

**СПОСОБЫ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ИХ
ПЕРОРАЛЬНОЙ БИОДОСТУПНОСТИ
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Орлова А.Б., Никифоров А.С., Иванов И.М., Руйпо В.С.

*ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной
медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, Россия, г. Санкт-
Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4,
e-mail: gniiivm_15@mil.ru*

Резюме. В обзоре рассмотрена проблема перорального применения пептидов, а также подходы к повышению их биодоступности за счет химической модификации, направленной на оптимизацию физико-химических и фармакологических свойств. В качестве применяемых стратегий рассмотрены: изменение исходной структуры пептида, введение липофильных и непротеиногенных аминокислот, включая ряд D- и N-метилованных аминокислотных остатков. Также продемонстрированы возможности циклизации пептидных структур с использованием различных подходов, таких как, циклизация основной цепи или «голова к хвосту» (N-конец к С-концу), боковая цепь к боковой цепи, боковая цепь к концу, циклизация с образованием дисульфидной или тиоэфирной связи. В качестве примеров перорально доступных пептидов были рассмотрены: пептид, разработанный для лечения аутоиммунных заболеваний; модифицированное производное пептидного антибиотика гризелимицина; синтетический аналог вазопрессина - десмопрессин, а также иммунодепрессант циклоспорин и модифицированный циклический пептид, выделенный из моллюска.

Ключевые слова: пептиды, пероральная биодоступность, химическая модификация.

**METHODS FOR CHEMICAL MODIFICATION OF PEPTIDES TO INCREASE THEIR
ORAL BIOAVAILABILITY
(LITERATURE REVIEW)**

Orlova A.B., Nikiforov A.S., Ivanov I.M., Ruipo V.S.

*FSBI «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of the
Russian Federation, 195043, Saint-Petersburg, Russia*

Abstract. The review considers the problem of oral administration of peptides, as well as approaches to increasing their bioavailability through chemical modification aimed at optimizing the physicochemical and pharmacological properties. The following strategies are considered as applied strategies: changing the initial structure of the peptide, introducing lipophilic and non-proteinogenic amino acids, including a number of D- and N-methylated amino acid residues. The possibilities of cyclization of peptide structures using various approaches have also been demonstrated, such as cyclization of the main chain or «head to tail» (N-terminus to C-terminus), side chain to side chain, side chain to the end, cyclization to form a disulfide or thioether bonds.

As examples of orally available peptides were considered: a peptide developed for the treatment of autoimmune diseases; a modified derivative of the peptide antibiotic griselymycin; a synthetic analogue of vasopressin - desmopressin, as well as an immunosuppressant cyclosporine and a modified clam-derived cyclic peptide.

Keywords: peptides, oral bioavailability, chemical modification

Введение.

За последние десятилетия все большую актуальность приобретает пептидное направление современной биоорганической химии. Значительный прогресс в этой области определяется большим биологическим значением соединений пептидной и белковой структуры, и теми функциями в живом организме, которые они выполняют. В настоящее время перечень открытых и изученных относительно простых по строению пептидов, характеризующихся выраженной и разносторонней физиологической активностью, исчисляется тысячами и продолжает увеличиваться. Это объясняется их многообразными биологическими эффектами, эндогенным характером соединений, а также менее выраженным побочным действием в сравнении с простыми химическими веществами [1].

Несмотря на то, что сотни терапевтических пептидных препаратов проходят клинические испытания, в настоящее время только около 60 одобрены для использования в качестве лекарственных средств, что объясняется в том числе ограниченной биодоступностью пептидов при пероральном приеме. Эта проблема остается наиболее актуальной при разработке новых терапевтических пептидов, и связана она с низкой способностью соединений к преодолению физиологических барьеров и их метаболической нестабильностью. С точки зрения физико-химических характеристик большинство пептидов не соответствуют так называемому «правилу Липинского», описывающему свойства препаратов с вероятной пероральной биодоступностью, за счет более высоких показателей молекулярной массы, гидрофильности и количества доноров и акцепторов водородных связей [2]. Создание лекарственных препаратов на основе пептидов зачастую требует химической модификации активной молекулы для коррекции её фармацевтических свойств. Представляется целесообразным рассмотреть стратегии модификации соединений пептидной структуры, обеспечивающие повышение их пероральной биодоступности.

Цель исследования. Рассмотреть причины низкой пероральной биодоступности пептидов, провести анализ эффективных способов модификации соединений пептидной структуры, позволяющих повысить их пероральную биодоступность, а также изучить успешные примеры модифицированных структур.

