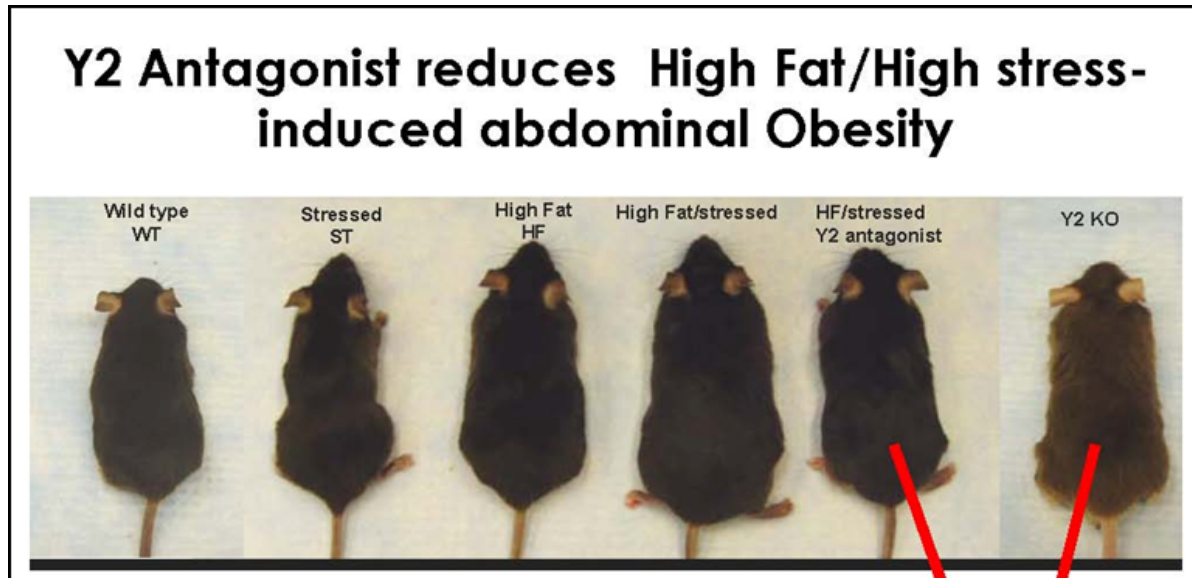


Neuropeptidekhez kapcsolódó gyógyászati lehetőségek



Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome." Zukowska Z. et al. Nat Med. 2007 Jul;13(7).

Neuropeptidok és a vér-agy gát I.

A szűk keresztmetszetet jelenti a központi idegrendszerre ható szerek esetében: 600 Da-nál kisebb, lipiddoldékony molekulákra átteresztő (diffúzió)

Tradicionalis szemlélet: „peptidok nem juthatnak át a vér-agy gáton”

Mikor van nagy jelentősége az átjutásnak?

1. a periférián (is) termelődő, de az agyban (is) ható peptideknél (pl. „bél-agy peptidek” - táplálékfelvétel szabályozása)
2. Gyógyszerfejlesztések esetében Szabályozó molekulák (nagyobbak is) transzporterekkel átjuthatnak

Első leírt, átjutó peptid (telíthető folyamattal, transzporterrel) 1984-ből:

Tyr-MIF1 (Tyr-Pro-Leu-Gly-NH₂)

