

PEPTIDES  
AND  
DRUG DEVELOPMENT

活性多肽与  
药物开发

| 王德心 著 |



中国医药科技出版社

要 點 容 內

# 活性多肽与药物开发

## Peptides and Drug Development

王德心 著

参著人员 (按姓氏笔划排序)

冯鹤鹤 杨潇骁 林浩  
龚喜 韩香

ISBN 7-5306-4109-7  
定价: 138.00元  
印张: 29  
规格: 787×1092  
网址: www.cspip.com  
电话: 010-6800825  
地址: 北京市东城区  
出版: 中国医药科技出版社

ISBN 7-5306-4109-7  
定价: 138.00元  
印张: 29  
规格: 787×1092  
网址: www.cspip.com  
电话: 010-6800825  
地址: 北京市东城区  
出版: 中国医药科技出版社

2008年6月第1版  
2008年6月第1次印刷

中国医药科技出版社  
北京市东城区东直门内大街165号

中国医药科技出版社

本集团在全国各大城市均设有分公司

## 内 容 提 要

本书是国内第一部完整介绍活性肽结构改造的专著。书中上篇全面、系统地介绍了五十多类结构改造的化学策略及生物活性功用；还有针对性地介绍了一些肽合成策略及肽药剂型的应用。下篇对各种内源性肽、天然产物肽，按生物活性的不同及其药物开发的情况逐一给予介绍。全书在叙述基本原理、研究策略的同时，配合了大量实例及充分的文献。

该书既可作为高校教师、研究生及高年级本科生的教学参考书，也可用于广大药物研究院（所）及生物医药研发单位（企业）的研究、开发和管理人员的工具书。

### 图书在版编目（CIP）数据

活性多肽与药物开发/王德心著. —北京：中国医药科技出版社，2008.6

ISBN 978 - 7 - 5067 - 3826 - 2

I. 活… II. 王… III. 多肽—药物—开发—研究 IV. TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2008）第 019133 号

美术编辑 陈君杞

责任校对 张学军

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 责编：010 - 62278402 发行：010 - 62227427

网址 www.cspyp.cn

规格 787 × 1092mm<sup>1</sup>/<sub>16</sub>

印张 59<sup>3</sup>/<sub>4</sub>

字数 1345 千字

版次 2008 年 6 月第 1 版

印次 2008 年 6 月第 1 次印刷

印刷 河北省南宫市印刷有限责任公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 3826 - 2

定价 138.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换



# 前言

什么是肽？肽与药物有什么关系？甚至在许多受过高等教育的人群中，对这两个问题也很难说清楚。尽管在各种版本的《有机化学》教材里，肽的基本概念总会出现于某一章或一节中，但很少有人重视它。因为它在有机化学的广泛内容中被淹没了，历年的考卷中也很难找到“肽”这个词。

早年作者本人也相当忽视“肽”的存在。1978~1982年我读研究生时，从导师梁晓天先生那里接受的是天然产物化学的专业知识与研究技能。几年后（1985年）我要去美国作访问学者，联系到美国化学家、1984年诺贝尔化学奖获得者 Merrifield 教授的实验室，参与固相肽合成专业的研究。记得当时在周瑾教授的启发下，我搜肠刮肚才想到了肽与药物研究有关的唯一实例：脑啡肽，它具有强镇痛活性。尽管当时全然不知脑啡肽的结构、分子量等细节，但总算可用它作为面见 Dr. Merrifield 及 Dr. Tam 前仓促准备的一个内容了。

二十多年来，多肽化学学科及相关的技术取得了飞速发展。其中，分离纯化技术、结构确证手段、结构改造设计思想、高效缩合剂及自动化合成技术的不断进步，促成了当今每年可以发现数百种新活性肽和数十种肽类先导物进入临床试验的兴旺局面。

当肽与药物的关系日益引起药物研究、生产及相关的专业人员兴趣的时候，2003年春夏 SARS 在中国的肆虐给中国广大民众一个对肽类药物开始认知的大规模扫盲的机会。胸腺五肽（TP-5）在 SARS 流行的时候，既作预防药又作治疗药被广泛用于一线的医务人员、患者及他们的亲友。人们发现，凡是注射过 TP-5 的，其发病率或死亡率均明显下降。一时间，生产 TP-5 的单位由原来不足 5 家猛增至近 80 家。然而因技术问题，多数产品的质量不合格，以至国家医药管理部门不得不下文予以控制。多年来，一些重量级的治疗药，如催产素（助产、催乳）、胰岛素（治疗糖尿病）、奥曲肽（治疗上消化道出血）、亮丙瑞林（治疗前列腺癌）、胸腺素  $\alpha_1$ （治疗乙肝）、降钙素（治疗骨质疏松）等均为临床治疗相关疾病首选的肽类药物。另外，还有大批肽类候选药已经或正在进行临床试验。

与早已应用的普通合成药相比，肽类药物的研发尚处在年轻、上升的阶段，还有很大的开拓空间。长期以来，限制活性肽广泛用于临床的一个重要因素就是它在体内极易受到蛋白酶的水解，生物利用度差。因此，以活性肽为先导化合物进行结构改造，已成为当今药物研究领域中日益受到重视的方向之一。

