

LIPIDIZACE JAKO NÁSTROJ PRO VÝVOJ PEPTIDOVÝCH LÉČIV

ANETA MYŠKOVÁ^{a,b}, DAVID SÝKORA^a, JAROSLAV KUNES^{b,c} a LENKA MALETÍNSKÁ^b

^a Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav analytické chemie, Technická 5, 166 28 Praha, ^b Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 542/2, 166 10 Praha 6, ^c Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha, Česká republika
david.sykora@vscht.cz

Došlo 8.12.23, přijato 11.3.24.

Význam peptidových terapeutik v posledních letech neustále roste. Peptidy jako potenciální léčiva mají mnoho příznivých chemických a farmakologických vlastností, počínaje jejich velkou rozmanitostí a konče vysokou afinitou k různým druhům přirozených receptorů. Přes tyto a další přínosy však mají i své nevýhody. Mají omezenou stabilitu v organismu v důsledku rychlé degradace a vylučování. Pro dosažení co nejlepšího farmakologického účinku je žádoucí hledat vhodné způsoby modifikace peptidů vedoucí k jejich vyšší stabilitě bez ztráty afinity k příslušným receptorům. Existuje mnoho různých způsobů modifikace peptidů. V této práci jsou shrnuty v současnosti používané syntetické přístupy potenciálně vedoucí ke zlepšení klíčových vlastností peptidů v roli nových perspektivních léčiv se zaměřením na lipidizaci. Tato práce zároveň nabízí přehled lipidizovaných peptidových léčiv, které jsou momentálně dostupné na trhu.

Klíčová slova: peptidová terapeutika, modifikace struktury peptidu, lipidizace

Obsah

1. Úvod
2. Způsoby stabilizace peptidů
3. Lipidizace
4. Farmakologické vlastnosti lipidizovaných peptidů
5. Komerčně dostupné lipopeptidy
6. Závěr

1. Úvod

Zájem o peptidy jako potenciální terapeutika různých typů onemocnění stále roste. Přírodní nebo syntetické peptidy a jejich analoga vykazují slibné farmakologické vlastnosti a jedinečné výhody oproti jiným léčivům. Nabízí především velkou rozmanitost struktur, vysokou selektivitu a afinitu k receptorům. Navíc degradační produkty peptidů jsou pro organismus neškodné. Peptidy nachází terapeutické využití u onemocnění, jako jsou např. metabolické poruchy, různé druhy rakovin, záněty, mikrobiální infekce, imunitní dysfunkce či hypertenze^{1,2}. Navzdory svému potenciálu se léčiva na bázi peptidů potýkají také s problémy, především s jejich nedostatečnou stabilitou v organismu. Většina z nich je eliminována během několika minut, což ve svém důsledku vyžaduje podání vyšší dávky v kratších časových intervalech. Tato skutečnost vede k větší zátěži pacienta a zvýšení nákladů léčby. Peptidy také obtížně pronikají hematoencefalickou bariérou

(BBB). V případě peptidů regulujících příjem potravy je nezbytný jejich průchod do mozku, konkrétně do místa regulace příjmu potravy, které je lokalizováno především v hypothalamu. Pro dosažení požadovaného efektu v organismu je proto nutné jejich strukturu vhodně chemicky modifikovat. Naše experimenty ukázaly, že anorexigenní peptidy mají potenciál při léčbě obezity, ale bez příslušné modifikace nemohou projít přes BBB. Lipidizace, jako jedna z možných modifikací, zvyšuje stabilitu, prodlužuje dobu účinku a usnadňuje průchod BBB (cit.³⁻⁶). V posledních letech byly na téma lipidizace vytvořeny následující publikace^{3,7-9}.

Tento článek shrnuje možné modifikace peptidů s cílem zlepšení jejich stability a farmakologických vlastností. Zvláštní důraz je kladen na lipidizaci.

2. Způsoby peptidové stabilizace

Stabilizaci peptidů lze provádět různými způsoby. V následující kapitole jsou uvedeny nejvýznamnější modifikace, které je možné za tímto účelem na peptidovém řetězci provádět.

Pojem PEGylace představuje modifikaci molekuly, ať už nepeptidové, peptidové nebo proteinové, která spočívá v připojení jednoho nebo více polyethylenglykolových (PEG) řetězců k její původní struktuře. PEG je polymer známý svou nízkou toxicitou a není imunogenní. PEGylace zvyšuje stabilitu léčiva, snižuje proteolýzu a omezuje

vyučování ledvinami tím, že zvětšuje molekulovou hmotnost originální látky. Jedná se o modifikaci schválenou úřadem Food and Drug Administration (FDA) pro kontrolu léčiv, potravin a kosmetiky. Úřad FDA schválil PEG pro injekční, lokální, rektální a nosní formulace^{10,11}. Příkladem již schváleného PEGylovaného léčiva je peginesatid (Omontys)¹².

Glykosylace spočívá v připojení sacharidové jednotky (sacharidových částí) k peptidu/proteinu. Tento proces zvyšuje biologickou dostupnost, mění farmakokinetický profil a zlepšuje farmakodynamické vlastnosti. Glykosylace prodlužuje trvání účinku léčiva tím, že zlepšuje absorpci, distribuci a stabilitu a zároveň snižuje renální clearanci. Glykosylované peptidy jsou navíc odolné vůči proteolýze^{13,14}.

