

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Laboratorij za organsku kemiju

**NASTAVNI MATERIJALI IZ
PEPTIDNIH MIMETIKA I PSEUDOPEPTIDA**

INTERNA SKRIPTA

Izv. prof. dr. sc. Lidija Barišić

Zagreb, 2018.

Recenzenti

Doc. dr. sc. Ivan Kodrin, Prirodoslovno-matematički fakultet

Doc. dr. sc. Mojca Čakić Semenčić, Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Doc. dr. sc. Monika Kovačević, Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Ova interna skripta napisana je prema nastavnom programu predmeta *Peptidni mimetici i pseudopeptidi*. Namijenjena je studentima diplomskih studija Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta kao pomoć pri svladavanju gradiva.

Izv. prof. dr. sc. Lidija Barišić

Sadržaj

1.	Uvod	1.
1.1.	Biomimetika	1.
1.2.	Biomimetika u biotehnologiji i prehrambenoj tehnologiji	2.
2.	Mimeticci proteina	3.
2.1.	Proteini – struktura i svojstva	3.
2.2.	Mogu li se peptidi koristiti kao lijekovi?	6.
2.3.	Pregled pojmova karakterističnih za područje peptidnih mimetika	9.
3.	Mimeticci sekundarnih struktura proteina	12.
3.1.	Mimeticci α -uzvojnice	13.
3.1.1.	Peptoidi	13.
3.1.2.	β -Peptidi	16.
3.1.3.	"Uvezani" (stapled) peptidi	18.
3.1.4.	Male nepeptidne molekule kao mimeticci α -uzvojnice	18.
3.1.5.	Mimeticci apolipoproteina	20.
3.2.	Mimeticci okreta	20.
3.2.1.	Mimeticci β -okreta iz somatostatina	24.
3.2.2.	Mimeticci β -okreta iz gramicidina	25.
3.2.3.	Mimeticci β -okreta iz gonadotropina	26.
3.2.4.	Mimeticci β -okreta iz Leu-enkefalina	27.
3.2.5.	Mimeticci okreta izvedeni iz ferocen-1,1'-diamina	28.
3.3.	Mimeticci β -ploče	31.
3.3.1.	Makrociklički mimeticci	33.
3.3.2.	Aromatski mimeticci	35.
3.3.3.	Biciklički kalupi kao mimeticci β -lanca	36.
3.3.4.	Peptidne nanocijevi kao mimeticci β -ploče	37.
4.	Peptidomimetički terapeutici: trenutno stanje i perspektiva	39.
5.	Literatura	42.

1. Uvod

1.1. Biomimetika

Pojam *biomimetika* (engl. *Biomimetic*) datira od 1957. godine, a opisuje koncept oponašanja prirodnih sustava pri dizajnu novih industrijskih proizvoda.¹ Taj je pojam kovanica grčkih riječi *bios* (život) i *mimesis* (oponašati) (slika 1.).



Slika 1. Značenje pojma "biomimetika".

Koncept biomimetike poznat je od drevnih vremena. Primjerice, Kinezi su ga primjenjivali prije 3000 godina pokušavajući pripremiti umjetnu svilu, dok je Leonardo da Vinci početkom 16. stoljeća proučavao ptičji let kako bi konstruirao leteću napravu. U Merriam-Websterovom rječniku biomimetika se definira kao studij tvorbe, strukture i funkcije prirodnih spojeva i materijala (poput enzima ili svile) te bioloških mehanizama i procesa (npr. sinteza proteina ili fotosinteza) s ciljem pripreme sličnih produkata pomoću umjetnih mehanizama.² Kao sinonimi, u znanstvenoj se literaturi koriste i pojmovi *biomimikrija* (engl. *biomimicry*) i *bionika* (engl. *bionics*). Prema definiciji Centra za biomimikriju Državnog sveučilišta u Arizoni, biomimikrija predstavlja disciplinu koja oponaša prirodne strategije i principe s ciljem stvaranja održivih rješenja za izazove s kojima se suočavamo u svakodnevnom životu.³ Pojam *bionika* češće se koristi u inženjerskim disciplinama, a odnosi se na kopiranje i preuzimanje ideja iz prirode. Osim spomenutih sinonima, u novije se vrijeme sve češće koristi izraz „biološki inspiriran“ (engl. *bioinspired*, *biologically inspired*).

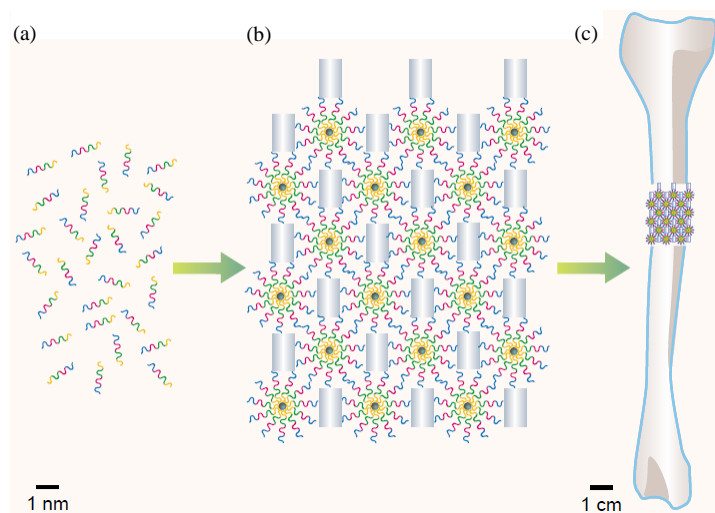
Biomimetika je interdisciplinarno područje koje objedinjuje biologiju, fiziku, kemiju i znanost o materijalima,^{4,5} a kao koncept se primjenjuje i u arhitekturi i ekonomiji. U nedavno napisanom pregledu bioinspiriranih i biomimetičkih materijala,⁶ biomimikrija ili bioinspiracija podrazumijeva shvaćanje i primjenu prirodnih principa i izgradnji visoko-kompleksnih i sofisticiranih inženjerskih modela namijenjenih za rješavanje izazova s kojima se suočava današnje čovječanstvo. Prirodni priručnik rješenja je itekako iscrpan ako se ima u vidu da su prirodni materijali i sustavi razvijeni na način da mogu obavljati brojne i raznolike funkcije poput strukturne potpore, prijenosa signala, kretanja, opažanja, katalize, prijenosa naboja, molekuskog prepoznavanja, samoudruživanja, samoorganiziranja, samoreplikacije, itd. Učenje i

stjecanje nadahnuća iz tako iscrpnog izvora prirodnih rješenja te izravna primjena prirodnih principa predstavljaju izuzetno učinkovit pristup u rješavanju kritičnih globalnih izazova kao što su hrana, voda, domovinska sigurnost, javno zdravstvo i čista energija.

1.2. Biomimetika u biotehnologiji i prehrambenoj tehnologiji

Prema UN-ovoj Konvenciji o biološkoj raznolikosti, biotehnologija podrazumijeva tehnološku primjenu bioloških sustava, živih organizama ili njihovih dijelova s ciljem pripreme ili modifikacije produkata ili procesa za specifičnu uporabu.⁷ Prema tome, biotehnologija kao znanstvena disciplina pripada polju biomimetike, te će u ovom odjeljku biti navedeno nekoliko primjera primjene biomimetike u biotehnologiji i prehrambenoj tehnologiji.

Dizajn samoudružujućih biomaterijala koji oponašaju složene biološke strukture predstavlja svojevrsan izazovs obzirom da su biološke strukture bile usavršavane tijekom evolucijskog razvoja. Opisane su molekule (slika 2a.) koje se samoudružuju u nanostrukturirane gelove (slika 2b.) i induciraju mineralizaciju koštanog tkiva. Tako stvoreni minerali strukturno su slični mineralima iz koštanog tkiva te se mogu usaditi u oštećenu kost (slika 2c.) i poboljšati regeneraciju koštanog tkiva.^{8,9}

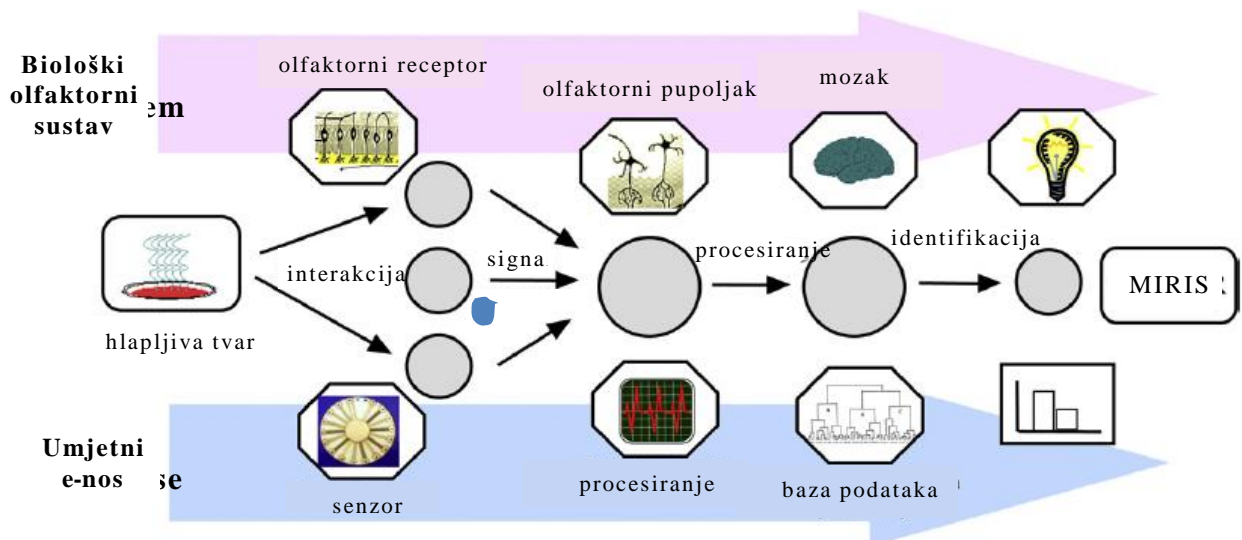


Slika 2. Samoudružujući materijali namijenjeni regeneraciji koštanog tkiva.⁹

Nadalje, pregledni rad objavljen u časopisu *Trends in Biotechnology* opisuje istraživanje terapijske učinkovitosti bioinspiriranih nano- i mikročestica. Takve biomimetičke čestice mogu inkapsulirati i otpuštati male molekule i proteine unutar i izvan stanice, a također sudjeluju u izazivanju staničnog odgovora. Spomenuti pristup koji uključuje i dizajn potrebnih fizikalnih,

kemijskih i bioloških parametara primjenjuje se u borbi protiv brojnih bolesti, uključujući i karcinome.¹⁰

Osim u terapiji, biomimetika nalazi svoju primjenu i u procesiranju hrane. Procjena kvalitete hrane uobičajeno se provodi uz pomoć panela za senzorsko ispitivanje. Ta metoda ima određene nedostatke kao što su stres i umor ispitivača, relativno dugo trajanje, visoki troškovi te nemogućnost *online* praćenja. Stoga je razvoj metoda koje omogućuju objektivnu procjenu namirnica, a koje pri tom zamjenjuju senzorske panele, od velike važnosti za prehrambeno inženjerstvo. Proučavanje uloge nosa i jezika u prepoznavanju različitih molekula mirisa i okusa potaknulo je istraživanja i razvoj elektronskog nosa i elektronskog jezika koji oponašaju prirodne biološke sustave te se primjenjuju kao biomimetički senzori okusa i mirisa u prehrambenoj industriji.^{11,12,13} Na slici 3. prikazan je e-nos koji oponaša strukturu i funkcionalnost ljudskog nosa, a primjenjuje se za određivanje hlapljivih sastojaka u namirnicama.^{14,15}



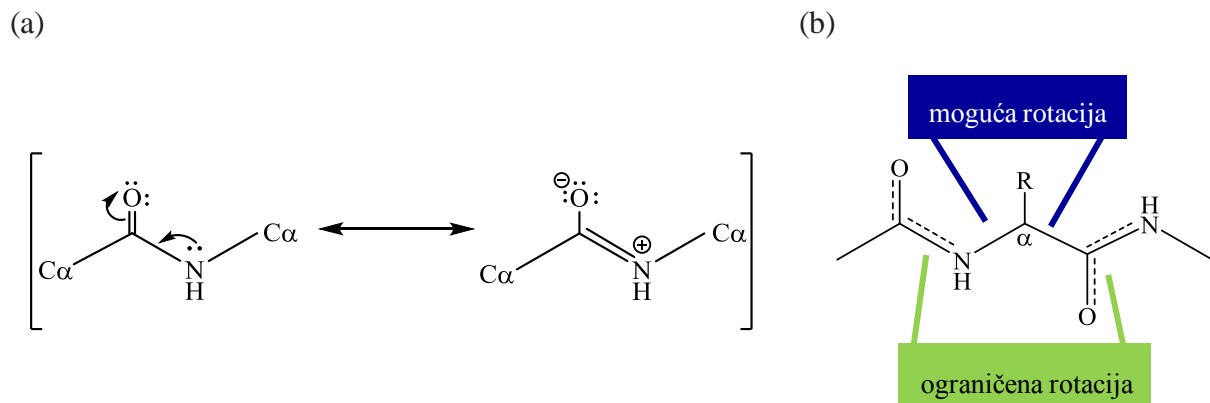
Slika 3. Sličnosti između biološkog olfaktornog sustava i e-nosa.¹⁴

2. Mimetici proteina

2.1. Proteini - struktura i svojstva

Proteini (grčki *protos*; primarni, najvišeg prioriteta) su biološke makromolekule prisutne u svim stanicama te imaju ključnu ulogu u održavanju strukture i funkcionalnosti svih oblika života. Sudjeluju u enzimskoj katalizi, prijenosu i pohrani drugih molekula, mehaničkoj potpori i zaštiti imuniteta, koordiniranom kretanju, stvaranju i prijenosu živčanih impulsa te kontroli rasta i diferencijacije. Građeni su iz 20 proteinogenih aminokiselina koje mogu tvoriti 8000 različitih tripeptida te preko 64 milijuna heksapeptida, što proteinima osim funkcionalne omogućuje i veliku strukturnu raznolikost. Razlikuju se u strukturi i svojstvima bočnih ogranaka (veličina,

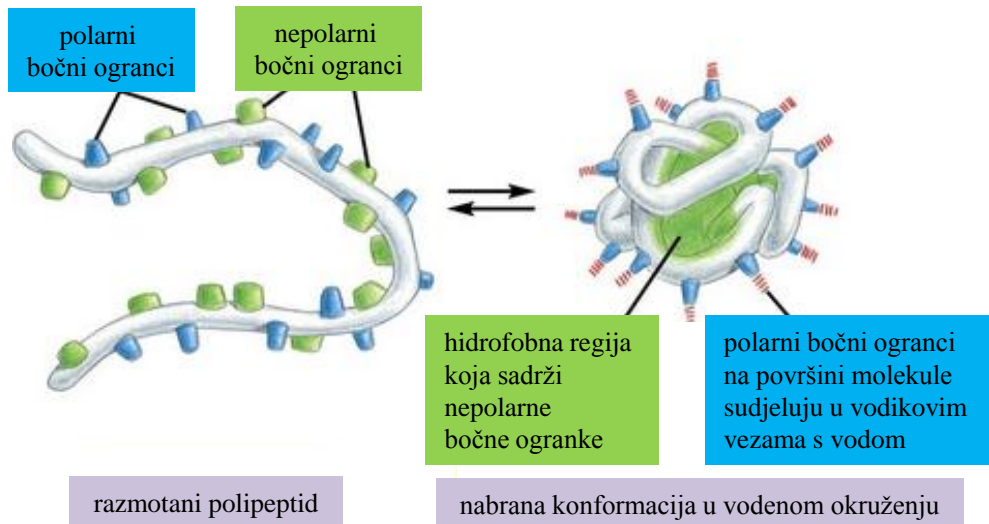
trodimenzijski oblik, naboj, sposobnost stvaranja vodikovih veza, polarnost te kemijska reaktivnost) vezanih na glavni lanac ili okosnicu. Peptidna veza kojom se međusobno povezuju aminokiseline zbog djelomičnog dvostrukog karaktera je planarna (atomi C_α , C, O, N, H i C_α leže u istoj ravnini) i rigidna (nema slobodne rotacije oko veze između karbonilnog ugljika i dušikova atoma) (slika 4a.). Rotacija oko jednostrukih veza $C_\alpha-N$ i $C_\alpha-C(O)$ ovisi o veličini i naboju bočnog ogranka, a omogućuje smatanje (nabiranje) peptidnih lanaca (slika 4b.).



Slika 4. (a) Djelomični dvostruki karakter amidne veze; (b) Rotacija oko jednostrukih veza $C_\alpha-N$ i $C_\alpha-C(O)$.

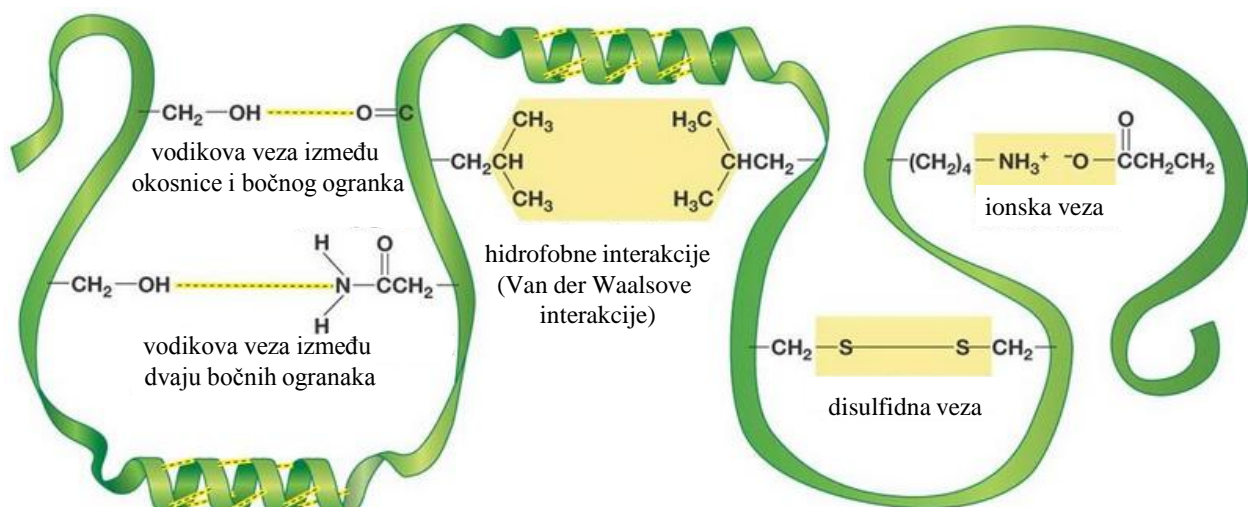
Peptidna veza je vrlo stabilna u laboratorijskim uvjetima (cijepa se nakon dugotrajnog izlaganja koncentriranim kiselinama ili bazama pri visokim temperaturama), dok se proteini iz hrane u želucu metaboliziraju pri puno blažim uvjetima, zahvaljujući proteolitičkom učinku enzima.

Prirodne L-aminokiseline međusobno se povezuju u polipeptidne lance koji se tijekom i poslije sinteze smataju (nabiru) tvoreći brojne različite konformacije uslijed rotacije oko formalno jednostrukih veza. Konformacija u kojoj je molekula biološki aktivna naziva se nativnom konformacijom i određuje funkcionalnost pripadajućeg proteina. Nabiranje proteinskih lanaca igra ključnu ulogu u regulaciji biološke aktivnosti. Važan faktor koji upravlja nabiranjem proteina jest raspodjela polarnih i nepolarnih aminokiselina u strukturi proteina. Nepolarni (hidrofobni) bočni ogranci nakupljaju se u unutrašnjosti molekule kako bi izbjegli kontakt s vodenom okolinom u stanici. Suprotno tomu, polarni i nabijeni ogranci nastoje se zadržati blizu površine molekule kako bi mogli stvarati vodikove veze s vodom i drugim polarnim molekulama u stanici (slika 5.).^{16,17}



Slika 5. Nabiranje proteinskog lanca.¹⁸

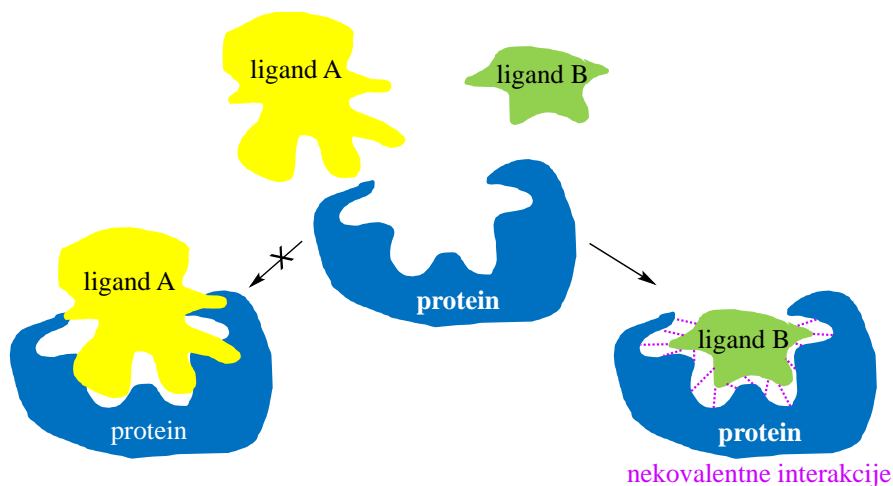
Nabiranje proteinskih lanaca ograničeno je slabim nekovalentnim interakcijama (vodikovim vezama, ionskim vezama i van der Waalsovima interakcijama) koje se uspostavljaju između različitih dijelova lanca (slika 6.). Iako su te interakcije i do 300 puta slabije od kovalentnih veza, njihova brojnost i simultanost omogućuju da se dvije regije peptidnog lanca međusobno relativno čvrsto povežu. Dakle, stabilnost tako nabranih struktura određena je zajedničkim utjecajem mnogobrojnih nekovalentnih interakcija, čija je posljedica specifična trodimenzijska struktura svakog pojedinog proteina. Pogreške u nabiranju proteinskih lanaca često uzrokuju patološka stanja. Neželjena agregacija proteinskih lanaca dovodi do tvorbe amiloidnih vlakana (plaka) koji se nakuplja u tkivima uzrokujući teška kronična oboljenja (amilodioza). Nakupljanjem amiloidnog plaka u mozgu nastaju neurodegenerativne bolesti (Alzheimerova, Parkinsonova bolest).