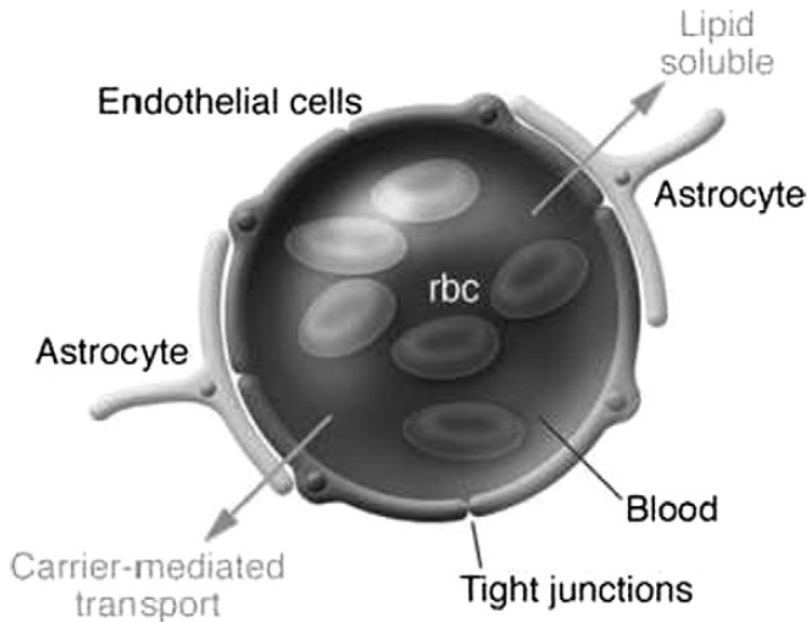


Fig. 3. Capillaries of the CNS are continuous capillaries. The endothelial cells have tight junctions and are covered by astrocytic endfeet.

Neuropeptides 45 (2011) 309-316

• a BBB enzimatikus barriert is jelent: MAO, kolinészterázok, GABA transzamináz, aminopeptidázok, transzaminázok jelenléte

Neuropeptidek és a vér-agy gát II.

Később kiderült, hogy különböző mechanizmusokkal számos peptid átjuthat

1. Receptor-mediált, telíthető transzporterekkel:

- inzulin
- leptin
- pankreatikus polipeptid
- mahogany (1377-1428)
- urocortin

2. Telíthető módon, de pontosan nem ismert mechanizmussal:

- corticotropin-releasing hormone (CRH)

3. Nem telíthető módon, passzív diffúzióval (paracelluláris út):

- neuropeptid Y (NPY)
- orexin A
- agouti related peptide (AgRP)
- cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART; 55-102)
- cycloHis-Pro
- amylin

[Neuroendocrinology](#). 2002 Jun;75(6):367-74.

[Brain Res](#). 1999 Nov 27;848(1-2):96-100.

Neuropeptidok és a vér-agy gát III.

Mitől függ az, hogy egy peptid átjuthat-e?

✓ nagyság (11 Å feletti hidrodinamikus átmérőnél a tight junction nem ereszt át)

✓ flexibilitás

✓ konformáció

✓ az aminosavak biokémiai tulajdonságai

✓ aminosav-összetétel

lipidoldékonyság

hidrogénkötés kialakítási
képesség

peptid molekulatömeg

Hogyan lehet elérni, hogy a vér-agy gát áteresztőbb legyen egy adott peptidre (→ gyógyszeres terápiák, gyógyszerfejlesztés)?

1. invazív eljárások (a vér-agy gát ozmotikus megnyitása, sőt beépítése, biológiailag lebomló implantátumok)

2. a peptid szerkezetének módosításával elő lehet segíteni az átjutását

3. fiziológiai alapú eljárások, kihasználva a már leírt transzporterek működését

Trükkök a BBB-n való peptid-átjuttatásra I.

Lipidoldékonyság növelése

- ✓ passzív transzcelluláris átjutás fokozódik
- ✓ kedvezőbb hidrogénkötés vízzel, hidrogénkötések inkább a peptiden belül
- ✓ kisebb hidrodinamikus rádiusz
- ✓ eloszlás inkább apoláros közegben

- ciklikus peptidek létrehozása

- DPDPE

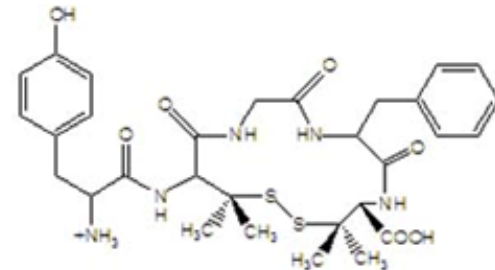
- Met-enkefalin analóg
- 2-es és 5-ös pozícióban D-penicillamint tartalmaz, amelyek diszulfidhidat képeznek → metabolikus stabilitást, biológiai hozzáférhetőséget és BBB-n való átjutást is javítja
- szépséghiba: gyorsan ürül a májon keresztül (epetermelésben szereplő efflux pumpák szubsztrátja)

- halogenáció

- DPDPE-n 4-es helyzetű fenilalaninon klór

- ciklikus peptid prodrog létrehozása

- N- és C-terminálisok összekötése egy enzimszenzitív motívummal
- a motívumot enzim (pl. észteráz) hasítja az agyban és felszabadul a hatásos (lineáris) peptid
- az észteráz lehet karboxilészteráz, kolinészteráz, acetilkolin-észteráz
- opioid peptideknél és delta sleep-inducing peptidnél próbálták



