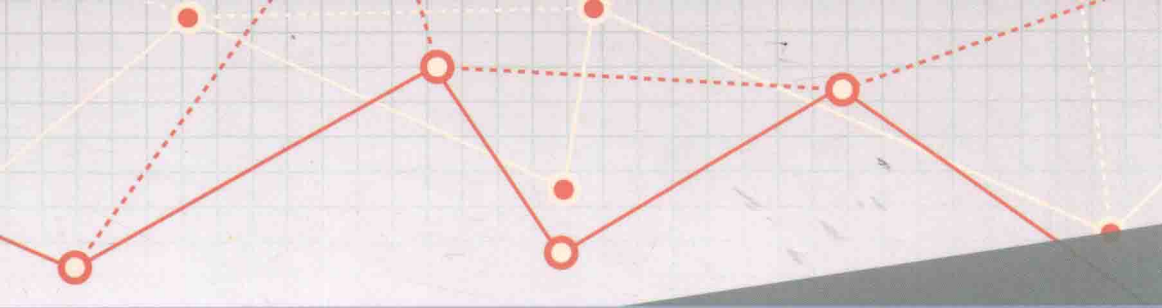




生物活性多肽特性与 营养学应用研究

王立晖 著

生物活性多肽特性与 营养学应用研究

王立晖 著



天津大学出版社

TIANJIN UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

生物活性多肽特性与营养学应用研究 / 王立晖著.
—天津:天津大学出版社,2016.11
ISBN 978-7-5618-5725-0

I. ①生… II. ①王… III. ①生物活性-多肽-关系
-食品营养-研究 IV. ①Q516 ②R151.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 286594 号

出版发行	天津大学出版社
地 址	天津市卫津路 92 号天津大学内(邮编:300072)
电 话	发行部:022-27403647
网 址	publish.tju.edu.cn
印 刷	廊坊市海涛印刷有限公司
经 销	全国各地新华书店
开 本	169mm × 239mm
印 张	9.75
字 数	202 千
版 次	2016 年 11 月第 1 版
印 次	2016 年 11 月第 1 次
定 价	39.00 元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,烦请向我社发行部门联系调换
版权所有 侵权必究

生物活性肽是蛋白质中 20 个天然氨基酸以不同组成和排列方式构成的从二肽到复杂的线性、环形结构的不同肽类的总称,是源于蛋白质的多功能化合物。活性肽能够调节机体功能,营养、滋润、修复、赋活细胞,调节内环境,增强肌体免疫力,净化血液,促进血液循环等。活性多肽营养价值高、食用安全性高,具有提高食物氨基酸的利用率,提高矿物质的利用率,促进生长发育等功能,还在制药领域有着非常广泛的应用。科学家已在人体中发现了 100 多种生物活性肽,它们对于维持人体的神经、消化、生殖、循环等系统的正常生理活动起着非常重要的作用。

生物活性多肽因与人体健康的紧密关系而成为当前国际食品药品界最热门的研究课题和极具发展前景的功能因子。本书旨在介绍活性多肽的概念、性质、分类,活性肽与食品营养的关系以及活性肽的制备工艺等。本书可供从事生物活性多肽领域研究和开发的科研院所、企业的生产技术人员参考,也可作为高等院校相关专业师生的教学参考书。

由于时间仓促,加之作者水平有限,不足之处望广大读者积极指正。

王立晖

2016 年 2 月于天津



第一章 多肽概述	(1)
第一节 多肽的概念及性质	(1)
一、多肽的概念及分类	(1)
二、多肽的来源及理化性质	(4)
第二节 多肽的研究及应用	(5)
一、多肽的研究历程	(5)
二、多肽在医药领域的应用	(6)
三、多肽在食品及化妆品行业的应用	(11)
第二章 活性肽	(14)
第一节 海洋生物活性肽	(14)
一、鱼类肽	(14)
二、藻类肽	(16)
三、贝类肽	(17)
四、其他海洋生物肽	(18)
第二节 陆地生物活性肽	(19)
一、植物肽	(20)
二、动物肽	(33)
三、其他陆地生物肽	(43)
第三章 活性肽与食物营养	(48)
第一节 活性肽与食物营养简述	(48)
一、活性肽营养学的概念	(48)
二、活性肽营养学的地位	(49)
三、活性肽营养学的发展趋势	(51)
第二节 活性肽在保健和功能食品中的应用	(52)
一、活性肽在抗氧化类食品中的应用	(55)
二、活性肽在增强免疫力类食品中的应用	(63)
三、活性肽在增加骨密度类食品中的应用	(72)
四、活性肽在缓解体力疲劳类食品中的应用	(77)
五、活性肽在美容类食品中的应用	(84)

