



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Barbara Bogović

Mimetici sekundarnih struktura proteina

Izrađen prema:

E.Lenci, A. Trabocchi, *Chem. Soc. Rev.* **49** (2020) 3262-3277.¹

Kemijski seminar 1

Poslijediplomski (doktorski) sveučilišni studij Kemije

Organska kemija

Zagreb, 2022.

Sadržaj

§ 1. UVOD.....	1
§ 2. MIMETICI SEKUNDARNIH STRUKTURA PROTEINA.....	4
2.1. Mimetici uzvojnice	5
2.1.1. <i>α</i> -uzvojnica.....	5
2.1.2. <i>Foldameri</i>	6
2.1.3. <i>Peptoidi</i>	8
2.1.4. <i>β</i> -peptidi.....	11
2.1.5. <i>Foldameri s aromatskim i heteroaromatskim okosnicama</i>	15
2.1.5.1. <i>Oligofenilni skelet i njegovi derivati</i>	15
2.1.5.2. <i>Oligobenzamidni skelet i njegovi derivati</i>	17
2.2. Mimetici β-okreta.....	19
2.3. Mimetici β-ukosnica.....	26
2.4. Mimetici β-ploča.....	27
§ 3. ZAKLJUČAK	31
§ 4. LITERATURNI IZVORI.....	32

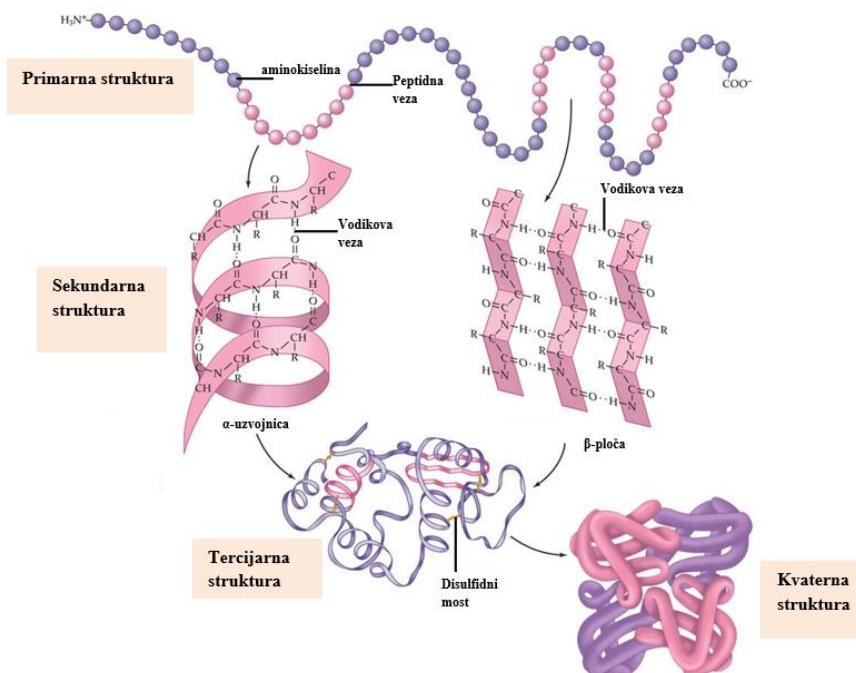
§ 1. UVOD

Peptidi i proteini su spojevi od velike važnosti za čitav niz imunoloških i neuroloških procesa. Djeluju kao neurotransmiteri, neuromodulatori, hormoni, antigeni, antibiotici, a poremećaji u njihovoj funkciji mogu dovesti do razvoja kroničnih ili infektivnih oboljenja.¹

Građeni su od aminokiselina. 20 standardnih proteinogenih aminokiselina razlikuje se u strukturi i svojstvima bočnih lanaca (veličina, trodimenzijski oblik, naboj, sposobnost stvaranja vodikovih veza, polarnost, kemijska reaktivnost) vezanih na okosnicu. Genetski kodirani popis od 20 „standardnih“ aminokiselina uključuje još dvije aminokiseline, selenocistein i pirolizin.²

Strukturnoj raznolikosti peptida, osim proteinogenih doprinose i neproteinogene aminokiseline. Neproteinogene aminokiseline (engl. *Non-proteinogenic amino acids*, NPAA) nisu prirodno kodirane u ljudskom genetskom kodu niti ih nalazimo u peptidima i proteinima. Međutim, u organizmima poput bakterija, gljivica, biljaka i morskih organizama, NPAA nalazimo u nizu biološki aktivnih peptida. Do danas je opisano preko 800 prirodnih neproteinogenih aminokiselina i tisuće sintetiziranih neproteinogenih (neprirodnih) aminokiselina. Većina sintetskih NPAA dizajnirana je na osnovi prirodnih aminokiselina, kemijskim i biokatalitičkim procesima, ili njihovom kombinacijom.³

Intramolekulskim te intermolekulskim interakcijama peptida i proteina ostvaruju se različiti strukturni elementi. Unutar trodimenzijske proteinske strukture razlikujemo četiri strukturne razine: primarnu, sekundarnu, tercijarnu i kvaternu (slika 1).



Slika 1. Razine struktura proteina: primarna, sekundarna (α -uzvojnica i β -ploča) i kvaterna.

Unatoč važnosti u biološkim procesima, peptidi kao terapeutici imaju ograničenu primjenu zbog brojnih nepovoljnih farmaceutskih i biofarmaceutskih svojstava kao što su:

- konformacijska fleksibilnost
- proteolitička nestabilnost
- niska biodostupnost

Vrlo često peptidi ne stignu do svojih konačnih odredišta zbog djelovanja proteolitičkih enzima. Mala stabilnost peptida rezultat je djelovanja peptidaza koje hidroliziraju peptidnu vezu na različitim mjestima u peptidnom lancu. Zaštita od peptidaza može se postići uvođenjem 'maskirajućih' skupina na amino, odnosno karboksilni kraj peptida, modifikacijom određenih peptidnih veza ili uvođenjem D-aminokiselina.

Peptidi su vrlo fleksibilne molekule koje mogu zauzeti mnoštvo konformacija, što otežava njihovo vezanje na odgovarajuće receptore smještene na membrani stanica, koji zahtijevaju točno definiranu, tzv. „bioaktivnu konformaciju“ peptida. Uvođenjem strukturnih elemenata koji mogu ograničiti fleksibilnost peptida i „zarobiti“ ga u biološki aktivnoj konformaciji put je prema povećanoj aktivnosti i selektivnosti za određeni tip receptora.

Za prijenos peptidnog lijeka potrebna je topljivost u vodi, što je u izravnoj vezi s njegovom polarnošću. Drugim riječima, loša topljivost peptida može se riješiti uvođenjem polarnih skupina i onih koje lako disociraju.

Zbog velike molekulske masa i polarnog karaktera otežan je transport peptida kroz staničnu membranu i krvno-moždanu barijeru te se oni brzo uklanjaju iz organizma. Za peptide je najkarakterističnija pasivna difuzija (za spojeve s odgovarajućim fizikalno-kemijskim značajkama, kao što su veličina, naboj, lipofilnost, sposobnost stvaranja vodikovih veza) i aktivni prijenos (za spojeve koje prepoznaju molekule prenosiooci). Jasno je dakle, u kojem smjeru treba ići modifikacija peptida; prilagoditi svojstva za pasivnu difuziju ili prilagoditi strukturu za aktivni prijenos.^{4,5}

Zahtjev za modificiranim peptidima s unaprijeđenim farmakodinamičkim i farmakokinetičkim svojstvima kao što su:

- (a) povećana djelotvornost,
- (b) povećana selektivnost,
- (c) povećana metabolička stabilnost i bioraspoloživost,
- (d) smanjena toksičnost

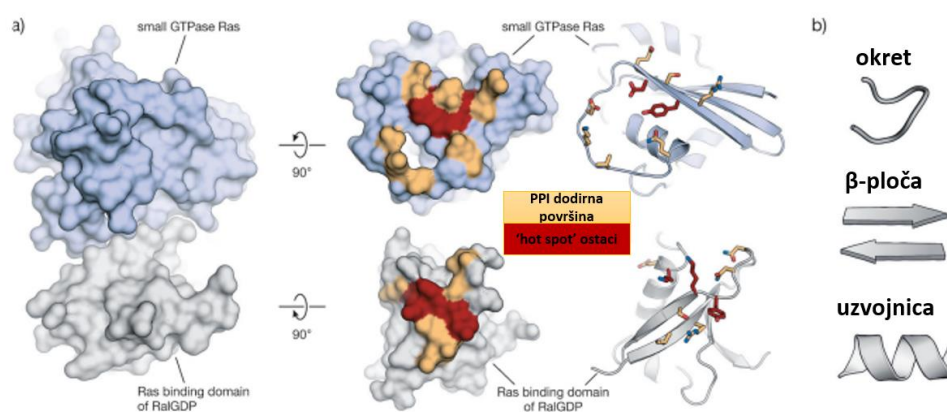
doveli su do razvoja peptidomimetike, interdisciplinarnog znanstvenog područja koje objedinjuje organsku kemiju, biokemiju, farmakologiju i biotehnologiju.¹

Opće prihvaćena definicija peptidomimetika je: „Peptidomimetik je 'spoj' čiji esencijalni farmakoforni elementi oponašaju 3D strukturu prirodnog peptida ili proteina te zadržavaju njegovu sposobnost interakcije s biološkim ciljanim sustavima pri čemu zadržavaju jednak biološki učinak.“¹

Potreba za globalnim konformacijskim promjenama ostaje glavni pokretač u potrazi za strukturnim elementima koji mogu potaknuti formiranje određene sekundarne i tercijarne strukture. Tome uvelike pridonose gotovo svakodnevna nova saznanja o važnosti trodimenzionalne strukture za funkciju biomolekula.¹

§ 2. MIMETICI SEKUNDARNIH STRUKTURA

Jedno od najvažnijih područja primjene mimetika sekundarnih struktura je inhibicija protein-protein interakcija (eng. *Protein-protein interaction*, PPI). Protein-protein interakcije uključene su u brojne biološke procese. Stoga, razvoj molekula koje ciljaju PPI predstavlja značajan terapijski potencijal. Funkcija proteina prvenstveno je kontrolirana interakcijom s drugim proteinom, koje su upravljane hidrofobnošću, vodikovim vezama, ionskim vezama te van der Waalovim interakcijama između površina dvaju proteina. Većina PPI događa se na velikoj dodirnoj površini ($>1000 \text{ \AA}^2$) pri čemu vezivanju ne pridonose svi ostaci. Mimikrija velikih proteinskih površina stoga je vrlo zahtjevna. Istraživanja su pokazala da se visoko uređeni motivi sekundarnih struktura (α -uzvojnice, β -ploče i okreti) vrlo često pojavljuju u području PPI. Poznato je kako je osnovni preduvjet za postizanje biološkog odgovora strukturalna komplementarnost liganda i receptora te njihovo međusobno povezivanje (slika 2).^{1,6}



Slika 2. (a) Kristalna struktura, kompleks između Ras (svijetlo plavo) i Ras vezne domene RalGDPa (sivo). Obično se PPI odvijaju na velikoj dodirnoj površini (prikazano narančasto) pri čemu vezivanju ne pridonose svi ostaci. Stoga je nužna identifikacijom proteinskih epitopa, odnosno „hot spots“ aminokiselinskih ostataka (prikazano crveno), koji predstavljaju mjesta na ciljanom proteinu koja pokazuju veliku sklonost ka vezivanju liganda te povoljno doprinose slobodnoj energiji vezanja. Visoko uređeni motivi sekundarnih struktura (α -uzvojnice, β -ploče i okreti) vrlo često predstavljaju takva mjesta. (b) Shematski prikaz sekundarnih struktura peptida.⁷