<http://sitemaker.umich.edu/medchemlibrary/files/DPDPE.html>

Trükkök a BBB-n való peptid-átjuttatásra II.

enzimatisz degradációval szembeni ellenállás növelése

- N-terminális acetiláció, C-terminális amidáció
- D-aminosavak beépítése
- ciklikus struktúra létrehozása

efflux pumpák gátlása és maszkolás ellenük

- egyik legfőbb okai annak, hogy a BBB-n nem mennek át a peptidek
- **P-glikoprotein (Pgp)** a legfontosabb
 - stressz, betegségek, xenobiotikumok befolyásolják az expresszióját, így a peptidek bejutását is az agyba különböző állapotokban
 - polietilén-glikol konjugáció a peptidhez: csökken az affinitás a Pgp irányába
- **peptid transzport rendszer-6 (PTS-6)**
 - ATP-áz a BBB endotélsejtjein, PACAP bejutását megakadályozza
 - antisense PTS-6 beadása: PACAP bejutott az agyba
- **peptid transzport rendszer-1 (PTS-1)**
 - Tyr-MIF-1, Met-enkefalin és oxitocin eltávolítása az agyból
- **organic anion-transporting polypeptide-2 (Oatp2)**
 - DPDPE-t köti, részt vehet a BBB-n való átjuttatásában
 - kétirányú transzporter lehet

Trükkök a BBB-n való peptid-átjuttatásra III.

BBB sejtkapcsoló struktúrák fehérje-fehérje interakcióinak módosítása

- tight junction, zonula adherens, dezmoszómák
- a fehérje-fehérje interakciók gátlása növelheti a paracelluláris „porózusságot” és megkönnyítheti a peptidek átjutását
- zonula occludens toxin (Zot)
 - ❖ Vibrio cholerae toxinja - kolera
 - ❖ egy 12 kDA fregmentje (ΔG) protáz inhibitorral együtt adva hatásos volt
- zonulin: belőle származó hexapeptid (AT-1002) működhet
- Zot és zonulin egyaránt átrendezik a citoszkeletont, reverzibilis módon

Trükkök a BBB-n való peptid-átjuttatásra IV.

receptor-mediált drog transzport

- a peptidet valamilyen vektor motívummal konjugáltatjuk
- a konstruktumnak nagy affinitása lesz valamilyen receptorhoz, amely segítségével receptor-mediált transzcitózissal átjuthat a BBB-n
- **transzferrin receptor**
 - magas szintű konstitutív expresszió a BBB-n
 - fémek (vas) agyba való transzportjában szerepel
 - monoklonális ellenanyag az OX26 transzferrin receptor ellen konjugáltatva a peptiddel: BDNF esetében működött
- másik megcélozható receptor: **low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1)**, nagy mennyiségben expresszálódik agyi endotél sejteken, neuronokon és asztrocitákon is
- problémák:
 - a konjugációval megváltozik a peptid térszerkezete és a receptorához már kevésbé kötődhet
 - a ott receptort megcélozva a transzcitózishoz a receptor normál funkciója károsodhat - OX26 ellenanyagot adva a vasstraszport a BBB-n keresztül 30-40 %-al csökkent

Peptidek a CSF-ben I.

- proton-coupled oligopeptid transzporter (POT) fehérjecsald (PEPET1, PEPET2, PHT1, PHT2)
- apró peptidek/peptidomimetikus anyagok transzportja IC irányú proton gradienssel és negatív membránpotenciállal szemben
- **PEPT2:**
 - expresszálódik a plexus choroideus epiteliális sejtjein és az endimasejteken, neuronokon és asztrocitákon is
 - csak az apicalis membránban expresszálódik
 - neuropeptidek exportja a CSF-ből