有关多肽与药物方面的专著在我国很少，可能黄惟德、陈常庆教授的《多肽合成》（科学出版社，1985年出版）及彭师奇教授的《多肽药物化学》（科学出版社，1993年出版）两部书是难得的著作了。多年来众多的学生及专业人员视它们为宝，从中学到了很多知识，并由此开始了肽类药物的研究工作。至今，距《多肽合成》问世已 22 年，距

《多肽药物化学》出版也有 14 年之久。目前与肽类药物相关的众多研究领域已取得日新月异的发展。大量的研究成果、论文、专利等包罗了诸多新的概念、新的设计思路、新的先导物及新的治疗药,但是与它们相关的资料处在分散、杂乱无章的状态。从已有两部书的内容看,《多肽合成》以基本反应、基本原理及当时的技术水平为主;《多肽药物化学》以肽合成的基本方法学及肽的立体化学为主,并包括了截至 1993 年的一些活性肽的应用情况,这些内容不会过时,至今也非常重要。

历史地看,十几年添一部关于肽的新书似乎成了规律。当然在我动手写此书的时候还没有悟到此种规律。基于本人十几年来在协和医科大学研究生院讲授肽化学,多年工作中积累的大量文献、实验资料及心得体会,促使我心中产生了将这些素材系统地整理成书的愿望。许多作者在写书的时候均在全面性及新颖性方面下功夫,因此在《多肽合成》及《多肽药物化学》中已经论述的内容我不想在本书中重复。本书的重点是系统介绍肽结构改造等内容及近十年来的新技术、新活性肽的发展状况。

《活性肽与药物开发》这本书分为上、下二篇,共二十四章。上篇为总论,其中有肽的概况(包括历史、特点、功用)、结构改造类型(包括十个方面、60 多种类型)、伪肽、糖肽、磷肽及核酸肽、环肽、局部环化肽、肽的简化与加合、拟肽、合成策略(包括长链肽合成策略、困难氨基酸的缩合、困难肽段的合成、经济合成原则),上述九章均为本人撰写,冯鹤鹤协助。总论中还包括二氨基肽(林浩主笔)及肽类药物的剂型(此章由韩香博士主笔)共十一章。下篇为活性肽各论,其中有骨代谢肽、干细胞活性肽、合成肽疫苗、核素标记肽(此四章由韩香博士主笔)、抗菌抗病毒肽、神经活性肽、抗凝肽、蛋白受体结合剂及酶抑制剂(此四章由杨潇骁博士主笔)、抗肿瘤肽、免疫活性肽、镇痛肽、海洋天然肽(此四章由龚喜博士主笔)、血糖及生长调节肽(林浩主笔)等章组成。

应该指出的是,在本书撰写过程中为了便于文献的引用及排序的方便,打破了传统的数字顺序方式,采用了“字母—年代”的标示法。其表达方式为:在正文中引用文献处由原作者姓中前三个字母及发表年份组成,并以【】号包括。例如:【Jon 1996】。在每章的最后,各文献的排列按英文字典的排序方式出现。如果不同作者的三个字母均同,再按年代先后排序。如果字母及年代均同,再于年份后面加上 a、b、c,如【Smi 1992a】先于【Smi 1992b】,在正文中先引用的为 a,后引用的为 b。此种方式在本人的《固相有机合成》一书中已有应用,读者反应颇佳。

由于活性肽类药物的研究与开发涉及面广,发展又太快,本书不可能涵盖此学科的全部内容。加之本人水平有限,书中可能存在一些差错,敬请广大读者及同行专家提出宝贵意见。

在撰写此书的过程中,得到我的助手林浩、冯鹤鹤及学生韩香、杨潇骁、龚喜的大力支持。他们分担了许多章节的撰写及编辑,在此向他们深表谢意。

王德心

中国医学科学院药物研究所

2007 年 7 月

# 目 录

## 上 篇 总 论

(148) ..... 肽的合成功能 ..... 第二章

(165) ..... 肽的用途 ..... 第三章

(170) ..... 肽 ..... 第四章

(175) ..... 肽 (PNA) ..... 第五章

(185) ..... 参考文献 ..... 参考文献

(186) ..... 第五章 Freisinger 肽 ..... 第五章

(186) ..... 第一节 Freisinger 肽的类型 ..... 第一节

(187) ..... 第二节 单链 Freisinger ..... 第二节

(197) ..... 第三节 侧链 Freisinger ..... 第三节

(210) ..... 第四节 Freisinger 肽的生理活性 ..... 第四节

(236) ..... 参考文献 ..... 参考文献

**第一章 肽的特性** ..... (1)

第一节 历史 ..... (1)

第二节 特点 ..... (2)

第三节 肽的功能与药物开发 ..... (10)

**第二章 肽的结构类型及合成策略** ..... (13)

第一节 结构分类及成功案例 ..... (14)

第二节 N-甲基肽 ..... (21)

第三节 NSG 及 UN 肽 ..... (28)

第四节 残基位点变构 ..... (37)

第五节 非蛋白源性氨基酸 ..... (46)

第六节 肽链 C 末端变构 ..... (62)

第七节 D 肽及逆肽 ..... (77)

参考文献 ..... (82)

**第三章 伪肽** ..... (98)

第一节 伪肽的类型 ..... (98)

第二节 还原型伪肽 ..... (99)