Материалы и методы. В исследовании выполнен обзор данных литературы, посвященных химической модификации пептидов с целью улучшения их пероральной биодоступности.

Результаты и их обсуждение.

Факторы, ограничивающие пероральное применение соединений пептидной природы

Протеолитическая нестабильность соединений пептидной природы является одним из основных факторов, ограничивающих их пероральное применение. В желудочно-кишечном

тракте (ЖКТ) содержится множество протеаз, которые гидролизуют пептидные связи и действуя синергически расщепляют молекулы белковой природы. Данные процессы протекают на различных участках от желудка до толстой кишки, однако наибольшую угрозу представляет просвет тонкого кишечника, который содержит большие количества пептидаз, секретируемых поджелудочной железой, например, α -химотрипсин, трипсин, панкреатическая эластаза, карбоксипептидазы, а также пептидазы из клеток слизистой оболочки. Расщепление белковых фрагментов пептидазами, например, аминопептидазами и дипептидазами, продолжается в мембране щеточной каймы, которая является вторым важным ферментным барьером, содержащим не менее 15 пептидаз, которые вместе обладают широкой специфичностью в отношении белков и пептидов [3,4]. Таким образом, ферментативные системы ЖКТ определяют расщепление белков и полипептидов до аминокислот и коротких ди- и трипептидов, что в свою очередь приводит к потере биологической активности соединения еще до момента его абсорбции и попадания в системный кровоток.

Следующим по значимости фактором считают ограниченную проницаемость пептидов через эпителиальный барьер кишечника, что в первую очередь связано с их гидрофильностью и относительно большими размерами. Для осуществления абсорбции молекулы через кишечный эпителий должен быть задействован трансцеллюлярный или парацеллюлярный транспорт. Первый путь включает прохождение соединения через апикальную клеточную мембрану, цитоплазму и базолатеральную мембрану посредством пассивной диффузии, при помощи переносчиков или везикул. Для осуществления переноса соединения путем пассивной диффузии необходимы относительно высокие показатели липофильности молекулы, в то время как большинство соединений белковой природы являются гидрофильными, что делает степень переноса минимальной для данного пути [5]. Активный транспорт с участием специфических переносчиков, таких как PerT-1 и PerT-2, осуществляет перенос ди- и трипептидов, что вносит серьезные ограничения в применение пептидных структур, состоящих из большего числа аминокислотных остатков [6]. Парацеллюлярный транспорт представляет собой водный внеклеточный путь между соседними эпителиальными клетками, через которые могут проходить гидрофильные молекулы, не способные проникать через липидную мембрану. Однако гидрофильную область парацеллюлярного пути также окружают гидрофобные плотные контакты, ограничивая таким образом диффузию макромолекул с радиусом более 15 Å, что существенно ограничивает абсорбцию соединений белковой природы [7]. Последним барьером при абсорбции пептидных соединений можно назвать наличие обратных переносчиков на поверхности эпителиальных клеток. Например, Р - гликопротеин I является

АТФ-зависимым обратным насосом ксенобиотиков широкого спектра, субстратом которого в том числе являются линейные липофильные и циклические пептиды [8].

Известно, что даже при условии успешной абсорбции в ЖКТ, физиологически активное вещество (ФАВ) подвергается инактивации в процессе пресистемного метаболизма. При этом, I фаза биотрансформации пептидных препаратов, как правило, включает гидроксилирование различных функциональных групп молекулы, а II фаза - конъюгацию пептида по таким функциональным группам, как SH, OH, NH₂, в результате чего можно наблюдать реакции метилирования, сульфатирования и глюкуронирования. Эти реакции вносят существенные структурные изменения, как правило, приводящие к потере биологической активности [9,10].

Описанные выше основные барьеры делают невозможным пероральное применение большинства пептидных соединений, что требует проведения их химической модификации с целью улучшения стабильности в ЖКТ и проницаемости через биологические мембраны.

Химические модификации, позволяющие повысить пероральную биодоступность пептидов

Структурные особенности соединений пептидной природы определяют использование специфических подходов к модификации, учитывающих протоколы твердофазного синтеза и ассортимент коммерчески доступных реактивов.

