

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2015

А. Н. Балаев¹, В. Н. Осипов¹, Д. С. Хачатрян²

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДНЫЕ АНАЛОГИ СОМАТОСТАТИНА: СТРАТЕГИИ СИНТЕЗА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПОИСКА НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹ ЗАО "Фарм-Синтез", 115419, Россия, Москва, 2-ой Рощинский проезд, д. 8

² ФГУП "Государственный научно-исследовательский институт химических реактивов и особо чистых химических веществ", 107076, Россия, Москва, Богородский вал, д. 3

Природный гормон соматостатин играет важную роль в организме. Взаимодействуя с 5 типами рецепторов, он вызывает широкий спектр биологических эффектов. Некоторые пептидные аналоги соматостатина используются в клинической практике. Однако ряд имеющихся недостатков ограничивает их клиническую эффективность. В связи с этим поиск новых препаратов в этом ряду является актуальной задачей. В обзоре мы обобщили тенденции синтеза, биологические эффекты пептидных аналогов соматостатина, начиная с 1978 г. и возможные перспективы их дальнейшего развития.

Ключевые слова: соматостатин; пептидные аналоги; SST рецепторы; противоопухолевые пептиды.

Соматостатин (SST) — пептидный гормон, вырабатывается дельта-клетками поджелудочной железы, желудка и кишечника. Он также является одним из гормонов гипоталамуса. Соматостатин впервые был выделен R. Guillemin и сотр. при попытках выделить из гипоталамуса овец соматолиберина в 1972 г. во время поиска рилизинг-фактора для гормона роста (GH) [1]. Однако, в отличие от соматолиберина, выделенный пептид подавлял высвобождение гормона роста из культуры гипофиза крыс [2]. В этом же году была определена структура SST, который представлял собой циклический тетрадекапептид, содержащей в положении 3 и 14 цистеиновые остатки (соматостатин-14).

Было показано, что он существует в 2 формах — окисленной (циклической, cyclo(3 – 14)HAla-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe- Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-CysOH) и восстановленной (линейной, HAla-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe- Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-CysOH), причём каждая из них обладает одинаковой биологической активностью. В 1980 г. установлено, что в тканях SST может присутствовать в форме, которая включает 28 аминокислотных остатков (соматостатин-28), и форме, состоящей из пептидного остатка HSer-Ala-Asn-Ser-Asn-Pro-Ala-Met-Ala-Pro-Arg-Glu-Arg-Lys-, присоединённого к N-концу соматостатина-14 [3].

Обе формы SST являются биологически активными. Причём цитоиммунохимическими исследованиями было показано, что SST-14 локализуется в основном в ЦНС, а SST-28 — в желудочно-кишечном тракте [4].

Одной из основных функций SST в организме является ингибирование секреции гормона роста (соматотропина), который активно участвует в регуляции обмена углеводов, липидов и белков [5, 6].

Наряду с этим, SST обладает широким спектром биологического действия: угнетает выделение пролактина, инсулина, глюкагона, гормонов поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта, стимулирующих пролиферативные процессы в клетке [7, 8].

Противоопухолевое действие аналогов SST зависит от вида опухоли и подтипов тех рецепторов, с которыми они связываются. Взаимодействие происходит 2 путями — прямым и косвенным. При реализации прямого пути происходит связывание SST со специфическими мембранными рецепторами, что может приводить к включению механизма апоптоза. Косвенный путь не зависит от связывания с рецептором и охватывает антиангиогенные и иммуномодулирующие процессы (за счёт ингибирования фактора роста эндотелия сосудов и стимулирования выработки естественных клеток-киллеров) [9].

Механизм ингибирования секреторных и пролиферативных процессов SST и его аналогами реализуется через специфические рецепторы, которые широко представлены на клетках тканей-мишеней: в ЦНС (гипоталамусе, гипофизе, спинном мозге) и желудочно-кишечном тракте (преимущественно в поджелудочной железе, желудке, верхних отделах тонкого кишечника). Показана высокая экспрессия рецепторов SST на клетках злокачественных опухолей: гастриномы, глюкагономы, карциноидных опухолях, мелкоклеточном раке лёгкого и других [10].

Такой антисекреторный фармакологический профиль привёл к использованию SST и его аналогов для лечения целого ряда заболеваний: сахарного диабета I и II типов, гиперсекреторных опухолей (аденома надпочечников, гастринома, инсулинома, глюкагонома,

соматолиберинома), акромегалии, рефрактерной диареи, нарушения желудочно-кишечного тракта (кровоточащие язвы желудка, панкреатиты), осложнения, обусловленные хирургией поджелудочной железы и панкреатическими фистулами и т.д. [11].

Косвенная антипролиферативная эффективность аналогов SST проявляется по антиангиогенному механизму. Ангиогенез, то есть рост новых кровеносных сосудов, имеет большое значение для роста опухоли и распространения метастазов. Следовательно, рост можно контролировать путем уменьшения васкуляризации опухолевой ткани. Обнаружено, что существует корреляция между способностью SST и его аналогов связываться с SST2 подтипом рецепторов и его способность ингибировать ангиогенез [12]. В многочисленных экспериментах показано, что некоторые аналоги SST проявляют сильный антиангиогенный эффект [13].

