

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

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

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

Д. В. Попкова¹, О. В. Синцова¹, А. А. Климович¹, Н. А. Бороздина², И. А. Дьяченко²,
Д. И. Осмаков², С. А. Козлов², И. Н. Гладких¹, Е. В. Лейченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

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

D. V. Popkova¹, O. V. Sintsova¹, A. A. Klimovich¹, N. A. Borozdina², I. A. Dyachenko²,
D. I. Osmakov², S. A. Kozlov², I. N. Gladkikh¹, E. V. Leychenko¹

¹G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS, Vladivostok

²Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

✉ daria.vladipo@yandex.ru

Аннотация

Разработана биотехнология получения мощных ингибиторов α -амилаз млекопитающих, магнификамидов. Доказана стабильность их структуры, селективность действия в отношении α -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 α -amylase inhibitors, magnificamides. Their stability, selectivity for α -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* β -дефензин-подобные ингибиторы α -амилаз млекопитающих, магнификамид и магнификамид-2, в наномолярных концентрациях ингибируют панкреатические α -амилазы свиньи и человека, что выгодно отличает их от используемых в терапевтической практике акарбозы, миглитола 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 Ni²⁺-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 1Н-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 β -дефензинов. В результате электрофизиологического тестирования установлено отсутствие влияния ингибиторов на функционирование кислоточувствительных (ASIC), потенциал-зависимых калиевых и натриевых каналов, на которые оказывают действие токсины других морских анемон, 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 teste на толерантность к крахмалу, а также снижению устойчивости к инсулину в инсулиноврезистентном teste 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, β -дефензин-подобные ингибиторы α -амилаз, магнификамиды, наряду со стабильностью и эффективностью демонстрируют высокую селективность, обусловливающую 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., Chausova V. E. et al. Peptide fingerprinting of the sea anemone *Heteractis magnifica* mucus revealed neurotoxins, Kunitz-type proteinase inhibitors and a new β -defensin α -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 α -amylase inhibitor (magnificamide) // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2023. Vol. 168. P. 115743.
4. Sintsova O. V., Gladkikh I. N., Kalinovskii A. P. et al. Magnificamide, a β -defensin-like peptide from the mucus of the sea anemone *Heteractis magnifica*, is a strong inhibitor of mammalian α -amylases // Marine Drugs. 2019. Vol. 17. P. 542–556.