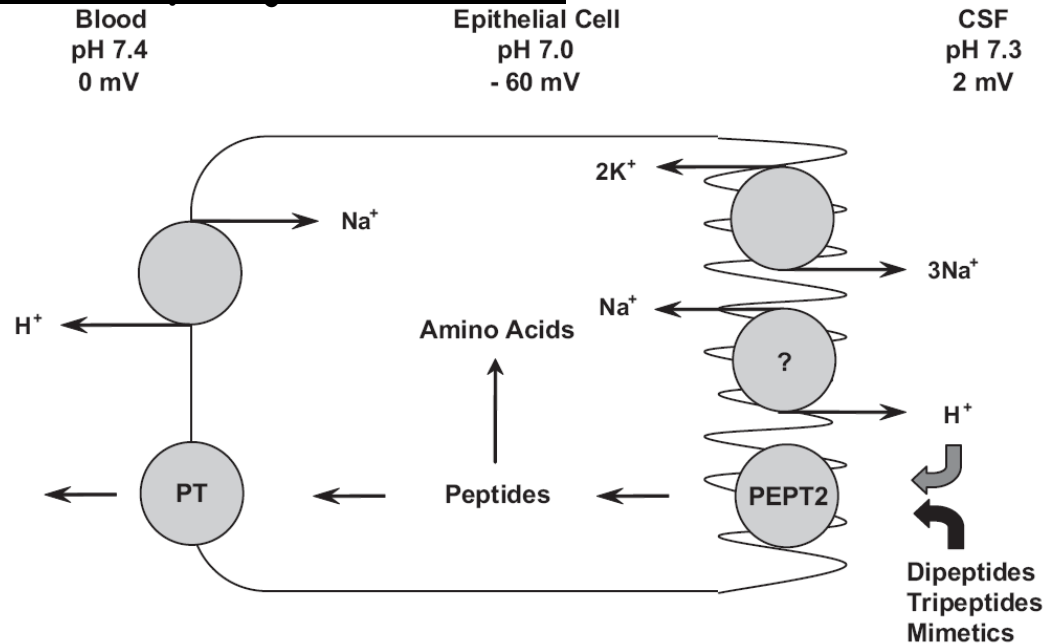


FIGURE 2 Proposed model for the transepithelial transport of di/tripeptides (and peptidomimetic drugs) in the choroid plexus. It is uncertain whether or not an acid microclimate (an area of low pH adjacent to the apical membrane) exists at choroidal brush border membranes, such as that observed in the intestine and the kidney. However, in the absence of a pH microclimate, accumulation could be driven by the negative membrane potential that exists in choroid plexus epithelium. Note that in the epithelial cells of the intestine and kidney, polarity of Na⁺/K⁺ ATPase and the Na⁺/H⁺ exchanger is reversed; still, PEPT2 is localized to the apical membrane. PT is the basolateral peptide transporter and PEPT2 is the apical proton-coupled peptide transporter.

Peptidek a CSF-ben II.

- **plexus choroideus** epitelsejtjeinek membránjában számos **peptidáz** is expresszálódik, polarizált eloszlásban
- **endopeptidáz 24.11** és **aminopeptidáz N**: enkefalin eliminációja → ezért lehet kevés belőlük a CSF-ben
- a peptidázok által létrehozott peptid-fragmentumokat a **PEPT2** hajlíthatja ki az apicalis membránon át
- **peptidázok a plexus ereiben** (pl. angiotenzin-konvertáló enzim) és az **epitélium bazolaterális membránjában** → peptidek CSF-be jutásának megakadályozása
- **intracelluláris peptidázok**: endocitózissal vagy máshogyan felvett peptidek eliminációja

Peptiderg gyógyászat I.

Peptiderg szerek potenciális előnyei

- diszkrétebb anatómiai lokalizáció monoaminokhoz és aminosavakhoz képest (általában - kivétel pl. NPY)
- állapotfüggő felszabadulás - nagyobb intenzitású stimulusokra szabadulnak fel (→nagy frekvenciájú burst-ök stb.)
- a peptidek szinte „mindenben benne vannak”, de általában csak „egy kicsit” → kevesebb drasztikus mellékhatás

Milyen az ideális hatóanyag?

- ✓ jó oldódás
- ✓ ideális hozzáférhetőség
- ✓ könnyű bejutás az idegszövetbe (vér-agy gát problémája)
- ✓ remek penetráció az idegszövetben
- ✓ metabolikus stabilitás
- ✓ hatékonyság
- ✓ szelektivitás
- ✓ könnyű kiürülés

Table 2

Advantages and disadvantages of peptide therapeutics.

Advantages	Disadvantages
Highly specific	Chemical stability
Potent	Route of administration
Minimal cross-reactivity	Poor BBB penetration
No tissue accumulation	Complexity of manufacturing
Efficient metabolism	Poor shelf stability
Limited drug-drug interaction	Size of molecules
Minimal side effects	Cost of manufacture
Low immunogenicity	
Can be synthesized	

Peptiderg gyógyászat II.

