

Πεπτίδια και θεραπευτική: μια νέα γενιά φαρμάκων

Πάυλος Κορδοπάτης

*Πρόεδρος του Τμήματος Φαρμακευτικής,
Πανεπιστήμιο Πατρών*

Η ΔΙΑΔΡΟΜΗ

Το ευρύτερο φάσμα εφαρμογών των πεπτιδίων/πρωτεϊνών το οποίο παρατηρείται σήμερα οφείλεται κατά μεγάλο μέρος στα επιτεύγματα της Χημείας στον τομέα της συνθετικής παρασκευής πεπτιδίων, ο οποίος αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα της βιοϊατρικής και φαρμακοχημικής έρευνας. Το όραμα, η ιδέα της συνθετικής παρασκευής πρωτεϊνών γεννήθηκε στις αρχές του 20ου αιώνα, όταν άρχισε να διαφαίνεται η τεράστια σημασία των ενώσεων αυτών στη δομή και τη λειτουργία των ζωντανών οργανισμών.

Η ερευνητική προσπάθεια αρχίζει ουσιαστικά το 1902 με τις πρωτοποριακές εργασίες των Fischer και Curtius, οι οποίοι θεμελίωσαν τον κλάδο της πεπτιδικής χημείας και παρέδωσαν στους διαδόχους τους πολύτιμες πληροφορίες για τη σύνταξη και τη στερεοχημική διάταξη των περισσοτέρων φυσικών α-αμινοξέων και τη δομή των πρωτεϊνών. Επιπλέον, με την εφαρμογή των μεθόδων των χλωριδίων και των αζιδίων, συνέθεσαν πεπτίδια τα οποία περιείχαν μέχρι και 19 απλά αμινοξέα. Στον Emil Fischer οφείλεται η συστηματική “επίθεση” σε ένα πεδίο φυσικών προϊόντων το οποίο ουδέποτε μέχρι τότε είχε προσελκύσει το ενδιαφέρον της Χημείας. Τα 100 χρόνια από την ιστορική αυτή επιστημονική συμβολή εορτάζονται φέτος σε ειδική εκδήλωση που πραγματοποιείται στο πλαίσιο του Ευρωπαϊκού Πεπτιδικού Συμποσίου (Σορέντο, Ιταλία, Σεπτέμβριος 2002).

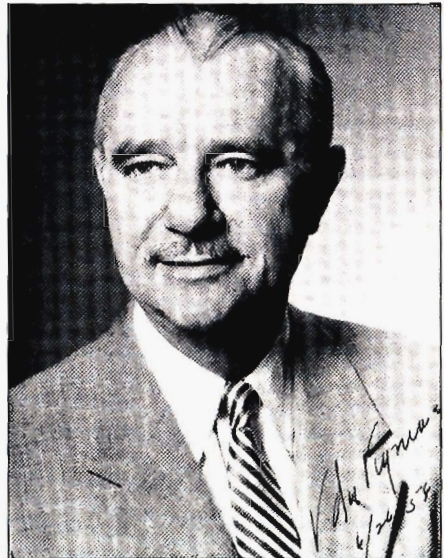
Σταθμό για την πεπτιδική χημεία αποτελεί η εισαγωγή, από τους Bergmann και Ζέρβα (1932), της καρβοβενζοξυομάδος η οποία άνοιξε

το δρόμο στη χρησιμοποίηση αμινοξέων με δραστικές πλευρικές ομάδες και συνετέλεσε στη διερεύνηση της “ειδικεύσεως” των πρωτεολυτικών ενζύμων, ενώ βρίσκει ακόμη και σήμερα μεγάλη εφαρμογή ως προστατευτική ομάδα της α-αμινομάδος των αμινοξέων. Στον Καθηγητή και Ακαδημαϊκό Λεωνίδα Ζέρβα (Φωτ. 1)* οφείλεται η δημιουργία της “Ελληνικής Σχολής Πεπτιδίων” και, κατά κύριο λόγο, η ερευνητική παράδοση η οποία χαρακτηρίζει έκτοτε στη χώρα μας τον τομέα των βιοδραστικών αυτών ενώσεων.

Η περίοδος μεταξύ των ετών 1944 και 1954 χαρακτηρίζεται από την ανακάλυψη αναλυτικών μεθόδων και τη διαμόρφωση νέων εργαστηριακών τεχνικών απομόνωσης και καθαρισμού πολύπλοκων ενώσεων. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα τον προσδιορισμό της δομής και την επιβεβαίωση της πεπτιδικής φύσεως της πρωτοταγούς συντάξεως των πρωτεϊνών. Πράγματι, η εισαγωγή των μεθόδων χρωματογραφίας επί χάρτου και λεπτής στοιβάδος, της παρασκευαστικής χρωματογραφίας στήλης, της ηλεκτροφορήσεως, ο προσδιορισμός της δομής της ωκυτο-



Φωτ. 1 Λεωνίδας Ζέρβας, 1974.



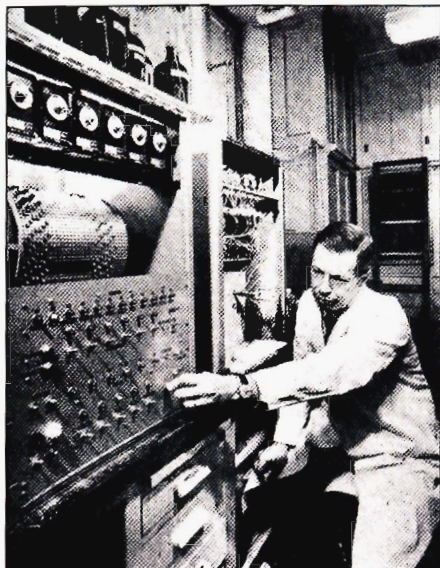
Φωτ. 2 Vincent du Vigneaud, 1956.