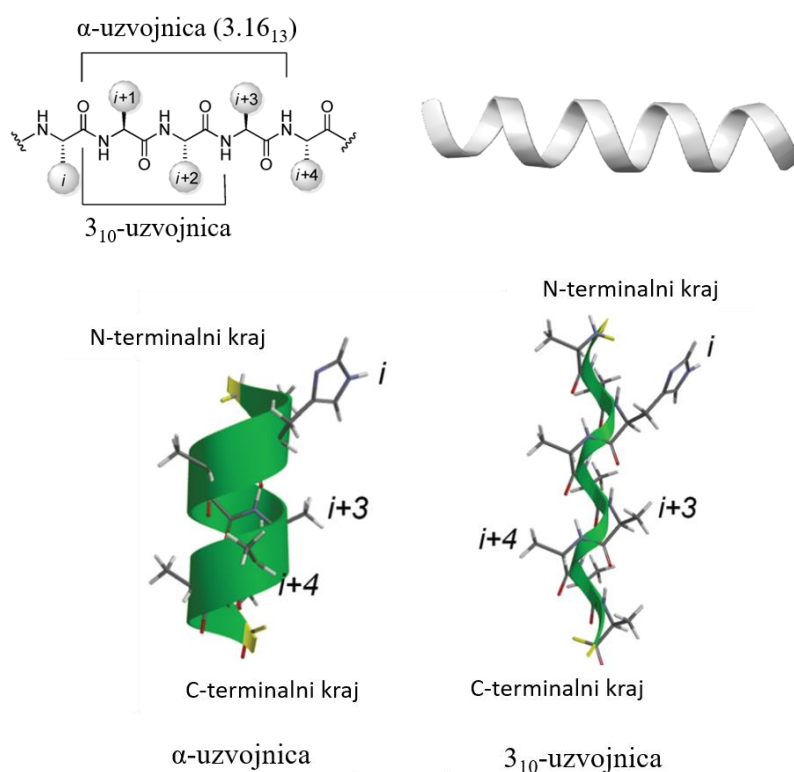
Prirodni proteini mogu inhibirati PPI. Međutim, vrijeme poluživota proteina u stanici varira od nekoliko minuta do samo nekoliko sati. Štoviše, korištenje proteina kao terapeutika je ograničeno zbog njihovih nepovoljnih farmakokinetičkih i farmakodinamičkih svojstava. Konformacijska fleksibilnost omogućuje im interakciju s neželjenim receptorima. Također, podložni su djelovanju proteolitičkih enzima, dok njihova velika molekulska masa i polarni karakter otežavaju permeabilnost kroz staničnu membranu i krvno-moždanu barijeru. Spomenute se prepreke u korištenju peptida kao terapeutika mogu prevladati primjenom njihovih mimetika. U nastavku će biti predstavljen koncept izgradnje bioaktivnih molekula koje oponašaju peptide i odlikuju se povećanom stabilnošću i unaprijeđenom biološkom aktivnošću, a čija je namjena pretežito terapijska.⁶

2.1. Mimetici uzvojnice

2.1.1. Mimetici α -uzvojnice

Uzvojnica predstavlja najčešći visoko uređeni motiv sekundarne strukture peptida, koja čini više od 30-40% polipeptidne strukture u proteinima. Nastaju od ponavljajućih sekvenci stabiliziranih intramolekulskim vodikovim vezama između sekvencijalnih ostataka. Obično se klasificiraju ovisno o broju ostataka koji sudjeluju u jednom zavoju i broju atoma između karbonilne skupine aminokiseline na položaju i te amidnog protona na položaju $i+n$.¹

Najraširenije uzvojnica u globularnim proteinima (oko 90%) je 3.16_{13} -uzvojnica, poznatija pod nazivom α -uzvojnica. Karbonilna skupina svake aminokiseline povezana je vodikovom vezom s NH-skupinom četvrte aminokiseline u tom linearnom slijedu. Svaki puni zavoj uzvojnice sadrži 3,6 aminokiselinskih ostataka. Preostalih 10% čine 3_{10} -uzvojnice (slika 3).^{1,8}



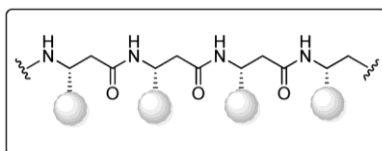
Slika 3. α -uzvojnica i 3_{10} -uzvojnica.⁸

Drugi, manje česti primjeri heličnih konformacija su 14-uzvojnica (3_{14} -uzvojnica) ili 12-uzvojnica (2.15_{12} -uzvojnica).¹

α -uzvojnica zadnjih je nekoliko desetljeća najčešće proučavani strukturni motiv za dizajn peptidnih mimetika. Mimetici α -uzvojnice najčešće su blago derivatizirani prirodni peptidi, kao i male molekule koje mogu poprimiti helične strukture.¹

2.1.2. Foldameri

Prvo ih definira Gellman, kao 'svaku polimernu strukturu koja može zauzeti savijenu konformaciju' (eng. *folded conformation*). Danas se foldameri definiraju kao neprirodne kompaktne oligomernne strukture koje karakterizira dobro definirana prostorna organizacija (slika 4).¹



Slika 4. Foldamer.¹

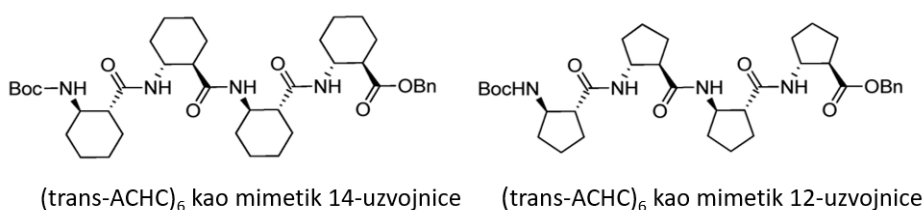
Jedna od podjela foldamera je na homogene (gradivni blokovi pripadaju istoj skupini spojeva) i heterogene (sastoje se od ponavljajućih jedinica koje pripadaju različitim skupinama spojeva). Međutim, najbolje su istraženi mješoviti foldameri dobiveni kombinacijom α - i β -aminokiselina.

Foldameri se sastoje od nukleotida (u slučaju nukleotidomimetika), aromatskih spojeva (abiotika) ili sintetskih monomera koji oponašaju aminokiseline (kao u slučaju peptidomimetika).

Premda mimetici foldamera mogu zauzeti različite sekundarne strukture, od najvećeg su značaja mimetici uzvojnice, točnije mimetici α -, β -, γ - ili δ -uzvojnice.

Foldameri α -peptida uključuju peptoide, kao i N-permetilirane peptide, azapeptide i oligomere sastavljene od 1,2-diaminoetana, oksazolidin-2-ona i pirolinona. γ -peptidi se mogu oponašati korištenjem vinilognih peptida, uree i karbamata, dok foldameri δ -peptida čine karbopeptoidi.

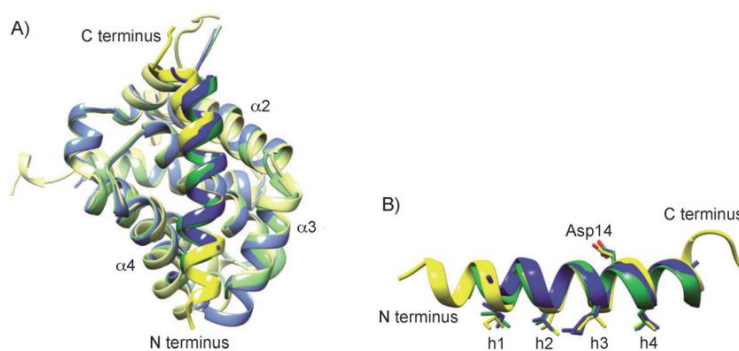
Najviše su proučavani foldameri β -peptida, jer pokazuju visoku strukturnu sličnost s α -peptidima. Sintetiziraju se uzastopnom kondenzacijom (eng. „*consecutive coupling*“) β^2 -, β^3 -aminokiselina (koji nose bočni lanac na položaju C2, odnosno C3) ili $\beta^{2,3}$ -aminokiselina (s dva bočna lanca na oba položaja C2 i C3). Jednako kao i kondenzacijom cikličkih derivata, kao što su *trans*-aminociklopentan karboksilna kiselina (ACPC) i *trans*-aminocikloheksan karboksilna kiselina (ACHC). ACHC favorizira formiranje 3_{14} -uzvojnica, dok ACPC favorizira 2.5_{12} -uzvojnica (slika 5).¹



Slika 5. Foldameri β -peptida.¹

Važnu skupinu foldamera predstavljaju heterogeni ili hibridni foldameri, kao što su α , β -peptidi, koji su dobiveni kombinacije α - i β -aminokiselina. Ove strukture igraju ključnu ulogu u razvoju peptidomimetika, jer prisutnost α -aminokiselina jamči površinsko prepoznavanje i interakciju kao u roditeljskom peptidu, dok se uvođenjem β -aminokiselina, posebno kada su rigidne, cikličke ili disupstituirane, povećava otpornost na proteolizu i sklonost formiranju helične konformacije.¹

α , β -peptidi s uzorcima kao što su ' $\alpha\alpha\beta\alpha\beta\beta$ ' ili ' $\alpha\alpha\alpha\beta$ ' pokazali su se relevantnim za dizajniranje različitih inhibitora PPI. Primjerice, Gellman i suradnici razvili su heterogeni α/β -2 foldamerni peptid koji posjeduje ' $\alpha\alpha\beta\alpha\beta\beta$ ' okosnicu, oponašajući domenu α -heliksa proteina BH3, odgovornog za poremećaj PPI između BH3 PUMA i Mcl-1, dva važna proteina obitelji BCL-2 koji igraju ključnu ulogu u posredovanju apoptoze (slika 6).⁹



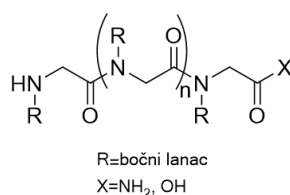
Slika 6. Strukturna analiza Mcl-1 i Bcl-x₂ kompleksa s α/β peptidom. (A) Preklapanjem Mcl-1-2 (tamno zeleno+svijetlo zeleno) s Mcl-1-3 (tamno plavo+svijetlo plavo) i Mcl-1- α -Puma (tamno žuto+svijetlo žuto). Preklapanje α/β peptida 2 i 3 slično kao i u slučaju α -Puma BH3 peptida. (B) Preklapanje α/β peptida (plavo) i α/β peptida 3 (zeleno) s α -Puma BH3 peptidom.⁹

BCL-2 protein, pretjerano eksprimiran u stanicama tumora, štiti stanice raka od smrti. Razvijeno je nekoliko mimetika α -uzvojnice iz BH3 proteina koje djeluju kao inhibitori ili antagonisti BCL-2 proteina u protein-protein interakcijama (PPI).⁹

2.1.3. Peptoidi

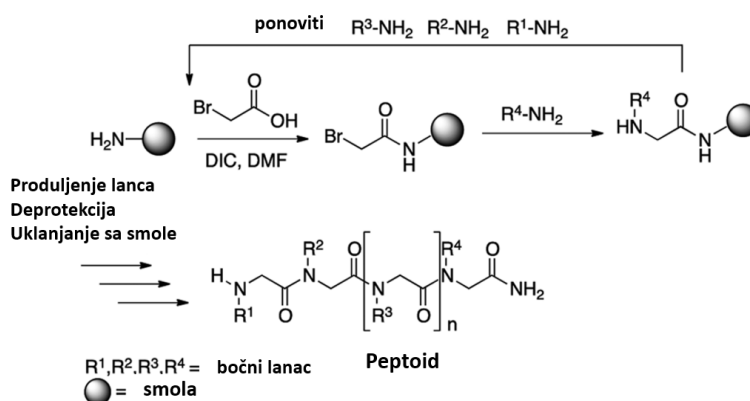
Peptoidi se mogu opisati kao α -peptidni mimetici, u kojima su bočni lanci s α ugljikovih atoma premješteni na dušikove atome amidne veze, što rezultira gubitkom kiralnosti kao i nemogućnošću sudjelovanja u vodikovoj vezi budući da je amidna veza modificirana (peptoidi ne sadrže amidni proton).¹

Ranih 1990.-tih Zuckermann i suradnici dali su prve primjere peptoida, koji predstavljaju polimere građene od N-alkiliranih glicinskih monomera (slika 7).¹⁰



Slika 7. Rerezentativna struktura oligomera N-supstituiranih glicina.¹¹

Iste godine, Zuckerman uvodi submonomernu metodu na čvrstom nosaču (eng. *Solid phase submonomer method*) za pripremu oligomera građeni od N-supstituiranih glicina (NSGs) ili peptoida kao nove skupine polimera koji nisu nađeni u prirodi, ali su sintetski dostupni i pokazuju značajnu biološku aktivnost i proteolitičku stabilnost (slika 8).¹¹



Slika 8. Sinteza peptoida submonomernom metodom na čvrstom nosaču.¹¹

Peptoidni mimetici pokazuju povećanu otpornost prema enzimskoj hidrolizi, kao i bolju permeabilnost kroz staničnu membranu. Gubitak amidnog vodika, koji često sudjeluje u vodikovim vezama, ima za posljedicu smanjenu topljivost u polarnim otapalima

Biološki interes peptoida može se pripisati njihovoj sposobnosti formiranja širokog spektra sekundarnih struktura, što uključuje: α -uzvojnica, poliprolinsku uzvojnica tip I i β -okret tip I i tip III. Također, mogu oponašati i mnogo složenije sekundarne strukture.¹