SST оказывает своё биологическое влияние через взаимодействие с рецепторами, расположенными на мембранах клеток. В настоящее время различают 5 типов рецепторов к SST: SST1, SST2, SST3, SST4 и SST5, которые имеются как в тканях различных областей ЦНС, так и в периферических тканях [14, 15]. Эти 5 типов рецепторов были клонированы из тканей человека, крыс, мышей, свиней и телят [16]. Рецепторные последовательности содержат от 356 (для SST2) до 418 (для SST3) аминокислотных остатков. При этом имеется значительное сходство в аминокислотной последовательности для каждого типа рецепторов у разных видов (81 – 98 % у человека, крыс и мышей) [17]. Выяснилось, что гены, кодирующие SST1, SST3, SST4 и SST5, не содержат интронов, в то время как ген, кодирующий SST2 рецептор у человека, крыс и мышей, продуцирует 2 варианта рецептора: SST2A (369 аминокислот) и SST2B (356 аминокислот), отличающихся своими С-концами [18]. Исходя из структуры (гомологической последовательности аминокислотных остатков), все рецепторы были разделены на 2

класса. Представителями одного являются SST2, SST3 и SST5, а другого — SST1 и SST4 [19]. Как соматостатин-14, так и соматостатин-28 имеют очень высокое сродство ко всем 5 типам SST рецепторов (таблица) [20].

Такое высокое сродство SST к рецепторам является ключевым фактом для ингибирования большого количества секреторных процессов. За антисекреторное действие на гормон роста, пролактин и кальцитонин отвечают SST1 рецепторы; на GH, адреноректоротропин, инсулин, глюкагон, γ -интерферон и соляную кислоту в желудке — SST2 рецепторы; на GH, инсулин и амилазу — SST5 рецепторы [4, 12]. Следует отметить, что вызванное SST ингибирование гормональной секреции очень эффективно и происходит в течение нескольких секунд (иногда минут), что было показано на секреции гормона роста изолированными клетками гипофиза и на Ca^{2+} -индуцированном экзоцитозе глюкагона панкреатическими α -клетками [21]. При этом не происходит ингибирование синтеза гормона роста гипофизарными соматотрофными клетками, а лишь ингибируется экспрессия гена GH.

Терапевтическое использование агонистов SST в основном базируется на наличии SST рецепторов не только в нормальных, но и в опухолевых тканях. В большинстве опухолей (особенно опухолях желудочно-кишечных и панкреатических тканей) преимущественно присутствуют SST2 рецепторы, менее часто — SST1, SST3 и SST5 рецепторы, в то время как SST4 рецепторы обнаруживаются достаточно редко [22].

Клиническое применение самого SST сильно ограничено из-за его короткого периода жизни в плазме (1 – 3 мин) [23, 24]. Поэтому были созданы метаболитически стабильные синтетические агонисты SST [2, 25, 26]. Оказалось, что для сохранения активности критически важным является наличие в циклической части молекулы последовательности $-Phe^7-Trp^8-Lys^9-Thr^{10}$ - (нумерация фрагментов здесь и далее соответствует их позициям в природном соматостатине-14), а метаболитическую стабильность можно существенно повы-

Значения IC_{50} * (нМ) соматостатина и его аналогов для различных типов SST рецепторов

Соматостатин и его аналоги	SST1	SST2	SST3	SST4	SST5
Соматостатин-14	0,70	0,23	0,25	1,30	0,46
Соматостатин-28	0,60	0,23	0,32	0,79	0,44
Октреотид	290	0,41	5,80	> 1000	5,60
Лантреотид	2330	0,75	107	2100	5,2
Вапреотид	481 – 1000	5,4	31	45 – 351	0,7 – 7,5
Сеглитид	> 1000	0,1	36	> 1000	13
SOM230 (Пасиреотид)	20	1	1	1500	0,06
L-362,855	> 100	1	6,20	> 100	0,12
BIM 23268	18,4	15,1	61,6	16,3	0,37
BIM 23052	100	11,9	5,59	132	1,22
CH-275	30,9	> 10000	345	> 1000	> 10000
SDZ 222 – 100	6,31	63	2,510	12590	-
KE108	2,6	0,9	1,5	1,6	0,65
PTR3173	> 1000	3	> 100	7	1

* IC_{50} — концентрация соматостатина или его аналогов, которая необходима для замещения 50 % специфически связанного с соматостатиновыми рецепторами лиганда.

суть заменой на D-аминокислоты [27 – 29]. Аминокислотные остатки Trp и Lys являются обязательными, а Phe и Thr могут быть заменены, например, на Tyr и Ser или Val соответственно [25]. Начиная с конца 70-х гг. были синтезированы сотни пептидных аналогов SST с пролонгированной физиологической активностью и различным диапазоном взаимодействия с рецепторами [26, 30 – 32]. Аналоги SST в настоящее время широко применяются в диагностике и лечении различных заболеваний, особенно эндокринных расстройств и рака [33]. Наиболее известные синтетические пептидные аналоги SST: SMS 201 – 955 (октреотид) [34], RC-160 (вапреотид) [35], MK 678 (сеглитид) [36], BIM 23014 (ланреотид) [37] и SOM230 (пасиреотид) [21]. Все они являются циклическими пептидами, устойчивыми к пептидазам, с пролонгированным периодом жизни в плазме (1,5 – 2 ч, в случае SOM230 до 11 ч [38]).