Přírodní peptidy/proteiny jsou prakticky výhradně tvořeny L-aminokyselinami. Nicméně D-aminokyseliny (tzv. nekódující aminokyseliny), které se liší stereochemií, mají určité výhody, mezi které patří vyšší stabilita a odolnost vůči enzymové degradaci. Výměna L-aminokyselin za D-aminokyseliny vedla v mnoha studiích ke zvýšení stability peptidů, prodloužení poločasu rozpadu a snížení cytotoxicity při zachování biologické aktivity^{15,16}. Významným příkladem této modifikace je molekula desmopresinu (DDAVP, 1-deamino-8-D-arginin-vasopresin), syntetického analogu vasopresinu¹⁷. Ve struktuře desmopresinu je oproti vasopresinu první aminokyselina deaminována a v poloze osm je L-arginin zaměněn D-argininem. DDAVP byl původně schválen pro léčbu diabetu insipidu. DDAVP se nyní pod komerčním názvem Minirin podává intranasálně. Od svého prvního klinického použití v roce 1977 našel DDAVP uplatnění také při léčbě hemofilie nebo Willebrandova syndromu^{18,19}.

Pro zvýšení stability peptidů a zabránění jejich degradaci je další účinnou strategií substituce a přidávání aminokyselin. Maletínská a spol.⁵ nahradili v peptidu uvolňujícím prolaktin (PrRP) v poloze 8 methionin za norleucin, a tím zabránili rychlé oxidaci. Je pozoruhodné, že tato změna aminokyselin neměla žádný vliv na biologickou aktivitu peptidu. Například u stabilního analoga anorexigenního neuropeptidu FF, zvaného 1DMe, je provedeno více modifikací zároveň. Jedná se o substituci L-fenylalaninu v pozici 1 za D-tyrosin a dále byla provedena N-methylace třetí peptidové vazby^{5,20,21}.

N-Methylace spočívá v nahrazení přirozené aminokyseliny N-methyl aminokyselinou. N-Methylace významně zlepšuje farmakologické vlastnosti, jako je biodostupnost po perorálním podání, odolnost vůči enzymatické degradaci a poskytuje lepší stabilitu vůči degradačním enzymům^{22,23}. N-Methylace peptidů má však i své nevýhody, mezi které patří zejména zhoršení afinity některých N-methylovaných peptidů k přirozeným receptorům²⁴.

Poměrně jednoduchá metoda pro zvýšení stability peptidů spočívá v kovalentní cyklizaci peptidů. Nejčastěji se jedná o propojení N- a C-konců peptidu nebo jeho specifických úseků. Tím se vytvoří cyklizovaný hlavní řetězec, případně lze cyklizovat i řetězce postranní. Tato modifikace zvyšuje zejména odolnost vůči proteolytické degradaci^{25–27}.

Inovativní techniky stabilizace peptidů zahrnují také koloidní systémy využívající nanočástice nebo mikročástice. Tyto systémy jsou navrženy tak, aby zapouzdřovaly a chránily peptidy a zároveň napomáhaly jejich cílenému směřování. Částice, které se obvykle využívají pro tyto účely, jsou nejčastěji tvořeny polysacharidy, minerálními oleji nebo lipidy²⁸. Nicméně i polymerní nanočástice hrají důležitou roli při modifikaci peptidových léčiv. Umožňují postupné uvolňování peptidu v průběhu dlouhého časového horizontu, čímž snižují frekvenci dávkování. Enkapsulované peptidy jsou příslibem vyšší terapeutické účinnosti, prodloužené stability a lepší biologické dostupnosti²⁹.

PASylace zahrnuje spojení peptidů a proteinů s hydrofilním polymerem sestávajícím z aminokyselin prolinu, alaninu a/nebo serinu (PAS). Tyto PAS sekvence mají nenabitou, náhodnou spirálovou strukturu, která má hydrofilní vlastnosti. Tato modifikace, podobně jako PEGylace, zvyšuje hydrodynamický objem původní látky, a tím zpomaluje vylučování konjugátu z organismu^{30,31}. PASylované peptidy vykazují vysokou stabilitu v plazmě a nejsou imunogenní³².

Mezi peptidové modifikace vedoucí ke stabilizaci a zlepšení farmakologických vlastností patří i tzv. peptidový stapling. Stapling spočívá ve spojení dvou aminokyselin téhož peptidu, které vytvoří můstek a stabilizují tak helikální strukturu řetězce. Počet těchto můstků není v jedné molekule omezen, naopak u delších peptidů se běžně využívá propojení více aminokyselin, které vytvoří až tři můstky. Propojované aminokyseliny musí být od sebe vzdáleny minimálně o čtyři aminokyselinové jednotky. Peptidy s těmito můstky vykazují významně delší poločas rozpadu³³.

Poslední a velmi důležitou modifikací peptidových léčiv je lipidizace.

3. Lipidizace

Přibližně před třiceti lety bylo publikováno provedení tzv. lipidizace peptidu za účelem zvýšení stability léčiv na bázi peptidů/proteinů³⁴. Lipidizace zahrnuje připojení vhodné lipidové skupiny k peptidu a takto vzniklé produkty se nazývají lipopeptidy. Příkladem přirozeně lipidizovaného peptidu je ghrelin. Ghrelin se syntetizuje v žaludku a je jedinečný svým centrálním působením se silným orexigenním účinkem. Struktura ghreluinu zahrnuje serin acylovaný kyselinou oktanovou, která má zásadní význam pro jeho biologickou aktivitu^{35,36}.

