

Terapeutické peptidy

Rozdělení v současnosti používaných terapeutických peptidů

1. Hormony

1.1 Liberiny a statiny („releasing“ & „inhibiting“)

1.2. Somatotropin

1.3 Oxytocin, vasopresin a jejich analogy

1.4 Insuliny a glukagon

1.5 Kalcitonin

1.5 Krevní faktory erythropoetinového typu

1.6 Imunomodulátory – faktory stimulující kolonie

1.7 Imunomodulátory - interferony

2. Toxiny

3. Faktory srážení krve a koagulancia

4. Antibiotika

Jedno- a třípísmenné symboly L- α -aminokyselin

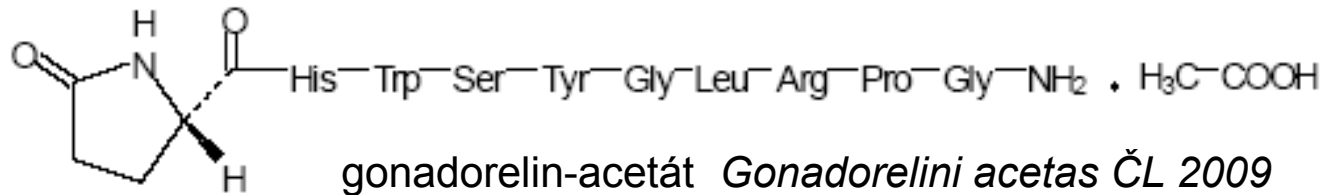
Jednopísmenný	Třípísmenný	
A	Ala	alanin
B	Asx	asparagová kys. nebo asparagin
C	Cys	cystein
D	Asp	asparagová kys.
E	Glu	glutamová kys.
F	Phe	fenylalanin
G	Gly	glycin
H	His	histidin
I	Ile	isoleucine
K	Lys	lysin
L	Leu	leucin
M	Met	methionin
N	Asn	asparagin
P	Pro	prolin
Q	Gln	glutamin
R	Arg	arginin
S	Ser	serin
T	Thr	threonin
U	Sec	selenocystein
V	Val	valin
W	Trp	tryptofan
X	Xaa	neznámá nebo „jiná“ aminokyselina
Y	Tyr	tyrosin
Z	Glx	glutamová kys. nebo glutamin (nebo látky jako 4-karboxyglutamová kys. nebo 5-oxoprolin)

1. Hormony

1.1 Liberiny a statiny („releasing“ & „inhibiting“)

Gonadorelin a jeho analogy

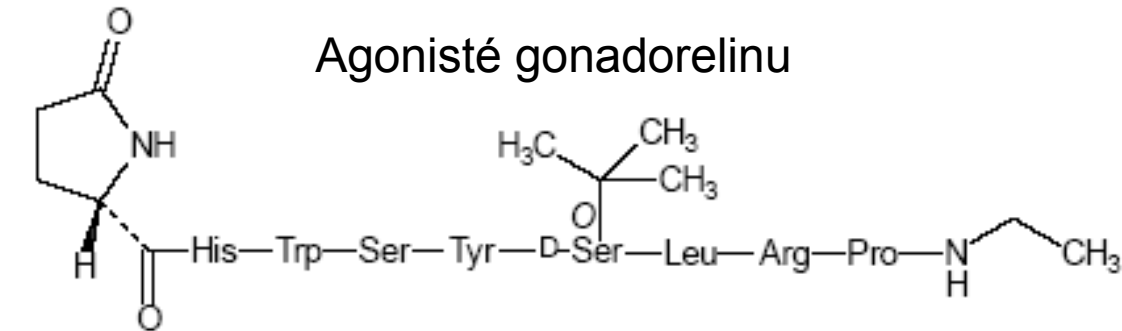
- hormon hypothalamu
- stimuluje uvolňování folikuly stimulujícího hormonu a luteinizačního hormonu z hypofýzy



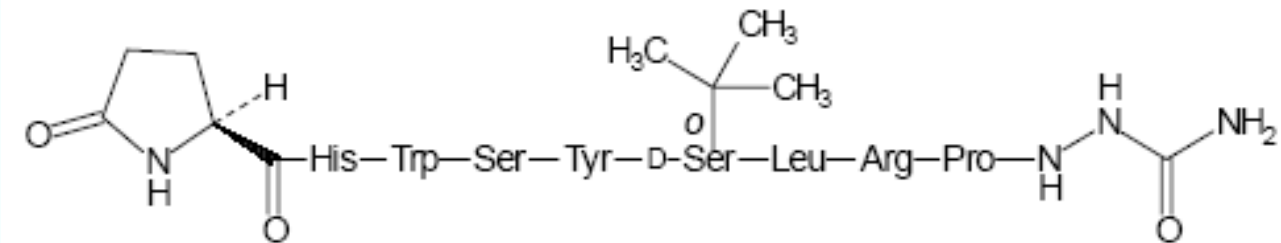
$C_{57}H_{79}N_{17}O_{15}$

M_r 1242,35

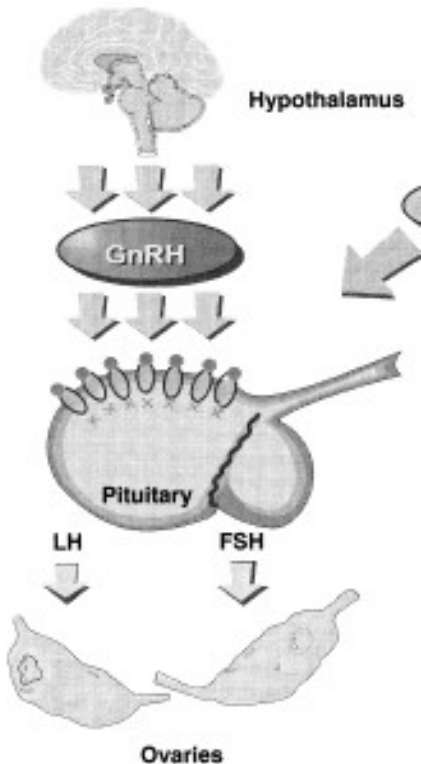
Agonisté gonadorelinu



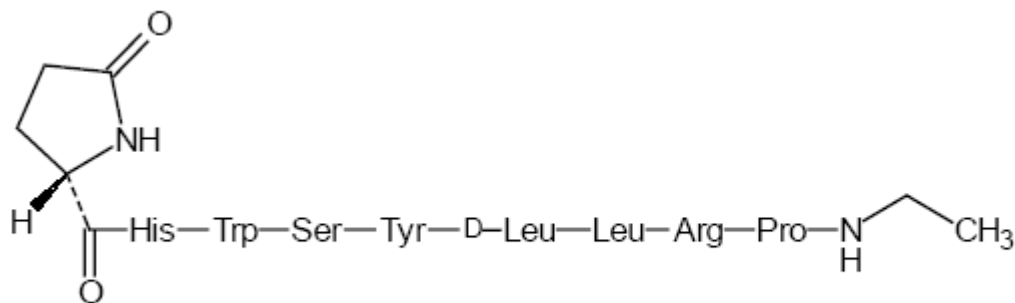
buserelin *Buserelinum* ČL 2009



goserelin *Goserelinum* ČL 2009



Gonadorelin a jeho analogy Agonisté



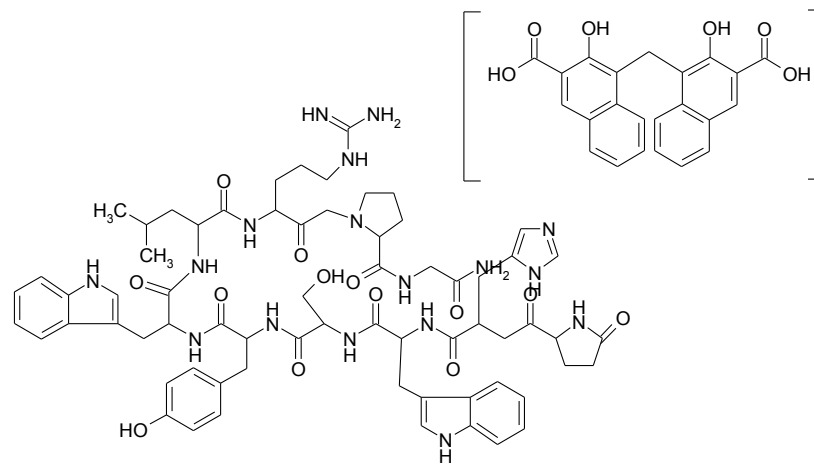
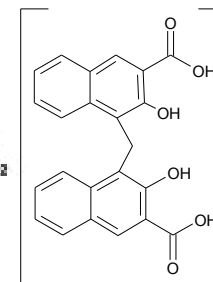
$C_{59}H_{84}N_{15}O_{12}$

M_r 1209,40

CAS 53714-56-0

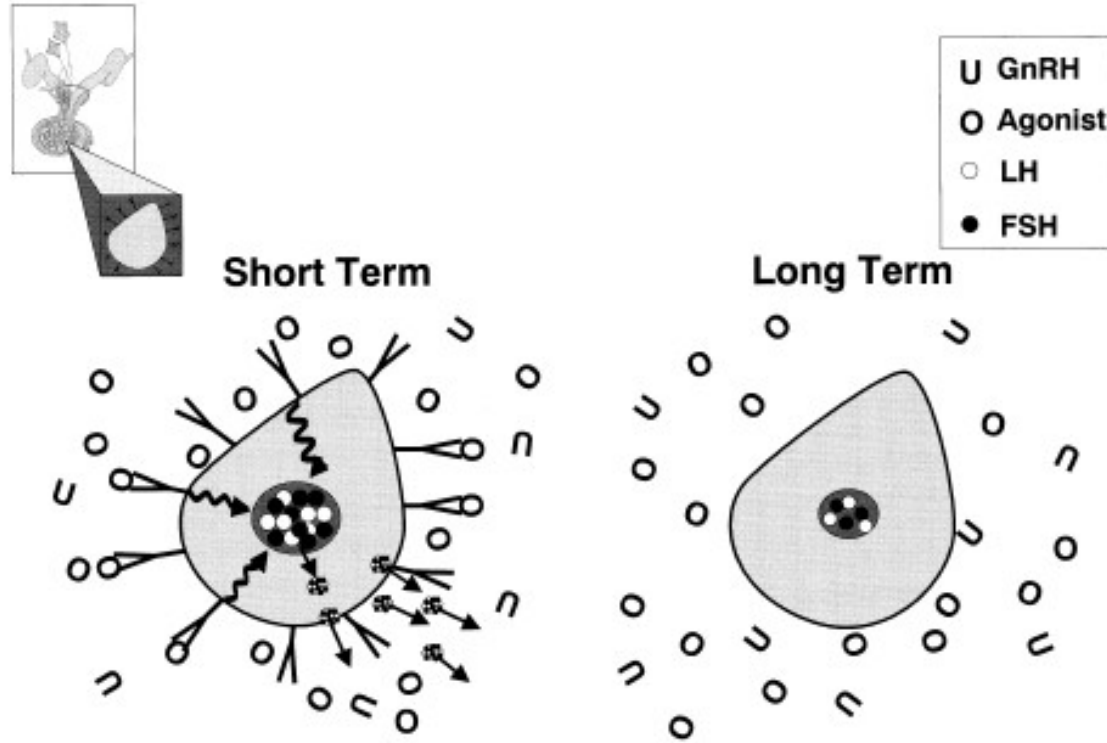
leuprorelin (syn. leuprolid) *Leuprorelinum* ČL2009

Trelstar™ (triptorelin pamoate)



Krátkodobé a dlouhodobé působení agonistů gonadorelinu

Effects of GnRH agonist.



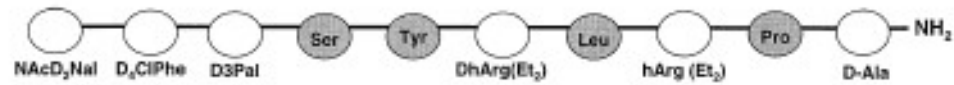
Analoga gonadorelinu Antagonisté gonadorelinu

The GnRH antagonists.

