение. Нерибосомальные пептиды (NRP) – это малые биоактивные белки, которые образуются в результате нерибосомальной полипептидной реакции (NCL). В отличие от других белков, синтез NRP не зависит от рибосомального механизма, а происходит в процессе модульной сборки при активном участии нерибосомальных пептидных синтетаз (NRPS). В результате образуются разнообразные конечные продукты, представляющие собой вторичные метаболиты с широким спектром фармакологической и биологической активности, включая цитостатики, иммунодепрессанты, противораковые средства, антибиотики, токсины и др. Благодаря своей пластичности и отсутствию зависимости от матричной РНК, эти соединения представляют интерес для различных приложений в биотехнологии и медицине, включая создание новых лекарственных препаратов. Наиболее распространенными производителями NRP являются бактерии и грибы. Способность к производству этих пептидов подтверждено у морских микроорганизмов [1]. В настоящее время ряд пептидов используются при лечении воспалительных, онкологических, нейродегенеративных и инфекционных заболеваний, а также для разработки новых терапевтических средств. Исходя из этого, имеющиеся сведения, касающиеся практического использования нерибосомальных пептидов, нуждаются в обсуждении и обобщении.

Цель исследования. Обобщить данные об основных особенностях нерибосомальных пептидов, а также обсудить некоторые области их применения в медицине.

Материал и методы исследования. Анализ данных научной литературы.

Результаты исследования и их обсуждение. Структуры нерибосомальных пептидов могут представлять собой линейные, циклические или разветвленные циклические.

Известно, что биосинтез нерибосомальных пептидов осуществляется с помощью нерибосомных пептидных синтетаз (NRPS), работа которых не зависит от информационной РНК [2]. NRPS - модульные ферменты, которые из множества стандартных и непротеиногенных аминокислотных субстратов катализируют синтез важных пептидных продуктов. Подобная модульная архитектура нуждается в механизмах, позволяющих осуществлять синтез

эффективным образом. Поэтому NRPS привлекают внимание специалистов различного профиля [3].

Модуль представляет собой часть полипептидной цепи NRPS, отвечающую за интеграцию одной аминокислоты в конечный продукт. Они состоят из различных доменов, которые выполняют определенные функции пептидного синтеза NRPS: селекция аминокислот, образование первичной структуры пептидной цепи, ее модификацию с последующим выходом синтезированного пептида [4].

Как правило, каждый модуль состоит из трех доменов: А, РСР и С, которые непосредственно задействованы в синтезе нерибосомных пептидов. Дополнительными доменами являются Е и ТЕ (рис. 1). Порядок модулей обычно коллинеарен пептидным последовательностям продукта. Синтез нерибосомных пептидов протекает в направлении от N- к С-концу, продуцируя пептиды, длина которых обычно составляет около 3-15 аминокислот [5].