第三节 酮伪肽 ..... (103)

第四节 氮杂伪肽 ..... (108)

第五节 氧杂伪肽 ..... (126)

第六节 硫杂及磷杂伪肽 ..... (132)

参考文献 ..... (142)

**第四章 糖肽、磷肽与肽核酸** ..... (147)

第一节 糖肽的结构分类 ..... (147)

|  |              |
|--|--------------|
| 第二节 糖肽的合成 .....  | (148)        |
| 第三节 糖肽的活性应用 .....  | (165)        |
| 第四节 磷肽 .....   | (170)        |
| 第五节 肽核酸 (PNA) .....  | (175)        |
| 参考文献 .....   | (182)        |
| <b>第五章 Freidinger 肽 .....</b>                                    | <b>(186)</b> |
| 第一节 Freidinger 肽的结构类型 .....                                      | (186)        |
| 第二节 单环 Freidinger 肽的合成 .....                                     | (187)        |
| 第三节 稠环 Freidinger 肽合成 .....                                      | (197)        |
| 第四节 Freidinger 肽的生物活性 .....                                      | (210)        |
| 参考文献 .....   | (236)        |
| <b>第六章 环肽 .....</b>  | <b>(241)</b> |
| 第一节 环肽的类型 .....  | (241)        |
| 第二节 DKP 环肽 .....   | (244)        |
| 第三节 经典环肽的合成 .....  | (253)        |
| 第四节 醚环肽合成 .....  | (276)        |
| 第五节 硫醚环肽的合成 .....  | (283)        |
| 第六节 烯及饱和烃环肽的合成 .....   | (288)        |
| 第七节 其他桥连环肽 .....   | (296)        |
| 第八节 环肽的活性应用 .....  | (310)        |
| 参考文献 .....   | (326)        |
| <b>第七章 简化肽与加合肽 .....</b>   | <b>(331)</b> |
| 第一节 蛋白质、长链肽的序列简化 .....   | (331)        |
| 第二节 多重肽 .....  | (337)        |
| 第三节 杂交肽 .....  | (340)        |
| 第四节 缀合肽 .....  | (344)        |
| 参考文献 .....   | (365)        |
| <b>第八章 拟肽 .....</b>  | <b>(368)</b> |
| 第一节 转折模拟肽 .....  | (369)        |
| 第二节 整体分子模拟肽 .....  | (375)        |
| 参考文献 .....   | (400)        |
| <b>第九章 <math>\alpha</math>、<math>\beta</math>-二氨基酸及相关肽 .....</b> | <b>(405)</b> |
| 第一节 简介 .....   | (405)        |



|   |       |
|---|-------|
| (第二节) 含有 $\alpha$ , $\beta$ -二氨基酸及相关的肽化合物 .....   | (405) |
| (第三节) $\alpha$ , $\beta$ -二氨基酸的合成 .....   | (409) |
| 参考文献 .....  | (429) |
| <b>第十章 肽合成策略</b> .....  | (432) |
| (第一节) 交叉匹配的 WANG 策略 .....   | (432) |
| (第二节) 裂解方式 .....  | (442) |
| (第三节) 长链肽合成策略 .....   | (451) |
| (第四节) 困难肽合成对策 .....   | (454) |
| (第五节) 巧妙合成 .....  | (462) |
| (第六节) 合理合成策略 .....  | (486) |
| 参考文献 .....  | (492) |
| <b>第十一章 肽类药物的剂型</b> .....   | (496) |
| (第一节) 肽类药物的特点 .....   | (496) |
| (第二节) 注射给药剂型 .....  | (497) |
| (第三节) 非注射给药剂型 .....   | (500) |
| (第四节) 新技术的应用 .....  | (514) |
| 参考文献 .....  | (517) |
| <div style="border: 1px dashed black; padding: 5px; display: inline-block;"> <b>下篇 活性肽各论</b> </div> |       |
| <b>第十二章 骨代谢肽</b> .....  | (520) |
| (第一节) 成骨生长肽 .....   | (521) |
| (第二节) 降钙素 .....   | (526) |
| (第三节) 甲状旁腺激素 .....  | (529) |
| (第四节) 其他 .....  | (535) |
| 参考文献 .....  | (540) |
| <b>第十三章 造血干细胞活性肽</b> .....  | (543) |
| (第一节) 四肽 AcSDKP .....   | (543) |
| (第二节) 五肽 pEEDCK .....   | (551) |
| (第三节) OGP .....   | (552) |
| (第四节) 胸腺素 $\beta_4$ .....   | (554) |