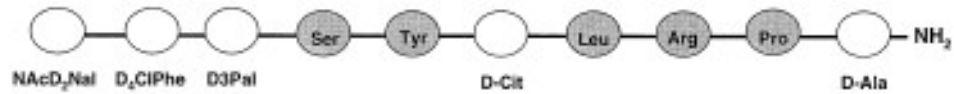
GnRH



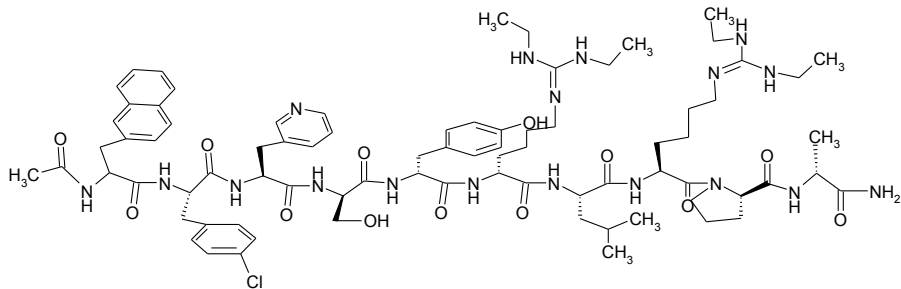
Antagon™ (ganirelix acetate)



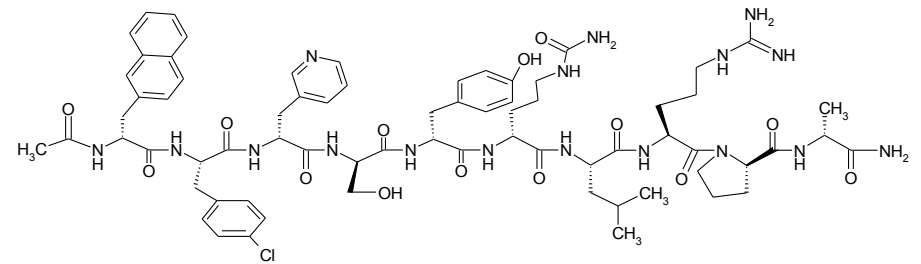
Cetrotide® (cetorelix acetate)



Amino Acid Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	NAcD ₂ Nal	D ₂ ClPhe	D ₃ Pai	Ser	Tyr	D-Cit	Leu	Arg	Pro	D-Ala



ganirelix



cetorelix

Gonadorelin a jeho analogy

- příprava: chemická syntéza
- použití: především asistovaná reprodukce
- výhody analogů: podstatně větší stabilita \Rightarrow delší eliminační poločas \Rightarrow
 \Rightarrow možnost podávat v podstatně delších intervalech; injekce agonisty nahradí infuzi gonadorelinu

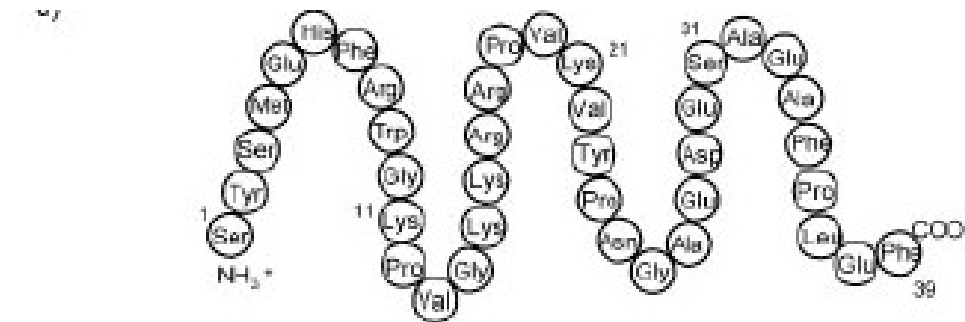
Vztahy mezi strukturou a aktivitou

- záměna glycinu v pozici 6 za objemnější AK vede ke zvýšení stability
- sekvence prvních 3 AK nutná pro vazbu na receptor a pro agonistický účinek; u agonistů zachována, antagonisté mají změněnou za 3 nefyziol. AK, važí se na GnRH

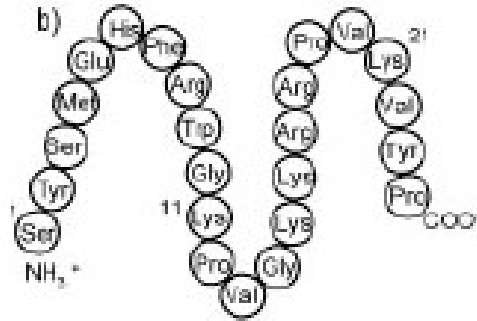
Kortikotropin a jeho analogy

Kortikotropin = ACTH; hormon hypofýzy stimulující tvorbu gluko- a mineralokortikoidů v kůře nadledvinek a růst těchto žláz

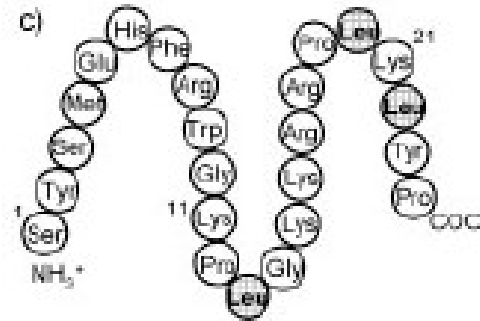
- polypeptid z 39 AK; prvních 24 totožných u všech druhů
- prvních 24 AK odpovídá za biol. aktivitu, koncových 15 AK za imunospécifitu



kortikotropin



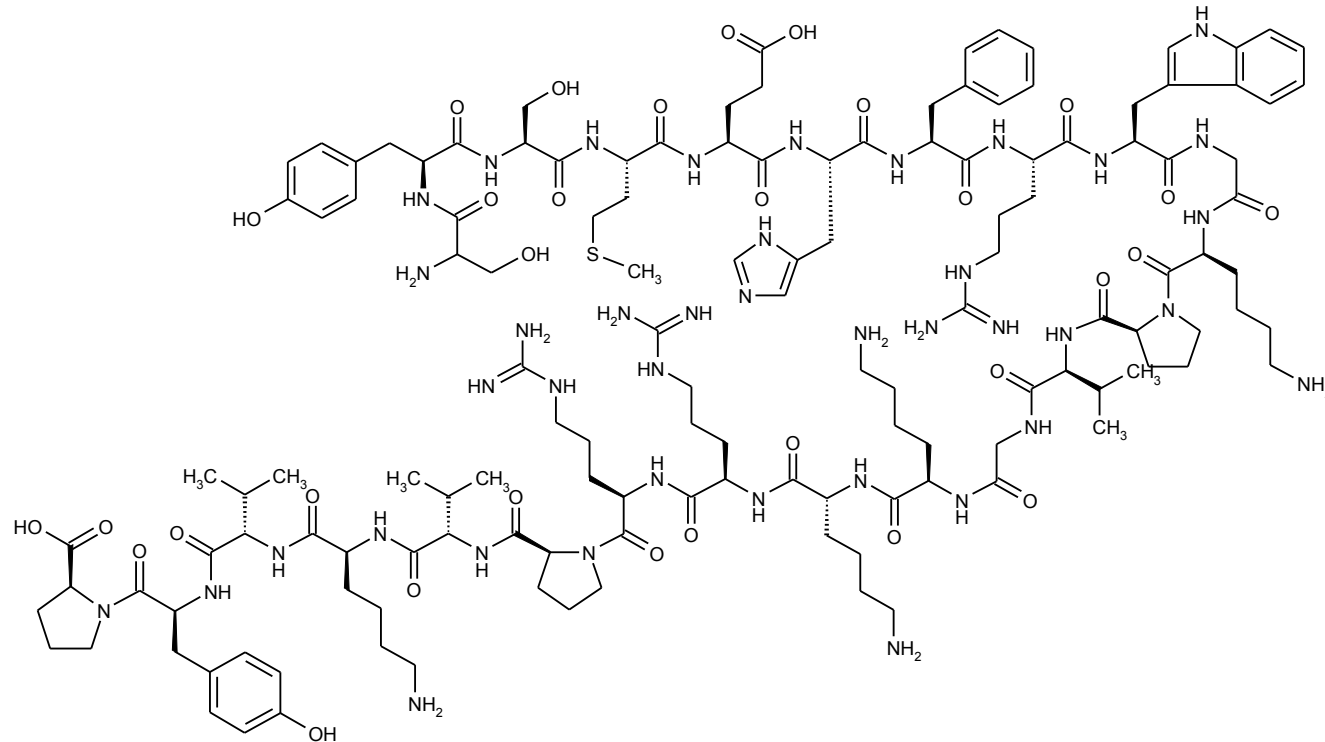
tetrakosaktid
syn. cosyntropin [USAN]
Tetracosactidum ČL 2009
Synacten®



SynVL
• látka používaná jako standard k MS identifikaci tetrakosktidu

Použití kortikotropinu a tetrakosaktidu

- diagnostika funkce nadledvinek
- substituční terapie při nedostatku glukokortikoidů
- náhrada depotního podávání glukokortikoidů při dlouhodobé terapii

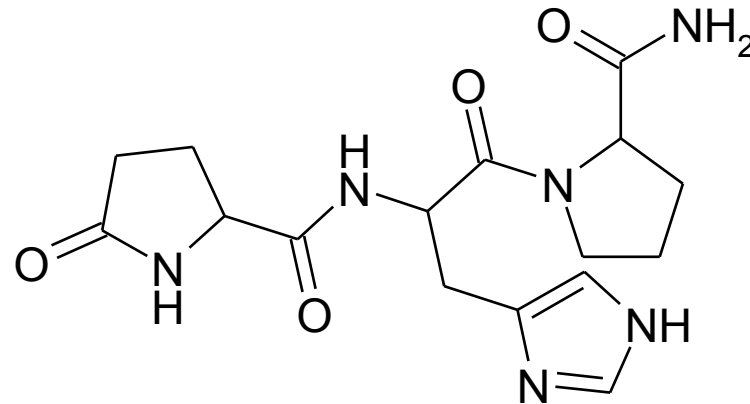


tetrakosaktid

- používán od r. 1961
- připravován synteticky
- zneužíván sportovci k doping

Protirelin – syntetický thyreotropin-releasing hormone (TRH)

- hormon hypothalamu, stimulující tvorbu thyreotropinu v hypofýze a prolaktinu
- též neurotransmitter v CNS, podílí se na regulaci příjmu potravy, reguluje energetický metabolismus aj,



protirelin

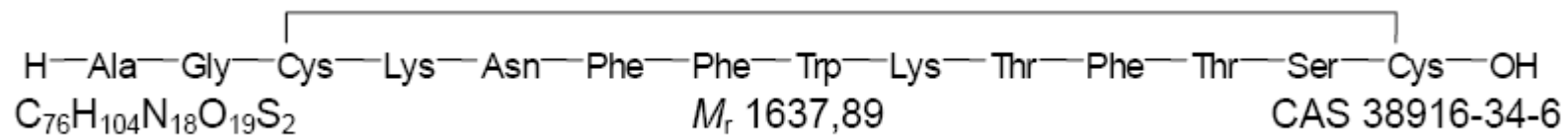
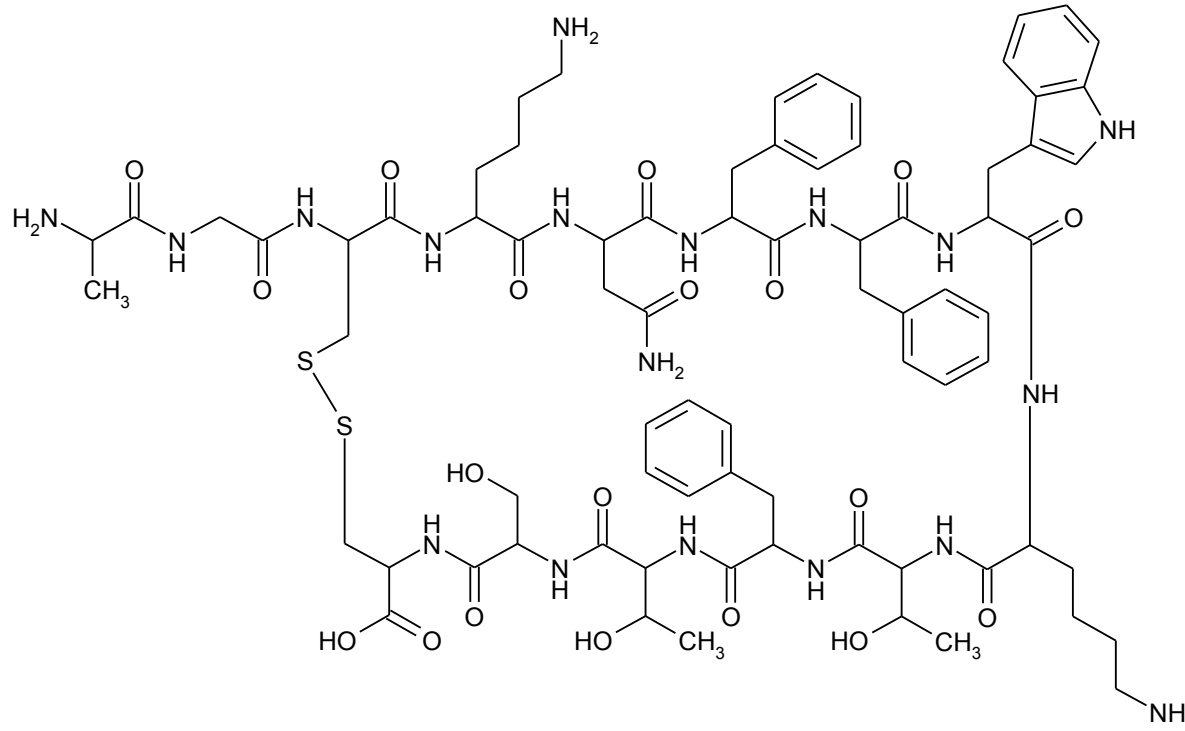
5-oxopropyl-histidyl-prolinamid

Protirelinum ČL 2009

- struktura objasněna r. 1969, používán od r. 1976
- podáván p.o.
- používán jako posilovač kognitivních funkcí k terapii následků poškození mozku a míchy a neurodegenerativních onemocnění (Alzheimer, Parkinson, motorická neuronální choroba aj.)