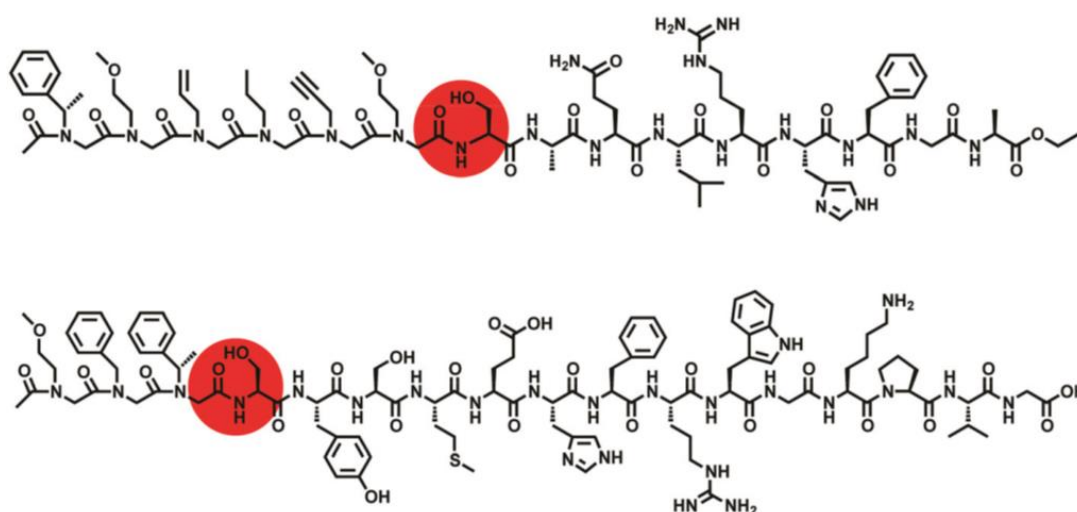
Biološki aktivni peptoidi često sadrže kationske, hidrofobne aromatske ili alifatske bočne ogranke. Prisutnost hidrofobnih skupina na amidnom dušiku omogućava bolju permeabilnost

peptoida kroz staničnu membranu. Biološku aktivnost, međutim, mnogo je teže predvidjeti. Istraživanja su pokazala da brojni peptidomimetici ovog tipa pokazuju povećanu aktivnost, što vjerojatno proizlazi iz povećane otpornosti prema proteolitičkom cijepanju, kao rezultat prisustva tercijarne amidne veze i gubitka kiralnih centara u molekuli.¹²

Heličnost je u peptoidima inducirana uvođenjem kiralnih hidrofobnih bočnih ogranaka. Kako nabiranje peptoida ne induciraju vodikove veze, nastale su uzvojnice stabilne i u kompeticijskim otapalima.

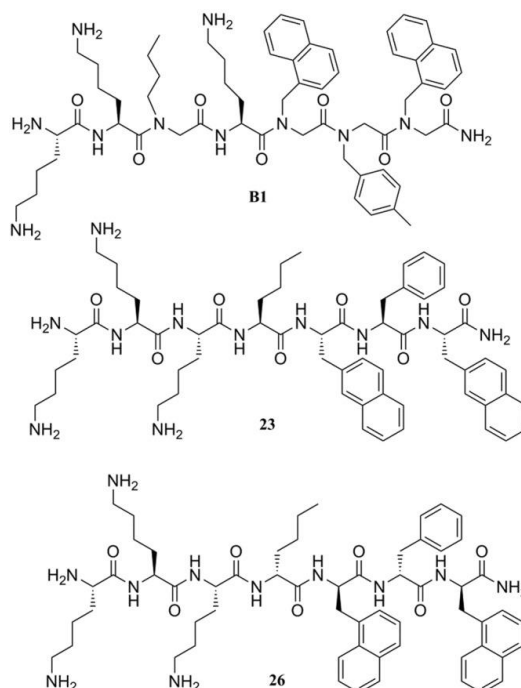
Tercijarna amidna veza podložna je *cis/trans* izomerizaciji pa otopine ovih peptidomimetika sadrže smjesu konformera. Istraživanja provedena u svrhu prevladavanja tog problema rezultirala su dizajnom hibridnih struktura između peptidnih i peptoidnih oligomera.

Kirshenbaum i suradnici su po prvi put opisali peptoidne derivate, odnosno peptoid-peptid hibride (slika 9).¹³



Slika 9. Strukture hibrida peptid-peptoid. Crveno je označena prirodna peptidna veza koja se formira reakcijom ligacije.

Nedavno je pripravljen novi peptid-peptoid hibrid B1 (slika 10) koji je pokazao antimikrobnu aktivnost protiv bakterija *Staphylococcus pseudintermedius* i *Pseudomonas aeruginosa*.¹⁴



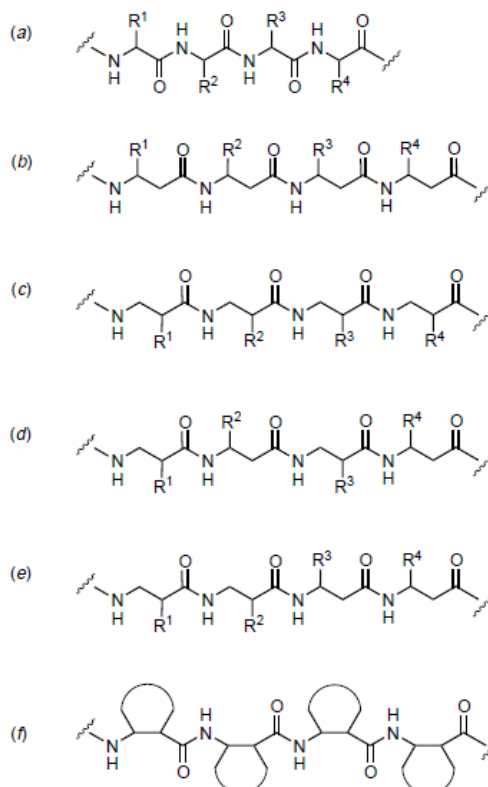
Slika 10. Struktura hibrida peptid-peptoid B1 i pripadajuće optimizirane strukture 23 i 26.

On djeluje protiv infekcija rana kod pasa. Spomenuti hibrid pokazuje poboljšanu biološku aktivnost, djelotvoran je protiv dva bakterijska patogena rezistentna na uobičajene antibiotike. Njegova je biološka aktivnost posljedica stvaranja amfipatske uzvojnice (hidrofobne i hidrofilne skupine raspoređene su na suprotnim stranama uzvojnice), koja se na način svojstven antimikrobnim peptidima veže na staničnu membranu i uzrokuje lizu stanice. Amfipatski karakter neophodan je za antimikrobnu aktivnost.¹⁴

Peptoidi se istražuju kao potencijalni terapeutici u području plućnih surfaktanata, antibiotika, medicinske dijagnostike te kao antikancerogeni agensi.¹

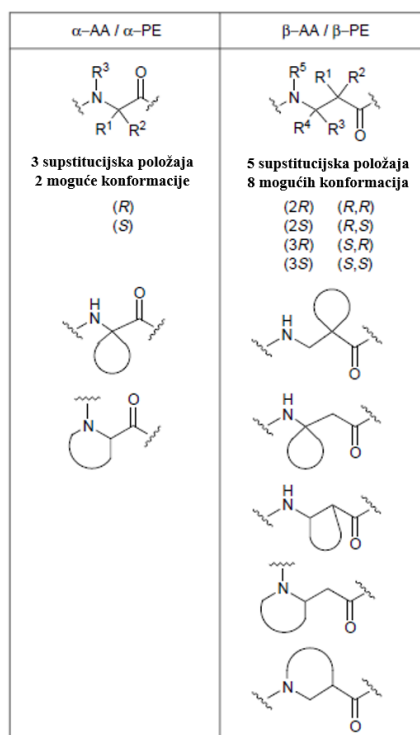
2.1.4. β -peptidi

β -peptidi izvode se iz β -aminokiselina (slika 11). β -aminokiseline su spojevi s amino i karboksilnom funkcionalnom skupinom, koje dijele dva ugljikova atoma.



Slika 11. (a) α -peptidi, (b) β_3 -peptid (sadrži β -supstituirane β -aminokiseline), (c) β_2 -peptid (sadrži α -supstituirane β -aminokiseline), (d) β -peptid sadrži naizmjenično β_2 -aminokiseline i β_3 -aminokiseline, (e) β -peptid sadrži β_2 -aminokiseline i β_3 -aminokiseline, (f) β -peptid sadrži aminocikloalkan karboksilne kiseline.¹⁵

Uspoređivanjem strukture α - i β -aminokiselina, jasno je da β -aminokiseline daju mnogo prostora za intervenciju i utjecaj na konformaciju. β -Aminokiseline posjeduju dva prokiralna ugljikova atoma, što zajedno s dušikovim atomom daje pet potencijalnih mjesta supstitucije i osam mogućih konfiguracija (2S; 2R; 3R; 3S; R,R; S,S; R,S i S,R), što ih čini mnogo “bogatijim” gradivnim blokovima u odnosu na α -aminokiseline (slika 12). Također, moguće je dobiti mnogo širi spektar cikličkih analoga.¹⁵

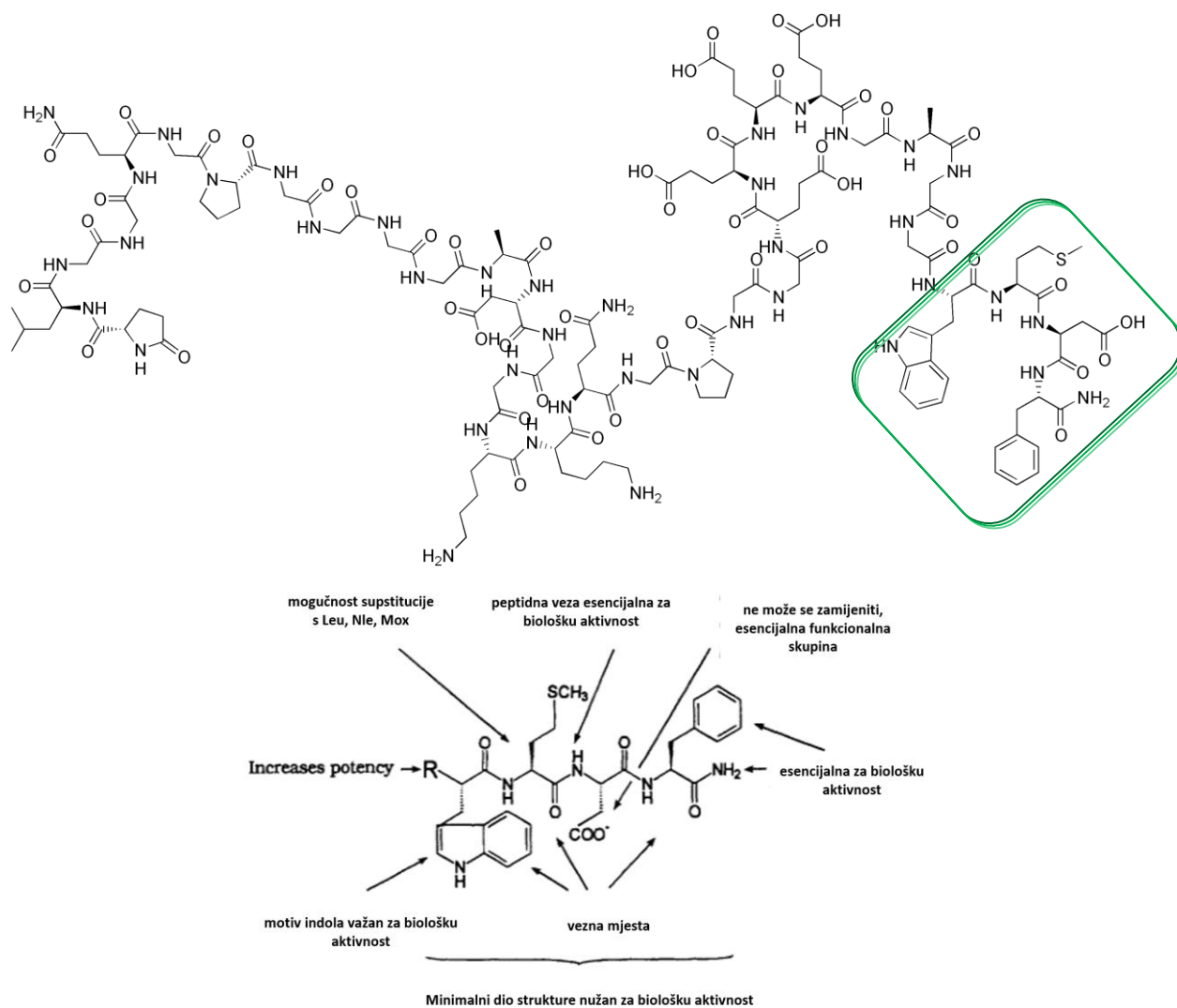


Slika 12. Razlike u supstitucijskim mogućnostima i konfiguraciji α - i β -aminokiselina.¹⁵

Jedna od osnovnih karakteristika peptidomimetika građenih od β -aminokiselina je sklonost formiranja dobro definiranih sekundarnih struktura, ponajprije konformacija uzvojnica, ali i β -ploča te savijenih konformacija.¹