Первым шагом на пути оптимизации структуры можно назвать выбор аминокислотной последовательности. При работе с известными природными структурами для уменьшения основной цепи применяется скрининг с использованием аланина для определения остатков, отвечающих за биологический эффект, что в итоге приводит к удалению не участвующих в связывании с мишенью аминокислот и уменьшению размеров молекулы [11]. Также на данном этапе исследования для увеличения общей липофильности молекулы заменяют некоторые полярные аминокислоты на неполярные. Следующим основным инструментом изменения свойств исходной последовательности можно назвать введение непротеиногенных аминокислот, что приводит к увеличению липофильности, стабильности, а также уменьшению конформационной подвижности [12].

Стоит отметить, что некоторые модификации способны выполнять сразу несколько функций, однако ни одна из них не является единой для всех пептидов и чаще всего в одном соединении реализуется несколько подходов для улучшения характеристик структуры. Так, устойчивость пептидов к протеолизу можно повысить, включая в аминокислотную последовательность целевого соединения D-аминокислоты, так как природные ферменты ориентированы на белки и пептиды, состоящие из аминокислот L-формы [13]. Другим подходом для защиты пептидной связи от расщепления может служить замена амидов на

более стабильную группу, например, тиамиды, что приводит к получению биоизостера с минимальными изменениями в структуре [14]. Включение β –аминокислот дает возможность изменения конформации за счет альтернативного расположения боковых цепей в сочетании с улучшенной метаболической стабильностью [15]. Также в настоящее время коммерчески доступен ряд непротеиногенных ароматических аминокислот с включенными защитными группами для твердофазного синтеза, которые способны вносить стерические затруднения для расщепления амидной связи протеазами и, как итог, повышать протеолитическую стабильность, а также гидрофобность, и селективность связывания с мишенью [12]. На рисунке 1 представлены примеры подобных аминокислотных остатков.

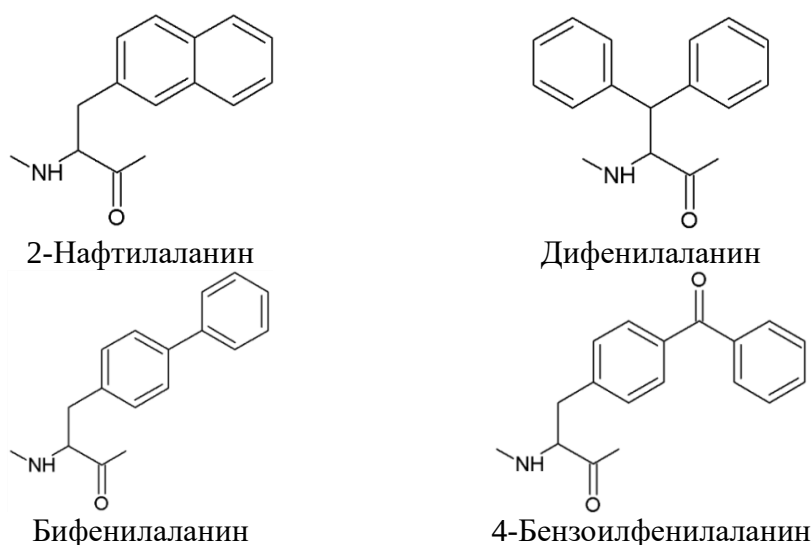
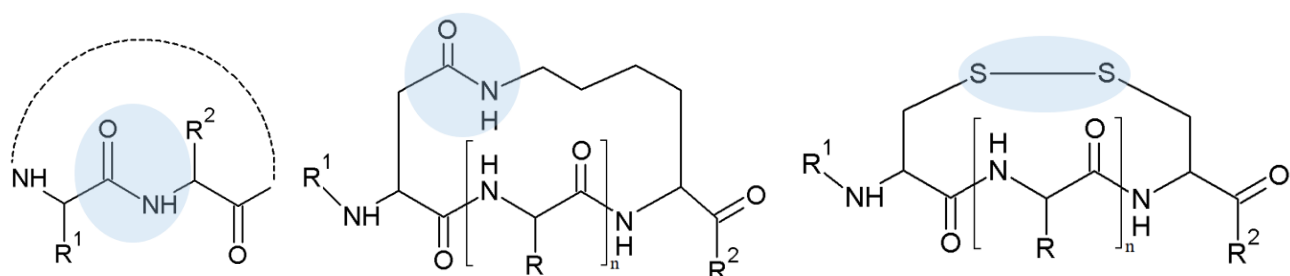