Slika 6. Nekovalentne interakcije koje se uspostavljaju unutar proteinskog lanca.¹⁹

Biolozi i kemičari razlikuju četiri strukturne razine u arhitekturi proteina: *I.* Primarna struktura (slijed aminokiselina u lancu), *II.* Sekundarna struktura (prostorni odnos aminokiselinskih ostataka koji su u linearnom slijedu međusobno blizu), *III.* Tercijarna struktura (prostorni odnos aminokiselinskih ostatak koji su u linearnom slijedu udaljeni) te *IV.* Kvaterna struktura (odnosi se na proteine građene iz više polipeptidnih lanaca).

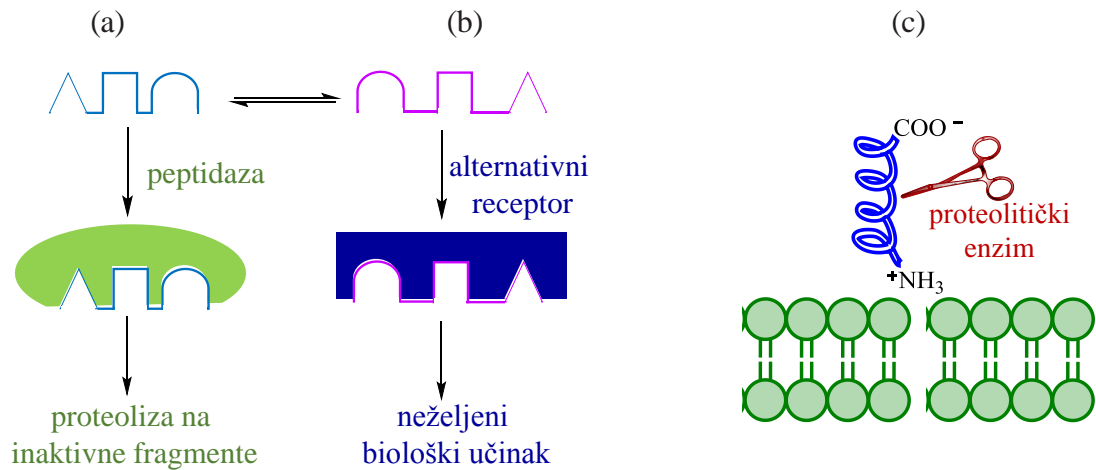
Struktura proteina određuje njegovu funkcionalnost. U skladu s Ehrlichovim načelom “*Corpora non agunt nisi fixata*” (lat. “*Molekule ne djeluju ako nisu povezane*”), međusobno povezivanje dviju molekula nekovalentnim vezama osnovni je preduvjet za postizanje biološkog odgovora. Primjerice, vezivanjem antitijela na antigen stimulira se imunostav, stanične se reakcije potiču vezivanjem hormona za receptore na površini stanice, kataliza reakcije započinje vezivanjem enzima za supstrat, itd. Temeljni preduvjet za uspješno povezivanje dviju molekula jest njihova strukturna komplementarnost što podrazumijeva da trodimenzijske strukture moraju odgovarati jedna drugoj oblikom, veličinom, nabojem, te hidrofobnim, odnosno hidrofilnim svojstvima (slika 7.).



Slika 7. Vezivanje proteinskog receptora i komplementarnog liganda B.

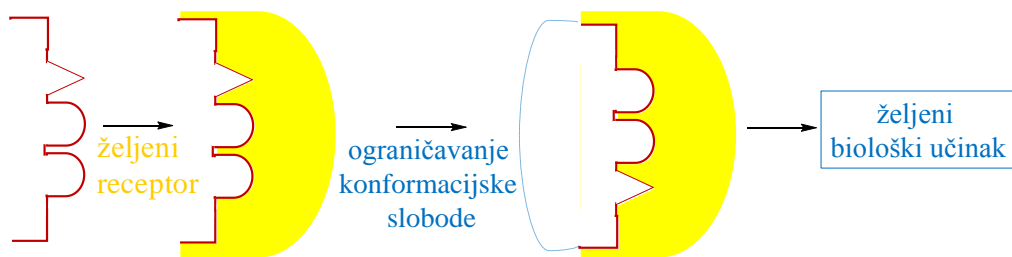
2.2. Mogu li se peptidi koristiti kao lijekovi?

Iako sudjeluju u važnim imunološkim i neurološkim procesima peptidi nisu pogodni za korištenje u terapijske svrhe iz nekoliko razloga. Njihova im velika fleksibilnost omogućava interakciju s različitim receptorima što rezultira nepoželjnim nuspojavama (slika 8b.). Osim toga, podliježu proteolitičkom djelovanju peptidaza iz gastrointestinalnog trakta i seruma (slike 8a. i 8c.). Velika molekulska masa i polarni karakter otežavaju njihov transport kroz staničnu membranu i krvno-moždanu barijeru (slika 8c.).^{20 21}



Slika 8. (a) Peptid u konformacijskoj ravnoteži; (b) Proteolitička nestabilnost i polarnost peptida.²¹

Unatoč ovim nepovoljnim svojstvima, klinička primjena biološki aktivnih peptida može se postići modifikacijom njihovih nepovoljnih farmakoloških i biofarmaceutskih svojstava.^{22,23} Afinitet peptida za željeni receptor povećava se ograničavanjem njegove fleksibilnosti uvođenjem različitih konformacijskih ograničenja što rezultira zauzimanjem rigidne bioaktivne konformacije (slika 9.).



Slika 9. Ograničavanje konformacijske slobode i "zaključavanje" bioaktivne konformacije.

Problem nestabilnosti prirodnih peptida sačinjenih iz L-aminokiselina u prisutnosti endopeptidaza (cijepaju unutarnje amidne veze) i egzopeptidaza (započinju hidrolizu na N- ili C-kraju peptidnog lanca) može se prevladati: (i) eliminacijom pojedine amidne veze, (ii) uvođenjem D-aminokiselina te (iii) kemijskom modifikacijom terminalnih skupina. Slaba topljivost u vodi može se poboljšati uvođenjem polarnih funkcijskih skupina, dok se slaba permeabilnost kroz biološke barijere prevladava korekcijom fizičko-kemijskih svojstava i peptida i supstrata.^{24,25}

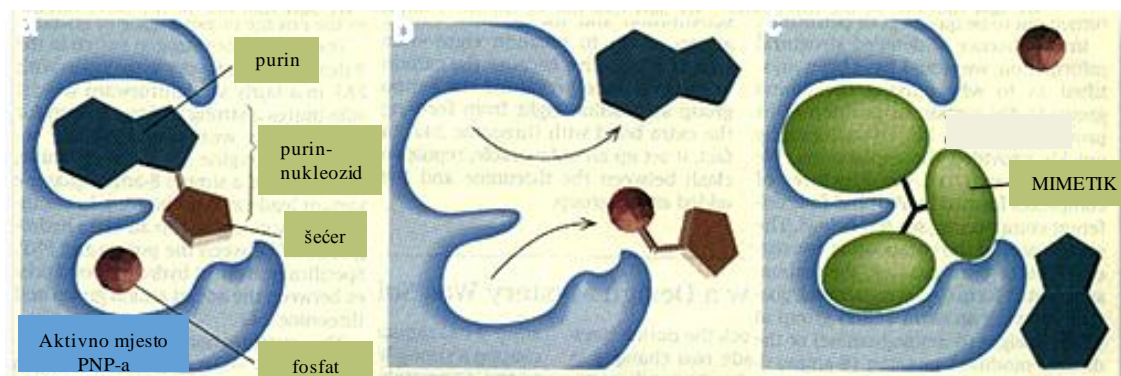
Zahtjevi za modificiranim peptidima s unaprijeđenim farmakodinamičkim i farmakokinetičkim svojstvima (povećana djelotvornost, selektivnost, metabolička stabilnost i

bioraspoloživost, a smanjena toksičnost) doveli su do razvoja **peptidomimetike, interdisciplinarnog znanstvenog područja koje objedinjuje organsku kemiju, biokemiju, farmakologiju i biotehnologiju.**

Dvije su opće prihvaćene definicije peptidomimetika:

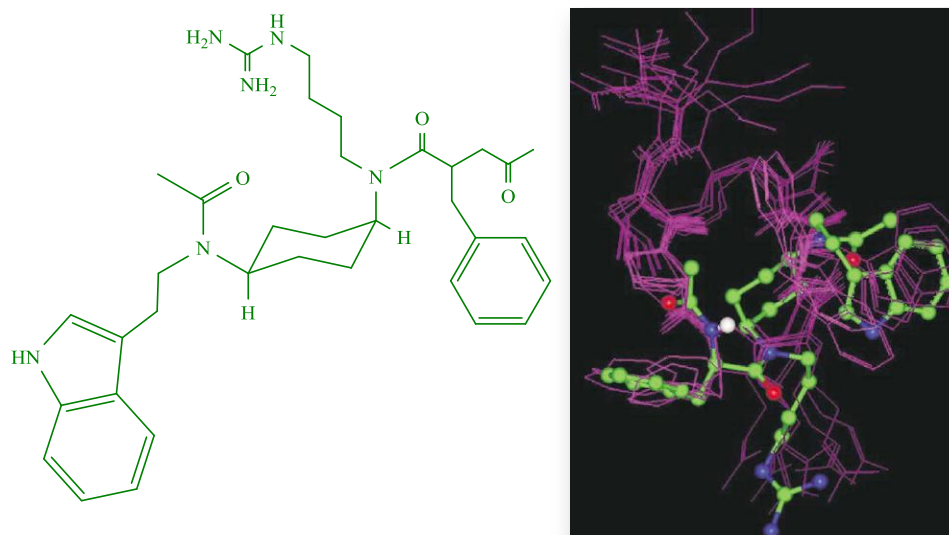
- (i) *Peptidomimetik je spoj koji kao ligand može oponašati ili blokirati biološki učinak peptidnog receptora.*
- (ii) *Peptidomimetik je spoj čiji esencijalni farmakoforni elementi oponašaju 3D-strukturu prirodnog peptida i proteina i zadržavaju njegovu sposobnost interakcije s biološkim ciljanim sustavima pri čemu zadržavaju jednak biološki učinak.*^{26,27,28,29,30}

Mimetik aktivnog mjesta purin-nukleozid-fosforilaze (PNP) primjer je peptidomimetika koji kao ligand blokira vezno mjesto peptidnog receptora. PNP je hidrolitički enzim koji cijepa vezu između purina i šećera dajući slobodnu purinsku bazu i fosforilirani šećer. U cilju inhibicije tog enzima dizajniraju se ligandi čija je trodimenzijska struktura komplementarna veznom mjestu enzima, te tako onemogućuju vezanje nukleozida, prirodnog supstrata (slika 10.).³¹



Slika 10. Mimetik koji blokira biološki učinak peptidnog receptora.³¹

Primjer peptidomimetika koji oponaša biološki učinak peptidnog receptora jest mimetik cikličkog peptida Ac-Nle-cyclo[Asp-Pro-D-Phe-Arg-Trp-Lys]-NH₂ koji je agonist receptora melanokortina (MCRs), zahvaljujući konformaciji fragmenta -D-Phe-Arg-Trp- koja je komplementarna MCRs-u. U cilju pronalaska mimetika koji najbolje oponaša konformaciju tog fragmenta ispitani su brojni ciklički sustavi, a najboljim se pokazao cikloheksanski mimetik prikazan na slici 11. čija triptaminska skupina na C₄-atomu oponaša Trp, dok butil-gvanidinska skupina na C₁-atomu oponaša Arg.³²



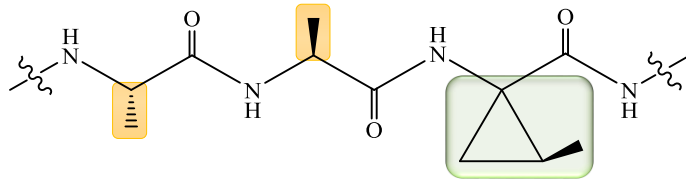
Slika 11. Peptidomimetik čija su sekundarna struktura svojstva analogna onima u prirodnom peptidu.³²

Terapeutska uporaba peptidomimetika moguća je ukoliko se odlikuju sljedećim farmakološkim svojstvima: (i) metaboličkom stabilnosti, (ii) dobrom biodostupnosti (brzina apsorpcije i količina aktivne tvari, odnosno lijeka koji dospije u sistemsku cirkulaciju te se zatim izlučuje kroz urin), (iii) afinitetom i selektivnost prema receptorima te (iv) minimalnim nuspojavama.

2.3. Pregled pojmova karakterističnih za područje peptidnih mimetika

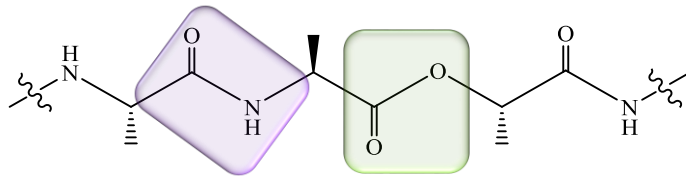
- *Oligomeri*: tvari koje se sastoje od višestruko ponavljajućih jedinica niske relativne molekulske mase.
- *Foldameri*: lančaste molekule ili oligomeri koji poprimaju elemente sekundarne strukture stabilizirane nekovalentnim interakcijama.
- *Ligandi*: molekule koje se specifično i reverzibilno vežu za drugu molekulu tvoreći kompleks.
- *Receptori*: proteini u stanici ili na površini stanice za koje se vežu ligandi, uzrokujući promjene u staničnoj aktivnosti.
- *Agonisti*: prirodne ili sintetske molekule koje oponašaju funkciju liganada.
- *Antagonisti*: prirodne ili sintetske molekule koje inhibiraju funkciju liganada.
- *Farmakofor*: skup steričkih i elektronskih svojstava neophodan za optimalnu interakciju sa specifičnom biološkom metom (IUPAC). Dio molekule odgovoran za farmakološko djelovanje (*Struna, Hrvatsko strukovno nazivlje*).

- *Izosteri*: dvije ili više različitih molekula koje sadržavaju jednak broj ukupnih ili valentnih elektrona, a odlikuju se sličnim svojstvima.
- *Peptidomimetik*: molekula koja oponaša trodimenzijski prostor peptida, te ima sposobnost izazivanja biološkog učinka nakon vezivanja na receptor.
- *Peptidni analog*: peptidomimetik s modificiranim bočnim ograncima (slika 12.).



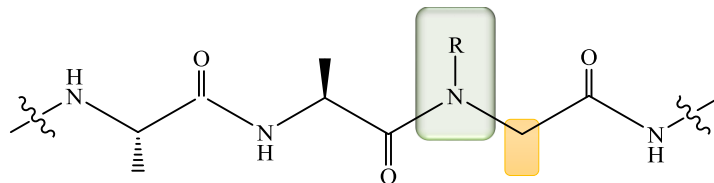
Slika 12. Struktura peptidnog analoga.

- *Depsipeptid*: pseudopeptid u kojem je amidna veza zamijenjena esterskom vezom (slika 13.).



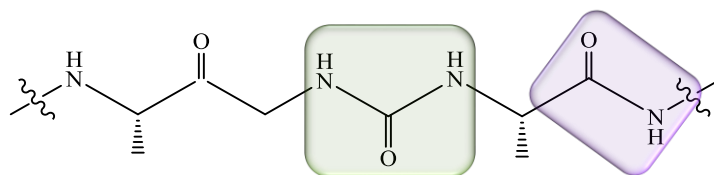
Slika 13. Struktura depsipeptida.

- *Peptoid*: peptidomimetik u kojemu je bočni lanac pomaknut sa C_{α} -atoma na amidni dušikov atom (slika 14.).



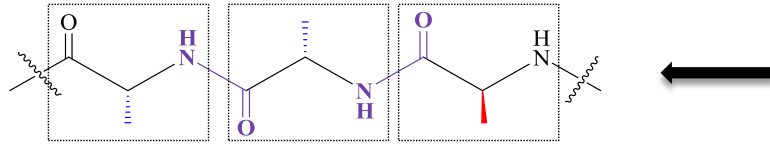
Slika 14. Struktura peptoida.

- *Ureidopeptid*: peptidomimetik u kojemu je amidna veza zamijenjena ureidnom skupinom (slika 15.).



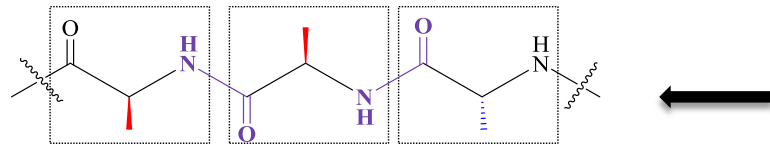
Slika 15. Struktura ureidopeptida.

- *Retro-inverzni peptid*: izmijenjena je konfiguracija pripadajućih aminokiselina (L-aminokiseline zamijenjene su s D-aminokiselinama i obrnuto); obrnut je smjer peptidnog lanca [zamijenjene su peptidne veze (-NHCO- umjesto -CONH-)] (slika 16.).



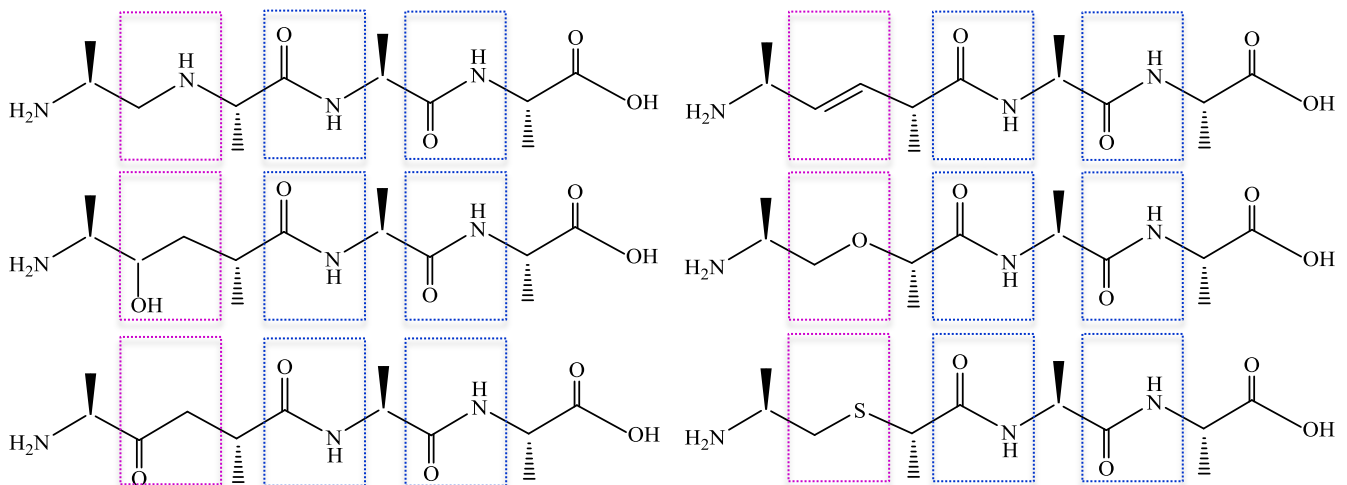
Slika 16. Struktura retro-inverzno peptida.

- *Retropeptid*: konfiguracija je zadržana, a obrnut je smjer peptidnog lanca [zamijenjene su peptidne veze (-NHCO- umjesto -CONH-)] (slika 17.).



Slika 17. Struktura retropeptida.

- *Pseudopeptid*: (i) peptidomimetik koji sadržava pseudopeptidnu vezu kao surogat amidne veze ili (ii) poliamid građen iz neproteinogenih α -aminokiselina (slika 18.).



Slika 18. Struktura pseudopeptidâ.

Uvođenjem pseudopeptidnih veza povećava se otpornost prema enzimskoj degradaciji, ostvaruju se konformacijske izmjene koje se odražavaju na karakter vodikovih veza i fleksibilnost, te se povećavaju specifičnost, potencijal i biološka aktivnost receptora.³³

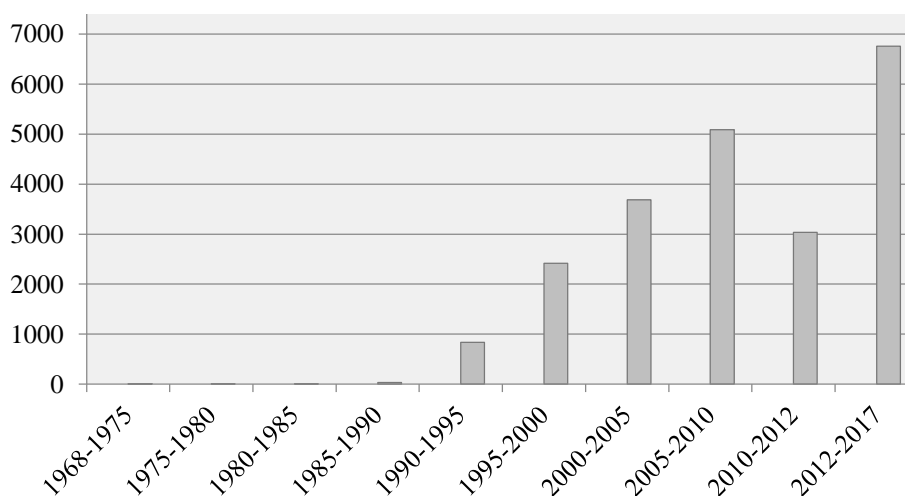
3. Mimetici sekundarnih struktura proteina

Želja za razumijevanjem, kontrolom i oponašanjem funkcije prirodnih peptida nametnula je potrebu za sintezom spojeva koji mogu oponašati sekundarne strukture (α -uzvojnice, β -ploče i okreta). S obzirom da struktura proteina utječe na njegovu funkcionalnost, sposobnost mimetika, kao sintetske molekule, da oponaša strukturu nekog prirodnog proteina izravno će utjecati na njezinu biološku učinkovitost.

