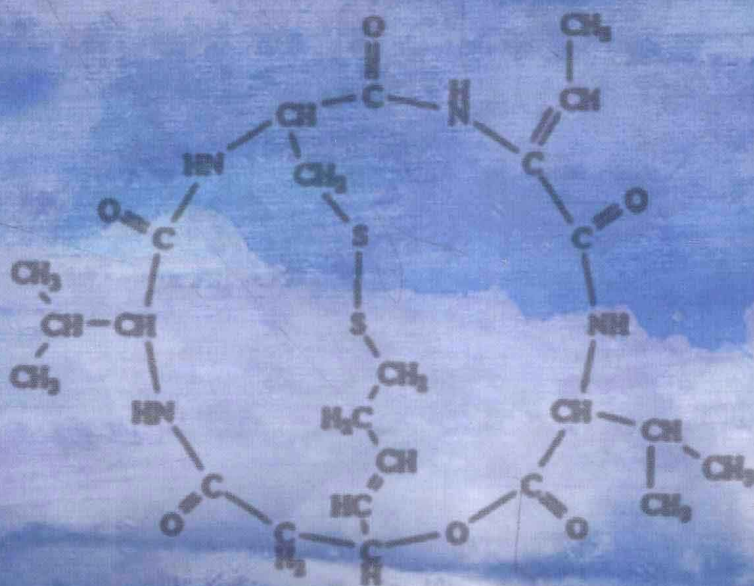


多肽药物研究与开发

*Peptide Drugs
Research and Development*

主编 厉保秋



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



多肽药物研究与开发

Peptide Drugs Research and Development

主 编 厉保秋

编 者 (以姓氏拼音为序)

高继友 厉保秋 厉凌子

路 杨 闫庆连

秘 书 赵 华

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

多肽药物研究与开发/厉保秋主编. —北京: 人民卫生出版社, 2011. 7

ISBN 978-7-117-14315-8

I. ①多… II. ①厉… III. ①多肽—药物—研究
IV. ①TQ464. 7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 077206 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

多肽药物研究与开发

主 编: 厉保秋

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 23

字 数: 558 千字

版 次: 2011 年 7 月第 1 版 2011 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-14315-8/R · 14316

定 价: 58.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



内容简介

本书是国内第一部以系统介绍多肽药物研发为主要内容的专业书籍。第一、二章简要介绍了多肽基础知识、多肽药物研究及开发趋势；第三、四章介绍了多肽药物原料药、制剂（尤其是非注射给药途径制剂）研究与开发的基础理论与技术；第五章简要阐述了多肽药物临床前研究与评价的一般常识和主要特点。本书重点内容为第六、七章，全面系统介绍了国内外已上市和进入临床试验阶段的多肽药物的最新信息和现状，包括其国内外知识产权信息，资料系统丰富，全面反映了国内外多肽药物研发的最新进展。

该书主要为药物研究院（所）及生物医药研发单位（企业）从事立项、研究、开发和管理的工作人员提供多肽药物研发的相关知识，也适用于关注多肽基础和应用研究领域的高校教师、研究生等人员阅读参考。



序

多肽是由多个氨基酸(一般指少于 50 个)通过肽键相连形成的一类化合物。与蛋白质相比,其结构简单、分子量小,但二者无本质区别。大量的研究表明,所有生命体都能合成多肽,同时几乎所有细胞和生理生化过程也都受多肽调节,多肽影响着生物体内许多重要的生理生化功能。因此,生命体内的众多生理活性多肽已被人工模拟和合成,并研发成为药物用于临床治疗。

1995 年至今,在通过各国药品主管部门评审的新药中,大约三分之一与多肽或蛋白质有关。截至目前,世界范围内已有 70 多种化学合成或基因重组的多肽药物被批准上市,100 多种多肽药物已进入临床试验阶段,400 多种多肽药物正在开展临床前研究。许多多肽类新药对艾滋病、癌症、肝炎、糖尿病、慢性疼痛等治疗效果显著,已成为新药研发热点之一。多肽药物市场亦发展迅速,年增长率达 20%,超过了总体医药市场 9% 的年增长率,为制药企业带来了巨大的利润。

多肽药物在世界范围内发展迅速,与其独特的优势有关。多肽药物几乎没有小分子药物的异化生物代谢毒性,副作用低;多肽药物不会产生蓄积性;多肽药物药效学显著、肯定,具有良好的分子认知性;多肽药物的构效关系比较明显,使研发过程目标明确、针对性强;多肽分子较小,易改造,易合成;合成多肽药物的原料相对易得;多肽药物适于规模化筛选与开发。因此,多肽药物在世界新药研发、生产、使用中已独具特色,且业已形成规模。

本书由多肽药物研发一线专业技术人员根据国内外最新新药研究要求及切身经验,并参考国内外大量文献资料编写而成,对多肽药物研发的各个阶段,包括药学研究、临床前研究等进行了系统的介绍,并对近年来国内外多肽药物研究的进展及众多在研及已上市的多肽药物进行了系统整理,具有鲜明的特色,较强的实用性。相信本书对从事多肽研究的技术人员及相关机构,特别是对多肽药物研发会有重要的参考价值。