* Ο Λ. Ζ. διετέλεσε επι σειρά ετών Πρόεδρος του ΕΙΕ.

κίνης από τον V. du Vigneaud και της ινσουλίνης από τον Sanger, ανανέωσαν το ενδιαφέρον για την πεπτιδική σύνθεση.

Μέγα επίτευγμα της περιόδου αυτής θεωρείται η συνθετική παρασκευή της ωκυτοκίνης από τον V. du Vigneaud (Φωτ. 2) και τους συνεργάτες του (1953), η οποία αποτελεί την πρώτη βιοδραστική ένωση που συντέθηκε με κλασικές μεθόδους της πεπτιδικής χημείας. Το επίτευγμα αυτό είχε ως συνέπεια την απονομή του βραβείου Νόμπελ στον V. du Vigneaud το έτος 1955. Ακολούθως, η σύνθεση της βασοπρεσίνης και μεγάλου αριθμού ανάλογων ενώσεων των ορμονών του οπίσθιου λοβού της υπόφυσης έδωσε σημαντικές πληροφορίες και διευκόλυνε τη διερεύνηση και την κατανόηση των σχέσεων μεταξύ χημικής δομής και βιολογικής δραστηριότητας. Η ωκυτοκίνη εμφανίζει ωκυτόκιο δράση και χρησιμοποιείται για τη διευκόλυνση του τοκετού, ενώ η βασοπρεσίνη ρυθμίζει την πίεση του αίματος και εμφανίζει αντιδιουρητική δράση. Αμφότερες οι ορμόνες αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες του κεντρικού νευρικού συστήματος. Οι παραπάνω πληροφορίες και η φασματοσκοπία NMR επέτρεψαν στον R. Walter να προτείνει αργότερα (1977) την ενεργή διαμόρφωση των μορίων της ωκυτοκίνης και βασοπρεσίνης, κατά την προσέγγισή τους στο βιολογικό υποδοχέα. Το ερευνητικό αυτό έργο αποτέλεσε το αντικείμενο σειράς δημοσιεύσεων, σε ορισμένες από τις οποίες είχαν την τιμή να συμμετάσχω.

Την επιτυχία του V. du Vigneaud ακολούθησε η προσπάθεια των ερευνητών για τη σύνθεση βιοδραστικών πεπτιδίων και αναλόγων αυτών, με απώτερο στόχο την κατανόηση του ρόλου των αμινοξέων της πεπτιδικής αλυσίδας και τον προσδιορισμό των σχέσεων δομής-δράσεως (Structure-Activity Relationships, SAR). Είχαν προηγηθεί βεβαίως η απομόνωση της ένωσης από φυσικές πηγές, ο προσδιορισμός της πρωτοταγούς δομής, η μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας και η συνθετική παρασκευή σε επαρκείς ποσότητες. Τα πεπτίδια τα οποία προσέλκυσαν αρχικά το ενδιαφέρον ήταν μικρού μοριακού βάρους (9-11 αμινοξέα) και ανήκαν στην κατηγορία των κινινών. Οι τελευταίες είναι ορμόνες των ιστών πεπτιδικής φύσεως και προέρχονται από ανενεργές



Φωτ. 3 Ο V. Merrifield με τον πρωτότυπο συνθέτη πεπτιδίων το 1969 (αναπαραγωγή από τη βιβλιογραφική αναφορά 1).

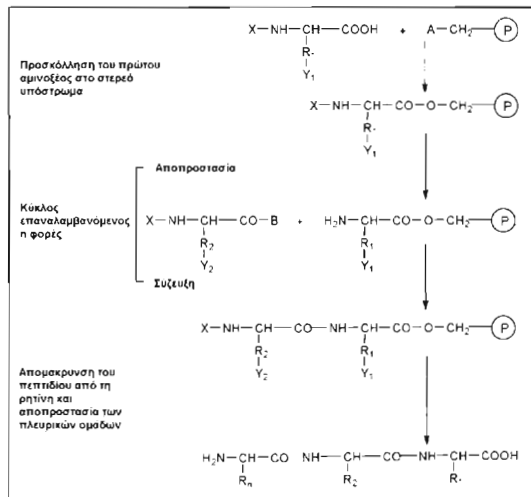
ουσίες του πλάσματος. Στις κινίνες ανήκουν η αγγειοτενσίνη II, η βραδυκινίνη, η καλλιδίνη, οι ορμόνες του γαστρεντερικού συστήματος (γαστρίνη, σεκρετίνη) και οι ταχυκινίνες (ουσία P, ελεδοΐσίνη, φυσαλεμίνη, κα). Τα πεπτίδια αυτά διακρίνονται κυρίως για τις υπερτασικές ή υποτασικές τους ιδιότητες και αποτελούν αντικείμενο μελέτης σε ευρεία κλίμακα.

Το έτος 1963 συνετέθη η αποτελούμενη από 39 αμινοξέα κορτικοτροπίνη χοίρου (Schwyzer και Sieber), η δομή της οποίας ήταν ήδη γνωστή από το 1961, ενώ το 1967 ο Bodanszky και οι συνεργά-

