



## 自然科学基金项目进展专栏

专题论述 多肽化学专刊

## 多肽新药研发策略研究进展

张伟, 宋竞婧, 张邦治, 杨雯乐, 王锐\*

甘肃省新药临床前研究重点实验室; 兰州大学基础医学院生物化学与分子生物学研究所, 兰州 730000

\*通讯作者, E-mail: wangrui@lzu.edu.cn

收稿日期: 2013-03-01; 接受日期: 2013-03-30; 网络版发表日期: 2013-05-22

doi: 10.1360/032013-120

**摘要** 多肽药物具有生物活性高、药用剂量小、产业化开发优势明显等诸多优点, 已成为全球关注的创新药物研发热点之一。但其代谢不稳定、半衰期短及较难通透组织屏障等缺点严重阻碍了多肽新药在临床治疗中的广泛应用。为了解决这些限制多肽药物的瓶颈, 本课题组发展了一系列的改造策略。通过这些策略的应用, 以期加快多肽药物临床应用的步伐。本文主要结合本课题组的工作对多肽新药创制过程中所遇到的关键问题及解决思路进行综述。

**关键词**多肽药物  
神经肽  
抗菌肽  
靶向肽  
穿膜肽

## 1 引言

肽是由氨基酸分子之间通过脱水缩合而形成的一类有机分子化合物。一般将氨基酸残基数小于 50 的肽称为多肽, 而将超过 50 个氨基酸残基的肽称为蛋白质。但是, 从化学角度考虑, 多肽和蛋白质并没有本质区别。几乎各种生命体都能合成并分泌多肽化合物, 迄今发现的多肽已达数万种。多肽涉及激素、神经、细胞生长和生殖等各个领域, 其重要性在于广泛参与并调节体内各系统、器官和细胞功能活动。因此, 许多具有生理活性的多肽被研发成为药物而广泛用于内分泌、免疫、神经、肿瘤及感染等疾病的诊断与治疗<sup>[1-3]</sup>。

最初, 药学界为多肽药物的市场潜力感到兴奋, 然而在化学合成第一个肽类激素的数十年间, 多肽药物的应用却进展甚微, 期间只有少数的多肽被批准成为临床用药。但是, 随着生物技术及多肽合成技术的日趋成熟, 多肽药物的研发步伐也越来越快。截至目前, 世界范围内已有超过 60 多种化学合成或基因重组的多肽药物被批准上市, 另外有大量的多肽药物已进入或是完成临床研究。多肽药物市场发展迅速, 年增长率达 20%, 超过了总体医药市场 9%

的年增长率, 为制药企业带来了丰厚利润, 这预示着未来治疗类多肽药物的市场供求会有巨大的提升空间<sup>[2-3]</sup>。

与小分子化学药物和蛋白质药物相比, 多肽药物有其独特的优势。相对小分子化学药物而言, 多肽药物的适应症广泛且疗效显著, 具有良好的分子认知性; 几乎没有代谢毒性, 不会蓄积于体内而引起中毒, 因而毒副作用低。而相对蛋白质药物而言, 多肽药物的稳定性较好、纯度高、几乎没有免疫原性且合成成本较低; 多肽分子小, 构效关系研究较为容易, 因而易改造; 多肽药物针对性强, 研发目标明确, 开发成功率高, 研发周期相对较短; 多肽药物易合成, 原料相对易得, 产业化开发优势明显<sup>[1-5]</sup>。总之, 多肽药物的质量控制水平接近于小分子化学药物, 活性接近于蛋白质药物, 因而在新药研发、生产、使用过程中独具特色, 已成为当前国际新药研发的重要方向之一。

尽管如此, 多肽药物的一些内在缺陷却成为限制其研发的瓶颈, 如易于酶解而导致的代谢稳定性差、半衰期短; 生物利用度低; 组织屏障通透性差<sup>[1-5]</sup>。为解决限制多肽新药创制的这些瓶颈, 本课题组发展了多种高效的不对称合成技术, 合成了一系列具有多功能的非天然氨基酸模块, 从而克服现有的多

肽药物化学修饰方法相对单一及修饰结构单元有限等问题;此外,还发展了一些新型的多肽改造策略,如“阴阳平衡”策略、嵌合策略、多位点化学修饰策略等.本文主要结合本课题组的工作对多肽新药创制过程中所遇到的关键问题及解决思路进行综述.

## 2 非天然氨基酸的手性合成

氨基酸是多肽最基本的构建单元,尽管天然存在的氨基酸只有 20 种,但是这 20 种氨基酸通过不同的组合可以形成多种多样的多肽分子和蛋白质分子.而非天然氨基酸的引入可赋予多肽药物一些新的特性,如酶解稳定性的提高、组织穿透能力的增强及治疗指数的提高等.因而,发展多功能的新型非天然氨基酸模块对于多肽药物研发有着十分重要的作用.到目前为止,不同构型的光活非天然氨基酸合成仍是一项具有挑战性的工作.本课题组利用不对称合成技术发展了非天然氨基酸类模块的高效合成方法,实现了非天然氨基酸的高效、便捷、经济和绿色合成.构建了一个基于松香胺-手性硫脲双功能催化剂的新型体系,实现了非天然  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -氨基酸以及具有重要药物活性的非天然氨基酸的高效合成<sup>[6-17]</sup>.此外,发展了一个以双核锌为催化剂的体系,成功实现了亚磷酸酯对不饱和羰基化合物以及亚胺的不对称加成,产品可以很容易地衍生成各种氨基膦酸以及其他含磷化合物<sup>[18-23]</sup>.利用此体系,成功实现了 $\beta$ -烯基氨基酸(Map)和 $\alpha$ -羟基- $\beta$ -氨基酸的高效不对称合成<sup>[24-26]</sup>.同时还发展了一系列有机催化的反应体系来获得各种官能化的吡啶和氧代吡啶,从而构建非天然色氨酸模块<sup>[27-32]</sup>.最近,本课题组发展了一种新颖的 C-H 活化策略,实现了 $\alpha$ -烷基- $\alpha$ -氨基酸和 $\gamma$ -氨基酸的高效不对称合成<sup>[33, 34]</sup>.