Antagonisták

- **fokozott peptid felszabadulással járó kórképekben** (pl. CRF és szorongás-depresszió)
- ha nincsen jelen peptid, akkor a normál fiziológia érintetlen maradhat, minimális mellékhatások

Teljes vagy parciális agonisták (az endogén ligand kötőhelyén hatva)

- teljesen vagy részben utánozzák az endogén peptid hatását
- **peptiderg hipoaktivitással járó kórképekben** (pl. NPY vagy szomatosztatin és szorongás-depresszió)
- hátrány: az endogén peptid hiányában is aktiválják a receptort (túlaktiváció-deszenzitizáció-internalizáció-tolerancia)

Pozitív allosztérikus modulátorok (kis molekula, nem-peptid)

- más kötőhely, mint az endogén ligandnál, amelynek kötődését és hatását fokozzák
- önmagukban nincs hatásuk
- **fázisos hatás, csak az endogén ligand jelenlétében, nincs tónusos receptor-túlaktiváció, tolerancia stb.**

Inverz agonisták

- **konstitutívan aktív receptoroknál** (pl. ghrelin receptor) **előnyösek** (ligand nélkül is van tónusos alap szignalizáció)
- a tónusos alap szignalizációt csökkentik mikor nincs jelen az endogán ligand
- hátrány: hipoaktivitás is kialakulhat

Peptid szintézis/lebontás gátlása

- cink-metallopeptidázok gátlása (pl. enkefalináz) → EC peptid koncentráció nő

Kötőfehérje leválasztása a peptidről

- CRF esetében, CRF kötőfehérje inhibitorok
- peptid hatása fokozódik (CRF esetében nő a szorongás)

Peptiderg gyógyászat III.

Table 1

Examples and application of peptides and proteins in clinical use or undergoing clinical trial (Degim and Celebi, 2007).

Therapeutic peptide or protein	Application	References
Tissue necrosis factor	Carcinoma	Gutierrez et al. (1993)
Proleukin	Carcinoma	Figlin et al. (1992)
γ -Interferon	Carcinoma	Ponzoni et al. (1992)
* GnRH (gonadotropin releasing hormone)	Carcinoma and reproductive drug	Barrera et al. (1992), Sharifi et al. (1998)
Fibroblast growth factor	Wound healing	Olsen et al. (2003)
Insulin-like growth factor	Wound healing	Pan and Kastin (2000)
Epidermal growth factor	Wound healing	Pan and Kastin (1999)
Hirudin	Fibrinolytic	Folkers et al. (1989)
Streptokinase	Fibrinolytic	Mundada et al. (2003)
Erythropoietin	Erythropoiesis stimulation	Eschbach et al. (1987)
Factor VIII	Haemophilia	Levinson et al. (1990)
Factor IX	Christmas disease	Taran (1997)
Tripromoalin	Glucose regulation	Colburn et al. (1996)
Insulin	Glucose regulation	Baskin et al. (1987)
* Somatostatm	Glucose regulation	Banks et al. (1990, 1992)
Proinsulin	Glucose regulation	Pradhan et al. (2003)
* Vasopressin	Antidiuretic effects	Ang and Jenkins (1982), Bryant et al. (1994)
α -Interferon	Viral diseases/hairy cell leukemia	Goody (1993)
β -Interferon	Multiple sclerosis	Tilbery et al. (2000)
Glucocerebrosidase	Gaucher's disease	Horowitz and Zimran (1994)
Cerezyme	Type I Gaucher's disease	Grabowski et al. (1995)
Pulmozyme	Cystic fibrosis	Witt and Anderson (1996)
Calcitoninh	Bone disease	Pontiroli (1990)
* Oxytocin	Labour induction	Durham et al. (1991)
* Growth Hormone	Short stature	Dogrukol-Ak et al. (2004)
α 1 Antitrypsin (aat)	Aat deficiency	Abusriwil and Stockley (2006)
Superoxide dismutase	Respiratory disorders	Davis et al. (1997)

A csillagal (*) jelöltek neuropeptidek

Problémák a peptid típusú potenciális gyógyszerekkel:

1. átjutás a vér-agy gáton
2. instabilitás, rövid féléletidő a vérben
3. kevés időt töltenek a központi idegrendszerben, miközben keringenek a vérrel (központi idegrendszeri problémák kezelésénél lényeges ez)
4. nem ott halmozódnak fel leginkább, ahol az szükséges lenne

Peptiderg gyógyászat IV.