山东大学药学院

2010 年 12 月于泉城

前言

多肽药物是伴随着生物体内活性蛋白质和多肽的发现及其药理活性研究,而发展起来的一类以氨基酸为基本结构单位的全新的药物。从20世纪初发现促胰腺分泌素至20世纪末,在近一个世纪的时间里,人类已从生物体内发现了数万种多肽类生物活性物质,涉及激素、神经、细胞生长、生殖、肿瘤病变、神经激素递质及免疫调节等诸多领域,这对多肽药物的发现和研发起了极大的推动作用。而基因重组技术及多肽合成技术的日渐成熟,则为多肽药物实现工业化大生产提供了技术基础。

目前,多肽药物的研发和生产在世界各国尤其欧美国家已形成规模,多肽药物的研发技术也日臻成熟,在新药研发、生产及药物治疗中开辟了独具特色的新领域。已上市及处于研发阶段的许多多肽类新药对艾滋病、癌症、肝炎、糖尿病、慢性疼痛等具有显著的治疗效果,已成为新药研发热点之一。近年,国内外有关多肽的书籍已出版几十部,主要针对肽的化学合成等领域,但针对多肽药物研发的较少,鲜有针对多肽药物各研发阶段相关技术及研发最新信息的系统论著,很难满足多肽药物研发者的需要。

笔者长期从事新药药理毒理学研究与评价及蛋白/多肽药物的研发,业已完成了多个蛋白/多肽类药物[rhIL-2 (¹²⁵Ser)、rhG-CSF、rhIL-11、Retepase、Eptifibatide、Glucagon、Pramlintide、Somatostate、Thymosin α_1 等]的研发,在长期实践中对多肽药物研发的大量实时动态资料进行了搜集和整理,并最终定稿。

本书在简要介绍多肽药理学相关基础知识和前沿信息的基础上,介绍了多肽药物研发的各个主要阶段的技术与要求,重点介绍了国内外已上市和进入临床试验阶段的多肽药物的最新信息和现状,为从事多肽研究的技术人员及相关机构,特别是为多肽药物研发提供了一部实用性强、有手册性作用的综合类多肽药物研发参考书籍,希望对读者有所裨益。

新药研发的难度和投入风险是众所周知的,并且每一个药物,哪怕是已上市的药物,始终处于动态研究中,随时会有新的研究内容和结果;随着时间的推进、研究的深入,有关多肽药物的研究报告、论文、会议资料及综述会越来越多,但限于著者专业水平,时间仓促,书中错谬、纰漏之处在所难免,恳请同行和读者批评指正。

厉保秋

2011年3月于山东大学趵突泉校区

目 录

第一章 多肽基础	1
第一节 概述	1
一、多肽的概念及化学结构	1
二、多肽的命名及理化性质	3
第二节 多肽分类与来源	6
一、多肽分类	6
二、多肽来源	10
第三节 多肽应用简述	14
一、多肽研究与应用历史	14
二、多肽在医药领域的应用	15
三、多肽在食品及化妆品行业的应用	20
四、多肽在农业及畜牧业的应用	20
参考文献	22
第二章 多肽药物的研究及开发趋势	24
第一节 多肽药物的发现	24
一、天然活性多肽的发现	24
二、基于肽库的多肽药物研发	26
三、基于蛋白质功能区域的多肽药物研发	36
四、基于分子设计和修饰的多肽药物研发	37
第二节 多肽药物研发现状及趋势	47
一、多肽药物产品发展现状及趋势	47
二、多肽药物市场发展现状及趋势	48
参考文献	49
第三章 多肽药物原料药合成及药学研究	51
第一节 多肽药物原料药的固相合成	51

目 录

一、多肽固相合成的基本原理和过程	51
二、多肽固相合成树脂	52
三、氨基酸保护基的选择	61
四、多肽固相合成常用偶联剂	66
五、溶剂化和溶剂	67
六、脱保护	67
第二节 多肽药物原料药的液相合成	67
一、逐步合成	68
二、片段分段合成	68
第三节 合成多肽的结构确证	71
一、多肽的结构分析方法	71
二、多肽的一级结构确证	73
第四节 多肽药物原料药的质量研究	76
一、合成多肽的纯度检查	76
二、合成多肽理化性质均一性的确定	76
三、合成多肽的有关物质检查	77
四、合成多肽的二硫键分析	78
五、合成多肽非对映异构体杂质的检查	78
六、合成多肽人为修饰的检测	79
七、合成多肽生物学效价的测定	79
参考文献	80
第四章 多肽药物制剂研究	82
第一节 多肽药物制剂的处方及工艺研究	82
一、多肽药物制剂的处方前研究	82
二、多肽药物制剂的处方及工艺研究	83
第二节 多肽药物制剂分析方法及稳定性研究	86
一、多肽药物制剂分析方法	86
二、多肽药物制剂稳定性研究	86
第三节 多肽药物注射制剂研究进展	87
一、缓释微球	87
二、埋植剂	89
三、原位微球	90
四、脂质体	90
五、微乳	91
六、原位水凝胶	92
七、纳米粒	93
第四节 多肽药物非注射制剂研究进展	93
一、口服制剂	94