Lipidizace zahrnuje celou řadu různých modifikací, jako je prenylace cysteinu (např. S-geranylgeranylové lipidy), acylace mastnými kyselinami na N-konci nebo postranní skupině aminokyselin (N-palmitoyl, O-palmitoyl, N-myristoyl lipidy), zavedení molekuly cholesterolu, glykosylfosfatidylinositolu (GPI) nebo fosfatidylethanolaminu (PE) do struktury peptidu připojením na C-konec. Tyto modifikace mění původně hydrofilní strukturu na lipofilní. Lipidizace tak může usnadnit průchod modifikovaných

peptidů přes BBB a řadí se mezi peptidové úpravy schválené FDA (cit.^{3,37,38}).

Prenylace je posttranslační modifikace, při níž dojde ke kovalentnímu připojení isoprenové jednotky, nejčastěji na cysteinu (Cys), v blízkosti C-konce proteinu. Tyto jednotky se vážou prostřednictvím thioetherové vazby. Prenylaci lze dále dělit na geranylaci (10 uhlíků, dvě isoprenové jednotky), farnesylaci (15 uhlíků, tři isoprenové jednotky) a geranylgeranylaci (20 uhlíků, čtyři isoprenové jednotky). Nejčastější využívanou vazbou k připojení cysteinového zbytku je thioetherová vazba zprostředkovaná sírou. K navázání na peptid může dojít také v menší míře prostřednictvím atomu kyslíku nebo dusíku. Prenylace poskytuje peptidu lipofilní C-konec, což zvyšuje jeho možnost interakce s buněčnými membránami³⁷. Prenylací peptidů se významně mění jejich farmakologické vlastnosti a často vykazují lepší biologické vlastnosti, což je podnětem k jejich studiu pro potenciální léčebné využití³⁹.

Dalším typem lipidizace je glypiace, při které se k peptidu připojuje glykosylfosfatidylinositolová (GPI) kotva. Jedná se o poměrně běžnou posttranslační modifikaci, která se vyskytuje na C-konci peptidů/proteinů. Proces tvorby zahrnuje signální peptid GPI, při kterém se odštěpí C-konec původního proteinu. Nově vzniklý C-konec se pak spojí s aminoskupinou ethanolaninového zbytku v prekurzoru GPI (cit.^{37,40}). Tato forma lipidizace se obvykle přirozeně vyskytuje v buňkách, konkrétně v endoplazmatickém retikulu. Navzdory jeho přirozenému širokému využití v organismu je laboratorní syntéza proteinů s kotvou GPI velmi komplikovaná⁴¹.

Lipidizace může být také zprostředkována PE kotvou. Jedná se o posttranslační modifikaci, která vzniká kovalentním spojením C-terminálního glycinu na peptidu s aminoskupinou PE pomocí amidové vazby. Tento typ lipidizace je poměrně vzácný a není příliš dobře prozkoumán⁴².

Dalším typem lipidizace je připojení cholesterolu k peptidu. Cholesterol lze k peptidu připojit pomocí esterové či thioesterové vazby, která může být provedena na N-konci, C-konci nebo kdekoli na peptidovém řetězci³⁷.

Nicméně vůbec nejrozšířenější, často nejvýhodnější a nejjednodušší (z pohledu syntézy) formou lipidizace je acylace peptidu mastnými kyselinami. Tato modifikace spočívá v kovalentním připojení různých mastných kyselin k peptidům/proteinům. Rozdíly v délce mastných kyselin vedou k odlišným biochemickým vlastnostem výsledného lipopeptidu. Běžně se používají mastné kyseliny jako kyselina kaprylová (C8), myristová (C14), palmitová (C16) a stearová (C18), přičemž převažují zejména kyseliny myristová a palmitová^{43,44}. Výběr mastné kyseliny, typ vazby spojující mastnou kyselinu s peptidem nebo použití spojky mezi mastnou kyselinou a peptidem významně ovlivňuje finální lipopeptid. Mezi vlastnostmi, které jsou nejvíce změněny, patří vazebná afinita k receptorům a bioaktivita. Lipidizace zahrnuje tři různé typy tvorby lipidových vazeb, amidaci, esterifikaci a S-vazbu (thioetherovou nebo disulfidovou). Zatímco některé z tak-

to vzniklých vazeb jsou velmi robustní, jiné jsou jen omezeně stabilní⁴⁵.

Lipidizace bývá někdy provedena s pomocí spojek, tzv. linkerů mezi lipidovou a peptidovou částí molekuly. Široce používanou spojkou je např. γ -glutamové raménko odvozené od kyseliny glutamové²⁰. Tato spojka může být umístěna na koncích, ale i prakticky kdekoli v struktuře peptidu, často se váže na lysin prostřednictvím sekundární aminoskupiny⁴⁶.

Jiná spojka využívá krátký modifikovaný PEG řetězec (1,13-diamino-4,7,10-trioxadekan-sukcinamová kyselina) a je známá jako tzv. TTDS spojka, obvykle připojena k lysinu²⁰. Byly zkoumány a použity i další spojky pro potenciální použití při lipidizaci peptidů, mimo jiné také kyselina γ -aminomáselná (GABA) nebo spojka v podobě kyseliny 8-amino-3,6-dioxaktanové⁴⁷.