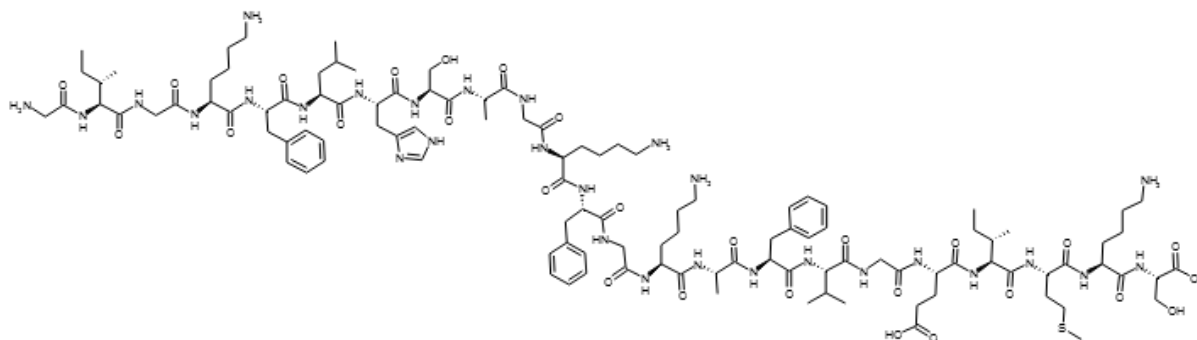
Ugradnjom β -aminokiselina moguće je dobiti biološki aktivne peptidomimetike, koji se odlikuju povećanom metaboličkom i strukturnom stabilnošću kao i povećanom proteolitičkom stabilnošću.¹

Izučavanjem gastrina koji potiče lučenje želučane kiseline, došlo se do saznanja da je Boc-Trp-Leu-Asp-Phe-OH agonist gastrina; međutim ugradnjom β -Leu ili β -Asp dobiveni su peptidomimetici s antagonističkim djelovanjem, što je važno za dizajn inhibitora gastrina (slika 13).¹⁶

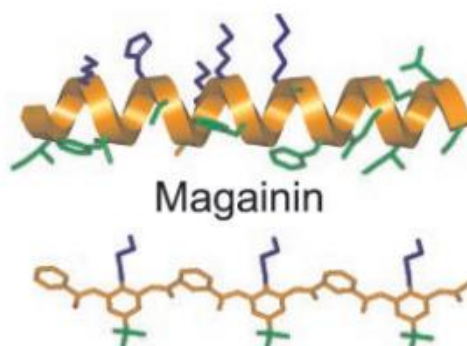


Slika 13. Struktura Gastrina; dio strukture ključan za biološku aktivnost.

Magainin, peptidni antibiotik koji je izoliran iz kože žabe *Xenopus laevis*, djelotvoran je protiv virusa, bakterija, kvasca i gljivica (slika 14).¹⁷

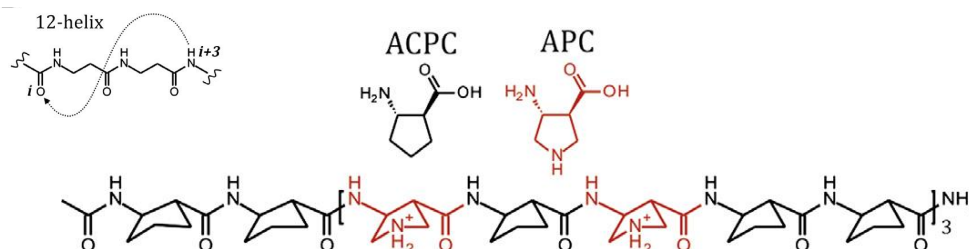


Slika 14. Antimikrobni peptid magainin.



Slika 15. Amfipatska uzvojnica u molekuli antimikrobnog peptida magainina. Hidrofobni (prikazani zeleno) i hidrofilni bočni ogranci (plavo) raspoređeni su na suprotnim stranama uzvojnice.¹⁸

Gellman i suradnici dizajnirali su mimetik Magainina, peptid β -17 koji formira 12-članu uzvojnica, stabiliziranu vodikovim vezama između karbonilnog kisika na položaju i te amidnog protona na položaju $i+3$. Amfipatski karakter uzvojnice, nužan za antimikrobnu aktivnost, ostvaren je prisutnošću hidrofobnih (ACPC; 2-aminociklopentan karboksilna kiselina) i hidrofilnih skupina (APC, 4-aminopirrolidin-3-karboksilna kiselina) raspoređenih na suprotnim stranama uzvojnice (slika 15, slika 16). Spomenuti mimetik pokazuje poboljšanu biološku aktivnost u odnosu na prirodni peptid Magainin.¹⁸



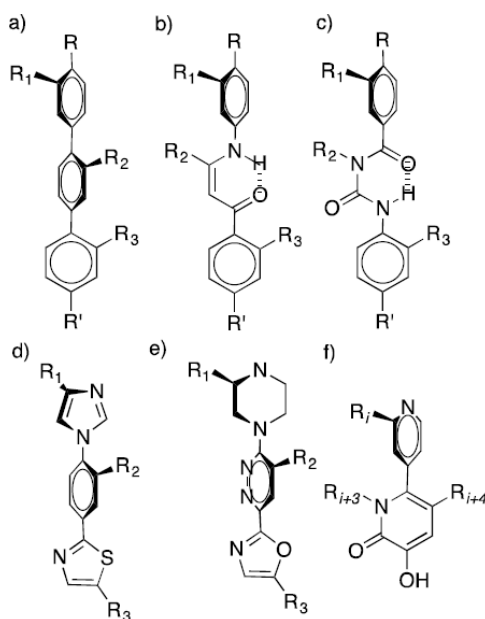
Slika 16. Struktura peptida β -17 kao mimetika α -uzvojnice iz magainina.¹⁸

Zbog stabilnosti u prisustvu proteolitičkih enzima, peptidomimetici s β -aminokiselinama upotrebljavaju se u istraživanjima inhibitora proteaza, kao i u dizajnu peptidnih cjepiva koja bi se mogla primijeniti kod autoimunih bolesti. Sposobnost β -peptida da formiraju stabilnu strukturu uzvojnice primjenjuje se u dizajnu antimikrobnih β -peptida, u kojima je određeni helični oblik nužan za interakciju sa staničnom membranom.¹

2.1.5. Foldameri s aromatskim i heteroaromatskim okosnicama

2.1.5.1. Oligofenilni skeleti (eng. scaffolds) i njegovi derivati

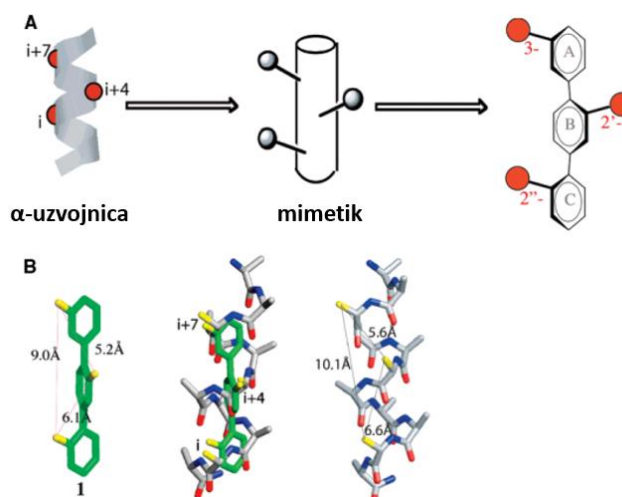
Hamilton i suradnici prvi uvode *ortho*-supstituirani terfenilni skelet kao mimetik α -uzvojnice.^{1,6}



Slika 17. Oligofenilni skelet i njegovi derivati kao mimetici uzvojnice.⁶

Strukturu takvih molekula čine aromatski prstenovi, odnosno fenilne podjedinice koje su povezane jednostrukim vezama i ne leže u istoj ravnini (slika 17 (a)). Udaljenost između dvaju supstituenata koji su smješteni na susjednim fenilnim podjedinicama iznosi 5 – 6 Å, što odgovara udaljenosti između aminokiselinskih ostataka i , $i+4$, $i+7$ α -uzvojnice (slika 18).

Stoga se spomenute nepeptidne molekule vrlo često koriste kao mimetici α -uzvojnice i istražuju se kao inhibitori i antagonisti PPI. Ova skupina peptidomimetika jedna je od najučinkovitijih u istraživanju inhibitora ili antagonista PPI.^{1,6}



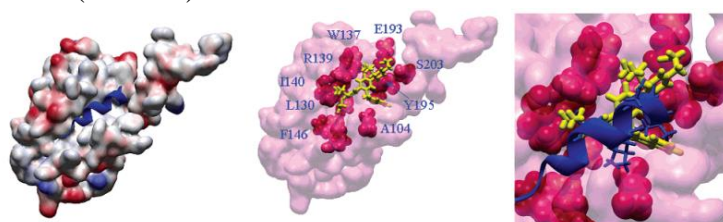
Slika 18. (A) Terfenilni skelet kao mimetik α -uzvojnice. (B) Polialaninska α -uzvojnica (lijevo) i 3,2',2''-trimetilterfenilen (desno).¹⁹

Međutim, problem predstavlja hidrofoban karakter te dugotrajan i složen način pripreme terfenilnih spojeva. S ciljem prevladavanja tog problema dizajnirani su peptidomimetici terfenilnog skeletnog tipa u čijoj je strukturi sadržan derivat enaminona (slika 17 (b) i (c)). Time je riješen problem topljivosti u vodi kao i same složenosti sinteze.⁶

Također, valja spomenuti i zamjenu benzenskog prstena s 5-članim i/ili 6-članim aromatskim prstenom koji sadrži heteroatom; što uključuje primjerice, imidazol, tiazol, oksazol, piperazin, kao i derivate oksazol-piridazina (slika 17 (d) i (e)), gdje prisutnost heteroatoma na jednoj strani zavojnice rezultirala povećanjem polarnosti, formirajući amfifilne, u vodi topive spojeve.¹

Dizajn nepeptidnih molekula male molekulske mase kao liganada koji mogu narušiti PPI i dalje predstavlja velik izazov u medicinskoj kemiji. Prvenstveno zbog velikih međupovršina uključenih u PPI. Konvencionalne metode za izbor inhibitora PPI iz kemijskih biblioteka imale su ograničen uspjeh.¹

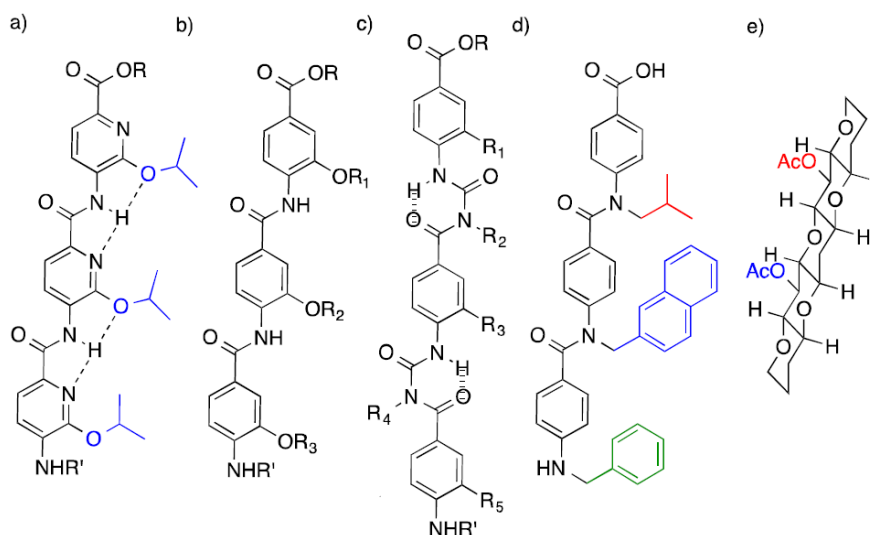
Međutim, dizajniran je velik broj malih nepeptidnih molekula koje oponašaju visoko uređene motive sekundarnih struktura, odnosno djeluju kao mimetici i istražuju se kao inhibitori PPI. Hamilton i suradnici razvili su nekoliko derivata terfenila kao mimetika α -uzvojnice Bak-proteina, koji mogu djelovati kao antagonisti Bcl-xL proteina u PPI. Bcl-xL je antiapoptotički protein pretjerano eksprimiran u nekim staničnim linijama raka, koji štiti stanice tumora od smrti (slika 19).²⁰



Slika 19. Bak-BH3-peptid/Bcl-xL kompleks.²⁰

2.1.5.2. Oligobenzamidni skeleti i njegovi derivati

Oligobenzamidi, pored najčešće korištene oligo-*p*-aminopikolinske kiseline (slika 20 (a)), vrlo često se koriste i trisbenzamidni derivati (slika 20 (b-d)) kao molekule koje mogu oponašati uzvojniciu i istražuju se kao inhibitori PPI. Oguri i suradnici sintetizirali su policikličke etere kao skeletne okosnice (slika 20 (e)).⁶