Somatostatin

- cyklický tetradekapeptid tvořený zejména v hypothalamu
- inhibuje tvorbu růstového hormonu (somatotropinu) v hypofýze
- ovlivňuje funkci ledvin, pankreatu a GITu
- též neurotransmitter v CNS („neuropeptid“)



somatostatin

Somatostatinum ČL 2009

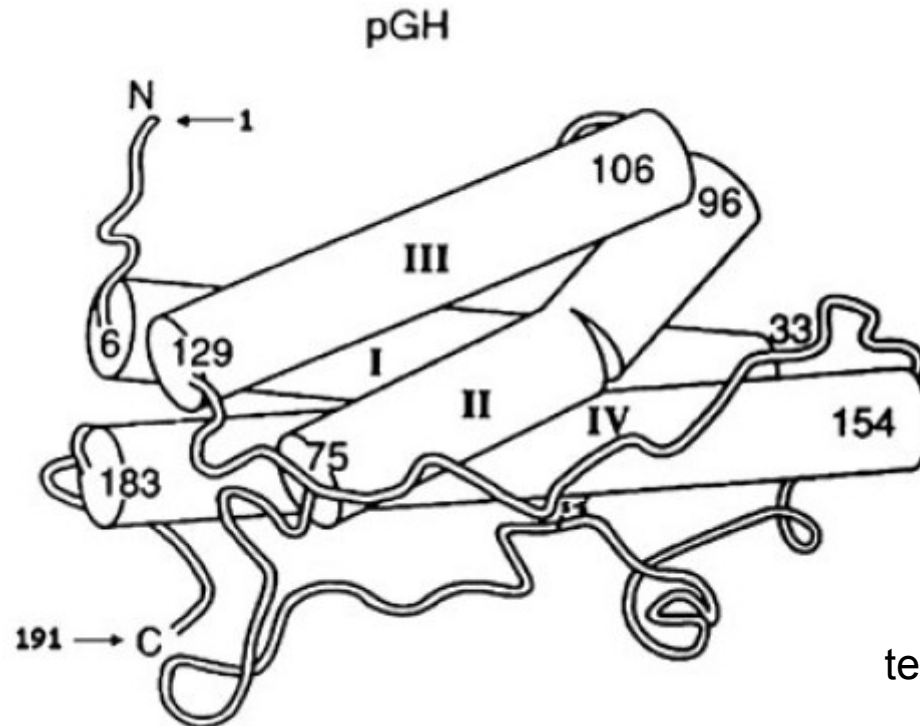
Somatostatin-UCB® inf.

- připravován synteticky
- terapie akromegalie

1.2 Somatotropin

= růstový hormon (GH)

- peptid ze 191 AK vylučovaný v předním laloku hypofýzy
- stimuluje mitózu, růst buněk a diferenciaci buněk určitých tkání
- ovlivňuje expresi genů a metabolismus
- sekvence AK známá od r. 1972, sekvence nukleotidů kódujícího genu od r. 1977



terciární struktura prasečího GH

somatotropin

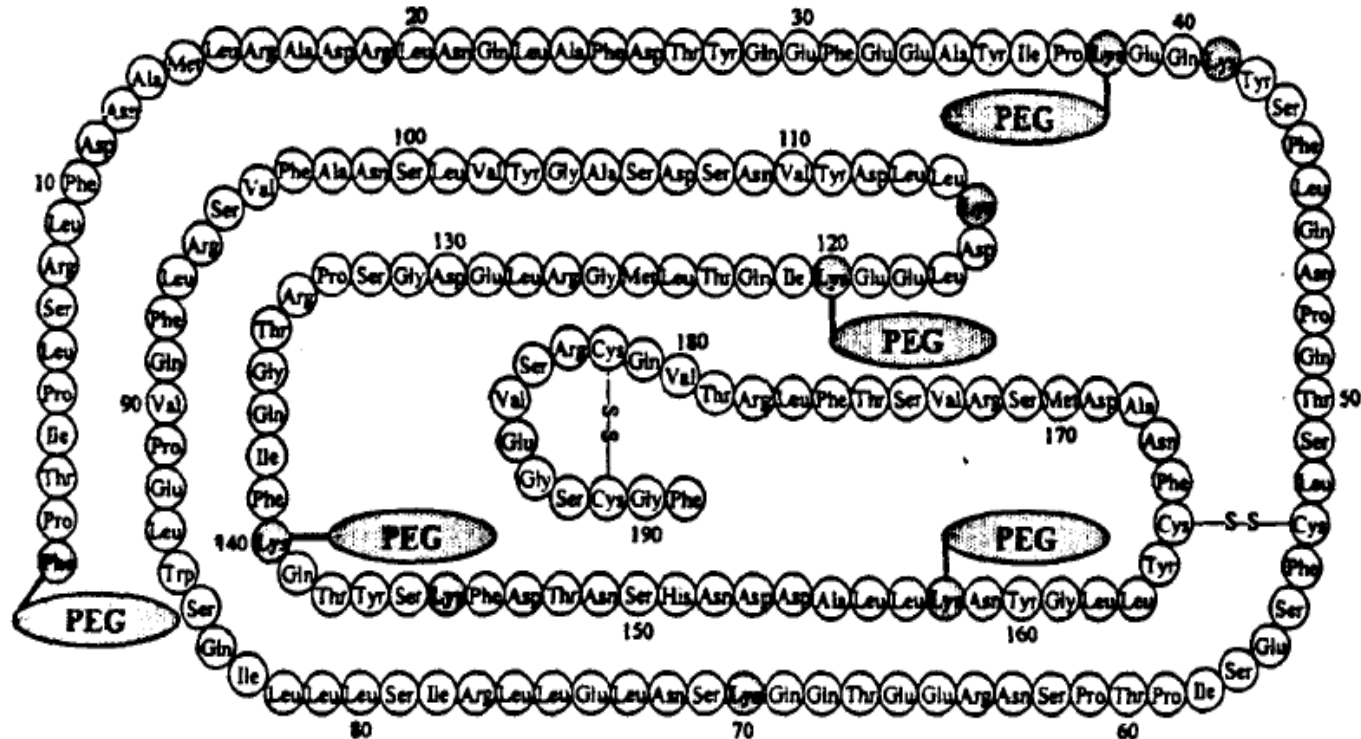
Somatropinum ČL2009

- lidský, připravený rekombinantní technikou používán od r. 1985
- substituční terapie při deficitu přirozeného GH

```
1 MATGSRTSLL LAFGLLCLPW LQEGSAFPTI PLSRLFDNAM LRAHRLHQLA FDTYQEFEEA YIPKEQKYSF LQNPQTSLCF SESIPTPSNR EETQQKSNLE 100
101 LLRISLLLIQ SWLEPVQFLR SVFANSLVYG ASDSNVYDLL KDLEEGIQTL MGRLEDGSPR TGQIFKQTYS KFDNTSHNDD ALLKNYGLLY CFRKDMDKVE 200
201 TFLRIVQCRS VEGSCGF
```

Analoga somatotropinu (růstového hormonu)

Amino Acid Sequence of Pegvisomant Protein

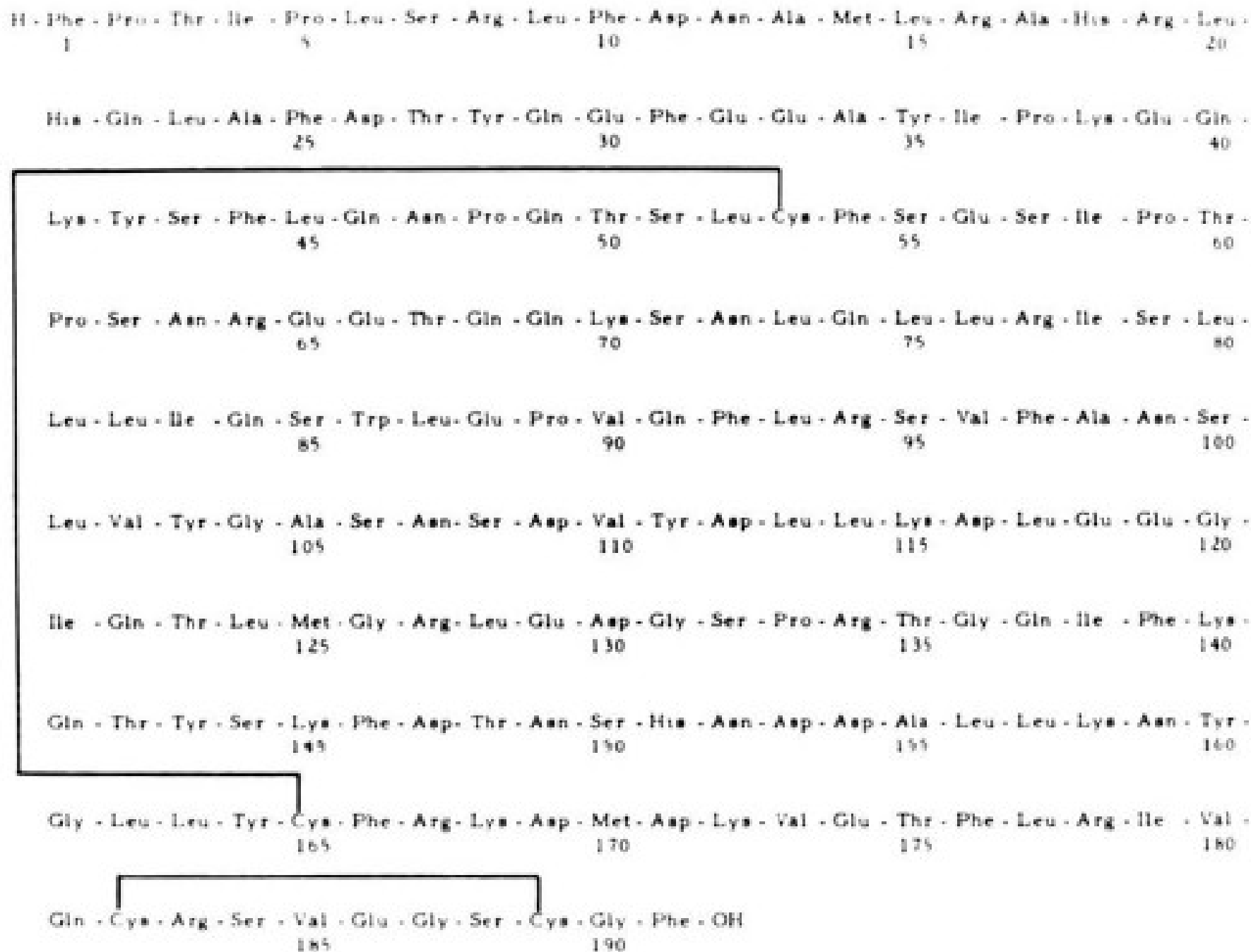


* Stippled residues indicate PEG attachment sites (Phe₁, Lys₃₈, Lys₄₁, Lys₇₀, Lys₁₁₅, Lys₁₂₀, Lys₁₄₀, Lys₁₄₅, Lys₁₅₈)

pegvisomant

- analog – antagonist lidského růstového hormonu (GH), v němž je Gly v pozici 120 nahrazen Lys, přidáno 8 AK pro lepší vazbu na receptor a je pegylován na Phe v pol. 1 a na 8 Lys
- připravován rekombinantní technikou a následnou reakcí s oxiranem (polyadice)
- pegylace snižuje antigenicitu a prodlužuje biologický poločas
- použití: léčba akromegalie

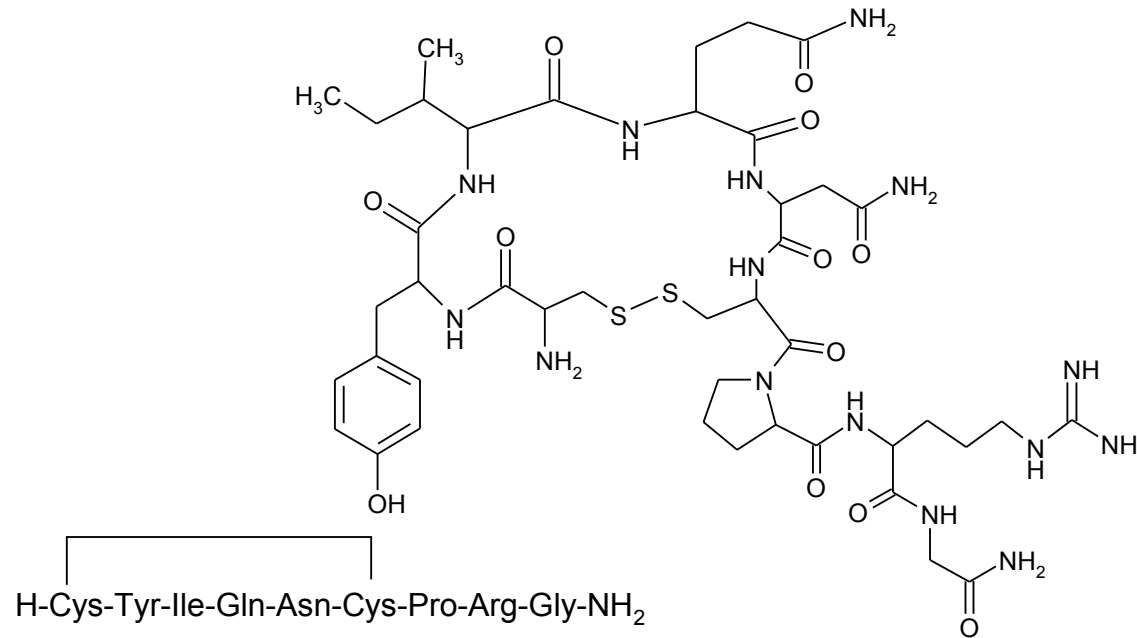
Primární struktura lidského somatotropinu