二、鼻腔给药	98
三、肺部给药	99
四、经皮给药	100
参考文献	101
第五章 多肽药物临床前研究与评价	103
第一节 多肽药物的药物代谢动力学研究	103
一、生物样品中多肽药物的分析方法	103
二、多肽药物的药物代谢动力学研究	109
第二节 多肽药物的安全性研究和评价	118
一、概述	118
二、多肽药物的一般安全性评价	120
三、多肽药物的毒代动力学研究	120
四、多肽药物的免疫原性和免疫毒性研究	122
五、多肽药物非临床安全性评价案例	122
参考文献	123
第六章 国内外进入临床试验的多肽药物	126
第一节 国外进入临床试验的多肽药物	127
第二节 美国 FDA 历年来指定为“孤儿药”的多肽药物	206
第三节 国内进入临床试验的多肽药物	213
参考文献	221
第七章 国内外已上市的多肽药物	224
第一节 国外已上市的多肽药物及其国内注册信息	224
第二节 仅在国内上市的多肽药物	275
参考文献	282
附录	285
I: 国内外多肽/多肽药物主要专著及期刊	285
II: 合成多肽药物研制政府指导原则	287
III: 多肽合成中常用氨基酸及其理化参数	299
IV: 已上市的单一和复方氨基酸类药物	305
V: 多肽合成中常用 Boc 和 Fmoc 保护氨基酸及其理化参数	308
VI: 多肽合成常用的保护基团及其理化参数	312
VII: 多肽固相合成常用树脂及其常用参数	317
VIII: 多肽固相合成常用缩合剂及其理化参数	327
IX: 多肽合成常用溶剂及成分比	332
X: 多肽合成及多肽药物常见缩写、中英文对照	335

多肽是一类普遍存在于生物体内的由氨基酸组成的化学物质,迄今在生物体内发现的多肽已达数万种,而且具有广泛的生理活性。生命活动中的细胞分化、神经激素递质调节、免疫调节及肿瘤病变等生理、病理过程均与活性多肽密切相关。多肽广泛的生物活性及良好的安全性已显示出广泛的应用前景,其药物研发日益受到重视。20世纪90年代以来,伴随着生物化学和分子生物学技术的飞速发展及多肽合成技术的日臻成熟,越来越多的活性多肽已被开发用于医药、食品、化妆品、农业及畜牧业等领域。本章主要对多肽基础及多肽的应用作一般性介绍。

第一节 概 述

一、多肽的概念及化学结构

(一) 多肽的概念

多肽(peptides)是由氨基酸通过肽键相连构成的一类化合物,即一分子氨基酸中的 α -羧基与另一分子氨基酸中的 α -氨基脱除一分子水缩合形成的酰胺(图1-1),形成的酰胺键称为肽键(peptide bond)。

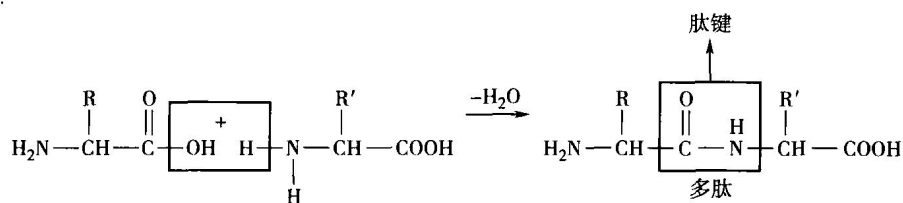


图 1-1 氨基酸的成肽反应

(二) 多肽的化学结构

1. 多肽氨基酸序列 多肽的氨基酸序列是其一级结构(primary structure)。多个氨基酸残基首尾相连形成肽链后,由于肽链的N端与C端性质不同,肽链中各氨基酸残基的连接顺序不仅会导致多肽结构的改变,也会导致多肽生物活性的变化。例如,天冬氨酸(Asp)与苯丙氨酸(Phe)缩合可以形成两种二肽,即 Asp-Phe 和 Phe-Asp(左侧为N端),前者的甲

酯(即阿斯巴甜)比蔗糖甜近 200 倍(Asp 与 Phe 均无甜味,而且 Phe 略带苦味),而后者的衍生物则无甜味。氨基酸残基的改变也会导致多肽生物活性的变化,如催产素与加压素两种物质均为含 9 个氨基酸残基的多肽,分子中只有第 3 位和第 8 位氨基酸残基不同,但二者生物活性却完全不同:加压素主要作用是抗利尿和升血压,而催产素主要引起子宫平滑肌收缩;如果末端封闭,则二者都会丧失活性。Zealand Pharma 公司已进入临床试验阶段的两个 39 肽 ZP1846 和 ZP1848 仅第 5 位和第 11 位氨基酸存在差别,前者用于治疗化疗导致的腹泻,后者用于预防和治疗克隆病(Crohn's disease)。