|                           |              |
|---------------------------|--------------|
| (05) 第五节 神经肽 .....        | (556)        |
| (06) 参考文献 .....           | (556)        |
| <b>第十四章 抗肿瘤肽 .....</b>    | <b>(559)</b> |
| (07) 第一节 生长抑素类 .....      | (559)        |
| (08) 第二节 黄体激素释放激素类 .....  | (570)        |
| (09) 第三节 抗侵袭、抗转移肽 .....   | (578)        |
| (10) 第四节 其他 .....         | (584)        |
| (11) 参考文献 .....           | (588)        |
| <b>第十五章 免疫活性肽 .....</b>   | <b>(594)</b> |
| (12) 第一节 胸腺激素类 .....      | (594)        |
| (13) 第二节 吞噬刺激素 .....      | (600)        |
| (14) 第三节 其他 .....         | (604)        |
| (15) 参考文献 .....           | (609)        |
| <b>第十六章 镇痛肽 .....</b>     | <b>(613)</b> |
| (16) 第一节 内啡肽类 .....       | (613)        |
| (17) 第二节 毒素肽 .....        | (625)        |
| (18) 第三节 其他 .....         | (631)        |
| 参考文献 .....                | (632)        |
| <b>第十七章 海洋天然产物肽 .....</b> | <b>(636)</b> |
| (19) 第一节 源于海绵的活性肽 .....   | (636)        |
| (20) 第二节 源于海鞘的活性肽 .....   | (666)        |
| (21) 第三节 源于蓝藻的活性肽 .....   | (673)        |
| (22) 第四节 其他来源海洋活性肽 .....  | (681)        |
| (23) 第五节 其他 .....         | (690)        |
| 参考文献 .....                | (692)        |
| <b>第十八章 合成肽疫苗 .....</b>   | <b>(696)</b> |
| (24) 第一节 肽疫苗的特点及类型 .....  | (696)        |
| (25) 第二节 抗病毒多肽疫苗 .....    | (702)        |
| (26) 第三节 其他合成肽疫苗 .....    | (713)        |
| 参考文献 .....                | (720)        |
| <b>第十九章 核素标记肽 .....</b>   | <b>(724)</b> |
| (27) 第一节 核素类型及标记方法 .....  | (724)        |

|                               |              |
|-------------------------------|--------------|
| (第二节 生长抑素标记肽 .....            | (730)        |
| (第三节 其他活性肽的标记 .....           | (739)        |
| (参考文献 .....                   | (744)        |
| <b>第二十章 多肽抗生素 .....</b>       | <b>(748)</b> |
| 第一节 来源于微生物的多肽抗生素 .....        | (749)        |
| 第二节 植物来源的多肽抗生素 .....          | (774)        |
| 第三节 来源于动物的多肽抗生素 .....         | (779)        |
| 第四节 化学合成的多肽抗生素 .....          | (785)        |
| 第五节 开发中的多肽抗生素 .....           | (791)        |
| 参考文献 .....                    | (796)        |
| <b>第二十一章 神经肽 .....</b>        | <b>(804)</b> |
| 第一节 下丘脑神经肽 .....              | (804)        |
| 第二节 垂体肽 .....                 | (812)        |
| 第三节 阿片肽 .....                 | (818)        |
| 第四节 脑肠肽 .....                 | (822)        |
| 第五节 $\beta$ -淀粉样蛋白聚合抑制剂 ..... | (824)        |
| 第六节 开发中的神经肽类药物 .....          | (825)        |
| 参考文献 .....                    | (827)        |
| <b>第二十二章 抗凝肽 .....</b>        | <b>(830)</b> |
| 第一节 凝血过程 .....                | (830)        |
| 第二节 抗凝活性肽 .....               | (832)        |
| 第三节 开发中的抗凝活性肽 .....           | (839)        |
| 参考文献 .....                    | (840)        |
| <b>第二十三章 生长调节和血糖调节肽 .....</b> | <b>(842)</b> |
| 第一节 生长调节肽 .....               | (842)        |
| 第二节 血糖调节肽 .....               | (853)        |
| 参考文献 .....                    | (869)        |
| <b>第二十四章 酶抑制剂 .....</b>       | <b>(876)</b> |
| 第一节 BACE 1 抑制剂 .....          | (876)        |
| 第二节 金属蛋白酶抑制剂 .....            | (879)        |
| 第三节 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶抑制剂 .....     | (897)        |
| 第四节 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 .....          | (901)        |
| 第五节 其他酶抑制剂 .....              | (911)        |

|       |                  |       |
|-------|------------------|-------|
| (130) | 参考文献             | (915) |
| (131) | 附录 I 英文缩写/全称对照   | (921) |
| (132) | 附录 II 索引         | (931) |
| (148) | 素主計規參 章十二第       |       |
| (149) | 素主計規參由部主計于照未 章一第 |       |
| (150) | 素主計規參部就未照未 章二第   |       |
| (151) | 素主計規參部就未照未 章三第   |       |
| (152) | 素主計規參部就未照未 章四第   |       |
| (153) | 素主計規參部就未照未 章五第   |       |
| (154) | 素主計規參部就未照未 精文卷參  |       |
| (164) | 規參計 章一十二第        |       |
| (165) | 規參計 章一第          |       |
| (166) | 規參計 章二第          |       |
| (167) | 規參計 章三第          |       |
| (168) | 規參計 章四第          |       |
| (169) | 規參計 章五第          |       |
| (170) | 規參計 章六第          |       |
| (171) | 規參計 精文卷參         |       |
| (180) | 規參計 章二十二第        |       |
| (181) | 規參計 章一第          |       |
| (182) | 規參計 章二第          |       |
| (183) | 規參計 章三第          |       |
| (184) | 規參計 精文卷參         |       |
| (193) | 主大規計和血糖調計規 章三十二第 |       |
| (194) | 主大規計和血糖調計規 章一第   |       |
| (195) | 主大規計和血糖調計規 章二第   |       |
| (196) | 主大規計和血糖調計規 精文卷參  |       |
| (206) | 規參計 章二十四第        |       |
| (207) | 規參計 章一第          |       |
| (208) | 規參計 章二第          |       |
| (209) | 規參計 章三第          |       |
| (210) | 規參計 章四第          |       |
| (211) | 規參計 章五第          |       |

液相固相合成法... 固相合成法... 液相合成法... 固相合成法... 液相合成法... 固相合成法...