## 3 镇痛多肽的设计及活性研究

1997 年 4 月, Zadina 课题组<sup>[35]</sup>通过替换 Tyr-W-MIF-1 (Tyr-Pro-Trp-Gly-NH<sub>2</sub>) 的第 4 位氨基酸及免疫组化筛选肽库的方法,从牛脑中分离发现了两种内源性阿片肽,由于其性能类似于吗啡,所以分别命名为内吗啡肽-1 (endomorphin-1, EM-1) 和内吗啡肽-2 (endomorphin-2, EM-2),随后从人大脑皮层中也分离出了这两种阿片肽(图 1).内吗啡肽(endomorphins,

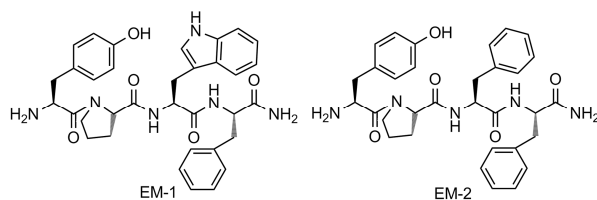


图 1 内吗啡肽-1 (EM-1) 和内吗啡肽-2 (EM-2) 的结构

EMs)能在更低浓度下产生与吗啡等效的镇痛作用而没有部分吗啡样副作用,因而具有开发成强效低毒的镇痛药物的潜质.但是,将内吗啡肽发展成为临床应用的镇痛药物仍面临许多难题<sup>[36]</sup>: (1) 受体选择性和亲和性有待提高; (2) 酶解稳定性差; (3) 血脑屏障(BBB)通透性差; (4) 耐受及成瘾.由于内吗啡肽只有 4 个氨基酸构成,结构相对简单,这为阿片领域的研究及新高效镇痛药物的开发提供了更加便捷的模式.

### 3.1 具有高 MOR 亲和性及选择性的内吗啡肽类似物的设计

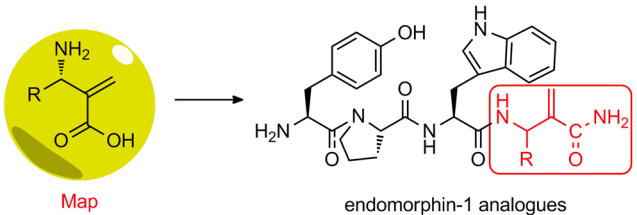
阿片肽受体在神经系统中的含量十分丰富,同时该类受体也大量存在于哺乳类动物的外周组织中.在过去 20 年中,多个课题组经过不断努力发现了 3 种经典的阿片肽受体亚型:  $\mu$ 受体(MOR),  $\delta$ 受体(DOR) 和  $\kappa$ 受体(KOR).通过对这 3 个阿片肽受体的一级结构序列比对发现,3 个受体之间有着比较高的同源性.在这些阿片肽受体中, MOR 是产生镇痛效果的主要靶点蛋白,因而研究和开发针对 MOR 的配体具有重要的医药学意义.离体和在体实验表明,内吗啡肽对 MOR 的亲和性和选择性最高,因而被公认为 MOR 的内源性配体.根据“地址域-信息域”的概念,一般将内吗啡肽的 N 端 3 个氨基酸(Tyr-Pro-Tyr/Phe)视为信息域,而 C 端 Phe-NH<sub>2</sub> 则被视为与受体结合的“地址域”.为了提高内吗啡肽对 MOR 的亲和性,本课题组<sup>[37-40]</sup>合成了一系列 C 末端修饰的内吗啡肽类似物.结果表明,正确限制第三芳香药效团的空间位置是内吗啡肽类似物与 MOR 发生作用的一个至关重要的因素,而第 4 位非芳香性氨基酸的手性决定了第三芳香药效团以及其他药理学中心空间排列是否适合与 MOR 结合.内吗啡肽的 C 末端酰胺为一较小的中性或弱碱性基团时,能够使其更加倾向于跟 MOR 结合,较大的基团或酸性基团则会降低 MOR 的亲合力.最近,本课题组<sup>[25]</sup>将非天然  $\beta$ -烯基氨基酸 Map 引入到

内吗啡肽-1 的 C 端, 获得了一系列的先导化合物(图 2). 非天然氨基酸 Map 的引入提高了内吗啡肽类似物与 MOR 的相互作用, 并稳定了类似物的生物活性结构, 因而类似物的 MOR 亲和性及镇痛活性也有大幅度增强. 此外, 本课题组通过主链修饰、侧链修饰以及二聚化对内吗啡肽的构效关系进行了研究, 进一步说明第三芳香药效团以及脯氨酸在内吗啡肽与 MOR 的结合中发挥着重要作用<sup>[41, 42]</sup>. 本课题组还利用核磁共振技术, 从空间构型上验证并直观解释了由于内吗啡肽类似物结构改变所引起的受体亲和活性以及镇痛活性的改变, 并为开发高受体亲和性的神经肽药物提供了重要的结构信息<sup>[40, 43, 44]</sup>. 另外, 为了探明内吗啡肽及其类似物同受体之间的相互作用, 本课题组利用计算机分子模拟方法将一系列的内吗啡肽类似物对接到 MOR 当中. 对接后, 采用细胞膜-水的环境对配体-受体复合物进行了结构上的优化. 通过分析这些类似物的结合方式, 发现了一些较为显著的结合差异, 同时还发现了一些在配体的识别与结合中起到重要作用的氨基酸, 如 Asp147, Thr218, Phe221, Phe237, Trp293, Try299, Glu229. 配体-受体

相互作用模型和受体的定点突变试验有着非常好的一致性, 这将有利于通过分子模拟的方法来设计具有高 MOR 亲和性的内吗啡肽药物<sup>[45]</sup>.

### 3.2 具有高血脑屏障通透性的内吗啡肽类似物的设计

内吗啡肽具有高效的镇痛活性, 其镇痛机制主要是通过中枢神经系统介导的. 然而内吗啡肽作为多肽类药物, 血脑屏障通透性差严重阻碍了其发展成为临床镇痛药物. 为了提高内吗啡肽通透血脑屏障的能力, 本课题组发展了一种新的“阴阳平衡”策略对内吗啡肽-1 进行改造: 通过 N 末端 Tyr<sup>1</sup> N<sup>α</sup>胍基化修饰(阳离子化)来增加分子的血脑屏障通透性, 同时将 C 末端芳香环对位氯化修饰(阴离子化)以期提高多肽分子的整体脂溶性. 通过经典液相法合成了一系列全新的内吗啡肽-1 类似物(图 3)<sup>[46]</sup>. 通过系统的体外和体内活性检测, 成功筛选获得了包括 GDAPC 在内的一系列先导化合物. 皮下注射这些化合物时能引起长时程的镇痛活性, 从而克服了内吗啡肽-1 难以通透血脑屏障的致命弱点. 小鼠静脉注射上述