2. 肽键平面 肽键与相邻 α -碳原子组成的基团($-\text{C}_\alpha\text{-CO-NH-C}_\alpha-$)称为肽单元,多肽的主链骨架就是由多个肽单元连接而成的。在多肽氨基酸序列确定的前提下,其空间构象的表征主要与多肽分子结构中存在的三种扭转角(torsion angle)即 ϕ (ϕ)、 ψ (ψ)和 ω (ω)有关,如图 1-2 所示。由于肽键存在共振效应,具有明显的双键特征,不能自由旋转,因此,通常认为 ω 为 180° ,即组成肽单元的 6 个原子位于同一平面内,如图 1-3 所示,这个平面称为肽键平面。对一些简单的多肽和蛋白质肽键的 X 射线晶体衍射分析表明,肽单元的空间结构为平面结构,而且肽键呈反式构型。

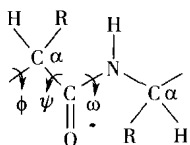


图 1-2 多肽的扭转角

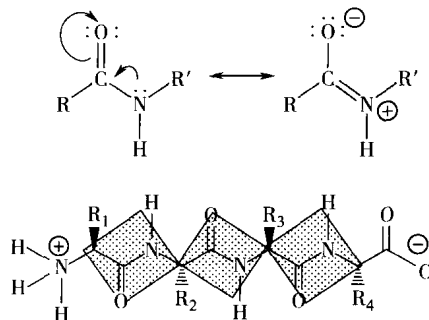


图 1-3 共振效应与多肽键平面

肽键平面的确定使得多肽二级结构的研究更加简化,只需考虑 ϕ 和 ψ 两种扭转角即可。Linus Pauling 于 1951 年首次提出多肽链的 α 螺旋结构,其推论的前提之一就是肽键不可自由旋转。

然而,最近研究表明,肽键并非完全的刚性结构,在对环状多肽及某些蛋白质和小肽的结构研究中,已发现了许多非平面肽键。

3. 氢键缔合与多肽二级结构 肽单元中两个碳原子的化学状态存在差别,N 右侧为带侧链取代基(Gly 除外)的 α -C,N 左侧为酰基 C。除 Pro 残基外,出现在多肽分子中的其他 19 种氨基酸残基上的 N 均带有一个 H,后者作为 H 的供体可与肽链上酰基中的 O(H 的受体)形成氢键。除含氨基酸残基较少的寡肽外,一般的多肽分子中往往存在密度很高的氢键缔合结构。

蛋白质分子较大,存在四级结构,而大多数化学合成多肽的空间结构相对简单,主要与多肽主链构象即多肽的二级结构(secondary structure)有关,如 α -螺旋和 β -折叠、 β -转角和不规则卷曲等。氢键缔合对多肽的规则二级结构如 α -螺旋、 β -折叠起稳定的作用。多肽的二级结构对其物理性质如溶解性、吸附性能及生物活性均存在影响。对于具有一定空间结构才能发挥活性的多肽药物,应进行必要的立体化学研究。

二、多肽的命名及理化性质

(一) 多肽的命名及肽链书写

肽链的一端有游离的氨基(-NH₂),称为氨基末端(amino terminal),又称N端或H端;多肽链的另一端有游离的羧基(-COOH),称为羧基末端(carboxyl terminal),又称C端或OH端(图1-4)。

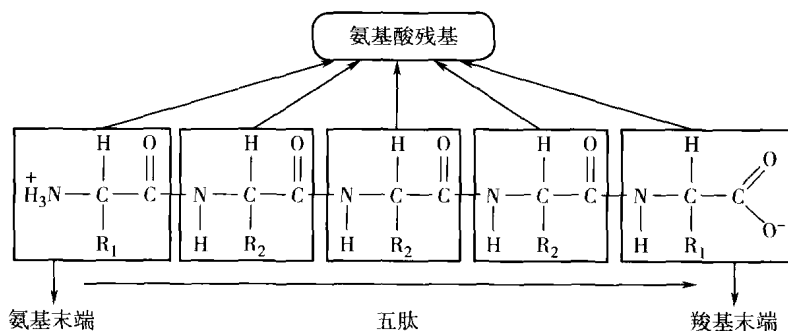


图 1-4 五肽结构示意图

多肽的命名是将多肽作为 N-酰基氨基酸形式,规定从肽链的 N 端氨基酸残基开始,氨基酸残基原名后加酰,处于肽链羧端的氨基酸残基用原名,称为某氨基酰某氨基酰某氨基酸。例如图 1-5 所示结构的四肽命名为:丝氨酰甘氨酰酪氨酰丙氨酸(Serylglycyltyrosylalanine)。