Непрерывная инфузия аналогов SST оказалась более эффективной, чем их повторные инъекции. Это наблюдение побудило к созданию депо-форм препаратов с ещё более длительным периодом действия: октреотид ЛАР, микрочастицы Lanreotide (MP) и Lanreotide autogel, которые в дальнейшем улучшили результаты клинического применения, что и привело к существенному улучшению качества жизни пациентов с относительно мягкими неблагоприятными эффектами [39, 40]. Октреотид LAR представляет собой октреотид, включенный в микросферы из биоразлагаемого сополимера молочной и гликолевой кислот. В России этот препарат выпускается под маркой Октреотид-Депо фармацевтической компанией “Фарм-Синтез”. После внутримышечной инъекции этих препаратов микросферы медленно разрушаются за счёт гидролиза, постоянно высвобождая активный пептид. Так, после инъекции октреотида LAR наблюдается кратковременное повышение уровня октреотида в крови из-за быстрой десорбции вещества с поверхности микросфер, затем после незначительного падения уровень снова постепенно увеличивается в течение 14 дней и остаётся постоянно повышенным в течение 28 – 42 дней.

В поиске новых методов направленного воздействия на раковые клетки были разработаны радиофармпрепараты (меченые пептиды), которые позволяют диагностировать и разрушать опухоль. Аналоги SST способны формировать комплексы рецептор — лиганд, которые позволяют накапливать радиофармпрепараты внутри опухоли. Так, получены аналоги SST DOTA-TOC и DOTA-TATE, меченные ^{111}In и ^{68}Ga , для визуализации или меченные ^{90}Y , ^{177}Lu , для лучевой терапии рака, клетки которого содержат рецепторы SST [9].

Действие ^{177}Lu DOTA-TATE [^{177}Lu DOTA-Tyr(3)-октреотида] оценивали у пациентов с гастроэнтеропатической нейроэндокринной опухолью. В итоге полная ремиссия обнаружилась у 2 % пациентов, частичная ремиссия у 26 %, состояние стабилизировалось у 36 %, а у 18 % пациентов болезнь прогрессировала [9]. Действие ^{90}Y -DOTA-TOC изучали у пациентов с гас-

троэнтеропатической нейроэндокринной опухолью и бронхиальным раком. Полная ремиссия обнаружилась у 2 % пациентов, частичная ремиссия — у 22 %, стабилизация заболевания обнаружилась у 44 % пациентов, прогрессировала болезнь в 15 % случаев. Лечение хорошо переносилось и произошло значительное сокращение симптомов заболевания, у 16 % больных увеличилась продолжительность жизни [9].

Комбинирование ^{90}Y - and ^{177}Lu -меченных аналогов показало превосходный противоопухолевый эффект. Сообщалось, что ^{177}Lu более эффективно подавляет небольшие опухоли, тогда как ^{90}Y более эффективен в отношении больших опухолей [9].

Пептидные аналоги SST имеют ряд ограничений в клиническом применении, таких как низкая биодоступность при пероральном применении, относительно короткий период полураспада и иммуногенность. Практическое применение синтетических пептидных аналогов также лимитируется наличием тахифилаксии (быстрое снижение лечебного эффекта при повторном применении) и значительных антисекреторных эффектов.

В настоящее время целевые направления поиска аналогов SST сводятся к:

- повышению стабильности (устойчивости к действию ферментов) и биодоступности;
- созданию препаратов селективных к различным подтипам рецепторов;
- созданию препаратов с универсальным средством к рецепторам.

Определяющие стратегии по реализации этих направлений:

- синтез циклических пептидов;
- N-метилирование аминокислот;
- замена аминокислот на непротеиногенные модифицированные аминокислоты;
- замена аминокислот на пептидоиды;
- синтез коротких пептидов с защитными группами;
- синтез конъюгатов пептидов с противоопухолевыми соединениями;
- создание “химерных” соматостатин/дофаминовых соединений.

Одним из основных путей поиска эффективных аналогов SST до сих пор остаётся синтез циклических пептидов. Используется 2 типа циклизации: “голова-к-хвосту” и циклизация в пептидном скелете (через связывающий “мостик”). Циклизация “голова-к-хвосту” ограничивает конформационное пространство пептида и используется в случае, когда N- или C-концы не участвуют в связывании рецептора [41]. Синтезировано более 150 циклических аналогов SST, включая cyclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe) (другое название L-363,301), чтобы оценить вклад каждого фрагмента цепи в биологическую активность [27]. Особенностью L-363,301 явилась селективность к SST2 и SST5 рецепторам.

В попытке поиска новых активных аналогов были синтезированы различные библиотеки циклических пептидов, содержащих фармакофорную последова-

тельность SST. Наиболее активные пептиды PTR-3046 [42], PTR-3205 [43] и PTR-3173 [44] имеют высокую энзиматическую стабильность и различный фармакологический профиль. В частности, PTR-3046 показал селективность к SST5, PTR-3205 – к SST2, PTR-3173 – к SST2, SST4 и SST5 рецепторам в наномолярном диапазоне.