| Peptide | Sequence                                    | $K_i^\mu$ (nM) | $K_i^\delta$ (nM) | $K_i^\mu/K_i^\delta$ |
|---------|---------------------------------------------|----------------|-------------------|----------------------|
| 1       | Tyr-Pro-Trp-Phe-NH <sub>2</sub>             | 2.60 ± 0.21    | 6080 ± 640        | 2338                 |
| 2       | Tyr-Pro-Phe-Phe-NH <sub>2</sub>             | 3.20 ± 0.13    | 6420 ± 330        | 2006                 |
| 3       | Tyr-Pro-(Ph)Map-Phe-NH <sub>2</sub>         | 103 ± 2        | 59290 ± 5680      | 576                  |
| 4       | Tyr-Pro-Trp-(Ph)Map-NH <sub>2</sub>         | 0.535 ± 0.076  | 56010 ± 5180      | 104692               |
| 5       | Tyr-Pro-(Ph)Map-(Ph)Map-NH <sub>2</sub>     | 15.7 ± 0.4     | 10980 ± 1680      | 699                  |
| 6       | Tyr-Pro-Trp-(4-FPh)Map-NH <sub>2</sub>      | 13.7 ± 0.9     | 17040 ± 2050      | 1244                 |
| 7       | Tyr-Pro-Trp-(4-ClPh)Map-NH <sub>2</sub>     | 7.12 ± 1.05    | 10810 ± 1340      | 1518                 |
| 8       | Tyr-Pro-Trp-(3-ClPh)Map-NH <sub>2</sub>     | 3.49 ± 0.25    | 5820 ± 450        | 1668                 |
| 9       | Tyr-Pro-Trp-(2-ClPh)Map-NH <sub>2</sub>     | 5.48 ± 0.38    | 14930 ± 1620      | 2724                 |
| 10      | Tyr-Pro-Trp-(4-MeOPh)Map-NH <sub>2</sub>    | 4.83 ± 0.91    | 10200 ± 1430      | 2112                 |
| 11      | Tyr-Pro-Trp-(piperonyl)Map-NH <sub>2</sub>  | 7.73 ± 1.02    | 18690 ± 1330      | 2418                 |
| 12      | Tyr-Pro-Trp-(2-furyl)Map-NH <sub>2</sub>    | 0.221 ± 0.014  | 50010 ± 2880      | 226290               |
| 13      | Tyr-Pro-Trp-(3-furyl)Map-NH <sub>2</sub>    | 0.274 ± 0.066  | 50930 ± 6710      | 185876               |
| 14      | Tyr-Pro-Trp-(1-naphthyl)Map-NH <sub>2</sub> | 26.0 ± 3.5     | 84680 ± 10490     | 3264                 |
| 15      | Tyr-Pro-Trp-(2-naphthyl)Map-NH <sub>2</sub> | 27.4 ± 0.8     | 84850 ± 9650      | 3097                 |

图 2 含有β-烯基氨基酸 Map 的内吗啡肽-1 类似物及其受体亲和活性<sup>[25]</sup>.  $K_i^\mu$ 和  $K_i^\delta$ 分别表示多肽分子对μ和δ受体的表观解离常数

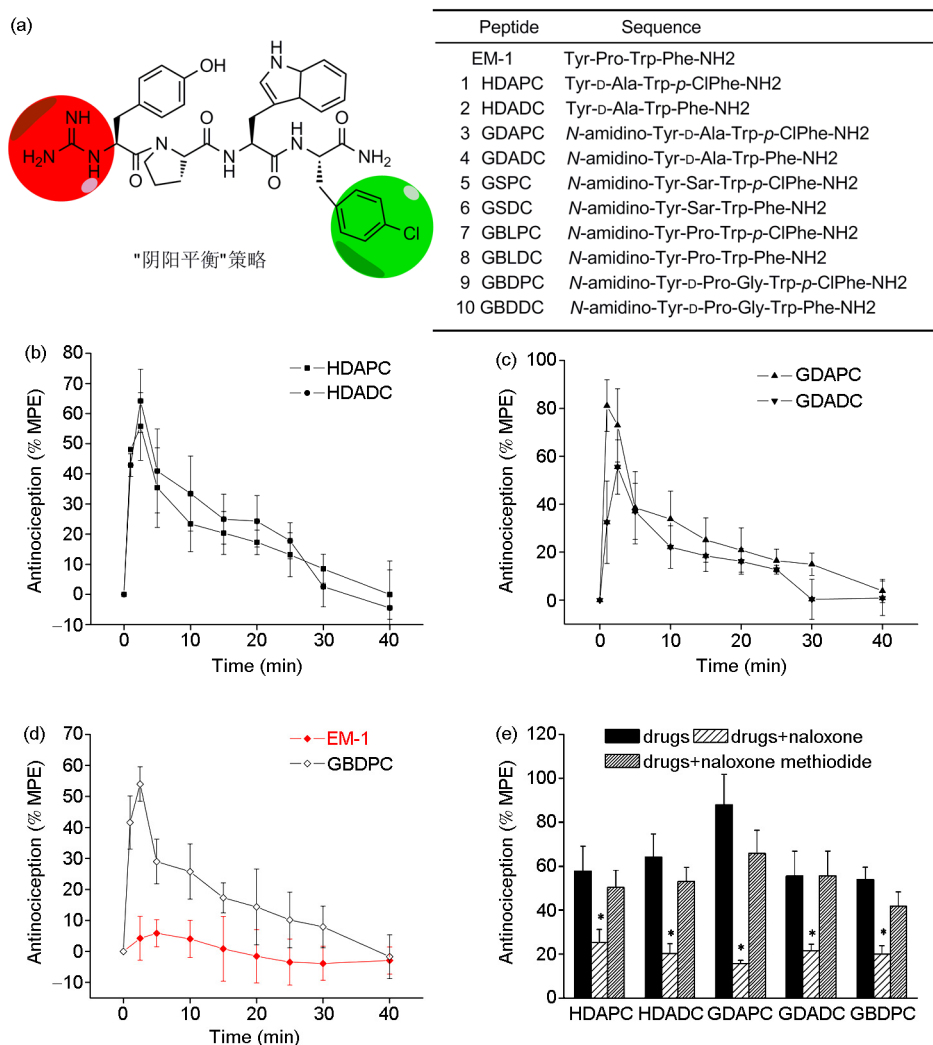


图3 具有高血脑屏障通透性的内吗啡肽类似物的设计及静脉注射之后的镇痛活性研究<sup>[46]</sup>。(a) 内吗啡肽类似物序列; (b~d) 内吗啡肽类似物通过静脉给药之后的镇痛活性; (e) 纳洛酮和纳洛酮甲碘化物对内吗啡肽类似物的镇痛抑制活性