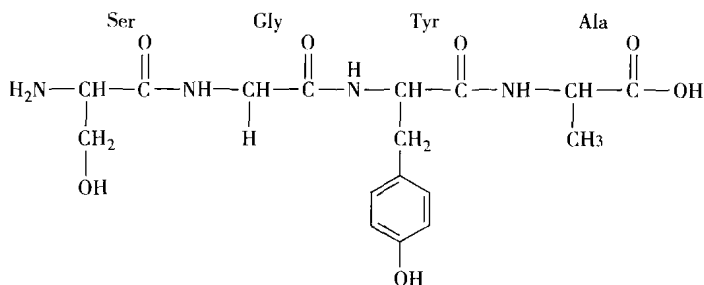


图 1-5 四肽 S·G·T·A 的结构

肽链中的氨基酸也可用三字母代码表示,按照氨基酸顺序从 N 端到 C 端依次书写,当三位代码的左右均无任何连接,则应理解为氨基(一般在左侧)和羧基均未被修饰,如 Ser-Gly 即为 H-Ser-Gly-OH。Ser-Gly-Tyr-Ala 表示多肽不处于离子化状态,如果需要强调个别多肽的离子化状态,可写作如下形式: H-Ser-Gly-Tyr-Ala-O⁻、⁺H₂-Ser-Gly-Tyr-Ala-OH 或 ⁺H₂-Ser-Gly-Tyr-Ala-O⁻, 分别表示阴离子、阳离子和两性离子。另外,有时也可用一字母缩写符号或中文第一个字来表示肽链。图 1-5 多肽名称表示如下:

三字母缩写: Ser-Gly-Tyr-Ala

阴离子表示: H-Ser-Gly-Tyr-Ala-O⁻

一字母缩写: S·G·T·A

阳离子表示: ⁺H₂-Ser-Gly-Tyr-Ala-OH

中文第一字: 丝-甘-酪-丙

两性离子表示: ⁺H₂-Ser-Gly-Tyr-Ala-O⁻

若氨基酸残基侧链取代基有必要表示出来,则取代基用紧接在氨基酸后的括号或上下垂直键表示,如图 1-6 所示四肽衍生物的缩写为 Ser-Lys(Boc)-Tyr(OtBu)-Ala:

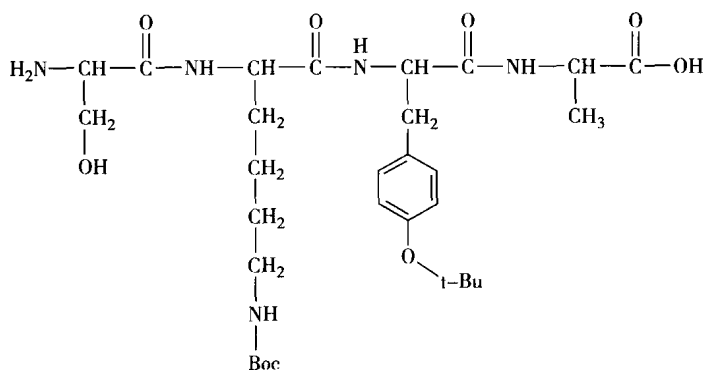


图 1-6 某四肽衍生物的结构式

如果已知多肽的全部序列,如:Ser-Gly-Tyr-Ala,则末端无需短线;如果所表示的是多肽的部分序列,则分子式两端都需加短线,如:-Ser-Gly-Tyr-Ala-;如果多肽的部分序列未阐明或者一定位置的氨基酸未确认,则将推测的氨基酸在括号内写出,用逗号隔开,如:H-Ser-Gly-(Tyr,Leu,Ala,Ser,Gly)-Tyr-Ala-OH。

(二) 多肽的理化特性

肽键本身是一种酰胺键,与一般的酰胺键一样,由于酰胺氮上的孤电子对与相邻羰基之间的离域共振作用(图 1-3),肽键的亚氨基(-NH-)在 pH 值 0~14 的范围内,没有明显的解离和质子化倾向,表现出高度稳定性。

多肽也可看作是各种氨基酸分子间脱水形成的通过肽键相连的聚合型有机化合物,但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,其侧链结构各不相同,因此多肽不是高分子聚合物。

多肽的共价键形成的链结构与蛋白质相同,因此,多肽与蛋白质之间存在许多相似的理化性质,但是多肽的肽链长度及分子量远远小于蛋白质,因此,二者的性质也存在一定的差别。

与普通有机化合物相比,多肽在物理、化学、生物活性及制备方法等方面具有自身的特性与特点。组成多肽的氨基酸残基的种类、数量各不相同,因此多肽间的化学性质与功能也有所不同,甚至存在很大差别,具有一定的多样性,但同时也具有一定的共性。