六、活性肽在减肥类食品中的应用	(89)
第四章 活性肽的制备	(92)
第一节 常用活性肽制备方法	(92)
一、化学合成技术	(92)
二、分离提取法	(94)
三、基因表达法	(96)
四、酸碱等方法	(97)
第二节 新式活性肽制备方法	(98)
一、里程碑式的发现	(98)
二、酶法多肽的作用	(100)
三、酶法多肽的合成	(102)
四、酶法多肽合成的特点及优势	(104)
第三节 合成多肽的检测验证	(104)
一、多肽的结构分析方法	(105)
二、多肽的一级结构确证	(107)
三、合成多肽的纯度检查	(110)
四、合成多肽生物学效价的测定	(111)
第五章 典型活性多肽酪啡肽的研究与制备	(112)
第一节 酪啡肽的结构特征与生理功能	(112)
一、阿片类生物多肽	(112)
二、酪啡肽的发现	(113)
三、酪啡肽的结构特征	(114)
四、酪啡肽的生理功能	(114)
第二节 酪啡肽的制备方法	(116)
一、酶解法	(116)
二、化学合成法	(120)
三、直接提取法	(121)
四、重组菌法	(121)
第三节 酪啡肽制备最佳水解条件的确立	(121)
一、水解试验过程与结果分析	(122)
二、水解样品制备	(129)
第四节 酪啡肽制备最佳分离条件的确立	(129)
一、柱层析分离的试验方法	(130)
二、凝胶层析分离试验条件的确立	(132)

三、胃蛋白酶水解样品层析分离结果与分析	(136)
第五节 酪啡肽的高效液相色谱检测	(140)
一、酪啡肽的高效液相色谱检测的试验方法	(140)
二、液相色谱检测试验结果与分析	(140)

第一章

多肽概述

多肽是人体蛋白质功能体现的结构单位,是生命活动必需的活性物质,广泛分布于人体各个组织和器官中,并调节人体各项生理功能。人体缺乏必要的多肽,免疫系统和其他功能系统就会发生紊乱,就会出现各种慢性病。

第一节 多肽的概念及性质

一、多肽的概念及分类

(一) 氨基酸和蛋白质

多肽与氨基酸和蛋白质是密不可分的,在了解什么是肽以前,我们先了解一下什么是氨基酸和蛋白质。

1. 氨基酸

氨基酸(amino acid),是指含有氨基和羧基的一类有机化合物的通称,是生物功能大分子蛋白质的基本组成单位,是构成动物营养所需蛋白质的基本物质。

生物体内的各种蛋白质是由 20 种基本氨基酸构成的。除甘氨酸外均为 $L\text{-}\alpha$ -氨基酸(其中脯氨酸是一种 $L\text{-}\alpha$ -亚氨基酸),其结构通式如图 1-1 所示(R 基为可变基团)。

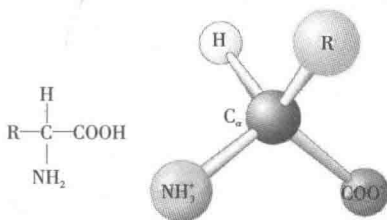


图 1-1 氨基酸的结构通式

除甘氨酸外,其他蛋白质氨基酸的 α -碳原子均为不对称碳原子(即与 α -碳原子键合的四个取代基各不相同),因此氨基酸可以有立体异构体,即可以有不同的构型(*D*-型与*L*-型)。

从营养学的角度,可以将氨基酸分为必需氨基酸和非必需氨基酸。必需氨基酸指的是人体自身(或其他脊椎动物)不能合成或合成速度不能满足人体需要,必须从食物中摄取的氨基酸。对成人来讲必需氨基酸共有八种:赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸。如果饮食中经常缺少上述氨基酸,可能会影响健康。