# 上篇 总论

## 第一章 肽的特性

### 第一节 历史

公元1902年9月22日下午，诺贝尔奖获得者有机化学家 Emil Fischer 在德国“Gesellschaft deutscher Naturforscher and Artze”第74届年会上第一次提出了“Peptides”（肽）这个词。在同一会议上，化学家 Franz Hofmeister 第一次用酰胺结构 -CONH- 表示了蛋白质中单个氨基酸间的连接形式。

1906年 Fischer 首次实现人工合成甘氨酸二肽，并明确指出结构为  $H_2NCH_2CONHCH_2COOH$  使人们首次具体地理解了肽的结构。

至1932年化学家 Marx Bergmann 及其助手已经应用苄氧羰基（Cbz 或 Z）作为可以脱除的保护氨基的化学基团，因此实现了不同氨基酸之间的定向合成。这也成为多肽合成史上的革命性进展。

随后年间许多活性肽可以从人体、动、植物组织及海洋生物中被分离出来，并且确定它们的序列。但是最重要的进展是二十世纪五十年代化学家 Vincent du Vigneaud 实验室先后完成了两个环九肽催产素（Oxytocin）及加压素（Vasopressin）的全合成，证实了这两个内源性肽的结构，并作为药物用于临床。为此 du Vigneaud 教授获得了诺贝尔化学奖。

二十世纪六十年代初美国化学家 R. Bruce Merrifield 创建的固相合成肽技术不但改变了传统液相肽合成中冗长、麻烦的困难局面，而且使肽合成可以发展为自动化、仪器化的阶段。从二十世纪七十年代开始，难以计数的活性肽被化学家合成出来，并由此极大地促进了有关的医学科学及药物研究的飞速发展。因此，Merrifield 教授于1984年荣获诺贝尔化学奖。



从二十世纪八十年代至今,由于多肽合成技术、结构改造研究及肽库高通量合成等新领域的快速发展,多肽研究与药物研究已经融合为一门新的边缘学科,多肽与药物的密切结合将给人类社会带来更多的福祉。

现将近一个世纪的有关肽合成的发展事件简示如表 1-1:

表 1-1 肽合成发展大事记

| 年代       | 进展  | 意义                 |
|----------|---|--------------------|
| 1902 年   | 德国人 E. Fischer 首创“Peptide”一词                    | “肽”的概念问世           |
| 1906 年   | 人工合成 Gly-Gly 二肽                                 | 肽可以由人工合成           |
| 1932 年   | 应用可逆性 N-保护基 Cbz 或 z 出现                          | 保证肽的定向合成           |
| 1952 年   | 混合酸酐法构建肽键                                       | 有效缩合方式             |
| 1953 年   | du Vigneaud 合成催产素成功。为此, du 氏获得 1955 年 Nobel 化学奖 | 首次合成肽类激素,并且用作药物    |
| 1955 年   | 活泼酯法构建肽键  | 多种缩合方式             |
| 1957 年   | Boc 保护基开始应用                                     | 酸脱除临时保护            |
| 1963 年   | 美国人 R. B Merrifield 创造 SPPS 技术                  | 开始固相肽合成时代          |
| 1975 年   | BOP 型缩合剂出现                                      | 引发新型多种高效缩合剂的研究     |
| 70~80 年代 | 基于 SPPS 技术,人工合成数以万计的复杂的活性肽                      | 促进多种生命学科的飞速发展      |
| 1980~    | 各种伪肽键的合成  | 促进肽的结构改造           |
| 1980~    | Fmoc 保护基的应用                                     | 正交方式使仪器合成更方便       |
| 1984 年   | R. B. Merrifield 获 Nobel 化学奖                    | 确认 SPPS 技术的贡献      |
| 1985~    | 各种新型缩合剂陆续问世                                     | 高效肽缩合剂的应用          |
| 1987 年   | SMS 技术使肽合成效率达到: $10^2 \sim 10^3$ 种肽/每批合成        | 搞清了许多受体及病毒蛋白的活性区结构 |
| 1990~    | 拟肽设计与合成   | 药物化学的新领域           |
| 1992 年以后 | 肽库→组合化学,肽合成效率达到 $10^6 \sim 10^7$ 种肽/每批合成        | 变革了传统的药物化学模式       |

## 第二节 特点

肽是由各种氨基酸分子之间经脱水形成肽键相连的聚合型有机化合物。与高分子聚合物不同,作为肽链基本构建的单体(monomer)是各种氨基酸残基,它们的侧链结构各不相同。因此肽不是高分子聚合物。与蛋白质相比,肽的共价键形成的链结构与前者相同,但链长度及分子量远远小于前者。因此,肽又不是蛋白质。尽管如此,肽与蛋白质之间还是存在许多相近的理化性质,如亲水性、极性、二级结构、易酶解、金属络合性等。从分子量大小上很难在某个准确的数值上把肽与蛋白质区别开。至今人们习惯地按肽链长短进行如下的表示:

