

ФАРМАКОЛОГИЯ АНТИСМЫСЛОВЫ Х ПРЕПАРАТОВ

Бутолина Дарья Сергеевна
Сенникова Юлиана Алексеевна
Лечебный факультет, 3 курс

АКТУАЛЬНОСТЬ ВОПРОСА

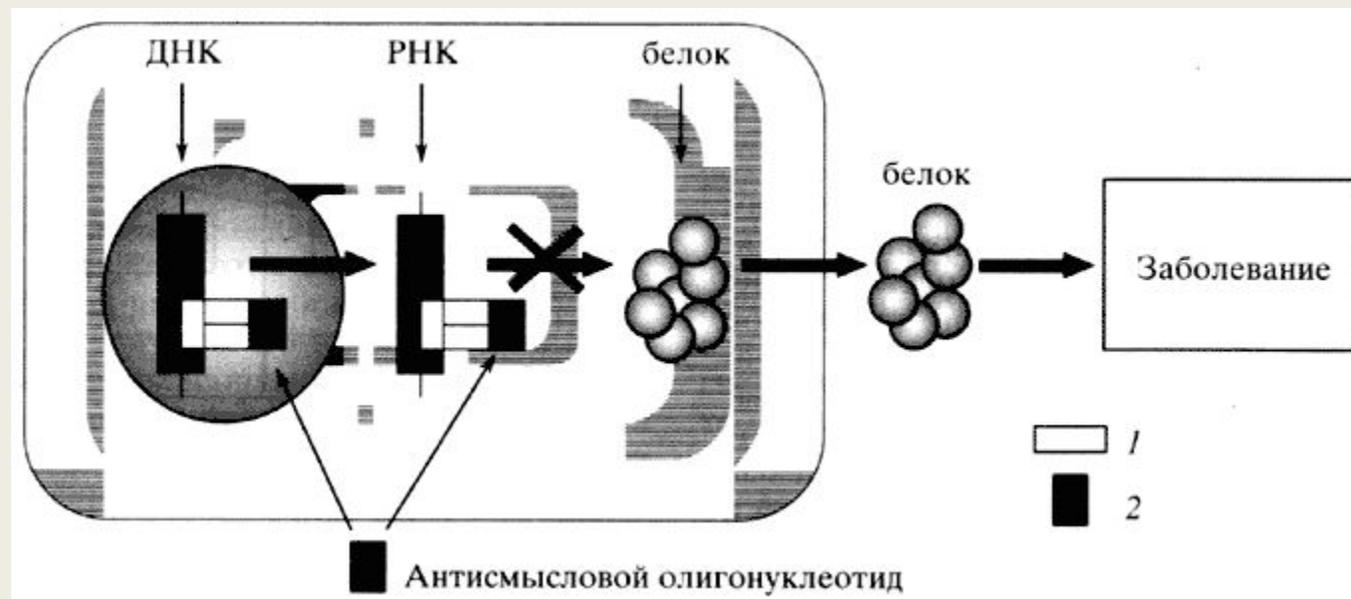
Результаты последних исследований показали, насколько значительны и разнообразны роли РНК в поддержании функций клетки, а также определили вклад РНК в развитие патологий, что способствовало расширению спектра потенциальных терапевтических мишеней. Обладая различными механизмами воздействия, антисмысловые препараты демонстрируют возможность терапии широкого ряда заболеваний.

«АНТИСМЫСЛОВАЯ» РНК

«Антисмысловая» РНК (Antisense RNA), которую предполагается использовать в качестве лекарственного средства, представляет собой короткий (15-20-нуклеотидов) олигонуклеотид, который может связываться с комплементарным ей определенным участком мРНК и ингибировать трансляцию кодируемого ей белка, подавляя тем самым патологический процесс

АНТИСМЫСЛОВЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ (АСО)

- (АСО) - это олигонуклеотиды, связывающиеся с РНК по принципу комплементарности и, таким образом, изменяющие функцию РНК-мишени.



МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

- связывание с РНК и нарушение их функции, без содействия её разрушению, (например, остановка трансляции или изменение процессинга РНК)
- ускорение разрушения РНК при помощи эндогенных ферментов, (таких как РНКаза H или Argonaute-2)

В недавних исследованиях было показано, что АСО также способны усиливать продукцию белков либо путём антагонизма с микроРНК, в норме подавляющими продукцию белка, либо путём маскировки открытой рамки считывания на 5'-концевом участке.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

- Модификация цепи
- Модификация гетероциклов
- Модификации сахаров
- Стратегии конъюгации

МОДИФИКАЦИЯ ЦЕПИ

- Так как нуклеазы расщепляют фосфодиэфирную связь, очевидно, что первоочередной мишенью химической модификации олигонуклеотидов оказывается непосредственно их сахарофосфатный остов. Чаще всего для получения антисмысловых препаратов проводят фосфоротиоатную (PS) модификацию сахарофосфатного остова, при которой один из атомов кислорода в фосфатной группе (не вовлечённый непосредственно в межнуклеотидную связь) заменяется на атом серы.
- PS-связь значительно повышает устойчивость к расщеплению нуклеазами, поэтому при системном введении PS-нуклеотиды обладают достаточной стабильностью в плазме, тканях и клетках, что позволяет им достигнуть РНК-мишеней. PS-олигодезоксинуклеотиды (ОДН), часто называемые «АСО первого поколения», способны стимулировать расщепление РНК-мишени РНК-азой H, что является крайне важной составляющей механизма действия многих антисмысловых препаратов.

МОДИФИКАЦИЯ ГЕТЕРОЦИКЛОВ

- Модификация гетероциклов (оснований) направлена преимущественно на повышение сродства и усиление связывания с комплементарными нуклеиновыми кислотами. Замена водорода в положении С5 дезоксицитидина на метильную группу повышает температуру плавления дуплекса ДНК-РНК примерно на $0,5^{\circ}\text{C}$ на одну замену благодаря усилению стэкинга в 5'-области основания.
- Такая модификация поддерживает механизм действия РНКазы Н и применяется в некоторых антисмысловых препаратах для ослабления их иммуностимулирующего потенциала. Дальнейшее усиление стэкинга с дополнительными ароматическими или π -обогащёнными поверхностями путём замены водорода в положении С5 на пропинил-группу повысило стабильность дуплекса, однако увеличило его токсичность.

Стэкинг - (прим. пер.: гидрофобное взаимодействие, обеспечивающее поддержание вторичной структуры двухцепочечной молекулы ДНК)

МОДИФИКАЦИЯ САХАРОВ

- Олигонуклеотиды, содержащие сахар, модифицированный в 2'-положении, часто называют “АСО второго поколения”.
- Значительно больше возможностей открывается для использования данной модификации в олигонуклеотидных препаратах, которые не задействуют фермент-опосредованные механизмы терминации синтеза белка, например, нарушение сплайсинга мРНК.

СТРАТЕГИИ КОНЪЮГАЦИИ

- Конъюгация олигонуклеотидов с лигандами, способными связываться с различными акцепторными сайтами поверхности клетки, изменяет фармакокинетические свойства олигонуклеотидов.
- Наиболее изученным классом конъюгатов являются конъюгаты олигонуклеотидов с холестерином; они усиливают воздействие на печень, одновременно уменьшая влияние на почки. Холестерол-конъюгированные олигонуклеотиды применяются для создания антисмысловых препаратов с различным механизмом действия, включающим действие РНКазы H, кнРНК и антагонистов микроРНК.
- Другие липидные группы, например, жирные кислоты и токоферол, как и холестерин, обладают потенциальной способностью к перераспределению олигонуклеотидов в организме животных и усилению их воздействия на мишени, в частности, экспрессирующиеся в печени.