非必需氨基酸的种类较多,包括丙氨酸、精氨酸、天门冬氨酸、胱氨酸、脯氨酸、酪氨酸等。“非必需”并非人体不需要这些氨基酸,而是人体可以通过自身合成或从其他氨基酸转化来得到它们,不一定非从食物中摄取不可。有些非必需氨基酸的摄入量,还可影响必需氨基酸的需要量。例如,当膳食中半胱氨酸和酪氨酸充裕时,可分别节省对蛋氨酸和苯丙氨酸的需要量。因此,半胱氨酸和酪氨酸又被称为半必需氨基酸或条件必需氨基酸。必需氨基酸与非必需氨基酸见表1-1。

表1-1 必需氨基酸与非必需氨基酸

必需氨基酸	非必需氨基酸
缬氨酸、亮氨酸	精氨酸、甘氨酸、丝氨酸
异亮氨酸、赖氨酸	组氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸
甲硫氨酸、苏氨酸	酪氨酸、脯氨酸、羟氨酸
苯丙氨酸、色氨酸	半胱氨酸、谷氨酸、胱氨酸

2. 蛋白质

蛋白质是由 α -氨基酸按一定顺序结合形成一条多肽链,再由一条或一条以上的多肽链按照其特定方式结合而成的高分子化合物。蛋白质是构成人体组织器官的主要物质,在人体生命活动中起着重要作用,可以说没有蛋白质就没有生命活动的存在。每天饮食中的蛋白质主要存在于瘦肉、蛋类、豆类及鱼类中。

蛋白质分子上氨基酸的序列和由此形成的立体结构构成了蛋白质结构的多样性。蛋白质具有一级、二级、三级、四级结构,蛋白质分子的结构决定了它的功能。

一级结构(primary structure):氨基酸残基在蛋白质肽链中的排列顺序称为蛋白质的一级结构,每种蛋白质都有唯一而确切的氨基酸序列。

二级结构(secondary structure):蛋白质分子中肽链并非直链状,而是按一定的规律卷曲(如 α -螺旋结构)或折叠(如 β -折叠结构)形成特定的空间结构,这是蛋白质的二级结构。蛋白质的二级结构主要依靠肽链中氨基酸残基亚氨基($-\text{NH}-$)上的氢原子和羰基上的氧原子之间形成的氢键而实现的。

三级结构(tertiary structure):在二级结构的基础上,肽链还按照一定的空间结构进一步形成更复杂的三级结构。肌红蛋白、血红蛋白等正是通过这种结构使其表面的空穴恰好容纳一个血红素分子。

四级结构(quaternary structure):具有三级结构的多肽链按一定空间排列方式结合在一起形成的聚集体结构称为蛋白质的四级结构。如血红蛋白由4个具有三级结构的多肽链构成,其中两个是 α -链,另两个是 β -链,其四级结构近似椭球形状。

蛋白质的四级结构如图1-2所示。

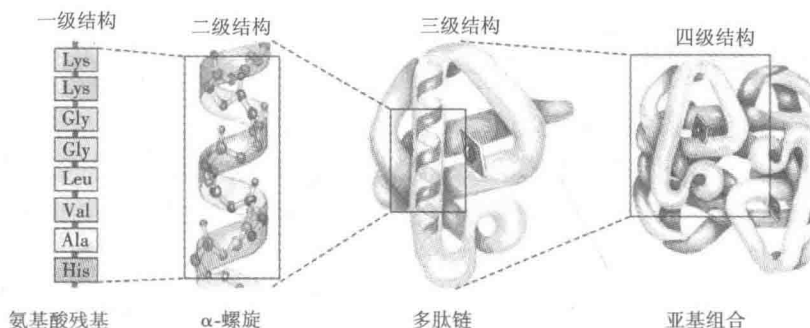


图1-2 蛋白质的四级结构

(二) 多肽的概念

多肽也简称为肽(peptide),是 α -氨基酸以肽键连接在一起而形成的化合物,它也是蛋白质水解的中间产物。

一般肽中含有的氨基酸的数目为2~9,根据肽中氨基酸的数量的不同,肽有多种不同的称呼:由两个氨基酸分子脱水缩合而成的化合物叫作二肽,同理类推还有三肽、四肽、五肽等,一直到九肽。通常由10~100个氨基酸分子脱水缩合而成的化合物叫多肽,它们的分子量低于10 000 Da(Dalton,道尔顿),能透过半透膜,不被三氯乙酸及硫酸铵所沉淀。也有文献把由2~10个氨基酸组成的肽称为寡肽(小分子肽);10~50个氨基酸组成的肽称为多肽;由50个以上的氨基酸组成的肽就称为蛋白质,故蛋白质有时也被称为多肽。