Рисунок 1- Примеры ароматических непротеиногенных аминокислотных остатков

N-метилирование амидной группы, экранируя пептидную связь, защищает ее от расщепления, а также повышает липофильность и уменьшает количество доноров водородных связей, тем самым улучшая абсорбцию пептидов. Исследования проницаемости через клеточные мембраны метилированных аналогов пока не дает четких ответов по стратегиям модификации. В исследованиях с метилированием пептида Вебера-Хиршмана, из восьми активных структур только одна обладала улучшенными показателями в сравнении с исходным соединением. В результате модификации проницаемость через клеточную мембрану увеличилась на 68%, а пероральной биодоступности *in vivo* до 10% [16]. При этом исследования по стабильности показали, что при сравнении устойчивости пептида и его три-N-метилированного аналога в отношении ферментов щеточной каймы, модифицированное соединение было полностью стабильно в течение 1,5 часов [17]. Несмотря на коммерческую доступность всех N-метилированных протеиногенных аминокислот и ожидаемое улучшение фармацевтических свойств соединения, существенное изменение структуры и конформации

пептида (образование третичного амида, утрата водородной связи) может видоизменять его биологическую активность и взаимодействие с рецептором. Особенности, связанные с подбором модификации при сохранении активности ФАВ, могут значительно усложнять работу по подбору стратегии для улучшения пероральной биодоступности соединений пептидной структуры.

Циклизация пептидов подразумевает модификацию, приводящую к формированию кольцевой структуры, включающей все или несколько аминокислотных остатков. Различают несколько способов получения циклического пептида из линейного. Среди них выделяют циклизацию основной цепи или «голова к хвосту» (N-конец к С-концу), боковая цепь к боковой цепи, боковая цепь к концу, цикл с образованием дисульфидной или тиоэфирной связи (рисунок 2).



Циклизация
основной цепи

Циклизация боковой цепи

Образование дисульфидных связей

Рисунок 2 - Примеры циклизации пептидов

Циклизация способствует повышению липофильности за счет образования связи между заряженными концевыми группами, а также устойчивости к гидролизу и протеолизу. При этом стерические затруднения при циклизации боковой цепи могут защитить активный центр пептида от экзопептидаз, а циклизация «голова к хвосту» от экзопептидаз [18]. Так, например, циклический С-концевой гексапептид на основе вещества Р имеет время полувыведения в срезах печени до 30 мин, в отличие от показателя исходного соединения - 4 мин [19]. Циклизацию рассматривают как основной способ ограничения конформационной гибкости линейных пептидов, что может привести к улучшенной мембранной проницаемости. Отмечено, что циклические пептиды обладают большей пероральной биодоступностью, поскольку конформационные ограничения и предварительная организация функциональных групп может способствовать пассивной диффузии через биологические мембраны [20]. Стоит отметить, что существенное изменение структуры при циклизации также может привести к потере биологической активности, однако в случае сохранения циклопептида в активной конформации наблюдают более сильное и избирательное взаимодействие с мишенью за счет минимизации энтропийных потерь при связывании.

Другим подходом, применяемым при создании пролекарств, рассматривают метод липофильной маскировки заряда, при котором закрывают положительные и отрицательные заряды функциональных групп пептида эстеразолабильной и липофильной экранирующей группой с последующим высвобождением активного соединения в кровотоке. Применение такой модификации позволяет повысить эффективность абсорбции пролекарства транцеллюлярным путем, что может способствовать получению перорально доступной формы гидрофильного пептида [21].

Как уже было отмечено ранее, не существует определенной стратегии для улучшения пероральной биодоступности соединений пептидной природы, так как эта проблема является многофакторной и в первую очередь зависит от физико-химических характеристик соединений, а некоторые изменения структуры могут привести к потере биологической активности исходной молекулы. Также на примере работ по циклизации пептида DADLE с помощью биоразлагаемого линкера показано, что не смотря на улучшение таких характеристик, как $\log P$, изменение молекулярного радиуса, гибкости структуры и протеолитической стабильности, модифицированный пептид оказался неэффективным при пероральном введении, поскольку он приобрел свойства субстрата для эффлюксных насосов [22], что еще раз демонстрирует необходимость индивидуального подхода к повышению биодоступности конкретной структуры.

Примеры перорально доступных пептидов

Пептид MyR-c(MyD 4- 4) является модифицированной формой циклопептида c(MyD 4- 4), разработанного для лечения аутоимунных заболеваний и имеющего низкие показатели пероральной биодоступности ($0,84 \pm 0,25\%$). Введение в структуру миристоильной группы у вторичного амида привело к увеличению биодоступности соединения до $47,6 \pm 16,2\%$, что можно объяснить пространственным экранированием солевого мостика, образованного между остатками аргинина и аспаргиновой кислоты (рисунок 3). Таким образом, полученное соединение MyR-c(MyD 4- 4) представляет собой липидированный, циклический пептидомиметик, содержащий непротеиногенные аминокислоты [23].