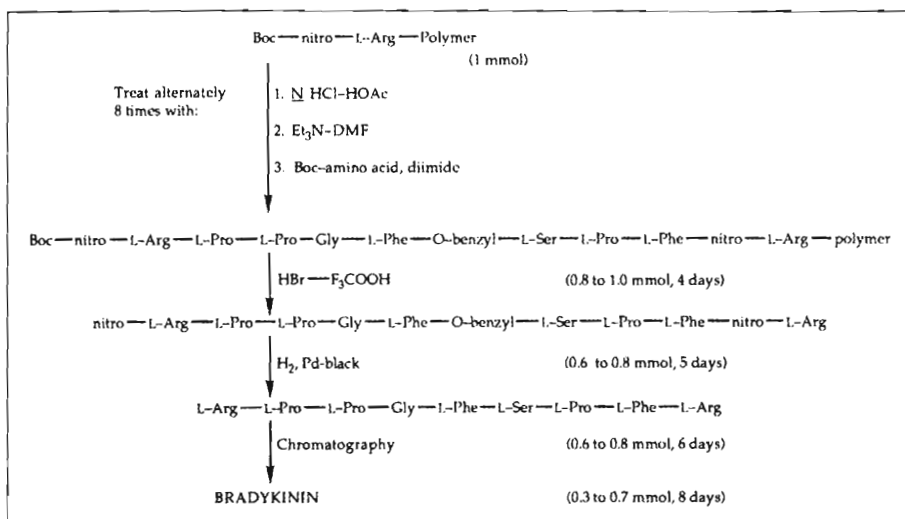
τες του δημοσίευσαν τη σύνθεση του 27-πεπτιδίου σεκρετίνη. Επίτευγμα της περιόδου αυτής αποτέλεσε επίσης η συνθετική παρασκευή της ινσουλίνης από τους Κατσόγιαννη (1964), Zahn (1965) και Kung (1965), οι οποίοι εργάζονταν ανεξάρτητα στις Ηνωμένες Πολιτείες, τη Γερμανία και την Κίνα. Οι δύσκολες αυτές συνθέσεις, μνημειώδεις για την εποχή τους, ώθησαν την τότε τεχνολογία στα ακρότατα όριά της και εισήγαγαν την πεπτιδική σύνθεση στο χώρο των θεραπευτικών εφαρμογών. Επιπλέον, όλες οι προηγούμενες συνθετικές παρασκευές πραγματοποιήθηκαν με εφαρμογή της κλασικής μεθοδολογίας σύνθεσης σε διάλυμα, η οποία απαιτεί καθαρισμό και χαρακτηρισμό των πεπτιδίων-προϊόντων των ενδιάμεσων σταδίων. Η μεθοδολογία αυτή, μολονότι είναι χρονοβόρα, πολύπλοκη και απαιτεί ειδική συνθετική εμπειρία, χρησιμοποιείται και σήμερα στη φαρμακευτική βιομηχανία για την παραγωγή σε μεγάλες ποσότητες (της τάξης των δεκάδων Kg) ορισμένων βιοδραστικών πεπτιδίων.

Το 1963 η πεπτιδική σύνθεση έλαβε νέα τροπή και ώθηση. Η εισαγωγή της μεθόδου πεπτιδικής σύνθεσης επί στερεάς φάσης (solid phase peptide synthesis) από τον Merrifield (Φωτ. 3) τροποποίησε ριζικά την ισχύουσα τάξη πραγμάτων. Η μεθοδολογία αυτή στηρίζεται στην εμπειρία που αποκτήθηκε κατά την εφαρμογή της κλασικής "υγρής" μεθοδολογίας και των επιτευγμάτων μιας ολόκληρης 60ετίας. Σύμφωνα με τη νέα τεχνική, το καρβοξυ-τελικό αμινοξύ του υπό σύνθεση πεπτιδίου συνδέεται ομοιοπολικά με ένα αδιάλυτο στερεό υποστρώμα-ρητίνη (πολυμερές) και η ανοικοδόμηση της πεπτιδικής αλυσίδας πραγματοποιείται μέσω διαδοχικών κύκλων (αποπροστασία-εξουδετέρωση-σύζευξη) προσθήκης των αμινοξέων κατά την επιθυμητή αλληλουχία. Τα ενδιάμεσα στάδια καθαρισμού, απαραίτητα κατά τη σύνθεση σε διάλυμα, ανάγονται στην περίπτωση αυτή σε απλές εκπλύσεις, εφόσον τα παραπροϊόντα των αντιδράσεων και η περίσσεια των αντιδραστηρίων, στην οποία οφείλεται και η μεγιστοποίηση της απόδοσης κάθε σταδίου, είναι ευδιάλυτα στο μίγμα της αντίδρασης και απομακρύνονται με

διήθηση μέσω του πορώδους φίλτρου της απλής και συνήθως μοναδικής φιάλης αντίδρασης. Όταν η επιθυμητή αλληλουχία έχει επιτευχθεί, το πεπτίδιο απομακρύνεται από το πολυμερές και ταυτόχρονα ελευθερώνεται από τις τυχόν υπάρχουσες προστατευτικές ομάδες των αμινοξέων, σε συνθήκες που εξασφαλίζουν την ποιότητά του. Επακολουθεί προσεκτικός καθαρισμός και χαρακτηρισμός του τελικού προϊόντος (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Βασικό σχήμα της μεθόδου Merrifield. (X=προστατευτική ομάδα της α-αμινομάδας, A=δραστική ομάδα στερεού υποστρώματος, Y1, Y2=προστατευτικές ομάδες δραστικών πλευρικών ομάδων αμινοξέων, B=ομάδες ενεργοποίησης του καρβοξυλίου του αντιδρώντος αμινοξέος).



Σχήμα 2. Η σύνθεση της βραδυκινίνης (αναπαράγωγή από τη βιβλιογραφική αναφορά 1).

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου πρέπει να αναζητηθούν στην ταχύτητά της, στη σχετική ευκολία εφαρμογής και στο γεγονός ότι είναι εφικτή η μερική ή πλήρης αυτοματοποίησή της. Η ως άνω τεχνική, για την εισαγωγή της οποίας ο Merrifield τιμήθηκε το 1984 με το βραβείο Νόμπελ, είναι υπεύθυνη, περισσότερο απ' οτιδήποτε άλλο, για την ευρεία χρήση των συνθετικών πεπτιδίων ως "αντιδραστηρίων" σε χημικές και βιοχημικές ανακαλύψεις. Με τη μέθοδο αυτή συνετέθη αμέσως και εντός 8 ημερών, η βραδυκινίνη (Σχήμα 2), το ένζυμο ριβονουκλεάση Α και η ινσουλίνη. Οι πρώτες αυτές επιτυχίες αποτέλεσαν το προοίμιο της ευρείας εφαρμογής της μεθόδου, στην οποία σήμερα οφείλεται το μεγαλύτερο μέρος των γνώσεων αναφορικά με τον τρόπο δράσης των βιοδραστικών πεπτιδίων.