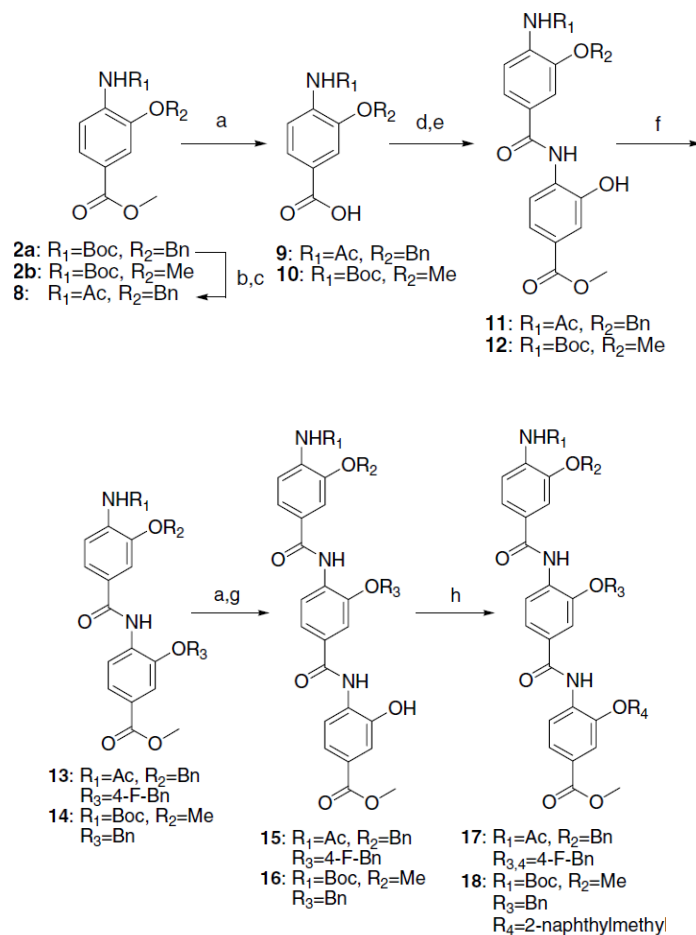
Slika 20. (a) Oligobenzamidni skelet (b-d) Derivati oligobenamidnog skeleta kao mimetici uzvojnice (e) Primjer policikličkog etera.⁶

Sinteza i karakterizacija ovih malih molekula detaljno je proučavana. Općenito, oligoamidi su sintetski pristupačniji i lakše se funkcionaliziraju, topljiviji su u vodi u odnosu na ranije spomenute oligobenzamidne skelete. Međutim, pokazuju smanjenju aktivnost kao inhibitori PPI.¹

Drugi primjeri skeletnih tipove, u slučaju kojih je formiranje uzvojnice inducirano vodikovim vezama, su tereftalamidi, benzoiluree, tioester-supstituirani arilamidi i bifenil-4,4'-dikarboksamidi.¹

1,4-dipiperazinobenzenski oligomeri, koji posjeduju kiralne okosnice, pokazali su se vrijednim štapićastim strukturama koje oponašaju α -uzvojniciu pri usvajanju trans konformacije. Mimetike ovog tipa karakterizira dobra permeabilnost kroz staničnu membranu kao i visok inhibicijski potencijal.

U nastavku je prikazan sintetski put za pripremu dva tris-benzamida (slika 21). Korištenjem tris-benzamida kao rigidne skele dizajnirani su novi mimetici α -uzvojnice koji oponašaju helične regije u peptidnom hormonu, glukagonu.²¹



Sintetski put za pripremu 2 tris-benzamida kao mimetika α -uzvojnice iz glukagona

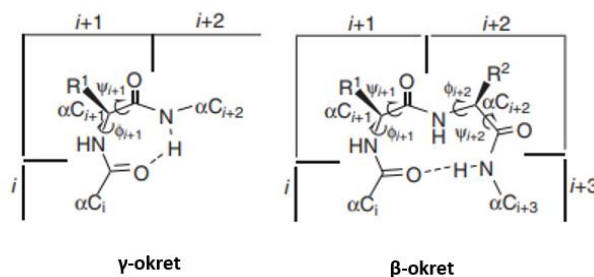
Reagensi i reakcijski uvjeti: (a) NaOH/MeOH/THF, 60 °C, 2 h; (b) 20% TFA/DCM, st, 2 h; (c) Ac₂O, DMAP, st, 12 h, 97% preko 2 koraka (b, c); (d) SOCl₂, THF, DMF (kat), 60 °C, 2 h; (e) metil 4-amino-3-hidroksibenzoat (5), DIPEA, DCM/THF, 0 °C → st, 2 h, 82% (11) i 77% (12) preko 3 koraka (a, d, e); (f) R₃X, NaH, DMF, st, 2 h, 77% (13) i 80% (14); (g) 5, BOP, DIPEA, DCM, st, 2 h, 74% (15) i 77% (16) preko 2 koraka (a, g); (h) R₄X, NaH, DMF, st, 2 h, 61% (17) i 86% (18).

Slika 21. Shematski prikaz priprave dva tris-benzamida kao mimetika α -uzvojnice iz glukagona.²¹

2.2. Mimetici β -okreta

Okreti su strukturni motivi, odnosno mjesta na kojima polipeptidni/proteinski lanac mijenja svoj smjer uslijed tvorbe intralančanih vodikovih veza u kojima najčešće sudjeluju Asn, Gly i Pro zahvaljujući svojim torzijskim svojstvima.¹

Mogu se klasificirati na α -, β -, γ -okrete; ovisno o broju konstituirajućih ostataka, kao i o intramolekulskim vodikovim vezama između karbonilne skupine na položaju i te amidnog protona na položaju $i+n$ kojima su okreti vrlo često stabilizirani. γ -okret čine 3 aminokiseline ($n=2$) i vodikovom vezom stabiliziran 7-člani prsten. Zatvaranjem 10-članog prstena stabiliziranog intramolekulskim vodikovim vezama nastaje β -okret kojeg čine 4 aminokiseline ($n=3$), dok 13-člani prsten rezultira α -uzvojnicom (slika 22). Valja napomenuti kako se okreti ponekad mogu formirati i u odsutnosti intramolekulskih vodikovih veza, a poznati su pod nazivom otvoreni okreti (eng. *open turns*).^{1,22}



Slika 22. γ - i β -okreti, koji opisuju okret tri, odnosno četiri uzastopna ostatka. U γ -okretima, C=O skupina koja pripada prvom ostatku i može biti vezana intramolekulskom vodikovom vezom s NH skupinom treće aminokiseline $i+2$, stvarajući pritom sedmeročlani prsten. U β -okretima, C=O skupina koja se pripisuje prvom ostatku i može biti vezana intramolekulskom vodikovom vezom s NH skupinom četvrte aminokiseline $i+3$, tvoreći tako deseteročlani prsten.²²

U proteinima su najrašireniji su β -okreti, koji se definiraju kao tetrapeptidne sekvence u kojima udaljenost između $C\alpha(i)$ i $C\alpha(i+3)$ mora biti manja ili jednaka 7Å. Karakteriziraju ih izražena hidrofилna svojstva, smješteni su na površini proteina, a samim time izloženi su različitim proteinskim receptorima s kojima mogu ostvariti interakcije te su uključeni u procese molekuskog prepoznavanja.^{1,22}

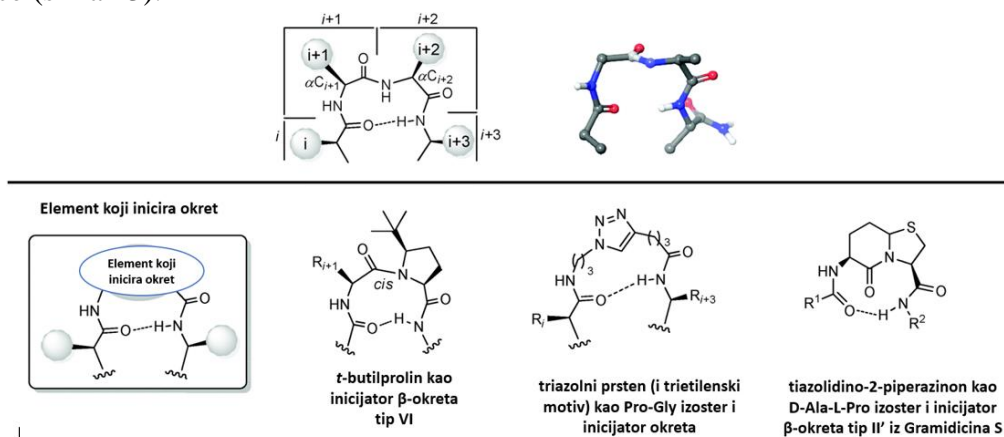
Daljnja klasifikacija γ - i β -okreta temelji se na geometriji peptidne okosnice, koja je opisana torzijskim kutovima ϕ i ψ $i+1$ i $i+2$ ostataka u β -okretu, te $i+1$ amino kiselina u γ -okretima. Najzastupljeniji su β -okreti tip I, II i IV (34%, 13% i 35%), a oznake I' i II' odnose se na suprotnu vrijednost za svaki od diedralnih kutova.²²

Kao alternativna metoda za klasifikaciju β -okreta, topografija bočnih lanaca od i do $i+3$ ostataka β -zavoja može se uzeti u obzir, kao što su predložili Hutchinson i Thorton. Što znači da se β -okreti mogu podijeliti na 9 podskupina, odnosno na β -okret tipa I, I', II, II', VI_{a1}, VI_{a2}, VI_b, VIII i IV.¹

Za svaku podskupinu okreta dizajniran je velik broj malih molekule kao potencijalnih mimetika. Vođeni tim saznanjem i činjenicom kako sekundarne strukture β -okreta igraju ključnu ulogu u mnogim biološkim sustavima prepoznavanja, ne čudi kako posljednjih desetljeća postoji sve veći interes za razvoj malih konformacijski ograničenih molekula, kao mimetika β -okreta koji predstavljaju moćna i selektivna terapijska sredstva.²²

(a) Elementi koji iniciraju okret

Ovaj pristup uključuje zamjene aminokiselina na položaju $i+1$ i/ili $i+2$ s određenim elementom koji može inicirati formiranje okreta i reducirati konformacijsku sloboda te sekvence (slika 23).¹