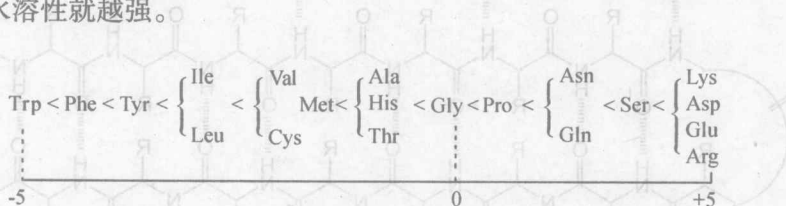
小于 10 个残基为寡肽(oligopeptide)或小肽分子。10~80(或 100)个残基为多肽(Polypeptide)或肽。大于 80(或 100)个残基为蛋白质,也有人主张只有在 150 个或 200 个残基以上的分子才是真正的蛋白质。

与普通的有机化合物相比,肽在物理、化学、生物活性及制备方法等多方面具有如下特点:

### 1. 水溶性

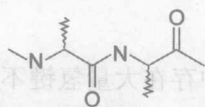
除了少数疏水肽(如淀粉样蛋白中的 Amyloid $\beta$  片段肽等)以外,多数肽分子往往具

有许多极性侧链基团，如—OH、—NH<sub>2</sub>、—COOH等，他们可以与水分子形成氢键缔合或与正、负离子形成极性区……。所以很多肽化合物均具水溶性。应该指出的是，在肽的合成过程中作为中间体的有关肽片段是处于侧链基团及端基（氨基或羧基）被保护的状态存在的。它们一般是不溶于水，而溶于有机溶剂的。只有当合成结束，各种保护基团被脱除，相应的极性功能基被游离以后，得到的游离肽才具有水溶性，由此往往伴随着纯化的困难（解决办法详见下文）。研究表明，存在肽与蛋白质中的二十种氨基酸残基的水溶性相对系数（以Gly为0）按下列顺序递增，因此分子中含Lys、Glu、Asp、Arg、Ser等残基越多的肽，水溶性就越强。



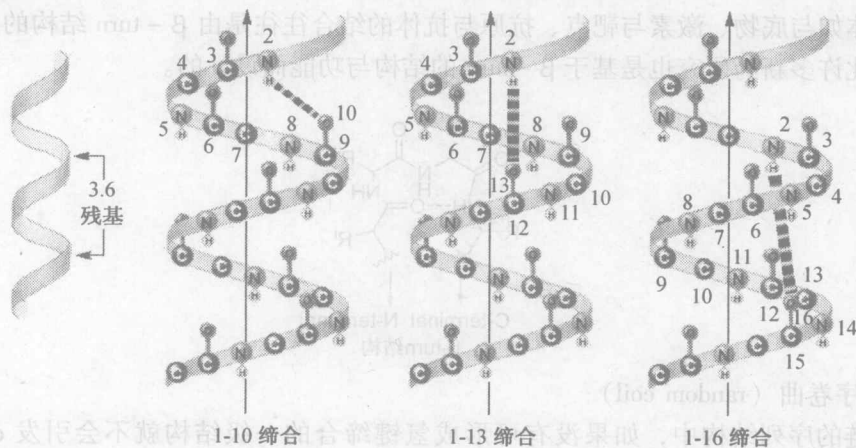
## 2. 高密度氢键缔合性

肽分子主要骨架结构是由 [ -氮原子-碳原子-碳原子- ] 反复串接而成。其中两个碳原子的化学状态又不相同，N原子右侧的为带侧链基（Gly除外）的 $\alpha$ -C原子，N原子左侧的为酰基C原子。除了Pro残基外，出现在肽及蛋白质分子中的其他十九种氨基酸残基上的N原子均带有一个H原子，后者作为H的供体可以与肽链上酰基中的O原子（H的受体）形成氢键。除了含残基数较少的寡肽外，一般的肽分子中往往存在密度很高的氢键缔合结构，即肽的二级结构。这些结构因为H供体与受体的位置差别，又存在一些不同的形式。