Priroda funkciju proteina kontrolira uglavnom preko protein-protein interakcija koje su upravljane hidrofobnošću, vodikovim i ionskim vezama, te van der Waalsovima interakcijama između površina dvaju proteina.³⁴ Mimikrija velikih proteinskih površina bila bi izuzetno zahtjevna. Taj je zadatak pojednostavljen okrićem proteinskih “*hot-spots*”, aminokiselinskih ostataka, odnosno mjesta na ciljanom proteinu koja imaju veliku sklonost k vezivanju liganda te povoljno doprinose slobodnoj energiji vezanja. Visoko uređeni motivi sekundarnih struktura (α -uzvojnice, β -ploče i okreti) predstavljaju takva mjesta. Dizajn malih molekula koje oponašaju elemente sekundarne strukture te ostvaruju jednaku ili sličnu funkcionalnost doveo je do značajnog razvoja peptidomimetike.³⁵

Na slici 19. prikazani su rezultati pretrage baze Web of Science s ključnim riječima: *peptidomimetic*, *peptide mimetic*, *protein mimetic*, *peptide mimicry* i *protein mimicry*. Od 1990. godine bilježi se uzlazni trend u broju objavljenih znanstvenih radova, a može se uočiti da je broj objavljenih radova u zadnjih osam godina gotovo jednak broju radova objavljenih u prethodnom petnaestogodišnjem razdoblju, što zorno svjedoči o propulzivnom razvoju ove discipline.

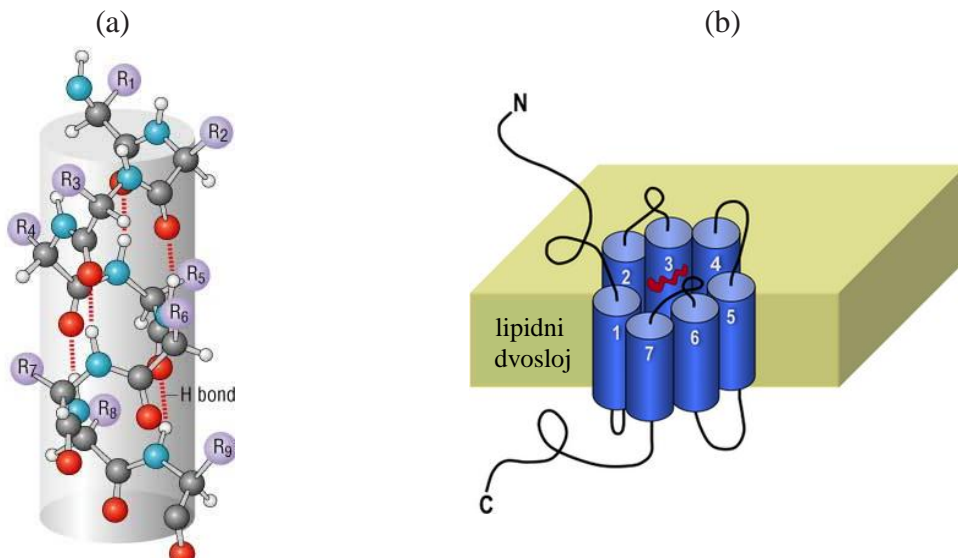
Broj objavljenih radova



Slika 19. Broj objavljenih radova iz područja peptidomimetike prema bazi Web of Science.

3.1. Mimetici α -uzvojnice

α -Uzvojnica nastaje smatanjem polipeptidnog lanca pri čemu nastaje čvrsti cilindar. Karbonilna skupina svake aminokiseline povezana je vodikovom vezom s NH-skupinom aminokiseline smještene četiri ostatka dalje. Svaki puni zavoj uzvojnice sadrži 3,6 aminokiselinskih ostataka (slika 20a).



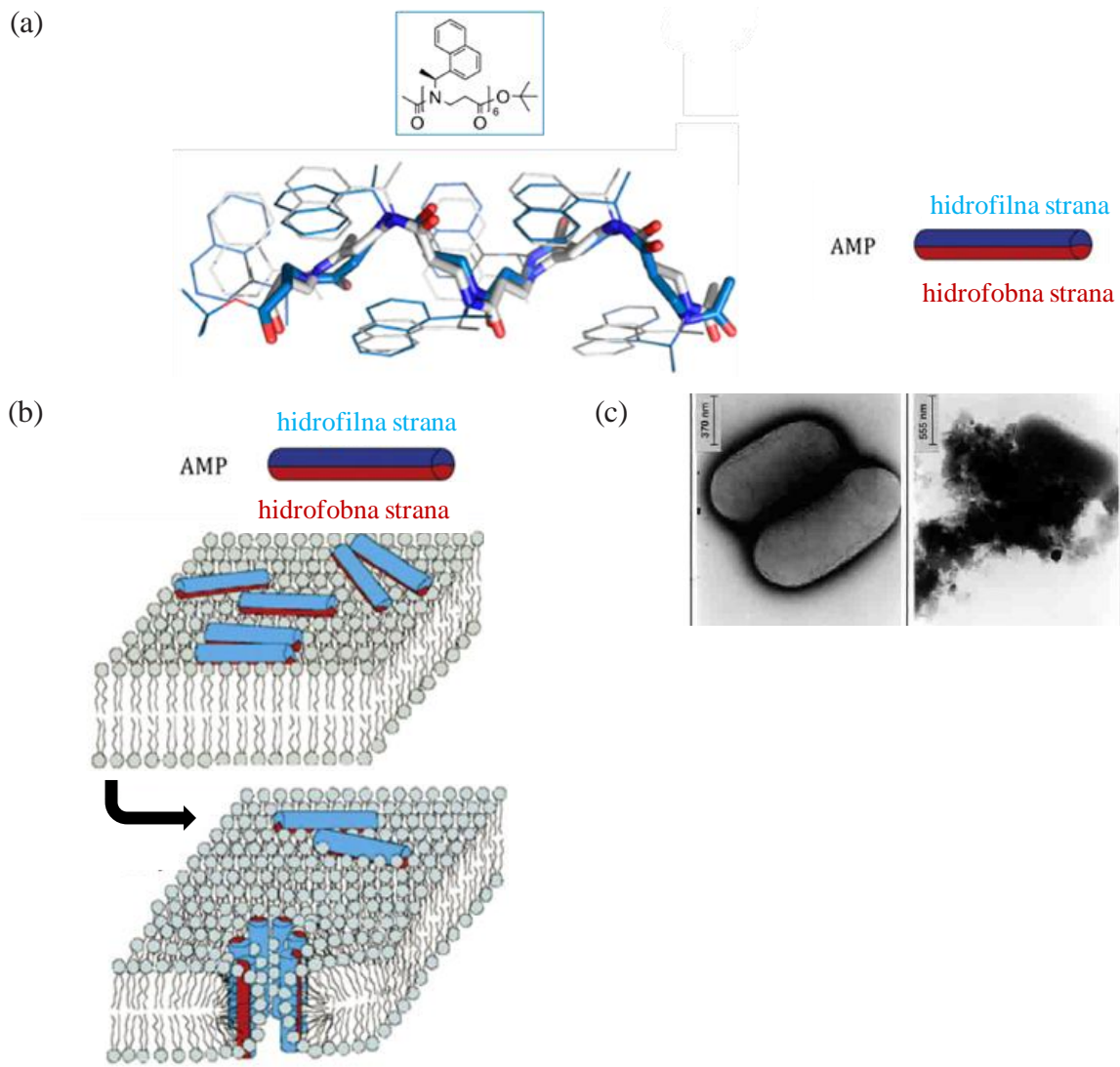
Slika 20. (a) α -uzvojnica;³⁶ (b) α -uzvojnice u strukturi transmembranskih proteina.³⁷

Kratke regije α -uzvojnica prisutne su u proteinima lociranim u staničnoj membrani i na njezinoj površini (transportnim proteinima i receptorima) (slika 20b). Takvi transmembranski proteini prolaze kroz membranu kao α -uzvojnice sačinjene iz nepolarnih aminokiselina. Hidrofilna polipeptidna okosnica uvija se u uzvojnici, a hidrofobni bočni ogranaci usmjereni prema vani zaklanjaju je od hidrofobnog lipidnog okruženja.

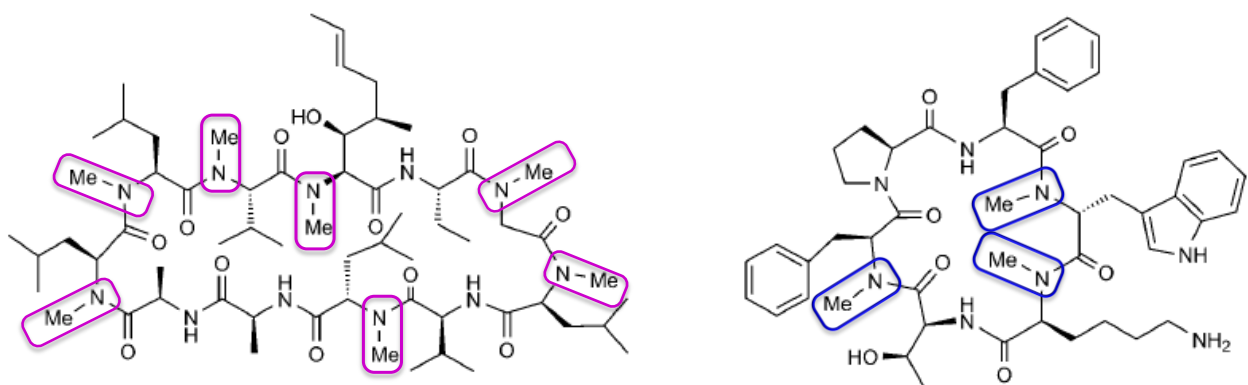
α -Uzvojnica predstavlja najčešći element sekundarne strukture u proteinima te je stoga i najčešći cilj prilikom sinteze peptidnih mimetika. Njezini mimetici mogu biti blago derivatizirani prirodni peptidi, ali i male molekule koje nalikuju heličnim strukturama.

3.1.1. Peptoidi

U peptoidima je, za razliku od peptida, bočni ogranak s C_{α} -atoma premješten na amidni dušik što rezultira ne samo gubitkom kiralnosti već i gubitkom sposobnosti sudjelovanja u vodikovoj vezi (slika 21.).^{38, 39, 40, 41, 42}



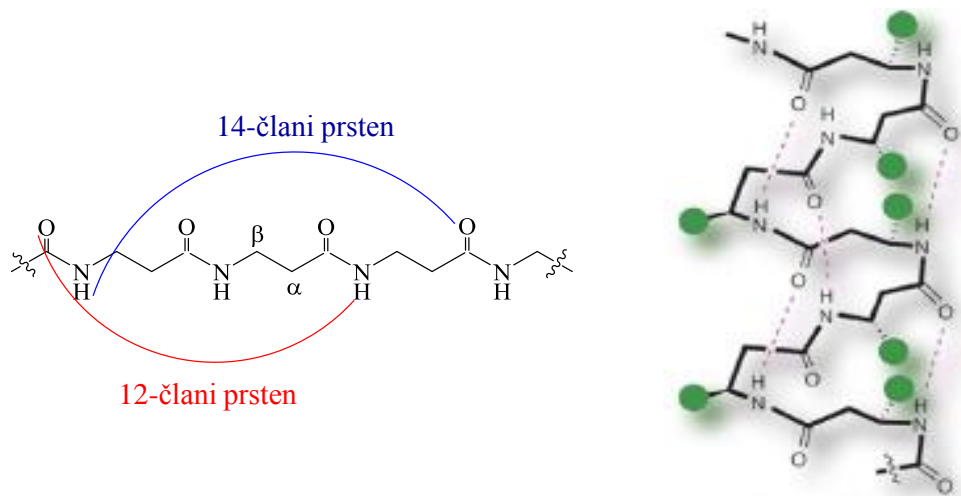
Slika 22. (a) α -Uzvojnica u molekuli peptoida;⁴⁴ (b) Hidrofobne interakcije peptoidne α -uzvojnice s bakterijskom membranom;⁴⁸ Stanica *E. coli* prije (lijevo) i poslije (desno) tretiranja s antimikrobnim peptidom LL-37.⁴⁹



Slika 23. *N*-metilirani derivati (a) ciklosporina i (b) analoga somatostatina.⁴⁶

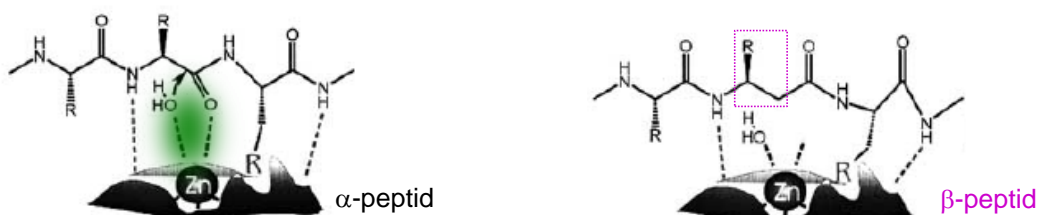
3.1.2. β -Peptidi

β -Peptidi izvode se iz β -aminokiselina u kojima su *N*- i *C*-kraju razdvojeni dvama C atomima. Slično α -peptidima, formiraju visokostabilne 12- ili 14-člane helične strukture temeljene na unutarmolekulskim vodikovim vezama (IHB, engl. *intramolecular hydrogen bond*) (slika 24.), ali i β -ploče i okrete. Produljavanjem peptidnoga lanca za jednu metilensku skupinu povećava se njegova proteolitička stabilnost.^{50,51,52,53,54,55} Navedena strukturna svojstva iskorištena su u dizajnu antimikrobnih β -peptida kao mimetika α -uzvojnice prirodnih peptidnih antibiotika.⁵⁶



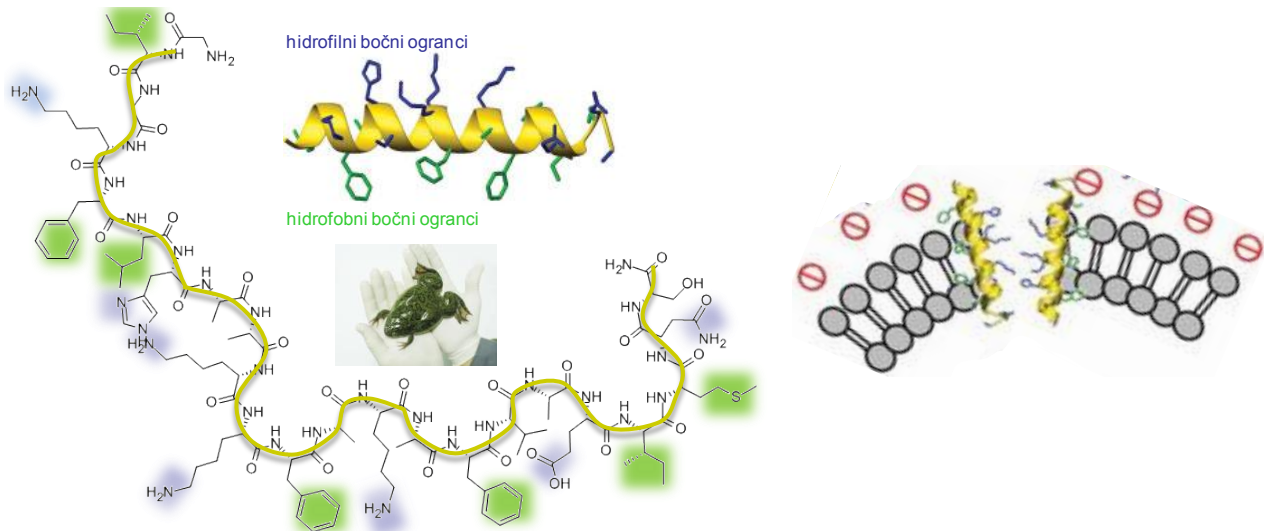
Slika 24. 12- i 14-člani IHB-prstenovi u molekulama β -peptida koji omogućuju tvorbu α -uzvojnice.

U odnosu na α -peptide, odlikuju se povećanom metaboličkom i strukturnom stabilnošću što je demonstrirano na primjeru vezivanja za aktivno mjesto metaloendopeptidaze: karbonilna skupina iz α -peptida stupa u interakciju s Zn, dok se kod β -peptida čija je peptidna veza izmještena iz aktivnog mjesta i kod kojeg je prisutan dodatni C-atom u okosnici spomenuta interakcija ne opaža, te ne dolazi do proteolize (slika 25.).⁵⁷



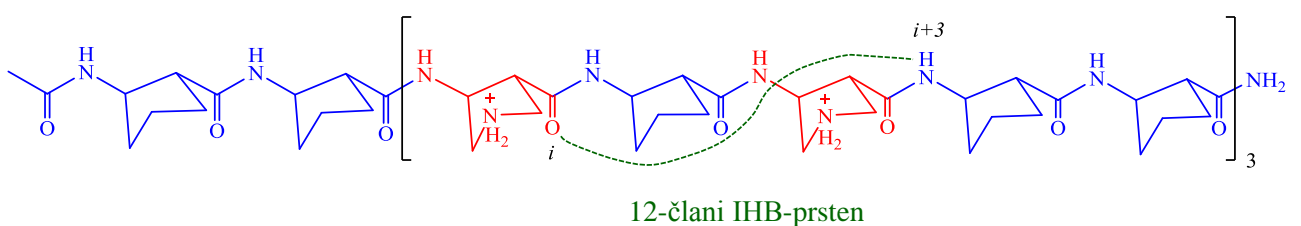
Slika 25. Shematski dijagram koji pokazuje da se i α - i β -peptid vežu za aktivno mjesto peptidaze, ali do cijepanja β -peptida ne dolazi.

Magainin, peptidni antibiotik izoliran iz kože žabe *Xenopus laevis*, djelotvoran je na viruse, bakterije, protozoe, kvasce i gljivice. Ostvaruje citotoksični učinak na stanice raka i inhibira virus *Herpes simplex*.⁵⁸ Njegova je biološka aktivnost posljedica stvaranja amfipatske uzvojnice (hidrofobne skupine raspoređene su na jednoj, a hidrofilne skupine na drugoj strani uzvojnice), koja se na način svojstven antimikrobnim peptidima veže za staničnu membranu i uzrokuje lizu stanice (slika 26.).



Slika 26. Amfipatska uzvojnica u molekuli antimikrobnog peptida magainina.⁴⁹

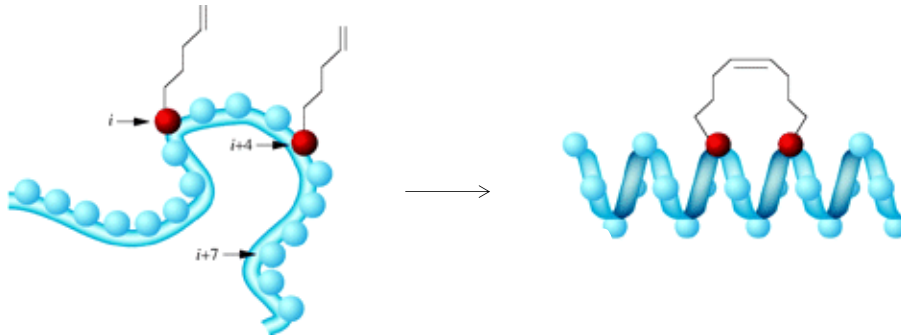
Njegov mimetik, peptid β -17,⁵⁹ poprima strukturu 12-člane uzvojnice, stabilizirane serijom vodikovih veza između karbonilne skupine na položaju i te amidnog protona na položaju $i+3$. Amfipatski karakter, neophodan za antimikrobnu aktivnost, osiguran je prisutnošću hidrofobnih [ACPC (2-aminociklopentankarboksilna kiselina)] i hidrofilnih skupina [APC (4-aminopirolidin-3-karboksilna kiselina)] raspoređenih na suprotnim stranama uzvojnice (slika 27.). U odnosu na prirodni peptid magainin, ostvaruje poboljšanu biološku aktivnost (djelotvoran je protiv četiri bakterijske vrste, uključujući i dva patogena rezistentna na uobičajene antibiotike).^{60,61}



Slika 27. Peptid β -17 kao mimetik α -uzvojnice iz magainina.

3.1.3. "Uvezani" (*stapled*) peptidi

Često kratke peptidne sekvencije, iako smještene u središtu visoko stabilne α -uzvojnice, ne mogu poprimiti uređenu strukturu. Međutim, jednostavnim kemijskim izmjenama moguće je "prisiliti" peptid da zauzme konformaciju uzvojnice. Primjerice, ugradnjom kovalentne spojnice između ostataka i te $i+4$ smanjuje se njihova međusobna udaljenost i omogućuje smještanje na istoj strani uzvojnice, uz povećanje heličnosti i do 80% (slika 28.). Metoda "uvezivanja" peptida korištenjem nepeptidnih prenosnica omogućava pretvaranje vrlo malih peptida (10-15 aminokiselinskih ostataka) u biološki aktivne spojeve.^{62,63,64,65}



Slika 28. Tvorba α -uzvojnice metodom "uvezivanja".⁶²

Zahvaljujući hidrofobnoj ugljikovodičnoj spojnicu, stabilizirane uzvojnice lakše prolaze kroz lipidni dvosloj. Nadalje, peptidna veza prisilno stabiliziranih peptida slabije je dostupna proteazama, što rezultira njihovom povećanom proteolitičkom stabilnošću. Uvezani peptidi djeluju kao inhibitori HIV-1 (zahvaljujući visokom afinitetu vezivanja na proteine iz virusnog omotača) te induciraju apoptozu stanica karcinoma (inhibiraju protein β -katenin koji, prisutan u hiperaktivnom obliku, uzrokuje nekontroliran rast stanica raka debelog crijeva, kože, mozga i jajnika). Zahvaljujući svojem biološkom djelovanju, u literaturi su opisani kao "magično streljivo u prirodnom arsenalu".⁶⁵

3.1.4. Male nepeptidne molekule kao mimetici α -uzvojnice

Protein-protein interakcije (PPI) prepoznate su kao posrednici u brojnim procesima kojima podliježu biološki sustavi. S obzirom na njihovu vrlo veliku brojnost (između 130000 i 650000), razvoj novih terapeutika koji ciljaju PPI predstavlja veliki izazov u medicinskoj kemiji i kemijskoj biologiji. Većina tih interakcija opaža se na velikoj dodirnoj površini (1500 do 3000 Å), pri čemu vezivanju ne pridonose svi ostaci. Dapače, smatra se da je vrlo mali broj njihovih aminokiselinskih ostataka (najčešće Arg, Trp i Tyr) uključen u vezivanje. Takve su regije

označene kao "hot-spots", a nalaze se na površini proteina i organizirane su kao α -uzvojnice, β -ploče ili okreti. Kako se α -uzvojnice locirane na površini jednog proteina smještaju u veznu šupljinu drugog proteina tijekom PPI, studija njihovih mimetika od velikog je značaja.^{66,67,68,69,70}

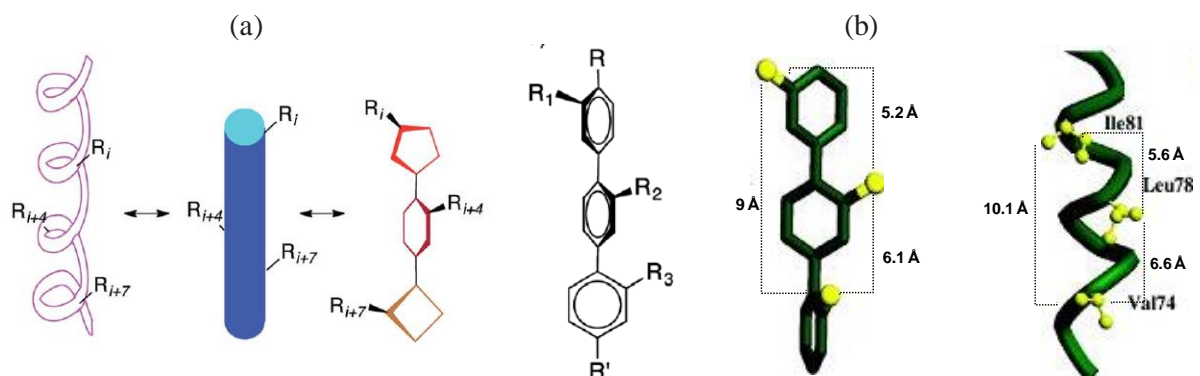
Tradicionalno se peptidomimetici dijele na tri tipa:

- Tip I: kratki peptidi koji oponašaju sekundarnu strukturu prirodnog peptida, sa zanemarivim izmjenama sekvencije,
- Tip II: nepeptidne funkcionalne molekule koje ne oponašaju peptidnu sekundarnu strukturu,
- Tip III: nepeptidne molekule koje oponašaju regije iz prirodnog proteina koje sudjeluju u ključnim interakcijama.