1.3 Oxytocin, vasopresiny a jejich analogy

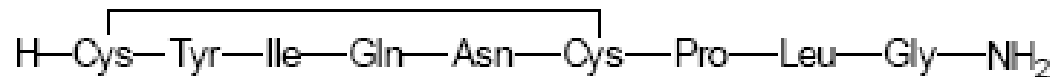
Vasotocin

= fylogenetický prekurzor oxytocinu i vasopressinů u nižších organismů než savců



Oxytocin

- cyklický nonapeptid vylučovaný zadním lalokem hypofýzy
- stimuluje kontrakce dělohy a vylučování mléka u savců



C₄₃H₆₆N₁₂O₁₂S₂

M_r 1007,19

CAS 50-56-6

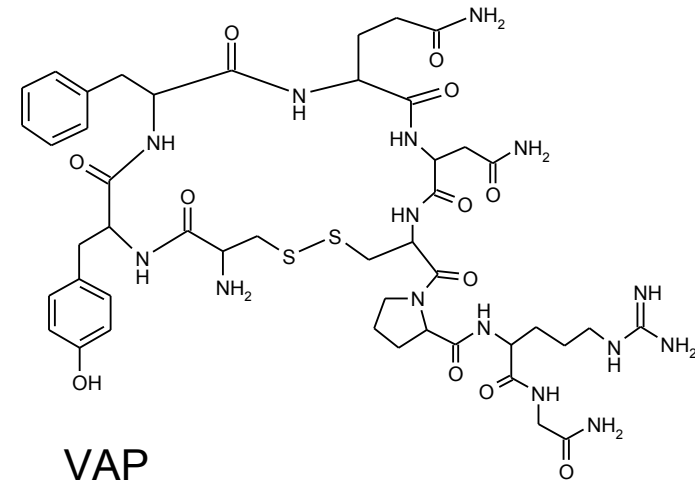
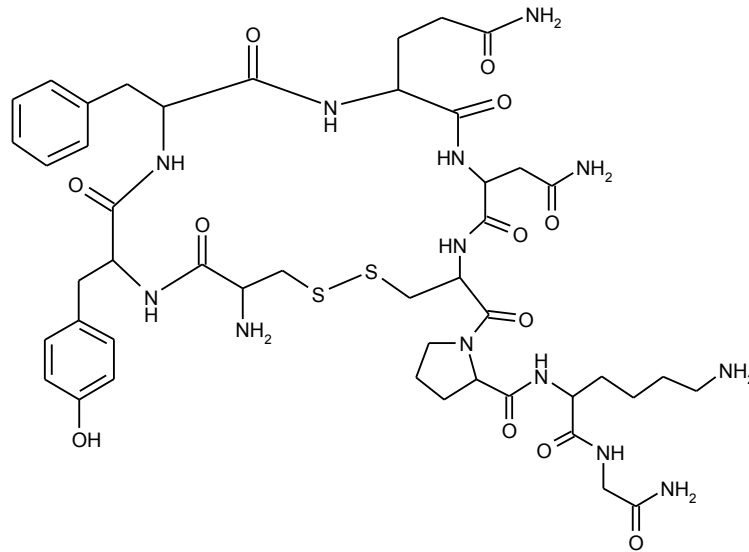
Oxytocinum ČL 2009

- připravován synteticky
- používán k navození porodu a posílení děložních stahů

Vasopresin

=antidiuretický hormon (ADH)

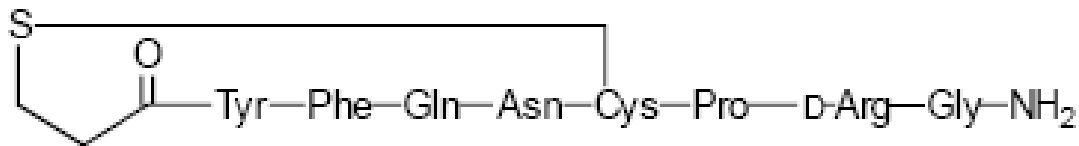
- oktapeptidy produkované neurohypofýzou všech obratlovců (prekurzor synt. v hypothalamu)
- sekvence AK se liší dle druhu
- řídí množství vody v těle (regulace ledvin, plic aj.)
- potenciální neurotransmittery
- používány zejména syntetické deriváty



VAP

- savci kromě *Suidae* pouze

Desmopressin



$C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2$

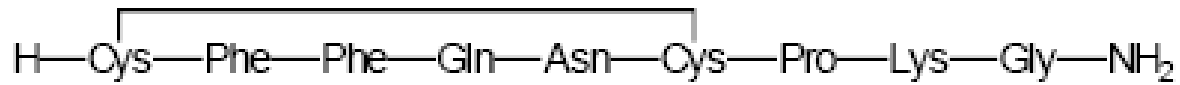
M_r 1069,22

CAS 16679-58-6

Desmopressinum ČL 2009

- cyklický nonapeptid
- připravován synteticky
- antidiuretikum (enuresis nocturna, ...)

Analoga vasopresinů
Felypressin

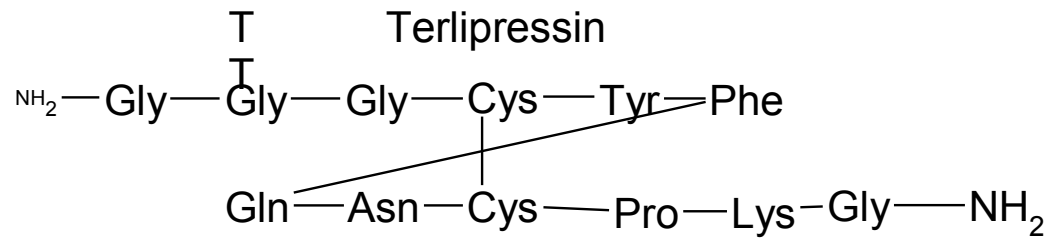


$\text{C}_{46}\text{H}_{65}\text{N}_{13}\text{O}_{11}\text{S}_2$

M_r 1040,22

CAS 56-59-7

Felypressinum ČL2009



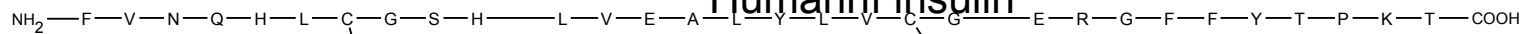
- vazokonstriktor, léčba krvácení z varixů apod., léčba oběhového šoku
Glypressin[®] inj., Remestyp[®] inj.

1.4 Insuliny a glukagon

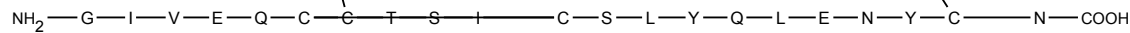
Insulin

- secernován převážně β -buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu
- umožňuje utilizaci glukosy buňkami organismu
- izolovali Banting a Best r. 1921 z pankreatu psa

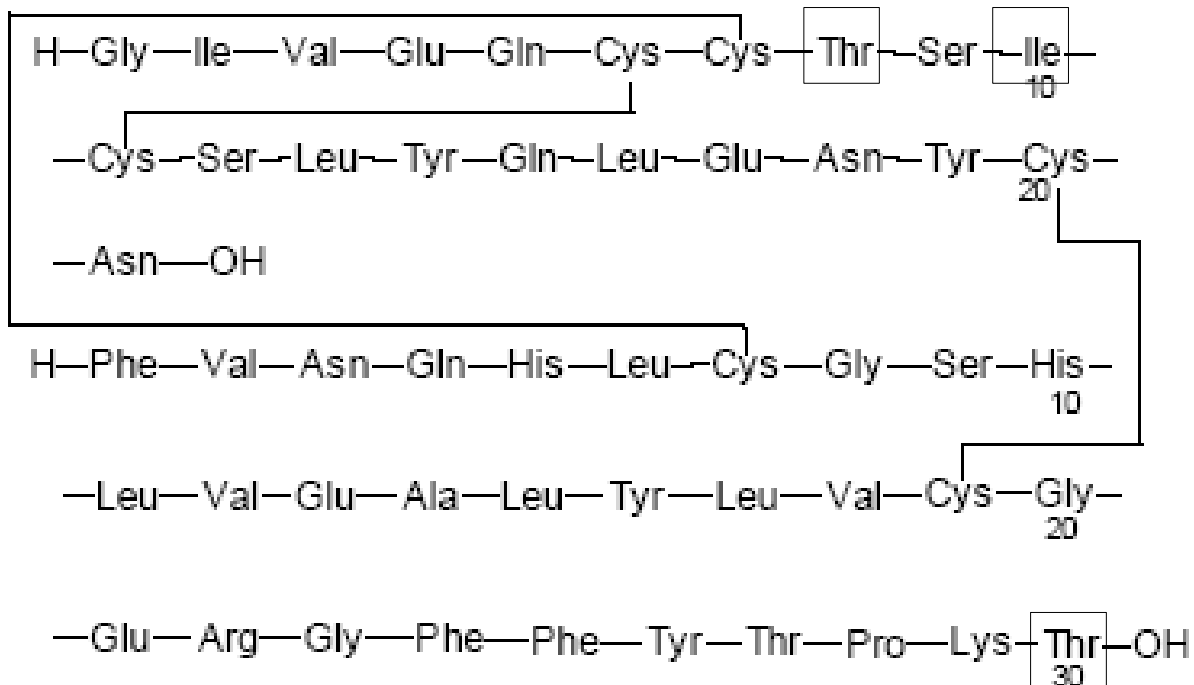
Humánní insulin



řetězec B (30 AK)



řetězec A (21 AK)



C₂₅₇H₃₈₃N₆₅O₇₇S₆

M_r 5807,60

CAS 11061-68-0

•tvoří se z prekursoru – proinsulinu o 110 AK

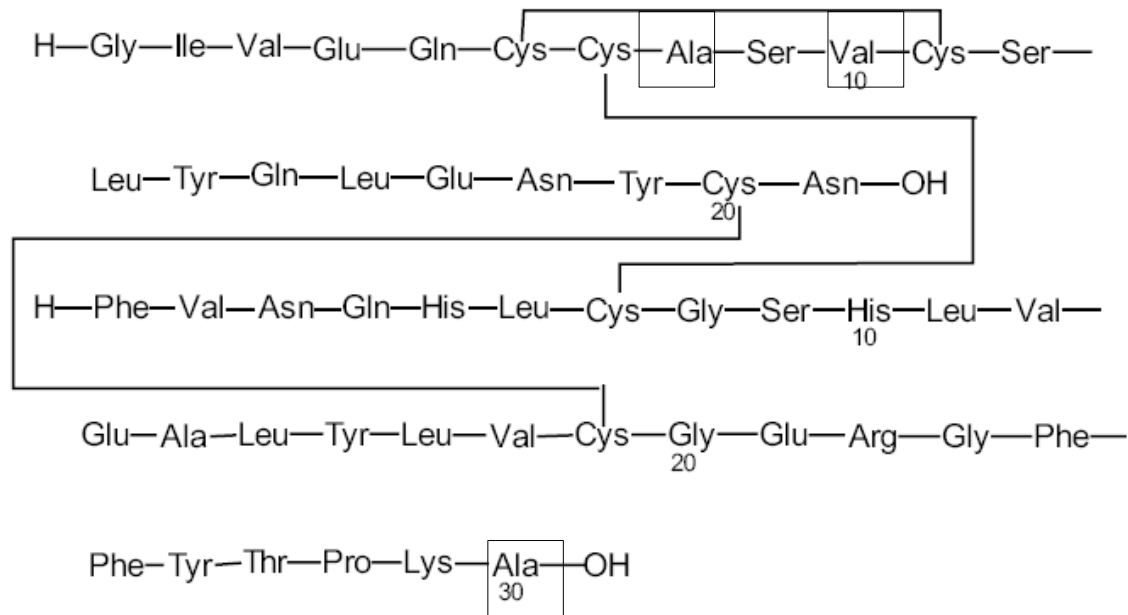
10 20 30 40 50 60
MALWMRLLPL LALLALWGPD PAAAFVNQHL CGSHLVEALY LVCGERGFFY TPKTRREAED
70 80 90 100 110
LQVGQVELGG GPGAGSLQPL ALEGLQKRG IVEQCCTSIC SLYQLENYCN

1-24 signální sekvence; 25-54 řetězec B; 57-87 peptid C; 90-110 řetězec A

•dnes získáván rekombinantní technikou nebo semisynteticky z prasečího
Insulinum humanum ČL2009