К отдельному типу циклических пептидов можно отнести дикарбамиметики SST. В этих пептидах дисульфидный мостик –S–S– заменён на этиленовый фрагмент –C=C–, первым синтезированным представителем которых стал дикарбасвязанный аналог октреотида [45], имеющий специфическое сродство к SST5 подтипу рецепторов, что дало основание определить дикарбааналог как новую модель фармакофора для этого типа рецептора. Позже были получены производные с заменой треонина (Thr¹⁰) на Phe и Tyr(Bzl), а также соединения с восстановленной двойной связью, некоторые из которых показали высокое сродство и селективность к SST5 рецепторам [46]. Также были проведены исследования по замене в этом соединении Phe⁷ на 1-нафтилаланин (1-Nal) и Thr¹⁰ на Tyr и Tyr(Bzl) в различных комбинациях в сочетании с 2 изомерами двойной связи [47]. Полученные аналоги имели значительную энзиматическую устойчивость, высокое сродство и селективность к SST5 рецепторам. Помимо этого, устойчивость этих соединений в условиях получения меченных радиоизотопами пептидов делают их потенциально пригодными для диагностики и внутренней радиотерапии опухолей. Один из последних синтезированных дикарбааналогов SST [48], включающий последовательность 14 аминокислот и имеющий большую конформационную гибкость по сравнению с вышеупомянутыми пептидами, проявил высокую селективность в отношении рецепторов SST – SST1 и SST5, что свидетельствует о том, что жесткая конформация не обязательна при взаимодействии SST с этими 2 рецепторами.

Отметим, что дисульфидная связь является общей для многочисленных биологически активных пептидов и белков. Ее замена на другие представляет потенциальную возможность для получения аналогов с улучшенными фармакокинетическими характеристиками. В частности, оценивалась возможность замены дисульфидной связи в пептидах на азомост (–N=N–). В качестве объектов были выбраны SST и мозговой нейроуретический пептид (BNP), поскольку они имеют выраженные клинические действия [49]. Три циклических азоаналогов SST и три циклических аналогов BNP получены путем формирования азосвязи между *n*-аминофенилаланином и гистидином или тирозином, которые были помещены в пептидную последовательность вместо цистеина [49]. Полученные аналоги SST показали большое сродство на рецепторы SST2 в наномолярных концентрациях.

Известно, что *N*-метилирование часто используется для увеличения потенциала или селективности пептидных лигандов. Кроме того *N*-метилирование приводит к значительному увеличению энзиматической

стабильности пептидов. Использование этого метода привело к созданию ряда аналогов различных биоактивных пептидов, включая и синтетические производные SST [50].

Первый *N*-метилированный аналог — сеглитид (МК-678), в котором пролин заменён *N*-метилированным аланином [27], оказался на порядок эффективнее исходного соединения L-363,301 и в 50 – 100 раз эффективнее SST по отношению к ингибированию секреции инсулина, гликагона и гормона роста. В дальнейшем был синтезирован ряд мульти *N*-метилированных производных сеглитидов, содержащих от 2 до 4 метильных групп в различных положениях. Все они показали выраженную селективность к SST2 рецепторам. Аналог сеглитидов, в котором дополнительно *N*-метилированы 3 аминокислотных фрагмента, имел неожиданно высокую активность *in vivo* при внутрибрюшинной инъекции по сравнению с другими аналогами сеглитидов с меньшим количеством *N*-метильных групп, но имеющих большее сродство к SST рецепторам [51].

Для поиска путей повышения биодоступности аналогов SST синтезированы его *N*-метилированные циклические аналоги на основе пептида Вебера – Хиршмана [52]. Соединения с метилированными вторичными амидами у некоторых аминокислотных остатков показали увеличение протеазной стабильности и биодоступности. Например, пептид cyclo(-Pro-Phe^{Me}-Trp^{Me}-Lys-Thr^{Me}-Phe-) с тремя *N*-метильными группами обладает биодоступностью при пероральном введении крысам ~ 10 %, что примерно в 5 раз выше, чем для исходного неметилированного пептида [52]. *N*-метильное “сканирование” октапептидных соматостатиновых агонистов (D-Phe⁵(и Tyr⁵)-cyclo[Cys⁶-Phe⁷-DTrp⁸-Lys⁹-Thr¹⁰-Cys¹¹]Thr¹²-NH²) позволило получить аналоги со специфической аффинностью к SST3 и SST5 рецепторам, а также доказательство наличия биологически активной β-turn конформации D-Trp⁸-Lys⁹ путем разрушения внутримолекулярной водородной связи между Phe⁷ and Thr¹⁰ [53]. Так, *N*-метилирование D-Trp в первом аналоге увеличило связывание с SST5 (IC₅₀ 0,63 nM) и уменьшило аффинность к SST1, SST2 и SST4 рецепторам.

Ещё одним направлением модификации при синтезе аналогов SST является замена отдельных аминокислот на неприродные аминокислоты, особенно ключевого фрагмента триптофана в положении 8. С целью поиска специфических аналогов с высоким сродством к определённым типам рецепторов были синтезированы производные SST и октапептида cyclo(3 – 14)H-Cys-Phe-Phe-Trp⁸-Lys-Thr-Phe-Cys-OH с замещением Trp в положении 8 на имидазобензил L- или D-гистидин (imBzl-L-His и imBzl-D-His) [54], на 3-(2-нафтил)аланин или на 4 стереоизомера 3-метил-3-(2-нафтил)аланина [55 – 57]. Замещение Trp⁸ на imBzl-L-His и imBzl-D-His в SST привело к увеличению селективности к SST3, а аналогичное замещение в октапептиде привело к потере сродства к SST1, SST2, SST4, SST5 рецепторам и радикальному функциональному пере-

ключению из агониста в антагонист [54]. Несколько пептидов с изомерами 3-метил-3-(2-нафтил)аланином в положении 8 показали высокое сродство и селективность к SST4 рецепторам [44]. Замещение на 3-(2-нафтил)аланин привело к возросшей селективности к SST3 рецепторам [57].