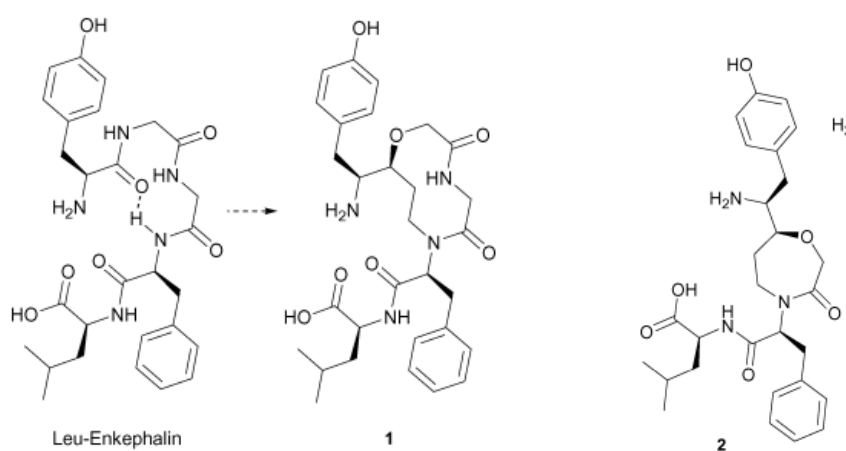


Slika 23. Pristup dizajnu mimetika β -okreta.¹

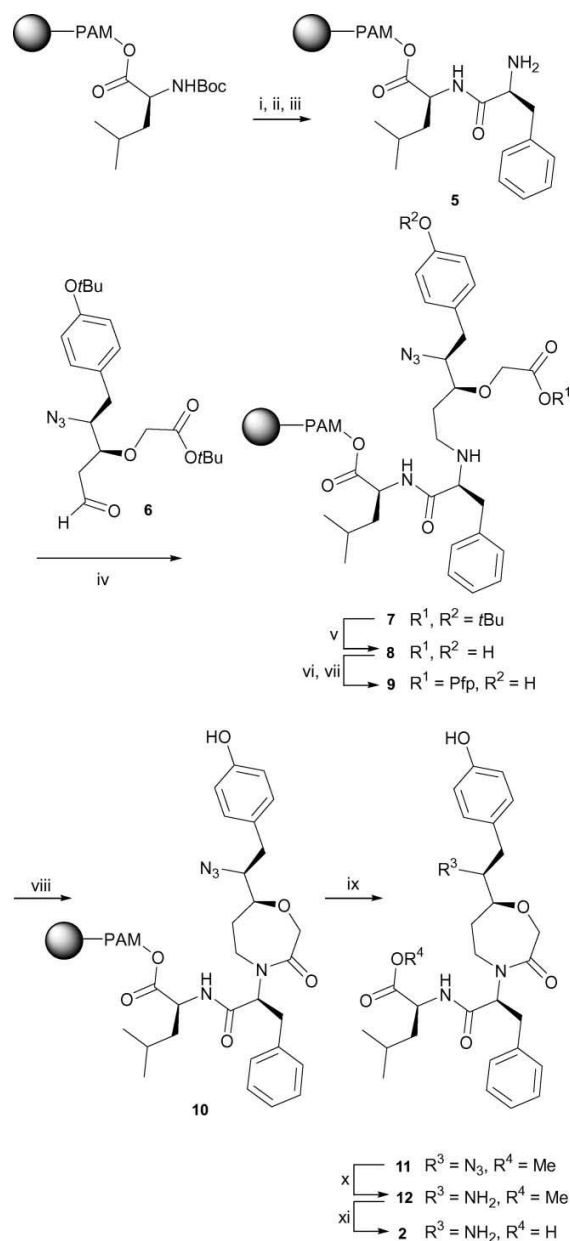
U strukturama β -okreta često su prisutni prolinski ostaci, s obzirom da te sekundarne aminokiseline posjeduju jedinstvena svojstva u usmjeravanju savijanja polipeptidnog lanca kontroliranjem *cis-trans* ravnoteže. Prolin se često nalazi u strukturama na $i+1$ i $i+2$ položajima, zbog cikličke prirode aminokiseline koja može 'zaključati' specifične konformacije zbog svog ograničenog kuta ϕ . Posebno se ističu se dva različita slučaja; u β -okretima tip I, prolin se nalazi kao inicijator okreta (eng. *turn inducer*) na položaju $i+1$, pritom generirajući *trans* amidnu vezu na X-Pro sekvenci, dok u β -okretu tip VI, prolin je prisutan na položaju $i+2$ uspostavljajući *cis* amidnu vezu na X-Pro sekvenci. U oba slučaja, korištenjem analoga prolina može se stabilizirati β -okret.¹

Drugi učestalo korišteni elementi koji iniciraju okret su α -aminoizomaslačna kiselina (Aib), heterociklički spojevi kao derivati pipekola i morfolina te triazolni prsten. Također, ograničeni dipeptidni izosteri, kao što su bicikličke δ -aminokiseline na bazi prolina. Mogu se koristiti za zamjenu aminokiselina na pozicijama $i+1$ i $i+2$ te za savijanje peptidne sekvence u β -okret.¹

Leu-enkefalin je pentapeptidi koji pripada obitelji endogenih opioidnih peptida. Aminokiselinska sekvenca Leu-enkefalina je Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu. Leu-enkefalin djeluje kao agonist opijatnih receptora. Leu-enkefalin vrlo se brzo metabolizira endogenim peptidazama i kao takav, nema vidljivu kliničku primjenu. Zamjenom prva četiri ostatka Leu-enkefalina s 10-članom kovalentno vezanom cikličkom strukturom (kao kalupom) pripremljen je mimetik Leu-enkefalina (slika 24, slika 26). Također, pripremljen je mimetik Leu-enkefalina 'ugradnjom' 7-članog prstena pri čemu je glicinski ostatak isključen iz strukture (slika 25). U oba primjera, intramolekulsku vodikovu vezu između ostataka i te $i+3$ β -okreta zamjenjuje etilenska prenosnica, dok je amidna skupina između ostataka na položajima i te $i+1$ zamijenjena eterskom izosternom skupinom.^{23,24}

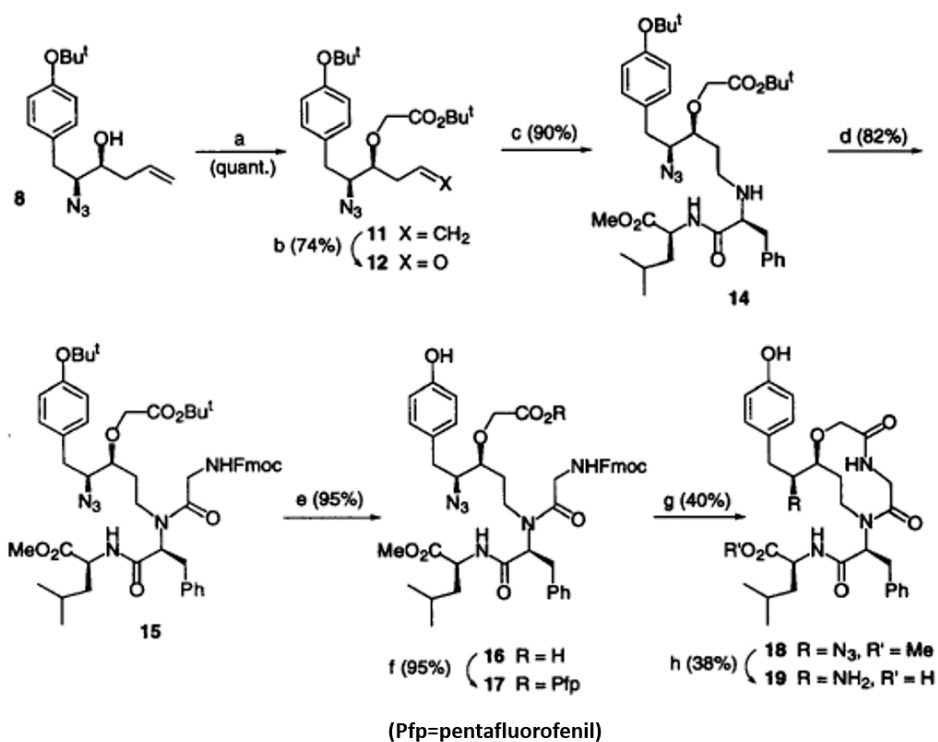


Slika 24. (1) β -okret u molekuli Leu-enkefalina i konformacijski ograničen mimetik, u kojem etilenski most zamjenjuje intramolekulsku vodikovu vezu između ostataka i te $i + 3$ β -okreta, sintetiziran je i 'ugrađen' u Leu-enkefalin. (2) Peptidomimetik Leu-enkefalina koji sadrži 7-članu cikličku izosternu skupinu kao inicijator β -okreta u molekuli Leu-enkefalina.^{23,24}



Reakcijski uvjeti: i) TFA (30%) in CH_2Cl_2 ii) HOBt, DIC, otopina bromfenol plavo, Fmoc-Phe-OH, DMF; iii) piperidin (20%) in DMF; iv) 5, $Na(OAc)_3BH$, NEt_3 , CH_2ClCH_2Cl ; v) TFA (30%) in CH_2Cl_2 ; vi) HCl (1 M) u 1,4-dioksan; vii) PfpOH, DIC, EtOAc; viii) NEt_3 , 1,4-dioksan, reflux; ix) Na (0.22 M) in MeOH, 25% (sinteza na čvrstom nosaču); x) $SnCl_2$, PhSH, TEA, THF; xi) LiOH (0.1 M), THF, 56% (11).

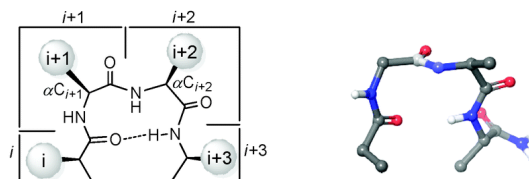
Slika 25. Sinteza peptidomimetika Leu-enkefalina koji sadrži kovalentno vezan 10-člani prsten koji oponaša β -okret iz Leu-enkefalina.²³



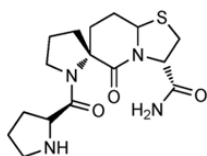
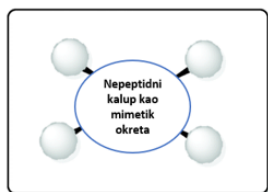
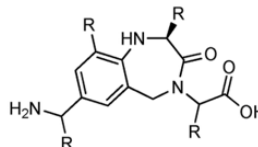
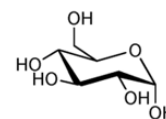
Reakcijski uvjeti: a) $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{tBu}$, $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{HSO}_4^-$, aq. 50% $\text{NaOH}/\text{C}_6\text{H}_6$ (1:1), st., 1 h. b) OsO_4 (kat.), NMO, THF/acetone/ H_2O (1:1:1), st., 2 h, zatim $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, Na_2CO_3 , benzene, $0^\circ\text{C} \rightarrow$ st., 3 h; c) H-Phe-Leu-OMe (15), $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, NEt_3 , 1,2-dikloretan, st., 30 min; d) Fmoc-Gly-OH, DIC, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow$ st., 16 h; e) HCO_2H , st., 16 h; f) **PfpOH**, **DCC**, **EtOAc**, 0°C , 2 h; g) DBU, dioksan, 100°C , 4.5 h; h) aq. 1 M LiOH , dioksan, $10^\circ\text{C} \rightarrow$ st., 2 h zatim H_2 , Pd/C, MeOH, 48 h.

Slika 26. Sinteza peptidomimetika Leu-enkefalina koji sadrži 10-člani prsten koji oponaša β -okret iz Leu-enkefalina.²⁴

(b) Nepeptidni kalupi koji oponašaju peptidne motive okreta



Nepeptidni kalup kao mimetik okreta

[5.6.5]spiro-biciklički laktam kao Pro-Leu-Gly i mimetik β -okretabenzodiazepinski kalup kao mimetik β -okretaB-D-glukozni kalup kao mimetik β -okretaSlika 27. Pristup dizajnu mimetika β -okreta.¹

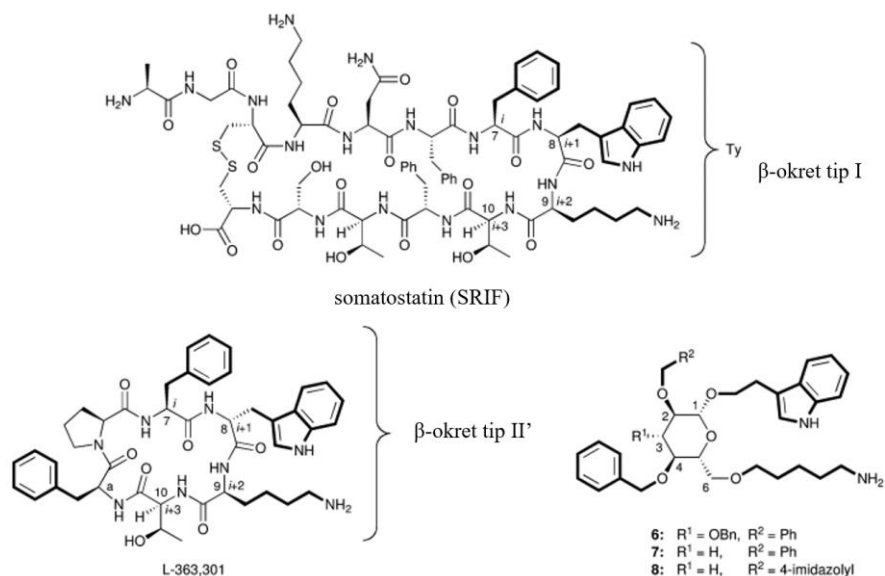
Drugi pristup temelji se na korištenja rigidne skele (eng. *scaffold*) koja zamjenjuje cijelu peptidnu okosnicu i usmjerava bočne lance u prostornom raspored po uzoru na ostatke koji čine okret u nekom od peptida. Ovi spojevi nalikuju središnjoj dipeptidnoj sekvenci koja je prisutna na položajima $i + 1$ te $i + 2$, ali zato amidne veze nisu sadržane u strukturi, što znači da su stabilniji i konformacijski ograničeniji, odnosno manje fleksibilni. Obično imaju amino i karboksilne skupine na suprotnim pozicijama skeletnog okvira, pa se ugrađuju u peptid i posjeduju vodikovu vezu koja je prisutna i u β -okretu (slika 27).¹

Tijekom godina predloženo je nekoliko skeletnih tipova, uključujući spirocikličke laktame, kao što je spirobiciklički [5.6.5]laktam koji se koristi kao mimetik Pro-Leu-Gly za modulaciju aktivnosti dopaminskih receptora i benzodiazepinski okvir.¹