Neuropeptide receptor ligands: clinical applications and trials

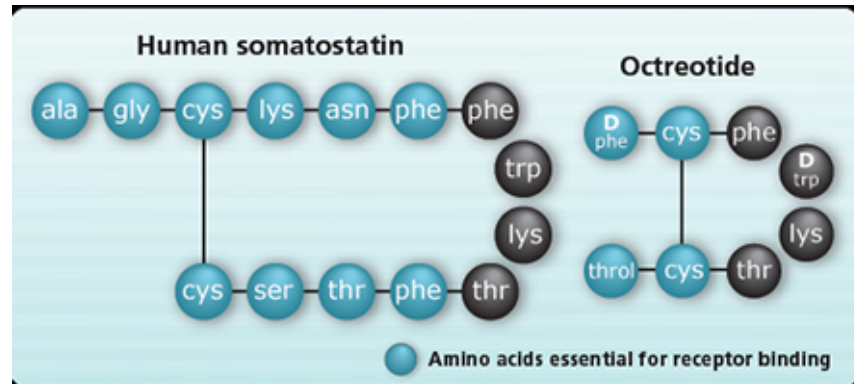
Neuropeptide	Receptor	Action	Indication	Clinical trial
Bradykinin	B1, B2	Antagonist	Pain, especially inflammatory	Y
CCK/gastrin	CCK _a	Antagonist	Pain, eating disorders, antitumour, small cell lung cancer, gut motility, schizophrenia	Y
	CCK _ε	Antagonist	Anxiety, panic disorder, gastric secretion	Y
Calcitonin gene related peptide	CRLR/RAMP	Antagonist	Migraine, pain	Y
Corticotropin releasing factor	CRF1, CRF2	Antagonist	Pain, depression, epilepsy, Alzheimer's disease, cognition, eating disorders	Y
Melanin concentrating hormone	MCH1	Antagonist	Obesity	P
Melanocortin	MC4	Antagonist	Obesity, eating disorders	Y
Neuropeptide Y	Y1, Y5	Antagonist	Epilepsy	Y
	Y2	Antagonist	Obesity	Y
Opioid peptides	mu, kappa,	Agonist	Pain	Y
	delta, ORL1	Antagonist	Opiate poisoning, diarrhoea	Y
Orexins	OX1	OX1 antagonist	Feeding disorders	P
	OX2	OX2 agonist	Sleep disorders, narcolepsy	P
Somatostatin	SST1–5	SST2 agonist	Acromegaly, gastroenteropancreatic tumours, gastrointestinal disorders (diarrhoea), tumour imaging	Y
		Universal agonists	Similar indications, transplantation, diabetes, neuropathies, oncology (restenosis).	Y
Tachykinins (substance P)	Neurokinin 1	Antagonist	Pain, migraine, anxiety, depression, emesis, IBD	Y
	Neurokinin 2	Antagonist	IBS, chronic obstructive pulmonary disorder, asthma, lower urinary tract disorders, anxiety	Y
	Neurokinin 3	Antagonist	Schizophrenia, COPD, urinary incontinence	Y
VIP, PACAP	VPAC1, VPAC2, PAC1	VIP agonist	Inflammation, neurodegeneration	P
Vasopressin/oxytocin	VP1a, VP1b, VP2; OT	VP1 agonist	Learning, memory, depression, hypertension	Y