1. 多肽的两性解离和等电点 多肽在水溶液中是以兼性离子存在的,在 pH 值 0~14 范围内,肽键中的亚氨基不能解离,因此其酸碱性质主要取决于肽链 N 端和 C 端的自由氨基、自由羧基以及 R 基上可解离的官能团。肽链中游离 α -氨基和游离 α -羧基的间隔比氨基酸中的大,因此它们之间的静电引力较弱,多肽中的 C 端羧基的 pK 值比游离氨基酸中的大,而 N 端氨基的 pK 值比氨基酸中的小一些,R 基的解离与氨基酸相似。

作为带电物质,多肽可以在电场中移动,移动方向和速度取决于其所带电荷的种类和电荷量。多肽在溶液中所带的电荷既取决于其分子组成中碱性和酸性氨基酸的含量,也受溶液的 pH 值影响。当多肽溶液处于某一 pH 值时,多肽游离成正、负离子的趋势相等,即成为兼性离子(zwitterion,净电荷为 0),此时溶液的 pH 值称为多肽的等电点(pI)。由于各种

多肽分子所含的碱性氨基酸和酸性氨基酸的数目不同,因而其各自的等电点也不相同;碱性氨基酸含量较多的多肽,其等电点偏碱性;反之,酸性氨基酸含量较多的多肽,其等电点偏酸性。

2. 旋光性 除 Gly 外的氨基酸均具有旋光性。一般短肽的旋光度约等于组成该多肽的各个氨基酸的旋光度之和,长链多肽的旋光度一般大于组成该多肽的各个氨基酸的旋光度之和。

3. 颜色反应 氨基酸中的 α -氨基、 α -羧基及侧链取代基可与多种化合物作用,产生颜色反应,用于多肽的定性或定量分析。

(1) 茚三酮反应:多肽与过量的水合茚三酮混合在水溶液中加热,其末端 α -氨基酸残基(Tyr 除外)会氧化脱氨,形成游离的氨,并将茚三酮还原成还原型茚三酮,氨与还原型茚三酮发生作用,生成紫色化合物,该过程中 Tyr 的氨基氧化形成亚氨基结构,反应产物是黄色;在适当条件下,颜色的深浅与氨基酸的浓度成正比。通过与标准溶液比较,可进行氨基酸浓度的测定。它可以定性和定量测定微克数量级的氨基酸,是一种简单、精确和灵敏的氨基酸测定方法。常用的氨基酸自动分析仪的显色剂也是茚三酮。

(2) 黄色反应:硝酸可与氨基酸的苯基(如 Phe、Trp 和 Tyr)反应生成硝基苯衍生物而显黄色。

(3) 双缩脲反应:两分子的尿素经加热失去一分子 NH_3 而得到双缩脲,能够与碱性硫酸铜作用产生蓝色的铜-双缩脲络合物,称为双缩脲反应。肽键具有与双缩脲相似的结构特点,也可发生双缩脲反应,生成紫红色或蓝紫色络合物。双缩脲反应是多肽特有的颜色反应,游离的氨基酸不存在此反应。多肽水解加强时,氨基酸浓度升高,双缩脲呈色深度下降,借助分光光度计可测定多肽含量,检测多肽水解程度。

4. 水溶性 除了少数疏水多肽以外,多数多肽分子具有许多极性侧链基团,如-OH、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 等。它们可与水分子形成氢键缔合或与正、负离子形成极性区,所以很多多肽具有水溶性。但在多肽合成过程中作为中间体的有关多肽片段的侧链基团及端基(氨基或羧基)处于被保护状态,一般不溶于水,而溶于有机溶剂;只有合成结束,各种保护基团被脱除,相应的极性基团游离以后,得到的游离多肽才具有水溶性,但这往往导致分离纯化的困难。研究表明,构成多肽的 20 种天然氨基酸的水溶性相对系数按下列顺序递增:Trp<Phe<Tyr<(Ile, Leu)<(Val, Cys, Met)<(Ala, His, Thr)<Gly<Pro<(Asn, Gln)<Ser<(Lys, Asp, Glu, Arg)。因此分子中含 Lys、Glu、Asp、Arg 和 Ser 等残基越多的多肽,水溶性越强。

5. 酸碱性 根据氨基酸残基的侧链结构,可将氨基酸残基分为三类:不含极性侧链的中性氨基酸、含侧链羧基的酸性氨基酸及含氨基、胍基或咪唑环的碱性氨基酸。其酸碱性与各自的等电点有关。

当肽链中含有的 Asp 及 Glu 残基数多于 Lys、Arg 及 His 的残基数时,该多肽为酸性多肽,反之为碱性多肽。分子量大的多肽,酸碱性的存在不但直接影响其水溶性及分离纯化条件(如等电点沉淀法和电泳法等),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。

6. 酶解性 多肽的基本单元——氨基酸残基及其共价键结合方式均与蛋白质相同,因此多肽是许多蛋白水解酶的必然底物。从药物研发角度看,多肽的易酶解性是其致命的弱

点。首先,多肽药物不能口服,否则就会被消化道的各种蛋白水解酶消化、破坏,失去活性;其次,即使是经注射进入体内,多肽化合物在到达作用靶点之前也会被血液及组织中的蛋白酶降解,使其生物利用度大大降低。因此多肽用于临床治疗受到一定限制。