•syn. humulin

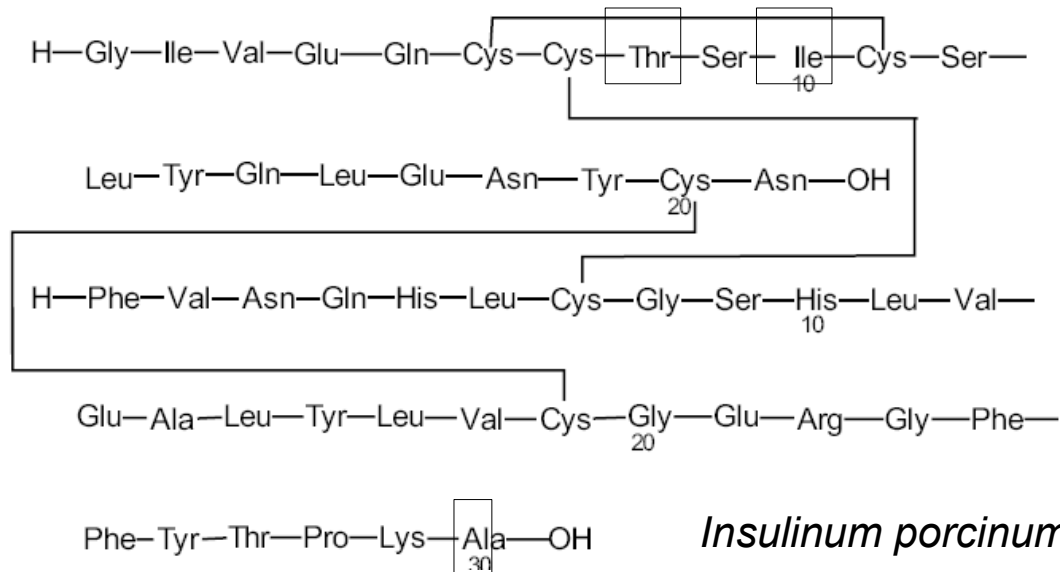
Insulin bovinní (hovězí)



Insulinum bovinum ČL2009

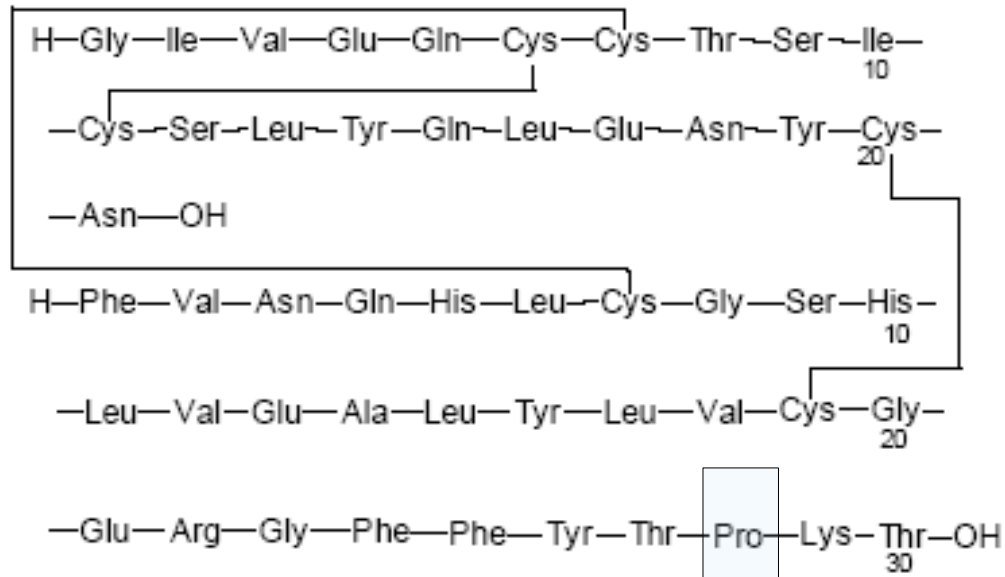
- izolace z hovězích slinivek

Insulin prasečí



Insulinum porcinum ČL2009

Analogy insulínu

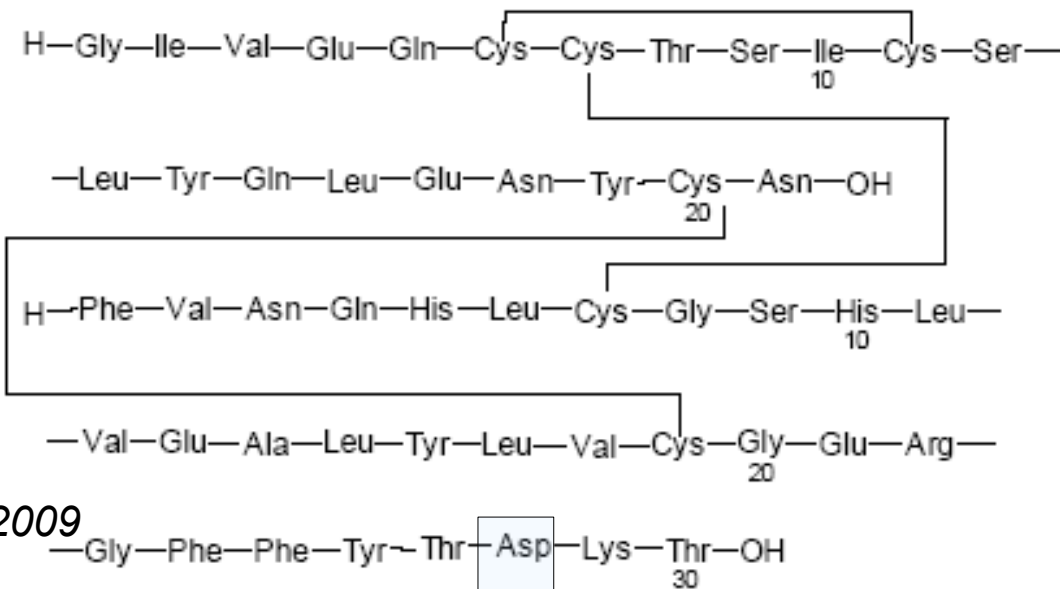


lidský

$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$

M_r 5807,60

CAS 11061-68-0



•rekombinantní technika

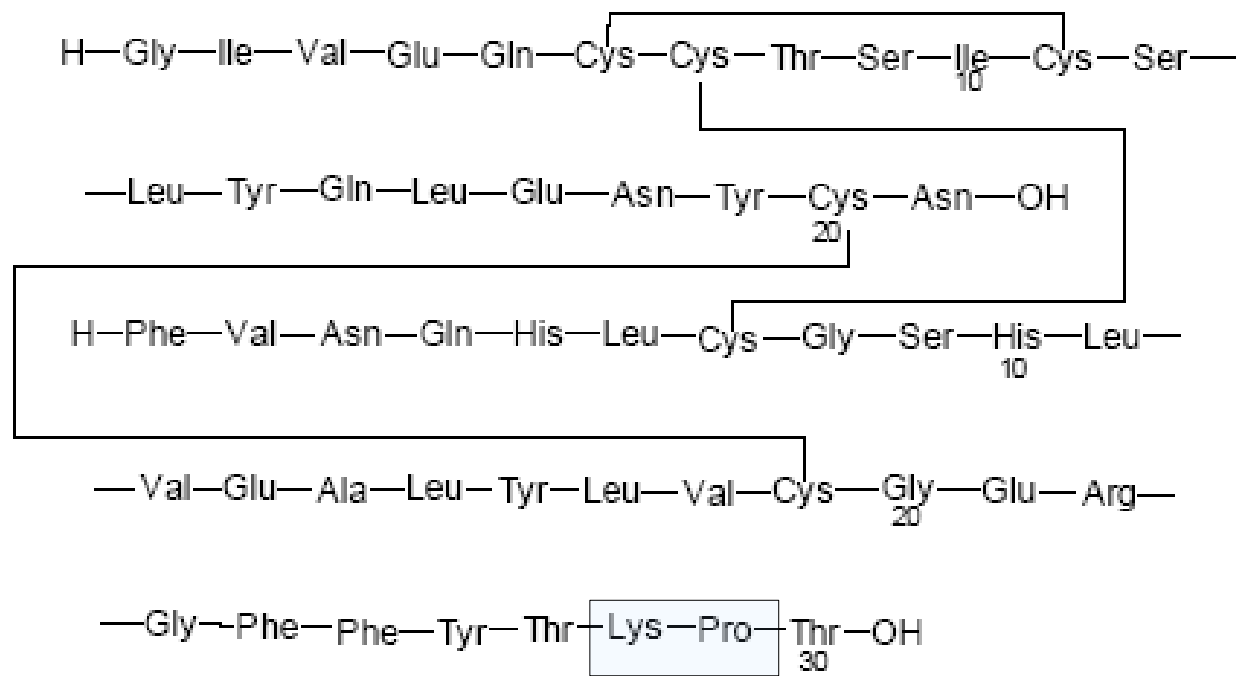
aspart

Insulinum aspartum ČL 2009

$C_{256}H_{381}N_{65}O_{79}S_6$

M_r 5825,58

CAS 116094-23-6

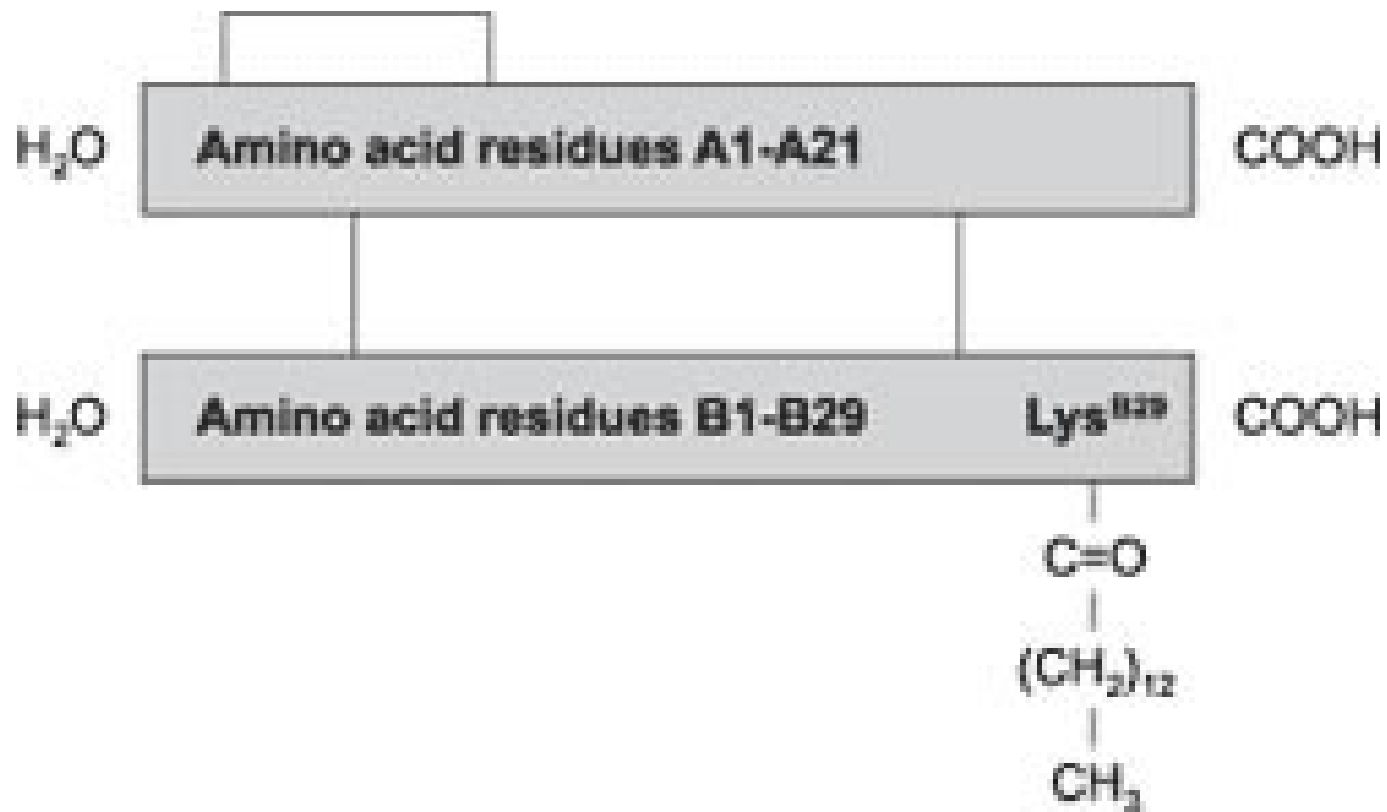


$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$

M_r 5807,61

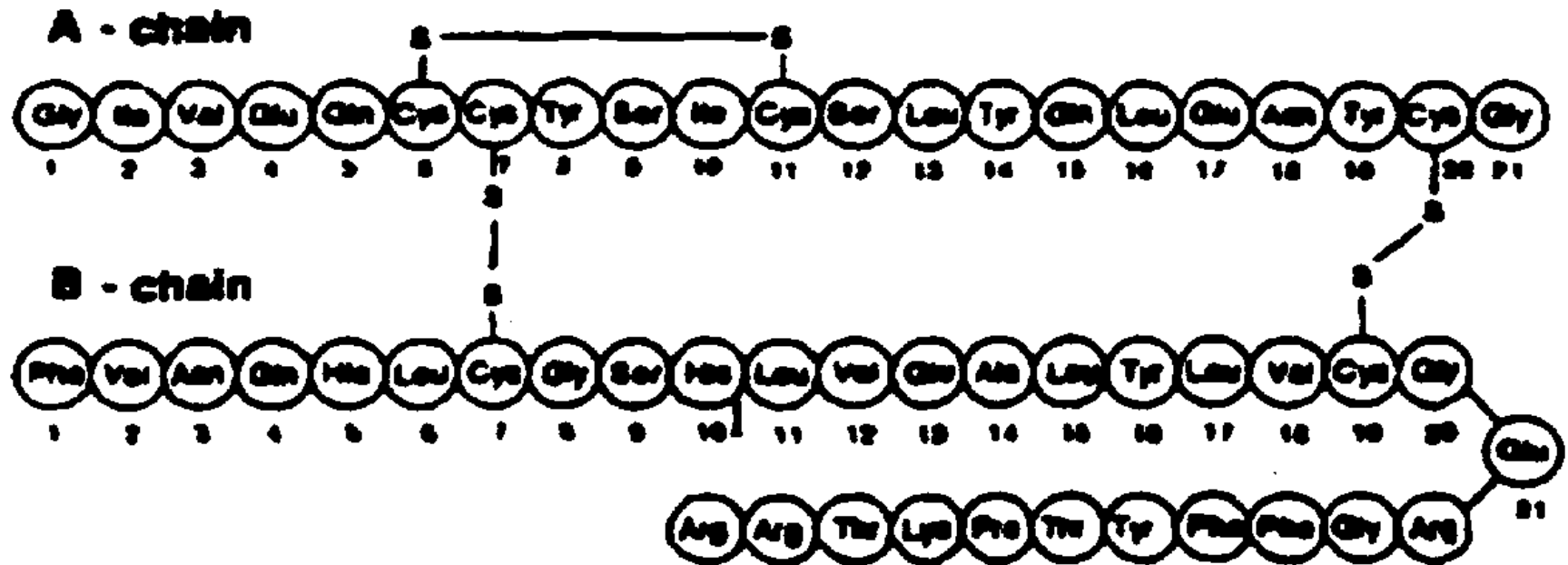
CAS 133107-64-9

insulin-lispro
Insulinum lisprum ČL 2009
 •rekombinantní



insulin-detemir

- řetězec B jen 29 AK, na Lys^{B29} tetradekanoyl (myristoyl)
- rekombinantně-polosyntetický