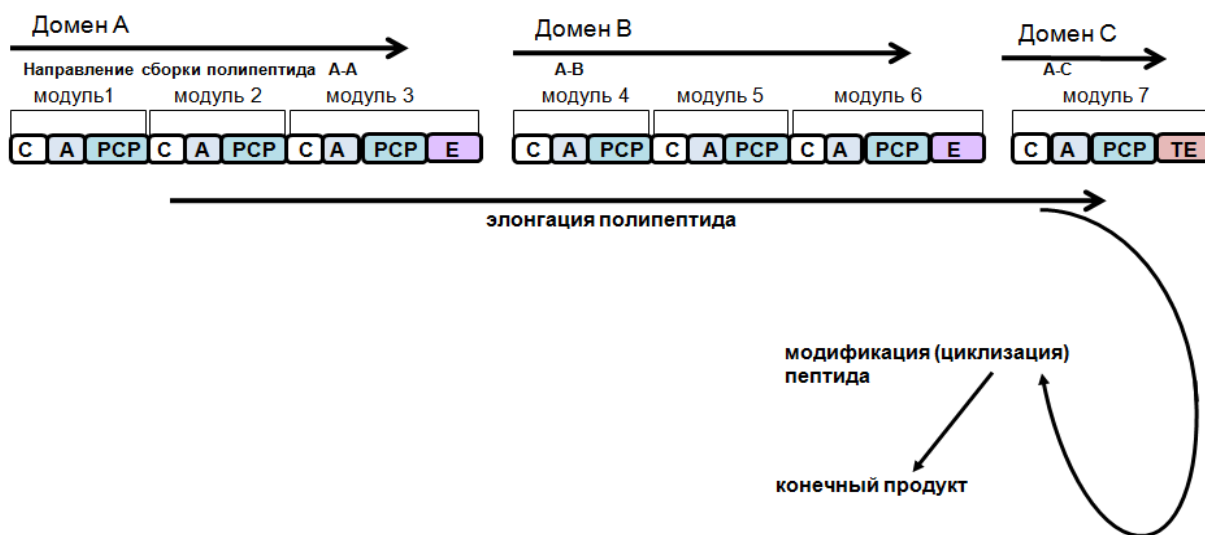


Рис. 1 - Структурные особенности ферментов нерибосомных пептидсинтетаз. Домен состоит из модулей: домена А (аденилирования) домена РСР (белка-переносчика пептидила) и домена С (конденсации), которые осуществляют синтез нерибосомных пептидов; также представлены домены Е(эпимеризации) и ТЕ (тиоэстеразы).

В целях достижения зрелой формы первичный продукт, полученный в результате подобного синтеза, может быть модифицирован с помощью дополнительных ферментов путем N-, С- и О-метилирования, гликозилирования, гидроксिलирования, ацилирования, галогенирования или образования гетероциклического кольца [6]. Эти портняжные ферменты не являются частью NRPS, однако, их реакции вносят вклад в создание структурного

разнообразия нерибосомных пептидов. NRP благодаря гибкости и отсутствию зависимости от матричной РНК представляют интерес для различных приложений в биотехнологии и медицине, включая создание новых лекарственных препаратов. В данной статье мы рассмотрим основные функции NRP, а также обсудим их потенциальное применение в различных областях медицины.

Нерибосомальные пептиды как вторичные метаболиты проявляют широкий спектр биологической активности, начиная от антимикробной и заканчивая противоопухолевой.

Антимикробные пептиды действуют, как на грамотрицательные так и на грамположительные бактерии, а также на грибы, вирусы, простейших. Кроме того, они проявляют антимикробную активность в отношении штаммов бактерий, устойчивых к антибиотикам [7,8].

Для разработки новых противомикробных препаратов на основе нерибосомальных пептидов, необходимо понимание молекулярных механизмов их действия. При взаимодействии с грамотрицательными бактериями NRP точкой приложения является отрицательно заряженная внешняя клеточная мембрана. На ее поверхности располагаются ионы Mg^{2+} , которые нейтрализуют отрицательный заряд. Антимикробные пептиды вытесняют эти ионы. Далее они либо прочно связываются с отрицательно заряженным липополисахаридом, либо нейтрализуют отрицательный заряд на поверхности мембраны, нарушают ее целостность и проникают в периплазматическое пространство [4]. Критическими точками взаимодействия между пептидом и бактериальной мембраной являются электростатические силы между катионными АМП и отрицательно заряженной бактериальной поверхностью.

Встраивающиеся в цитоплазматическую мембрану антимикробные пептиды способны менять свою конформацию образуя каналы, нарушающие целостность клетки. Проникая в цитоплазму патогенна, заряженные положительно антимикробные пептиды связываются с клеточными макромолекулярными анионами (ДНК и РНК), что приводит к гибели бактериальной клетки [7].

Кроме того, среди существующих механизмов воздействия на микробную клетку антибактериальных пептидов рассматривается «ковровая модель». Согласно данной модели, положительно заряженные молекулы пептидов выстилают отрицательно заряженную мембрану бактерии, образуя молекулярный ковёр. Когда вся поверхность бактерии занята пептидами, её мембрана начинает разрушаться [3].

По результату воздействия антимикробные пептиды разделяют на антибиотики, цитостатики, иммуносупрессоры, токсины и др.

Среди антибиотиков известен актиномицин, который в настоящее время применяется в качестве противоопухолевого препарата. Бацитрацин, действие которого основано на ингибировании синтеза плазматической мембраны большинства грамположительных бактерий. Грамицидин, имеющий доказанную клиническую активность против грамположительных бактерий, и широко используемый для лечения ОРВИ.

Среди цитостатиков известен эпотилон, синтезированный при помощи поликетидсинтазы. Этот препарат взаимодействует с тубулином, ингибируя функции микротрубочек, нарушает веретено деления, препятствуя тем самым развитию опухолевых клеток. Блеомицин применяется как цитостатик, способный осуществлять опосредованную окислительную деградацию всех основных классов клеточных РНК и ДНК [8]. В сочетании с лучевой терапии показал доказанную эффективность в терапии злокачественных новообразований. К препаратам иммуносупрессорам относят циклоsporин. Это исторически первый обнаруженный нерибосомный пептид. В настоящее время он применяется в качестве сильнодействующего иммуносупрессивного средства и находит широкое применение в трансплантологии, предотвращая отторжение трансплантата в организме реципиента.