Το 1969 η κλασική μεθοδολογία "αντιμετώπισε" με επιτυχία τη μέθοδο Merrifield. Η σύνθεση δύο παραγώγων της ριβονουκλεάσης S, του πεπτιδίου S και της πρωτεΐνης S, από τον Hofmann και από μία ομάδα των εργαστηρίων Merck με επικεφαλής τον Hirschmann αντίστοιχα, θεωρείται ακόμη ως ένα από τα επιτεύγματα της πεπτιδικής σύνθεσης.

Κατά τη δεκαετία του '70 διαπιστώθηκε ότι διάφορες ενώσεις πεπτιδικής φύσης εκκρίνονται από μια νευρική απώληξη και εμφανίζουν ορμονική δράση ή μεταφέρουν βιολογικό μήνυμα σε άλλο νευρικό κύτταρο μέσω των συνάψεων. Οι ενώσεις αυτές είναι τα νευροπεπτίδια τα οποία εκτός από την ενδοκρινή ορμονική δράση τους λειτουργούν και ως νευροδιαβιβαστές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα νευροπεπτίδια τα οποία παράγονται στον υποθάλαμο και στη συνέχεια ελέγχουν την έκκριση των ορμονών της υπόφυσης. Η σωματοστατίνη π.χ. παρεμποδίζει την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση, ρυθμίζει την έκκριση του γλυκαγόνου και της ινσουλίνης στο πάγκρεας και δρα ως νευροδιαβιβαστής μεταξύ εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού. Σταθμό για τη σύγχρονη χημεία και νευροβιολογία αποτέλεσε επίσης η ανακάλυψη των ενδορφινών και εγκεφαλινών (1975), δηλαδή των ενδογενών νευροπεπτιδίων που εμφανίζουν βιολογική δράση ανάλογη των αλκαλοειδών του οπίου. Παρόλο που η έρευνα σχετικά με τη συμπεριφορά και τη φυσιολογική σημασία των ενώσεων αυτών βρίσκεται σε εξέλιξη, διανοίγονται ήδη προοπτικές επίλυσης προβλημάτων σχετικών με ψυχιατρικές παθήσεις και τη φυσιολογική ρύθμιση του πόνου. Στα επιτεύγματα του τελευταίου τετάρτου του 20ού αιώνα συμπεριλαμβάνονται βεβαίως η συνθετική παρασκευή της πρωτεάσης του HIV από τον Nutt και κυρίως η εισαγωγή και ανάπτυξη της συνδυαστικής χημείας (Combinatorial Chemistry) από τους Furka, Houghten και Janda. Η τελευταία, πέραν των εφαρμογών της στην ανακάλυψη νέων ενώσεων φαρμακευτικής σημασίας, ως πολλαπλή συνθετική μεθοδολογία αποτελεί την κύρια οδό δημιουργίας πεπτιδικών βιβλιοθηκών, γεγονός ιδιαίτερης σημασίας για τον προσδιορισμό αντιγονικών και ανοσογονικών επιτόπων.

ΟΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Μετά τη σύντομη αναδρομή στα επιτεύγματα της πεπτιδικής χημείας κατά τη διάρκεια του 20ού αιώνα, γίνεται πλέον φανερό ότι η εκπληκτι-

κή πρόοδος του πεδίου της συνθετικής παρασκευής πεπτιδίων, σε συνδυασμό με την εν τω μεταξύ αποκτημένη γνώση αναφορικά με τη δομή και τη διαμόρφωση των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών, παρείχε μοναδική ευκαιρία σχεδιασμού και εφαρμογής συνθετικών πεπτιδίων στην επίλυση πολυάριθμων προβλημάτων της Βιολογίας και της Ιατρικής. Τα πλεονεκτήματα των πεπτιδίων ως δραστικών συστατικών φαρμάκων συνιστούσαν ταυτοχρόνως και τα μειονεκτήματά τους. Ας τα παραθέσουμε συνοπτικά: υψηλή δραστηριότητα (μικρές δόσεις-μικρή παραγωγή), ταχεία δράση, υψηλή εξειδίκευση (μικρή τοξικότητα), ελαχιστοποίηση παράπλευρων αντιδράσεων, μη συσσώρευση στο σώμα (σύντομος χρόνος ημί-ζωής), μικρή βιοδιαθεσιμότητα, υψηλό κόστος παρασκευής/παραγωγής. Κατά τη δεκαετία '70 – '80 μειονέκτημα των πεπτιδίων έδειχνε πως ήταν κυρίως η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητά τους. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την αδυναμία ορισμένων φαρμακευτικών βιομηχανιών να επιτύχουν θετικά αποτελέσματα και κατά την τελευταία κλινική φάση ελέγχου ορισμένων πεπτιδικών προϊόντων τους παρά τις υψηλές επενδύσεις, οδήγησε στην εμφάνιση και ανάπτυξη του πεδίου των πεπτιδομιμητών. Οι τελευταίοι οφείλουν ως ενώσεις να πληρούν δύο βασικές αρχές: μοριακό βάρος μικρότερο του 600 και απουσία δευτεροταγούς αμιδικής ομάδας. Οι πεπτιδομιμητές “αδρανοποίησαν” το πεδίο των πεπτιδίων για αρκετό χρονικό διάστημα και μόνο η ανακάλυψη νέων βιοδραστικών πεπτιδίων από τις εταιρείες Βιοτεχνολογίας σε συνδυασμό και με τη βελτιστοποίηση της πεπτιδικής σύνθεσης επί στερεάς φάσης για την παραλαβή πολυπεπτιδίων 30-100 αμινοξέων δημιούργησαν τις συνθήκες “αναγέννησης” των πεπτιδίων. Εξάλλου, η ταυτόχρονη συμβολή αφενός των μεθόδων της μοριακής βιολογίας και της κλωνοποίησης και αφετέρου της ασύμμετρης σύνθεσης και της κατάλυσης κατέστησαν δυνατή την ερευνητική προσέγγιση επιστημονικών πεδίων, όπως ο σχεδιασμός φαρμάκων, η χημειοθεραπεία, η μοριακή ανοσολογία κ.ά. Ειδικότερα, τα συνθετικά πεπτίδια βρίσκουν σήμερα εφαρμογή στη ρύθμιση της αναπαραγωγής και της ανάπτυξης, στον έλεγχο του πόνου, στην αντιμετώπιση του καρκίνου και των αυτοάνοσων νοσημάτων στη θεραπευτική αντιμετώπιση καρ-

