

С. Л. Тихонов

*Уральский государственный аграрный университет,
Уральский государственный лесотехнический университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)*

А. Д. Василец

*Уральский государственный лесотехнический университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)*

Н. В. Тихонова

*Уральский государственный аграрный университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)*

В. А. Василец

*Уральский государственный лесотехнический университет
(г. Екатеринбург, Российская Федерация)*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕДИЦИНСКИХ ХИМИИ ПЕПТИДА С ГИПОХОЛЕСТЕРЕНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Аннотация. В работе исследованы показатели медицинской химии пептида *СНАЕСГААСКЕFCLEG*, обладающего гипохолестеренической активностью. Особое внимание уделено его потенциальному применению в профилактике липидных нарушений, связанных с сахарным диабетом и избыточной массой тела. Использованы методы виртуального скрининга *in silico* анализа физико-химических свойств с помощью базы данных *ADMETlab 3*. На основании прогнозирования таких важных свойств, как молекулярная масса, синтез, стабильность, биодоступность, а также вероятные риски токсичности пептида, определена значимость для разработки биологически активных ве-

ществ сгипохолестеренической активностью. Установлено, что молекулярная масса пептида составляет 1669,64 Да, что значительно ниже нормы для гипохолестеренического пептида (до 6000 Да), следовательно он биодоступен для желудочно-кишечного тракта. Пептид имеет два кольца NRing, что указывает на стабильность структуры при приеме внутрь. Значение MCE-18 составило 84 единицы, что превосходит минимальный порог в 45 единиц, подтверждая эволюцию структуры пептида для медицинского применения. Пептид, характеризующийся показателем Fsp3 (количество гибризованных углеродов), имеет достаточно насыщенную структуру, что благоприятно сказывается на его растворимости и биодоступности. Также по показателю GASA, можно утверждать, что пептид легко синтезировать. Лекарственная схожесть пептида является ключевым фактором на начальных этапах разработки биологически активных веществ (БАВ). Все это говорит о том, что пептид CHAECGAACKFCLEG является перспективным для разработки БАВ, направленных на лечение заболеваний, связанных с нарушениями липидного обмена при сахарном диабете и избыточной массе тела.

Ключевые слова: пептид, медицинская химия, гипохолестереническая активность, виртуальный скрининг, биотехнология

INVESTIGATION OF INDICATORS OF MEDICAL CHEMISTRY OF A PEPTIDE WITH HYPOCHOLESTEROLENIC ACTIVITY

Annotation. The work investigated the indicators of the medicinal chemistry of the peptide CHAECGAACKFCLEG, which has hypocholesterolenic activity. Special attention is paid to its potential use in the prevention of lipid disorders associated with diabetes mellitus and overweight. The methods of virtual screening in silico and analysis of physico-chemical properties using the ADMET1 ab 3 database were used. Based on the prediction of such important properties as molecular weight, synthesis, stability, bioavailability, as well as the likely risks of peptide toxicity, the significance for the development of biologically active substances with hypocholesterolenic activity has been determined. It was found that the molecular weight of the peptide is 1669.64 Da, which is significantly lower than the norm for a hypocholesterolemic peptide (up to 6000 Da), therefore it is bioavailable to

the gastrointestinal tract. The peptide has two NRing rings, which indicates the stability of the structure when ingested. The value of MCE-18 was 84 units, which exceeds the minimum threshold of 45 units, confirming the evolution of the peptide structure for medical use. The peptide, characterized by the Fsp3 index (the number of hybridized carbons), has a sufficiently saturated structure, which favorably affects its solubility and bioavailability. Also, according to the GASA indicator, it can be argued that the peptide is easy to synthesize. The medicinal similarity of the peptide is a key factor in the initial stages of the development of biologically active substances (BAS). All this suggests that the CHAECGAACKFCLEG peptide is promising for the development of BAS aimed at treating diseases associated with lipid metabolism disorders in diabetes mellitus and overweight.

Keywords: *peptide, medical chemistry, hypocholesterolemic activity, virtual screening, biotechnology*

Для цитирования

Тихонов, С. Л. Исследование показателей медицинских химии пептида с гипохолестеренической активностью / С. Л. Тихонов, А. Д. Василец, Н. В. Тихонова, В. А. Василец // Вестник биотехнологии. 2024. № 3.

Введение. Все большее внедрение современных технологий в биотехнологическую отрасль позволяет совершенствовать методы создания биологически активных веществ (БАВ). Современные методы, включающие компьютерное моделирование молекул, комбинаторную химию и виртуальный скрининг, играют важную роль в разработке новых БАВ. Виртуальный скрининг особенно выделяется среди этих подходов, как мощный инструмент для анализа свойств различных биологических веществ. Многие важные и ценные БАВ были открыты благодаря этому методу, которые вошли в медицинскую практику. В основе метода виртуального скрининга лежит взаимосвязь между структурой соединения и его ожидаемой биологической активностью, что позволяет прогнозировать свойства как существующих соединений, так и новых. Виртуальный скрининг предоставляет возможность оценки биологической активности целого набора соединений [1].

На сегодняшний день применение виртуального скрининга *insilico* является неотъемлемой частью поиска новых БАВ, в частности, химических структур, ответственных за наличие той или иной активности. Особое внимание уделяется созданию БАВ в области биотехнологии, использование которых предупреждает развитие, в частности, сахарного диабета [2].

К кандидатам на вещества, профилактирующих сахарный диабет, второго типа следует отнести биопептиды. Эти вещества представляют собой большую группу молекул, состоящих из аминокислотных остатков, и могут быть разделены на линейные или циклические пептиды по структуре. Они имеют более сложную структуру и более высокое сродство к белкам-мишеням по сравнению с низкомолекулярными соединениями [3]. Будучи внутренними сигнальными молекулами для многих физиологических функций (гормонов, нейротрансмиттеров, факторов роста и лигандов ионных каналов), пептиды представляют собой перспективную возможность для открытия и разработки лекарств. Действительно, благодаря высокой биологической активности и уникальным свойствам, пептиды становятся хорошей основой для разработки лекарств, направленных на биологические мишени, которые поддерживают прогрессирование различных заболеваний. В целом, пептиды являются эффективными лигандами, которые связываются со специфическими клеточными рецепторами с высокой селективностью, что приводит к удовлетворительной безопасности, переносимости и профилям активности для клинической трансляции [4].

Липидные нарушения при сахарном диабете являются опасным для жизни метаболическим синдромом. В настоящее время основные задачи в лечении сахарного диабета заключаются в оптимизации использования доступных методов лечения и снижении осложнений. Для клинического совершенствования будущие методы лечения должны быть более простыми в использовании, обеспечивающими более строгий гликемический контроль, лучшие профили безопасности и снижение производственных затрат. Медицинские приложения нанотехнологий огромны и доказали, что они являются лучшим подходом к улучшению соблюдения требований и клинической эффективности путем преодоления биофармацевтических препятствий [5].

Особый интерес вызывает пептид с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG, который рассматривается как перспективная молекула для разработки лекарств против сахарного диабета и избыточной массы тела [6].

Цель исследований — исследование характеристик пептида CHAECGAACKEFCLEG с гипохолестеренической активностью.

Научная новизна: впервые исследованы медицинские свойства пептида с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследования данной работы был выбран пептид с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG, который, на основании его медицинских характеристик и литературных источников, может предупреждать липидные нарушения при сахарном диабете и избыточной массе тела.

В работе рассмотрены и исследованы характеристики медицинской химии пептида с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG, представленных в литературных источниках PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.gov/35733310/>), а также для исследования показателей медицинской химии пептида использовали базу данных ADMETlab 3 (<https://admetlab3.scbdd.com/documentation/#/>).

Результаты исследований. На основании литературных источников и баз данных были исследованы показатели медицинской химии пептида с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG.

С помощью платформы ADMETlab 3 спрогнозированы физико-химические свойства пептида с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG. Установлено, что молекулярная масса пептида составляет 1669,64 Да, при нормальном значении до 6000 Да. В пептиде имеются два кольца NRing, что свидетельствует о высокой стабильности кишечного тракта, при оптимальном количестве колец до 6. Количество атомов пептида составляет 6, при оптимальном значении от 0 до 18, следовательно доступен при приеме внутрь.

На рис. 1 представлена структурная формула пептида с последовательностью CHAECGAACKEFCLEG.

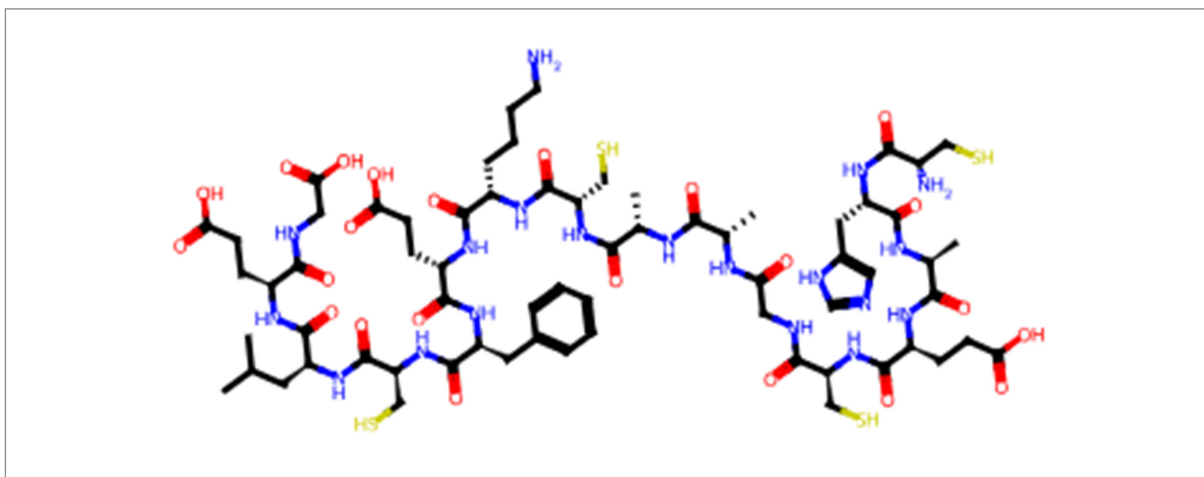


Рис. 1 Структура пептида CHAECGAACKKEFCLEG

Критерии оценки медицинской химии представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Критерии оценки медицинской химии пептида CHAECGAACKKEFCLEG

Критерий оценки	Полученное значение	Рекомендуемое значение
GASA	легко	сложно синтезировать — 0, легко синтезировать — 1
Fsp ³	0,582	≥ 0,42: количество гибридных углеродов
MCE-18	84	≥ 45: эволюция медицинской химии
Pfizer Rule	принят	токсичность: соединения TPSA < 75 с высоким содержанием фосфора (> 3) и низким содержанием TPSA (< 75)
Colloidal aggregators	0,343	категория 0: неколлоидные агрегаторы; категория 1: коллоидные агрегаторы
Fluc inhibitors	0,154	ингибиторы, не относящиеся к Fluc — 0, ингибиторы Fluc — 1
Blue fluorescence	0,388	категория 0: несиняя флуоресценция; категория 1: синяя флуоресценция
Reactive compounds	0,355	категория 0: неактивное соединение; категория 1: химически активное соединение
Promiscuous compounds	0,031	категория 0: неорганические соединения; категория 1: органические соединения

В табл.1 представлены показатели медицинской химии, характеризующие пептид с последовательностью аминокислот CHAECGAACKKEFCLEG. Показатель GASA — это семейство генов Arabidopsis, относящееся к классу функциональных белков, богатых цистеином. Белки GASA имеют ограниченное применение среди видов растений, участвующих в передаче сигналов растительных гормонов, регулировании развития и роста растений, а также в адаптации к различным стрессам окружающей среды [7].

Таким образом, полученное значение данного показателя указывает на высокую вероятность того, что пептид легко синтезировать.

MCE-18 (MedicinalChemistryEvolution) — индикатор, который оценивает насколько эволюционировала химическая структура в направлении пригодности для лекарств. Значения выше 45 считаются приемлемыми для лекарственных молекул [8]. Из этого следует, что показатель оценивает, насколько структура молекулы была улучшена для применения в медицине. Значение показателя $84,0 \geq 45$ считается высоким, что благоприятно для разработки лекарства.

Многие лекарства имеют плоскую структуру, тогда как природные продукты обладают более сложной трехмерной формой и являются отличным источником БАВ. Для их анализа используют 3D — метрики, которые учитывают геометрию молекулы. Один из таких подходов заключается в соотношении количества насыщенных углеродных атомов к общему числу атомов, не являющихся водородом, что называется параметром Fsp^3 .

Лекарственная схожесть соединения является ключевым фактором на начальных этапах разработки лекарств. Его можно определить как сходство между соединениями и лекарственными препаратами [9,10].

Значение ≥ 0.42 считается подходящим, и значение показателя, равное 0,582, говорит о том, что это соединение имеет достаточно насыщенную структуру, что благоприятно для растворимости и биодоступности.

Правило Pfizer Rule помогает оценить риск токсичности химических соединений, используя два ключевых параметра:

1. $\text{LogP} > 3$ — показатель липофильности, который указывает на то, что молекула может накапливаться в клеточных мембранах, что увеличивает вероятность токсических эффектов.

2. $TPSA < 75$ — топологическая полярная поверхностная площадь. Соединения с низким $TPSA$ имеют меньшую способность к водородным связям, что может ухудшить их растворимость в воде и может повысить риск токсичности при взаимодействии с белками.

Выявлено, что соединения $TPSA < 75$ с высоким содержанием фосфора (> 3) и низким содержанием $TPSA (< 75)$. Значение показателя указывает на то, что соединение не нарушает правило Pfizer и, вероятно, менее токсично.

Colloidal aggregators — это соединения, которые могут образовывать агрегаты в растворе, что приводит к ложным положительным результатам в биохимических скринингах. Агрегаты действуют неспецифически, связываясь с белками и ингибируя их активность, создавая видимость активности соединения, хотя фактически оно не взаимодействует с мишенью целенаправленно [11].

Таким образом, значение показателя, равное 0,343, указывает на умеренную вероятность того, что это соединение может образовывать агрегаты, приводя к ложным положительным результатам в биохимических тестах.

Ингибиторы люциферазы светлячка (Firefly luciferase, Fluc) действительно могут представлять проблему для биолюминесцентных анализов, поскольку блокируют активность фермента, что искажает результаты экспериментов [12]. Уровень ингибирования соединений оценивается количественно, и значение 0,154 указывает на низкую вероятность ингибирования Fluc. Это положительный признак для исследований, так как соединение с таким показателем с меньшей вероятностью будет вызывать ложные результаты, и можно ожидать, что его влияние на активность Fluc будет минимальным.

Reactive compounds — реактивные соединения, имеющие значение, равное 0,355. Значение показывает вероятность того, что соединение является реактивным, в диапазоне от 0 до 1. Реактивные соединения могут взаимодействовать с разными молекулами, что делает их потенциально опасными и нестабильными в биологических системах.

Показатель Promiscuous compounds имеет значение, равное 0,031. Он показывает вероятность того, что соединение проявляет ферментный промискуитет (способность связываться с несколькими мишенями). Низкое значение указывает на то, что соединение, вероятно, имеет высокую специфичность к своим целевым мишеням.

Заключение. Результаты проведенного исследования пептида СНАЕСГААСКЕFCLEG с гипохолестеренической активностью показали его высокую эффективность и перспективность в медицине. Пептид обладает низкой молекулярной массой, что делает его легко проникающим в ткани организма, а также достаточной стабильностью в желудочно-кишечном тракте, что позволяет использовать его в пероральных препаратах. Структурные особенности пептида указывают на его высокую биологическую активность, что делает его подходящим для разработки БАВ с минимальными побочными эффектами. Также важно отметить, что прогнозы токсичности пептида оказались благоприятными, что снижает риск развития нежелательных реакций при его использовании. Поэтому пептид можно рассматривать перспективным для разработки БАВ, который включает лечение заболеваний, связанных с липидным нарушением при сахарном диабете и избыточной массе тела.

Список литературы

1. *Лиманский, Е. С.* Инструментальные методы скрининга биологической активности. Текст: непосредственный / Е. С. Лиманский, Е. С. Погорелова // Молодой ученый. — 2015. — № 11 (91). — С. 497–499.
2. *Васильев, П. М.* Планирование *insilico* скрининга и экспериментальное изучение гипогликемических производных циклических гуанидинов / П. М. Васильев, Д. А. Филимонов, В. А. Анисимова // Фундаментальная медицина. — 2014. — С. 12.
3. *Yuan Y.* Mechanisms Inspired Targeting Peptides. *AdvExp Med Biol.* 2020;1248:531-546. doi: 10.1007/978-981-15-3266-5_21. PMID: 32185724.
4. *Ilangala A. B., Lechanteur A., Fillet M., Piel G.* Therapeutic peptides for chemotherapy: Trends and challenges for advanced delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021 Oct;167:140-158. doi: 10.1016/j.ejpb.2021.07.010. Epub 2021 Jul 24. PMID: 34311093.
5. *Choudhury S., Patra P.* Recent Developments in Nano-Formulations Against Diabetes. *RecentPatNanotechnol.* 2023;17(4):340-358. doi: 10.2174/1872210516666220622114505. PMID: 35733310.

6. Тихонов, С. Л. Пищевой пептид для предупреждения избыточной массы тела: виртуальный скрининг прогнозирования токсичности и выведения / С. Л. Тихонов, Н. В. Тихонова // Вестник ВСГУТУ. — 2024. — № 2. — С. 37–45.
7. *Bouteraa M. T., Ben Romdhane W., Baazaoui N., Alfaifi M. Y., Chouaibi Y., Ben Akacha B., Ben Hsouna A., Kačániová M., ČavarZeljković S., Garzoli S., Ben Saad R.* GASA Proteins: Review of Their Functions in Plant Environmental Stress Tolerance. *Plants (Basel)*. 2023 May 21;12(10):2045. doi: 10.3390/plants12102045. PMID: 37653962; PMCID: PMC10223810.
8. *Liu, Y., Xu, C., Yang, X. et al.* Application progress of deep generative models in de novo drug design. *Mol Divers* (2024).
9. *Iusupov I. R., Lukyanenko E. R., Altieri A., Kurkin A. V.* Design and Synthesis of Fsp3-Enriched Spirocyclic-Based Biological Screening Compound Arrays via DOS Strategies and Their NNMT Inhibition Profiling. *ChemMedChem*. 2022 Dec 16;17(24):e202200394. doi: 10.1002/cmdc.202200394. Epub 2022 Oct 27. PMID: 36193863.
10. *Wei W., Cherukupalli S., Jing L., Liu X., Zhan P.* Fsp3: A new parameter for drug-likeness. *Drug Discov Today*. 2020 Oct;25(10):1839-1845. doi: 10.1016/j.drudis.2020.07.017. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32712310.
11. *Reker, D., Bernardes, G. J. L. & Rodrigues, T.* Computational advances in combating colloidal aggregation in drug discovery. *Nat. Chem.* 11, 402–418 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41557-019-0234-9>
12. *Zhang H.* NFluc-FHA2-Aktpep-CFluc. 2008 Nov 14 [updated 2008 Dec 22]. In: *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004–2013. PMID: 20641681.

Тихонов Сергей Леонидович — доктор технических наук, профессор кафедры, Уральский государственный аграрный университет, Уральский государственный лесотехнический университет. 620075, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42. E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Василец Антон Денисович — магистрант, Уральский государственный лесотехнический университет. 620100, Российская Федерация, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 37. E-mail: vasilentsanton@yandex.ru .

Тихонова Наталья Валерьевна — доктор технических наук, профессор, зав. кафедрой пищевой инженерии аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет, г. Екатеринбург. E-mail:kaf.zooin@urgau.ru.

Василец Виолетта Александровна — магистрант, Уральский государственный лесотехнический университет. 620100, Российская Федерация, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 37. E-mail:violettapimankina@yandex.ru.

References

1. *Limansky, E. S.* Instrumental methods of biological activity screening. Text: direct / E. S. Limansky, E. S. Pogorelova // Young scientist. — 2015. — № 11 (91). — Pp. 497–499.
2. *Vasiliev, P. M.* Planning in silico screening and experimental study of hypoglycemic derivatives of cyclic guanidines / P. M. Vasiliev, D. A. Filimonov, V. A. Anisimova // Fundamental medicine. — 2014. — p. 12.
3. *Yuan Y.* Mechanisms Inspired Targeting Peptides. AdvExp Med Biol. 2020;1248:531-546. doi: 10.1007/978-981-15-3266-5_21. PMID: 32185724.
4. *Ilangala A. B., Lechanteur A., Fillet M., Piel G.* Therapeutic peptides for chemotherapy: Trends and challenges for advanced delivery systems. Eur J Pharm Biopharm. 2021 Oct;167:140-158. doi: 10.1016/j.ejpb.2021.07.010. Epub 2021 Jul 24. PMID: 34311093.
5. *Choudhury S., Patra P.* Recent Developments in Nano-Formulations Against Diabetes. Recent Pat Nanotechnol. 2023;17(4):340-358. doi: 10.2174/1872210516666220622114505. PMID: 35733310.
6. *Tikhonov, S. L.* Food peptide for the prevention of overweight: virtual screening of toxicity prediction and elimination / S. L. Tikhonov, N. V. Tikhonova // Bulletin of VSGUT. — 2024. — No. 2. — pp. 37–45.

7. *Bouterra M. T., Ben Romdhane W., Baazaoui N., Alfaifi M. Y., Chouaibi Y., Ben Akacha B., Ben Hsouna A., Kačániová M., ČavarZeljković S., Garzoli S., Ben Saad R.* GASA Proteins: Review of Their Functions in Plant Environmental Stress Tolerance. *Plants (Basel)*. 2023 May 21;12(10):2045. doi: 10.3390/plants12102045. PMID: 37653962; PMCID: PMC10223810.
8. *Liu, Y., Xu, C., Yang, X. et al.* Application progress of deep generative models in de novo drug design. *Mol Divers* (2024).
9. *Iusupov I. R., Lukyanenko E. R., Altieri A., Kurkin A. V.* Design and Synthesis of Fsp3-Enriched Spirocyclic-Based Biological Screening Compound Arrays via DOS Strategies and Their NNMT Inhibition Profiling. *ChemMedChem*. 2022 Dec 16;17(24):e202200394. doi: 10.1002/cmdc.202200394. Epub 2022 Oct 27. PMID: 36193863.
10. *Wei W., Cherukupalli S., Jing L., Liu X., Zhan P.* Fsp3: A new parameter for drug-likeness. *Drug Discov Today*. 2020 Oct;25(10):1839-1845. doi: 10.1016/j.drudis.2020.07.017. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32712310.
11. *Reker, D., Bernardes, G. J. L. & Rodrigues, T.* Computational advances in combating colloidal aggregation in drug discovery. *Nat. Chem.* 11, 402–418 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41557-019-0234-9>
12. *Zhang H.* NFLuc-FHA2-Aktpep-CFluc. 2008 Nov 14 [updated 2008 Dec 22]. In: *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004–2013. PMID: 20641681.

Tikhonov Sergey Leonidovich — Doctor of Technical Sciences, Professor, Ural State Agrarian University, Ural State Forest Engineering University. 42 Karl Liebknecht str., Yekaterinburg, 620075, Russian Federation. E-mail: tihonov75@bk.ru Orchid: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Vasilets Anton Denisovich — undergraduate, Ural State Forestry University. 37Sibirskiytrakt, Yekaterinburg, 620100, Russian Federation. E-mail: vasiletsanton@yandex.ru

Tikhonova Natalia Valeryevna — Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Food Engineering of Agricultural Production, Ural State Agrarian University, Yekaterinburg. E-mail kaf.zooing@urgau.ru.

Vasilets Violetta Alexandrovna — undergraduate student, Ural State Forestry University. 37Sibirskiytrakt, Yekaterinburg, 620100, Russian Federation. E-mail: violettapimankina@yandex.ru.