SST с исключёнными аминокислотами (AA) в положениях 1, 2, 5 в сочетании с D-Trp в положении 8 и 4-(N-изопропил)аминометилфенилаланином (IAmp) в положении 9 (des-AA1,2,5-[D-Trp⁸, IAmp⁹]-SST) обладал в 30 раз большей селективностью к SST1 по сравнению с SST2, SST4, SST5 и в 10 раз по сравнению с SST3 рецепторами [58]. Аналогично заменой натуральных аминокислот в различных положениях был получен ряд пептидов, селективных к SST1 рецепторам [59].

Для увеличения устойчивости к ферментативной деградации и рецепторной специфичности были синтезированы 2 производных SST с заменой Trp⁸ на энантиомерные 3-(3-хинолил)-аланины (L-Q1a и D-Q1a) [60] с целью исключения водородной связи во фрагменте 8. Замещение на L-Q1a⁸ привело к высокой селективности к SST1 и SST3 рецепторам при аффинности, сравнимой с SST, замещение на D-Q1a⁸ дало очень высокое сродство к SST3 и значительное к SST1, SST2 и SST5 рецепторам. Результаты демонстрируют, что объёмные и электронно-обеднённые ароматические аминокислоты в положении 8 дают усиление активности по отношению к SST1 и SST3 рецепторам.

Синтезированы новые C-амидные аналоги октреотида с заменой Lys⁹ на орнитин (Orn), диаминобутановую (Dab) и диаминопропановую (Dap) кислоты, а также треонина Thr¹⁰ на неприродную аминокислоту t-лейцин (Tle) [61]. Все исследуемые соединения проявили концентрационно-зависимое антипролиферативное действие на клетки линий HT-29, MDA-MB-231, Hep G2 и HeLa. Соединение D-Phe-cyclo(Cys-Phe-D-Trp-Dap-Tle-Cys)-Thr-NH₂ показало антипролиферативное воздействие на MDA-MB-231 клетки (IC₅₀ = 0,03 мМоль). Наиболее выраженное ингибирование клеточной жизнеспособности до 77 % на клетках HeLa и Hep G-2 показали пептидные аналоги D-Phe-cyclo(Cys-Phe-D-Trp-Lys-Tle-Cys)-Thr-NH₂ и D-Phe-cyclo(Cys-Phe-D-Trp-Orn-Tle-Cys)-Thr-NH₂. При этом все пептиды не были токсичными для нормальных Hep-3-клеток. Отмечалось, что эти аналоги проявили также значительно более высокую антиоксидантную способность по сравнению с галловой кислотой, при этом D-Phe-cyclo(Cys-Phe-D-Trp-Dab-Tle-Cys)-Thr-NH₂ обладал максимальным антиоксидантным действием [62].

Следует заметить, что в ряду синтезированных пептидных аналогов SST, содержащих неприродные аминокислоты, были найдены и высокоспецифические антагонисты SST [63].

Важным направлением модификации пептидов является замена аминокислотных фрагментов на пептоидные. Замещение одного или 2 фрагментов в пептиде

Вебера – Хиршмана на пептоидные и их влияние на сродство к различным подтипам SST рецепторов изучено в [64, 65]. Показано, что введение (R)-β-MeNphe⁶ в положение 6 приводит к увеличению селективности к SST2 по сравнению с исходным пептидом. Синтезированы циклические и линейные полные пептоиды, имитирующие фармакофорную группу SST Phe-Trp-Lys-Thr, и исследован их потенциал связывания с рецепторами [66]. Отмечено, что селективность циклических соединений проявилась в высоком сродстве к SST3, SST5 и SST4 рецепторам и низким к SST1 и SST2 типам рецепторов [66]. В исследованиях, в которых был применен подход по замене α-аминокислот на β-аминокислоты, получен линейный β-пептид с сильным и специфическим сродством к SST4 типу рецепторов [67, 68].

Подобно SST-таргетной радиотерапии, таргетная химиотерапия имеет целью селективную доставку цитотоксических веществ к опухолевым клеткам, при этом избегая действия на нормальные ткани. Синтезировано 2 цитотоксических аналога SST — AN-51 и AN-238, содержащих метотрексат и доксорубин соответственно, соединенных с пептидным SST аналогом RC-121. Оба соединения показали эффективность связывания с SST рецепторами в несколько раз выше, чем у исходного соединения RC-121 [69, 70].

В последнее время исследуется эффективность ряда новых синтезированных подтипов аналогов SST, таких как биспецифических и гибридных соматостатин/дофаминовых соединений (так называемых “химерных” соматостатиновых лигандов) [71, 72].

Как отмечалось, применение пептидных агонистов SST лимитируется не только низкой биодоступностью, но и антисекреторными эффектами. Поэтому ещё одним направлением поиска является создание аналогов с противоопухолевой активностью без сопутствующих SST эффектов, включая антисекреторную активность. Получено и исследовано структурное производное SST TT-232, H-D-Phe-cyclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH₂, содержащее цикл всего из 5 аминокислотных фрагментов. TT-232 показал уникальные конформационные характеристики в сравнении с другими аналогами SST и высокий потенциал антипролиферативной активности без антисекреторного действия [73, 74].

