

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-117

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ ИНГИБИТОРЫ  $\alpha$ -АМИЛАЗ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ИЗ МОРСКОЙ АНЕМОНЫ *HETERACTIS MAGNIFICA* В КАЧЕСТВЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПЕРОРАЛЬНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ \***

**RECOMBINANT INHIBITORS OF MAMMALIAN  $\alpha$ -AMYLASES FROM THE SEA ANEMONE *HETERACTIS MAGNIFICA* AS EFFECTIVE ORAL AGENTS FOR CONTROLLING HYPERGLYCEMIA IN DIABETES MELLITUS**

Д. В. Попкова<sup>1</sup>, О. В. Синцова<sup>1</sup>, А. А. Климович<sup>1</sup>, Н. А. Бороздина<sup>2</sup>, И. А. Дьяченко<sup>2</sup>,  
Д. И. Осмаков<sup>2</sup>, С. А. Козлов<sup>2</sup>, И. Н. Гладких<sup>1</sup>, Е. В. Лейченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

D. V. Popkova<sup>1</sup>, O. V. Sintsova<sup>1</sup>, A. A. Klimovich<sup>1</sup>, N. A. Borozdina<sup>2</sup>, I. A. Dyachenko<sup>2</sup>,  
D. I. Osmakov<sup>2</sup>, S. A. Kozlov<sup>2</sup>, I. N. Gladkikh<sup>1</sup>, E. V. Leychenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS, Vladivostok

<sup>2</sup>Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

✉ daria.vladipo@yandex.ru

**Аннотация**

Разработана биотехнология получения мощных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз млекопитающих, магнификамидов. Доказана стабильность их структуры, селективность действия в отношении  $\alpha$ -амилаз, безопасность для нервной системы и внутренних органов животных, а также эффективность в *in vivo* моделях сахарного диабета 1-го и 2-го типа.

**Abstract**

Biotechnology has been developed to produce potent mammalian  $\alpha$ -amylase inhibitors, magnificamides. Their stability, selectivity for  $\alpha$ -amylases, safety for animal nervous system and internal organs, as well as their effectiveness in animal models of type 1 and 2 diabetes have been demonstrated.

Быстрое экономическое развитие, значительное изменение образа жизни людей и увеличение продолжительности жизни населения в XXI в. привели к резкому росту распространенности сахарного диабета, к 2022 г. затронувшего около 828 млн человек [1]. В настоящее время сахарный диабет занимает лидирующие позиции в рейтингах самых опасных заболеваний человека и часто является причиной инвалидизации и смерти. Таким образом, поиск эффективных и селективных соединений, оказывающих влияние на вовлеченные в метаболизм углеводов мишени и тем самым препятствующих развитию гипергликемических и инсулинорезистентных состояний, является актуальной биомедицинской задачей современности.

Выделенные из морской анемоны *Heteractis magnifica*  $\beta$ -дефензин-подобные ингибиторы  $\alpha$ -амилаз млекопитающих, магнификамид и магнификамид-2, в наномолярных концентрациях ингибируют панкреатические  $\alpha$ -амилазы свиньи и человека, что выгодно отличает их от используемых в терапевтической практике акарбозы, миглистола и воглибозы, эффективность которых на 3–5 порядков ниже [2].

Для магнификамида и магнификамида-2 нами была разработана технология их получения в лабораторных условиях. Процедура включает экспрессию слитого белка, магнификамид-тиоредоксин, в клетках *Escherichia coli* штамма SHuffle®, хроматографическое выделение гибридного белка из лизата на носителе Ni<sup>2+</sup>-NTA-агароза, рефолдинг белка с добавлением окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона, гидролиз энтерокиназой и очистку целевого пептида методом ОФ ВЭЖХ. Чистота и корректность пространственной укладки полученных рекомбинантных магнификамидов была подтверждена нами методами МАЛДИ-масс-спектрометрии и 1H-ЯМР-спектроскопии [3].

В *in vitro* экспериментах с нативными и рекомбинантными магнификамидами была продемонстрирована их устойчивость к действию низких значений pH, протеолитической деградации и длительному температурному

\* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-20147-П).

© Д. В. Попкова, О. В. Синцова, А. А. Климович, Н. А. Бороздина, И. А. Дьяченко, Д. И. Осмаков, С. А. Козлов, И. Н. Гладких, Е. В. Лейченко, 2025

воздействию, что в совокупности с отсутствием иммуногенности и высокой биологической активностью делает данные пептиды перспективными кандидатами для создания на их основе пероральных лекарственных средств. Показано, что магнификамиды не проявляют активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов [4], характерной для представителей семейства  $\beta$ -дефензинов. В результате электрофизиологического тестирования установлено отсутствие влияния ингибиторов на функционирование кислото-чувствительных (ASIC), потенциал-зависимых калиевых и натриевых каналов, на которые оказывают действие токсины других морских анемонов, структурно схожие с магнификамидами.

Выявлено, что в *in vivo* моделях сахарного диабета 1-го и 2-го типа магнификамиды в дозах 0,005 и 0,01 мг/кг способствуют эффективному предотвращению развития постпрандиальной гипергликемии у мышей в тесте на толерантность к крахмалу, а также снижению устойчивости к инсулину в инсулинорезистентном тесте у животных с сахарным диабетом 2-го типа. Оценена безопасность применения (острая токсичность) и подтверждено отсутствие влияния магнификамидов на поведение и ориентировочно-исследовательскую деятельность, а также состояние и функционирование внутренних органов животных при внутривенном и внутрижелудочном введении здоровым мышам в дозах до 2 мг/кг.

Таким образом,  $\beta$ -дефензин-подобные ингибиторы  $\alpha$ -амилаз, магнификамиды, наряду со стабильностью и эффективностью демонстрируют высокую селективность, обуславливающую отсутствие побочных эффектов со стороны всех систем органов, что выгодно отличает их от применяемых в настоящее время препаратов для контроля гипергликемии и подчеркивает высокий фармакологический потенциал данных пептидов.

### Литература

1. Zhou B., Rayner A.W., Gregg E.W. et al. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants // *The Lancet*. 2024. Vol. 404. P. 2077–2093.
2. Sintsova O.V., Gladkikh I.N., Chaurova V.E. et al. Peptide fingerprinting of the sea anemone *Heteractis magnifica* mucus revealed neurotoxins, Kunitz-type proteinase inhibitors and a new  $\beta$ -defensin  $\alpha$ -amylase inhibitor // *Journal of Proteomics*. 2018. Vol. 173. P. 12–21.
3. Sintsova O.V., Popkova D.V., Kalinovskii A.P. et al. Control of postprandial hyperglycemia by oral administration of the sea anemone mucus-derived  $\alpha$ -amylase inhibitor (magnificamide) // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023. Vol. 168. P. 115743.
4. Sintsova O.V., Gladkikh I.N., Kalinovskii A.P. et al. Magnificamide, a  $\beta$ -defensin-like peptide from the mucus of the sea anemone *Heteractis magnifica*, is a strong inhibitor of mammalian  $\alpha$ -amylases // *Marine Drugs*. 2019. Vol. 17. P. 542–556.