4. Farmakologické vlastnosti lipidizovaných peptidů

Lipidizace výrazně zvyšuje stabilitu peptidů a zlepšuje jejich biologické vlastnosti, což zahrnuje zvýšenou biologickou dostupnost a také možnost inovativních metod podání léčiva.

Lipidizace mění povahu peptidu ve směru zvýšené hydrofobicity, což podporuje silnější vazbu na sérový albumin. Tato interakce napomáhá transportu modifikovaného peptidu do cílových tkání a prodlužuje jeho dobu setrvání v organismu⁴⁸. Délka řetězce mastné kyseliny lipopeptidu významně ovlivňuje vazbu lipopeptidu na albumin. Platí, že čím delší je zbytek navázané mastné kyseliny na peptid, tím je silnější vazba lipopeptidu na sérový albumin. Platí přitom, že lipidizace může být provedena na různých místech peptidového řetězce, aniž by to ovlivnilo vazbu na albumin. Experimentálně bylo ale prokázáno, že aplikace dvou řetězců mastných kyselin na jednom řetězci peptidu může vést ke zdatelné ztrátě biologické účinnosti^{3,49}. Příkladem komerčně velmi úspěšného lipopeptidu s prodlouženým poločasem je liraglutid (Victoza pro léčbu diabetu mellitu 2. typu (T2DM), Saxenda pro léčbu obezity, oboje Novo Nordisk), který má oproti výchozímu nelipidizovanému peptidu GLP-1 biologický poločas několik hodin na rozdíl od minut (cit.⁵⁰).

Obecně léčiva na bázi peptidů lecky vyvolávají imunitní reakci, a to i ta, která jsou strukturálně podobná přírodním lidským peptidům. Výzkum v této oblasti ale ukazuje, že právě lipidizace je účinnou strategií ke snížení imunogenity. Délka připojené mastné kyseliny se ukazuje jako klíčová, protože čím je delší mastná kyselina, tím výraznější bývá snížení uvedeného nežádoucího účinku^{8,50}.

V posledních letech je velká pozornost věnována neuropeptidům, jako je PrRP, peptid CART (kokainem a amfetaminem regulovaný transkript), a zejména agonistům glukagonu podobného peptidu 1 (GLP-1), které jsou zamýšleny k léčbě obezity, T2DM a neurodegenerace^{51,52}. Jako slibné látky se jeví také duální agonisté GLP-1/GIP

a trojití agonisté GLP-1/GIP/glukagonu. Tyto látky jsou zkoumány jako potenciální léčiva v léčbě diabetu mellitu 1. typu (T1DM) a u pacientů s nadváhou/obezitou⁵³. Nicméně přirozené peptidy nemají schopnost procházet přes BBB a následně ovlivňovat mozkové receptory. Lipidizace tuto překážku překonává a umožňuje dosažení centrálních účinků po periferním podání⁵⁴. Například palmitovaný analog PrRP31 (palm¹¹-PrRP31) vykazoval na modelech hlodavců snížení příjmu potravy s následným snížením tělesné hmotnosti. Lipidizace napomáhá peptidům procházet fyziologickými membránami, čímž zvyšuje jejich terapeutický potenciál⁵⁵.

Při používání léčiv na bázi peptidů je dalším častým problémem nízká biologická dostupnost, což je zásadní farmakologická vlastnost, která je neodmyslitelně spjata se způsobem podání. Intravenózní (i.v.) podání poskytuje 100% biologickou dostupnost, zatímco alternativní cesty vedou k jejímu snížení. Lipidizace prokázala schopnost zvýšit biologickou dostupnost, a dokonce zvýšit biologickou dostupnost v centrálním nervovém systému (CNS) po intraperitoneálním podání⁵⁶. Wang a spol. poukázali na další případ zvýšené biologické dostupnosti, kdy lipidizovaný peptid dosáhl čtyřnásobně vyšší biologické dostupnosti při subkutánním podání ve srovnání se svým nemodifikovaným analogem⁵⁷.

5. Komerčně dostupné lipopeptidy

Tato kapitola popisuje lipidizované peptidy, které jsou momentálně dostupné na trhu. Tabulka I shrnuje tyto látky a uvádí jejich použití a formu, v jaké jsou podávány.

Tabulka I
Aktuálně dostupná schválená lipopeptidová terapeutika

Látka	Typ modifikace	Původní molekula	Indikace	Cesta podání	Lit.
Liraglutid	acylace	GLP-1	T2DM obezita	s.c. injekce s.c. injekce	74,75 56
Semaglutid	acylace	GLP-1	T2DM obezita	s.c. injekce/orální tablety s.c. injekce	60,76
Detemir	acylace	insulin	diabetes	s.c. injekce	64
Degludec	acylace	insulin	diabetes	s.c. injekce	77
Xultophy	acylace	insulin + GLP-1	T2DM	s.c. injekce	78
Somapacitan	acylace	lidský růstový hormon	nedostatek růstového hormonu	s.c. injekce	79
Tesamorelin	acylace	lidský hormon vylučující růstový hormon	lipodystrofie způsobená virem HIV	s.c. injekce	80
Tirzepatide	acylace	GLP-1/GIP	T2DM	s.c. injekce	70
Mifamurtid	PE kotva + acylace	muramyl-dipeptid	osteosarkom	i.v. injekce	81
Polymyxin B	acylace		bakteriální infekce	i.v. injekce/inhalace/ topické	82
Daptomycin	acylace		bakteriální infekce	i.v. injekce	83