Peptidek a gyógyászatban

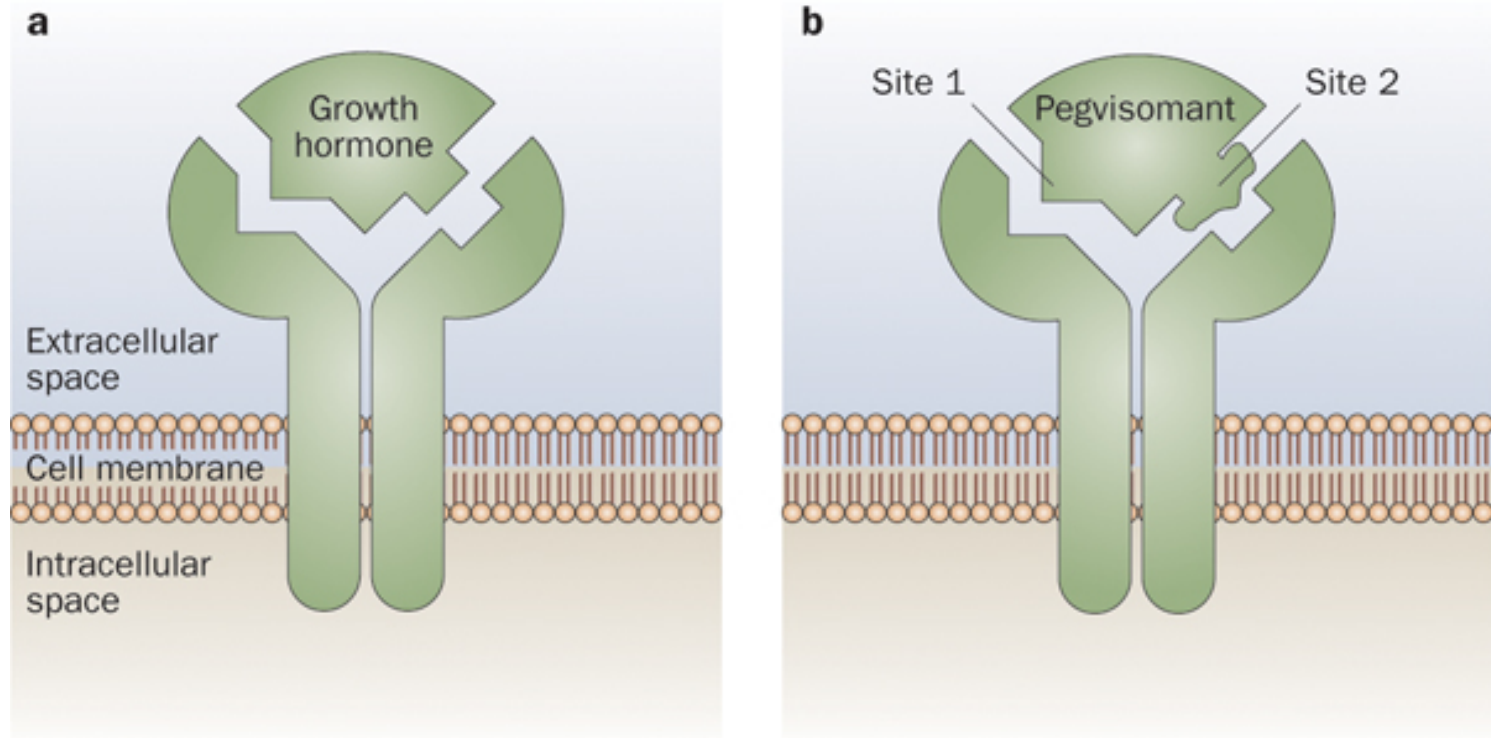
szomatosztatin

Oktreotid (Sandostatin, Novartis)

- szomatosztatin analóg, oktapeptid
- agonista az sst2/sst3/sst5 receptoron, az sst1 és sst4 receptorhoz csak gyengén kötődik
- jóval hosszabb a féléletideje, mint a szomatosztatinnak (45-120 perc vs. néhány perc)
- a szomatosztatinnál hatékonyabb, pl. a szomatotrop tengelyt annál 20-75-ször jobban gátolja
- neuroendokrin tumorok, carcinómák, congenitális microvillus atrófia, AIDS-associated diarrhea, Dawn szindróma kezelése
- I-es típusú cukorbetegségben adva: inzulin-szükségletet csökkenti, autonóm idegek neuropátiás károsodását csökkenti



Peptidek a gyógyászatban szomatosztatin



Ligand binding to the growth-hormone receptor

van der Lely, A. J. & Lamberts, S. In *Handbook of Acromegaly* Ch. 2 (ed. Wass, J.) 59
(BioScientifica, Bristol, 2001)

Neggers, S. J. C. and van der Lely, A. J. (2009) Somatostatin analog and pegvisomant
combination therapy for acromegaly
Nat. Rev. Endocrinol. doi:10.1038/nrendo.2009.175

Peptidek a gyógyászatban

- központi idegrendszeri betegségek

Table 1

Limitations of current medications for psychiatric disorders.