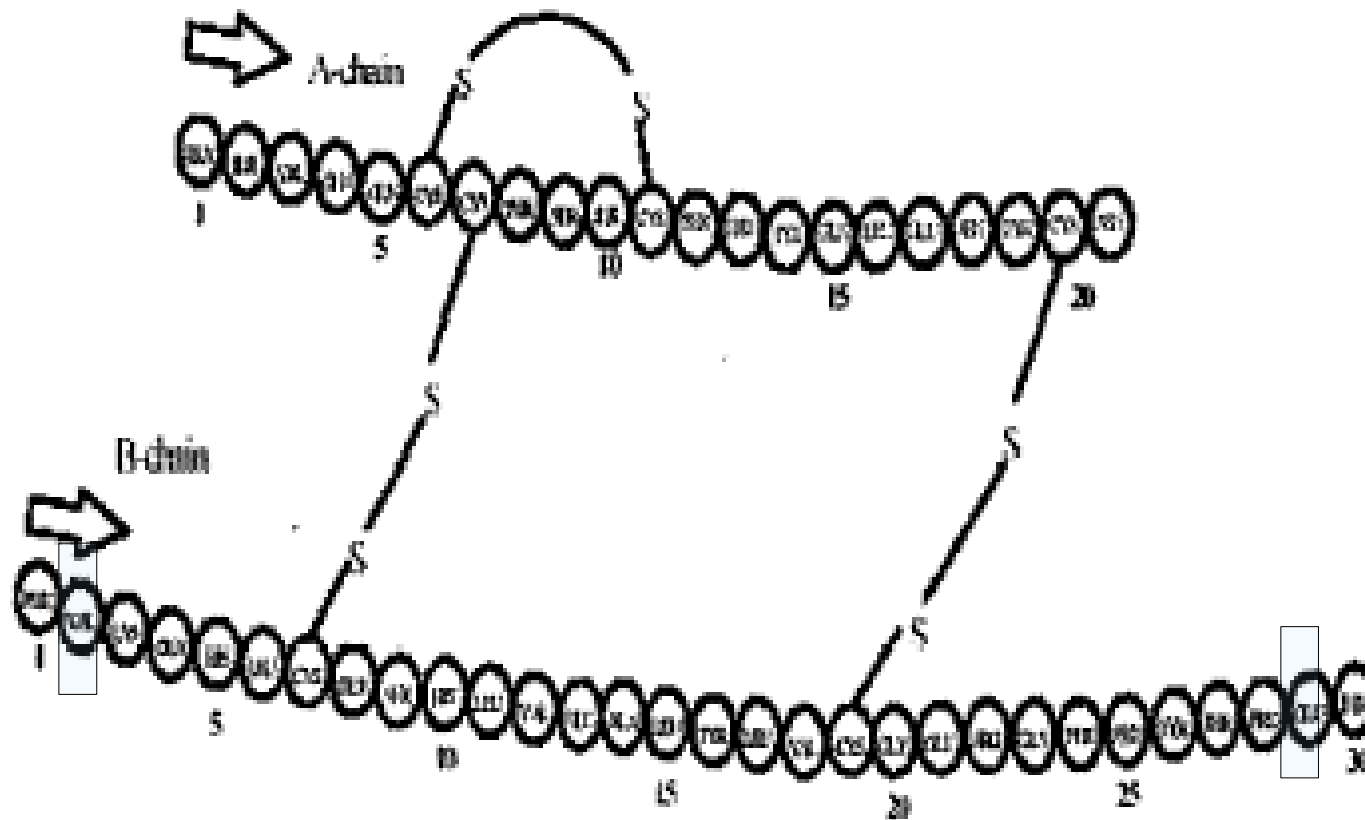


insulin-glargin

Gly^{21A}-L-Arg^{30B}-L-Arg^{31B}-insulin

Lantus[®]

- inzulin první volby, nestačí-li u diabetu 2. typu perorální antidiabetika
- dlouhý T_{1/2}, podáván typicky 1x denně s.c. před spaním



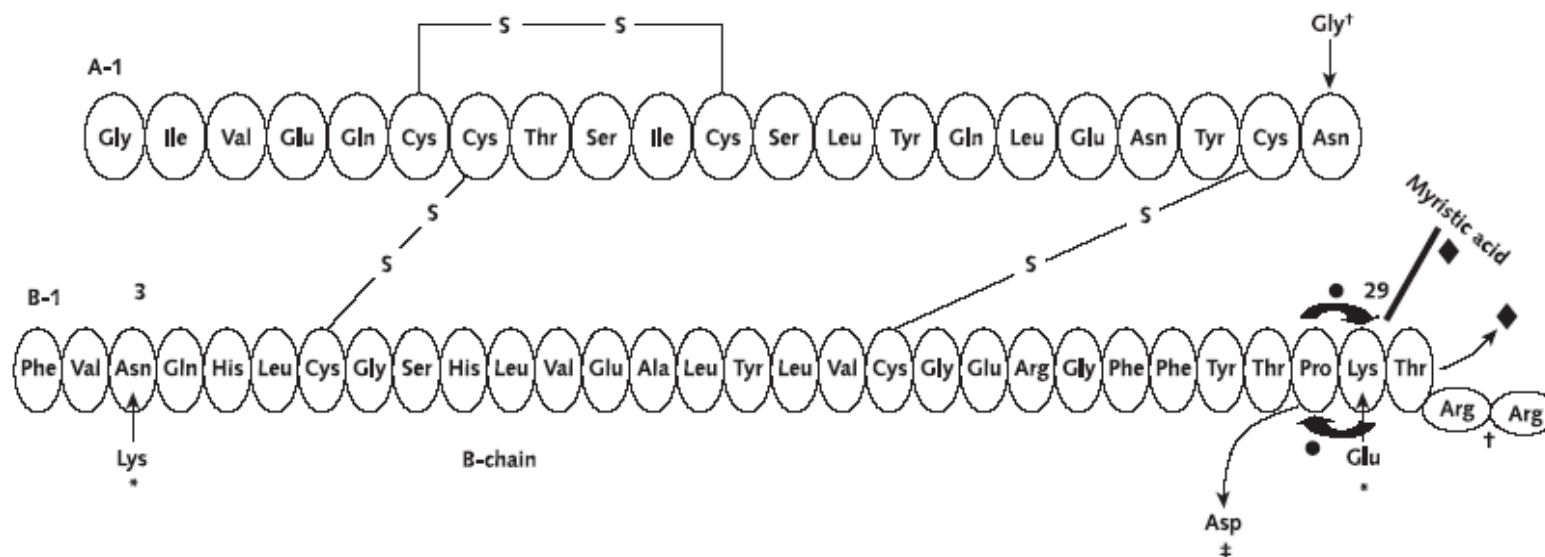
Chemical name: 3βLys-29βGlu-human insulin

CAS registry number: 207748-29-6

Molecular formula/molecular weight: $C_{258}H_{384}O_{78}N_{64}S_6/5823$

insulin-glulisin

Shrnutí používaných obměn insulínu



● = Insulin lispro differs from human insulin by the substitution of proline with lysine at position 28 and the substitution of lysine with proline at position 29 of the insulin β chain.

‡ = Insulin aspart is designed with the single replacement of the amino acid proline by aspartic acid at position 28 of the human insulin β chain.

* = Insulin glulisine is designed with the substitution of the amino acid lysine with asparagine at position 3 of the human insulin β chain and by substitution of the amino acid lysine at position 29 with glutamine.

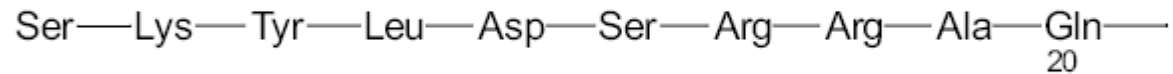
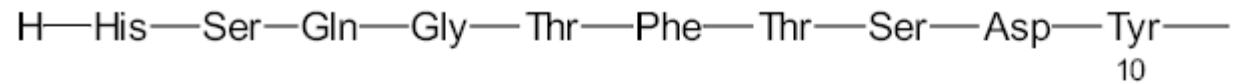
† = Insulin glargine differs from human insulin in that the amino acid asparagine at position A21 is replaced by glycine and 2 arginines are added to the C-terminus of the β chain.

◆ = Insulin detemir is designed to bind albumin in plasma after absorption. Threonine is omitted from position 30 of the insulin β chain and replaced by myristic acid, a C14 fatty acid chain.

Figure reprinted with permission from reference 2: Oiknine R, Bernbaum M, Mooradian AD. A critical appraisal of the role of insulin analogues in the management of diabetes mellitus. *Drugs*. 2005;65:325-40. [PMID: 15669878]

Glukagon

- peptid o 29 AK z pankreatu podporující štěpení jaterního glykogenu a zvyšující glykémii
- způsobuje relaxaci hladkého svalstva žaludku a střev podobně jako cholinergika



$\text{C}_{153}\text{H}_{225}\text{N}_{43}\text{O}_{49}\text{S}$

M_r 3482,78

CAS 16941-32-5

Glucagonum ČL2009

- izolován z vepřových nebo hovězích slinivek

Glucagonum humanum ČL2009

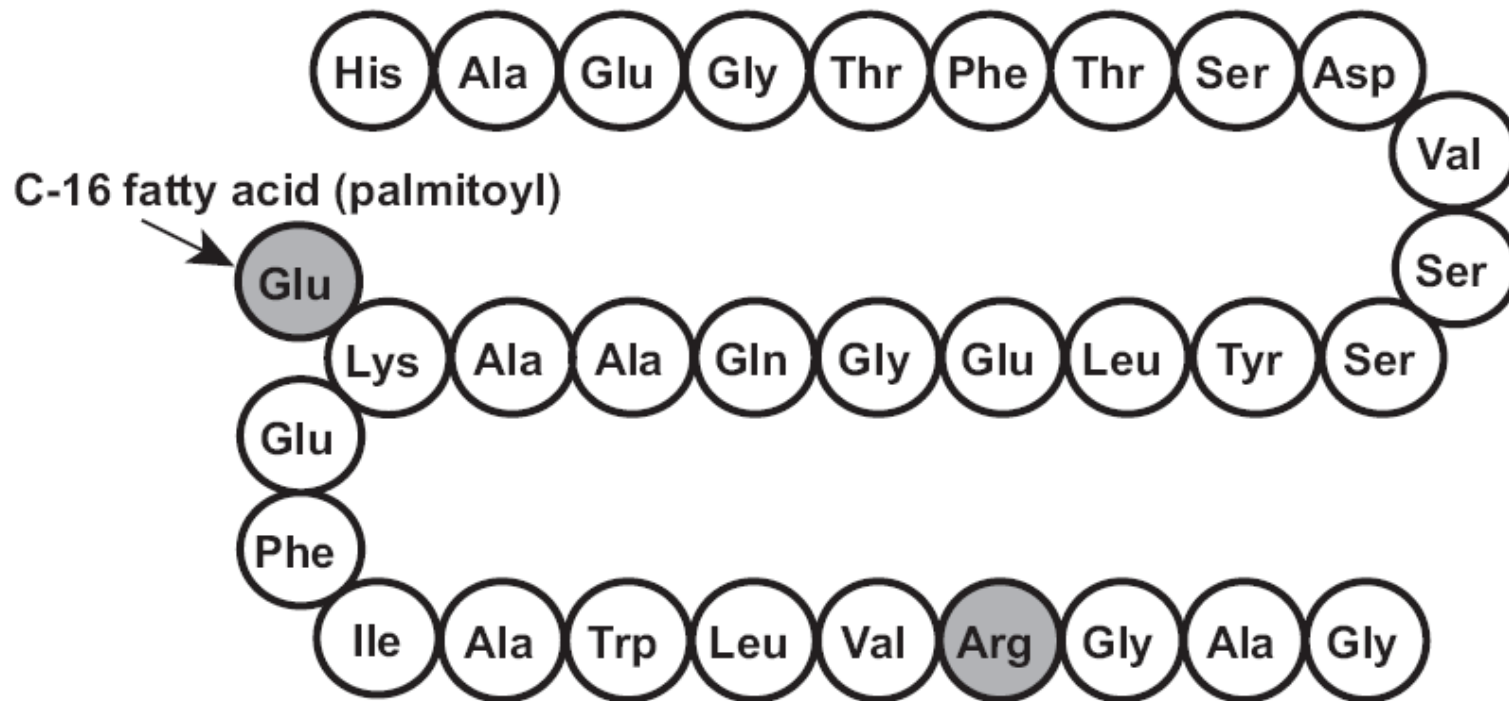
- připravován rekombinantní technikou; sekvence AK totožná
- použití: terapie těžké hypoglykémie, diagnostika GIT radiologicky apod.