В последнее время интерес исследователей обращен к токсинам цианобактерий, среди которых известны микроцистины, нодуларины и др. В частности, известно о выделении из культур цианобактерии *Nostoc ellipsosporum* нового вирулицидного белка длиной 11 аминокислот (11 кДа), названного циановирин-N (CV-N). Установлено, что низкие наномолярные концентрации этого природного соединения необратимо инактивируют разнообразные лабораторные штаммы и первичные изоляты вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) типа 1, штаммы ВИЧ типа 2, а также вируса иммунодефицита обезьян [9].

К сожалению, ряд продуцируемых цианобактериями метаболитов являются токсичными веществами. Однако решение проблемы их токсичности могло бы расширить границы медицинского применения этих уникальных метаболитов. В частности, одним из современных направлений является создание гибридных препаратов, представляющих собой конъюгат антитело-лекарственное средство. Примером подобного лекарственного средства является препарат Brentuximab vedotin, избирательно нацеленный на опухолевые клетки, экспрессирующие антиген маркера лимфомы Ходжкина [10].

Заключение. Подводя итог, можно заключить, что нерибосомальные пептиды имеют весомый потенциал применения в медицинской практике. Повышенная резистентность к антибиотикам у значительного процента населения заставляет научное общество искать антимикробные препараты с широким потенциалом действия и отсутствием резистентности

у клеток-мишеней. Именно на роль этих препаратов могут претендовать средства на основе пептидов нерибосомального синтеза. Кроме того, применение нерибосомальных пептидов в качестве иммуносупрессоров и цитостатиков позволяет расширить вариативный ряд лечебных препаратов для персонализированного подхода при подборе лекарственных средств.

Список литературы.

1. Süßmuth R.D., Mainz A. Nonribosomal Peptide Synthesis-Principles and Prospects // *Angew Chem Int Ed Engl.* 2017. V. 56. №14. P. 3770-3821. doi: 10.1002/anie.201609079
2. Miller B.R., Gulick A.M. Structural Biology of Nonribosomal Peptide Synthetases// *Methods Mol Biol.* 2016. V.140. P. 3-29. doi: 10.1007/978-1-4939-3375-4_1.
3. Talapko J, Meštrović T, Juzbašić M, Tomas M, Erić S, Horvat Aleksijević L, Bekić S, Schwarz D, Matić S, Neuberger M, Škrlec I. Antimicrobial Peptides-Mechanisms of Action, Antimicrobial Effects and Clinical Applications // *Antibiotics (Basel).* 2022. V. 11. № 10. P.1417. doi: 10.3390/antibiotics11101417.
4. Dincer S., Takci H. A. M., Ozdenefe M. S. Nonribosomal Peptide Synthesis. Reviewed: March 28th, 2022 Published: April 30th, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.104722.
5. Stanišić A, Kries H. Adenylation Domains in Nonribosomal Peptide Engineering // *Chem-biochem.* 2019. V.20. № 11. P. 1347-1356. doi: 10.1002/cbic.201800750. Epub 2019 Mar
6. Duban M. , Cociancich S., Leclère V. Nonribosomal Peptide Synthesis Definitely Working Out of the Rules//*Microorganisms.* 2022. V.10. № 3. P.577.doi:10.3390/microorganisms10030577.
7. Немцева Н.В., Мамедова Э.И., Немцева Е.К. Антимикробная активность нерибосомальных пептидов цианобактерий. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019.3. 8с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/NEK-2019-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13030.
8. Hecht S.M. "Bleomycin: new perspectives on the mechanism of action" // *Journal of Natural Products.* 2000. V.63. № 1. P. 158–168. doi:10.1021/np990549f. PMID 10650103.
9. Dey B., Lerner D. L., Lusso P., Boyd M. R., Elder J. H., Berger E. A. Multiple Antiviral Activities of Cyanovirin-N: Blocking of Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120 Interaction with CD4 and Coreceptor and Inhibition of Diverse Enveloped Viruses // *J Virol.* 2000. V. 74. № 10. P. 4562–4569. DOI: 10.1128/jvi.74.10.4562-4569.2000/
10. Connors J.M., Jurczak W., Straus D.J., Ansell S.M., Kim W.S., Gallamini A. et al. (January 2018). "Brentuximab Vedotin with Chemotherapy for Stage III or IV Hodgkin's Lymphoma"// *The*

New England Journal of Medicine. 2018. V. 378. № 4. P. 331–344.
DOI: 10.1056/NEJMoa1708984.