Примечательно, что TT-232 не обладает ингибирующим эффектом на секрецию GH и не ингибирует секрецию соляной кислоты, также связывается с низким сродством с рецепторами SSTR1 и SSTR4 и не связывается с SSTR2, SSTR3 и SSTR5. Однако TT-232 индуцирует апоптоз и оказывает выраженное антипролиферативное воздействие на различные клеточные линии опухолей человека (толстой кишки, поджелудочной железы, лимфомы, лейкемии, меланомы, гепатомы). *In vivo* этот аналог эффективно ингибирует рост различных опухолей [75]. Вероятно, TT-232 оказывает своё действие через фосфорилирование тирозина и последующее проникновение в цитоплазму и ядро клетки, где индуцирует апоптоз [76]. С целью

уменьшения размеров пептида и сохранения антипролиферативной активности на основе биологически значимой аминокислотной последовательности Туг-D-Трп-Lys пептида ТТ-232 были синтезированы короткие пептиды и пептидомиметики линейной структуры с 2 или 3 аминокислотами, содержащими концевую аминогруппу с *трет*-бутоксикарбонильной защитой (Вос) [77, 78]. Наиболее активное из соединений (Вос-Туг-Ile-1-нафтиламид) ингибирует ДНК полимеразу- β млекопитающих, значительно подавляет рост раковых клеток (НСТ116), вследствие чего имеет большой потенциал в качестве противоопухолевого вещества. В другом исследовании соединения (Вос-Туг-D-Трп-1-адамантиламид) и (Вос-Туг-D-Трп-2-адамантиламид) сильно подавляли рост клеток карциномы толстой кишки человека (НСТ116), при этом блокировали клетки НСТ116 в S-фазе, что позволяет предположить селективное ингибирование данными соединениями ДНК репликативной полимеразы- α млекопитающих [79]. Необходимо отметить, что удаление Вос-группы в этих пептидах приводило к значительному снижению их активности.

Концепция пептидных аналогов SST линейной структуры с защитными группами использовалась группой Смирновой Л. И. для синтеза ряда пептидов, основанных на фрагменте октреотида: Phe⁷-D-Трп⁸-Lys⁹-Thr¹⁰ [80 – 82]. Полученные пептиды частично сохраняют специфические гормональные свойства SST, что проявляется подавлением секреции гормона роста, пролактина и инсулина соответствующими эндокринными железами, вместе с этим показывая значительный противоопухолевый эффект *in vitro* и *in vivo* [81, 83, 84]. Наиболее активный пентапептид Вос-Cys(Thp)-Phe-D-Трп-Lys(Z)-Thr-OMe проявляет более высокую цитотоксическую активность, чем нативный SST [85]. Показано, что индуцированный этим пептидом апоптоз развивается по p53-независимому механизму и сопровождается ранним подавлением активности NF- κ B [85]. Благодаря защите всех реакционноспособных групп этот пептид частично сохраняется в кислой среде желудка, что делает возможным пероральное применение. Данное свойство в сочетании с небольшим размером молекулы и высокой цитотоксической активностью позволяет рассматривать этот класс соединений потенциально перспективным для терапии опухолей.

В заключение отметим, что исследования в области синтеза новых пептидных аналогов SST постоянно расширяются. Появляются новые соединения и новые направления их синтеза. В настоящее время некоторые из них находятся на стадии предклинических исследований, и, возможно, вскоре появятся препараты с большей клинической эффективностью и меньшим побочным действием.

Обзор написан при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (в рамках Соглашения о предоставлении субсидии № 14.576.21.0044).