Liraglutid (Saxenda, Novo Nordisk) je agonistou receptoru peptidu podobného glukagonu-1 (GLP-1), který byl objeven při studiích GLP-1 analogů, které by měly delší poločas rozpadu ve srovnání s přirozeným GLP-1 (2 min)⁵⁸. Struktura liraglutidu má 97% homologii s přirozeným GLP-1. Tyto dva peptidy se liší v aminokyselině na pozici 34, kde je ve struktuře liraglutidu nahrazen lysin za arginin. Liraglutid je lipidizován na pozici 26 kyselinou palmitovou pomocí γ -glutamového raménka. Tyto modifikace vedou k prodloužení poločasu rozpadu na 13 h (v případě s.c. podání). Původně byl liraglutid vyvinut k léčbě T2DM, kdy byl v roce 2010 schválen FDA jako terapeutikum právě pro toto onemocnění. Po jeho zavedení však byly objeveny významné antiobezitní účinky a v roce 2013 byl liraglutid schválen FDA jako antiobezitikum⁵⁹. V obou případech je podáván pomocí injekčního pera⁵⁹.

Semaglutid (Ozempic, Wegovy nebo Rybelsus, Novo Nordisk) je podobně jako liraglutid agonistou receptoru přirozeného GLP-1. Semaglutid má 94% strukturní homologii s přirozeným GLP-1 a obsahuje celkem 3 významné modifikace, kterými jsou: výměna alaninu za kyselinu 2-aminomáselnou v pozici 8, výměna lysinu za arginin v pozici 34 a připojení palmitové kyseliny v pozici 26 pomocí γ -glutamového raménka⁶⁰. Výhodou semaglutidu je jeho prodloužený poločas rozpadu v porovnání s liraglutidem (183 h vs 11–15 h) po s.c. podání. Díky tomu je možné podávání semaglutidu jednou týdně, na rozdíl od liraglutidu, který je podáván jednou denně⁶¹. Primárně byl semaglutid schválen pro léčbu T2DM v podobě s.c. injekce (Ozempic). Následně byla vyvinuta nová formulace v podobě tablet. Tyto tablety obsahují

zesilovač absorpce přes žaludeční epitel a je možná administrace semaglutidu i orální formou (Rybelsus). Podobně jako u liraglutidu byly i v případě semaglutidu u pacientů pozorovány anti-obezitní účinky a semaglutid byl následně schválen FDA i jako antiobezitikum (Wegovy)⁶².

Insulin detemir je analogem přírodního insulínu a obsahuje dvě modifikace: odstranění threoninu v řetězci B na pozici 30 a acylaci pomocí myristové kyseliny na lysinu na pozici B29. Detemir má prodloužený poločas rozpadu ve srovnání s neutrálním Protamine Hagedorn (NPH) insulínem (Novolin N/ Humulin H, Novo Nordisk). Acylace poskytuje prodloužený farmakokinetický a farmakodynamický profil, což vede ke snížené fluktuaci koncentrace glukosy v krevní plasmě. Insulin Detemir byl schválen FDA v roce 2005 je využíván k léčbě T1DM a T2DM s využitím injekčního pera^{63,64}.

Insulin Degludec (Tresiba, Novo Nordisk) je dlouhodobě působícím analogem insulínu, u kterého je v pozici B30 odstraněn threonin a v pozici B29 je na lysin připojena kyselina palmitová. Insulin degludec byl schválen FDA v roce 2005 a je využíván pro léčbu T1DM a T2DM u dětí, dospívajících i dospělých. Díky dlouhému poločasu rozpadu je tento analog podáván pomocí injekčního pera jednou denně^{65,66}.

Na trhu je od roku 2016 také léčivo s názvem IDeg-Lira (Xultophy, Novo Nordisk). Jedná se o léčivý přípravek, který je kombinací fixního poměru bazálního insulínu, insulínu degludecu a liraglutidu. Běžné doporučené denní dávkování je 16 jednotek/ml IDegu a 0,6 mg liraglutidu, podáváno subkutánně pomocí dávkovacího pera. Xultophy lze užívat samostatně nebo v kombinaci s orálními anti-diabetiky⁶⁷.

K léčbě nedostatku růstového hormonu u dospělých a dětí se od roku 2020 využívá somapacitan (Sogroya, Novo Nordisk). Somapacitan je podáván do podkoží jednou týdně. Od přirozené struktury růstového hormonu se liší kromě připojení mastné kyseliny také výměnou jedné aminokyseliny. Tyto změny významně prodlužují poločas rozpadu somapacitanu⁶⁸.

Tesamorelin (Egrifta, Theratechnologies/EMD Serono) je dalším analogem růstového hormonu, který byl na trh uveden v roce 2010. Struktura tesamorelinu je tvořena 44 aminokyselinami a obsahuje zbytek kyseliny *trans*-3-hexenové, která je zodpovědná za prodloužený poločas rozpadu. Tesamorelin je využíván při léčbě HIV-infekčních pacientů podstupujících anti-retrovirovou terapii, u kterých má za úkol snižovat nadměrnou hladinu břišního viscerálního tuku a zlepšovat tělesné abnormality⁶⁹.