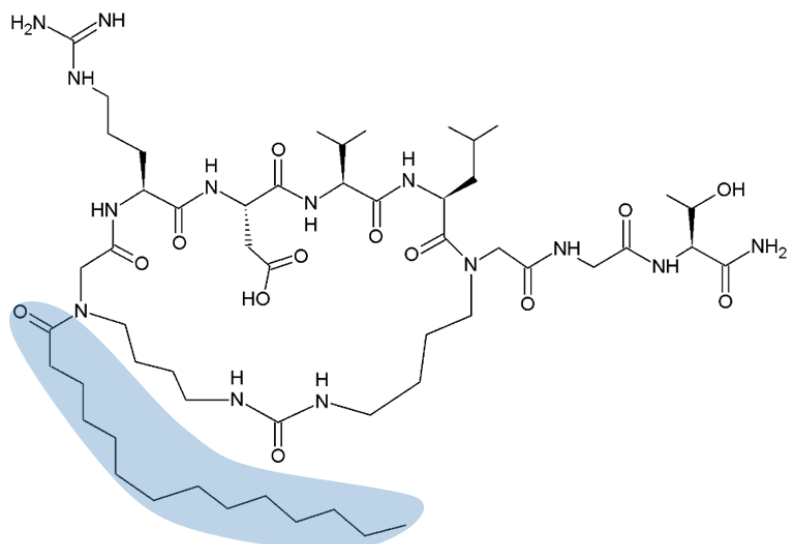


Рисунок 3 - Структура модифицированного пептида

Относительно высокая пероральная биодоступность антимикробного циклического, N-метилированного депсипептида гризелимицина (48%) была увеличена за счет включения в структуру непротеиногенных липофильных аминокислотных остатков. Наиболее удачной модификацией стало введение в структуру активной молекулы циклогексилзамещенного производного пролина (рисунок 4), что в свою очередь повысило биодоступность соединения до 89% [24].

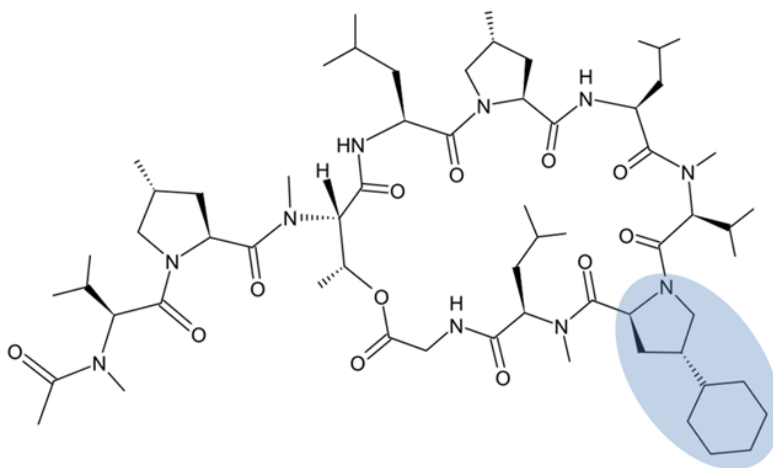


Рисунок 4 - Структура производного гризелимицина

Десмопрессин можно привести в качестве примера, который демонстрирует, что при высоких показателях аффинности и селективности к рецептору, пептиды могут обладать достаточным терапевтическим эффектом даже при низких показателях биодоступности. Так, модифицированное производное вазопрессина - десмопрессин обладает циклической структурой, образованной дисульфидной связью, а также содержит дезаминированный остаток цистеина и D-аргинин (рисунок 5).