ЛИТЕРАТУРА

1. W. Vale, P. Brazeau, G. Grant, et al., *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences Serie D*, **275**(25), 2913 – 2916 (1972).
2. P. Brazeau, W. Vale, R. Burgus, et al., *Science*, **179**(4068), 77 – 79 (1973).
3. L. Pradayrol, H. Jornvall, V. Mutt, A. Ribet, *FEBS Let.*, **109**(1), 55 – 58 (1980).
4. S. Reichlin, *New Engl. J. Med.*, **309**(25), 1556 – 1563 (1983).
5. Т. Л. Алейникова, Л. В. Авдеева, Л. Е. Андрианова, *Биохимия*, Северин Е. С. (ред.), ГЭОТАР-Медиа, Москва (2009), сс. 250 – 258.
6. И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, В. Ф. Фадеев, *Эндокринология*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2007), сс. 50 – 57.
7. L. Buscail, F. Vernejoul, P. Faure, et al., *Ann. D Endocrinol.*, **63**(2), 13 – 18 (2002).
8. G. Olias, S. Viollet, H. Kusserow, et al., *J. Neurochem.*, **89**(5), 1057 – 1091 (2004).
9. M. Appetecchia, R. Baldelli, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **29**, 1 – 12 (2010).
10. A. Nagy, A. V. Schally, *Cur. Pharm. Des.*, **11**(9), 1167 – 1180 (2005).
11. A. Kleemann, J. Engel, B. Kutscher, D. Reichert, *Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications (5th ed.)*, Thieme, Germany (2009), pp. 994 – 996.
12. R. Barrie, E. A. Woltering, H. Hajarizadeh, et al., *J. Surg. Res.*, **55**(4), 446 – 450 (1993).
13. N. G. de la Torre, J. A. H. Wass, H. E. Turner, *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, **57**(4), 425 – 441 (2002).
14. R. L. Adams, I. P. Adams, S. W. Lindow, et al., *Br. J. Cancer*, **92**(8), 1493 – 1498 (2005).
15. M. Kilian, J. I. Gregor, I. Heukamp, et al., *Clin. Exp. Metastasis*, **26**(7), 719 – 727 (2009).
16. Y. C. Patel, *Front. Neuroendocrinol.*, **20**(3), 157 – 198 (1999).
17. W. Meyerhof, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **133**, 55 – 108 (1998).
18. D. Roskopf, M. Schurks, I. Manthey, et al., *Am. J. Physiology-Cell Physiol.*, **284**(1), 179 – 190 (2003).
19. J. P. Hannon, C. Nunn, B. Stolz, et al., *J. Mol. Neurosci.*, **18**(1 – 2), 15 – 27 (2002).
20. G. Weckbecker, I. Lewis, R. Albert, et al., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2**(12), 999 – 1017, Supplementary information (2003).
21. C. Bruns, I. Lewis, U. Briner, et al., *Eur. J. Endocrinol.*, **146**(5), 707 – 716 (2002).
22. J. C. Reubi, B. Waser, J. C. Schaer, J. A. Laissue, *Eur. J. Nucl. Med.*, **28**(7), 836 – 846 (2001).
23. M. C. Champaneria, I. M. Modlin, I. Latich, et al., *Molecular targeting in oncology*, Humana Press, Totowa (2008), pp. 585 – 637.
24. I. M. Chapman, A. Helfgott, J. O. Willoughby, *J. Endocrinol.*, **128**(3), 369 – 374 (1991).
25. A. V. Schally, *Cancer Res.*, **48**(24), 6977 – 6985 (1988).
26. W. Vale, J. Rivier, N. Ling, M. Brown, *Metabol.-Clin. Experim.*, **27**(9), 1391 – 1401 (1978).
27. D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, et al., *Nature*, **292**(5818), 55 – 58 (1981).
28. A. G. Harris, *Gut*, **35**(1 – 4) (1994).
29. J. Epelbaum, *Prog. Neurobiol.*, **27**(1), 63 – 100 (1986).
30. R. Z. Cai, B. Szoke, R. Lu, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**(6), 1896 – 1900 (1986).
31. R. Z. Cai, T. Karashima, J. Guoth, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**(8), 2502 – 2506 (1987).
32. I. Gottesman, J. Tobert, R. Vandlen, J. Gerich, *Life Sci.*, **38**(24), 2211 – 2219 (1986).
33. G. Melen-Mucha, M. Pawlikowski, *Somatostatin analogs in diagnostics and therapy*, Landes Bioscience, Austin (2007), pp. 91 – 100.
34. W. Bauer, U. Briner, W. Doepfner, et al., *Life Sci.*, **31**(11), 1133 – 1140 (1982).