V roce 2022 byl na trh uveden Tirzepatide (Mounjaro, Eli Lilly) jako léčivo T2DM. Jedná se o duálního GLP-1/GIP agonistu, který se momentálně nachází také ve třetí fázi klinického testování pro léčbu selhání srdce, obezitu a kardiovaskulární potíže spojené s T2DM (cit.⁷⁰).

Při léčbě osteosarkomu se od roku 2009 společně s chemoterapií využívá léčivo mifamurtid (Mepact, Takeda), které je známé také jako lipozomální muramyl-tripeptid-fosfatidylethanolamin (L-MPT-PE). Schválení

mifamurtidu vedlo ke snížení počtu úmrtí pacientů s osteosarkomem o jednu třetinu. Struktura mifamurtidu obsahuje PE kotvu a dvě palmitové kyseliny, díky kterým je zvýšená lipofilicita molekuly a prodloužen poločas rozpadu⁷¹.

Metamycin (Pola Pharma), Polymyxin B (Fuji Yakuhin), Poly-RX (X-Gen) a mnoho dalších jsou komerčními názvy pro polymyxin B. Tento léčivý přípravek byl schválen původně v USA v roce 1964 a v Evropě je schválen od roku 2015 a to pouze pro topické podání. Lipopeptid polymyxin B je antibiotikum izolované z *Bacillus polymyxa*, jehož struktura obsahuje různé mastné kyseliny. Polymyxin B se využívá k léčbě infekcí renálního traktu či CNS (cit.⁷²).

Daptomycin (Cubicin, Pfizer) je lipopeptidové antibiotikum produkované bakterií *Streptomyces roseosporus*. Struktura daptomycinu obsahuje kyselinu oktanovou, která je připojena k *N*-koncové části peptidu. Tato látka se využívá k léčbě infekcí způsobených gram-pozitivními bakteriemi a byla schválena FDA v roce 2003 (cit.⁷³).

6. Závěr

Léčiva na bázi peptidů se stala slibnou skupinou chemických látek pro léčbu různých onemocnění, a to hlavně díky relativně snadné syntéze a dobré vazbě na důležité receptory. Nicméně navzdory těmto výhodám přírodní peptidy často trpí nízkou stabilitou *in vivo* a neprostupností přes buněčné membrány. Tato významná omezení ovšem lze překonat jejich vhodnou modifikací, jako je PEGylace, glykosylace, substituce aminokyselin, enkapsulace nanočásticemi, cyklizace, *N*-methylace a lipidizace. Uvedené modifikace často podstatně zlepšují farmakologické účinky peptidů. Lipidizace může být realizována mnoha způsoby, které byly výše diskutovány, nicméně v současnosti nejvyužívanější je acylace peptidů mastnými kyselinami. Takto modifikované lipopeptidy vykazují podstatně zvýšenou stabilitu v organismu a sníženou imunogenitu. V posledních letech došlo k výraznému pokroku ve vývoji peptidových léčiv. Cesty ke stabilizaci peptidů jsou stále rozmanitější, což z lipopeptidů činí velmi slibné kandidáty pro léčbu mnoha různých onemocnění. Díky jejich výhodným vlastnostem se již na trhu nachází řada lipopeptidů a mnoho dalších je v klinických či preklinických zkouškách.

Tato práce byla podpořena projekty RVO: 61388963 a RVO: 67985823 Akademie věd České republiky.

LITERATURA

- Ghatage T., Goyal S. G., Dhar A., Bhat A.: *Hypertens. Res.* 44, 740 (2021).
- Jahandideh F., Wu J.: *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2192 (2020).
- Menacho-Melgar R., Decker J. S., Hennigan J. N., Lynch M. D.: *J. Control. Release* 295, 1 (2019).