διαγγειακών παθήσεων, ασθενειών του συνδετικού ιστού, ανωμαλιών του πεπτικού συστήματος και μολύνσεων από παθογόνα. Πέραν αυτών, οι αντιγονικές και ανοσογονικές χρήσεις των πεπτιδίων, η δράση τους ως νευροδιαβιβαστές και αναστολείς ενζύμων, η συμβολή τους στην παρασκευή ειδικών εμβολίων και στον προσδιορισμό υποδοχέων μέσω της μελέτης των σχέσεων δομής-δραστικότητας δείχνουν ότι η φύση έχει “ανακαλύψει” τη δυνατότητα ελέγχου όλων σχεδόν των βιολογικών διεργασιών μέσω μοριακής αναγνώρισης διαφόρων τύπων. Τα πεπτίδια αποτελούν τα καταλληλότερα, ίσως τα μοναδικά, μέσα μοριακής αναγνώρισης που διαθέτει η φύση. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται συνοπτικά οι θεραπευτικές κατηγορίες για τις οποίες τουλάχιστον ένα προϊόν πεπτιδικής φύσης βρίσκεται σε φάση II κλινικών δοκιμών.

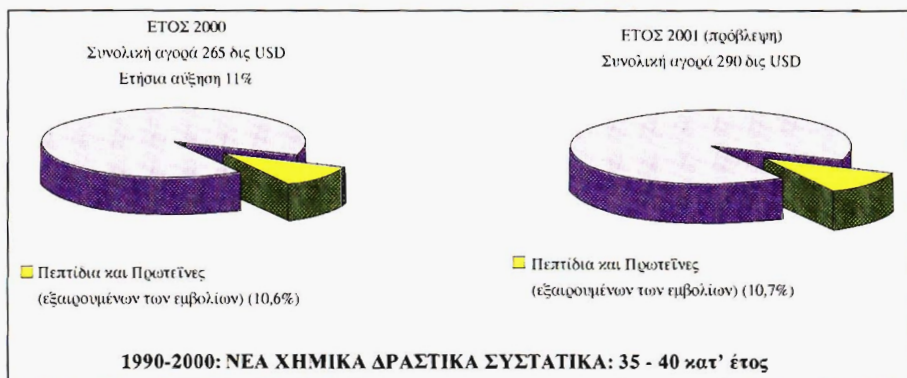
Πίνακας 1: Θεραπευτικές κατηγορίες για τις οποίες τουλάχιστον ένα προϊόν πεπτιδικής φύσης βρίσκεται σε Φάση II.

Αιμόσταση	Ιώσεις
Αλλεργία και Άσθμα	Καρδιαγγειακές Παθήσεις
Αναλγησία	Καρκίνος
Ανικανότητα	Μεταβολισμός Ασβεστίου
Απεικόνιση Όγκων	Οφθαλμολογικές Παθήσεις
Αρθρίτιδα	Παθήσεις Γαστρεντερικού Συστήματος
Αύξηση (Ανάπτυξη)	Παθήσεις Κ.Ν.Σ
Γυναικολογικές Παθήσεις	Παχυσαρκία
Διαβήτης	Πόνος
Εμβόλια	Φλεγμονές
Επιληψία	

Η ΑΓΟΡΑ

Κατά το έτος 2000 η παγκόσμια επίσημη αγορά φαρμάκων (σκευασμάτων) ανήλθε στο ύψος των 265 δις δολαρίων, εμφανίζοντας ρυθμό ετη-

σίας αύξησης περίπου 11%. Το γεγονός αυτό προέβλεπε πωλήσεις ύψους 290 δις δολαρίων για το έτος 2001 (Γράφημα 1).

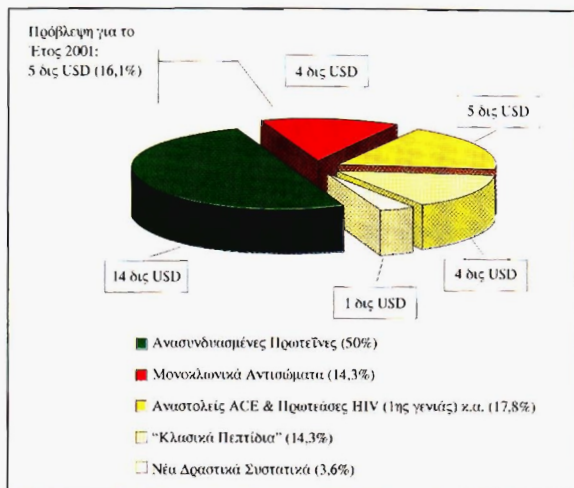


Γράφημα 1. Παγκόσμια Επίσημη Αγορά Φαρμάκων.