35. A. J. Czernik, B. Petrack, *J. Biol. Chem.*, **258**(9), 5525 – 5530 (1983).
36. D. F. Veber, R. Saperstein, R. F. Nutt, et al., *Life Sci.*, **34**(14), 1371 – 1378 (1984).
37. J. E. Taylor, A. E. Bogden, J. P. Moreau, D. H. Coy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **153**(1), 81 – 86 (1988).
38. H. A. Schmid, A. P. Silva, *J. Endocrinol. Invest.*, **28**(11 Suppl International), 28 – 35 (2005).
39. P. M. Stewart, K. F. Kane, S. E. Stewart, et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **80**(11), 3267 – 3272 (1995).
40. E. Bajetta, G. Procopio, L. Catena, et al., *Cancer*, **107**(10), 2474 – 2481 (2006).
41. H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Edit.*, **21**(7), 512 – 523 (1982).
42. C. Gilon, M. Huenges, B. Matha, et al., *J. Med. Chem.*, **41**(6), 919 – 929 (1998).
43. E. Falb, Y. Salitra, T. Yechezkel, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **9**(12), 3255 – 3264 (2001).
44. M. Afargan, E. T. Janson, G. Gelerman, et al., *Endocrinology*, **142**(1), 477 – 486 (2001).
45. A. Carotenuto, D. D'Addona, E. Rivalta, et al., *Let. Organ. Chem.*, **2**(3), 274 – 279 (2005).
46. D. D'Addona, A. Carotenuto, E. Novellino, et al., *J. Med. Chem.*, **51**(3), 512 – 520 (2008).
47. A. Di Cianni, A. Carotenuto, D. Brancaccio, et al., *J. Med. Chem.*, **53**(16), 6188 – 6197 (2010).
48. P. Martin-Gago, R. Ramon, E. Aragon, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **24**(1), 103 – 107 (2014).
49. G. Fridkin, T. Maina, B. A. Nock, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**(2), 798 – 806 (2011).
50. J. Chatterjee, C. Gilon, A. Hoffman, H. Kessler, *Acc. Chem. Res.*, **41**(10), 1331 – 1342 (2008).
51. J. Chatterjee, B. Laufer, J. G. Beck, et al., *ACS Med. Chem. Let.*, **2**(7), 509 – 514 (2011).
52. E. Biron, J. Chatterjee, O. Ovardia, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.*, **47**(14), 2595 – 2599 (2008).
53. W. G. Rajeswaran, S. J. Hocart, W. A. Murphy, et al., *J. Med. Chem.*, **44**(9), 1416 – 1421 (2001).
54. J. Erchevyi, R. Cescato, B. Waser, et al., *J. Med. Chem.*, **54**(17), 5981 – 5987 (2011).
55. J. Erchevyi, B. Penke, L. Simon, et al., *J. Med. Chem.*, **46**(26), 5587 – 5596 (2003).
56. J. C. Reubi, J. C. Schaer, S. Wenger, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**(25), 13973 – 13978 (2000).
57. J. Erchevyi, B. Waser, J. C. Schaer, et al., *J. Med. Chem.*, **46**(26), 5597 – 5605 (2003).
58. G. Liapakis, C. Hoeger, J. Rivier, T. Reisine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **276**(3), 1089 – 1094 (1996).
59. J. Erchevyi, R. Cescato, C. R. R. Grace, et al., *J. Med. Chem.*, **52**(9), 2733 – 2746 (2009).
60. R. Ramon, P. Martin-Gago, X. Verdaguer, et al., *ChemBioChem.*, **12**(4), 625 – 632 (2011).
61. S. Staykova, E. Naydenova, D. Wesselinova, et al., *Protein Peptide Let.*, **19**(12), 1257 – 1262 (2012).
62. S. T. Staykova, B. D. Mihaylova, I. G. Goshev, et al., *Bulg. Chem. Commun.*, **44**(3), 233 – 237 (2012).
63. S. J. Hocart, R. Jain, W. A. Murphy, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(11), 1863 – 1871 (1999).
64. T. A. Tran, R. H. Mattern, M. Afargan, et al., *J. Med. Chem.*, **41**(15), 2679 – 2685 (1998).
65. R. H. Mattern, S. B. Moore, T. A. Tran, et al., *Tetrahedron*, **56**(50), 9819 – 9831 (2000).
66. C. Caumes, T. Hjelmgaard, O. Roy, et al., *Medchemcomm*, **3**(12), 1531 – 1535 (2012).
67. K. Gademann, T. Kimmerlin, D. Hoyer, D. Seebach, *J. Med. Chem.*, **44**(15), 2460 – 2468 (2001).
68. K. Gademann, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta*, **84**(10), 2924 – 2937 (2001).
69. A. Nagy, A. V. Schally, G. Halmos, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**(4), 1794 – 1799 (1998).
70. S. Radulovic, A. Nagy, B. Szoke, A. V. Schally, *Cancer Let.*, **62**(3), 263 – 271 (1992).
71. A. Saveanu, E. Lavaque, G. Gunz, et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**(12), 5545 – 5552 (2002).
72. D. Ferone, A. Saveanu, M. D. Culler, et al., *Eur. J. Endocrinol.*, **156**(S23 – S28) (2007).
73. G. Keri, J. Erchevyi, A. Horvath, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**(22), 12513 – 12518 (1996).
74. G. Keri, I. Mezo, Z. Vadasz, et al., *Pept. Res.*, **6**(5), 281 – 288 (1993).
75. B. Szende, G. Keri, *Anti-Cancer Drugs*, **14**(8), 585 – 588 (2003).
76. T. Vantus, G. Keri, Z. Krivickiene, et al., *Cell. Signal.*, **13**(10), 717 – 725 (2001).
77. A. Miyazaki, Y. Tsuda, S. Fukushima, et al., *J. Med. Chem.*, **51**(16), 5121 – 5124 (2008).
78. I. Kuriyama, A. Miyazaki, Y. Tsuda, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **21**(2), 403 – 411 (2013).
79. I. Kuriyama, A. Miyazaki, Y. Tsuda, et al., *Anticancer Res.*, **30**(12), 4841 – 4849 (2010).
80. Патент РФ RU2254139; *Chem. Abstr.*, **143**, 53473 (2005).
81. И. Ю. Кубасова, Л. М. Борисова, М. П. Киселева и др., *Рос. биотер. ж.*, **5**(3), 128 – 133 (2006).
82. Э. С. Шпрах, И. В. Ярцева, Е. В. Игнатьева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **48**(3), 19 – 22 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(3), 159 – 162 (2014).
83. А. Н. Балаев, В. Н. Осипов, В. Е. Фёдоров и др., *Рос. биотер. ж.*, **11**(4), 47 – 53 (2012).
84. А. Н. Балаев, В. Н. Осипов, В. Е. Фёдоров и др., *Рос. биотер. ж.*, **12**(3), 57 – 60 (2013).
85. Е. И. Михаевич, М. А. Красильников, *Бюл. эксперим. биол. мед.*, **154**(11), 629 – 632 (2012).

Поступила 28.10.14

SYNTHETIC PEPTIDE ANALOGS OF SOMATOSTATIN: TRENDS IN SYNTHESIS AND PROSPECTS IN SEARCH FOR NEW ANTICANCER DRUGS

A. N. Balaev¹, V. N. Osipov¹, and D. S. Khachatryan²

¹ Pharm-Sintez Company, Moscow, 115419 Russia, Vtoroy Roschinskiy blvd., 8

² FSUE "The State Scientific-Research Institute of Chemical Reagents and High Purity Chemical Substances", Moscow, 107076 Russia, Bogorodsky shaft, 3

Native hormone somatostatin plays an important role in the organism by acting on multiple targets via a family of 5 receptors to produce a broad spectrum of biological effects. Some peptide analogs of this enzyme are widely used in clinical practice. However, their clinical efficacy is limited because of some disadvantages. In this regard, the search for new drugs of this type is a topical task. In this review, we have summarized the trends in synthesis, biological effects of peptide somatostatin analogs since 1978, and future prospects in development of these anticancer drugs.

Keywords: somatostatin; peptide analogs; SST receptors; anticancer peptides.