4. Goodwin D., Simerska P., Toth I.: *Curr. Med. Chem.* **19**, 4451 (2012).
5. Maletínská L. a 13 spoluautorů: *Int. J. Obes.* **39**, 986 (2015).
6. Mikulášková B., Maletínská L., Zicha J., Kuneš J.: *Mol. Cell. Endocrinol.* **436**, 78 (2016).
7. Myšková A., Sýkora D., Kuneš J., Maletínská L.: *Drug Deliv.* **30**, 2284685 (2023).
8. Kowalczyk R., Harris P. W., Williams G. M., Yang S.-H., Brimble M. A.: *Peptides and peptide-based biomaterials and their biomedical applications*. Springer, New York City 2017.
9. Resh M. D.: *Prog. Lipid Res.* **63**, 120 (2016).
10. Veronese F. M., Pasut G.: *Drug Discov. Today* **10**, 1451 (2005).
11. Harris J. M., Chess R. B.: *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**, 214 (2003).
12. Hermanson T., Bennett C. L., Macdougall I. C.: *Expert Opin. Drug Saf.* **15**, 1421 (2016).
13. Solá R. J., Griebenow K.: *BioDrugs* **24**, 9 (2010).
14. Jayaprakash N. G., Surolia A.: *Biochem. J.* **474**, 2333 (2017).
15. Mahalakshmi R., Balaram P.: *D-Amino acids*. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York City 2006.
16. Molhoek E. M., Van Dijk A., Veldhuizen E. J., Haagsman H. P., Bikker F. J.: *Peptides* **32**, 875 (2011).
17. Vávra I., Machová A., Holeček V., Cort J. H., Zaoral M., Sorm F.: *Lancet* **291**, 948 (1968).
18. Karanth L., Barua A., Kanagasabai S., Nair N. S.: *Cochrane Database Syst. Rev.* **2**, CD009824 (2019).
19. Lee W. P., Lippe B. M., La Franchi S. H., Kaplan S. A.: *Am. J. Dis. Child.* **130**, 166 (1976).
20. Pražienková V., Popelová A., Kuneš J., Maletínská L.: *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 5297 (2019).
21. Mazarguil H., Gouardères C., Tafani J.-A. M., Marcus D., Kotani M., Mollereau C., Roumy M., Zajac J.-M.: *Peptides* **22**, 1471 (2001).
22. Sharma A., Kumar A., Abdel Monaim S. A., Jad Y. E., El-Faham A., de la Torre B. G., Albericio F.: *Biopolymers* **109**, e23110 (2018).
23. Biron E., Chatterjee J., Ovadia O., Langenegger D., Brueggen J., Hoyer D., Schmid H. A., Jelinek R., Gilon C., Hoffman A.: *Angew. Chem., Int. Ed.* **47**, 2595 (2008).
24. Gazdik M., O'Neill M. T., Lopaticki S., Lowes K. N., Smith B. J., Cowman A. F., Boddey J. A., Sleebs B. E.: *Med. Chem. Commun.* **6**, 437 (2015).
25. Purkayastha A., Kang T. J.: *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **24**, 702 (2019).
26. Qvit N., Rubin S. J., Urban T. J., Mochly-Rosen D., Gross E. R.: *Drug Discov. Today* **22**, 454 (2017).
27. Zhang R.-Y., Thapa P., Espiritu M. J., Menon V., Bingham J.-P.: *Bioorg. Med. Chem.* **26**, 1135 (2018).
28. McClements D. J.: *Adv. Colloid Interface Sci.* **219**, 27 (2015).
29. Yadav S. C., Kumari A., Yadav R.: *Peptides* **32**, 173 (2011).
30. Binder U., Skerra A.: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **31**, 10 (2017).
31. Zvonova E. A. a 12 spoluautorů: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **101**, 1975 (2017).
32. Zhang Q., Li S., Wu W., Xia X., Zhang J.: *Nanomedicine: NBM* **47**, 102622 (2023).
33. Moiola M., Memeo M. G., Quadrelli P.: *Molecules* **24**, 3654 (2019).
34. Pardridge W. M.: *Pharmacol. Toxicol.* **71**, 3 (1992).
35. Maletínská L., Pýchová M., Holubová M., Blechová M., Demianová Z., Elbert T., Železná B.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **340**, 781 (2012).
36. Zemenova J., Sykora D., Adamkova H., Maletinska L., Elbert T., Marek A., Blechova M.: *J. Sep. Sci.* **40**, 1032 (2017).
37. Hanna C. C., Kriegesmann J., Dowman L. J., Becker C. F., Payne R. J.: *Angew. Chem., Int. Ed.* **61**, e202111266 (2022).
38. Erak M., Bellmann-Sickert K., Els-Heindl S., Beck-Sickinger A. G.: *Bioorg. Med. Chem.* **26**, 2759 (2018).
39. Alhassan A. M., Abdullahi M. I., Uba A., Umar A.: *Trop. J. Pharm. Res.* **13**, 307 (2014).
40. Ikezawa H.: *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 409 (2002).
41. Zhu S., Guo Z.: *Org. Lett.* **19**, 3063 (2017).
42. Ichimura Y., Kirisako T., Takao T., Satomi Y., Shimonishi Y., Ishihara N., Mizushima N., Tanida I., Kominami E., Ohsumi M.: *Nature* **408**, 488 (2000).
43. Hannoush R. N., Sun J.: *Nat. Chem. Biol.* **6**, 498 (2010).
44. Magee T., Seabra M. C.: *Curr. Opin. Cell Biol.* **17**, 190 (2005).
45. Zhang L., Bulaj G.: *Curr. Med. Chem.* **19**, 1602 (2012).
46. Hutchinson J. A., Burholt S., Hamley I. W., Lundback A.-K., Uddin S., Gomes dos Santos A., Reza M., Seitsonen J., Ruokolainen J.: *Bioconjugate Chem.* **29**, 2296 (2018).
47. De Prins A., Van Eeckhaut A., Smolders I., Tourvé D., Ballet S.: *Curr. Med. Chem.* **27**, 39 (2019).
48. Wang J., Wu D., Shen W.-C.: *Pharm. Res.* **19**, 609 (2002).
49. Holubová M., Blechová M., Kákonová A., Kuneš J., Železná B., Maletínská L.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **366**, 422 (2018).
50. Drucker D. J., Dritselis A., Kirkpatrick P.: *Nat. Rev. Drug Discovery* **9**, 267 (2010).
51. Maletínská L., Maixnerová J., Matyšková R., Haugvicová R., Pirník Z., Kiss A., Železná B.: *BMC Neuroscience* **9**, 101 (2008).
52. Popelová A., Kákonová A., Hrubá L., Kuneš J., Maletínská L., Železná B.: *Phys. Res.* **67**, 339 (2018).
53. Tan T. M.-M.: *Nat. Rev. Endocrinol.* **19**, 66 (2023).
54. Zemenová J., Sýkora D., Freislebenová A., Maletínská L.: *Bioanalysis* **9**, 1319 (2017).
55. Mráziková L., Neprašová B., Mengr A., Popelová A., Strnadová V., Holá L., Železná B., Kuneš J., Maletínská L.: *Front. Pharmacol.* **12**, 779962 (2021).
56. Toutain P.-L., Bousquet-mélou A.: *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **27**, 455 (2004).