Τα πεπτίδια και οι πρωτεΐνες (εξαιρουμένων των εμβολίων) κατέχουν μερίδιο 28 δις δολαρίων (10,6%, έτος 2000) ή 31 δις δολαρίων (10,7% πρόβλεψη για το 2001). Σημαντικό είναι ότι κατά την τελευταία δεκαετία, μολονότι ο αριθμός όλων των νέων βιοδραστικών ενώσεων φαρμακευτικής σημασίας και εφαρμογής παραμένει στο επίπεδο των 30-40 ανά έτος, ο αριθμός των πεπτιδίων/πρωτεϊνών αυξάνεται σταθερά. Στο Γράφημα 2 αναλύεται η αγορά φαρμάκων με δραστικό συστατικό πεπτίδιο/πρωτεΐνη για το έτος 2000. Από τις συνολικές πωλήσεις ύψους 28 δις δολαρίων οι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες κατέχουν μερίδιο 50%, τα μονοκλωνικά αντισώματα 14,3% (πρόβλεψη 16,1% για το έτος 2001) και τα συνθετικά πεπτίδια ~35% (συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων ACE και των πρωτεασών HIV 1ης γενιάς). Το ποσοστό των τελευταίων αναμένεται να διπλασιαστεί κατά τα επόμενα πέντε χρόνια.

Είναι γεγονός ότι ευάριθμοι παράγοντες συνέβαλαν στη δημιουργία του ευνοϊκού κλίματος για την ανάπτυξη των πεπτιδικών φαρμάκων. Σε αυτούς η υφιστάμενη εμπειρία πεπτιδικής σύνθεσης, η ανάπτυξη της μοριακής γενετικής και η ανακάλυψη νέων μοριακών στόχων, η δυνα-

τότητα μοριακής προσομοίωσης μέσω Η/Υ και η ταχεία πρόοδος της συνδυαστικής χημείας και της πεπτιδικής έρευνας. Η τελευταία οφείλεται κυρίως στην εφαρμογή της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης, αναστροφής φάσης (RP-HPLC), στην επινόηση αποδοτικών συσκευών σύνθεσης σε στερεά φάση, στη βελτίωση της μεθοδολογίας σύνθεσης σε υγρή φάση και, πρόσφατα, στην ενζυμική (πολύ) πεπτιδική σύνθεση. Εξάλλου, η μοριακή προσομοίωση μέσω Η/Υ και η εν γένει διαμορφωτική ανάλυση έχουν καθιερωθεί και αποτελούν πλέον σημαντικά εργαλεία της φαρμακευτικής έρευνας, λόγω κυρίως της συμβολής τους στην ανάπτυξη ισχυρών βιοδραστικών μιμητών-πεπτιδίων, αναστολέων του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης (angiotensin converting enzyme, ACE) και στην ανακάλυψη δραστικών αναλόγων διαφόρων νευροπεπτιδίων.



Γράφημα 2. Παγκόσμια Επίσημη Αγορά Φαρμάκων με Δραστικό Συστατικό Πεπτιδίο/ Πρωτεΐνη (Έτος 2000).

ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ

Η κατηγορία αυτή των πεπτιδίων, στην οποία συμπεριλαμβάνονταν και οι πεπτιδομιμητές, μας απασχολεί ιδιαίτερος στην παρούσα ανασκόπηση/παρουσίαση διότι, πέραν της σπουδαιότητας και των προοπτικών τις οποίες εμφανίζουν, αποτελούν και το κύριο ερευνητικό αντικείμενο της ομάδας συνθετικών πεπτιδίων του Εργαστηρίου Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του

Πανεπιστημίου Πατρών. Στην παγκόσμια φαρμακευτική αγορά διακινούνται ήδη περισσότερα από 40 προϊόντα/σκευάσματα με δραστικό συστατικό συνθετικό πεπτίδιο. Περισσότερα από τα 20 προϊόντα βρίσκονται σε στάδιο έγκρισης ή/και σε κλινική φάση III ενώ 60 περίπου προϊόντα ελέγχονται στο στάδιο της φάσης II.

Πίνακας 2. Φαρμακευτικά Προϊόντα (Σκευάσματα) Πεπτιδικής Φύσεως (Ενδεικτικά).

Κατηγορία	Θεραπευτικές Ενδείξεις	Προϊόν/Εταιρεία	Παγκόσμιος Αγορά (Ποσότης Δραστικού Συστατικού/Υψος Πωλήσεων Τελικού Προϊόντος)
Υπερ-αγωνιστές Γοναδορελίνης (GnRH)	Ενδοκρινείς Καρκίνοι (Μαστός, Προστάτης)	Leuprolide/Abbott Buserelin/Aventis Zoladex/Astra Triptorelin/Ipsen Beaufour Nafarelin/Roche	150-200 Kg / 2 δις USD
Ανταγωνιστές Γοναδορελίνης	Γυναικολογικές διαταραχές, in vitro Γονιμοποίηση	Abarelix (Φάση III)/Amgen Cetorelix Ganirelix	
Βασοπρεσίνη και Ανάλογα	Ενούρηση	Desmopressin/ Ferring Terlipressin, Lyspressin, Felypressin	50 Kg / 300 εκατ. USD
Ωκυτοκίνη & Ανταγωνιστές	Ωκυτόκειος/ Αντι-ωκυτόκειος Δράση	Oxytocin, Santopan (GAP, Novartis) Syntocinon Atosiban/Ferring (ανταγωνιστής)	200 Kg / 1 δις USD

Πίνακας 2 (συνέχεια)