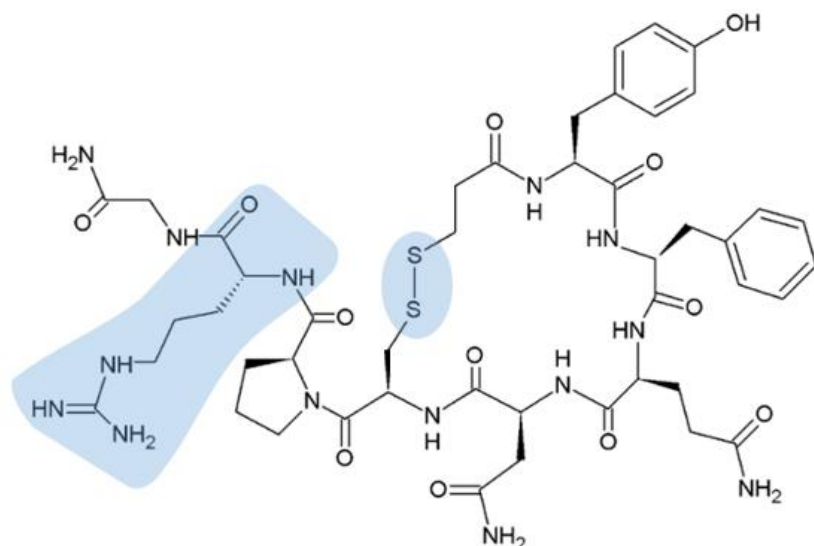


Рисунок 5 – Структура десмопрессина

Пептид представляет собой гидрофильное соединение с относительно большой молярной массой (1069,22 г/моль), поэтому его абсорбция осуществляется посредством парацеллюлярного механизма с абсолютной биодоступностью 0,08-0,16%. Несмотря на низкие показатели пероральной биодоступности, десмопрессин в настоящее время находит клиническое применение в дозах 0,1-0,2 мг 3 раза в сутки [25].

Циклоспорин, лекарственный иммунодепрессант, представляет собой гепта-N-метилованный циклический ундекапептид (рисунок 6), состоящий преимущественно из липофильных аминокислот и одной D-аминокислоты. Препарат является субстратом для Р-глткопротеина и при пероральном применении подвергается пресистемному метаболизму. Показатель абсолютной биодоступности варьирует в зависимости от вида биообъекта так, например, у крыс в среднем он составляет 22-29%, что является редким примером «большого» пептида (11 аминокислотных остатков с молярной массой 1202 моль/г) с относительно высоким показателем пероральной биодоступности [20].

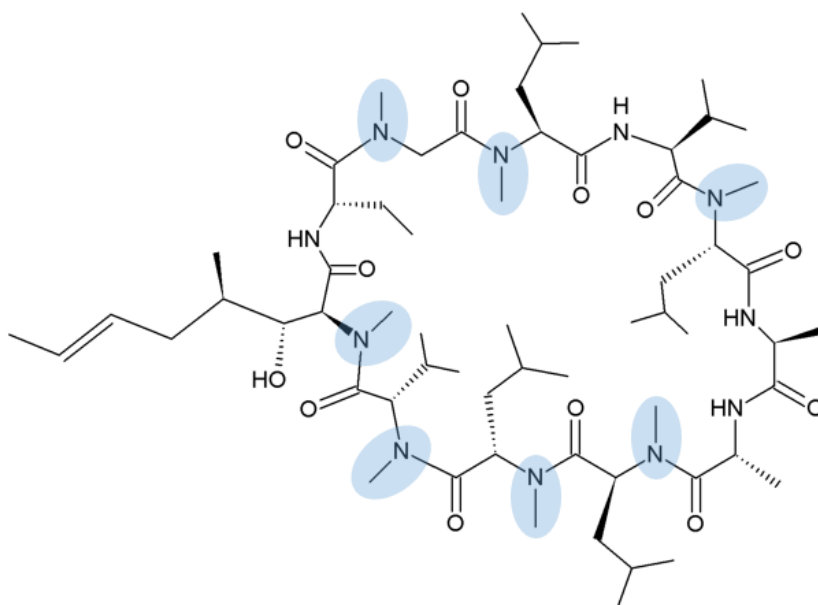


Рисунок 6 – Структура циклоспорина А

Способность циклоспорина к пассивной диффузии через биологические мембраны связывают с его способностью к переключению с цис-конформации, необходимой для абсорбции через мембрану на транс-конформацию, при которой происходит взаимодействие с рецептором. Кроме того, пептид содержит семь N-метилованных аминокислот, которые уменьшают количество доноров водородной связи и экранируют полярные группы, что также способствует повышению биодоступности. Стоит отметить, что в настоящее время циклоспорин коммерчески доступен в качестве перорального препарата в составе самоэмульгирующей системы с показателями биодоступности 60% [21]. Также проводились исследования по модификации циклоспорина путем введения углерода в положение один с образованием конечного диена, что привело к изменению его абсорбции и уменьшению вариабельности концентраций в плазме крови [26].