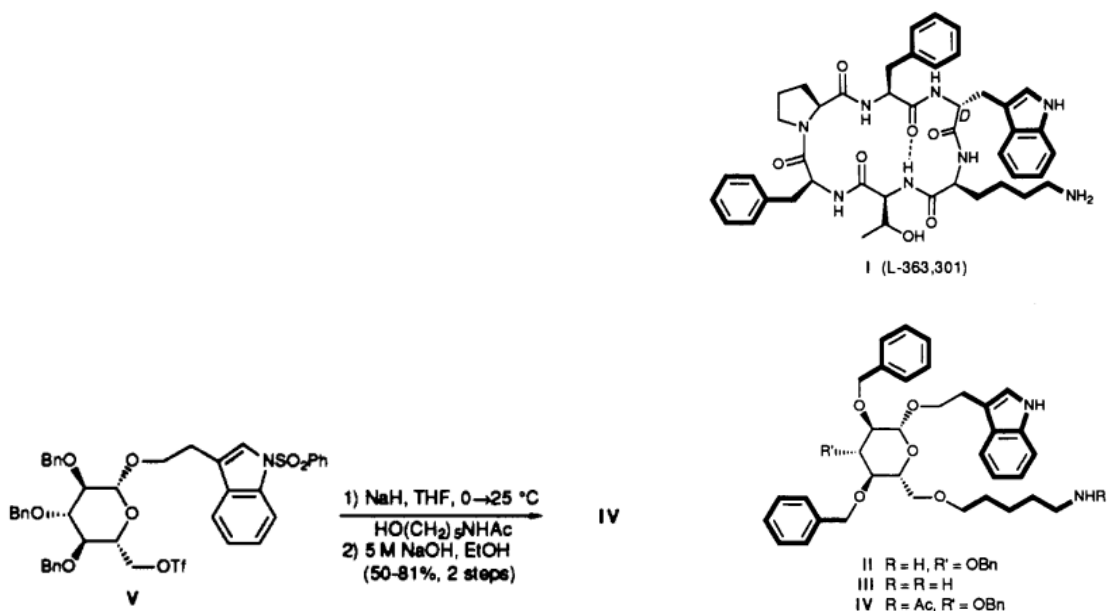
Također, β -D-glukoza pokazala se pogodnim skeletnim kalupom/motivom za smještanje aminokiselinskih ostataka prisutnih u regiji β -okreta somatostatina. Opisan je dizajn i sinteza mimetika β -okreta koji koristi β -D-glukozni skelet, time je prvi put korišten šećerni skelet u te svrhe.¹

Somatostatin (SRIF) je ciklički tetradekapeptid (sadrži 14 aminokiselinskih ostataka) koji inhibira oslobađanje nekoliko fiziološki važnih tvari, uključujući hormon rasta, glukagon, inzulin i želučanu kiselinu; dok je kraći (6 aminokiselinskih ostataka) sintetski peptid L-363,301 peptidni agonist. Ta dva ciklička peptida sadrže jednak motiv β -okreta kojeg čini tetrapeptidna sekvencija Phe-Trp-Lys-Thr (D-Trp u slučaju L-343,301), u kojem su triptofanski i lizinski ostatak na položajima $i+1$ te $i+2$ ključni za vezivanje (slika 28).²⁵

Pokazalo se kako skelet β -D-glukoze može biti 'privlačan' mimetik β -okreta zbog toga što omogućuje uvođenje bočnih ogranaka aminokiselina putem jednostavnijih esterifikacijskih reakcija, umjesto nastajanja C-C veza. Također je riječ o komercijalno dostupnom, jeftinom polaznom materijalu dobro definirane stereokemije (slika 29).^{25,26}



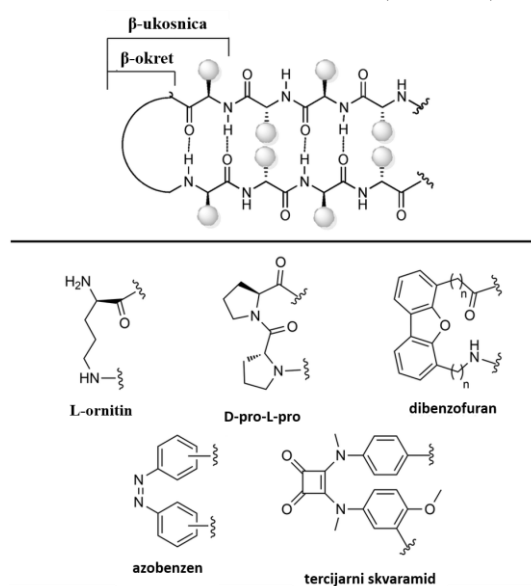
Slika 28. Mimetik somatostatina s glukopiranoznim kalupom koji ograničava konformacijsku fleksibilnost. Somatostatin (SRIF); L-363,301 (potencijalni agonist); Monosaharidni peptidomimetik.²⁵



Slika 29. Sinteza mimetika somatostatina.²⁶

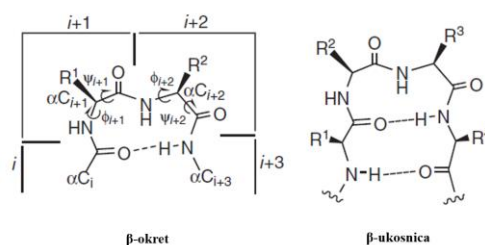
2.3. Mimetici β -ukosnice

Kombinacija dvaju antiparalelnih β -lanaca povezanih okretom formira β -ukosnicu koja je stabilizirana međulančanim vodikovim vezama (slika 30).¹



Slika 30. Stabilizacija struktura β -ukosnica motivima koji iniciraju okret.¹

β -ukosnice su široko rasprostranjeni sekundarni strukturalni elementi u proteinima koji se sastoje od dva susjedna lanca antiparalelnih β -ploča i spojne petlje (eng. *connecting loop*). Tetrapeptid može usvojiti konformaciju β -ukosnice kada su dva lanca povezana (minimalno) s dvije vodikove veze, tvoreći tako 10- i 14-člani prsten.^{1,22}

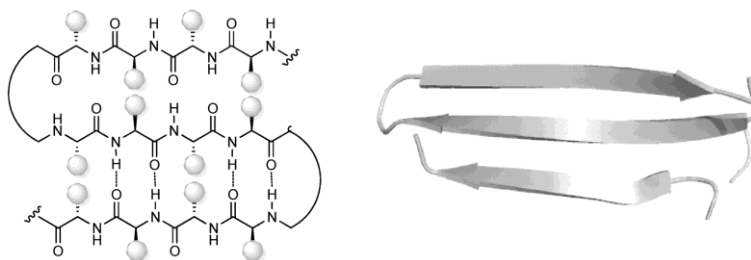


Slika 31. Usporedba, β -okret i β -ukosnica.¹

Aminokiseline od značaja, koje induciraju okret i stabiliziraju spomenuti sekundarni strukturalni element najčešće su L-ornitin ili dipeptidi D-Pro/L-Pro i D-Pro/L-Gly. Također, derivati dibenzofurana, azobenzeni, oligouree ili metalni kompleksi dovode do nastajanja β -ukosnice, kao i složenijih β -ploče. β -ukosnice se mogu stabilizirati međulančanim nekovalentnim i/ili kovalentnim interakcijama, kao i putem surogata standardne vodikove veze.^{1,22}

Zanimljivo je kako većina β -okreta u savijenim proteinima usvaja konformaciju tip I ili tip II, dok su te uobičajene strukture rijetke u slučaju β -ukosnica. Za njih je karakteristična konformacija tip I' ili tip II'. Stoga se okreti β -ukosnice mogu smatrati 'zrcalnim slikama' β -okreta, budući da njihovi ϕ i ψ torzijski kutovi na položajima $i+1$ te $i+2$ ostataka pokazuju suprotne vrijednosti od onih koje se pripisuju β -okretima (slika 31).²²

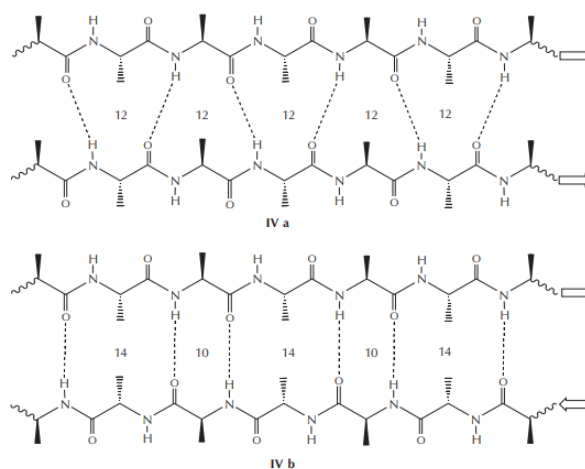
2.4. Mimetici β -ploča



Slika 32. β -ploča; u shematskim se prikazima β -niti obično prikazuju širokim strelicama okrenutima u smjeru C-kraja, što omogućuje raspoznavanje paralelnih i antiparalelnih β -ploča.¹

Pauling i Corey predložili su periodični strukturni motiv nazvan β -pločom. β -ploča znatno se razlikuje od štapičaste α -uzvojnice. Udaljenost između pojedinih aminokiselina duž β -niti približno je 0.35 nm, nasuprot 0.15 nm duž α -uzvojnice. Bočni ogranci susjednih aminokiselina usmjereni su nasuprotno. Građena je od dva ili više polipeptidnih lanaca čiji su dijelovi nazvani β -nitima. Polipeptidni lanci mogu mijenjati smjer praveći povratne okrete i omče. Sekundarne strukture β -ploča mogu se stabilizirati kovalentnim i nekovalentnim interakcijama između β -niti ili između N-kraja jedne niti do C-kraja druge niti. Između aminokiselinskih ostataka unutar β -niti ne uspostavljaju se vodikove veze zbog čega ima izduženu konformaciju (slika 32).^{1,22}

β -ploče mogu biti antiparalelne, paralelne ili miješane. U antiparalelnim β -pločama susjedne β -niti protežu se u suprotnim smjerovima. U antiparalelnom rasporedu NH-skupina i CO-skupina svake aminokiseline povezane su vodikovom vezom s CO, odnosno NH-skupinom aminokiseline u susjednoj β -niti. U paralelnim β -pločama susjedne β -niti protežu se u istom smjeru. U paralelnom rasporedu shema je vodikovih veza nešto složenija. NH-skupina svake aminokiseline vezana je vodikovom vezom s CO-skupinom određene aminokiseline u susjednoj niti, dok je CO-skupina vezana na NH-skupinu druge po redu aminokiseline (slika 33).^{1,22}



Slika 33. (a) U paralelnim β -pločama (IVa) dijelovi lanca orijentirani su u istom smjeru s obzirom na N- i C-terminalni kraj, a vodikove veze između peptidnih skupina u tim segmentima ravnomjerno su pomaknute i zatvaraju određeni kut u odnosu na drugi lanac te tvore 12-člane prstenove. Kod antiparalelnih β -pločama (IVb) izmjenjuju se 10- i 14-člane prstenovi, a vodikove su veze gotovo okomite na susjedni segment.²⁷

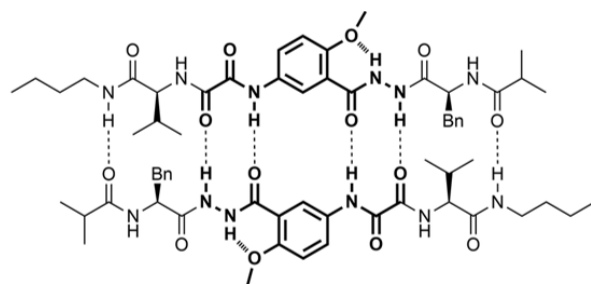
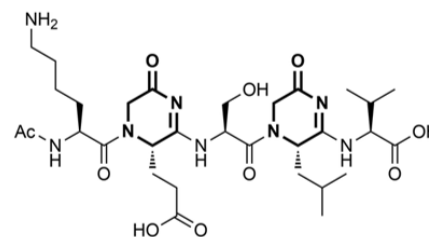
β -ploče važan su strukturni element mnogih proteina. Primjerice, proteini za vezanje masnih kiselina, važni u metabolizmu lipida, izgrađeni su gotovo isključivo od β -ploča.¹

Jedan od jednostavnijih pristupa u dizajnu mimetika β -ploče zasniva se na korištenju kratkih peptida kao mimetika odgovarajućih proteinskih regija koje sudjeluju u prepoznavanju s drugim proteinima. Međutim, kratki peptidi imaju brojna nepovoljna svojstva (konformacijska fleksibilnost, proteolitička nestabilnost, niska biodostupnost) koja onemogućuju njihovu terapeutsku primjenu i zahtijevaju prilagodbe koje će ih učiniti farmakološki prihvatljivijim terapeutima. U svrhu prevladavanja navedenog problema vrlo često se provodi ciklizacija (bočni ogranak – bočni ogranak, bočni ogranak – okosnica ili okosnica – okosnica) kojom se peptid nastoji “prisiliti” da zauzme bioaktivnu konformaciju. Osim postizanja konformacijski rigidnih struktura, ciklizacijom se ostvaruje i povećana proteolitička stabilnost.¹

S obzirom na svoju ključnu ulogu u formiranju trodimenzionalne strukture u proteinima, β -ploče, β -niti i β -ukosnice predstavljaju zanimljive strukturne elemente za razvoj peptidomimetika, posebno u području bolesti središnjeg živčanog sustava; kao supramolekularne asocijacije β -ploče su uključene u stvaranje proteinskih agregata, kao što su amiloidni fibrili kod Alzheimerove bolesti.¹