(三) 多肽的分类

多肽有生物活性多肽和人工合成多肽两种。

生物活性多肽是由蛋白质中20个天然氨基酸以不同组成和排列方式构成的从二肽到复杂的线性、环形结构的不同肽类的总称,是源于蛋白质的多功能化合物。活性肽具有多种人体代谢和生理调节功能,易消化吸收,有促进免疫、调节激素、抗菌、

抗病毒、降血压、降血脂等作用,食用安全性极高,是当前国际食品界最热门的研究课题和极具发展前景的功能因子。

人工合成多肽是以氨基酸为原料,用化学方法合成的多肽或蛋白质。其目的是:

- (1)验证天然多肽或蛋白质的结构;
- (2)生产天然的、在生物体内含量极微但有医疗或其他生物效用的多肽;
- (3)改变部分结构,研究其结构与功能的关系,以设计更有效的药物。

二、多肽的来源及理化性质

(一)多肽的来源

多肽大体上有以下几种来源。

(1)乳肽:主要由动物乳中酪蛋白与乳清蛋白酶解制得,比原蛋白更易溶解于水和被人体消化吸收,且耐酸、耐热、渗透压低,是活性肽中需求量最大、应用最广的保健食品素材。

(2)大豆肽:由大豆蛋白酶解制得。具有低抗原性和抑制胆固醇、促进脂质代谢及发酵等功能。用于食品能快速补充蛋白质源,消除疲劳以及作为双歧杆菌增殖因子。

(3)玉米肽:由玉米蛋白酶解制得。具有抗疲劳,改善肝、肾、肠胃疾病患者营养的功能,并可促进酒精代谢,用于醒酒食品。

(4)豌豆肽:由豌豆蛋白酶解制得。口味温和,廉价,可用于婴儿配方乳粉。

(5)卵白肽:由卵蛋白酶解制得。具有易消化吸收、低抗原、耐热等特点,可用于流动食品、营养食品或糕点中。

(6)畜产肽:由牲畜肌肉、内脏、血液中的蛋白酶解制得,如脱脂牛肉酶解制得牛肉肽,含较高支链氨基酸和肉毒碱,是低热量蛋白质补充剂;新鲜猪肝经酶解、脱色、脱臭、超滤精制得肝肽,可作促铁吸收剂,用于婴儿食品、饮料、糕点等;猪血经酶解制得血球蛋白肽,可用于各类食品。

(7)水产肽:由各种鱼肉蛋白酶解制得。如沙丁鱼肽,是血管紧张素转换酶抑制肽,不含苦味,可用于制作防治高血压的保健食品或制剂。

(8)丝蛋白肽:由蚕茧丝蛋白酶解制得。具有促进酒精代谢、降低胆固醇、预防痴呆等多种功能,可用于醒酒食品和特种保健食品。

(9)复合肽:由动植物、水产、畜产等多种蛋白质混合物酶解制得。具有改善脂质代谢功能,可用于各类保健食品。

(二) 多肽的理化性质

1. 多肽的物理性质

肽的两性:与氨基酸相似,肽类物质也具有两性 and 等电点。利用多肽的等电点,可以进行肽类物质的分离。

黏度与溶解度:天然蛋白的水溶液当其浓度超过 13% 时就会形成凝胶,不利于蛋白溶液的制备;而多肽即使在 50% 的高浓度下和在较宽的 pH 范围内仍能保持溶解状态,同时还具有较强的吸湿性和保湿性,这使高蛋白饮料和高蛋白果冻的生产成为可能。

渗透压和对产品质构的调节作用:当一种液体的渗透压比体液高时,易使人体周边组织细胞中的水分向胃肠移动而出现腹泻。多肽溶液的渗透压比氨基酸溶液要低,因此可以克服因氨基酸溶液渗透压高而导致的问题。