57. Wang J., Chow D., Heiati H., Shen W.-C.: *J. Controlled Release* 88, 369 (2003).
58. Mehta A., Marso S. P., Neeland I.: *Obes. Sci. Pract.* 3, 3 (2017).
59. Ng S. Y. A., Wilding J. P.: *Expert Opin. Biol. Ther.* 14, 1215 (2014).
60. Christou G. A., Katsiki N., Blundell J., Fruhbeck G., Kiortsis D. N.: *Obes. Rev.* 20, 805 (2019).
61. Trier S., Linderoth L., Bjerregaard S., Strauss H. M., Rahbek U. L., Andresen T. L.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 96, 329 (2015).
62. Bergmann N. C., Davies M. J., Lingvay I., Knop F. K.: *Diabetes Obes. Metab.* 25, 18 (2023).
63. Athanasiadou K. I., Paschou S. A., Stamatopoulos T., Papakonstantinou E., Haidich A.-B., Goulis D. G.: *Diabetes Res. Clin. Pract.* 190, 110020 (2022).
64. Home P., Kurtzhals P.: *Expert Opin. Pharmacother.* 7, 325 (2006).
65. Steensgaard D. B., Schluckebier G., Strauss H. M., Norrman M., Thomsen J. K., Friderichsen A. V., Havelund S., Jonassen I.: *Biochemistry* 52, 295 (2013).
66. Marso S. P., McGuire D. K., Zinman B., Poulter N. R., Emerson S. S., Pieber T. R., Pratley R. E., Haahr P.-M., Lange M., Brown-Frandsen K.: *N. Engl. J. Med.* 377, 723 (2017).
67. Rodbard H. W., Buse J. B., Woo V., Vilsbøll T., Langbakke I. H., Kvist K., Gough S. C. L.: *Diabetes Obes. Metab.* 18, 40 (2016).
68. Säwendahl L., Battelino T., Brod M., Højby Rasmussen M., Horikawa R., Juul R. V., Saenger P.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 105, e1847 (2020).
69. Mateo M. G., Gutiérrez M. d. M., Domingo P.: *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 6, 21 (2011).
70. Syed Y. Y.: *Drugs* 82, 1213 (2022).
71. Meyers P. A.: *Expert Rev. Anticancer Ther.* 9, 1035 (2009).
72. DrugBank: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00781>, staženo 5. 4. 2023.
73. FDA: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-572_Cubicin.cfm, staženo 26. 8. 2023.
74. Iepsen E. W., Torekov S. S., Holst J. J.: *Expert Rev. Cardiovas. Ther.* 13, 753 (2015).
75. NovoNordisk: <https://www.novonordisk-us.com/media/news-archive/news-details.html?id=39225>, staženo 27. 8. 2023.
76. FDA: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-drug-treatment-chronic-weight-management-first-2014>, staženo 6. 4. 2021.
77. Traynor K.: *Am. J. Health Syst. Pharm.* 72, 1834 (2015).
78. Steyn L.: *SA Pharm. J.* 89, 36 (2022).
79. FDA: <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/fda-approves-weekly-therapy-adult-growth-hormone-deficiency>, staženo 9. 1. 2023.
80. Stanley T. L., Fourman L. T., Feldpausch M. N., Purdy J., Zheng I., Pan C. S., Aepfelbacher J., Buckless C., Tsao A., Kellogg A.: *The Lancet HIV* 6, e821 (2019).
81. Frampton J. E.: *Pediatric Drugs* 12, 141 (2010).
82. Moffatt J. H., Harper M., Boyce J. D.: *Polymyxin antibiotics: From laboratory bench to bedside*. Springer, New York City 2019.
83. Heidary M., Khosravi A. D., Khoshnood S., Nasiri M. J., Soleimani S., Goudarzi M.: *J. Antimicrob. Chemother.* 73, 1 (2017).

A. Myšková^{a,b}, D. Sýkora^a, J. Kuneš^{b,c}, and L. Maletínská^b (^a Department of Analytical Chemistry, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic, ^b Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, CAS, Prague, Czech Republic, ^c Institute of Physiology, CAS, Prague, Czech Republic): **Lipidization as a Tool for Peptide Drug Development**

Peptide therapeutics are becoming increasingly important in the quest for effective compounds to treat various difficult-to-cure diseases. As potential therapeutics, peptides have many favorable chemical and pharmacological properties, ranging from their great diversity to their high affinity to various types of natural receptors. However, despite these and other advantages, they also have their pitfalls, such as a very limited stability in the organism. They have a short half-life and tend to be excreted from the body very quickly. In order to achieve a better pharmacological effect, it is desirable to find new means of modifying peptides to enable them to be used as effective drugs. There are many ways of altering the peptide structure. In this review, we summarize the approaches currently used to modify the peptide constitution with a focus on lipidization. Simultaneously this review summarizes all lipidized peptide-based therapeutics that are currently on the market.

Keywords: peptide therapeutics, peptide structure modification, lipidization

Acknowledgements

This work was supported by RVO: 61388963 and RVO: 67985823 projects of the Academy of Sciences of the Czech Republic.



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.