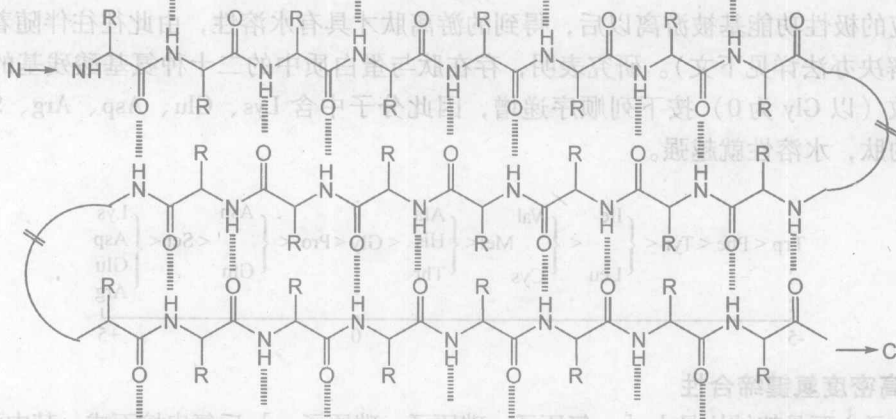


### ① $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha$ -Helix)

基于各残基的 $\alpha$ -C上侧链基团的空间位阻及电荷情况的差异，可使 $\alpha$ -螺旋有以下三种类型：



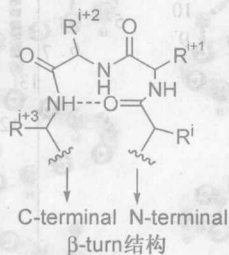
②  $\beta$ -片条或  $\beta$  折叠 ( $\beta$ -Sheet) 等  $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$  等基团均可形成氢键。当肽链上连续存在许多疏水性残基 (如 Leu、Ile、Val、Met、Tyr、Trp、Phe、Ala) 时, 更容易在每个酰胺结构上发生链间平行方式的氢键缔合:



从  $\beta$ -Sheet 的结构上可以看出沿着肽链延伸的方向主链两侧存在大量的氢键。它们可使肽链之间紧紧地聚集 (aggregation) 在一起。值得指出的是, 当  $\beta$ -Sheet 结构在整个主链二级结构中占的比例越大时, 这个肽的溶解性就越差。这种特征不但会造成缩合接肽反应存在困难, 而且在体内还会引发特殊的生物学后果。最明显的实例就是疯牛病、帕金森病及 AD (早老年性痴呆) 等的病理部位均含有大量的不溶性蛋白沉积, 其中含有致密的  $\beta$ -Sheet 结构。

### ③ $\beta$ -转角 ( $\beta$ -turn)

与  $\alpha$ -Helix 及  $\beta$ -Sheet 结构中存在大量氢键不同的是, 肽键中间有时存在相邻的三个残基由一个氢键形成的十元环结构, 由此结构延伸出的 N 端主链及 C 端主链几乎沿同一方向平行展开。这种含三个残基的十元环就是  $\beta$ -turn 结构。此外, 尚有两个残基参与的相当于七元环的  $\gamma$ -turn 结构。但这种结构中的 H 键缔合强度较弱。 $\beta$ -turn 处在肽链的 U 形拐弯的地方, 很容易与体内的蛋白受体接近。实际上, 引发许多生物活性效应的配基与受体如与底物、激素与靶点、抗原与抗体的结合往往是由  $\beta$ -turn 结构的参与而完成的。因此许多新药研究也是基于  $\beta$ -turn 的结构与功能而设计的。



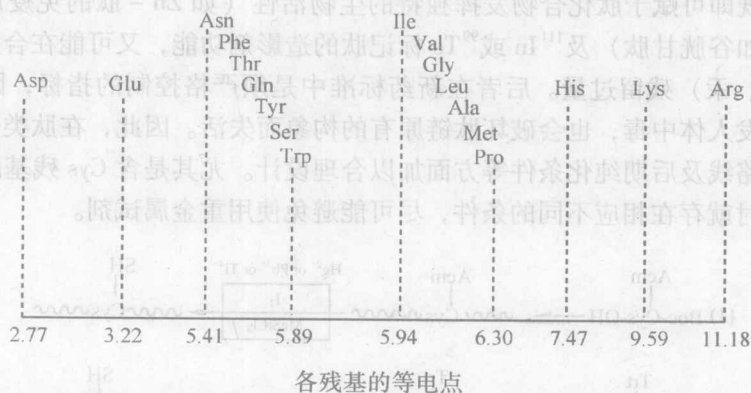
### ④ 无序卷曲 (random coil)

在肽链的序列结构中, 如果没有可形成氢键缔合的一级结构就不会引发  $\alpha$ -helix、

$\beta$ -sheet 及  $\beta$ -turn 等二级结构。这种肽分子的主链就会处于无规律、松散状态，称之为无序卷曲。这种结构与环境中的溶剂分子接触最充分，因而溶解性很好。具有无序卷曲链的肽化合物不但很容易组装合成，而且在机体内也易于转运。已有的研究表明，肽链中如果较多地存在 Pro、Gly、Asn、Ser、Asp、Thr 等残基，它们往往干扰规则的氢键缔合而出现无序卷曲状态。因此在结构设计中合理地引入这类残基，可能会改善中间体及终产物的溶解性。

### 3. 酸碱性

从氨基酸的侧链结构看，可以分为三大类：不含极性侧链的中性残基、含侧链羧基的酸性残基及含氨基、胍基或咪唑环的碱性残基。它们各自的酸碱性与其等电点相关：



当肽链中含有的 Asp 及 Glu 残基数多于 Lys、Arg 及 His 的残基数时，该肽为酸性肽，反之为碱性肽。尤其是分子量很大的多肽化合物酸碱性的存在不但直接影响其水溶性及分离纯化的条件（如等电点沉淀法、电泳法等），而且存在由离子键介导的三级结构，因而对其生物活性也产生影响。