多肽具有抑制蛋白质形成凝胶的性能,可利用此性质来调整食品的质构。如水产、肉、禽蛋白在加热时因形成凝胶而变硬,适量加入大豆多肽,就会起到软化的作用。

2. 多肽的化学性质

肽类物质的化学性质和氨基酸基本相同,都是由其特征性官能团决定的,如与茚三酮的反应、与邻苯二甲醛的反应、与荧光胺的反应等。但肽和蛋白可以发生双缩脲反应而氨基酸则不能。

第二节 多肽的研究及应用

一、多肽的研究历程

从肽的发现到后来的逐步发展和产业化,已经有一百多年的历史,以下是其研究发展的脉络。

1902 年,伦敦医学院的两位生理学家贝利斯(Bayliss)和斯塔林(Starling)在动物胃肠里发现了胰泌素,这是人类第一次发现多肽物质。

1952 年,美国生物化学家斯坦利·科恩(Stanley Cohen)在将肉瘤植入小鼠胚胎的试验中,发现小鼠交感神经纤维生长加快、神经节明显增大。1960 年,这种现象被证明是因一种多肽物质在起作用并将此多肽物质称为神经生长因子(NGF)。

20 世纪 60 年代,梅里菲尔德(Merrifield)首次提出多肽固相合成法(简称 SPPS),并因此于 1984 年荣获诺贝尔化学奖。

1965 年,我国科学家成功合成结晶牛胰岛素,这是世界上第一次人工合成多肽

类生物活性物质;此胰岛素就是 51 肽。

20 世纪 70 年代,神经肽的研究进入高峰,脑啡肽及阿片肽相继被发现,人类开始了对多肽影响生物胚胎发育的研究。

1975 年,休伊斯(Hughes)和科斯特里兹(Kosterlitz)从人和其他动物的神经组织中分离出了内源性肽,开拓了“细胞生长调节因子”这一生物制药新领域。

1986 年,诺贝尔生理学 and 医学奖同时授予发现“生长因子”的美国生物化学家斯坦利·科恩(Stanley Cohen)和意大利女生物学家丽塔·莱维-蒙塔尔奇尼(Rita Levi-Montaleini)。

1987 年,美国批准了第一个基因药物——人胰岛素。

20 世纪 90 年代,人类基因组计划启动。随着一个个基因被解密,多肽研究及其应用出现空前繁荣的局面。基因表达的生命现象都是由蛋白质呈现的,于是科学家把眼光放在生物工程的另一个庞大的计划上,那就是蛋白质工程,而蛋白质工程从某种意义上说就是多肽研究。

1996 年,中国制药企业三九集团旗下的武汉九生堂生物工程有限公司用生物酶降解全卵蛋白,人工合成世界上第一个小分子活性多肽,即“酶法多肽”,并实现了工业化和产业化。《人民日报》海外版报道了这一消息,震惊了世界。发明人邹远东,获得联合国“和平使者”称号及国家发明创业奖。

2005 年,瑞典皇家科学院宣布,将 2004 年诺贝尔化学奖授予以色列科学家阿龙·切哈诺沃(Aaron Ciechanover)、阿夫拉姆·赫什科(Avram Herskho)和美国科学家欧文·罗斯(Irwin Rose),以表彰他们发现了泛素介导的蛋白质降解。

蛋白质是构成包括人类在内的一切生物的基础,科学家在这个领域的研究成果,代表了 21 世纪的高端科技。

二、多肽在医药领域的应用

(一) 治疗用多肽

自然界中存在着大量的生物活性多肽,在生理过程中发挥着非常重要的作用,涉及分子识别、信号转导、细胞分化及个体发育等诸多领域。这些活性多肽可以开发为药物、疫苗等应用于临床。

近十年来,国外对生物活性多肽进行了大量的基础和应用研究,并将一系列多肽药物推向市场,获得了巨大的经济及社会效益。

1. 内源性多肽

随着人类基因组计划的完成和蛋白质组学及其他组学研究的广泛开展,人类对自身的认识越来越深入,对于体内多肽、蛋白质功能的了解越来越透彻。存在于体内

的信号分子有相当数量是肽和蛋白质,许多疾病的发生、发展均与这些物质的失衡有关。因此,源于生物体本身的蛋白质、多肽类药物日益受到重视,它们被称为内源性活性多肽或蛋白质。由于生物活性多肽在体内含量极少而效应极强、分布广泛,因而为多种药物研发提供了天然先导化合物。