Сангвинамид А – тиазолсодержащий циклический гептапептид, выделенный из моллюска *H. Sanguineus*, который содержит шесть природных аминокислот, в том числе два пролина, которые принимают цис- и транс-конформации [20]. Пероральная биодоступность пептида составляет $7 \pm 4\%$, что может быть связано с наличием трех гетероциклов в структуре пептида, уменьшающих количество амидных протонов, а также с экранированием полярных атомов гидрофобными боковыми цепями (Ile1, Pro4, Ile5, Pro6) (рисунок 7).

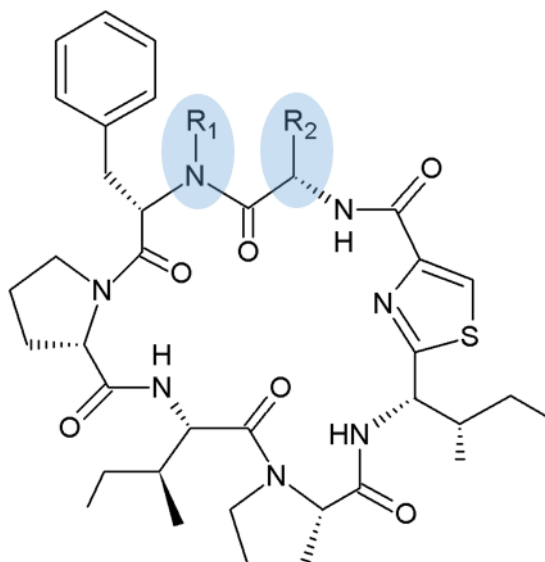


Рисунок 7 – Структура сангвинамида А ($R_1 = H$, $R_2 = Me$), данамида D ($R_1 = Me$, $R_2 = tBu$), данамида F ($R_1 = H$, $R_2 = tBu$)

Исследования структуры показали, что две амидные группы подвержены сольватации (Ala2, Phe3), поэтому для улучшения абсорбции пептида провели N-метилирование у Phe3 и заменили Ala2 на объемный остаток трет-бутилглицина (tBuGly) с разветвлённой гидрофобной боковой цепью. В результате модификаций был получен пептид данамид D с показателями биодоступности $21 \pm 2\%$. Однако при проведении дальнейших экспериментальных исследований было установлено, что удаление N-метилирования у Phe3 (данамид F) позволило увеличить биодоступность до $51 \pm 9\%$ [27]. Данные исследования показали, что не все модификации приводят к увеличению биодоступности соединений пептидной природы.

Закключение.

Повышение пероральной биодоступности соединений пептидной природы остается серьезной проблемой, решение которой является сложной многофакторной задачей сочетающей в себе изменение физико-химических характеристик, а также сохранение или усиление аффинности и селективности исходной молекулы к мишени. Одним из подходов к решению данной проблемы может рассматриваться набирающая популярность стратегия моделирования новых пептидов с использованием в качестве критериев отбора свойств молекулы, способствующих преодолению биологических мембран, а также включение в пептидные библиотеки непротеиногенных аминокислот, которые могут как повысить специфичность лиганда, так и улучшить протеолитическую стабильность соединения. Кроме того, активно рассматриваются точечные варианты модификаций известных пептидов, некоторые из которых были описаны выше. Таким образом, несмотря на отсутствие «готовых рецептов» для создания пероральных пептидов, большое количество работ на тему