Analoga GLP-1

GLP-1: Glucagon-like peptide 1 = glukagonu podobný peptid 1 = střevní hormon, jenž spolu s glukoso-dependentním inzulinotropním polypeptidem (GIP) potencuje sekreci inzulínu indukovanou jídlem

- potecuje všechny kroky biosyntézy inzulínu, má pozitivní vliv na funkci a přežívání β -buněk
- snižuje nadbytečnou produkci glukosy v játrech, zpomaluje vyprazdňování žaludku, vedoucí k postprandiální hyperglykémii, centrální efekt vede ke snížení chuti k jídlu (\Rightarrow pokles tělesné hmotnosti), pravděpodobně i pozitivní účinky na kardiovaskulární systém
- nevýhody GLP-1 jako léčiva: nutnost podávání v kontinuální infuzi, extrémně krátký biol. poločas $T_{1/2} = 2 - 3$ min (rychlý rozklad peptidasami) \Rightarrow potřeba stabilnějších analogů

Analoga GLP-1



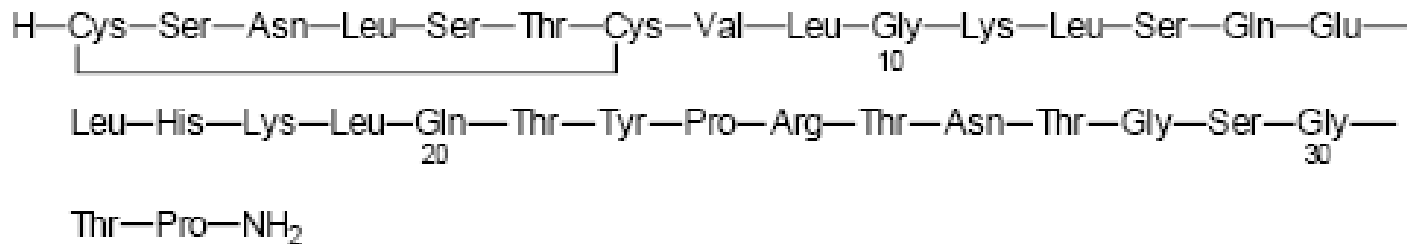
liraglutid

γ -L-glutamoyl(N- α -hexadekanoyl)-Lys,²⁶Arg³⁴-GLP-1(7-37)

- sekvence AK zbytků z 93 % shodná s fragmentem 7-37 nativního GLP-1
- silná vazba na sérový albumin, vzájemná asociace molekul, nepodléhá glomerulární filtraci $\Rightarrow T_{1/2} = 12,5$ hod po s.c. injekci
- zlepšuje funkci α i β buněk
- registrační přihlášky podány v USA, EU a Japonsku r. 2008

Kalcitonin

- tvořen C-buňkami štítné žlázy (= parafolikulární bb. – Baber 1876), u nižších obratlovců ultimobranchiálními tělísky, vznikajícími z 5. žaberní štěrbin
- peptid ze 32 aminokyselin (lososí – *Onchorhynchus kisutch*; humánní 139 AK)
- receptory na osteoklastech (ale též ledviny, mozek)
- ↓ vylučování Ca^{2+} z kosti (\Rightarrow ↓ kalcémie)
- ↓ tvorbu osteoklastů
- aplikace spolu s Ca^{2+} k léčbě osteoporózy

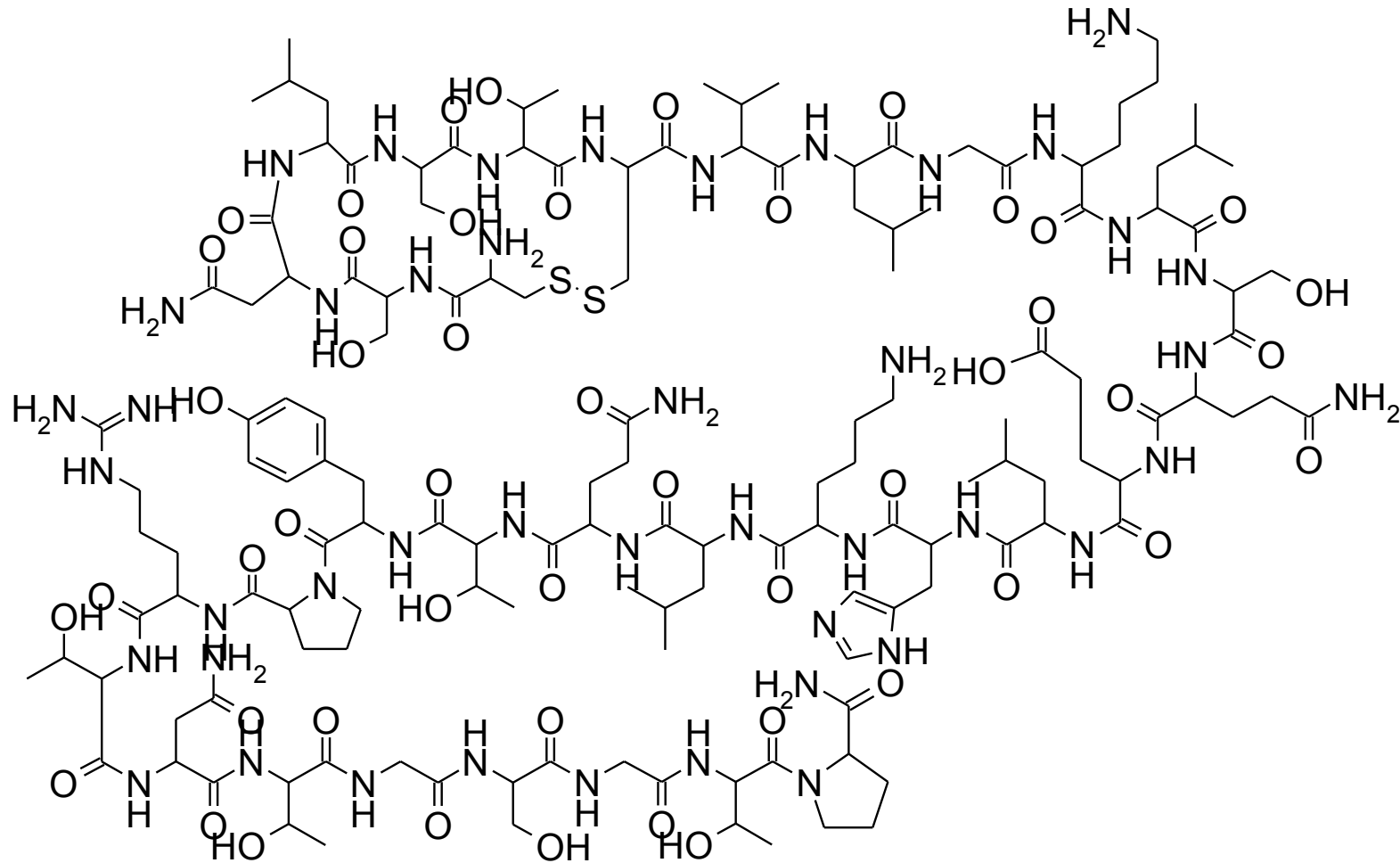


$\text{C}_{145}\text{H}_{240}\text{N}_{44}\text{O}_{48}\text{S}_2$

M_r 3431,88

CAS 47931-85-1

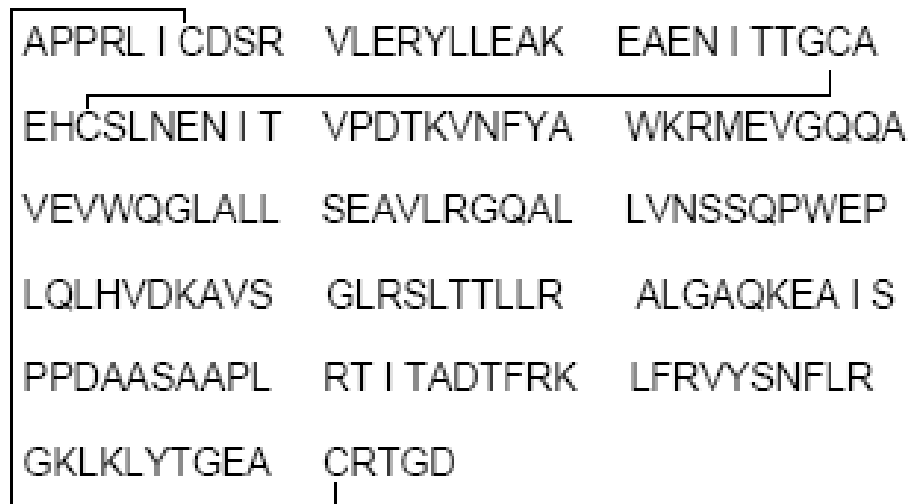
Kalcitonin



Calcitoninum salmonis ČL 2009 = **kalcitonin lososí** (syntetický; sekvence AK odpovídá lososímu hormonu)

Miacalcic® inj., nasal; Osteodon®; Tonocalcin®

1.5 Krevní faktory erythropoetinového typu



M_r asi 30 600

CAS 113427-24-0

erythropoetin

= glykosylovaný protein ze 165 AK

Erythropoietini solutio concentrata ČL 2009

= roztok obsahující skupinu blízce příbuzných glykoproteinů , které nejsou rozlišitelné od přirozeného lidského erythropoetinu (erythropoetin moči) z hlediska pořadí 165 aminokyselin a jejich průměrného profilu glykosylace

- přirozeně vylučován v ledvinách u dospělých jedinců a v játrech plodu
- stimuluje kmenové buňky kostní dřeně k proliferaci a diferenciaci
- vyrábí se *in vitro* v buňkách hlodavců metodou založenou na rekombinanční DNA technologii
- terapie poruch krvetvorby, zneužíván k doping

1.6 Imunomodulátory – faktory stimulující kolonie

APARSPSPST QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR
DTAAEMNETV EWISEMFDLQ EPTCLQTRLE
LYKQGLRGSL TKLKGPLTMM ASHYKQHCPP
TPETSCATQI ITFESFKENL KDFLLVIPFD
CWEPVQE

$C_{639}H_{1007}N_{171}O_{196}S_8$

M_r 14 477,49

CAS 99283-10-0

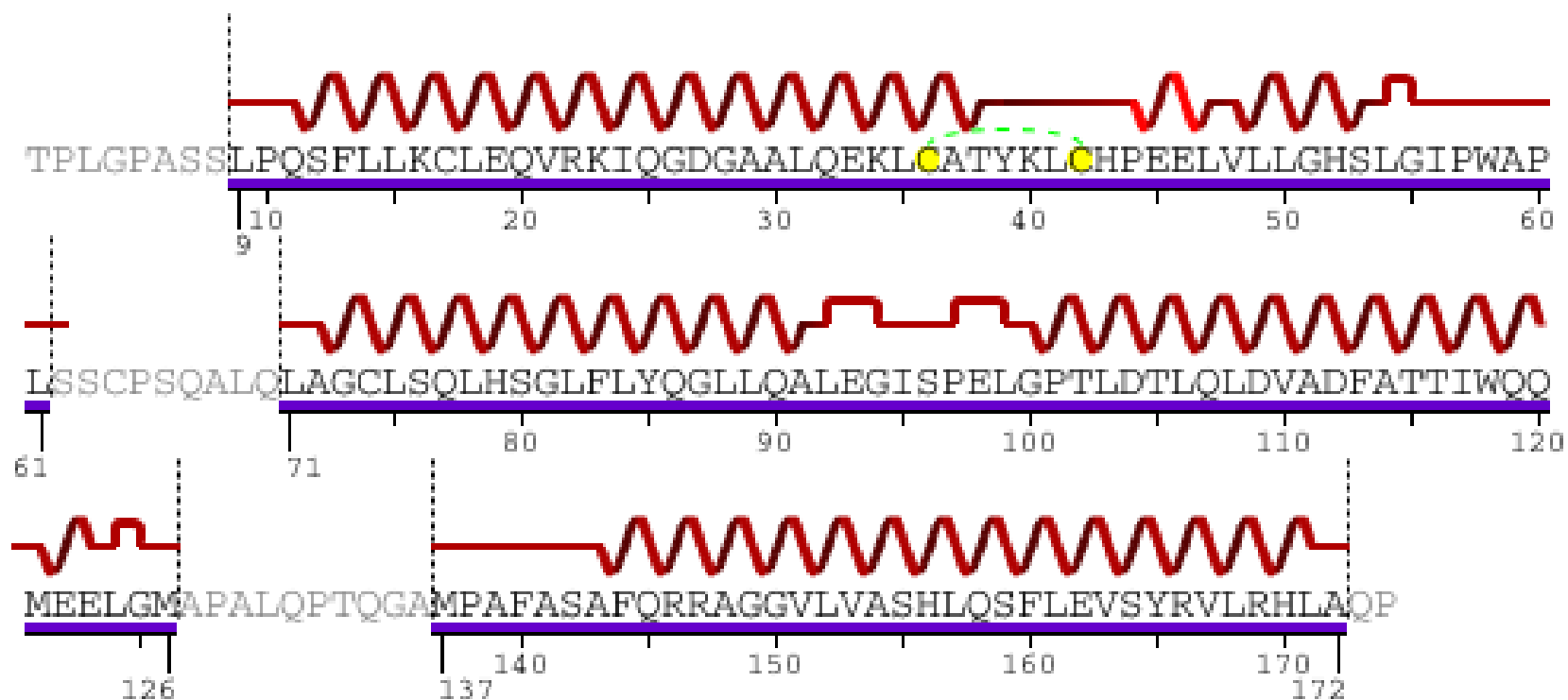
molgramostim

= faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů tvořený různými druhy krevních buněk