Αναστολείς Μετατρεπτικού Ενζύμου Αγγειοτενσίνης (ΜΕΑ)	Αντιυπερτασική Δράση	Enalapril/Merck Lysinopril/Merck Ramipril, Trandolapril, Perin-dopril κ.λ.π. (συνολικώς 15 προϊόντα)	100 τόνοι / 4 δις USD
Ανάλογα Σωματοστατίνης	Καρκίνος, Αντιαιχμητική Δράση	Octreotide/ Novartis Somatuline/Ipsen Valpreotide (Φάση III)	100 Kg / 900 εκατ. USD
Αναστολείς Πρωτεασών HIV	Σύνδρομο Επικτήτης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας	Saquinavir/Roche Indinavir/Merck Ritonavir/Abbott Nelfinavir/Pfizer	200 τόνοι / 1,5 δις USD
Καλσιτονίνες	Οστεοπόρωση	h-Calcitonin/Ciba, Novartis	50 Kg / 600 εκατ. USD

Στον Πίνακα 2 αναγράφονται ενδεικτικά ορισμένα από τα παραπάνω πεπτιδία, οι παραγόμενες ποσότητες σε παγκόσμια κλίμακα και το ύψος των πωλήσεων των αντίστοιχων τελικών φαρμακευτικών σκευασμάτων. Ιδιαίτερης σημασίας είναι το γεγονός ότι πολλά από τα προϊόντα αυτά δεν καλύπτονται πλέον από δίπλωμα ευρεσιτεχνίας (γενόσημα) μολονότι κατοχυρωμένες νέες φαρμακοτεχνικές μορφές χορήγησης αυξάνουν σημαντικά τον εμπορικό χρόνο ζωής τους. Τα βιοαποικοδομούμενα πολυμερή, τα μη αποικοδομούμενα εμφυτεύματα, τα λιποσώματα, η διαδερμική έκχυση/ένεση, δισκία επικαλυμένα με πολυμερές, η εισπνοή –ως φαρμακοτεχνικές μορφές κυρίως αργής αποδέσμευσης– αποτελούν το εξειδικευμένο αντικείμενο πολλών εταιρειών, όπως οι Altea, Alza, Debio, Elan, Nobex, Sky Pharma. Στα ερευνητικά τμήματά τους επιχειρείται η λύση του προβλήματος της χορήγησης των πεπτιδίων/πρωτεϊνών με ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, δεδομένου ότι διαθέτουν ήδη ένα ή περισσότερα προϊόντα σε κλινική φάση αξιολόγησης.

ΟΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Παρά την αλματώδη πρόοδο της πεπτιδικής χημείας και την ανάπτυξη της φαρμακευτικής βιομηχανίας στον τομέα των πεπτιδίων, ορισμένα προβλήματα επιζητούν λύση. Η πεπτιδική έρευνα καλείται να συμβάλει στην πρόβλεψη της βιολογικώς ενεργής διαμόρφωσης ενός βιοδραστικού πεπτιδίου, στην κατανόηση των σχέσεων μεταξύ δομής-διαμόρφωσης και ειδικής βιολογικής δράσης, στην ταχεία, απλή και οικονομικώς συμφέρουσα σύνθεση πεπτιδίων μήκους 40-60 αμινοξέων και στην ανάπτυξη νέων αναλυτικών μεθόδων. Η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ, η φασματοσκοπία CD και NMR, οι ενεργειακοί υπολογισμοί και η μοριακή προσομοίωση θα αποτελέσουν τα “εργαλεία” για τον *de novo* σχεδιασμό και τη σύνθεση πεπτιδίων/πρωτεϊνών με προκαθορισμένες φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες. Στόχος, η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων ενζύμου-υποστρώματος, αντιγόνου-αντισώματος, ορμόνης-υποδοχέος, νουκλεϊνικών, οξέων, πρωτεϊνών. Από την άλλη πλευρά, οι ερευνητικοί στόχοι της σύγχρονης φαρμακευτικής βιομηχανίας περιλαμβάνουν την ανακάλυψη και ανάπτυξη αναστολέων της αγγειοτενσίνης II, της ωκυτοκίνης, της γοναδοτρόπου ορμόνης (LH-RH), της υποθαλαμικής εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH), την ανάπτυξη συνθετικών αναλόγων πεπτιδίων των ανοσογόνων περιοχών πρωτεϊνών του HIV, πεπτιδίων/αναστολέων ενζύμων και τη διερεύνηση του ρόλου του πεπτιδίου Αβ στη διάγνωση και θεραπεία της νόσου Alzheimer. Επιπλέον, ο σχεδιασμός και η σύνθεση πεπτιδικών συνθετικών εμβολίων, πεπτιδίων προς αντιμετώπιση δυσλειτουργιών του ανοσοποιητικού συστήματος, πεπτιδίων ικανών να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, με δυνατότητα παρεντερικής ή από του στόματος χορήγησης ως και η σύνθεση πεπτιδομιμητών είναι βέβαιο ότι απασχολούν και θα συνεχίσουν να απασχολούν τα ερευνητικά τμήματα των φαρμακευτικών εταιρειών κατά την επομένη δεκαετία και θα απαιτήσουν τη στενή συνεργασία χημικών, φαρμακοποιών, βιολόγων και ιατρών.

Τα συνθετικά πεπτιδία είναι δυνατόν να αποδειχθούν περισσότερο χρήσιμα από τα φυσικά και συνεπώς να αποτελέσουν τη σημαντικότερη και πολυπληθέστερη κατηγορία φαρμάκων του μέλλοντος. Στη περίπτωση αυτή θα έχει ανοίξει η οδός, μέσω της οποίας η Χημεία και η Φαρμακευτική θα δρέψουν τους καρπούς της συνεργασίας τους.