内吗啡肽-1 衍生多肽, 在脑实质中均可检测到其存在, 证明这些衍生多肽确实跨过了血脑屏障进入大脑。基于这种化学修饰策略, 本课题组对内吗啡肽进一步进行化学修饰, 在保持N末端胍基化和C末端氯化修饰的同时, 用非天然氨基酸替换2位的Pro, 从而筛选获得了具有更佳外周镇痛活性的先导化合物GAGPC。

此外, 本课题组也尝试其他策略来提高神经肽通透血脑屏障的能力。已有报道, 一些穿膜肽具有血脑屏障穿透能力, 因而可以利用穿膜肽的这一特性提高内吗啡肽穿透血脑屏障的能力, 进而使外周注射药物产生中枢介导的镇痛作用。本课题组将一系

列具有穿膜能力的寡聚精氨酸连接到内吗啡肽的N末端和C末端<sup>[47]</sup>。实验结果发现, 虽然此类杂合肽的受体亲和活性降低了, 但是, 外周给药之后中枢镇痛活性明显比母体增强。并且, 纳洛酮能显著拮抗这一镇痛效果, 表明镇痛是通过中枢阿片受体机理介导的。实验结果说明, 不仅可以通过直接修饰策略来提高内吗啡肽的血脑屏障通透能力, 还可通过开发新型的肽类载体以解决内吗啡肽难以通透血脑屏障的难题。

### 3.3 具有高酶解稳定性的内吗啡肽类似物的设计

天然多肽在体内极易被降解, 从而限制了其作

为临床药物的应用. 在保持药效特性的前提下, 为了有效地解决多肽自身的分子代谢不稳定、半衰期短等致命性弱点, 本课题组建立并发展了一系列多肽药物化学修饰技术, 从而避免多肽药物分子被体内蛋白水解酶识别. 内吗啡肽的酶解稳定性较差, 体内应用时很容易失活. 研究发现, 2 位的 L-Pro 为关键的酶切位点<sup>[48]</sup>, 因而本课题组选择用非天然氨基酸替换 2 位的 L-Pro. 结果表明, 替换之后的类似物稳定性较母体显著提高, 其镇痛时间明显延长<sup>[46, 49]</sup>. 此外还发现, 将非天然氨基酸引入到其他位点(如 4 位)也能有效避免蛋白质水解酶的识别作用, 提高其分子稳定性<sup>[50]</sup>. 特别是将 Map 氨基酸引入到内吗啡肽中, 不仅提高了对 MOR 的选择性而增加镇痛活性, 更显著提高了酶解稳定性, 其镇痛时间明显延长, 从而为镇痛类多肽新药的研发提供了具有较好医药应用前景的先导化合物<sup>[25]</sup>.

### 3.4 无耐受、低成瘾的镇痛神经肽的设计

阿片肽在缓解疼痛的同时, 会伴随着耐受、成瘾和呼吸抑制等副作用的出现. NPFF 作为一种吗啡痛觉调节肽能介导多种生理活性, 主要包括痛觉的调节、阿片的依赖和耐受、体温的调节、心血管系统的调节、胃肠道运动的调节以及摄食和内分泌的调节等. 本课题组对 NPFF 介导的多种生理活性及 NPFF 受体的作用机制进行了比较深入的研究<sup>[51-56]</sup>. 为了降低神经肽的副作用, 以内源性神经肽 NPFF 和内吗啡肽-2 作为化学模板, 利用嵌合肽构建策略设计并进行化学修饰而获得了一系列嵌合肽, 以期使嵌合肽在发挥镇痛活性的同时, 最大限度地减少其阿片耐受和成瘾等副作用的出现. 通过筛选发现, 全新的嵌合肽 EN-9 表现出比内吗啡肽-2 更强、更持续的中枢镇痛活性, 具有无耐受作用、低成瘾性等优点, 并能克服内吗啡肽-2 外周注射无镇痛的缺陷.

## 4 抗菌肽的研究

目前, 由于抗生素的滥用, 越来越多的致病菌对现有抗生素产生耐药性, 因而迫切需要开发广谱、高效及无耐药性的新型抗生素. 抗菌肽(antimicrobial peptide, AMP)是生物进化过程中保留下来的分子防御机制的一部分, 一般是由小于 50 个氨基酸构成的双亲

性阳离子多肽. 自 20 世纪 80 年代天蚕素(cecropins)发现以来, 已从昆虫、两栖动物、哺乳动物、植物甚至细菌中发现了 1700 多种抗菌肽<sup>[57]</sup>. 除了具有抗菌作用外, 抗菌肽还具有抗病毒、抗真菌、抗肿瘤等作用<sup>[58, 59]</sup>, 其主要作用方式为<sup>[57]</sup>: (1) 带正电荷的抗菌肽通过静电作用吸附到带负电荷的细胞膜上, 当数量达到阈值之后, 抗菌肽便会在膜上形成孔道而破坏细胞膜, 最终导致细胞内容物的外流; (2) 抗菌肽也可以穿透细胞膜而作用到细胞内靶点从而导致细胞死亡. 由于抗菌肽分子量小、热稳定性及水溶性好、抗菌谱广, 较一般抗生素和抗肿瘤药物没有免疫原性和耐药性, 因而逐渐引起科研工作者对该领域的浓厚兴趣.

### 4.1 抗菌肽的抗菌活性研究

细菌细胞膜和哺乳动物细胞膜最主要的区别在于脂质的组成和排列不同: 哺乳动物细胞膜外层脂质为特有的呈电中性的两性磷脂(主要是卵磷脂和鞘磷脂); 而细菌细胞膜则含有大量带有负电荷的磷脂(如磷脂酰甘油等), 虽然细菌细胞膜外表面有部分阳离子吸附, 但整体处于带负电的极化状态. 抗菌肽分子通过其正电荷与细菌膜磷脂分子上负电荷之间的静电吸引作用, 结合聚集在质膜上而表现出对细菌的选择特异性<sup>[57]</sup>. 本课题组对蜂毒中提取的抗菌肽 Polybia-CP 进行了抗菌研究, 尽管 Polybia-CP 由 12 个氨基酸构成, 但其却具有很高的抗菌活性<sup>[60]</sup>. 此外, 本课题组合成了一条来自 NK-溶解素的抗菌肽 NK-18, 其能够高效地杀死阳性和阴性细菌. 有意思的是, NK-18 不仅可以通过直接破坏细胞膜而杀死细菌, 也可以通过结合细菌的 DNA 而抑制细菌增殖. 这种多重作用机制使细菌更不容易对 NK-18 产生耐药性<sup>[61]</sup>.