各种蛋白水解酶对多肽的水解往往具有一定的特异性,仅选择性作用于某些氨基酸位点,因此利用多肽的酶解性可得到小分子多肽片段;也可利用酶解的专一性,对多肽主链进行改造,使其避免某些酶的酶解;还可将多肽用于前体药物,在特定酶的作用下使多肽酶解,释放出活性成分,在一定程度上提高药物靶向性。

第二节 多肽分类与来源

一、多肽分类

一般可依据多肽的大小、结构特征以及其来源或功能等几个方面对多肽进行分类,但所有多肽的分类都是相对的。

(一) 按照多肽的大小分类

根据多肽所含氨基酸的数目对多肽进行分类,由 n 个 α -氨基酸缩合而成的多肽称为 n 肽,可以加前缀 di-(二肽)、tri-(三肽)、tetra-(四肽)、penta-(五肽)、hexa-(六肽)、hepta-(七肽)、octa-(八肽)、nona-(九肽)、deca-(十肽)等表示;对于较长的多肽,可以直接用阿拉伯数字表示,如 dodecapeptide 也可直接称为 12 肽。

根据目前的命名法则,一般由 15 个以下氨基酸缩合成的多肽统称为寡肽(Oligopeptide 希腊文“oligo”表示“少”)。本质上,多肽和蛋白质没有明确的划分界线,一般以含 51 个氨基酸残基、分子量为 5733Da 的胰岛素作为划分标准。大于此分子量的为蛋白质,小于此分子量的为多肽。本书所述多肽主要指含氨基酸残基小于等于 50 个的多肽。

(二) 按照多肽的结构分类

根据肽链的结构分为同聚肽(homomeric)和杂聚肽(heteromeric),然后还可根据连接键的不同进一步划分(图 1-7)。



图 1-7 按照多肽的结构分类

(三) 按照多肽的来源及功能分类

根据多肽的来源或功能进行分类是生物化学中最常用的方法。

1. 按照发现部位分类 例如神经肽按发现部位的分类见表 1-1。

表 1-1 神经肽按发现部位分类

发现部位及类别	名 称
脑肠肽	P 物质 (substance P, SP) 生长抑素 (somatostatin, SS) 神经降压肽 (neurotensin, NT) 缩胆囊素 (曾用名胆囊收缩素, cholecystokinin, CCK) 血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 胰高血糖素 (glucagon, G) 胰肽 (pancreatic polypeptide) 铃蟾肽 (曾用名蛙皮素, bombesin) 胰岛素 (insulin)
下丘脑神经肽	促皮质激素释放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH) 生长激素释放激素 (growth hormone releasing hormone, GHRH, GRH) 生长抑素 (somatostatin, SS) 促性腺激素释放激素 (gonadotropin releasing hormone, GnRH, LHRH) 促甲状腺激素释放激素 (thyrotropin releasing hormone, TRH)
垂体肽	加压素 (vasopressin, VP) 催产素 (oxytocin, OT) 促皮质素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) α -促黑激素 (α -melanocyte-stimulating hormone, α -MSH) 催乳素 (prolactin, PRL) 垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP)
内源性阿片肽	甲硫-脑啡肽 (Met-enkephalin, M-ENK) 亮-脑啡肽 (Leu-enkephalin, L-ENK) α -内啡肽 (α -endorphin, α -EN) β -内啡肽 (β -endorphin, β -EN)

2. 按照功能分类 根据多肽生理功能和药理作用可见如下较为重要的分类。

(1) 多肽激素和调节激素的多肽: 多肽激素是细胞合成的具有调节生理和代谢功能的微量有机物质, 可通过自身作为激素或调节激素反应发挥多种生理作用。某些多肽激素有前体(激素原)存在, 不表现出激素的生物活性, 在专一酶作用下, 伸展部分断开, 生成具有活性的多肽激素后才能通过血液到达靶细胞发挥作用。目前, 上市及进入临床试验的多肽药物中有许多即是这类多肽的模拟物。依据多肽激素的作用和分泌部位, 常见多肽激素如下:

1) 加压素及其衍生物: 加压素又称抗利尿激素或血管升压素, 具有抗利尿和升高血压两种作用。它能促进肾小管对水分的重吸收, 使尿量减少, 尿液浓缩, 口渴减轻, 适用于抗利尿激素缺乏所致尿崩症的诊断和治疗, 近年来发现其也有增加记忆的作用。与之相似的还有脑神经垂体素、鞣酸加压素、去氨加压素和苯赖加压素及鸟氨酸加压素等。