Drug class	Side effects	Efficacy
Antipsychotics (Atypical) (Typical)	Weight gain, metabolic syndrome rapid heartbeat, skin rash, drowsiness Rigidity, muscle spasms tremors, restlessness	Ineffective against cognitive symptoms Ineffective against cognitive symptoms
Antidepressants	Headache, agitation, nausea, sleeplessness, sexual dysfunction	Delayed onset of action Treatment resistance
Anxiolytics (Benzodiazepine) (SSRI)	Nausea, headaches, confusion drowsiness, nightmares Headache, agitation, nausea, sleeplessness, sexual dysfunction	Abuse liability Delayed onset of action

P. McGonigle/Biochemical Pharmacology 83 (2012) 559–566

Neurotenzin

❖ endogén antipszichotikum lenne?

- ✓ szoros asszociáció a mezolimbikus és a nigrostriatális dopaminerg rendszerekkel
- ✓ centrálisan adott NT és szisztémásan adott antipszichotikumok viselkedési hatásai hasonlóak
- ✓ gátolja a legtöbb dopamin agonista kiváltotta viselkedést: ágaskodás, ásítás, sztereotipikus önápolás, harapás
- ✓ antipszichotikumok fokozzák az NT mRNS expressziót, az NT szintet és felszabadulást a nucleus accumbens-ből
- ✓ gyógyszermentes skizofrén betegek: csökkent NT szint a CSF-ben

Peptidek a gyógyászatban

- központi idegrendszeri betegségek

Kolecisztokinin (CCK)

- CCK beadás az antipszichoikumok viselkedési hatásait utánozza:
 - ✓ apomorfin-indukálta sztereotípiák gátlása
 - ✓ amfetamin-indukált hiperlokomóció gátlása
 - ✓ CCKR2 antagonistákkal gátolhatóak a dopamin-mediált viselkedések
- BBB-n átmenő CCK2R agonisták (pentagasztrin, CCK-4) pánikrohamokat okoznak

Oxitocin

- szintetikus oxitocin (Pitocin): szülés megindítása, tejtermelés elősegítése, anyai viselkedés kiváltása
- anxiolízis, csökkent stressz → major depressziósok oxitocin szintje a plazmában alacsonyabb
- skizofrénia:
 - ✓ alacsonyabb oxitocin-szint, amelyet az antipszichotikumok emelnek
 - ✓ intranazális oxitocin adagolás 3 hétig kezelt skizofréniasoknak: pozitív és negatív tünetek egyaránt csökkentek → az oxitocin kiegészítő terápia lehet
- autizmus:
 - ✓ itt is kevesebb oxitocin
 - ✓ oxitocin beadás után jobb lett a beszédértésük, a szociális viselkedésük és kevesebb repetitív viselkedés

Peptidek a gyógyászatban

- központi idegrendszeri betegségek

neuropeptid Y

- endogén anxiolitikus és antistressz hatás → Y2 receptorok szerepe az amigdalában
- beadás után antidepresszív hatások

amylin

- együtt szabadul fel az inzulinnal a hasnyálmirigy béta-sejtjeiből és gátolja a vércukorszint növekedését
- anorexigén hatás
- tartós stressz fokozza az ízletes ételek fogyasztását → perifériás amylin beadás csökkentette a stressz-indukált cukros víz fogyasztást patkányokban
- perifériás beadás után anxiolitikus és antidepresszív hatások
- nem jut át a BBB-n, mégis hatékony
- area postrema-ban sok amylin receptor, ezen keresztül hathat

neurokinin és MIF-1 (melanotropin release-inhibiting factor)

- antagonistáik antidepresszáns hatásúak, helyreállítják a P-anyag (SP) szintjét, ami lecsökken major depresszióban

Peptidek a gyógyászatban

- központi idegrendszeri betegségek

arginin vazopresszin

- memóriajavító
- receptor antagonisták
 - vaptánok: nem-peptid AVP-antagonisták (conivaptan, mozavaptan, tolvaptan)
 - Raynaud szindróma kezelése (bőr apró artériái vékonyabbak, bőr keringése rosszabb → hidegre vagy stresszre még jobban csökken a bőr vérátáramlása → ujjak, orr és fül elszíntelenedik)
 - diszmenorrhea
 - hyponatremia
 - „nem megfelelő antidiuretikus hormon szindróma”