повышения их биодоступности демонстрирует актуальность проблемы, а также вносит вклад в набор статистических данных относительно выявлений закономерностей влияния структурных характеристик пептидов на их биодоступность.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Erak M., Bellmann-Sickert K., Els-Heindl S. et al. Peptide chemistry toolbox–Transforming natural peptides into peptide therapeutics. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2018; 26(10): 2759-2765.
2. Verma S., Goand U.K., Husain A. et al. Challenges of peptide and protein drug delivery by oral route: Current strategies to improve the bioavailability. *Drug development research*. 2021; 82(7): 927-944.
3. Woodley J.F. Enzymatic barriers for GI peptide and protein delivery. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*. 1994; 11(2-3): 61-95.
4. Patel G., Misra A. Oral delivery of proteins and peptides: concepts and applications. *Challenges in delivery of therapeutic genomics and proteomics*. 2011: 481-529.
5. Griffin B. T., O'Driscoll C. M. Opportunities and challenges for oral delivery of hydrophobic versus hydrophilic peptide and protein-like drugs using lipid-based technologies. *Therapeutic delivery*. 2011; 2(12): 1633-1653.
6. Brandsch M., Knütter I., Bosse-Doenecke E. Pharmaceutical and pharmacological importance of peptide transporters. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008; 60(5): 543-585.
7. Stolnik S., Shakesheff K. Formulations for delivery of therapeutic proteins. *Biotechnology letters*. 2009; 31: 1-11.
8. Dubey S.K., Parab S., Dabholkar N. et al. Oral peptide delivery: Challenges and the way ahead. *Drug discovery today*. 2021; 26(4): 931-950.
9. Diehl H.P., Wildey A., Prasasty V.D. et al. Organization of the intestinal mucosa and barriers to oral drug delivery. In *Nanotechnology for Oral drug delivery*. Academic Press. 2020: 7-25.
10. Gibson G.G., Skett P. *Introduction to drug metabolism*. Springer. 2013.
11. London N., Movshovitz-Attias D., Schueler-Furman O. The structural basis of peptide-protein binding strategies. *Structure*. 2010; 18(2): 188-199.
12. Tyagi P., Subramony A. *Oral Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins*. Elsevier. 2022.
13. Garton M., Nim S., Stone T.A. et al. Method to generate highly stable D-amino acid analogs of bioactive helical peptides using a mirror image of the entire PDB. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018; 115(7): 1505-1510.
14. Vinogradov A.A., Yin Y., Suga H. Macrocyclic peptides as drug candidates: recent progress and remaining challenges. *Journal of the American Chemical Society*. 2019; 141(10): 4167-4181.

15. Cabrele C., Martinek T.A., Reiser O. et al. Peptides containing β -amino acid patterns: challenges and successes in medicinal chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; 57(23): 9718-9739.
16. Räder A.F., Reichart F., Weinmüller M. et al. Improving oral bioavailability of cyclic peptides by N-methylation. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2018; 26(10): 2766-2773.
17. Biron E., Chatterjee J., Ovadia O. et al. Improving oral bioavailability of peptides by multiple N-methylation: somatostatin analogues. *Angewandte Chemie International Edition*. 2008; 47(14): 2595-2599.
18. Tugyi R., Mezö G., Fellinger E. et al. The effect of cyclization on the enzymatic degradation of herpes simplex virus glycoprotein D derived epitope peptide. *Journal of Peptide Science: an Official Publication of the European Peptide Society*. 2005; 11(10): 642-649.
19. Byk G., Halle D., Zeltser I. et al. Synthesis and biological activity of NK-1 selective, N-backbone cyclic analogs of the C-terminal hexapeptide of substance P. *Journal of medicinal chemistry*. 1996; 39(16): 3174-3178.
20. Nielsen D.S., Shepherd N.E., Xu W. et al. Orally absorbed cyclic peptides. *Chemical Reviews*. 2017; 117(12): 8094-8128.
21. Räder A.F., Weinmüller M., Reichart F. et al. Orally active peptides: is there a magic bullet?. *Angewandte Chemie International Edition*. 2018; 57(44): 14414-14438.
22. Tang F., Borchardt R.T. Characterization of the efflux transporter(s) responsible for restricting intestinal mucosa permeation of the coumarinic acid-based cyclic prodrug of the opioid peptide DADLE. *Pharmaceutical research*. 2002; 19(6): 787-793.
23. Daishon S., Schumacher-Klinger A., Gilon C. et al. Myristoylation Confers Oral Bioavailability and Improves the Bioactivity of c(MyD 4-4), a Cyclic Peptide Inhibitor of MyD88. *Molecular pharmaceutics*. 2019; 16(4): 1516-1522.
24. Kling A., Lukat P., Almeida D.V. et al. Targeting DnaN for tuberculosis therapy using novel griselimycins. *Science*. 2015; 348(6239): 1106-1112.
25. Price D.A., Mathiowetz, A.M., Liras S. Designing Orally Bioavailable Peptide and Peptoid Macrocycles. *Practical Medicinal Chemistry with Macrocycles: Design, Synthesis, and Case Studies*. 2017: 59-76.
26. Giordanetto F., Kihlberg J. Macrocyclic drugs and clinical candidates: what can medicinal chemists learn from their properties?. *Journal of medicinal chemistry*. 2014; 57(2): 278-295.
27. Nielsen D.S., Hoang H.N., Lohman R.J. et al. Improving on nature: making a cyclic heptapeptide orally bioavailable. *Angewandte Chemie International Edition*. 2014; 53(45): 12059-12063.