2. 外源性多肽

生物活性多肽的另一重要来源是外源性肽,尤其是源于动物的多肽类毒素和抗生素,如:蜂毒、蛇毒、蛙毒、蝎毒及芋螺毒素等。其生理效应强,作用广泛,在药物研发中已引起极大关注,特别是在镇痛、抗炎、抗肿瘤及治疗神经系统疾病领域,不乏已经被开发为药物的先例。目前主要是从生物肽库(噬菌体、细菌、酵母以及哺乳细胞表面肽库)内筛选生物活性多肽。

3. 合成多肽

内源性和外源性生物活性多肽为多肽药物研发提供了巨大的天然活性肽库,尽管它们可以直接开发为药物,但由于其固有的特性,往往需要经过化学修饰,赋予其适合药物开发的特性,才能开发为有价值的药物。以内源性和外源性生物活性多肽为先导的多肽药物研发是新药研发的捷径之一,给多肽药物提供了更广阔的发展空间。20世纪80年代末至90年代出现的生物(基因)合成肽库和化学合成肽库,给多肽药物以及制药工业带来革命性进展。合成多肽1998年被美国科学家评为进展最快的十个领域之一。

4. 多肽药物的优点

多肽药物多数源于内源性肽或其他天然肽,因此其结构清楚,作用机制明确;与一般有机小分子药物相比,多肽药物具有活性高、用药剂量小、毒副作用小、无代谢异化等突出特点,与蛋白质药物相比,较小的多肽免疫原性较低;可化学合成,产品纯度高,质量可控。另外,多肽药物可运用多种手段进行化学修饰,对多肽药物本身的分子结构进行改造,以改变其理化性质和药代动力学性质(易酶解、半衰期短、口服生物利用度低)。而化学修饰是多肽药物的重要研究内容。科研人员可以根据多肽药物的这些特点,进行结构设计和化学修饰,充分发挥其优点,克服或避免其缺点,针对相应的适应症,达到研发的预期目标。

5. 多肽药物的缺点

(1)多肽药物的结构限制:多肽药物的化学结构决定其活性,影响活性的结构因素主要为氨基酸及其排序、末端基团、肽链和二硫键位置等。此外,药物的空间结构即二维、三维结构也同样影响其生物活性。另外,多肽的分子量较大,颗粒大小在1~100 nm之间,因此不能透过半透膜,这也是其药用的限制因素之一。

(2)多肽药物的稳定性限制:多肽药物在体内外环境可能因受到多种复杂的化学降解和物理变化而失活,如凝聚、沉淀、消旋化、水解及脱酰胺基等。

(3)多肽药物的生物利用度限制:多肽及蛋白质药物半衰期短、清除率高、细胞膜转运能力差、易被体内酶和细菌及体液破坏,非注射给药生物利用度低,一般仅为百分之几。

(二)诊断用多肽

目前,用多肽抗原装配的抗体检测试剂包括:肝炎病毒、艾滋病病毒、人巨细胞病毒、梅毒螺旋体、囊虫、锥虫、莱姆病及类风湿等检测试剂。使用的多肽抗原大部分是从相应致病体的天然蛋白中分析筛选获得的,有些是从肽库内筛选的全新小肽。同时可制备标记多肽用作造影剂进行影像性检查和诊断。

(三)多肽作为药物载体及前体药物的应用

多肽在体内表现出载体作用,可将目的药物吸附、粘贴、装载于载体上;而且多肽是一种生物活性物质,毒性作用较小,具有良好的生物相容性,可制成各种载体材料控制药物释放。因此,近年来将多肽作为药物载体、利用多肽对药物载体进行修饰及将多肽用于前体药物等领域逐渐引起人们的关注,具有良好的应用前景,也拓宽了多肽在医药领域的应用范围。