Klasična medicinska kemija koristi male molekule koje se vežu ili u aktivno mjesto proteina ili na alosteričko mjesto. Kad je riječ o PPI, priličan je izazov s pomoću malih molekula oponašati veliku međupovršinu uključenu u PPI. Usprkos tomu, razvijene su brojne male nepeptidne molekule kao mimetici tipa II, koje inhibiraju PPI.

Primjer takvih malih molekula su oligofenilni kalupi i njihovi derivati.⁷⁰ Njihove fenilne podjedinice povezane su jednostrukim vezama i ne leže u istoj ravnini. Zahvaljujući udaljenosti između dvaju supstituenata smještenih na susjednim fenilnim skupinama koja iznosi između 5 i 6 Å i odgovara udaljenosti između ostataka i , $i+4$ i $i+7$ iz uzvojnice, ove molekule oponašaju uzvojnici i istražuju se kao inhibitori ili antagonisti PPI (slika 29a.).

Bcl-xL, antiapoptotički protein prekomjerno eksprimiran u stanicama raka, štiti stanice raka od smrti. Opisani su terfenilni mimetici α -uzvojnice iz Bak proteina (slika 29b.) koji djeluju kao antagonisti Bcl-xL proteina u protein-protein interakcijama.



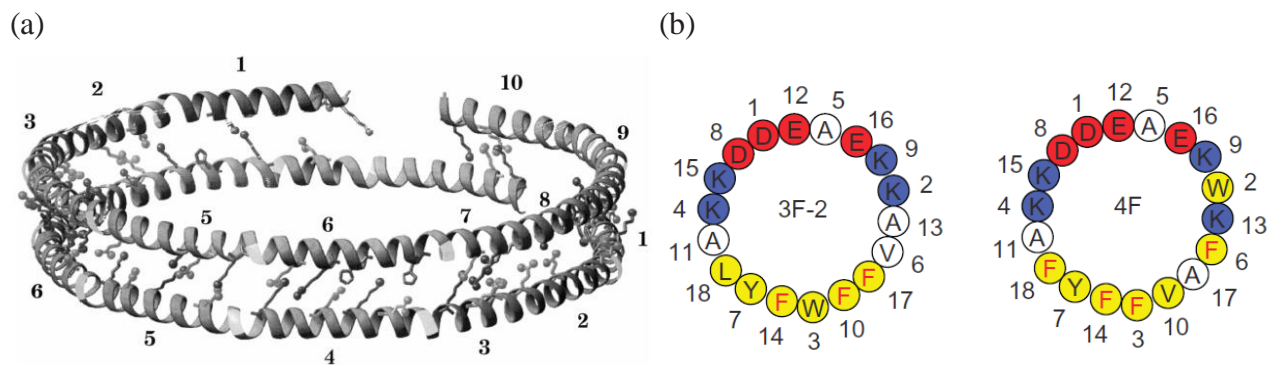
Slika 29. (a) Oligofenilni kalupi kao mimetici α -uzvojnice;⁷⁰ (b) Oligofenilni kalup kao mimetik α -uzvojnice.⁷⁰

3.1.5. Mimetici apolipoproteina

Humani apolipoprotein Apo-I, izgrađen iz 243 aminokiseline, glavna je proteinska komponenta HDL-a (lipoprotein visoke gustoće, engl. *High Density Lipoprotein*). Konstituirajući aminokiselinski ostaci formiraju skupine od po 10 ponavljajućih amfipatskih α -uzvojnica (8 uzvojnica sadrži po 22, a 2 uzvojnice po 11 aminokiselina) (slika 30a.). Hidrofobni aminokiselinski ostaci pozicionirani su na jednoj strani uzvojnice, dok su neutralni i negativno nabijeni ostatci smješteni na suprotnoj, polarnoj strani uzvojnice.⁷¹

Apo-I sakuplja višak kolesterola iz krvi i tkiva sprječavajući njegovo taloženje po stijenkama krvnih žila i razvoj kardiovaskularnih bolesti. Povoljan učinak HDL-a na aterosklerozu pripisuje se lipid-vezujućim svojstvima Apo-I, koja su posljedica prisutnosti ponavljajućih amfipatskih uzvojnica. Vezani kolesterol prenosi se iz perifernih tkiva do jetre odakle se izlučuje ili kao slobodni kolesterol ili u obliku žučnih kamenaca.

Kako je riječ o velikom proteinu čija je proizvodnja zahtjevna i skupa, oponašanjem njegove uređene sekundarne strukture moguće je pripremiti mimetike manje molekulske mase. Opisani su mimetici Apo-I koji sadrže samo 18 aminokiselinskih ostataka i odlikuju se svojstvima prosječnog amfipatskog heliksa, što je prikazano s pomoću heličnog kotača na slici 30b. Bioaktivni mimetik 4F koji sadrži Phe-ostatke na 4 od ukupno 8 mjesta na hidrofobnoj strani heliksa pokazao se učinkovitijim od analoga 3F.⁷²

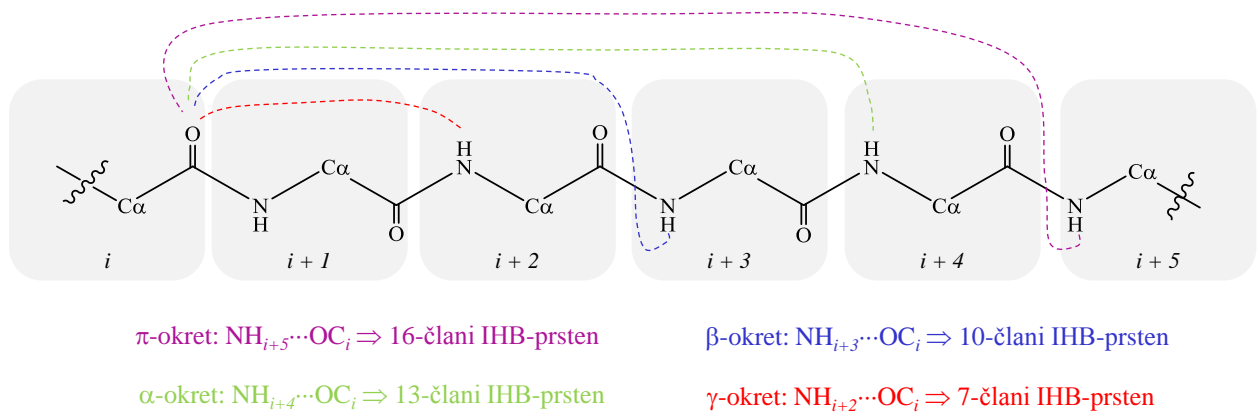


Slika 30. (a) 10 α -uzvojnica u molekuli Apo-I;⁷¹ (b) Mimetici apolipoproteina Apo-I koji tvore 18-člane α -uzvojnice.⁷²

3.2. Mimetici okreta

Okreti su mjesta na kojima proteinski lanac mijenja svoj smjer uslijed tvorbe intralančanih vodikovih veza, u kojima najčešće sudjeluju Asn, Gly i Pro zahvaljujući svojim torzijskim svojstvima. Ovisno o broju konstituirajućih ostataka dijele se na α , β , γ i π -okrete.

Zatvaranjem 7-članog IHB-prstena nastaju γ -okreti, 10-člani prsten odgovara β -okretu, 13-člani prsten rezultira α -uzvojnicom dok je π -okret posljedica tvorbe 16-članog IHB-prstena (slika 31.).⁷³

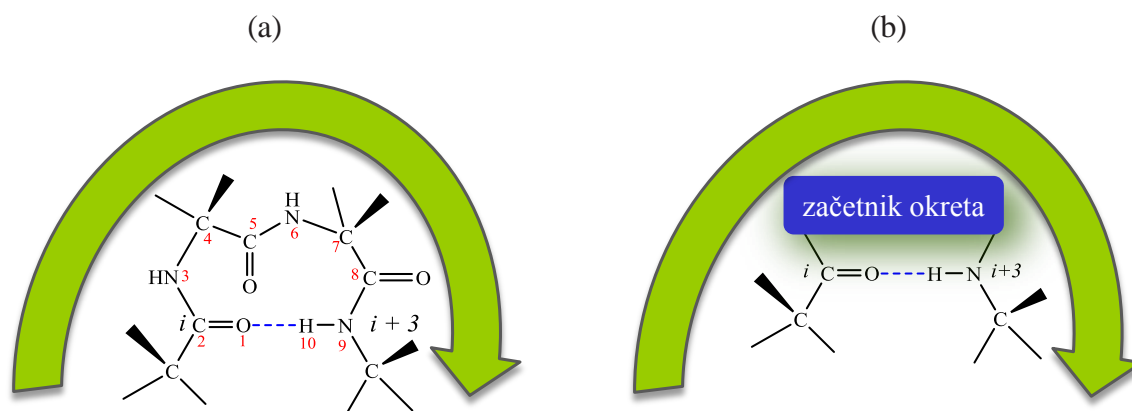


Slika 31. Vrste okretâ.

Oko 25% svih ostataka u proteinima sudjeluje u β -okretima koji obuhvaćaju četiri aminokiselinska ostatka u kojima udaljenost između $\text{C}_\alpha(i)$ i $\text{C}_\alpha(i+3)$ ne smije biti veća od 7 Å (slika 32a.). Odlikuju se vrlo izraženim hidrofilnim svojstvima (sadrže polarne i nabijene skupine), uslijed čega su smješteni na površini proteinske molekule i izloženi različitim receptorima s kojima ostvaruju interakcije te izravno sudjeluju u imunološkim, metaboličkim, hematološkim i endokrinološkim reakcijama.⁷³

Protein-protein interakcije (PPI), kako je već rečeno, imaju ključnu ulogu u brojnim biološkim procesima. Kontrolirano uplitanje u takve interakcije, koje predstavlja golem potencijal za razvoj novih terapeutika, suočeno je s brojnim izazovima, npr. dodirna površina uključena u specifično prepoznavanje obično je dosta velika i plitka, vezne su regije često nepovezane zbog čega su sintetski peptidi uglavnom beskorisni, itd. Proteinske sekundarne strukture su esencijalne za specifično prepoznavanje u PPI. Pritom β -okreti imaju vrlo važnu ulogu u mnogim biološkim prepoznavajućim sustavima (npr. u interakcijama hormona i njihovih receptora te antitijela i antigena), te postoji veliki interes za razvoj malih spregnutih mimetika β -okreta kao moćnih i selektivnih terapijskih agenasa.⁷⁴

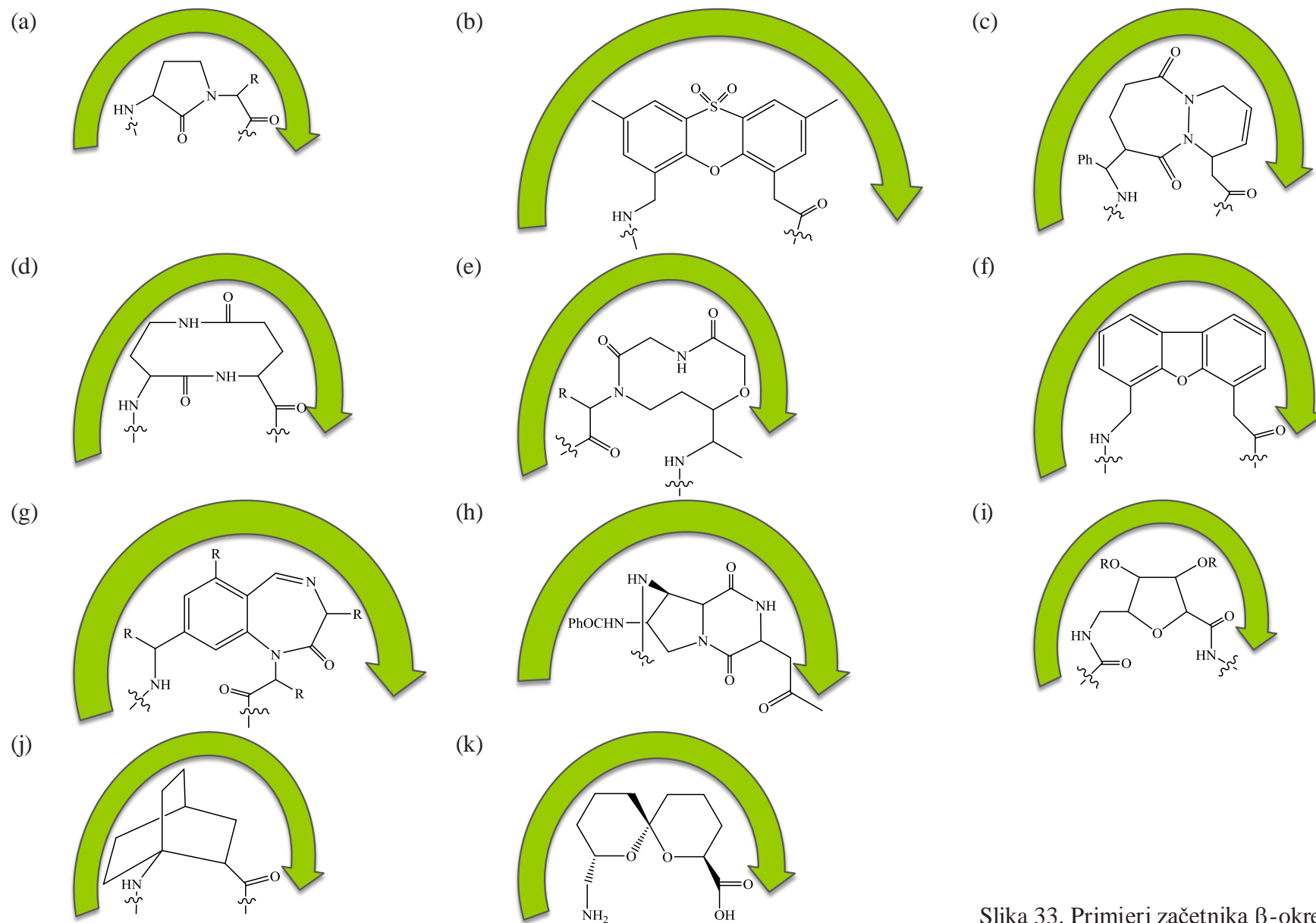
Glavnina mimetika β -okreta dobivena je zamjenom ostataka smještenih u “kutu” okreta s odgovarajućim začetnicima okreta (engl. *turn-inducer*), s namjerom očuvanja obrasca unutarmolekulskih vodikovih veza (slika 32b.). Idealni začetnici okreta imaju rigidni kostur koji usmjerava bočne ogranke u istom smjeru kao i u prirodnim peptidima, čemu izvedeni mimetici duguju povećanu otpornost prema proteazama.^{34,75}



Slika 32. (a) Unutarmolekulska vodikova veza između ostataka i i $i+3$ koja dovodi do tvorbe β -okreta (10-člani IHB-prsten); (b) Dizajn mimetika β -okreta temeljen na umetanju začetnika okreta u peptidnu sekvenciju.

Jedan od brojnih pristupa u dizajnu mimetika β -okreta s umetnutim začetnicima okreta temelji se na lokalnoj ciklizaciji peptidne okosnice, čime se smanjuje fleksibilnost peptida. Umetanjem cikličke β -laktamske "brave" između ostataka $i+2$ i $i+3$, peptid se fiksira u *trans* konformaciji koja pogoduje tvorbi vodikove veze (slika 33a.). Rigidnu konformaciju moguće je postići kombinacijom kovalentne spojnice i ciklizacije (slika 33b.), umetanjem amidne skupine (slika 33c., 33d.) ili etilenskog mosta (slika 33e.) te brojnim drugim pristupima pomoću kojih se četiri ostatka iz regije okreta dovode u neposrednu blizinu što je preduvjet za tvorbu vodikove veze $\text{NH}_{i+3} \cdots \text{OC}_i$.

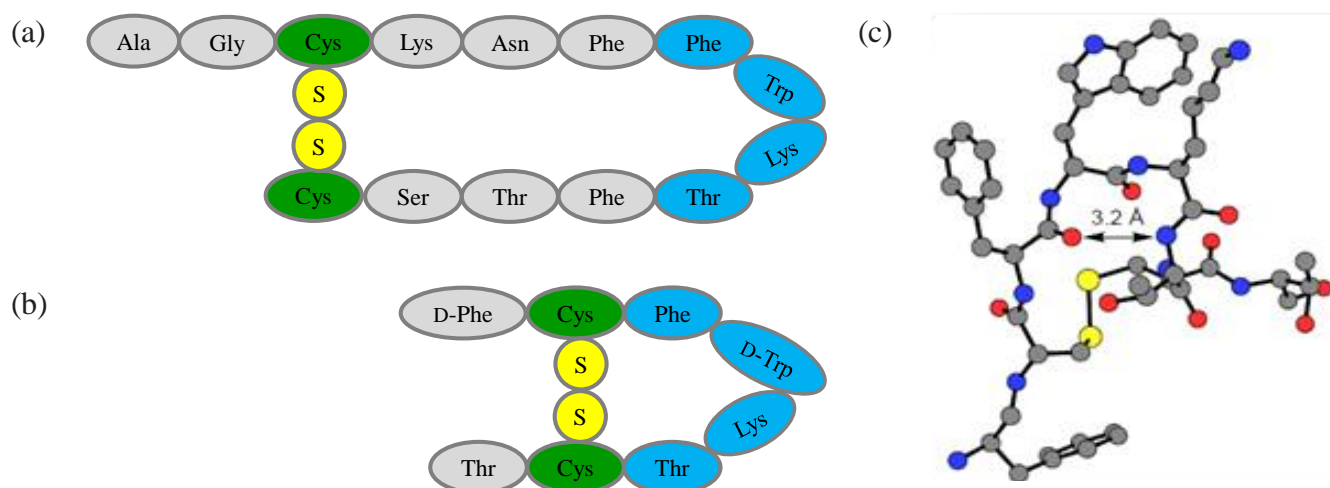
Drugi pristup u dizajnu mimetika β -okreta bazira se na uporabi nepeptidnih kalupa s pomoću kojih se ograničava njihova konformacijska fleksibilnost. U tu se svrhu koriste funkcionalizirani dibenzofurani (slika 33f.), benzodiazepini (slika 33g.), diketopiperazini (slika 33h.) i šećeri (slika 33i.). Konformacijsku fleksibilnost moguće je ograničiti i premošćivanjem peptidne okosnice pomoću (*S*)-aminobiciklo-[2.2.2]-oktankarboksilne kiseline (slika 33j.) i 6,6-spiroketal-aminokiselina (slika 33k.).

Slika 33. Primjeri začetnika β -okreta.

3.2.1. Mimetici β -okreta iz somatostatina

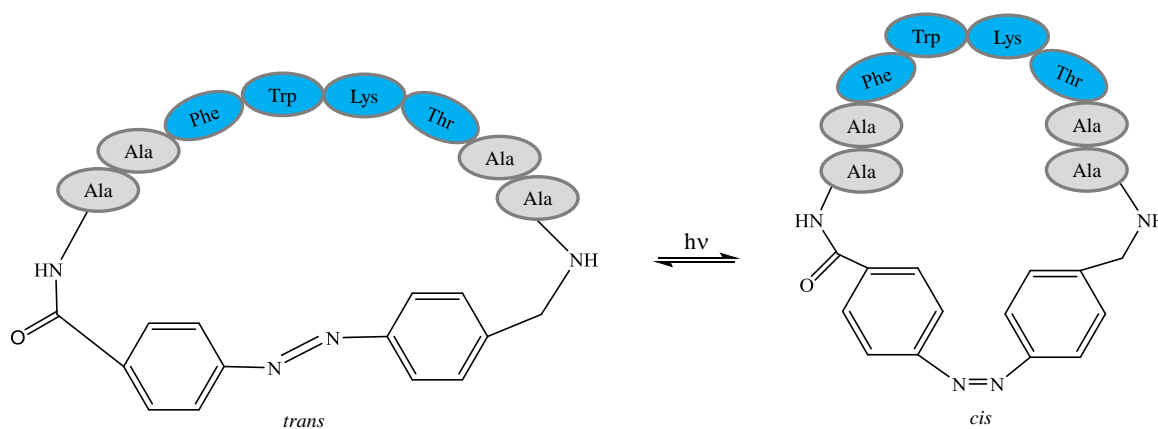
Okreti predstavljaju integralne dijelove mnogih antibiotika, toksina, ionofora i metaboličkih produkata. Primjerice, antimikrobne dekaeptidne sekvencije poput gramicidina S i tirocidina A-E, antibiotici viomicin i ciklički valinomicin te oktaeptid amatoksin i heptapeptid falotoksin sadrže okrete u strukturi. Okreti su prepoznavajući elementi u reakcijama brojnih peptidnih hormona poput angiotenzina, bradikina i somatostatina.⁷³

Somatostatin, ciklički tetradekaepitid, je hormon koji sudjeluje u regulaciji lučenja hormona rasta i u regulaciji probavnog sustava. Njegova bioaktivna konformacija neophodna za vezivanje i prijenos signala sadržana je u tetrapeptidnoj sekvenciji Phe-Trp-Lys-Thr koja definira β -okret (slika 34a.). Zamjenom L-Trp s D-Trp i skraćivanjem 14-članog peptidnog lanca somatostatina dobiven je 8-člani peptid oktreetid, mimetik koji se pokazao učinkovitijim inhibitorom hormona rasta, glukagona i inzulina u odnosu na prirodni somatostatin (slika 34b, 34c.).^{76,77}



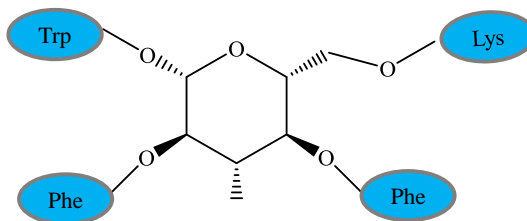
Slika 34. (a) β -Okret u molekuli somatostatina; (b) β -Okret u molekuli oktreetida;
(c) Kristalna struktura oktreetida.⁷⁷

Opisan je i ciklički, svjetlom aktivirani mimetik β -okreta kao analog somatostatina. Umetanjem azobenzenskog kalupa nasuprot tetrapeptidne vezne regije Phe-Trp-Lys-Thr odgovorne za biološku aktivnost somatostatina induciran je β -okret u pripremljenom mimitiku i to zračenjem (*trans*-ciklopeptid ne zauzima željenu konformaciju za razliku od izomernog *cis*-oblika) (slika 35.).⁷⁸



Slika 35. Indukcija β -okreta umetanjem azobenzenskog kalupa i zračenjem.