### 4.2 抗菌肽的抗肿瘤活性研究

肿瘤细胞膜与细菌细胞膜具有共同的特征, 肿瘤细胞膜中磷脂酰丝氨酸的含量是正常细胞的 3~7 倍, 因此肿瘤细胞表面同样带有负电荷. 两亲性阳离子抗菌肽可以通过静电吸引选择性地结合并破坏肿瘤细胞膜, 引起肿瘤细胞内容物外流而死亡<sup>[59]</sup>. Polybia-MPI 是蜂毒中提取分离的含有 14 个氨基酸的抗菌肽, 本课题组对其抗肿瘤活性进行了研究. 实验结果表明, Polybia-MPI 对肿瘤细胞具有较强的抑制

增殖活性, 而对正常细胞 NIH-3T3 的毒性较弱, 表现出了非常显著的选择性<sup>[62]</sup>. 相对于传统的抗肿瘤药物, 抗菌肽独特的破膜机制使其不易受耐药机制的影响. 本课题组的研究发现, Polybia-MPI 对阿霉素耐药株 K562/ADM 细胞与不耐药 K562 细胞表现出相同的杀伤活性, 这为解决肿瘤化疗过程中常出现的多药耐药现象提供了新的思路<sup>[63]</sup>. 尽管 Polybia-MPI 具有很好的抗肿瘤活性, 但酶解稳定性限制了其体内应用. 为了尽量减小改造对其结构和活性的影响, 通过将其序列中不同位点的酰胺键替换成硫代酰胺键而合成了一系列类似物. 从中筛选出 MPI-1, 其在血清中的稳定性明显高于 Polybia-MPI. 更重要的是, MPI-1 的体内毒性明显比 Polybia-MPI 低, 而体内抗肿瘤活性却明显提高<sup>[64]</sup>. 此外, 本课题组对抗菌肽的作用机制进行了一些初步研究, 以期对抗菌肽具有更深入的认识以及为抗菌肽的改造提供更多理论支持<sup>[65, 66]</sup>.

## 5 靶向抗肿瘤多肽的设计及抗肿瘤应用

肿瘤严重威胁人类的健康和生命. 化疗是治疗肿瘤的重要手段, 然而传统抗肿瘤药物由于缺乏选择性, 在杀伤肿瘤细胞的同时也对正常组织细胞造成了严重伤害, 从而产生很强的毒副作用. 将传统的抗肿瘤药物与靶向分子连接可以显著提高药物的抗肿瘤活性和选择性, 同时降低毒副作用, 因而靶向药物成为抗肿瘤药物研发的热点. 多肽靶向分子由于具有与受体亲和性高、易于合成和修饰以及无免疫原性等优点而受到广泛关注<sup>[67]</sup>.

### 5.1 以 NK1 受体为靶点的抗肿瘤多肽设计

受体功能选择性是药理学的一个新概念, 即一种受体可以具有多种活性构象, 不同活性构象引起的信号通路不同; 不同的激动剂可选择性地使某一构象形式稳定, 进而产生特定的细胞应答和生理效应. 速激肽受体-1 (neurokinin-1, NK1) 是 G 蛋白偶联受体家族的一员, 它不仅存在于神经组织细胞中, 在许多肿瘤组织细胞中也高表达. 本课题组<sup>[68-72]</sup>对 NK1 受体介导的镇痛活性和心血管条件进行了比较广泛的在体研究, 但在分子水平上对 NK1 受体功能选择性的研究相对较少. 由于 hHK-1 是 NK1 受体的天然配体, 因此我们合成了一系列 hHK-1 类似物来

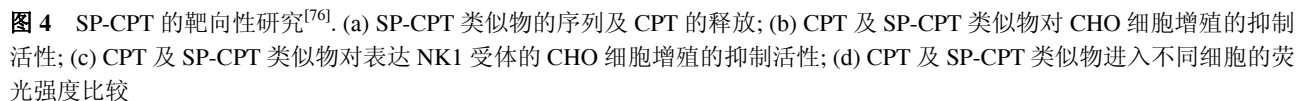
研究 NK1 受体的功能选择性. N 端结构域对于激活 cAMP 和钙流两个不同的细胞内第二信使的作用不同, 表明 hHK-1 及其片段能够在 NK1 受体表达的细胞中选择性地激活不同的信号转导模式<sup>[73]</sup>.

尽管已有不少关于 NK1 受体功能的报道, 但其是否参与肿瘤细胞的迁移仍不清楚. 本课题组<sup>[74]</sup>的研究表明, 人速激肽(human hemokinin-1, hHK-1)作为 NK1 受体的内源性配体, 可激活人脑胶质瘤细胞 U-251 MG 上的 NK1 受体, 引起剂量依赖的细胞迁移. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在胶质瘤细胞迁移中起重要作用. hHK-1 可在 U-251 细胞中引起 MMP-2 和 MMP-14 表达上调, 同时细胞培养上清中 MMP-2 的活性也相应增加. 为了解释上述细胞迁移作用的分子机制, 本课题组在 U-251 细胞中研究了 hHK-1 与 NK1 受体相互作用后激活的信号转导途径. 结果表明, hHK-1 可激活 NK1-Gq-PLC 途径, 引起显著的细胞内钙流释放和 ERK、JNK 及 Akt 磷酸化, 进一步激活 AP-1 和 NK- $\kappa$ B 的转录调节活性. hHK-1 引起的 MMP-2、MMP-14 表达上调与 AP-1 和 NK- $\kappa$ B 的转录活性增加有关; ERK、JNK 及 Akt 的磷酸化参与调节 AP-1 和 NK- $\kappa$ B 的转录活性. 此外还发现, NK1 受体还可介导血管生成<sup>[75]</sup>, 这对肿瘤的生长可能起到调节作用. 总之, 对 NK1 受体功能的广泛研究可有助于深入理解 NK1 受体在肿瘤发展过程中的作用.

传统的抗肿瘤药物与靶向分子相连后可提高其选择性和抗肿瘤活性. NK1 受体广泛存在于多种肿瘤细胞表面, 与配体结合之后可发生内吞, 利用这一特点, 本课题组设计了针对 NK1 受体的靶向抗肿瘤药物(图 4). 将传统的抗肿瘤药物喜树碱通过可释放的二硫键连接到速激肽 SP 及其片段 SP (6~11) 的 N 末端. 实验表明, SP 及 SP (6~11) 可显著提高喜树碱的抗肿瘤活性和选择性, 而且 SP (6~11) 具有更高的效率<sup>[76]</sup>.