### 4. 酶解性

肽的基本单元——氨基酸残基及其共价键结合方式均与蛋白质相同。因此肽化合物是许多蛋白水解酶的必然底物。从药物开发角度看，肽的易酶解性是致命的弱点。首先，肽类药物不能口服，否则它就像食物一样被消化、破坏；其次，即使是经注射进入体内，肽化合物在到达靶点之前也会被血液及组织中的蛋白酶降解，使其生物利用度极低。因此，直接以肽化合物用于临床治疗受到极大限制。仅有的几个实例如胸腺五肽（TP-5）及催产素（Oxytocin），虽然它们的半衰期很短（TP-5 约为 30 秒），但它们进入体内后很快到达靶点，在降解之前通过第二信使介导，激发出级联放大效应产生了药效学反应。遗憾的是适合此种情况的活性肽毕竟是很少的。为了减弱或回避酶的降解，主要有两种可行的途径：①对活性肽进行结构改造，使其具有非蛋白源性结构，以使迷惑蛋白酶的识别。②相应的药物剂型：如微球注射、贴膜剂、角膜滴剂等。

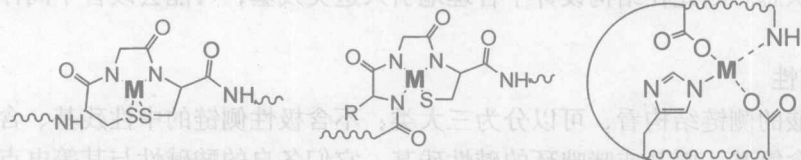
### 5. 热变性及重金属螯合性

虽然一些普通有机化合物也不宜经受高温的反应及纯化条件，但这种条件对许多肽化合物而言更具破坏性。尤其是分子量较大的多肽与蛋白质相似，它们多具有二级以至三级结构。这些结构使肽与蛋白质分子形成与生物活性密切相关的构象特点。当温度达到一定

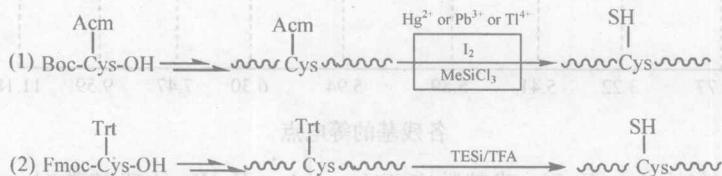


程度时，它们的二级、三级结构就会解体，原有的构象发生改变，导致生物活性丧失，就像鸡蛋经煮后蛋白凝固一样。因此，在多肽合成反应及分离纯化中应尽量避免加热的条件。

肽分子中具有的一OH、 $\text{-NH}_2$ 、 $\text{-COOH}$ 、 $\text{-SH}$  及咪唑基在一定的空间位置中可与多价的重金属 (M) 形成较稳定的螯合物 (Chelate)：



这种特性既即可赋予肽化合物发挥独特的生物活性 (如 Zn - 肽的免疫调节作用，重金属解毒剂，如谷胱甘肽) 及  $^{111}\text{In}$  或  $^{99}\text{Tc}$  标记肽的造影剂功能，又可能在合成工艺中造成重金属 (如铅、汞) 残留过量。后者在新药标准中是须严格控制的指标，因为这些重金属可以直接引发人体中毒，也会破坏肽链原有的构象而失活。因此，在肽类合成的全过程中，应从合成路线及后期纯化条件等方面加以合理设计。尤其是含 Cys 残基的肽合成中在脱除侧链保护时就存在相应不同的条件，尽可能避免使用重金属试剂。



## 6. 合成肽纯化的特殊性

游离肽化合物具有的高密度氢键缔合性及极性，很难用普通有机化合物纯化时常见的正相柱层析 (如硅胶柱) 及溶剂重结晶化获得纯品。因此透析法、凝胶柱过滤法，反相柱层 (如 HPLC) 法及 C - 18 固相萃取法等手段常见于肽的分离纯化。

① 透析纯化——当游离肽的分子量大于 3000Da 时，可以选用滤限为  $M_w - 1500\text{Da}$  左右的透析带，因为滤限太接近产物分子量，有丢失产物的风险；而滤限比分子量小的太多又达不到纯化目的。外相溶液一般为水。当分子量小于 1500Da 或难溶于水的疏水肽不适合此方法。此时可采用直接加水沉淀，随后用适当有机溶剂反复沉淀、研磨的方式处理。

② 凝胶过滤——适用的产物肽与透析纯化法相似。最常用的柱载物是葡聚糖 Sephadex。它又分为多种型号，与待纯化产物肽的分子量有关 (与透析法类似)。一般的匹配原则为： $M_w < 700\text{Da}$  用 G - 10， $M_w 700 \sim 1500\text{Da}$  用 G - 15， $M_w$  在  $1500 \sim 5000\text{Da}$  左右用 G - 25。此外再一种凝胶过滤的载体是羟丙醇化葡聚糖 (LH - 20)，它的较大优点是适合水溶性差的疏水肽的分离，可用醇、乙酸乙酯等有机溶剂洗脱。值得指出的是，用片段缩合法合成的肽产物尤其适合透析及凝胶过滤的纯化方式。因为这两种方式均为“分子筛滤”型纯化技术，它们的分辨率很低，往往很难把分子量接近的副产物 (一般是残缺肽) 与主产物分开。片段缩合法制备时，副产物比主产物缺失的不只是一个、两个或三个残基，而至少是缺失一个片段。在这种情况下，主、副产物的分子量差距很大，很容易用分子筛滤方式干净地除去副产物。