ФАРМАКОКИНЕТИКА ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

- Биодоступность препарата в тканях обеспечивается его связыванием с белками плазмы, ограничивающим клубочковую фильтрацию и, в конечном счете, выведением олигонуклеотидов с мочой.
- PS-модифицированные олигонуклеотиды обладают широким системным биораспределением и наибольшие их концентрации наблюдаются в печени и почках, костном мозге, адипоцитах и лимфоузлах. Такие АСО поступают в клетки преимущественно путём эндоцитоза.
- Увеличение системной абсорбции при пероральном введении препарата было достигнуто путём употребления АСО совместно с усилителями проницаемости, которые обратимо изменяют парацеллюлярный транспорт в тонком кишечнике

ФАРМАКОКИНЕТИКА ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

- При подкожном введении АСО быстро поступают от места инъекции в кровоток, а пиковая концентрация в плазме для АСО второго поколения достигается через 3-4 часа.
- При внутривенном или п/к введении после достижения пиковой концентрации в плазме концентрация препарата быстро снижается по мультиэкспоненте (период полувыведения до нескольких недель).
- При системном распределении препараты преимущественно поступают в ткани печени, почек, костного мозга, адипоциты (за исключением липидных капель) и лимфатические узлы.
- При пероральном, интравитреальном и ингаляционном введении, системная абсорбция АСО крайне низка и составляет менее 1% введённой дозы

Мультиэкспонента - т.е. первоначальная фаза быстрого распределения препарата в тканях, занимающая от нескольких минут до часов, сменяется более медленной фазой окончательного

ФАРМАКОЛОГИЯ АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

■ Сердечно-сосудистые заболевания

Мипомерсен (mipomersen) – первый препарат на основе АСО второго поколения в качестве вспомогательной терапии при гомозиготной семейной гиперхолестеринемии.

Он уменьшает содержание мРНК аполипопротеина В (apoB), тем самым снижая в плазме уровень apoB-содержащих частиц (например, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП)]. Также было доказано, что мипомерсен снижает уровень всех apoB-содержащих атерогенных липопротеинов, включая липопротеин (a) [ЛП(a)], независимый генетический фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний.

ФАРМАКОЛОГИЯ АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

■ Онкологические заболевания

В некоторых ранних исследованиях антисмысловых препаратов изучалось их возможное применение в качестве терапии при различных типах рака.

Усовершенствование антисмысловых препаратов улучшило их эффективность и переносимость, что повысит успешность клинического лечения.

В настоящее время один антисмысловой препарат против различных злокачественных образований находится в III фазе клинических исследований, а ещё несколько – на более ранних стадиях разработки.

ФАРМАКОЛОГИЯ АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

■ Инфекционные заболевания

Для ингибирования репликации вируса можно использовать различные антисмысловые механизмы, например, связывание с вирусной мРНК для стерической блокировки трансляции белка или для деградациии вирусной РНК посредством РНКазы; также возможна блокировка микро-РНК хозяина, поддерживающих репликацию вируса.

В настоящее время клинические испытания проходят несколько антисмысловых препаратов для терапии различных инфекционных заболеваний.

Важное значение для стабильности и распространения вируса гепатита С (НСV) имеет микроРНК-122 (miR-122), в избытке присутствующая в печени. Она связывается с высококонсервативной 5'-нетранслируемой областью генома НCV, защищая его от деградациии и врождённого иммунитета хозяина

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Широко используется 2 препарата, клинические исследования проходят 30 препаратов
- Модификации олигонуклеотидов улучшают эффективность и переносимость антисмысловых препаратов, а также улучшают распределение препарата в тканях и, в конечном итоге, способствуют его поступлению к РНК-мишени внутри клетки. Дальнейшее усовершенствование антисмысловых препаратов можно обеспечить путём улучшения структуры АСО, более полного скрининга и поиска новых химических модификаций и, возможно, лекарственной формы.
- Более глубокое понимание молекулярных механизмов, благодаря которым олигонуклеотиды распределяются в организме и в клетках, и, в конечном итоге, связываются с РНК-мишенью, обеспечит рациональную основу для дальнейшего усовершенствования антисмысловых препаратов