### 5.2 以肿瘤酸性微环境为靶点的穿膜肽的设计

穿膜肽(cell penetrating peptides, CPPs)是一类含有 10~30 个氨基酸的阳离子短肽, 已广泛用于介导蛋白、核酸、脂质体和纳米颗粒等大分子进入细胞<sup>[77]</sup>. 当穿膜肽与传统抗肿瘤药物(如紫杉醇、阿霉素等)连接之后, 可明显增强药物对耐药株细胞的敏感性<sup>[78]</sup>. 此外, 穿膜肽还有助于提高传统抗肿瘤药物的水溶性、组织渗透能力以及在肿瘤组织的分布<sup>[77]</sup>. 尽管如此,



TH 的体外和体内毒性明显低于 TK。将喜树碱通过可释放的二硫键与穿膜肽 TH 相连, 细胞增殖实验表明, TH-CPT 的毒性具有非常明显的 pH 依赖活性。这种酸激活的特性使得穿膜肽 TH 可以作为良好的靶向载体用于肿瘤治疗。

## 6 结语

尽管多肽药物在研发过程中仍然面临许多问题,但是其作为临床药物的潜在优势促使多肽产业发展愈加迅速。本课题组的工作主要是围绕着解决多肽药物所存在的酶解稳定性差、毒副作用以及难以穿透血脑屏障等难题而展开。通过利用多学科交叉的优势,以非天然氨基酸的构建为先导,以构效研究和化学修饰为基础,开发新的改造策略以用于创新性多肽候选药物的研发。通过这些策略的应用,获

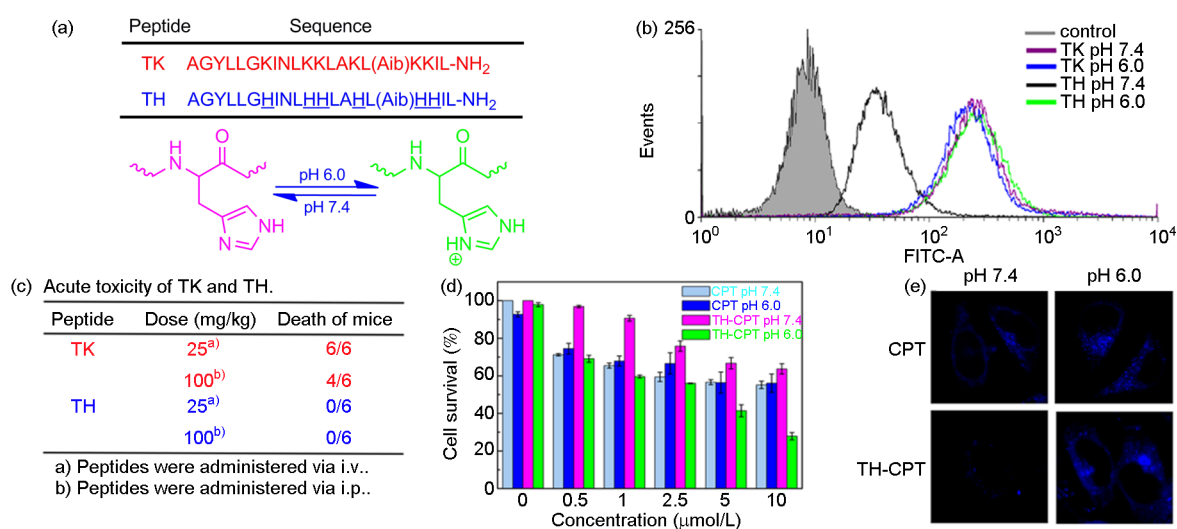


图5 酸激活穿膜肽的抗肿瘤应用<sup>[81]</sup>。(a) TK与酸激活穿膜肽TH的序列;(b) TK和TH在不同pH条件下的穿膜效率比较;(c) TK和TH的体内毒性比较;(d) CPT与TH-CPT在不同pH条件下的抗肿瘤活性比较;(e) CPT与TH-CPT在不同pH条件下进入细胞的荧光强度比较

得了大量具有全新结构的化合物,系统地阐明多肽结构与功能之间的关系,鉴定出其关键“药效团”,同时也得到了一些具有开发前景的多肽先导化合物。

通过对多肽药物作用机制和构效关系的深入研究,以及多种策略的研发与应用,以期加快多肽药物临床应用的步伐。

致谢 本工作得到国家自然科学基金项目(91213302, 20932003, 21272102)、“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09504001-003)以及长江学者和创新团队发展计划(IRT1137)的资助,特此一并致谢。

## 参考文献

- Sewald N, Jakubke HD. *Peptides: Chemistry and Biology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002
- 王德心. 活性多肽与药物开发. 北京: 中国医药科技出版社, 2008
- 厉保秋. 多肽药物研究与开发. 北京: 人民卫生出版社, 2011
- Sato AK, Viswanathan M, Kent RB, Wood CR. Therapeutic peptides: Technological advances driving peptides into development. *Curr Opin Biotechnol*, 2006, 17: 638–462
- Nestor JJ Jr. The medicinal chemistry of peptides. *Curr Med Chem*. 2009, 16: 4399–4418
- Jiang XX, Zhang YF, Chan ASC, Wang R. Highly enantioselective synthesis of  $\gamma$ -nitro heteroaromatic ketones in a double sterecontrolled manner catalyzed by bifunctional thiourea catalysts based on dehydroabiatic amine: A double sterecontrolled approach to pyrrolidine carboxylic acids. *Org Lett*, 2009, 11: 153–156
- Zhang G, Zhang YH, Jiang XX, Yan WJ, Wang R. Highly enantioselective synthesis of multisubstituted polyfunctional dihydropyrrole via an organocatalytic tandem michael/cyclization sequence. *Org Lett*, 2011, 13: 3806–3809
- Jiang XX, Wang YQ, Zhang G, Fu D, Zhang FT, Kai M, Wang R. Enantioselective synthesis of cyclic thioureas via Mannich reaction and concise synthesis of highly optically active methylthioimidazolines: Discovery of a more potent antipyretic agent. *Adv Synth Catal*, 2011, 353: 1787–1796
- Jiang XX, Zhang YF, Wu LP, Zhang G, Liu X, Zhang HL, Fu D, Wang R. Doubly stereocontrolled asymmetric aza-Henry reaction with *in situ* generation of N-Boc imines catalyzed by novel rosin-derived amine thiourea catalysts. *Adv Synth Catal*, 2009, 351: 2096–2100
- Jiang XX, Zhang YF, Liu X, Zhang G, Lai LH, Wu LP, Zhang JN, Wang R. Enantio- and diastereoselective asymmetric addition of