β -D-glukoza pokazala se pogodnim kalupom za smještanje aminokiselinskih ostataka nađenih u regiji β -okreta u somatostatinu. Prednost glukoznog kalupa u odnosu na ostale mimetike jest mogućnost uvođenja bočnih aminokiselinskih ostataka reakcijama esterifikacije (radije nego tvorbom C–C veza). Nadalje, glukoza ima dobro definirana stereokemijska svojstva te je komercijalno dostupna. Mimetici β -okreta temeljeni na glukozi odlikuju se poboljšanim farmakokinetičkim profilom u odnosu na mimetike bazirane na drugim cikličkim kalupima (slika 36.).⁷⁹

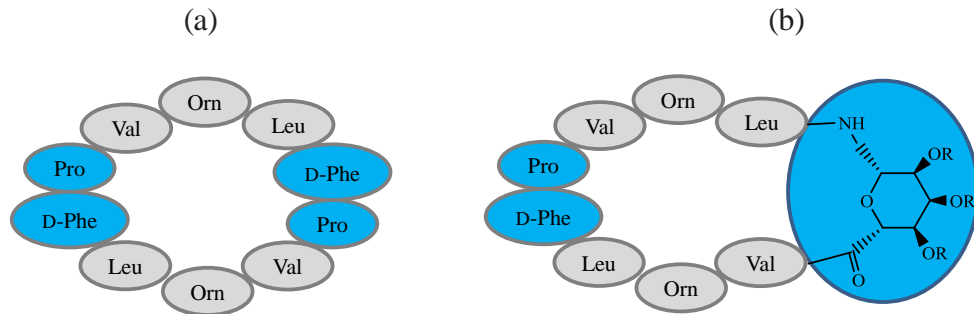


Slika 36. Mimetik somatostatina s glukopiranoznim kalupom koji ograničava konformacijsku fleksibilnost.

3.2.2. Mimetici β -okreta iz gramicidina

Gramicidin S, ciklodekapeptid sekvencije [ciklo(Pro–D-Phe–Leu–Orn–Val)₂] s pomoću dvaju dipeptida –Pro–D-Phe– zauzima strukturu β -okreta, dok su dva tripeptida –Leu–Orn–Val– istegnuta u konformaciju β -ploče (slika 37a.). Njegov je antimikrobni učinak posljedica tvorbe pora u vanjskoj membrani mikrobnje stanice. Pri dizajnu i sintezi njegovih mimetika korištene su različite strategije: umetanje neprirodnih aminokiselina, modifikacija veličine prstena te modifikacija regija β -okreta i β -ploče.^{80,81} Zamjenom dipeptida –Pro–D-Phe– iz regije β -okreta

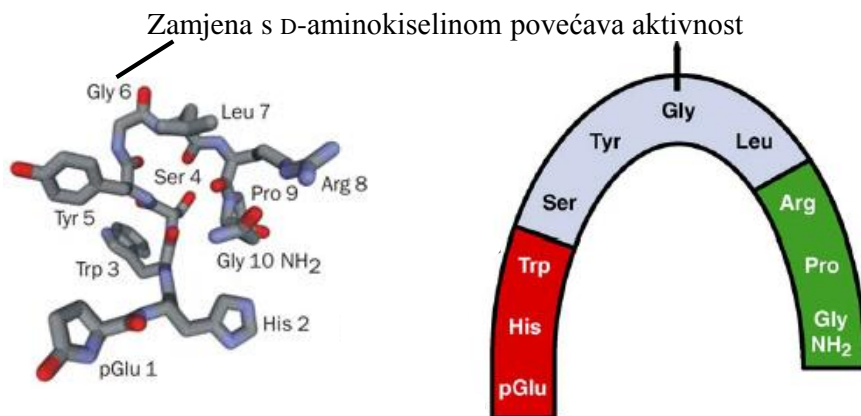
sa šećernim kalupima pripravljeno je nekoliko mimetika koji su se pokazali manje toksičnima u odnosu na gramicidin S te su pokazali slabiju antimikrobnu aktivnost. Kao kalupi za indukciju okreta ispitivane su šećerne aminokiseline različitih veličina prstena, pri čemu je najbolja konformacijska i hidrofobna svojstva ostvario mimetik s piranoznim kalupom (slika 37b.).



Slika 37. (a) β -Okret u molekuli gramicidina S; (b) Mimetik gramicidina S s umetnutim šećernim kalupom kao začetnikom okreta.

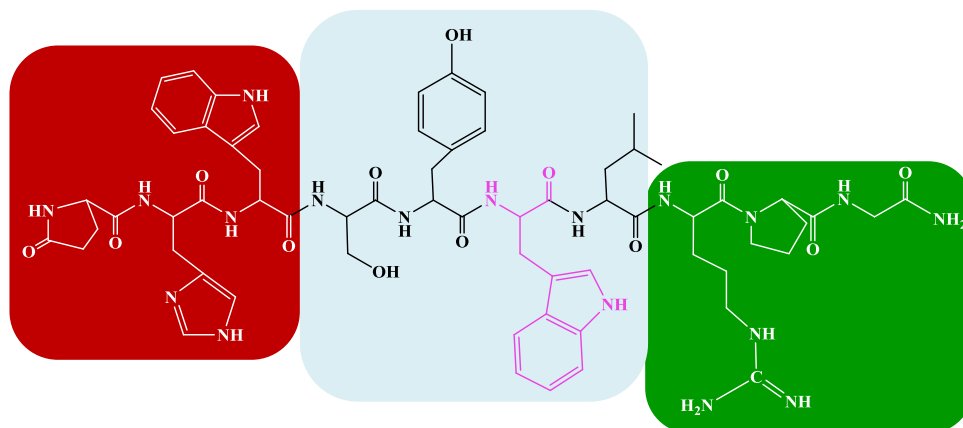
3.2.3. Mimetici β -okreta iz gonadotropina

Agonisti receptora gonadotropina (hormona koji regulira rast, spolni razvoj i reproduktivnu funkciju) ubrajaju se među prve uspješne primjere primjene peptidomimetika u dizajnu lijekova. Prema rezultatima studije odnosa strukture i aktivnosti (SAR, engl. *structure-activity relationship*), vezivanjem gonadotropina za odgovarajući receptor dolazi do približavanja njegovih *N*- i *C*- krajeva, što je indikacija β -okreta. Oba kraja sudjeluju u vezivanju na receptor. *N*-kraj sudjeluje i u aktivaciji receptora, a bilo kakva supstitucija u tom području dovodi do antagonističkog učinka. Peptidna okosnica iz gonadotropina savijena je oko Gly⁶. Supstitucija ove pozicije s D-aminokiselinama stabilizira konformaciju i smanjuje metaboličku degradaciju (slika 38.).^{82,83,84}



Slika 38. β -Okret u molekuli gonadotropina.⁸⁴

Supstitucijom Gly⁶ s D-Trp inducirana je konformacija β -okreta u rezultirajućem triptorelinu, a biološka je aktivnost značajno povećana. Triptorelin smanjuje razinu testosterona u krvi što omogućuje njegovu primjenu u liječenju uznapredovalog raka prostate. Osim toga, utvrđeno je da snižava razinu estrogena i dovodi do smanjenja kronične boli uzrokovane endometriozom (slika 39.).^{85,86}

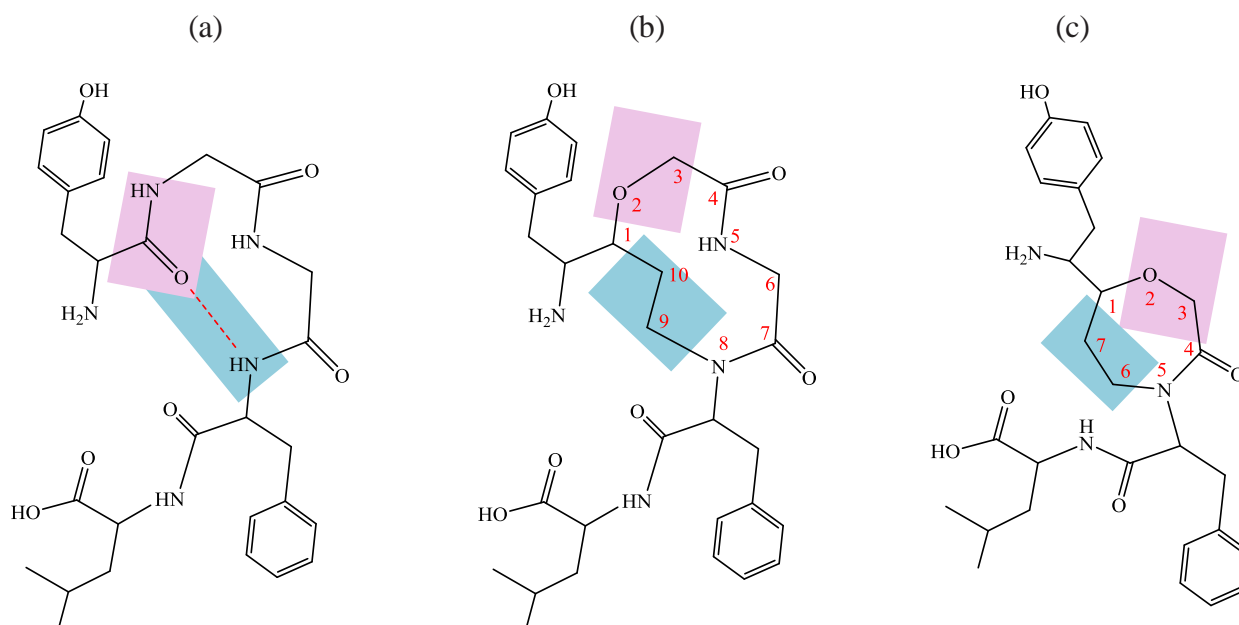


Slika 39. Kemijska struktura triptorelina, mimetika gonadotropina, u kojem je Gly⁶ zamijenjen s D-Trp.

Supstitucijom Gly⁶ s D-Ser(*t*-Bu) unaprijeđena je proteolitička stabilnost tako dobivenog mimetika goserelina koji se primjenjuje u liječenju benignih ginekoloških bolesti, te karcinoma prostate i dojke.⁸⁷

3.2.4. Mimetici β -okreta iz Leu-enkefalina

Leu-enkefalin, endogeni opioidni peptid sekvencije Tyr–Gly–Gly–Phe–Leu djeluje kao agonist opioidnih receptora i odgovoran je za smanjenje intenziteta boli. Njegova je bioaktivna konformacija stabilizirana unutarmolekulskom vodikovom vezom NH_{Phe *i*+3}...OC_{Tyr *i*} koja tvori β -okret (slika 40a.). Zamjenom prva četiri ostatka iz Leu-enkefalina s 10-članom cikličkom strukturom kao kalupom pripremljen je njegov mimetik⁸⁸ prikazan na slici 40b., dok je izostavljanjem jednog glicinskog ostatka i uvođenjem 7-članog prstena pripremljen mimetik⁸⁹ prikazan na slici 40c. U oba je mimetika unutarmolekulska vodikova veza zamijenjena s etilenskom prenosnicom, a istovremeno je amidna skupina između ostataka *i* te *i*+1 zamijenjena eterskom izosternom skupinom za koju se pokazalo da je kompatibilna s opioidnim receptorima.



Slika 40. (a) β -Okret u molekuli Leu-enkefalina; (b) Mimetik s 10-članom cikličkom izosternom skupinom kao začetnikom okreta; (c) Mimetik s 7-članom cikličkom izosternom skupinom kao začetnikom okreta.

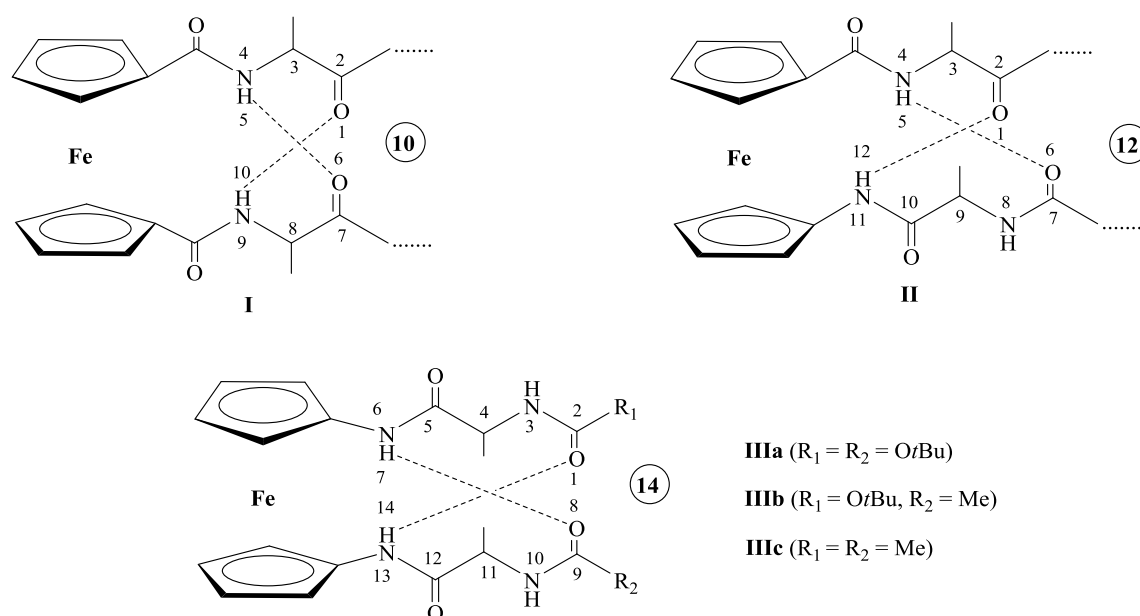
3.2.5. Mimetici okretâ izvedeni iz ferocen-1,1'-diamina

U Laboratoriju za organsku kemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta zadnjih se godina sintetiziraju peptidomimetici s ferocen-1,1'-diaminom kao začetnikom različitih okreta.

Ferocen je organometalni spoj u kojem je željezov kation (Fe^{2+}) smješten između dva ciklopentadienilna liganda (Cp) i često se nazivaju „sendvič“ spojevi.⁹⁰ Ferocen se odlikuje topljivošću u organskim otapalima, stabilnošću pri visokim temperaturama (do 400 ° C), te redoks-svojstvima. Zahvaljujući njegovoj lipofilnosti koja olakšava prolazak kroz staničnu membranu, stabilnosti u fiziološkom mediju, niskoj toksičnosti, oksido-redukcijskom kapacitetu i mogućnosti za relativno jednostavnim kemijskim modifikacijama, ferocen se nalazi u središtu interesa bioorganometalne kemije. U recentnom pregledu ferocenskih spojeva opisana je njihova primjena u nanomedicini, industriji biosenzora i katalizi.⁹¹

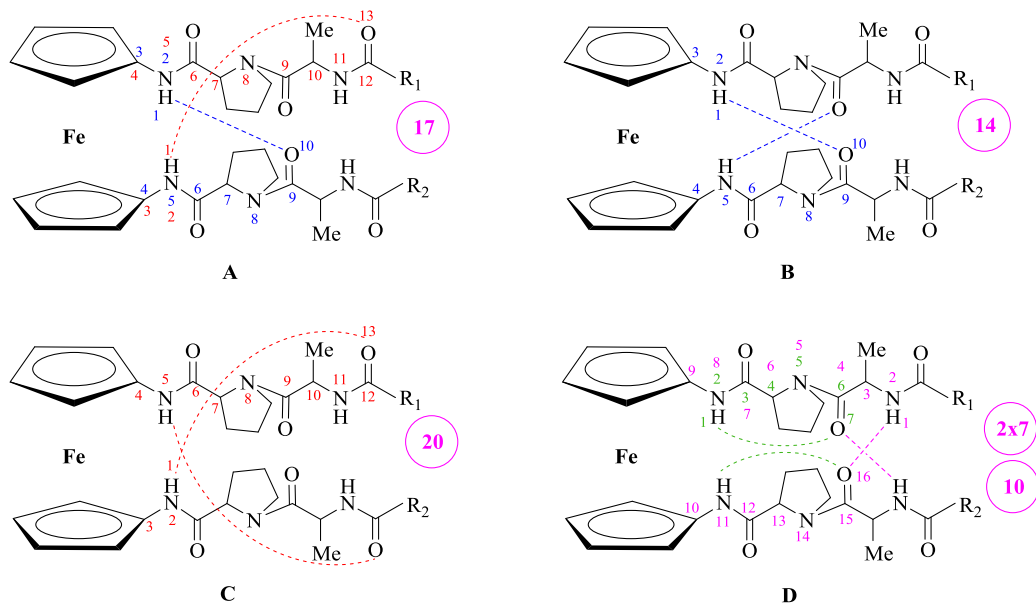
Jedan od pristupa u sintezi peptidomimetika obuhvaća umetanje 1,1'-disupstituiranog ferocenskog kalupa u peptidnu sekvenciju s ciljem uvođenja okreta. Zahvaljujući udaljenosti između ciklopentadienilnih prstenova od 3,3 Å u takvim je konjugatima omogućeno nastajanje unutmolekulskih vodikovih veza. Pritom ferocen ima ulogu začetnika okreta, a vodikove veze uspostavljene između peptidnih lanaca vezanih na ferocenski kalup dovode do tvorbe struktura nalik β -nabranim pločama.⁹² S obzirom na moguću ulogu ferocenskog kalupa kao donora ili akceptora vodikove veze, ostvaruju se tri glavna strukturna motiva u ferocenskim

peptidomimeticima. Iz ferocen-1,1'-dikarboksilne kiseline izvedeni su peptidi $\text{Fn}[\text{CO}-(\text{AK})_m-\text{OMe}]_2$ (**I**) s 10-članim IHB-prstenom. Dvanaesteročlani IHB-prstenovi uspostavljaju se u mimeticima $\text{Y}-(\text{AK})_n-\text{NH}-\text{Fn}-\text{CO}-(\text{AK})_m-\text{OMe}$ (**II**) izvedenim iz 1'-aminoferocen-1-karboksilne kiseline, dok se u konjugatima $\text{Fn}[\text{NH}-(\text{AK})_m-\text{Y}]_2$ (**III**) izvedenim iz ferocen-1,1'-diamina stvara 14-člani IHB-prsten (2 simultana 10-člana IHB-prstena ili strukture nalik β -okretima [Fn = ferocenilen, AK = prirodna aminokiselina, Y = Ac (acetil), Boc (*tert*-butoksikarbonil), $m = 1, 2, \dots$; $n = 1, 2, \dots$] (slika 41).⁹³ Za razliku od dobro istraženih i opisanih konjugata **I** i **II**, konjugati **III** izvedeni iz ferocendiamina opisani su u svega tri publikacije^{93,94,95} od čega su dvije rezultat istraživanja provedenih u Laboratoriju za organsku kemiju PBF-a.



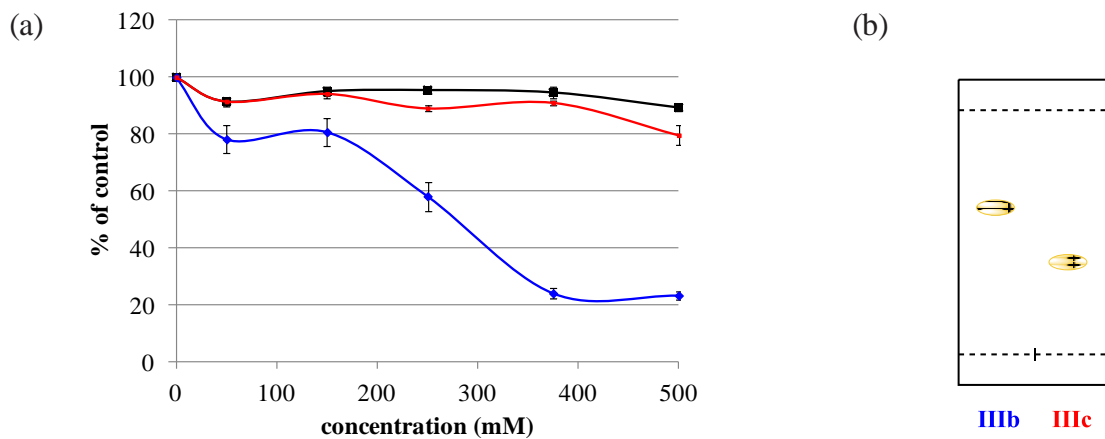
Slika 41. Ferocenski peptidi **I-III** izvedeni iz različitih začetnika okreta

U našem su Laboratoriju pripremljeni konjugati **III** sačinjeni iz ferocen-diamina kao začetnika okreta i Ala, odnosno homo- i heterokiralnih Ala-Pro dipeptida. Pokazalo se da je variranjem kiralnosti prirodnih aminokiselina, kao i *N*-terminalnih skupina moguće inducirati tvorbu IHB-prstenova različitih veličina u takvim biokonjugatima (slika 42.). U homokiralnim su peptidima, ovisno o veličini *N*-zaštitne skupine, formirani 14-člani (2 simultana β -okreta, obrazac **B**), 17-člani (motiv **A**) i 20-člani IHB-prstenovi (motiv **C**) temeljeni na međulančanim vodikovim vezama. Potpuno drugačiji obrazac vodikovih veza (motiv **D**), temeljen na dvije simultane unutarlančane vodikove veze (dva 7-člana prstena) i dvije međulančane vodikove veze (10-člani prsten), opažen je kod heterokiralnih konjugata.