Η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ

Είναι γεγονός ότι η συνέχιση του πρωτοποριακού έργου του Καθηγητή Λ. Ζέρβα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών, μετά την επιστροφή του από το εξωτερικό, δημιούργησε παράδοση και ήδη η έρευνα στον τομέα των πεπτιδίων έχει διαχρονικά επεκταθεί και σε άλλα πανεπιστήμια και ερευνητικά ιδρύματα της χώρας. Εντούτοις, ο τομέας των συνθετικών βιοδραστικών πεπτιδίων δεν έχει προσελκύσει, επί του παρόντος, το ενδιαφέρον της ελληνικής φαρμακοβιομηχανίας και δεν περιλαμβάνεται στα άμεσα ενδιαφέροντά της παρά τις προοπτικές και την υψηλή προστιθέμενη αξία των προϊόντων αυτών. Σε επίπεδο ερευνητικού ακαδημαϊκού εργαστηρίου, η επιτυχής σύνθεση βιοδραστικών πεπτιδίων, και μάλιστα σε πιλοτική κλίμακα, απαιτεί όχι μόνο σύγχρονη τεχνογνωσία και τεχνολογία παραγωγής αλλά και εντελώς σύγχρονη οργανολογία, κατάλληλη για τη συνθετική παρασκευή, τον καθαρισμό, την απομόνωση και τον αναλυτικό έλεγχο της δραστικής ουσίας από εξειδικευμένο προσωπικό. Η οργανολογία αυτή είναι δύσκολο να αποκτηθεί μέσω της συνηθισμένης κρατικής επιχορήγησης.

Το Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών είχε το πρόνομο να αποτελέσει τη βασική μονάδα ενός Εθνικού Πλέγματος Εργαστηρίων το οποίο χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα Stride-Hellas (1991-1994). Στόχος, η δημιουργία της απαραίτητης υποδομής για την προώθηση της εφαρμοσμένης έρευνας και τη συνθετική παρασκευή, σε πιλοτική κλίμακα, βιοδραστικών πεπτιδίων με θεραπευτική σημασία και διαγνωστική χρήση.

Μετά την επιτυχή ολοκλήρωση του ως παραπάνω καθώς και επόμενων έργων, η Μονάδα Συνθετικών Πεπτιδίων του Εργαστηρίου είναι πλέον εξοπλισμένη ικανοποιητικά για την εκπλήρωση της αποστολής της, δηλαδή τη σύνθεση, την απομόνωση και τον χαρακτηρισμό βιοδραστικών πεπτιδίων, που προσεγγίζει τα διεθνή πρότυπα. Αυτοδύναμα ή σε συνεργασία με ερευνητικούς φορείς του εσωτερικού και εξωτερικού, διερευνά ήδη επίκαιρα προβλήματα, όπως ο σχεδιασμός και η συνθετική παρασκευή αναστολέων της αγγειοτενσίνης II και της ωκυτοκίνης, η διαμορφωτική μελέτη των ενεργών, περιεχόντων Zn, κέντρων του Ενζύμου Μετατροπής της Αγγειοτενσίνης (ΜΕΑ), η συνθετική παρασκευή, ο βιολογικός έλεγχος και η διαμορφωτική ανάλυση αναλόγων των ορμονών CRH και LH-RH, η σύνθεση και ο βιολογικός έλεγχος επισημασμένων με Tc αναλόγων της σωματοστατίνης, νευροτενσίνης και βομβεσίνης, η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και ο προσδιορισμός της κρυσταλλικής δομής συμπλοκών πεπτιδίων με μεταλλικά ιόντα, η διερεύνηση της δυνατότητας εμβολιασμού κατά της γρίπης με μη ανοσοκυρίαρχα πεπτίδια των πρωτεϊνών του ιού κ.ά. Έτσι, η μονάδα αυτή μαζί με τα υπόλοιπα εργαστήρια πεπτιδικής έρευνας της χώρας συνεχίζει την παράδοση, ενώ υπό ορισμένες προϋποθέσεις διαθέτει τη δυνατότητα άμεσης παραγωγής ικανών ποσοτήτων συνθετικών πεπτιδίων.

Αναμφίβολα, το πεδίο της πεπτιδικής σύνθεσης και της εφαρμογής των πεπτιδίων θα παρουσιάσει και στο μέλλον μεγάλα επιτεύγματα. Η συμμετοχή και η συμβολή, έστω και κατά μικρό μέρος, στην πρόοδο αυτή θα αποτελέσει για τον επιστήμονα ιδιαίτερο προνόμιο. Επιθυμούμε να πιστεύουμε ότι το άρθρο αυτό χαρακτηρίζεται από αντικειμενικότητα και αποδίδει την παρούσα κατάσταση σε έναν ευαίσθητο και ιδιαίτερης σημασίας επιστημονικό κλάδο, μολονότι έχει γραφεί από έναν πεπτιδοχημικό που έχει αφιερώσει όλη την επαγγελματική ζωή του στο πεδίο αυτό.

ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΓΕΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- “Life During a Golden Age of Peptide Chemistry-Bruce Merrifield” (J.I. Sceman, Ed., Profiles, Pathways and Dreams), American Chemical Society, Washington, DC, 1993.
- “Peptide and Protein Hormones”. W. König, VCH, Weinheim, 1993.
- “Small Peptides – Chemistry, Biology and Clinical Studies”. A.S. Dutta, Elsevier, Amsterdam, 1993.
- “Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries” (G. Jung, Ed.), VCH, Weinheim, 1996.
- “Bioorganic Chemistry – Peptides and Proteins” (S.M. Hecht, Ed.), Oxford University Press, New York, 1998.
- “Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis. A Practical Approach” (W.C. Chan and P.D. White Eds.), Oxford University Press, New York, 2000.
- “Peptides as Drugs: Is There a Market?” A Loffet, Journal of Peptide Science, 8, 1 (2002).
- “2nd Hellenic Forum on Bioactive Peptides” (P. Cordopatis, Ed.), Typorama, Patras, 2001.