- 1,3-dicarbonyl compounds to nitroalkenes in a doubly stereocontrolled manner catalyzed by bifunctional rosin-derived amine thiourea catalysts. *J Org Chem*, 2009, 74: 5562–5567
- 11 Jiang XX, Fu D, Zhang G, Cao Y, Liu L, Song J, Wang R. Highly diastereo- and enantioselective Mannich reaction of lactones with N-Boc-aldimines catalyzed by bifunctional rosin-derived amine thiourea catalysts. *Chem Commun*, 2010, 46: 4294–4296
- 12 Jiang XX, Zhang G, Fu D, Cao YM, Shen FF, Wang R. Direct organocatalytic asymmetric aldol reaction of R-isothiocyanato imides to R-ketoesters under low ligand loading: A doubly stereocontrolled approach to cyclic thiocarbamates bearing chiral quaternary stereocenters. *Org Lett*, 2010, 12: 1544–1547
- 13 Zhang G, Zhang YH, Yan JX, Chen R, Wang SL, Ma YX, Wang R. One-pot enantioselective synthesis of functionalized pyranocoumarins and 2-amino-4H-chromenes: Discovery of a type of potent antibacterial agent. *J Org Chem*, 2012, 77: 878–888
- 14 Jiang XX, Cao YM, Wang YQ, Liu LP, Shen FF, Wang R. A unique approach to the concise synthesis of highly optically active spirooxazolines and the discovery of a more potent oxindole-type phytoalexin analogue. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 15328–15333
- 15 Jiang XX, Wang YQ, Zhang G, Fu D, Zhang FT, Kai M, Wang R. Enantioselective synthesis of cyclic thioureas via Mannich reaction and concise synthesis of highly optically active methylthioimidazolines: Discovery of a more potent antipyretic agent. *Adv Synth Catal*, 2011, 353: 1787–1796
- 16 Cao YM, Jiang XX, Liu LP, Shen FF, Zhang FT, Wang R. Enantioselective michael/cyclization reaction sequence: Scaffold-inspired synthesis of spirooxindoles with multiple stereocenters. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 9124–9127
- 17 Jiang XX, Shi XM, Wang SL, Sun T, Cao YM, Wang R. The bifunctional organocatalytic strategy for inverse-electron-demand diels-alder reaction: Highly efficient *in situ* generation-activation to construct azaspirocyclic skeletons. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 2084–2087
- 18 Zhao DP, Wang Y, Mao LJ, Wang R. Highly enantioselective conjugate additions of phosphites to  $\alpha,\beta$ -unsaturated N-acylpyrroles and imines: A practical approach to enantiomerically enriched amino phosphonates. *Chem Eur J*, 2009, 15: 10983–10987
- 19 Zhao DP, Yuan Y, Chan ASC, Wang R. Highly enantioselective 1,4-addition of diethyl phosphite to enones using a dinuclear Zn catalyst. *Chem Eur J*, 2009, 15: 2738–2741
- 20 Zhao DP, Mao L, Yang D, Wang R. Zinc-mediated asymmetric additions of dialkylphosphine oxides to  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones and N-sulfinylimines. *J Org Chem*, 2010, 75: 6756–6763
- 21 Zhao DP, Mao LJ, Wang Y, Yang DX, Zhang QL, Wang R. Catalytic asymmetric hydrophosphinylation of  $\alpha,\beta$ -unsaturated N-acylpyrroles: Application of dialkyl phosphine oxides in enantioselective synthesis of chiral phosphine oxides or phosphines. *Org Lett*, 2010, 12: 1880–1882
- 22 Zhao DP, Mao LJ, Wang LQ, Yang DX, Wang R. Catalytic asymmetric construction of tetrasubstituted carbon stereocenters by conjugate addition of dialkyl phosphine oxides to  $\beta,\beta$ -disubstituted  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl compounds. *Chem Commun(Camb)*, 2012, 48: 889–891
- 23 Zhao DP, Wang R. Recent developments in metal catalyzed asymmetric addition of phosphorus nucleophiles. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2095–2108
- 24 Zhao DP, Yang DX, Wang YJ, Wang Y, Wang LQ, Mao LJ, Wang R. Enantioselective mannich reaction of a highly reactive Horner-Wadsworth-Emmons reagent with imines catalyzed by a bifunctional thiourea. *Chem Sci*, 2011, 2: 1918–1921
- 25 Wang Y, Xing YH, Liu X, Ji H, Kai M, Chen ZY, Yu J, Zhao DP, Ren H, Wang R. A new class of highly potent and selective endomorphin-1 analogues containing  $\alpha$ -methylene- $\beta$ -aminopropanoic acids (Map). *J Med Chem*, 2012, 55: 6224–6236
- 26 Zhao DP, Wang LQ, Yang DX, Zhang YX, Wang R. Highly diastereo- and enantioselective synthesis of  $\alpha$ -alkyl norstatine derivatives: Catalytic asymmetric mannich reactions of 5H-oxazol-4-ones. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 7523–7527
- 27 Hong L, Wang L, Chen C, Zhang BZ, Wang R. An efficient enantioselective method for asymmetric Friedel-Crafts alkylation of indoles with  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes. *Adv Synth Catal*, 2009, 351: 772–778
- 28 Hong L, Liu C, Sun W, Wang L, Wong K, Wang R. Organocatalytic enantioselective Friedel-Crafts alkylation of 4,7-dihydroindoles with  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes: An easy access to 2-substituted indoles. *Org Lett*, 2009, 11: 2177–2180
- 29 Hong L, Sun WS, Liu CX, Wang L, Wong K, Wang R. Enantioselective Friedel-Crafts alkylation of 4,7-dihydroindoles with enones catalyzed by primary-secondary diamines. *Chem Eur J*, 2009, 15: 11105–11108
- 30 Hong L, Sun W, Liu CX, Wang L, Wang R. Asymmetric organocatalytic N-alkylation of indole-2-carbaldehydes with  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes: One-pot synthesis of chiral pyrrolo[1,2-a]indole-2-carbaldehydes. *Chem Eur J*, 2010, 16: 440–444
- 31 Sun WS, Hong L, Liu CX, Wang R. Asymmetric construction of quaternary stereocenters by direct conjugate addition of oxindoles to enone. *Tetrahedron: Asymmetr*, 2010, 21: 2493–2497
- 32 Sun WS, Hong L, Wang R. Facile creation of 2-substituted indolin-3-ones by using primary-secondary diamine catalysts. *Chem Eur J*, 2011, 17: 6030–6033