Neprirodna aminokiselina Hao (5-hidrazini-2-metoksibenzojeva kiselina), posebice sekvenca Phe-Hao-Val, koja može oponašati vodikovu vezu tripeptida u konformaciji β -niti (Hao zapravo predstavlja tripeptidni mimetik β -niti). Budući da je riječ o aminokiselini ona se može ugraditi u peptid klasičnim metodama, sintezom na čvrstom nosaču, što svakako daje prednost u sintezi takvih peptida. Aminokiselina Hao stvara preduvjet za formiranje izdužene konformacije svojstvene β -niti i utječe na interakcije između peptida koji ih sadrži. Hao-skupina služi kao kalup za stvaranje unutarmolekulskih vodikovih veza, te istovremeno minimizira izloženost skupina intermolekulskim vodikovim vezama. Peptid i-PrCO-Phe-Hao-Val-NHBu formira dimer β -ploče u kloroformu (slika 34).²⁸

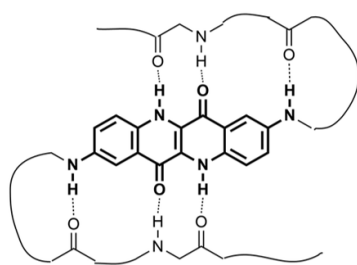
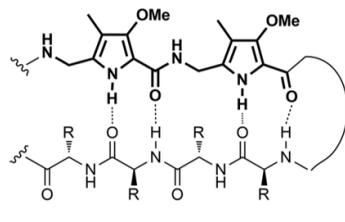
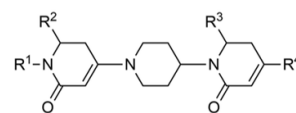
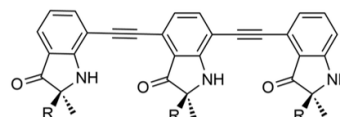
Druge često korištene kiseline kojima se stvara preduvjet za formiranje izdužene konformacije svojstvene β -niti su 1,6-dihidro-3(2H)-piridinon (Ach), D-Pro-DADME (1,2-diamino-1,1-dimetiletan) i 4,5-dihidro-2(3H)-pirazinonski dio. Dvije jedinice pirazinona korištene su u pentapeptidu za koji je utvrđeno da može inhibirati interakciju PDZ domene α -1 sintropina s nNOS čvršće nego roditeljski peptid (slika 34).¹

dimer β -ploče peptida i-Pr-Phe-Hao-Val-Bu4,5-dihidro-2(3H)-pirazinon u peptidomimetiku; koji inhibira PPI između α -1-sintropina s nNOSSlika 34. Dizajn mimetika β -ploče.¹

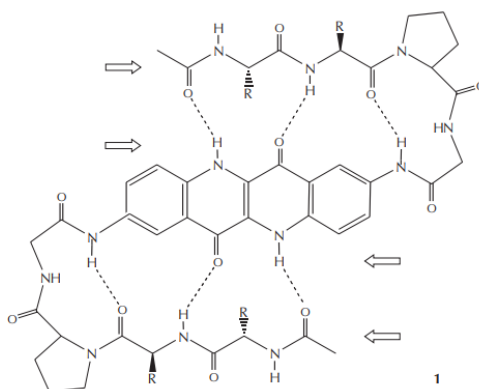
Proteolitički enzimi vežu se na supstrate i inhibitore pritom koristeći izdužene β -niti, dijelove β -ploča kao elemente prepoznavanje. Također, brojni biomolekulski receptori koriste β -niti kao prepoznavajuće elemente. Iz tog razloga njihovi mimetici nalaze primjenu u medicini kao inhibitori enzima i antagonisti. Primjerice, zamjenom sekvence proteina s rigidnim i hidrofobnim aromatskim kalupom, kao i heteroatomnim bicikličkim sustavom, stvaraju se preduvjeti za zauzimanje izdužene konformacije svojstvene β -niti, uz povećanje proteolitičke stabilnosti. Stoga se razvijaju konformacijski spregnuti kalupi za mimikriju β -niti i kao inhibitori proteolitičkih enzima.¹

Do danas se može oponašati samo β -nit pomoću struktura koje karakteriziraju donori i akceptori vodikove veze na točno određenim položajima, kako bi se replicirala mreža vodikovih veza prisutna između β -ploča.¹

Zamjenom jednog segmenta peptidne okosnice aromatskim okvirom poput epindolidiona ili aminokiselinska sekvence koje uključuju metoksipirole, stvaraju se preduvjeti za zauzimanje izdužene konformacije svojstvene β -niti; na taj način dizajniran je β -lanac kao inicijator β -ploče. Također, oligomeri sastavljeni od 2,2-disupstituiranih-indolin-3-ona i piperidin-piperidinona, koji posjeduju ograničenu slobodu rotacije, mogu se koristiti kao mimetici β -niti (slika 35).¹

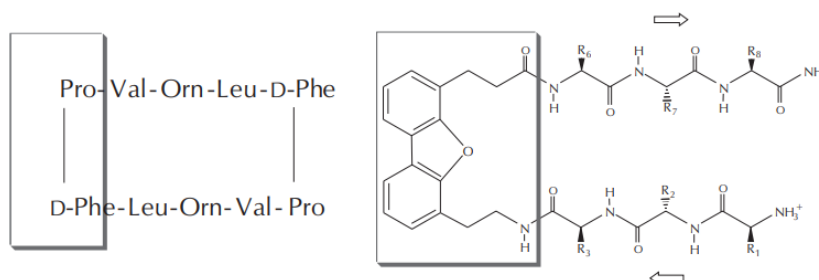
epindolidion kao mimetik β -pločemetoksipirolni oligomeri kao mimetici β -pločeoligomer piperidin-piperidona kao mimetik β -pločeoligomer 2,2-disupstituiranog-indolin-3-ona kao mimetik β -pločeSlika 35. Dizajn mimetika β -ploče.¹

Primjer rigidne struktura koja se umeće u sekvencu prirodnih aminokiselina je epindolidionska kondenzirana tetraciklička jedinica ugrađena u nonapeptid tako da oponaša centralni dio lanca. Ona usmjerava vezane peptidne dijelove u smislu nastajanja triju intramolekulskih vodikovih veza. Taj se učinak pojačava dodatkom Pro-D-Ala u proksimalni položaj, pri čemu nastaju strukture s dvjema paralelnima β -pločama (slika 36).^{1,27}



Slika 36. Pripajanjem peptidnih skupina na amino skupine epindolidionskog okvira dobiven je mimetik paralelne β -ploče. Uz heterociklički prsten smješten je fragment Pro-D-Ala kako bi ograničio konformaciju okreta nužnog za formiranje β -ploče.²⁷

Konformacijski spregnuti ciklički molekularni skeleti mogu predstavljati inicijatore β -ploče na način da zamjenjuju ostatke na položajima $i+1$ i $i+2$ (dio sekvence svojstven β -okretu). Odabrane male molekule obrću smjer peptidnog lanca, potiču intramolekulske vodikove veze i hidrofobna tercijarna međudjelovanja, što dovodi do formiranja β -ploče. Jedan od primjera takvih mimetika je analog cikličkog peptida gramicidina S koji u nativnom obliku ima dobro definiranu strukturu β -ploče između dva β -okreta. U linearnom je analogu dipeptidna jedinica D-Phe-Pro (ostatak na položajima $i+1$ i $i+2$ u β -okretu) zamijenjena rigidnim umetkom, čiji je središnji dio dibenzofuranpropionska kiselina, a drugi je segment D-Phe-Pro uklonjen. Na taj način je dobiven je čitav niz heptapeptida s antiparalelnim β -pločama (slika 37).²⁷



Slika 37. zamjenom Pro-D-Phe kao inicijatora β -okreta u antibiotiku gramicidinu S s rigidnim heterocikličkim kalupom, dok je drugi segment Pro-D-Phe uklonjen, pripravljeno je 12 analoga heptapeptida kao potencijalnih mimetika β -ploče.²⁷

§ 3. ZAKLJUČAK

Područje peptidomimetike započelo je modifikacijama u strukturi malih peptida, što je uglavnom rezultiralo promjenom lokalne konformacije, ali često nije bilo dovoljno za promjenu biokemijskih obilježja ishodnog peptida.

Želja za razumijevanjem, kontrolom, kao i mogućnošću oponašanja prirodnih peptida rezultirala je sve većim interesom za razvojem (sintezom) spojeva koji mogu oponašati sekundarne strukture.

Prikazan je koncept izgradnje biološki aktivnih molekula koje mogu oponašaju peptide/proteine te se odlikuju povećanom stabilnošću i unaprijeđenom biološkom aktivnošću.

U budućnosti se može očekivati da će se područje peptidomimetike razvijati u smjeru dizajna peptidomimetika veće molekulske mase, iako će predmet interesa i dalje ostati manje molekule.

Pored toga potreba za globalnim konformacijskim promjenama ostaje glavni pokretač u potrazi za strukturnim elementima koji mogu potaknuti stvaranje određene sekundarne i tercijarne strukture.

§ 4. LITERATURNI IZVORI

- ¹ . E. Lenci, A. Trabocchi, *Chem. Soc. Rev.* **49** (2020) 3262-3277.
- ² . A. Ambrogelly, S. Palioura, Dieter Söll, *Nature Chemical Biology* **3** (2007) 29–35
- ³ . R. R. Naik, *Chem. Rev.* **117** (2017) 12581-13038.
- ⁴ . I. Jerić, *Kem. Ind.* **53** (2004) 495–504.
- ⁵ . Z. A. Wang, X. Z. Ding, C.-L. Tiana, J.-S. Zheng, *RSC Adv.* **6** (2016) 61599–61609.
- ⁶ . 6. M. Pelay-Gimeno, A. Glas, O. Koch, T. N. Grossmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **54** (2015) 8896 – 8927.
- ⁷ . S. Bezer, M. Matsumoto, M. W. Lodewyk, S. J. Lee, D. J. Tantillo, M. R. Gagné, M. L. Waters, *Org. Biomol. Chem.* **00** (2014) 1–7.
- ⁸ . S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **31** (1998) 173–180.
- ⁹ . B. J. Smith, E. F. Lee, J. W. Checco, M. Evangelista, S. H. Gellman and W. D. Fairlie, *ChemBioChem* **14** (2013) 1564–1572.
- ¹⁰ . R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **89** (1992) 9367–9371.
- ¹¹ . R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent and W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 10646–10647.
- ¹² . S. M. Miller, R. J. Simon, S. Ng, R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, W. H. Moos, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22** (1994) 2657-2662.
- ¹³ . P. M. Levine, T. W. Craven, R. Bonneau, K. Kirshenbaum, *Org. Biomol. Chem.* **11** (2013) 4142-4146.
- ¹⁴ . I. Greco, A. P. Emborg, B. Jana, N. Molchanova, A. Oddo, P. Damborg, L. Guardabassi, P. R. Hansen, *Sci. Rep.* **9** (2019) 3679.
- ¹⁵ . D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* (1997) 2015-2022.

-
- ¹⁶ . L. Moroder, J. Lutz, *Studies in Natural Products Chemistry* **18** (1996) 819-873.
- ¹⁷ . G. N. Tew, D. Liu, B. Chen, R. J. Doerksen, J. Kaplan, P. J. Carroll, M. L. Klein, W. F. DeGrado, *PNAS* **8** (2002) 5110-5114.
- ¹⁸ . J. M. Henderson, K.-Y.C. Lee, *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **17** (2013) 175–192.
- ¹⁹ . H. Yin, G.-in Lee, K. A. Sedey, O. Kutzki, H. S. Park, B. P. Orner, J. T. Ernst, H.-G. Wang, S. M. Sebti, and A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 10191-10196.
- ²⁰ . O. Kutzki, H. S. Park, J. T. Ernst, B. P. Orner, H. Yin, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 11838-11839.
- ²¹ . M.B. Dewal, S.M. Firestine, *Current Medicinal Chemistry* **18** (2011) 2420-2428.
- ²² . A. Guarna, A. Trabocchi, *Peptidomimetics in Organic and Medicinal Chemistry: The Art of Transforming Peptides in Drugs*, John Wiley & Sons, United Kingdom, 2014.
- ²³ . D. Blomberg, P. Kreye, C. Fowler, K. Brickmann, J. Kihlberg, *Org. Biomol. Chem.* **4** (2006) 416–423.
- ²⁴ . P. Kreye, J. Kihlberg, *Tetrahedron Letters* **40** (1999) 6113-6116.
- ²⁵ . R. F. Hirschmann, K. C. Nicolaou, A. R. Angeles, J. S. Chen, A. B. Smith, *Accounts of Chemical Research* **42** (2009) 1511-1520.
- ²⁶ . R.F. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, A. B. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 9218-9220.
- ²⁷ . V. Rapić i M. Kovačević, *Kem. Ind.* **61** (2012) 71–120.
- ²⁸ . J. S. Nowick, *Account of Chemical Research* **41** (2008) 1319-1330.