- stimuluje diferenciaci a proliferaci pluripotentních kmenových buněk leukocytů ve zralé granulocyty a makrofágy
- výroba rekombinantní technikou za použití bakterií jako hostitelských buněk
- léčba leukopenie při chemoterapii nádorů a AIDS

Filgrastim a pegfilgrastim

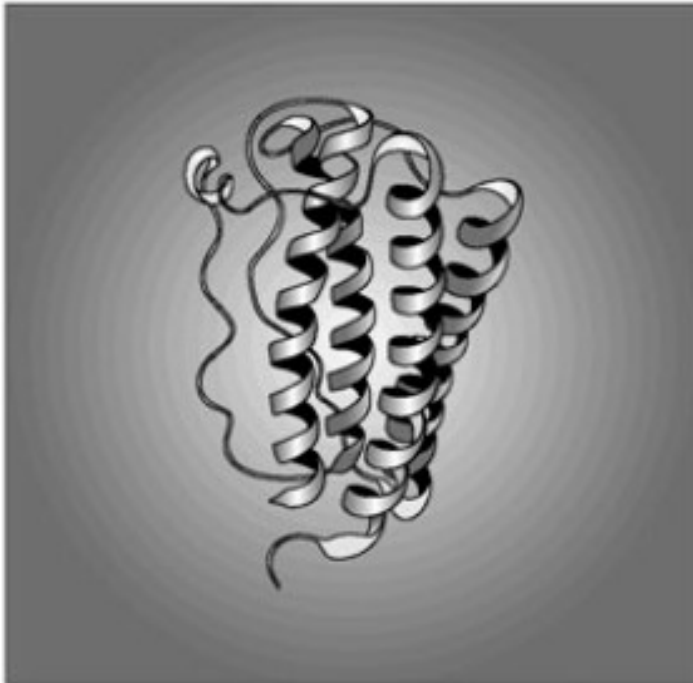
Filgrastim = humánní faktor stimulující kolonie neutrofilních granulocytů (G-CSF); glykosylovaný, 174 AK
Sekvence prekurzoru filgrastimu



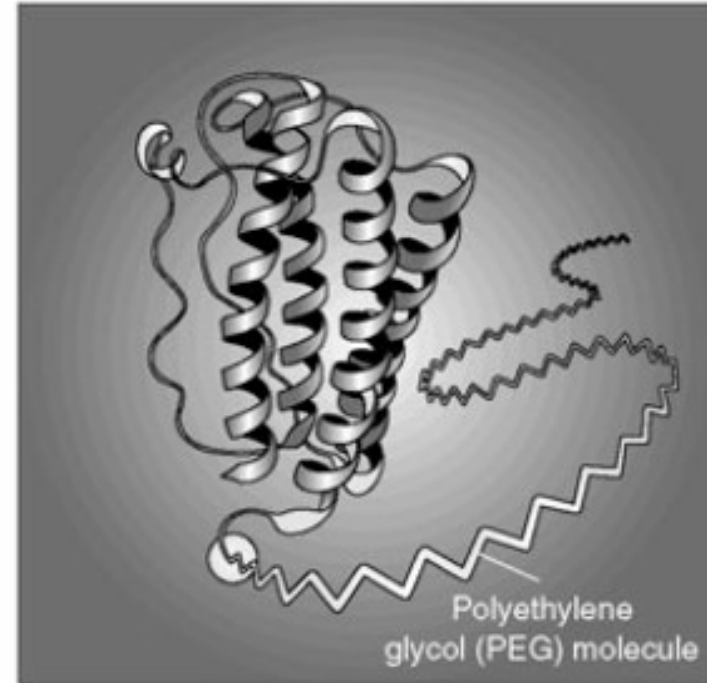
- léčba neutropenie při chemoterapii nádorových onemocnění a při AIDS

Pegfilgrastim má kovalentně vázaný PEG řetězec o M_r cca 20 000 na N-konci

- delší eliminační poločas
- výroba rekombinantní a polosyntetická

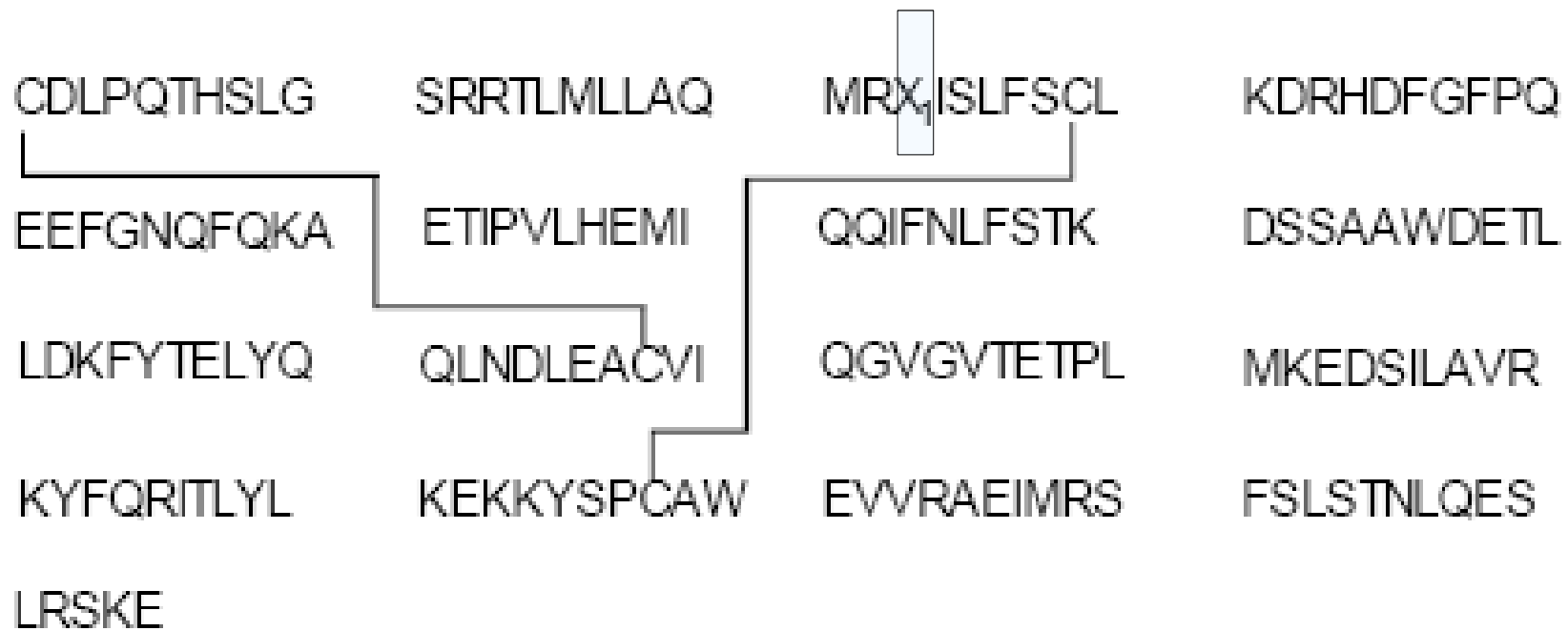


Filgrastim



Pegfilgrastim

1.7 Imunomodulátory - interferony



interferon α_2

Interferoni alfa-2 solutio concentrata ČL 2009

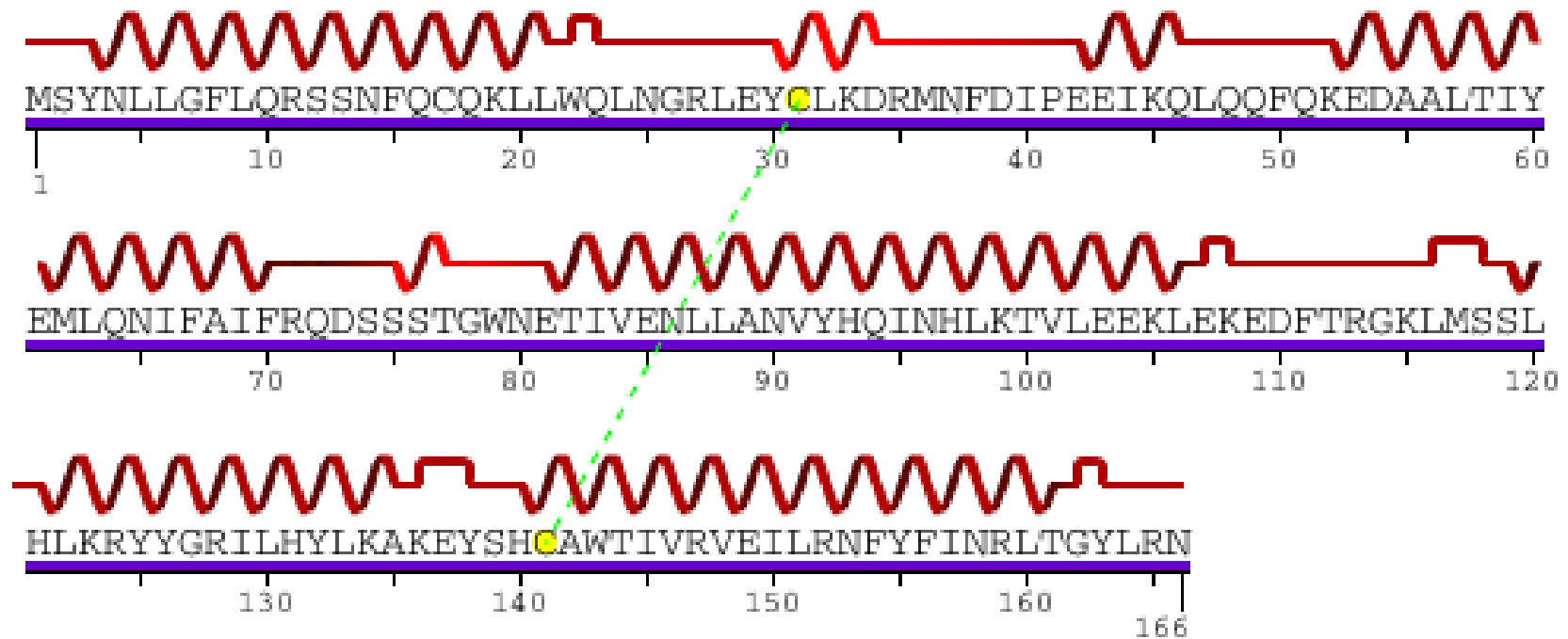
X1 = Lys α_{2a}

X1 = Arg α_{2b}

- protivirová aktivita v průběhu syntézy virové RNA a bílkoviny
- antiproliferační aktivita
- výroba rekombinantní technikou na bakteriích
- též pegylovaný: peginterferon alfa-2a (Pegasys[®]) - na N-konci N², N⁶-dikarboxy-Lys esterifikovaný PEG-monomethyletherem

interferon β
= peptid ze 166 AK

- produkován fibroblasty jako odpověď na stimulaci živým nebo inaktivovaným virem nebo dvouvláknovou RNA



- terapie roztroušené sklerózy

interferon γ_{1b}

- vylučován lidskými T-lymfocyty jako odpověď na virové infekce a jiná agens
- imunomodulační účinky
- nekovalentní dimer 2 identických monomerů

Sekvence monomeru:

M

QDPYVKEAEN	LKKYFNAGHS	DVADNGTLFL	GILKNWKEES
DRKIMQSQIV	SFYFKLFKNF	KDDQSIQKSV	ETIKEDMNVK
FFNSNKKKRD	DFEKLTNYSV	TDLNVQRKAI	HELIQVMAEL
SPAAKTGKRK	RSQMLFRGR	$C_{734}H_{1166}N_{204}O_{216}S_5$	M_r 16 464,76

- výroba rekombinantní technikou na bakteriích
Interferoni gamma-1b solutio concentrata ČL 2009
- roztok formy interferonu γ , která má na N-konci Met