- 33 Zhang G, Zhang YH, Wang R. Catalytic asymmetric activation of a Csp<sup>3</sup>-H bond adjacent to a nitrogen atom: A versatile approach to optically active  $\alpha$ -alkyl  $\alpha$ -amino acids and C1-alkylated tetrahydroisoquinoline derivatives. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 10429–10432
- 34 Zhang G, Ma YX, Wang SL, Zhang YH, Wang R. Enantioselective metal/organo-catalyzed aerobic oxidative sp<sup>3</sup> C–H olefination of tertiary amines using molecular oxygen as the sole oxidant. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 12334–12337
- 35 Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*, 1997, 386: 499–502
- 36 Liu WX, Wang R. Endomorphins: Potential roles and therapeutic indications in the development of opioid peptide analgesic drugs. *Med Res Rev*, 2012, 32: 536–580
- 37 Gao YF, Liu X, Wei J, Zhu BB, Chen Q, Wang R. Structure-activity relationship of the novel bivalent and C-terminal modified analogues of endomorphin-2. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 1847–1850
- 38 Gao Y, Liu X, Liu W, Qi Y, Liu X, Zhou Y, Wang R. Opioid receptor binding and antinociceptive activity of the analogues of endomorphin-2 and morphiceptin with phenylalanine mimics in the position 3 or 4. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16: 3688–3692
- 39 Yu Y, Wang CL, Liu HM, Cui Y, Shao X, Fan YZ, Liu J, Wang R. *In vitro* and *in vivo* characterization of the opioid activities of endomorphin analogs with novel constrained C-terminus: Evidence for the important role of proper spatial disposition of the third aromatic ring. *Peptides*, 2007, 28: 859–870
- 40 Yu Y, Shao X, Cui Y, Liu HM, Wang CL, Fan YZ, Liu J, Dong SL, Cui YX, Wang R. Structure-activity study on the spatial arrangement of the third aromatic ring of endomorphins 1 and 2 using an atypical constrained C terminus. *ChemMedChem*, 2007, 2: 309–317
- 41 Wei J, Shao X, Gong MZ, Zhu BB, Cui YX, Gao YF, Wang R. Structure-activity relationships of novel endomorphin-2 analogues with N–O turns induced by  $\alpha$ -aminoxy acids. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 2986–2989
- 42 Gao YF, Zhai MX, Liu WX, Liu X, Yuan Y, Qi YM, Wang R. Structure-activity relationships of the dimeric analogues of endomorphin-2 with different lengths of spacers. *Protein Pept Lett*, 2008, 15: 275–279
- 43 Shao X, Gao YF, Zhu CJ, Liu XH, Yao JL, Cui YX, Wang R. Conformational analysis of endomorphin-2 analogs with phenylalanine mimics by NMR and molecular modeling. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 3539–3547
- 44 Wang CL, Yao JL, Yu Y, Shao X, Cui Y, Liu HM, Lai LH, Wang R. Structure-activity study of endomorphin-2 analogs with C-terminal modifications by NMR spectroscopy and molecular modeling. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 6415–6422
- 45 Liu X, Kai M, Jin L, Wang R. Molecular modeling studies to predict the possible binding modes of endomorphin analogs in mu opioid receptor. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 5387–5391
- 46 Liu HM, Liu XF, Yao JL, Wang CL, Yu Y, Wang R. Utilization of combined chemical modifications to enhance the blood-brain barrier permeability and pharmacological activity of endomorphin-1. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319: 308–316
- 47 Wang CL, Guo C, Wang YQ, Zhou Y, Li Q, Ni JM, Wang R. Synthesis and antinociceptive effects of endomorphin-1 analogs with C-terminal linked by oligoarginine. *Peptides*, 2011, 32: 293–299
- 48 Tomboly C, Peter A, Toth G. *In vitro* quantitative study of the degradation of endomorphins. *Peptides*, 2002, 23: 1573–1580
- 49 Liu HM, Zhang BZ, Liu XF, Wang CL, Ni JM, Wang R. Endomorphin-1 analogs with enhanced metabolic stability and systemic analgesic activity: Design, synthesis, and pharmacological characterization. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 1694–1702
- 50 王锐. C 末端修饰的内啡肽 2. 中国专利, CN200710147468. 2008-03-12
- 51 Fang Q, Guo J, Chang M, Chen LX, Chen Q, Wang R. Neuropeptide FF receptors exert contractile activity via inhibition of nitric oxide release in the mouse distal colon. *Peptides*, 2005, 26: 791–797
- 52 Fang Q, Guo J, Peng YL, Chang M, He F, Chen Q, Wang R. *In vitro* and *in vivo* studies of dansylated compounds, the putative agonists and antagonists on neuropeptide FF receptors. *Peptides*, 2006, 27: 1297–1304
- 53 Fang Q, Liu Q, Li N, Jiang TN, Li YL, Yan X, Wang R. Cardiovascular effects of intravenous administered 26RFa, a novel RFamide peptide ligand for GPR103, in anaesthetised rats. *Eur J Pharmacol*, 2009, 621: 61–66
- 54 Wang YQ, Wang SB, Ma JL, Guo J, Fang Q, Sun T, Zhuang Y, Wang R. Neuropeptide FF receptor antagonist, RF9, attenuates the fever induced by central injection of LPS in mice. *Peptides*, 2011, 32: 702–706
- 55 Fang Q, Han ZL, Li N, Wang ZL, He N, Wang R. Effects of neuropeptide FF system on CB1 and CB2 receptors mediated antinociception in mice. *Neuropharmacology*, 2012, 62: 855–864
- 56 Li N, Han ZL, Fang Q, Wang ZL, Tang HZ, Ren H, Wang R. Neuropeptide FF and related peptides attenuates warm-, but not cold-water swim stress-induced analgesia in mice. *Behav Brain Res*, 2012, 233: 428–433
- 57 Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 2002, 415: 389–395
- 58 Zaiou M. Multifunctional antimicrobial peptides: Therapeutic targets in several human diseases. *J Mol Med*, 2007, 85: 317–29
- 59 Hoskin DW, Ramamoorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778: 357–375

- 60 Wang KR, Yan JX, Chen R, Dang W, Zhang BZ, Zhang W, Song JJ, Wang R. Membrane-active action mode of Polybia-CP, a novel antimicrobial peptide isolated from the venom of *Polybia paulista*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 3318–3323
- 61 Yan JX, Wang KR, