

УДК 615.272.3: 616.379-008.64

©Спасов, Чепляева

ПОТЕНЦИАЛ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ УРОВНЯ И АКТИВНОСТИ ИНКРЕТИНОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2

*А.А. Спасов, Н.И. Чепляева**

Волгоградский государственный медицинский университет,
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1; факс: (8442) 55-17-70;
эл. почта: natalja-chepljaeva@rambler.ru

В обзоре представлены основные подходы поиска биологически активных соединений, модулирующих уровень и физиологическую активность инкретин. В настоящее время в клинической практике применяются две группы препаратов, которые либо восполняют дефицит инкретин (агонисты рецептора глюкагоноподобного пептида-1), либо тормозят процессы деградации (ингибиторы дипептидилпептидазы типа 4). Кроме того, следует отметить активный поиск новых групп веществ: непептидных агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1, агонистов/антагонистов глюкозозависимого инсулиноотропного пептида, гибридных полипептидов на основе глюкагоноподобного пептида-1 и глюкагона.

Ключевые слова: инкретин, глюкозозависимый инсулиноотропный пептид, глюкагоноподобный пептид-1, дипептидилпептидаза типа 4, сахарный диабет типа 2.

DOI: 10.18097/PBMC20156104488

ВВЕДЕНИЕ

Концепция энтероинсулярной регуляции уровня глюкозы начинает свою историю с 1931 г, когда La Bagge впервые применил термин “инкретин” для обозначения субстанции, которая выделяется слизистой оболочкой кишечника в ответ на приём пищи и снижает уровень глюкозы в крови. В 1964-1967 гг. три группы ученых независимо друг от друга продемонстрировали, что глюкоза, введенная перорально, вызывает более выраженный инсулиносекреторный эффект, чем при внутривенном введении. Исследователи связывали данное отличие с высвобождением “инкретин”. В 1971 г. J.C. Brown выделил и установил аминокислотную последовательность пептида, полученного из слизистой кишечника, экзогенное введение данного полипептида ингибировало секрецию желудочного сока у собак, поэтому его первоначально называли желудочным ингибиторным полипептидом. Однако впоследствии J.C. Brown и коллеги выявили у пептида инсулиноотропные свойства и переименовали в глюкозозависимый инсулиноотропный пептид (GIP, ГИП). Несколько позже, в 1985 г. был выделен второй инкретин, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1, ГПП-1) [1].

1. ИНКРЕТИНЫ

ГИП – пептид, включающий 42 аминокислоты, продукт посттрансляционного процессинга предшественника из 153 аминокислот, кодируемый геном *gip* (рис. 1). Инкретин синтезируется и секретируется в ответ на стимуляцию нутриентами энтероэндокринных клеток (К-клеток), локализованных преимущественно в 12-ти перстном и тонком кишечнике. Инсулиноотропная активность ГИП связана со стимуляцией специфического рецептора ГИП β -клеток, который сопряжен с системой G-белков, активирующих аденилатциклазу, что приводит к увеличению уровня cAMP и как результат повышению внутриклеточного кальция. Инкретин быстро разрушается дипептидилпептидазой типа 4 (ДПП-4) [1, 2]. Следует отметить, что концентрация ГИП в плазме при сахарном диабете типа 2 либо в норме, либо повышена, но инсулиноотропный эффект недостаточно выражен [2]. Механизм, лежащий в основе сниженного ответа β -клеток на стимуляцию ГИП, до конца не ясен, исследования Lunn (2001) и Zhou (2007) позволяют предположить, что при гипергликемии нарушается регуляция экспрессии рецептора ГИП [1, 2].

* - адресат для переписки

	Место расщепления при инактивации	
ГИП	Tyr ¹ -Ala ²	Glu ³ -Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met-Asp-Lys-Ile-His-Gln-Gln-Asp-Phe-Val-Asn-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-Gly-Lys-Lys-Asn-Asp-Trp-Lys-His-Asn-Ile-Thr-Gln
ГПП-1 (7-37)	His ⁷ -Ala ⁸	Glu ⁹ -Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg ³⁶ -Gly
ГПП-1(37) амид	His ⁷ -Ala ⁸	Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg ³⁶ -NH ₂
Эксенатид	His-Gly	Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser ³⁹ -NH ₂
Лираглутид	His-Ala	Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys*-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly ³⁷

Рисунок 1. Аминокислотная последовательность ГПП-1 (два типа), ГИП, эксенатида и лираглутида (адаптировано по[24]).

ГПП-1 является вторым пептидом с инкретиновой активностью, продуктом гена проглюкагона, продуцируется главным образом энтероэндокринными L-клетками. Инкретин представлен несколькими формами; приблизительно 80% циркулирующего и биологически активного в крови человека ГПП-1 представлены ГПП-1(7-36) амидом, а меньшая часть ГПП-1(7-37) (рис. 1) [2]. Подобно ГИП, ГПП-1 оказывает инсулинотропный эффект связываясь со специфическим рецептором ГПП-1 на β-клетках, сопряженным с системой Gs-белков и дополнительно с Gq, Go, Gi-белков. Связывание ГПП-1 с рецептором приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция и cAMP и активации внутриклеточных каскадов, включая протеинкиназу A, C, фосфоинозитол-3-киназу, митоген-активируемые протеинкиназы, которые фосфорилируют белки, такие как белок-транспортёр глюкозы 2 (ГЛЮТ 2), рецептор сульфанилмочевин 1, мембранный белок, осуществляющий стыковку синаптической везикулы с пресинаптической мембраной (synaptosomal-associated protein, α-SNAP) и других. В результате блокируются АТФ-зависимые калиевые и потенциал-зависимые калиевые каналы β-клеток и увеличивается уровень кальция, далее следует деполяризация мембраны и экзоцитоз инсулина [1].

Помимо инсулинотропного действия, ГПП-1 участвует в регуляции количества β-клеток. Регуляция процессов регенерации и неогенеза β-клеток осуществляется различными путями; ГПП-1 активирует систему фосфоинозитол-3-киназа (ФИ-3-К)/протеинкиназа В, что способствует транслокации панкреатического дуоденального гомеобокс-гена (pancreatic duodenal homeobox gene-1, PDX-1) и в дальнейшем экспрессии PDX-1 через стимуляцию фосфорилирования фактора транскрипции, кодируемого геном *foxo1* (forkhead box protein O1, Foxo 1) [3, 4]. Кроме того, при связывании со специфическим рецептором ГПП-1 индуцирует созревание бетацеллюлина при участии мембрансвязанных металлопротеиназ и трансактивации рецептора эпидермального

фактора роста с последующей активацией ФИ-3-К [1]. ГПП-1 также проявляет стимулирующее действие на пролиферацию β-клеток посредством транскрипционного фактора, протеина связывающегося с cAMP-чувствительным элементом (cAMP response element-binding protein, CREB). В отсутствие cAMP, CREB взаимодействует с транскрипционным коактиватором (transducer of regulated CREB activity 2, TORC2) и белком 14-3-3 и формирует комплекс с серин/треонин протеинкиназой 2 (SIK2). При повышении уровня cAMP, вызванного стимуляцией рецептора ГПП-1, активируется протеинкиназа A, которая инактивирует SIK2, и комплекс CREB–TORC2–белок14-3-3 диссоциирует с высвобождением белка 14-3-3. CREB–TORC2 комплекс транслоцируется в ядро, где связывается с cAMP-респонсивным элементом и индуцирует транскрипцию генов, ответственных за выживание β-клеток [5].

ГПП-1 может ингибировать апоптоз β-клеток, индуцированный цитотоксическими агентами, включая активные формы кислорода, высокие концентрации глюкозы, жирные кислоты, пальмитат, цитокины, фактор некроза опухолей α, дексаметазон, что связано с повышением экспрессии генов антиапоптотических белков (*Bcl-2*, *Iap-2*) [3-5].

Помимо инсулинотропной активности для инкретинотропных характерен ряд других биологических эффектов (табл. 1) [2].

2. ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗА ТИПА 4 КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ИНКРЕТИНОВ

Препятствием для применения инкретинотропных в терапии сахарного диабета (СД) является их быстрая инактивация. Биологическая активность ГПП-1 и ГИП ограничивается ферментом деградации – дипептидилпептидазой типа 4 (ДПП-4). Фермент представлен как мембрансвязанной, так и в небольшом количестве свободной формой. У человека ДПП-4 экспрессируется на эпителиальных клетках, эндотелии

Таблица 1. Биологические эффекты ГПП-1 и ГИП (адаптировано по [2, 37]).

Органы и системы	ГПП-1	ГИП
Поджелудочная железа		
Стимуляция глюкозозависимой секреции инсулина	+	+
Усиление транскрипции гена инсулина, повышение стабильности мРНК	+	+
Ингибирование секреции глюкагона	+	–
Повышение чувствительности β -клеток к глюкозе	+	+
Ингибирование процессов апоптоза в β -клетках	+	+
Стимуляция неогенеза и пролиферации β -клеток	+	+
Повышение экспрессии генов, важных для осуществления различных функций β -клеток	+	+
Желудочно-кишечный тракт		
Ингибирование опорожнения желудка	+	–
Ингибирование секреции желудочного сока	+	+
Центральная нервная система		
Подавление чувства жажды и голода	+	–
Усиление потери веса	+	–
Сердечно-сосудистая система		
Восстановление функции сердечно-сосудистой системы после ишемии	+	
Жировая ткань		
Инсулиноподобный эффект на липогенез	–	+
Запасание жиров	–	+

Примечание: “+” оказывает влияние, “–” не оказывает влияния.

капилляров, лимфоцитах, в желудочно-кишечном тракте, в экзокринных ацинарных клетках поджелудочной железы, почках, тимусе, матке, плаценте, лимфатических узлах, предстательной железе, надпочечниках, парашитовидных, потовых, молочных железах, печени, селезенке, лёгких и головном мозге [6, 7]. Фермент представляет собой белок из 766 аминокислот и состоит из двух доменов: N-терминального β -пропеллера и C-терминального α/β -гидролазного домена, которые формируют большую полость, содержащую активный сайт связывания. ДПП-4 в организме представлена в виде димеров и тетрамеров и каталитическую активность проявляет только в одной из представленных форме [7, 8].

Доступ к активному сайту фермента возможен через открытый в центре β -пропеллер или между пропеллером и гидролазным доменом (рис. 2). Активный сайт ДПП-4 образован следующими аминокислотными остатками: триадой Ser 630, Asp 708 и His 740 в гидролазном домене и Gly 205, Gly 206 в β -пропеллере. Два остатка глутаминовой кислоты связываются с субстратом пептида, поэтому только две аминокислоты (Ala и Pro) с короткими боковыми цепочками достигают остатка Ser, что обуславливает субстратную специфичность ДПП-4 [8]. Необходимо отметить, что субстратами фермента помимо инкретинов является большое количество пептидов и гормонов, включая нейропептиды и хемокины [7, 8]. Группой исследователей Freker и соавт. [9] исследованы линии DA.F344-Dpp4^m, крыс с дефицитом фермента, который обусловлен спонтанной точечной мутацией в гене *dpp4*. Как и при фармакологическом ингибировании ДПП-4, так и у крыс данной линии

наблюдалось восстановление инсулинового ответа в пероральном тесте толерантности к глюкозе, связанного с повышением уровня ГПП-1. Кроме того у DA.F344-Dpp4^m крыс с генетически индуцированным дефицитом ДПП-4 обнаружены стрессоустойчивость, анксиолитический фенотип и такие изменения в иммунной системе, как повышение NK клеток, В-лимфоцитов, CD5⁺ В-лимфоцитов и снижение уровня интерлейкина-6. Таким образом, фармакологическое ингибирование ДПП-4 при длительном применении препаратов данной группы может быть связано с дисбалансом в функционировании иммунной и центральной нервной систем [9].

ДПП-4-подобная активность характерна для ряда других ферментов, включая, белок активации фибробластов α , ДПП-8, ДПП-9, дипептидилпептидазу IV β , дипептидиламинопептидазу-подобный белок, N-ацетилированную α -связанную кислоту дипептидазу, пролиндипептидазу покоящихся клеток, дипептидилпептидазу II, аттрактин. Данные ферменты формируют так называемую “группу структурных и/или функциональных гомологов ДПП-4” (DPP-IV activity and/or structure homologues, DASH) на основе протеинов с ДПП-4 ферментативной активностью с или без структурной гомологии [10]. Ферменты данной группы осуществляют различные биологические функции в организме, так белок активации фибробластов выполняет определенную роль при инвазии опухоли и заживлении ран. Доклинические исследования на грызунах и собаках продемонстрировали, что применение неселективного ингибитора ДПП-4, ДПП-8, ДПП-9, треоизолейцил тиазолидина приводит к развитию токсических побочных эффектов, таких как:



Рисунок 2. Структура ДПП-4 (адаптировано по [8]).

алопеция, тромбоцитопения, ретикулоцитопения, спленомегалия, а в высокой дозе к гибели животных [7, 8]. В связи с этим высокая селективность ингибирования ДПП-4 является одним из основных требований к ингибиторам фермента, применяемым в клинической практике.

3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ИНКРЕТИНОВ

В недавних исследованиях получены данные о некоторых внутриклеточных механизмах секреции ГПП-1 L-клетками, индуцированной приёмом пищи. Для секреции ГПП-1 необходимы специфические рецепторы, сопряжённые с G-белками (G-protein-coupled receptors, GPR), расположенные на поверхности L-клеток, в частности длинноцепочечные жирные кислоты и липиды действуют посредством стимуляции рецепторов [11, 12]. Данная группа рецепторов включает GPR120, GPR119, GPR40. GPR120, которые преимущественно экспрессируется в кишечнике; стимуляция данных рецепторов жирными кислотами усиливает секрецию ГПП-1 посредством повышения внутриклеточного Ca^{2+} и активации p42/MAPK [11, 13]. GPR119 экспрессируется в β -клетках поджелудочной железы и желудочно-кишечном тракте. Активация рецептора повышает cAMP и в результате приводит к усилению глюкозозависимой секреции инсулина и повышению уровня ГПП-1 и ГИП [13]. Подобно GPR119, стимуляция GPR40 приводит к увеличению секреции инсулина и восстановлению утилизации глюкозы у нормальных и диабетических крыс. Однако в недавних исследованиях продемонстрировано, что низкомолекулярные агонисты GPR40 улучшают чувствительность к инсулину и не влияют на толерантность к глюкозе у крыс линии Zucker.

Таким образом, специфическая роль GPR40 как мишени воздействия при сахарном диабете типа 2 обсуждается [11, 14].

Повышение секреции ГПП-1 возможно через стимуляцию мембрансвязанного G-протеин сопряжённого рецептора 131 (Takeda G-protein-coupled receptor 5, TGR5). Активация TGR5 индуцирует продукцию ГПП-1 в энтероэндокринных клетках линии STC-1 и в экспериментальных исследованиях на мышах [15, 16]. Кроме того, полусинтетическая желчная кислота, 6-этил-23(S)метилхолевая кислота (INT 777), которая является специфическим агонистом TGR5, индуцирует секрецию ГПП-1 в линии STC-1 и NCI-H716 клеток кишечника человека. Сайленсинг гена *TGR5* в STC-1 клетках, угнетает секрецию ГПП-1, что демонстрирует участие рецептора в данном процессе. Механизм TGR5-индуцированной секреции ГПП-1 до конца не изучен, но связан с увеличением соотношения ATP/ADP и последующей деполяризацией мембраны, мобилизацией кальция, что сходно с каскадом путей при секреции инсулина β -клетками поджелудочной железы [17].

Очевидность терапевтического потенциала TGR5 при сахарном диабете типа 2 обусловлена наличием связи между активацией данного рецептора и повышением энергетического обмена, секреции ГПП-1. Соединение INT 777 уменьшило прибавку в весе у мышей на диете с высоким содержанием жиров, повышало чувствительность к инсулину у мышей с ожирением [17, 18].

Открытие инкретинов, гормонов способных влиять на секрецию инсулина поджелудочной железой, ГПП-1 и ГИП позволило создать новое направление поиска современных препаратов для терапии сахарного диабета типа 2. Выделяют

две основных группы соединений, регулирующих энтероинсулярную ось: агонисты ГПП-1 рецепторов (ГПП-1 миметики, инкретиномиметики) и ингибиторы ДПП-4 (инкретинэнхансеры). Препараты данных групп либо восполняют дефицит инкретинов, либо тормозят процессы деградации и, таким образом, стимулируют секрецию инсулина и ингибируют секрецию глюкагона, тормозят процессы апоптоза β -клеток поджелудочной железы и усиливают их регенерацию, что позволяет достичь пролонгированного эффекта и воздействовать на одно из звеньев патогенеза заболевания [19].

4. ПЕПТИДНЫЕ АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРА ГПП-1

Эксенатид (Баетта®) является первым представителем лекарственного класса агонистов ГПП-1 рецепторов, синтетической формой экзендина-4, первоначально выделенного из слюны ядовитой южноамериканской ящерицы. Молекула эксенатида больше, чем молекула нативного человеческого ГПП-1 и на 53% гомологична по аминокислотной последовательности (рис. 1). Данные свойства обеспечивают устойчивость препарата к деградации ДПП-4 [20]. Эксенатид снижает уровень гликированного гемоглобина на 0,8-1,1%. В одном из испытаний продемонстрировано снижение уровня гликированного гемоглобина в течение трёх лет, а в двух клинических исследованиях показано повышение индекса функциональной активности β -клеток *in vivo* на модели оценки гомеостаза (homeostasis model assessment, HOMA B) при применении эксенатида [19, 21]. Кроме того 3-ю фазу клинических испытаний проходит эксенатид замедленного высвобождения, эксенатид LAR. Новый препарат является результатом конъюгации эксенатида и полимикросфер [22].

Ещё один препарат, аналог человеческого ГПП-1, представляющий собой на 97% гомологичную структуру нативному человеческому ГПП-1 – лираглутид (Виктоза®) (рис. 1). Структурное отличие лираглутида от нативного ГПП-1 – замена Lys на Arg в 34 положении и наличие хвоста из жирной кислоты (C16) у Lys 26. Жирная кислота необходима для связывания с альбумином, что значительно увеличивает длительность действия препарата ($t_{1/2}$ – 10-14 часов) [21]. В шести рандомизированных испытаниях “Исследование эффекта и действия лираглутида при диабете” (Liraglutide effect and action in diabetes, LEAD) тестировалось применение лираглутида в различных терапевтических схемах, оценивалась эффективность и безопасность. Анализ LEAD испытаний продемонстрировал снижение уровня гликированного гемоглобина 1,0-1,6%, низкий риск развития эпизодов гипогликемии, понижение систолического артериального давления и коррекцию функциональной активности β -клеток [23].

Альбиглутид (албугон) является агонистом рецептора ГПП-1, полученным посредством объединения двух пептидов человеческого

ГПП-1 (7–36) с рекомбинантным человеческим альбумином. Подобно лираглутиду альбиглутид на 97% гомологичен нативному ГПП-1 [21]. Применение димера из ГПП-1 позволило избежать потенциального снижения связывания половины ГПП-1 мономера с рецептором в присутствии альбумина. Замена аминокислоты в 8 положении (Ala→Gly) повысила устойчивость молекулы к действию ДПП-4. Подобные изменения обеспечивают увеличение периода полураспада до 5 дней, что позволяет вводить препарат один раз в неделю. Следует отметить, что проницаемость гематоэнцефалического барьера для альбиглутида снижена, что возможно обусловлено большим молекулярным весом молекулы [21, 24, 25].

Таспоглутид – аналог человеческого ГПП-1, который в настоящее время находится на 3-ей фазе клинических испытаний. Таспоглутид содержит остатки аминокислотной кислоты в положениях 8 и 35 нативного ГПП-1, данная модификация в 12 раз увеличивает стабильность и устойчивость к инактивации ДПП-4. Устойчивость к протеолитической деградации и форма с длительным высвобождением на основе цинка пролонгирует время действия, что позволяет вводить препарат раз в неделю [26, 27]. В ранних клинических исследованиях продемонстрировано, что таспоглутид эффективно снижает уровень глюкозы, стимулирует секрецию инсулина и понижает уровень глюкагона [27, 28].

Ликсисенатид (AVE0010 и ZP10) (Lyxumia®) аналог экзендина-4 с модифицированной С-терминальной частью молекулы, содержащий шесть остатков Lys. Время полураспада для пептида составляет 2-4 ч, что позволяет относить его к классу агонистов ГПП-1 короткого действия [22]. Несмотря на его, относительно короткий период полураспада, ликсисенатид предназначен для введения один раз в день, так как с высоким аффинитетом в наномолярных концентрациях связывается с ГПП-1 рецептором [29].

Помимо распространённых структур получены пептиды с модификацией в С-терминальном конце ГПП-1: LY315902 с цепочкой из октановой кислоты (C8) в положении 34, в результате чего пептид нековалентно связывается с сывороточным альбумином и CJC-1131, полипептид с модифицированной аминокислотой на С-терминальной части молекулы, ковалентно взаимодействующей с альбумином. Связывание с сывороточным альбумином тормозит почечный клиренс и увеличивает период полувыведения пептидов от 4-5 мин до 10 ч или более [24].

5. НЕПЕПТИДНЫЕ АГОНИСТЫ РЕЦЕПТОРА ГПП-1

Наличие агонистов рецепторов ГПП-1 только в инъекционных формах несколько ограничивает их применение. Учитывая данную проблему, ведётся направленный поиск непептидных молекул,

которые связываются и стимулируют ГПП-1 рецептор. Низкомолекулярные агонисты ГПП-1 рецептора представлены следующими классами соединений: производные хиноксолина, тиюфена, пиримидина, циклобутана, фенилаланина, азоантрацена, пиразола, имидазопиридина [30].

“Соединение 2” – производное хиноксолина, аллостерический модулятор рецептора ГПП-1, проявляющий внутреннюю активность и усиливающий связывание ГПП-1 с рецептором. В экспериментальных исследованиях соединение значительно потенцировало глюкозозависимую секрецию инсулина в островках Лангерганса мышей дикого типа [31]. В библиотеке, насчитывающей 48168 соединений, были найдены вещества S4P и Вос 5, производные циклобутана, которые оказывают эффекты, подобные аналогам ГПП-1 [30, 32]. Вос 5 является полным, а S4P частичным агонистами рецептора ГПП-1. В экспериментальных исследованиях продемонстрировано, что Вос 5 нормализовал уровень глюкозы и гликированного гемоглобина у *db/db* мышей [33].

6. ИНГИБИТОРЫ ДПП-4

Ещё один класс препаратов – это ингибиторы ДПП-4, представителями которого являются вилдаглиптин (Гальвус®), ситаглиптин (Янувия®), саксаглиптин, алоглиптин. Эти средства воздействуют на тот же биохимический процесс, что и агонисты ГПП-1, но другим способом: они не пополняют естественный запас ГПП-1, а ингибируют фермент, ответственный за его расщепление. Ингибирование ДПП-4 позволяет преодолеть некоторые проблемы, связанные с клиническим применением ГПП-1 и его аналогов: отсутствие пероральных форм, быстрая деградация ГПП-1 [34] (табл. 2). Кроме того, следует отметить, что с появлением ингибиторов ДПП-4 изменилась стратегия терапии СД типа 2, чаще применяют препараты данной группы при назначении комбинированной терапии,

что позволяет при сохранении эффективности снизить риск возникновения гипогликемии.

Ситаглиптин является первым обратимым ингибитором ДПП-4, который был одобрен управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) к применению в клинической практике в 2006 г. и применяется в монотерапии или в комбинации с пероральными сахароснижающими препаратами других групп (метформин, тиазолидиндионы). Например, создан комбинированный препарат, Янумет® [35-38].

Вилдаглиптин – ингибитор ДПП-4, применяется в Европе и многих других странах, однако, до сих пор не одобрен FDA для терапии СД в США [39]. Данные многочисленных исследований показали эффективность вилдаглиптина в отношении контроля гликемии, снижения сердечно-сосудистого риска и улучшения липидного профиля на фоне отсутствия роста массы тела и низкого риска развития гипогликемии. С 2008 г. препарат используется в России, а с 2009 г. применяется фиксированная комбинация вилдаглиптина и метформина, Галвус Мет® [37, 40].

Саксаглиптин (Онглиз®) – обратимый и конкурентный ингибитор, более селективен к ДПП-4, чем ДПП-8 (400-950 раз) или ДПП-9 (75-160 раз) или большинству других протеаз (более чем в 4000 раз), одобрен FDA в 2009 [41]. В 24-недельных клинических исследованиях монотерапия саксаглиптином снижала уровень гликированного гемоглобина от 0,4% до 0,9%. Препарат не оказывал влияние на массу тела пациентов, не вызывал побочных эффектов в дозах от 2,5 до 40 мг и фиксировали лишь редкие случаи гипогликемии при монотерапии [42].

Линаглиптин (Tranjecta®) – ингибитор на основе ксантина, селективен к ДПП-4, чем ДПП-8 более чем в 40000 раз или ДПП-9 более чем в 10000 раз, разрешен к применению в США, Европе, Японии, Мексике и Бразилии в 2011 г. [43].

Таблица 2. Сравнительная характеристика агонистов ГПП-1 рецептора и ингибиторов ДПП-4 (адаптировано по [24]).

Показатели	Агонисты рецептора ГПП-1	Ингибиторы ДПП-4
Уровень ГПП-1	Фармакологический (увеличивают более чем в 5 раз)	Физиологический (повышают в 2-3 раза)
Длительность повышения уровня ГПП-1	Длительно, постоянно	Постпрандиально
Усиление глюкозозависимой секреции инсулина	Да, включая восстановление первой фазы секреции инсулина в ответ на глюкозу	Да
Супрессия повышенной секреции глюкагона	Да	Да
Регуляция моторики ЖКТ	Да	Нет
Подавление аппетита	Да	Нет
Снижение веса	Да	Нейтральный эффект
Функция β-клеток	Да	Да
Пути введения	Подкожно	Перорально
Побочные эффекты	Тошнота, возможно формирование антител к препарату	

Алоглиптин, прошедший 3-ю фазу клинических исследований, снижает уровень гликированного гемоглобина на 0,5-0,6%. Однако FDA не разрешила препарат к применению ввиду отсутствия достаточных данных клинических исследований риска возникновения сердечно-сосудистых осложнений при терапии пациентов с СД типа 2, что обосновало необходимость долгосрочных исследований безопасности препарата (до 2015 г.) [44]. Кроме того, положительно завершена третья фаза клинических испытаний (2010 г.) дугоглиптина (РНХ1149). Хотя соединение снижало уровень гликированного гемоглобина на 0,52% и не влияло на массу тела, все дальнейшие исследования были прекращены. Приостановлены клинические испытания денаглиптина вследствие проблем с токсичностью [45]. Продолжается третья фаза клинических исследований тенелиптина и гемиглиптина [46, 47]. Следует отметить, что продолжается поиск новых соединений, среди различных классов химических соединений, которые бы селективно и обратимо блокировали ДПП-4 и действовали продолжительно (табл. 3) [48].

7. ГИБРИДНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ НА ОСНОВЕ ГПП-1 И ГЛЮКАГОНА

Глюкагон и ГПП-1 являются представителями семейства структурно подобных полипептидных гормонов, участвующих в регуляции гомеостаза глюкозы, и результатом тканеспецифичного процессинга предшественника проглюкагона. Глюкагон секретируется β -клетками поджелудочной железы и стимулирует гликогенолиз и глюконеогенез в печени, что приводит к повышению уровня глюкозы в крови [49]. Создание антагонистов глюкагонового рецептора один из потенциальных подходов в терапии СД типа 2, направленный на ингибирование продукции глюкозы печенью [49-51].

Сходство между ГПП-1 и глюкагоном, и их рецепторами дает возможность создать на их основе гибридный полипептид, который может связываться с двумя рецепторами. Так был получен химерный пептид, состоящий из N-терминальной части молекулы глюкагона, соединённой

с С-терминальной частью молекулы ГПП-1, который продемонстрировал высокое сродство к рецепторам. Следует отметить, что полипептид связывается как с рецептором к глюкагону, так и к ГПП-1, однако его антагонистическая активность к глюкагоновому рецептору выше, чем агонистическое действие к ГПП-1 рецептору [50]. Период полувыведения полипептида составляет менее пяти минут, что ограничивает его применение в клинической практике, поэтому были созданы пегилированные производные. Данная модификация позволила увеличить длительность циркуляции молекулы в плазме за счёт защиты молекулы от расщепления протеазами и снижения почечной фильтрации [51].

8. АГОНИСТЫ ГИП

Инактивация ГИП связана с отщеплением дипептида Туг-Ala при участии ДПП-4, соответственно модификация N-концевых аминокислот пролонгирует биологическую активность инкретина и является одним из фармакологических подходов к созданию препаратов на основе ГИП [52]. Получено несколько аналогов ГИП с модификацией Туг 1, которые устойчивы к ДПП-4 и более активны, чем нативный полипептид. Среди данных соединений выделяют группы с N-ацетилом, N-глутиколом, N-пироглутамидом [53]. Кроме того, создана серия Ala 2-модифицированных аналогов ГИП, которые включают (Abu 2) ГИП, (Gly 2) ГИП, (Ser 2) ГИП, (D-Ala 2) ГИП; однако она менее резистентна к ДПП-4 по сравнению с Туг 1-модифицированными аналогами [54]. Помимо инактивации посредством ДПП-4, ГИП и его аналоги выводятся почками; для преодоления данной проблемы были получены производные на основе жирных кислот, соединения второго поколения агонистов ГИП. Вещества второго поколения включают: ГИП (Lys 37 пальмитат), ГИП (Lys 16 пальмитат), N-ацил ГИП (Lys 37 пальмитат), N-ацил ГИП (Lys 16 пальмитат) и др. [53]. Второй подход к увеличению времени полувыведения ГИП – это конъюгация с полиэтиленгликолем (ПЭГ). ПЭГ-модифицированные белки имеют низкую иммуногенность, устойчивы к протеолитической

Таблица 3. Ингибиторы ДПП-4 (адаптировано по [48]).

Пептидимитирующие ингибиторы	Непептидимитирующие ингибиторы
1. Ингибиторы на основе глицина а) Производные 2-цианопирролидина (вилдаглиптин, NVP DPP 728) б) Кетопирролидины и производные кетозетидинов в) Модификации в Р1-пирролидиновом кольце (увеличение стабильности) (саксаглиптин, денаглиптин, TS-021, ASP 8497) г) Модификации в Р2-пирролидиновом кольце (усиление потенциала) д) Фторированные амиды пирролидина е) Производные бороновой кислоты 2. Ингибиторы на основе аланина а) Производные пирролидина, тиазолидина, бензотиазола б) Производные триазолопиперазина (ситаглиптин) в) Производные имидазопиперидина/пирозолидина г) Производные 1,4-дiazепан-2-она	Производные сопряженных имидазолов (линаглиптин) Производные циклогексиламина/аминопиперидина Производные хиназолинона/пиримидиндиона (алоглиптин)/изохинолона Производные фторолефина Дипролил нитрилы (R)-3-амино-3-метил пиперидины Аналоги глутаминовой кислоты

деградации, за счёт чего увеличивается период полувыведения. Большинство агонистов ГИП проходят доклинические исследования [55]. Так, длительно-действующий аналог ГИП AC163794 усиливал секрецию инсулина у здоровых и диабетических крыс. Кроме того проведено небольшое пилотное испытание соединения у пациентов с СД типа 2, в ходе которого подтверждено пролонгированное действие на секрецию инсулина [56].