1. 受体导向的多肽靶向药物载体

小片段多肽具有低毒性、靶向性、无免疫原性、良好的生物相容性等特点。研究已发现,肿瘤细胞表面会高表达多肽类受体,因此一些短肽可作为导向物,以配体—受体特异性结合的方式应用于靶向药物递送系统。短肽在各种受体介导的靶向药物递送系统中的作用受到越来越广泛的研究。

(1)蛙皮素(bombesin, BN)/胃泌素释放多肽(gastrin releasing peptide, GRP)受体介导的靶向药物递送系统:Keller 等应用 RT-PCR 技术及放射配基综合试验对 3 种肾癌细胞株(A498、ACHN 及 786-0)进行了分析,结果表明这些细胞株的细胞膜上都有 BN/GRP 受体的表达。将一种蛙皮素 $\text{Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-}\psi(\text{CH}_2\text{—NH})\text{—Leu-NH}_2(\text{RC-3094})$ 作为配体,与吡咯啉阿霉素(2-pyrrolino doxorubicin, P-DOX, AN-201)制成蛙皮素复合物(AN-215),研究发现 AN-215 与肾癌细胞膜上的 GRP 受体的亲和力较高;与游离的 AN-201 比较,其抑瘤效果更显著,A498、ACHN 及 786-0 肿瘤体积和重量分别减少了 64.9%、74.9%、59.2%、60.7%、67.6% 和 65.4%;而游离的 AN-201 对肾癌细胞增殖基本没有抑制效果。

Nagy 等将羧基末端 BN-(6-14)或 BN-(7-14)五肽序列的蛙皮素与阿霉素(doxorubicin, DOX)或 AN-201 形成蛙皮素复合物,其结构共同点是在 13 位和 14 位之间存在一个缺失的肽键($\text{CH}_2\text{—NH}$ 或 $\text{CH}_2\text{—N}$),与五肽序列 BN/GRP 受体的亲和力高。体外试验证明,二者对表达 BN/GRP 受体的膜腺癌细胞、肺癌细胞、前列腺癌细胞和

胃癌细胞具有相似的抑瘤效果。

(2)生长抑素(somatostatin, SRIF)受体(SSTs)介导的靶向药物递送系统:结肠直肠癌的治疗通常面临抑癌基因 p53 的变异,严重阻碍了治疗的进展。Szepeshazi 等研究发现结肠直肠癌细胞膜上高表达 SSTs。将 SRIF 类似物 RC-121 与 AN-201 连接,形成靶向 SRIF 复合物(AN-238),能将药物 AN-201 定向转运到肿瘤细胞,使肿瘤细胞内药物的浓度得到显著提高。

(3)十肽 SynB3 受体介导的靶向药物递送系统:近年来,Castex 等研究了许多小分子多肽类载体及其应用,例如十肽 SynB3 可通过受体,介导药物(包括抗肿瘤药物)在脑部的吸收。将一种 SynB3 与 AN-201 通过丁二酸即共价连接形成复合物 P-DOX-SynB3。该复合物能显著增加 AN-201 的脑部吸收,同时减少 DOX 的心脏毒副作用。

(4)黄体酮释放激素(luteinizing hormone releasing hormone, LHRH)受体介导的靶向药物递送系统: Buchholz 等把 LHRH 作为靶向配体,连接 DOX 或 AN-201 形成复合物(AN-207)。对乳腺癌细胞的体外试验结果表明, LHRH 可作为多肽配体,将药物靶向转运到各种表达 LHRH 受体的肿瘤细胞,如乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、子宫内膜癌细胞及前列腺癌细胞等,从而更好地发挥抗癌作用,显著抑制肿瘤细胞增殖。对 3 种卵巢癌细胞株 UCI-107、OV-1063 和 ES-2 以不同方式给药的体内试验结果显示,靶向蛙皮素的复合物(AN-215)、靶向生长抑素的复合物(AN-238)和靶向黄体酮释放激素的复合物(AN-207)单独给药均对卵巢癌细胞有显著抑制作用,而不会诱导耐药基因表达。

(5)其他多肽介导的靶向药物递送系统: Pan 等证明包含 RGD(Arg-Gly-Asp)序列的寡肽(K)₁₆GRGDSPC 是一种易合成的、高效无毒的载体,可把外源性基因靶向转入小鼠的骨髓基质细胞(BMSCs)内。

Szynol 等筛选出一个源于富组蛋白的含有 14 个氨基酸的小分子多肽(dhvar5),具有高度疏水的 N 末端及带阳离子 C 末端,因此具有两亲性。利用重组技术将合成的 dhvar5 与一种重链抗体 VHH 进行重组形成免疫交联物 VHH-dhvar5,并在 VHH 和 dhvar5 之间插入 Xa 因子切割位点,可提高活性物质的释放。

2. 穿膜肽作为药物载体的应用

近年来一些具有生物膜穿透作用的多肽,即穿膜肽(cell-penetrating peptides, CPPs)相继被发现。研究表明,这些多肽具有水溶性和低裂解性,并可通过非吞噬作用进入细胞,甚至细胞核,可以将大于本身 100 倍的分子运入细胞内,而且对宿主细胞几乎没有毒性作用。

迄今为止,已发现穿膜肽可介导蛋白质、多肽、寡聚核酸、DNA、质粒及脂质体等一系列生物大分子进入各种不同的组织和细胞,发挥各自的生物活性。天然穿膜肽

的发现始于1988年,Green和Frankel证实HIV-1反式激活蛋白Tat能跨膜进入细胞质和细胞核内;1997年,Vives等发现HIV-Tat中一个富含碱性氨基酸、带正电荷的多肽片段与蛋白转导功能密切相关,称之为蛋白转导域(protein transduction domain, PTD)。

研究较多的天然穿膜肽有三种,分别来自HIV-1、HIV-Tat、果蝇同源异型转录因子Antp和单纯疱疹病毒1型(HSV-1)VP22转录因子。此外,四川大学研究发现人鼠同源的钟蛋白的DNA结合序列也是一种穿膜肽,称为钟蛋白穿膜肽,该穿膜肽已被申请国家专利。另外,还在人周期蛋白(humanperiod1)、信号转导蛋白SynB1、纤维母细胞生长因子FGF-4、HIV融合蛋白gp41、朊病毒、外毒素A、 γ 分泌酶等其他蛋白质中发现具有穿膜效应的多肽序列。这表明穿膜肽可能广泛存在于自然界。

在对天然穿膜肽的研究中,人们逐渐发现了一些与穿膜活性有关的结构特点,从而利用这些特点设计合成了一些穿膜多肽,进一步促进了穿膜肽的研究和发展。天然穿膜肽均为带正电荷的长短不等的多肽片段,其中富含Arg和Lys等碱性氨基酸残基。利用这一特性,现已人工合成了具有穿膜能力的多聚Arg和多聚Lys;而且9个Arg和9个Lys残基构成的序列比Tat蛋白转导域的蛋白转导活性更强。圆二色谱分析发现,众多天然穿膜多肽均具有 α -螺旋结构,目前已在这一理论基础上设计出具有更加规则 α -螺旋结构的穿膜肽,体内外试验证实,改良的穿膜肽穿透力更强、效率更高。

3. 聚多肽共聚物自组装的药物载体作用

由氨基酸及其衍生物聚合形成的聚多肽,因其独特的结构和性能,近年来在分子链构象研究、蛋白质结构模拟和生物医学等领域受到了关注。其中两亲性聚多肽共聚物的自组装行为的研究为开发具有生物安全性、可控释、可降解的新型药物载体创造了条件。有关两亲性聚多肽共聚物,特别是接枝共聚物的自组装行为和载药性能的研究报道,目前尚不多,许多影响因素也未做研究。

4. 多肽在药物载体修饰剂方面的应用

除直接用作药物载体外,多肽也可用于对其他常用药物载体,如脂质体、PEG等进行修饰。

Maria等将包含RGD三肽序列的多肽连接到脂质体的磷脂基团,同时对所制备的脂质体多肽进行纯化与分析。

Maeda等分离出Ala-Pro-Arg-Pro-Gly(APAPG)多肽,能特异性地结合于肿瘤新生血管。应用APAPG修饰的脂质体几乎可以主动靶向到所有的实体瘤。

5. 多肽在前体药物方面的应用

阿霉素具有广泛的抗肿瘤作用,但是由于缺乏靶向性,其毒性比较大。DiatosSA公司研发的DTS-201,将阿霉素与小肽结合制成前体药物。试验表明,该前体药物可