Slika 42. Obrasci unutarmolekulskih vodikovih veza opaženi u homokiralnim peptidima (motivi **A**, **B** i **C**) i heterokiralnim peptidima (motiv **D**).

Nadalje, konjugati **III** koji su sadržavali alaninsku sekvenciju podvrgnuti su biološkim testovima u cilju ispitivanja citotoksičnog učinka na stanične linije Hs 578T i Hep G2, pri čemu se pokazalo da lipofilnost ispitivanih biokonjugata najviše utječe na njihovu biološku aktivnost (slika 43.).⁹⁵



Slika 43. (a) *In vitro* anti-proliferativni učinak ferrocena i njegovih konjugata **IIIb** (plavo) i **IIIc** (crveno) na stanice karcinoma jetre Hep G2. (b) R_f -vrijednosti konjugata **IIIb** i **IIIc** ukazuju na veću lipofilnost peptida **IIIb**.

3.3. Mimetici β -ploče

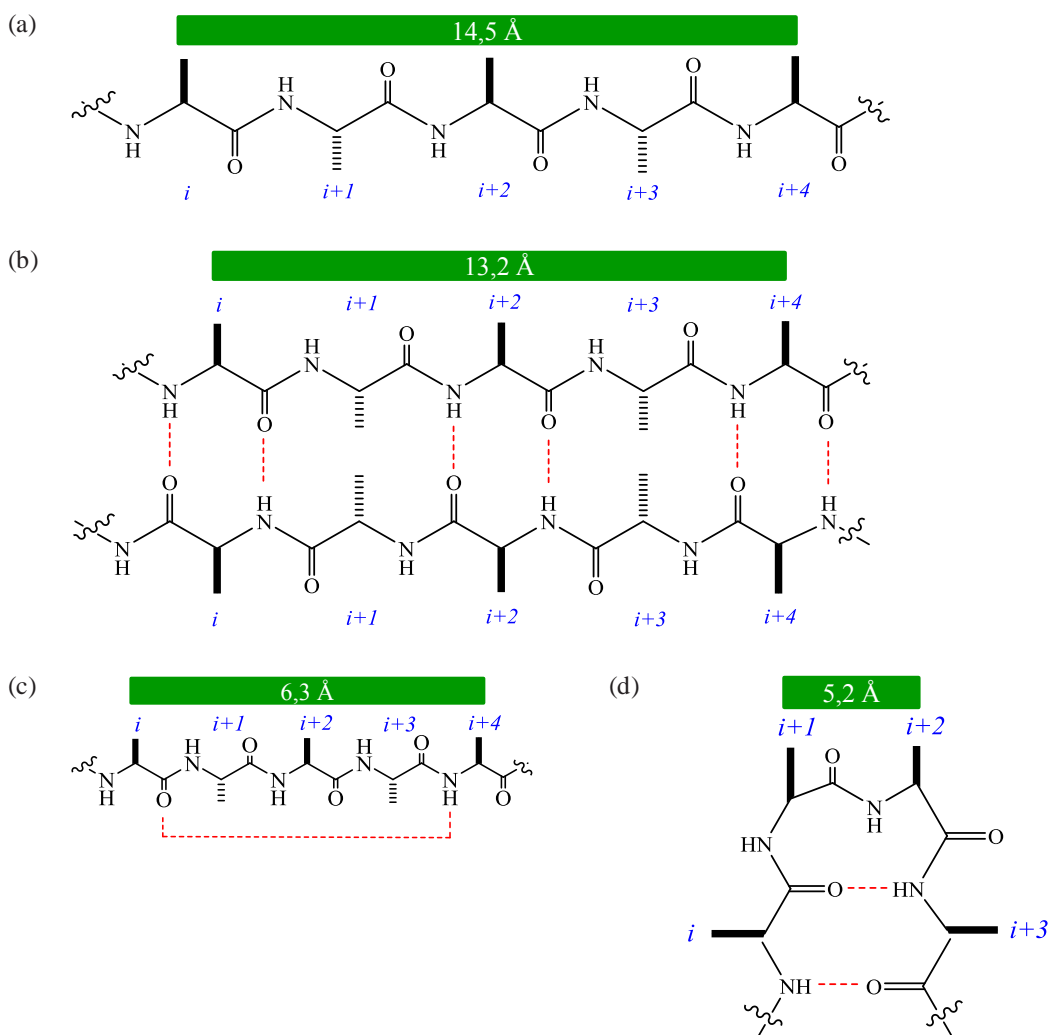
Najjednostavniji peptidni strukturni element je β -nit s linearno ili zupčasto raspoređenim aminokiselinama. Amidne veze u β -niti gotovo su koplanarne, a bočni ogranci su naizmjenično raspoređeni iznad i ispod ravnine peptidne okosnice (slika 44a.). Između aminokiselinskih ostataka unutar β -niti ne uspostavljaju se vodikove veze zbog čega ima izduženu konformaciju. Izolirane β -niti nisu uobičajene; međutim, susjedne β -niti najčešće se međusobno povezuju vodikovim vezama tvoreći β -ploče čime se stabilizira proteinska struktura (slika 44b.).

β -Ploče čine više od trećine elemenata sekundarne strukture i imaju ključnu ulogu u različitim biološkim procesima koji se dovode u vezu s normalnom funkcijom organizma, ali i patološkim stanjima, npr. mnogi proteini skloni su agregaciji pri čemu nastaju plakovi, strukture netopljivih β -ploča, koji uzrokuju progresivna neurološka oboljenja.

Udio proteaza u genomu čovjeka iznosi 2%, dok se u genomu infektivnih organizama nalazi 1-5% proteaza. Proteolitički se enzimi vezuju na svoje supstrate i inhibitore koristeći istegnute β -niti, dijelove β -ploča, kao prepoznavajuće elemente. I mnogi drugi biomolekulski receptori koriste β -niti kao prepoznavajuće elemente, te stoga njihovi mimetici mogu naći primjenu u medicini kao inhibitori enzima i antagonisti.^{96,97,98,99}

Pri dizajnu i razvoju molekula koje oponašaju β -niti mora se uzeti u razmatranje razlika u veličini, obliku i sastavu β -niti, β -ploča, okreta i α -uzvojnica. β -Niti karakterizira najveća moguća udaljenost između bočnih ogranaka (udaljenost između ostataka i te $i+4$ iznosi 14,5 Å), čime su smanjena sterička odbijanja između bočnih ogranaka, a istovremeno je osigurana velika izloženost okosnice otapalu ili receptoru (slika 44a.). Nakon združivanja β -niti u β -ploču smanjuje se udaljenost između ostataka i i $i+4$ na 13,2 Å, pri čemu među vodikove veze još uvijek zaklanjaju okosnicu od interakcija s otapalom i ligandima (slika 44b.). Međutim, bočni ogranci, koji su u β -ploči usmjereni na suprotne strane, izloženi su enzimima. S druge strane, ostatci i i $i+4$ iz α -uzvojnice nalaze se na manjoj udaljenosti (~ 6,3 Å), što dovodi do sažimanja peptidnog lanca u kojem su kisikovi i vodikovi atomi iz svih amidnih veza uključeni u unutarlančane vodikove veze (slika 44c.). Na taj je način okosnica zaklonjena od međumolekulskih vodikovih veza s receptorom i jedino su bočni ogranci dostupni za međumolekulske interakcije. Konformacija β -okreta omogućava izloženost bočnih ogranaka otapalu ili receptoru i istovremeno ograničava izloženost okosnice vodikovim vezama. Prosječna udaljenost između C_{i+1} i C_{i+2} iznosi 5,2 Å što odgovara udaljenosti dvaju susjednih bočnih ogranaka u α -uzvojnici, s tim da su bočni ogranci iz okreta prikazani dvodimenzijski, za razliku od trodimenzijskog rasporeda bočnih ogranaka iz uzvojnice (slika 44d.).

Najjedostavniji pristup u dizajnu mimetika β -ploče zasniva se na korištenju kratkih peptida kao mimetika odgovarajućih proteinskih regija koje sudjeluju u prepoznavanju s drugim proteinima ili DNA. Međutim, kratki peptidi imaju brojna nepovoljna svojstva (konformacijska fleksibilnost, proteolitička nestabilnost, niska biodostupnost) koja onemogućuju njihovu terapijsku primjenu i zahtijevaju prilagodbe koje će ih učiniti farmakološki prihvatljivijim kandidatima za lijekove. U tom se smislu često provodi ciklizacija bočni ogranak – bočni ogranak, bočni ogranak – okosnica ili okosnica – okosnica kao metoda kojom se peptid “prisiljava” da zauzme bioaktivnu konformaciju. Osim postizanja konformacijski rigidnih struktura, ciklizacijom se ostvaruje i povećana proteolitička stabilnost.

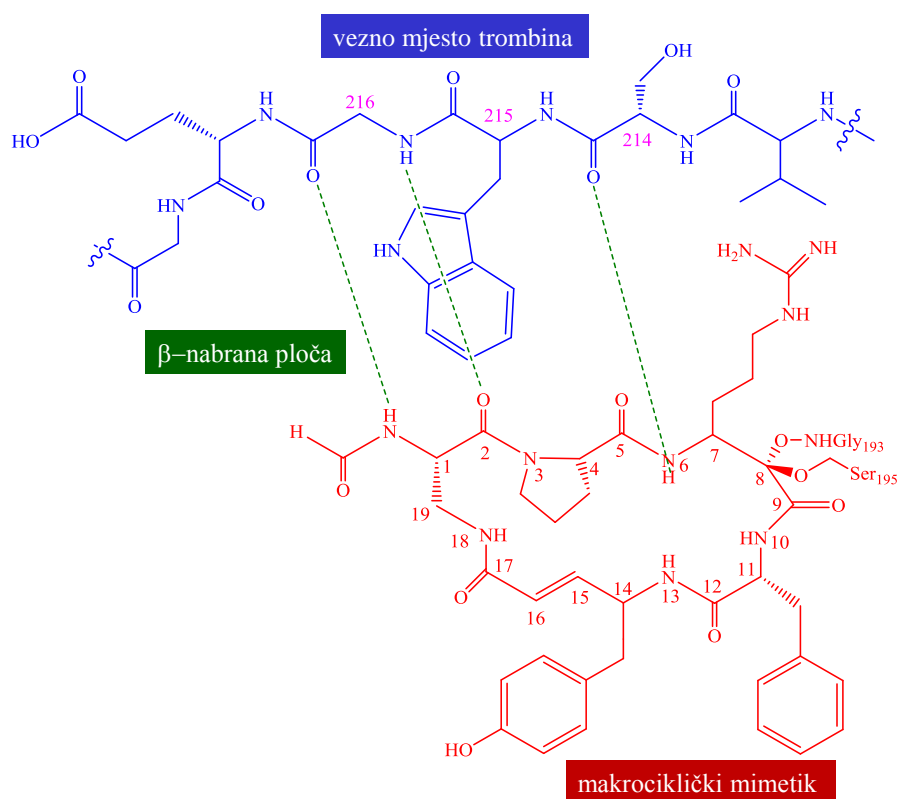


Slika 44. Usporedba udaljenosti između bočnih ogranaka u (a) β -lancu, (b) β -ploči, (c) α -uzvojnici i (d) β -okretu

3.3.1. Makrociklički mimetici

Makrocikli dobiveni kondenzacijom bočnih ogranaka s okosnicom predstavljaju visokospregnute strukturne mimetike tri- i tetrapeptidnih regija iz supstrata ili inhibitora linearnih peptida. Neki od tih makrocikla sadrže dvije *trans*-amidne veze i *para*-supstituirane aromatske prstenove koji ometaju tvorbu vodikovih veza uslijed čega makrocikli zauzimaju izduženu konformaciju, pogodnu za vezivanje s proteazama.

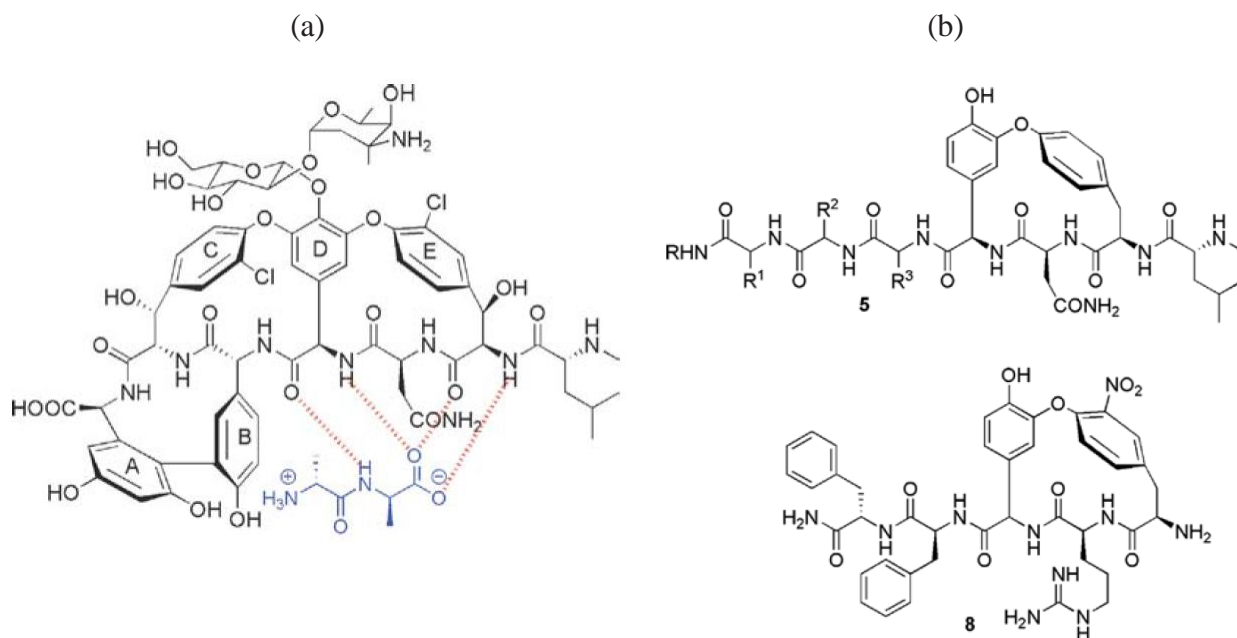
Primjer kompleksa makrocikla i enzima u kojem makrocikl oponaša β -lanac koji će s veznim mjestom enzima tvoriti β -ploču jest 19-člani makrociklički peptid cikloteonamid izoliran iz morske spužve *Theonella sp.*⁹⁹ koji se pokazao inhibitorom trombina, tripsina i streptokinaze. Konformacijskom analizom u otopini i čvrstom stanju ustanovilo se da cikloteonamid u blizini veznog mjesta proteaze zauzima konformaciju istegnutog β -lanca te sa svojim fragmentom NH-CHR-C(O)-Pro-Arg- tvori međumolekulske vodikove veze s ostacima Ser214/Trp215/Gly216 iz veznog mjesta trombina (slika 45.).¹⁰⁰



Slika 45. Kompleks makrocikličkog mimetika β -ploče i trombina.

Vankomicin je glikopeptidni antibiotik visokodjelotvoran prema Gram-pozitivnim bakterijama, uključujući i MRSA (meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*). Inhibira sintezu

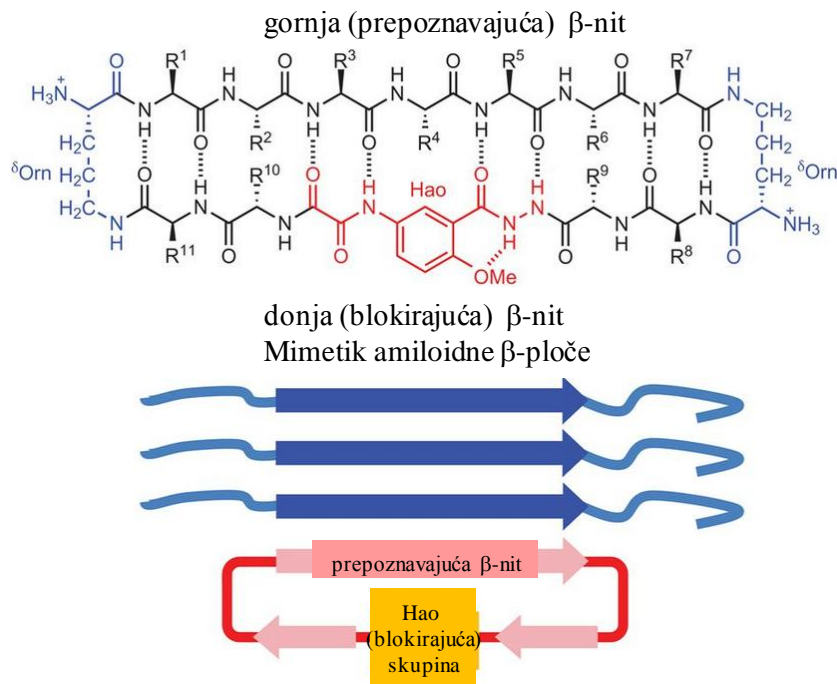
stanične stijenke stvaranjem vodikovih veza s D-Ala-D-Ala fragmentom iz prekursora stanične stijenke, pri čemu se formira motiv β -ploče. Mimetici vankomicina dizajnirani su tako da oponašaju bis-aril-eterski fragment D–E iz njezove strukture (slika 46.).¹⁰¹



Slika 46. (a) Inhibicija sinteze stanične stijenke djelovanjem vankomicina.

(b) Mimetici vankomicina.¹⁰¹

Brojne bolesti posljedica su agregacije amiloidnih proteina pri čemu nastaju amiloidni fibrili u konformaciji β -niti iz β -nabrane ploče. Makrociklički mimetici amiloidne β -ploče ABSMs (engl. *macrocycles amyloid β -sheet mimics*), testirani su kao mogući inhibitori agregacije amiloidnih proteina. Riječ je o 54-članjoj prstenastoj strukturi koja se sastoji iz heptapeptidne β -niti (gornji lanac), jedne Hao-skupine (5-hidrazino-2-metoksibenzojeva kiselina) kao tripeptidni mimetik β -niti te dviju ornitinskih skupina na mjestu okreta između gornje i donje niti (slika 47.). Hao-skupina služi kao kalup za stvaranje unutarmolekulskih vodikovih veza, te ujedno minimizira izloženost skupina s donjeg lanca intermolekulskim vodikovim vezama i time sprječava agregaciju ABSM u otopini.¹⁰² Inhibicija agregacije amiloidnih proteina u prisutnosti makrocikličkog mimetika amiloidne β -ploče ABSM ukazuje da ABSM s jednim lancem koji sudjeluje u vodikovim vezama te jednim lancem koji blokira vodikove veze predstavlja učinkovit pristup u dizajnu inhibitora amiloidne agregacije. Sposobnost ABSMs da inhibiraju agregaciju i detoksificiraju amiloidne agregate ukazuje na terapijski potencijal u liječenju bolesti izazvanih amiloidnom agregacijom.

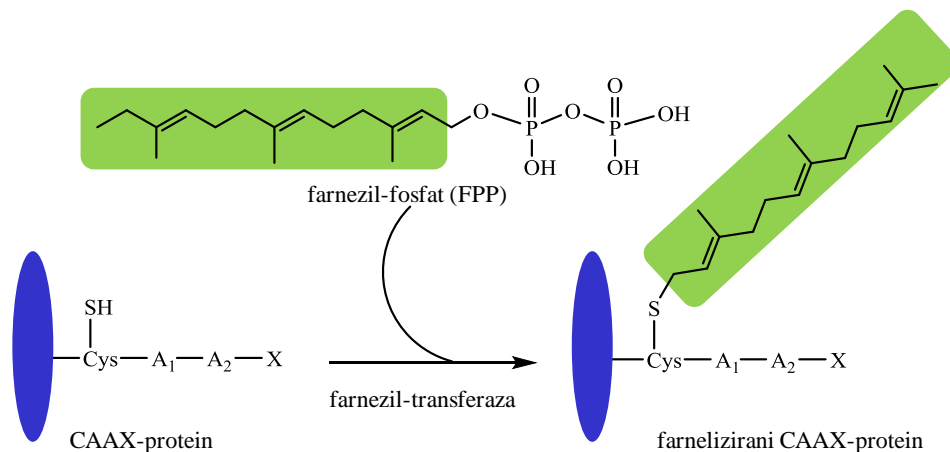


Slika 47. Dizajn amiloidnih mimetika β -ploče. (a) Makrociklički mimetik amiloidne β -ploče ABSMs s gornjom, prepoznavajućom β -niti. Orn na mjestu okreta te Hao-blokirajuća skupina.

(b) Prikaz prepoznavanja ABSM i blokade amiloidne agregacije.¹⁰²

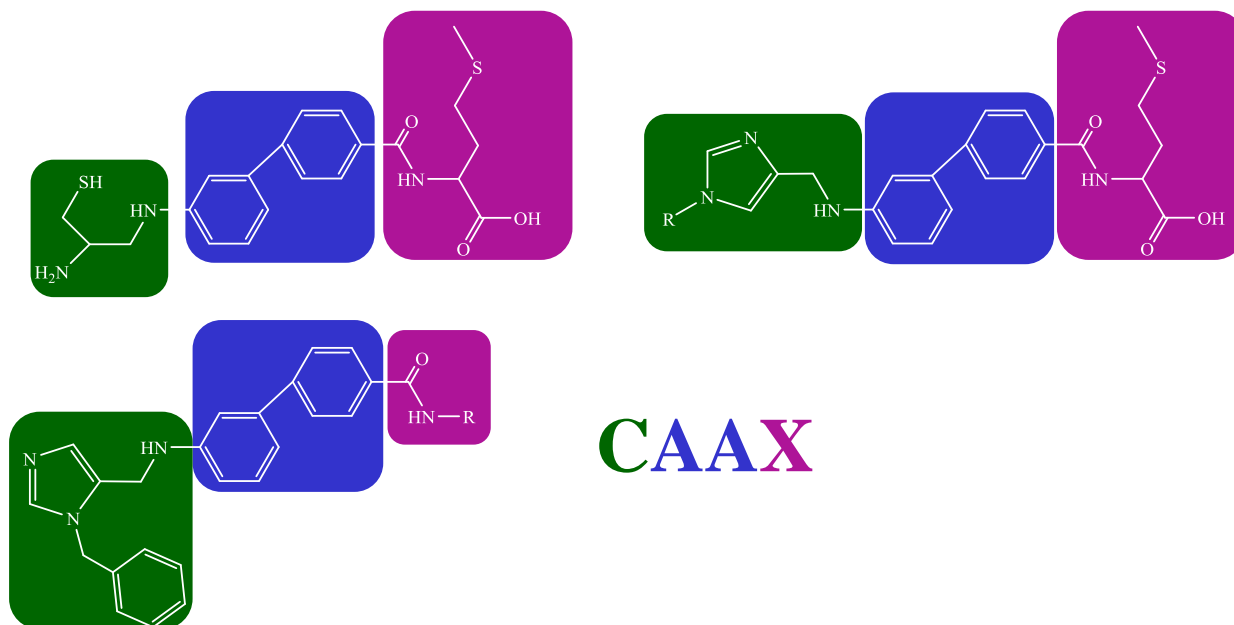
3.3.2. Aromatski mimetici

Inhibicijom enzima farnezil-transferaze pomoću aromatskih mimetika β -ploče ostvaruje se jak antimalarijski učinak, čime se pomaže u prevladavanju problema uzrokovanih porastom rezistencije na postojeće lijekove. Farnezil-transferaza katalizira farnezilaciju odnosno prijenos farnezilne skupine s farnezil-pirofosfata (FPP) na tiolnu skupinu C-terminalnog cisteinskog ostatka ciljnog proteina CAAX (C = cistein, A = aminokiselina, X = metionin, glutamin ili serin) (slika 48.).



Slika 48. Prijenos farnezilne skupine na ciljni protein CAAX.

Zamjenom središnjeg dipeptida iz CAAX proteina s rigidnim i hidrofobnim aromatskim kalupom stvaraju se preduvjeti za zauzimanje izdužene konformacije svojstvene β -niti, uz povećanje njene proteolitičke stabilnosti (slika 49.). Tako dizajnirani β -lanac, kao začetnik β -ploče ostvaruje interakcije s farnezil-transferazom što za posljedicu ima inhibiciju enzima i onemogućavanje farnezilacije intracelularnih proteina.¹⁰³

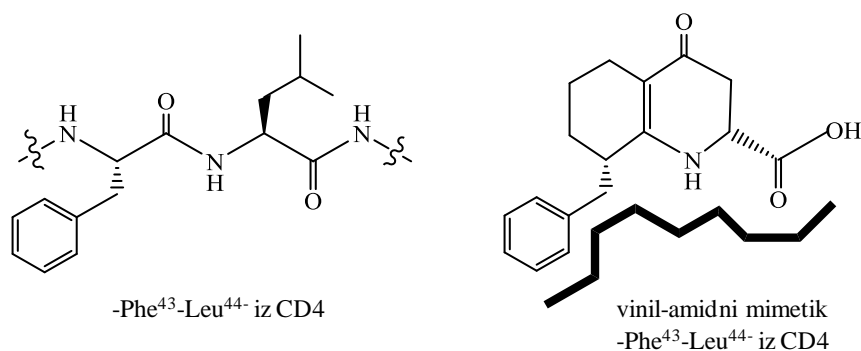


Slika 49. Mimetici tetrapeptida CAAX dobiveni uvođenjem rigidne aromatske skupine.

3.3.3. Biciklički kalupi kao mimetici β -niti

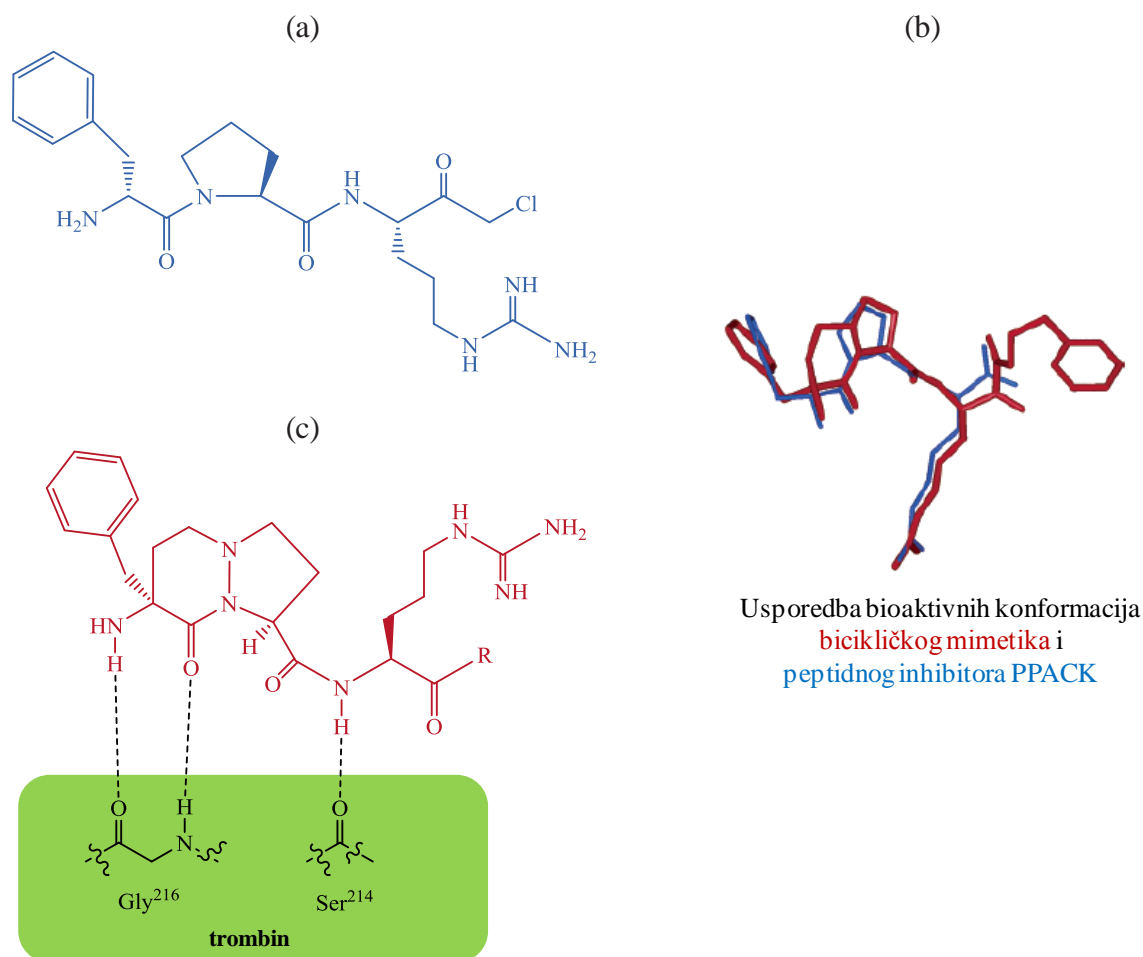
Heteroatomni biciklički sustavi zauzimaju izduženu konformaciju te se stoga istražuju kao konformacijski spregnuti kalupi za mimikriju β -lanaca i kao inhibitori proteolitičkih enzima.

Strukturna analiza CD4, staničnog receptora za HIV, ukazala je na sekvenciju –Phe–Leu–Thr–Lys– kao prepoznavajući segment. Ciklički vinil-amidni kalup dizajniran je tako da oponaša fragment –Phe⁴³–Leu⁴⁴– (slika 50.).¹⁰⁴



Slika 50. Mimikrija fragment –Phe⁴³–Leu⁴⁴– iz CD4 s vinil-amidnim kalupom¹⁰⁴

PPACK peptid (D-Phe-Pro-ArgCH₂Cl) (slika 51a.) selektivno i ireverzibilno inhibira trombin, a njegovi se mimetici dizajniraju tako da oponašaju orijentaciju D-Phe-Pro- fragmenta (slika 51b.). Iznimno moćni inhibitori trombina su mimetici PPACK peptida s ugrađenim bicikličkim kalupom. Kristalna struktura kompleksa tog mimetika i trombina ukazuje na postojanje vodikovih veza između bicikličkog kalupa ugrađenog u mimetik i Ser²¹⁴ te Gly²¹⁶ ostataka iz trombina, koje dovode do tvorbe antiparalelnog β -nabrane ploče (slika 51c.).¹⁰⁵

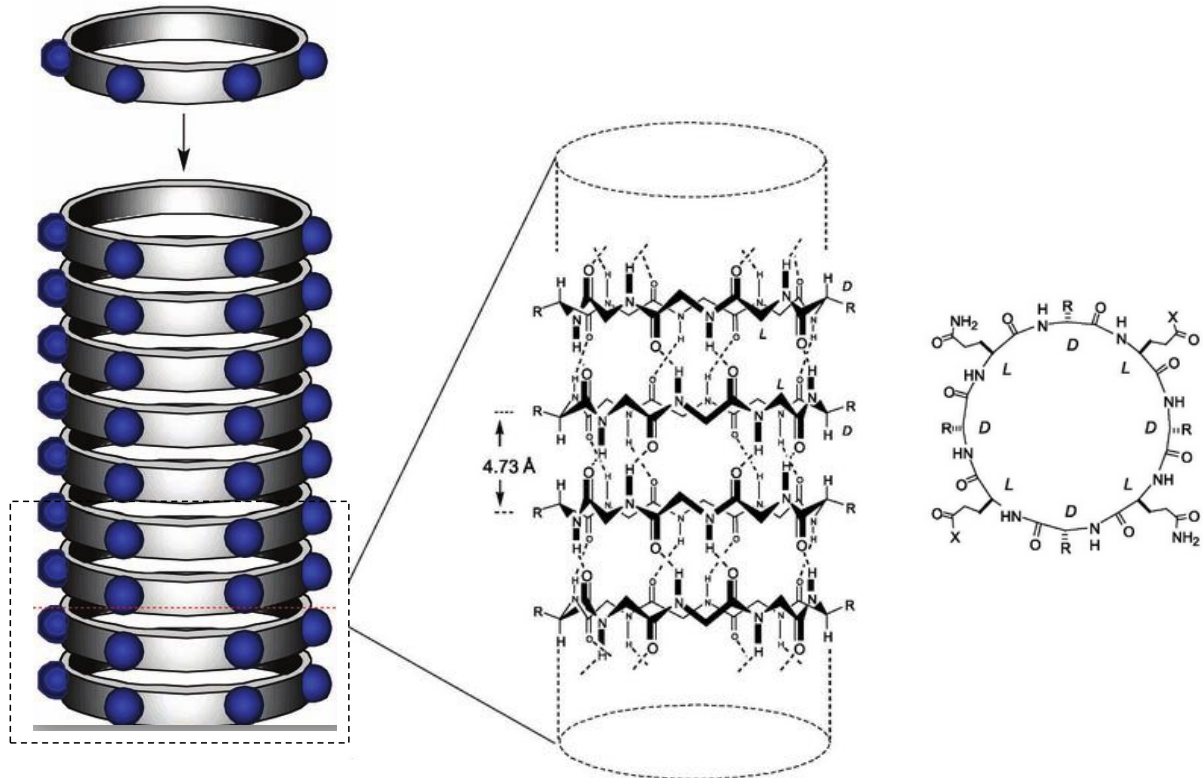


Slika 51. (a) Struktura PPACK peptida. (b) Bioaktivne konformacije PPACK peptida i njegovog bicikličkog mimetika. (c) β -Nabrana ploča zasnovana na vodikovim vezama između bicikličkog mimetika i trombina.

3.3.4. Peptidne nanocijevi kao mimetici β -ploče

Ciklički peptidi građeni iz parnog broja alternirajućih D- i L-aminokiselina odlikuju se jedinstvenim strukturnim svojstvima. Njihove su amidne skupine iz okosnice orijentirane okomito prema bočnim ograncima i ravnini prstena što omogućava stvaranje vodikovih veza između susjednih prstenova, po uzoru na β -nabranu ploču. Prsteni se samoudruživanjem slažu jedan iznad drugog tvoreći šuplju, cjevastu strukturu nanodimenzija, odnosno nanocijev (engl.

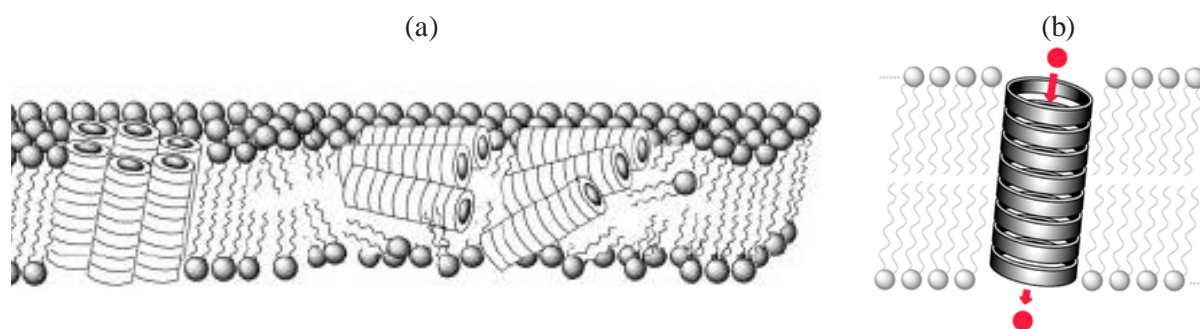
nanotube). Promjer nanocijevi može varirati, ovisno o veličini prstena cikličkog peptida (slika 52.).^{106,107,108} Prirodni ciklički peptid lanreotid, inhibitor hormona rasta, također podliježe samoudruživanju u uređene nanocijevi. Peptidne nanocijevi imaju vrlo široku primjenu (npr. antimikrobni agensi, doprema lijekova, biosenzori, katalizatori, itd.).¹⁰⁹



Slika 52. Samoudruživanje ciklopeptida u nanocijevi.¹⁰⁹

Antimikrobna aktivnost peptidnih nanocijevi posljedica je njihovih nekovalentnih interakcija (vodikovih veza) s proteinima iz bakterijske stanične membrane pri čemu dolazi do povećanja propusnosti, pada transmembranskog ionskog potencijala i smrti stanice (slika 53a.).¹⁰⁶

Sintetske peptidne nanocijevi čija je unutrašnjost hidrofilna, a svojstva vanjske površine ovisi o prirodi bočnih ogranaka, mogu oponašati transmembranske kanale. Nanocijev nastala samoudruživanjem ciklo-[L-Gln-(D-Leu-L-Trp)₃-D-Leu-] u lipidnom dvosloju poslužila je za transport iona K⁺ i Na⁺ brzinom većom od 10⁷ iona/s. Takvi su umjetni transmembranski kanali selektivni s obzirom na veličinu molekula. Primjerice, oktapeptidna nanocijev s unutarnjim promjerom ~ 7 Å ne provodi glukozu (za transport glukoze kroz membranu potrebni su kanali promjera većeg od 9 Å),¹⁰⁷ dok dekapeptid ciklo-[L-Gln-(D-Leu-L-Trp)₄-D-Leu-] s unutrašnjim promjerom 10 Å vrlo učinkovito transportira glukozu i glutaminsku kiselinu (slika 53b.). Ovi rezultati ukazuju na moguću ulogu peptidnih nanocijevi u dostavi farmakološki aktivnih agenasa u stanicu.¹¹⁰



Slika 53. (a) Antimikrobni učinak peptidnih nanocijevi.¹⁰⁶ (b) Peptidne nanocijevi kao umjetni transmembranski kanali.¹⁰⁷

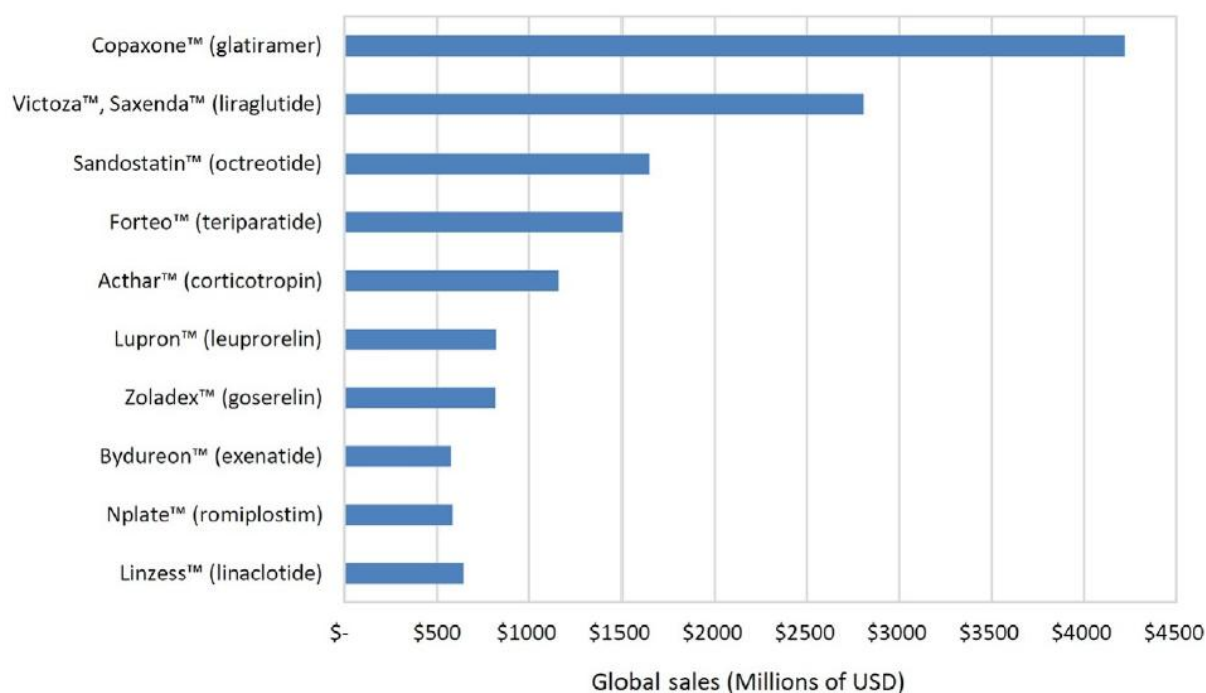
4. Peptidomimetički terapeutici: trenutno stanje i perspektiva

Ono što peptide čini nezamjenjivima u terapiji različitih bolesti jest njihova visoka specifičnost *in vivo*. Međutim, primjena peptida kao lijekova nailazi na brojne zapreke, poput metaboličke nestabilnosti, loše oralne biodostupnosti i slabe permeabilnosti kroz membrane. Linerni peptidi imaju vrlo kratko vrijeme poluživota od svega nekoliko minuta zbog čega je praktički nemoguće dopremiti peptidni lijek do ciljnog tkiva u potrebnoj koncentraciji. Oralno primijenjeni peptidni lijekovi podliježu brzom raspadu u probavnom sustavu, te se moraju primijeniti intravenozno što za pacijenta podrazumijeva odlazak k liječniku ili boravak u bolnici. Spomenute se prepreke u korištenju peptida kao lijekova mogu prevladati primjenom njihovih mimetika.

Godine 2014. objavljena je knjiga indikativnog naslova *Peptidomimetici u organskoj i medicinskoj kemiji: umjetnost pretvaranja peptida u lijekove*,¹¹¹ u kojoj je predstavljen koncept izgradnje bioaktivnih molekula koje oponašaju peptide i odlikuju se povećanom stabilnošću i unaprijeđenom biološkom aktivnošću, a čija je namjena pretežito terapijska. U nedavno objavljenoj publikaciji¹¹² opisano je nekoliko peptidomimetičkih lijekova odobrenih u Europi, SAD-u i Japanu, koji su pripremljeni različitim strategijama poput (i) zamjene L- s D-aminokiselinom, npr. zamjenom L-Arg iz vazopresina s D-Arg pripremljen je dezmpresin kao sintetska zamjena s višestruko povećanom antidiuretskom aktivnošću, dok je zamjenom L-Phe iz hormona koji potiče stvaranje i oslobađanje melanina pripremljen afamelanotid koji se u Europi koristi za liječenje eritropoetske protoporfirije, kožnog oboljenja nastalog uslijed netolerancije na svjetlost. Također je moguća (ii) ugradnja neprirodnih aminokiselina u peptidnu okosnicu, npr. zamjenom Leu s neprirodnom aminokiselinom metil-tirozinom te disulfidne veze s tioeterskom pripremljen je karbetocin, mimetik prirodnog peptidnog hormona oksitocina, što je rezultiralo značajno unaprijeđenom metaboličkom stabilnošću. Ciklizacija (iii) je korištena prilikom

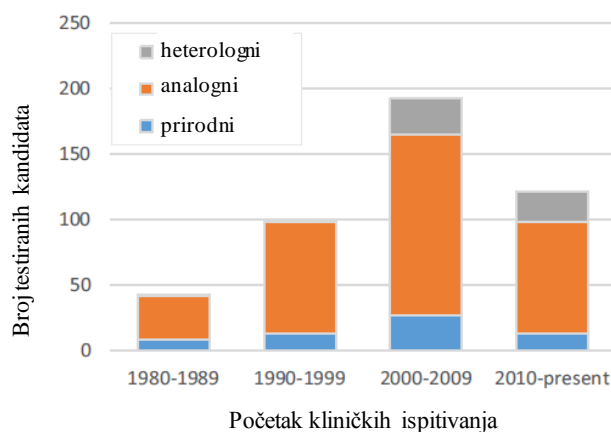
priprave peptidomimetičkog lijeka zikonotida, cikličkog polipeptida s tri disulfidne veze, koji inhibira otpuštanje neurokemikalija povezanih s osjetom boli te se primjenjuje kao analgetik.