9. АГОНИСТЫ GPR119

Рецепторы, сопряжённые с G-белками являются одними из важных модуляторов секреции ГПП-1. В качестве агонистов GPR119 испытывались различные соединения APD-668 и APD-597 (исследования прекращены), SAR-260093/MBX-2982, GSK-1292263, PSN-821 (2-я фаза) [57]. Агонисты GPR119 стимулируют глюкозозависимую секрецию инсулина *in vitro* и снижают повышенный уровень глюкозы в крови *in vivo*. Дополнительно продемонстрировано, что данные соединения стимулируют высвобождение инкретинов ГПП-1 и ГИП [58]. Возможно данный механизм действия является основой противодиабетического действия экстракта Гимнемы лесной и его препаратов. [59]. Согласно проведённым исследованиям, экстракт из листьев Гимнемы лесной повышает высвобождение ГИП и ГПП-1 под влиянием глюкозы [59, 60].

Получены данные об изучении соединения MAR701, мишенью которого являются рецепторы ГПП-1 и ГИП. Создание двойного агониста позволит уменьшить число побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта (ГИП не влияет на перистальтику кишечника) [56].

Таким образом, подход к снижению уровня глюкозы посредством модуляции активности инкретинов не ограничивается только пептидными агонистами рецептора ГПП-1 и ингибиторами инактиватора ГПП-1, ДПП-4, но и представлен агонистами ГИП, гибридными полипептидами на основе ГПП-1 и глюкагона, непептидными агонистами рецептора ГПП-1, двойными агонистами рецепторов ГПП-1 и ГИП. Приведённые в обзоре данные свидетельствуют о повышенном интересе к вопросу фармакологической регуляции уровня и активности инкретинов и перспективности дальнейшего поиска новых соединений, значительно расширяющих арсенал лекарственных препаратов для терапии СД.

ЛИТЕРАТУРА

- Kim W., Egan J.M. (2008) Pharmacol. Rev., **60**(4), 470-512.
- Drucker D.J. (2007) J. Clin. Invest., **117**, 24-32.
- Buteau J. (2008) Diabetes Metab., **34**, S73-S77.
- Doyle M.E., Egan J.M. (2007) Pharmacol. Ther., **113**, 546-593.
- Karaca M., Magnan C., Kargar C. (2009) Diabetes Metab., **35**, 77-84.
- Gorrell M.D. (2005) Clin. Sci. (Lond.), **108**, 277-292.
- Rosenblum J.S., Kozarich J.W. (2003) Curr. Opin. Chem. Biol., **7**, 496-504.
- Kirby M., Yu D.M.T., O'Connor S.P. (2010) Clin. Sci. (Lond.), **118**, 31-41.
- Frerker N., Raber K., Bode F., Skripuletz T., Nave H., Klemann C., Pabst R., Stephan M., Schade J., Brabant G et al. (2009) Clin. Chem. Lab. Med., **47**, 257-287.
- Sedo A., Duke-Cohan J. S., Balaziová E., Sedova L.R. (2005) Arthritis Res. Ther., **7**(6), 253-269.
- Lauffer L., Iakubov R., Brubaker P.L. (2008) Endocrinology, **149**(5), 2035-2037.
- Madiraju S.R.M., Poitout V. (2007) Endocrinology, **148** (6), 2598-2600.
- Dhayal S., Morgan N.G. (2010) Drug News Perspect., **23**(7), 418-424.
- Luo J., Swaminath G., Brown S.P., Zhang J., Guo Q., Chen M., Nguyen K., Tran T., Miao L., Dransfield P.J. et al. (2012). PLoS ONE, **7** (10), e46300.
- Chen X., Lou G., Meng Z. (2011) Exp. Diabetes Res., 853501, doi:10.1155/2011/853501.
- Staels B., Handelsman Y., Fonseca V. (2010) Curr. Diab. Rep., **10**, 70-77.
- Polis T.W., Noriega L.G., Nomura M., Auwerx J., Schoonjans K. (2011) Dig. Dis., **29**, 37-44.
- Witkamp R.F. (2011) Pharm. Res., **28**, 1792-1818.
- Gallwitz B. (2010) Pediatr. Nephrol., **25**, 1207-1217.
- Ranganath L.R. (2008) Clin. Chem. Lab. Med., **46**(1), 43-56.
- Neumiller J.J. (2009) J. Am Assoc., **49**(Suppl. 1), 16-29.
- Tikoo D., Gupta M. (2012) JMS, **2**(1), 38-47.
- Ross S.A., Ekoe J.-M. (2010) Can. Fam. Physician, **56**, 639-648.
- Verspohl E.J. (2009) Pharmacol. Ther., **124**, 113-138.
- Matthews J.E., Stewart M.W., De Boever E.H., Dobbins R.L., Hodge R.J., Walker S.E., Holland M.C., Bush M.A. (2008) J. Clin. Endocrinol. Metab., **93**, 4810-4817.
- Sebokova E., Bénardeau A., Sprecher U., Sewing S., Tobalina L., Migliorini C. (2010) Diabetes Obes. Metab., **12**, 674-682.
- Ratner R., Nauck M., Kapitza C., Asnaghi V., Boldrin M., Balena R. (2010) Diabet. Med., **27**, 556-562.
- Bergental R.M., Forti A., Chiasson J.L., Woloschak M., Boldrin M., Balena R. (2012) Diabetes Ther., **3**(1), 13.
- Barnett A.H. (2011) Core Evid., **6**, 67-79.
- Willard F.S., Bueno A.B., Sloop K.W. (2012) Exp. Diabetes Res., 2012:709893. doi: 10.1155/2012/709893.
- Coopman K., Huang Y., Johnston N., Bradley S.J., Wilkinson G.F., Willars G.B. (2010) JPET, **334**, 795-808.
- Koole C., Wooten D., Simms J. (2010) Mol. Pharmacol., **78**, 456-465.
- Chen D., Liaoa J., Li N. (2007) PNAS, **104** (3), 943-948.
- Gupta R., Walunj S.S., Tokala R.K., Parsa K.V., Singh S.K., Pal M. (2009) Curr. Drug Targets., **10** (1), 71-87.
- Дедов И.И., Шестакова М.В., Видулова О.К. (2009) Сахарный диабет, **2**, 77-82.
- Шестакова М.В. (2011) Сахарный диабет, **4**, 75-80.
- Thornberry N.A., Gallwitz B. (2009) Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., **23**, 479-486.
- Miller S.A., St. Onge E.L. (2006) Ann. Pharmacother., **40**, 1336-1343.
- Hummel M., Fuchtenbusch M., Standl E. (2007) US Endocrinology, №2, 75-82.
- Анциферов М.Б. (2011) Фарматека, **16**, 64-68.
- Dave D.J. (2011) J. Pharmacol. Pharmacother., **2**(4), 230-235.
- Shubbrook J., Colucci R., Guo A., Schwartz F. (2011) Clin. Med. Insights Endocrinol. Diabetes, **4**, 1-12.

43. Gallwitz B. (2012) Clin. Med. Insights Endocrinol. Diabetes, **5**, 1-11.
44. Andukuri R., Dricic A., Rendell M. (2009) Diabetes Metab. Syndr. Obes., **2**, 117-126.
45. Garber A.J. (2011) Rev. Diabet Stud., **8**(3), 307-322.
46. Eto T., Inoue S., Kadowaki T. (2012) Diabetes Obes. Metab., **14**(11), 1040-1046.
47. Seewoodhary J., Bain S.C. (2011) Br. J. Gen. Pract., **61**(582), 5-6.
48. Kshirsagar A.D., Aggarwal A.S., Harle U.N., Deshpande A.D. (2011) Diabetes Metab. Syndr., **5** (2), 105-112.
49. Claus T.H., Pan C.Q., Buxton J.M., Yang L., Reynolds J.C., Barucci N., Burns M., Ortiz A.A., Rocznia S., Livingston J.N., Clairmont K.B., Whelan J.P. (2007) J. Endocrinol., **192**(2), 371-380.
50. Claus T.H., Pan C.Q., Buxton J.M., Yang L., Reynolds J.C., Barucci N., Burns M., Ortiz A.A., Rocznia S., Livingston J.N., Clairmont K.B., Whelan J.P. (2006) J. Biol. Chem., **281**(18), 12506-12515.
51. Tom I., Lee V., Dumas M., Madanat M., Ouyang J., Severs J., Andersen J., Buxton J.M., Whelan J.P., Pan C.Q. (2007) AAPS J., **9** (2), 227-234.
52. Mentlein R. (2009) Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., **23**(4), 443-452.
53. Irwin N., Flatt P.R. (2009) Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., **23**, 499-512.
54. Green B.D., Irwin N., Gault V.A. O'Harte F., Flatt P. (2005) Br. J. Diabetes Vasc. Dis., **5**, 134-140.
55. Green B.D., Flatt P.R. (2007) Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., **4**(21), 497-516.
56. Tharakan G., Tan T., Bloom S. (2011) Trends Pharmacol. Sci., **32**(1), 8-15.
57. Dhayal S., Morgan N.G. (2010) Drug News Perspect., **23**(7), 418-424.
58. Overton H.A., Fyfe M.C.T., Reynet C. (2008) Br. J. Pharmacol., **153**, S76-S81.
59. Спасов А.А., Буланов А.Е., Самохина М.П. (2008) Хим.-фарм. журнал, **42** (11), 10-14
60. Fushiki T., Kojima A., Imoto T. (1992) J. Nutr., **122**, 2367-2373.

Поступила: 15. 07. 2013.

POTENTIAL OF PHARMACOLOGICAL MODULATION OF LEVEL AND ACTIVITY INCRETINS ON DIABETES MELLITUS TYPE 2

A.A. Spasov, N.I. Chepljaeva

Volgograd State Medical University,
1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131 Russia; fax: (8442)55-17-70; e-mail: natalja-chepljaeva@rambler.ru

This review summarizes data on the main approaches used for the search of biologically active compounds modulating the level and physiological activity of incretins. Currently two groups of drugs are used in clinical practice: they either replenish the deficit of incretins (glucagon-like peptide-1 receptor agonists) or inhibit the degradation processes (dipeptidyl peptidase 4 inhibitors). In addition, new groups of substances are actively searched. These include non-peptide agonists of glucagon-like peptide-1 receptors, agonists/antagonists of glucose-dependent insulintropic peptide, the hybrid polypeptides based on glucagon-like peptide-1 and glucagon.

Key words: incretin, glucose-dependent insulintropic peptide, glucagon-like peptide-1, dipeptidyl peptidase 4, type 2 diabetes mellitus.