2) 催产素及其衍生物: 催产素由下丘脑视上核和室旁核合成并释放, 有促进子宫及乳腺平滑肌收缩的作用, 能使子宫平滑肌强烈收缩, 促进分娩, 同时能刺激乳腺腺泡周围肌上皮细胞的强烈收缩, 而引起排乳反应, 适用于产前子宫无力、阵痛迟缓、分娩时催生及减少产后出血, 也可用于产妇乳房充血、产褥期乳腺炎引起的泌乳不畅及手术后的肠麻痹。此类多肽激素还有去氨基催产素及酒石酸催产素等。

3) 促皮质素及其衍生物:促皮质素即促肾上腺皮质激素,是维持肾上腺正常形态和功能的重要激素。它的合成和分泌是垂体前叶在下丘脑促皮质素释放激素的作用下,在腺垂体嗜碱细胞内进行的。糖皮质激素对下丘脑及垂体前叶有长负反馈作用,抑制促皮质素释放激素及促皮质素的分泌。在生理条件下,下丘脑、垂体和肾上腺三者处于相对动态平衡中,促皮质素缺乏会引起肾上腺皮质萎缩、分泌功能减退。促皮质素还有控制本身释放的短负反馈调节。该类多肽还有锌促皮质素、磷锌促皮质素、明胶促皮质素、羧纤促皮质素、丝赖促皮质 18 肽、甘精促皮质 18 肽、锌促皮质 24 肽、促皮质 24 肽、25 肽及 28 肽等。

4) 下丘脑-垂体多肽激素:生长激素释放激素是下丘脑-垂体多肽激素中的一种。生长激素释放肽(growth hormone releasing peptides,GHRPs)是 20 世纪 90 年代研发的一类新的合成生物活性多肽,在动物体中具有促进生长激素(GH)释放的生物活性。目前已合成的 GHRPs 有四种形式:GHRP-6、GHRP-2、GHRP-1 和海沙瑞林(hexarelin),它们均具有 Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂的氨基酸序列。该类多肽还有促性腺素释放激素、促甲状腺素释放激素、生长激素抑制素、促黑色素细胞抑制激素、促黑色素细胞释放激素、催乳素释放激素、催乳素抑制激素、促皮质素释放激素等。

5) 消化道激素:胃肠道激素中的胰泌素,又称促胰液素或促胰泌素等,是由 27 个氨基酸残基组成的强碱性单链多肽。胰泌素的主要生理作用是促进胰的外分泌,增加胰液总量及所含的碳酸氢盐,以中和十二指肠内的胃酸,保证消化酶活力,参与胃液分泌的调节,可增加血管显影的清晰度和缩短动脉充盈时间,故临床上用于配合胰血管等造影,辅助胰腺肿瘤或囊肿的诊断。该类多肽激素还有促胃泌素 4 肽、5 肽、14 肽、17 肽、34 肽,胆囊收缩素 8 肽、33 肽、39 肽,抑胃肽、胃动肽、血管活性肽、胰肽、P 物质、神经降压肽、蛙皮肽 14 肽及 10 肽等。

(2) 细胞因子模拟肽:利用已知细胞因子的受体从肽库内筛选细胞因子模拟肽,近年已成为国内外研究的热点。国外已筛选到了人促红细胞生成素、人促血小板生成素、人生长激素、人神经生长因子及白细胞介素 1(interleukin-1,IL-1)等多种生长因子的模拟肽,这些模拟肽的氨基酸序列与其相应的细胞因子的氨基酸序列不同,但具有相应细胞因子的生物活性,并且具有分子量小的优点。已有多个细胞因子模拟肽进入临床前或临床研究阶段。

(3) 免疫活性肽:免疫活性肽是一类存在于生物体内具有免疫功能的多肽,这种多肽在体内一般含量较低,结构多样,是一种细胞信号传递物质,通过内分泌、旁分泌及神经分泌等多种作用方式发挥其生物学功能,沟通各类细胞间的相互联系。

免疫活性肽具有多方面的生理功能,不仅能增强机体免疫能力,在动物体内发挥重要的免疫调节作用;而且能刺激机体淋巴细胞的增殖,增强巨噬细胞的吞噬能力,提高机体对外界病原微生物的抵抗能力。此外,外源阿片肽中的内啡肽、脑啡肽及强啡肽也具有免疫刺激作用,能刺激淋巴细胞增殖。如甲硫脑啡肽(M-Enk)能使脂多糖刺激的小鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1,促进小鼠脾淋巴细胞增殖及 IL-2 和 IL-6 的产生。从动物胸腺组织中提取胸腺肽,添加于艾维因鸡饲料中或肌注,可显著提高鸡外周淋巴细胞百分率和血浆中 T4 水平, GH 和 T3 水平也有升高趋势。

免疫活性多肽有内源性和外源性两种。显示有免疫活性的内源性多肽包括干扰素、白细胞介素和 β-内啡肽等。它们是激活和调节机体免疫应答的中心。外源免疫活性多肽根据来源可分为微生物来源、植物来源及动物来源免疫活性多肽。微生物来源的免疫活性多肽