U 2015. godini najprodavaniji peptidomimetički lijek u svijetu bio je glatiramer (Copaxone) koji se koristi u terapiji relapsno-remitentne multiple skleroze. Riječ je o polimeru sačinjenom iz Glu, Ala, Tyr i Lys, koji oponaša mijelinski osnovni protein. Sljedeća na listi najprodavanijih peptidomimetičkih lijekova jest skupina agonista GLP-1 (peptid-1-sličan glukagonu) za terapiju dijabetesa tipa 2: liraglutid (VictozaTM, SaxendaTM) i egzenatid CR (BydureonTM). Nakon njih, odobrena su još tri agonista GLP-1, od kojih se jedan primjenjuje svakodnevno, a druga dva jednom tjedno, što je značajno proširilo tržište za te lijekove. Agonisti somatostatina za liječenje akromegalije: oktreetid (SandostatinTM), lanreotid (SomatulinTM) i pasireotid (SigniforTM) odobreni su 2012. godine te su do 2015. godine dospjeli na visoko treće mjesto na listi najprodavanijih lijekova. Svi su ovi lijekovi dostupni hrvatskim pacijentima. Veliku skupinu agonista GnRH (gonadotropin-otpustajućeg hormona) korištenih za liječenje karcinoma prostate predstavljaju leuprorelin-acetat (Lupron depotTM) i goserelin (ZoladexTM), s tim da se na tržištu nalazi još 10 agonista i antagonista ovog hormona. Teriparatid (ForteoTM) jedini je peptidomimetik odobren u 2015. godini za liječenje osteoporoze, s tim da je 2017. godine odobren i abaloparatid (TymlosTM). Kortikotropin (ActharGelTM) primjenjuje se za liječenje infantilnog spazma. Romiplostim, mimetik trombopoetina, primjenjuje se za liječenje trombocitopenije (slika 54.).¹¹³ Tržište peptidnih terapeutika u eksponencijalnom je porastu i njegova se vrijednost procjenjuje na 25,4 milijarde američkih dolara, što premašuje iznos državnog proračuna Republike Hrvatske.



Slika 54. Najprodavaniji peptidomimetički lijekovi u 2015. godini.¹¹³

Procjenjuje se da je na svjetskom farmaceutskom tržištu prisutno oko 60 peptidnih lijekova. Dodatnih 150 peptidnih terapeutika nalazi u različitim fazama kliničkih ispitivanja, dok ih je 260 u prekliničkoj fazi razvoja.¹¹⁴ Prema nedavnom pregledu terapeutskih peptida,¹¹⁴ peptidni se lijekovi, ovisno o njihovoj povezanosti s endogenim peptidima, dijele u tri skupine: prirodni peptidi, analozi i heterolozi. Prirodni peptidni lijek ima istu sekvenciju kao i peptidni prirodni produkt. Iako su prvi prirodni peptidi, poput inzulina, izolirani iz tkiva sisavaca, danas se većina prirodnih peptidnih lijekova dobiva kemijskom sintezom ili rekombinantnom ekspresijom. Ograničenja i nepovoljna svojstva endogenih peptida motivirala su istraživače da pripreme analoge (mimetike) kao modificirane ili supstituirane verzije prirodnih peptida s unaprijeđenim svojstvima. Tako je, primjerice, pripremljen dezmopresin kao analog vazopresina, s produljenim vremenom poluživota i povećanom selektivnošću prema receptorima. Primjeri heteroloških peptida uključuju peptidni fragment romiplostima, agonista receptora trombopoetina otkrivenog metodom *phage display*, te LY-2510924, antagonista CXCR4 receptora otkrivenog metodom "medium-throughput" screening. Kako je vidljivo na slici 55., glavninu peptidnih lijekova čine mimetici (analozi), najčešće temeljeni na prirodnim hormonima.¹¹⁴



Slika 55. Kemijska baza peptida podvrgnutih kliničkim ispitivanjima.¹¹⁴

Razvoj peptidnih terapeutika ide ukorak sa znanstvenim inovacijama kao i novim i naprednim strategijama kemijske sinteze, a u cilju povećanja njihove molekulske raznolikosti i unapređenja njihovih farmakoloških svojstava. Vjeruje se da će endogeni ligandi za peptidne hormonske receptore i dalje predstavljati polaznu točku u istraživanju lijekova. Nadalje, očekivani napredak u probiru peptida i računalnoj biologiji doprinijet će daljnjem otkrivanju novih peptidnih lijekova. Bolje razumijevanje molekulske baze genetskih poremećaja generirat će nove potencijalne vodeće terapeutike. Također, otkrića novih puteva dopreme lijeka u stanicu kao i produljenje vremena njegovog poluživota dodatno će doprinijeti razvoju ove vrste lijekova.

5. Literatura:

- ¹ B. Bhushan, *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 367, 2009, 1445–1486.
- ² G. F. Swiegers (2012) *Bioinspiration and biomimicry in chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- ³ Arizona State University, <<http://biomimicry.asu.edu/about-us/>> Pristupljeno 11. svibnja 2018.
- ⁴ J. F. Vincent, *Proc. Inst. Mech. Eng. H.* 223, 2009, 919–939.
- ⁵ L. H. Shu, K. Ueda, I. Chiu, H. Cheong, *CIRP Annals - Manufacturing Technology* 60, 2011, 673–693.
- ⁶ R. R. Naik, *Chem. Rev.* 117, 2017, 12581–13038.
- ⁷ (CBD) The Convention on Biological Diversity, <<https://www.cbd.int/convention/articles/default.shtml?a=cbd-02>> Pristupljeno 11. svibnja 2018.
- ⁸ W. L. Murphy, D. J. Mooney, *Nat. Biotechnol.* 20, 2002, 29–31.
- ⁹ M. Li, C. Zhang, Y. Mao, Y. Zhong, J. Zhao, *Tissue Eng. Part A.* 2018 (doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0407).
- ¹⁰ R. A. Meyer, J. C. Sunshine, J. J. Green, *Trends Biotechnol.* 2015, 1–11.
- ¹¹ M. L. Rodriguez Mendez (2016) *Electronic noses and tongues in food science*, 1. izd., Elsevier.
- ¹² M. Ghasemi-Varnamkhasi, S. S. Mohtasebi, M. Siadat, *J. Food Eng.* 100, 2010, 377–387.
- ¹³ C. Wu, Y.-W. Du, L. Huang, Y. Ben-Shoshan Goleczki, A. Dagan-Wiener, M. Naim, M. Y. Niv, P. Wang, *Sensors* 17, 2017, 2881–2901.
- ¹⁴ M. Kanauchi (2017) *Brewing industry*, InTech.
- ¹⁵ M. Ghasemi-Varnamkhasi, S. S. Mohtasebi, M. L. Rodriguez-Mendez, J. Lozano, S. H. Razavi, H. Ahmadi, *Trends Food Sci. Technol.* 22, 2011, 165–174.
- ¹⁶ B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter (2002) *Molecular Biology of the Cell*. 4. izd., New York, Garland Science.
- ¹⁷ C. M. Dobson, *Nature* 426, 2003, 884–890.
- ¹⁸ Lehigh University, <<https://www.coursehero.com/file/p4o4geq/Figure-4-4-Three-types-of-noncovalent-bonds-help-proteins-fold-Protein-folding/>> Pristupljeno 7. listopada 2017.
- ¹⁹ Lehigh University, <<https://www.coursehero.com/file/13094861/L8-Oct8-proteins/>> Pristupljeno 7. listopada 2017.
- ²⁰ A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 32, 1993, 1244–1267.
- ²¹ I. Jerić, *Kem. Ind.* 53, 2004, 495–504.

-
- ²² R. M. J. Liskamp, D. T. S. Rijkers, J. A. W. Kruijtzter, J. Kemmink, *ChemBioChem* 12, 2011, 1626–1653.
- ²³ J. Vagner, H. Qu, V. J. Hruby, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 2008, 292–296.
- ²⁴ W. Wang, J. Jiang, C. E. Ballard, B. Wang, *Curr. Pharm. Design* 5, 1999, 265–287.
- ²⁵ K. Adermann, H. John, L. Ständker, W.-G. Forssmann, *Cur. Opin. Biotechnol.* 15, 2004, 599–605.
- ²⁶ J. Gante, *Angew. Chem. Int. Ed.* 33, 1994, 1699–1720.
- ²⁷ M. Kahn, *Synlett* 11, 1993, 821–826.
- ²⁸ G. L. Olson, D. R. Bolin, M. P. Bonner, M. Bos, C. M. Cook, D. C. Fry, B. J. Graves, M. Hatada, D. E. Hill, *J. Med. Chem.* 136, 1993, 3039–3049.
- ²⁹ T. Kieber-Emmons, R. Murali, M. I. Greene, *Cur. Opin. Biotechnol.* 8, 1997, 435–441.
- ³⁰ S. E. Ealick, S. A. Rule, D. C. Carter, T. J. Greenhough, Y. S. Babu, W. J. Cook, J. Habash, J. R. Helliwell, J. D. Stoeckler, R. E. Parks, *J. Biol. Chem.* 265, 1990, 1812–1820.
- ³¹ C. Mao, W. J. Cook, M. Zhou, G. W. Koszalka, T. A. Krenitsky, S. E. Ealick, *Structure* 15, 1997, 1373–1383.
- ³² C. Fotsch, D. M. Smith, J. A. Adams, J. Cheetham, M. Croghan, E. M. Doherty, C. Hale, M. A. Jarosinski, M. G. Kelly, M. H. Norman, N. A. Tamayo, N. Xi, J. W. Baumgartner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13, 2003, 2337–2340.
- ³³ P. E. Nielsen (2004) *Pseudo-peptides in Drug Discovery*, Wiley, Weinheim.
- ³⁴ K. D. Stigers, M. J. Soth, J. S. Nowick, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 3, 1999, 714–723.
- ³⁵ N. T. Ross, W. P. Katt, A. D. Hamilton, *Phil. Trans. R. Soc. A* 368, 2010, 989–1008.
- ³⁶ Biochemaddict, <<https://biochemaddict21.wordpress.com/2013/04/13/amino-acids-and-proteins/>> Pristupljeno 9. listopada 2017.
- ³⁷ Researchgate, <https://www.researchgate.net/publication/256470716_iGPCR-Drug_A_Web_Server_for_Predicting_Interaction_between_GPCRs_and_Drugs_in_Cellular_Networking> Pristupljeno 9. listopada 2017.
- ³⁸ R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* 114, 1992, 10646–10647.
- ³⁹ N. P. Chongsiriwatana, J. A. Patch, A. M. Czyzewski, M. T. Dohm, A. Ivankin, D. Gidalevitz, R.N. Zuckermann, A. E. Barron, *PNAS*, 105, 2008, 2794–2799.
- ⁴⁰ J. A. Patch, A. E. Barron, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6, 2002, 872–877.
- ⁴¹ B. Yoo, K. Kirshenbaum, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 2008, 714–721.
- ⁴² C. Baldauf, R. Günther, H. J. Hofmann, *Phys. Biol.* 3, 2006, S1-S9.
- ⁴³ G. R. Marshall, F. Ballante, *Drug. Dev. Res.* 78, 2017, 245–267.

-
- ⁴⁴ K. Kirshenbaum, A. E. Barron, R. A. Goldsmith, P. Armand, E. K. Bradley, K. T. V. Truong, K. A. Dill, F. E. Cohen, R. N. Zuckermann, *PNAS*, 95, 1998, 4303–4308.
- ⁴⁵ M. T. Dohm, R. Kapoor, A. E. Barron, *Curr. Pharm. Des.* 17, 2011, 2732–2747.
- ⁴⁶ J. Chatterjee, C. Gilon, A. Hoffman, H. Kessler, *Acc. Chem. Res.* 41, 2008, 1331–1342.
- ⁴⁷ E. Biron, J. Chatterjee, O. Ovadia, D. Langenegger, J. Brueggen, D. Hoyer, H. A. Schmid, R. Jelinek, C. Gilon, A. Hoffman, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 2008, 2595–2599.
- ⁴⁸ J. M. Henderson, K.Y.C. Lee, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 17, 2013, 175–192.
- ⁴⁹ Y. Shai, *Curr. Pharm. Des.* 8, 2002, 715–725.
- ⁵⁰ A. M. Czyzewski, A. E. Barron, *AIChE Journal*, 54, 2008, 1–7.
- ⁵¹ S. Rotem, A. Mor, *Biochim. Biophys. Acta*, 1788, 2009, 1582–1592.
- ⁵² J. R. Allison, M. Müller, W. F. van Gunsteren, *Protein Sci.* 19, 2010, 2186–2195.
- ⁵³ J. A. Patch, A. E. Barron, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6, 2002, 872–877.
- ⁵⁴ D. L. Steer, R. A. Lew, P. Perlmutter, A. I. Smith, M.-I. Aguilar, *Curr. Med. Chem.* 9, 2002, 811–822.
- ⁵⁵ M.-D. Seo, H.-S. Won, J.-H. Kim, T. Mishig-Ochir, B.-J. Lee, *Molecules* 17, 2012, 12276–12286
- ⁵⁶ T. Godballe, L. L. Nilsson, P. D. Petersen, H. Jenssen, *Chem. Biol. Drug Des.* 77, 2011; 107–116.
- ⁵⁷ D. Seebach, J. Gardiner, *Acc. Chem. Res.* 41, 2008, 1366–1375.
- ⁵⁸ A. Al-Ahmad, D. Laird, P. Zou, P. Tomakidi, T. Steinberg, K. Lienkamp, *PLoS ONE*, 8, 2013, e73812. (doi: 10.1371/journal.pone.0073812)
- ⁵⁹ J. M. Henderson, A. J. Waring, F. Separovic, K. Y. C. Lee, *Biophys. J.* 111, 2016, 2176–2189.
- ⁶⁰ R. F. Epand, N. Umezawa, E. A. Porter, S. H. Gellman, R. M. Epand, *Eur. J. Biochem.* 270, 2003, 1240–1248.
- ⁶¹ R. F. Epand, T. L. Raguse, S. H. Gellman, R. M. Epand, *Biochemistry* 43, 2004, 9527–9535.
- ⁶² J. A. Kritzer, *Nat. Chem. Biol.* 6, 2010, 566–567.
- ⁶³ W. Wolfson, *Chem. Biol.* 16, 2009, 910–912.
- ⁶⁴ H. Zhang, F. Curreli, X. Zhang, S. Bhattacharya, A. A. Waheed, A. Cooper, D. Cowburn, E. O. Freed, A. K. Debnath, *Retrovirology* 8, 2011, 1–28.
- ⁶⁵ G. L. Verdine, G. J. Hilinski, *Methods Enzymol.* 503, 2012, 3–33.
- ⁶⁶ N. S. Robertson, D. R. Spring, *Molecules* 23, 2018, 959–977.
- ⁶⁷ C. G. Cummings, A. D. Hamilton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14, 2010, 341–346.
- ⁶⁸ J. M. Davis, L. K. Tsub, A. D. Hamilton, *Chem. Soc. Rev.* 36, 2007, 326–334.
- ⁶⁹ T. A. Edwards, A. J. Wilson, *Amino Acids* 41, 2011, 743–754.

-
- ⁷⁰ Z. A. Wang, X. Z. Ding, C.-L. Tiana, J.-S. Zheng, *RSC Adv.* 6, 2016, 61599–61609.
- ⁷¹ J. P. Segrest, S. C. Harvey, V. Zannis, *Trends Cardiovasc. Med.* 10, 2000, 246–252.
- ⁷² G. S. Getz, C. A. Reardon, *J. Inflamm. Res.* 4, 2011, 83–92.
- ⁷³ R. V. Nair, S. B. Baravkar, T.S. Ingolea, G. J. Sanjayan, *Chem. Commun.* 50, 2014, 13874–13884.
- ⁷⁴ S. J. Hershberger, S. G. Lee, J. Chmielewski, *Curr. Top. Med. Chem.* 7, 2007, 928–942.
- ⁷⁵ B. Eckhardt, W. Grosse, L. O. Essen, A. Geyer, *Proc Natl Acad Sci USA.* 107, 2010, 18336–18341
- ⁷⁶ T. R. Webb, L. Jiang, S. Sviridov, R. E. Venegas, A. V. Vlaskina, D. McGrath, J. Tucker, J. Wang, A. Deschenes, R. Li, *J. Comb. Chem.* 9, 2007, 704–710.
- ⁷⁷ U. Rai, T. R. Thrimawithana, C. Valery, S. A. Young, *Pharmacol. Ther.* 152, 2015, 98–110.
- ⁷⁸ L. G. Ulysse Jr., J. Chmielewski, *Chem. Biol. Drug Des.* 67, 2006, 127–136.
- ⁷⁹ K. Gademann, M. Ernst, D. Hoyer, D. Seebach, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 38, 1999, 1223–1226.
- ⁸⁰ G. M. Grotenbreg, M. S. M. Timmer, A. L. Llamas-Saiz, M. Verdoes, G. A. van der Marel, M. J. van Raaij, H. S. Overkleeft, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* 126, 2004, 3444–3446.
- ⁸¹ J. Swierstra, V. Kapoerchan, A. Knijnenburg, A. van Belkum, M. Overhand, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 35, 2016, 763–769.
- ⁸² R. P. Millar, Y.-F. Zhu, R. S. Struthers, *Br. Med. Bull.* 56, 2000, 761–772.
- ⁸³ P. E. Barran, R. W. Roeske, A. J. Pawson, R. Sellar, M. T. Bowers, K. Morgan, Z. L. Lu, M. Tsuda, T. Kusakabe, R. P. Millar, *J. Biol. Chem.* 280, 2005, 38569–38575.
- ⁸⁴ R. P. Millar, *Anim. Reprod. Sci.* 88, 2005, 5–28.
- ⁸⁵ R. M. Jones, P. D. Boatman, G. Semple, Y. J. Shin, S. Y. Tamura, *Curr. Opin. Pharmacol.* 3, 2003, 530–543.
- ⁸⁶ C. D. Schteingart, J. L. Lau, *Annu. Rep. Med. Chem.* 50, 2017, 543–586.
- ⁸⁷ C. M. Perry, R. N. Brogden, *Drugs.* 51, 1996, 319–346.
- ⁸⁸ D. Blomberg, M. Hedenstrom, P. Kreye, I. Sethson, K. Brickmann, J. Kihlberg, *J. Org. Chem.* 69, 2004, 3500–3508.
- ⁸⁹ D. Blomberg, P. Kreye, C. Fowler, K. Brickmann, J. Kihlberg, *Org. Biomol. Chem.* 4, 2006, 416–423.
- ⁹⁰ G. Wilkinson, M. Rosenblum, M. C. Whiting, R. B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.* 74, 1952, 2125–2126.
- ⁹¹ D. Astruc, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017, 6–29.
- ⁹² S. Beheshti, A. Lataifeh, H.-B. Kraatz, *J. Organomet. Chem.* 696, 2011, 1117–1125.

-
- ⁹³ M. Kovačević, I. Kodrin, S. Roca, K. Moľčanov, Y. Shen, B. Adhikari, H.-B. Kraatz, L. Barišić, *Chem. Eur. J.* 23, 2017, 10372–10395.
- ⁹⁴ S. Chowdhury, K. A. Mahmoud, G. Schatte, H.-B. Kraatz, *Org. Biomol. Chem.* 3, 2005, 3018–3023.
- ⁹⁵ M. Kovačević, I. Kodrin, M. Cetina, I. Kmetič, T. Murati, M. Čakić Semenčić, S. Roca, L. Barišić L. *Dalton Trans.* 44, 2015, 16405–16420.
- ⁹⁶ M. P. Glenn, D. P. Fairlie, *Mini Rev. Med. Chem.* 2, 2002, 433–445.
- ⁹⁷ J. H. Tsai, A. S. Waldman, J. S. Nowick, *Bioorg. Med. Chem.* 7, 1999, 29–38.
- ⁹⁸ W. A. Loughlin, J. D. A. Tyndall, M. P. Glenn, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* 104, 2004, 6085–6118.
- ⁹⁹ W. A. Loughlin, J. D. A. Tyndall, M. P. Glenn, T. A. Hill, D.P. Fairlie, *Chem. Rev.* 110, 2010, PR32–PR69.
- ¹⁰⁰ J. W. Janetka, P. Raman, K. Satyshur, G. Flentke, D. H. Rich, *J. Am. Chem. Soc.* 119, 1997, 441–442.
- ¹⁰¹ R. M. J. Liskamp, D. T. S. Rijkers, S. E. Bakker (2008) *Modern Supramolecular Chemistry: Strategies for Macrocyclic Synthesis*. F. Diederich, P. J. Stang, R. R. Tykwinski ur., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- ¹⁰² P. N. Cheng, C. Liu, M. Zhao, D. Eisenberg, J. S. Nowick, *Nat. Chem.* 4, 2012, 927–933.
- ¹⁰³ J. Ohkanda, J. W. Lockman, K. Yokoyama, M. H. Gelb, S. L. Croft, H. Kendrick, M. I. Harrell, J. E. Feagin, M. A. Blaskovich, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 2001, 761–764.
- ¹⁰⁴ A. Boumendjel, J. C. Roberts, E. Hu, P. V. Pallai, *J. Org. Chem.* 61, 1996, 4434–4438.
- ¹⁰⁵ P. D. Boatman, C. O. Ogbu, M. Eguchi, H.-O. Kim, H. Nakanishi, B. Cao, J. P. Shea, M. Kahn, *J. Med. Chem.* 42, 1999, 1367–1375.
- ¹⁰⁶ R. J. Brea, C. Reiriz, J. R. Granja, *Chem. Soc. Rev.* 39, 2010, 1448–1456.
- ¹⁰⁷ J. Montenegro, M. R. Ghadiri, J. R. Granja, *Acc. Chem. Res.* 46, 2013, 2955–2965.
- ¹⁰⁸ N. Rodriguez-Vazquez, H. L. Ozores, A. Guerra, E. Gonzalez-Freire, A. Fuertes, M. Panciera, J. M. Priegue, J. Outeiral, J. Montenegro, R. Garcia-Fandino, M. I. Amorin, J. R. Granja *Curr. Top. Med. Chem.* 14, 2014, 14, 2647–2661.
- ¹⁰⁹ J. J. Pandaab, V. S. Chauhan, *Polym. Chem.* 5, 2014, 4418–4436 |
- ¹¹⁰ O. Khakshoor, J. S. Nowick, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 2008, 722–729.
- ¹¹¹ A. Guarna, A. Trabocchi (2014), *Peptidomimetics in Organic and Medicinal Chemistry: The Art of Transforming Peptides in Drugs*, 1. izd., Wiley.

-
- ¹¹² N. Qvit, S. J. S. Rubin, T. J. Urban, D. Mochly-Rosen, E. R. Gross, *Drug Discov. Today*, **22**, 2017, 454–462.
- ¹¹³ C. D. Schteingart, J. L. Lau. *Annu. Rep. Med. Chem.* **50**, 2017, 543–586.
- ¹¹⁴ J. L. Lau, M. K. Dunn, *Bioorg. Med.Chem.* **26**, 2018, 2700–2707.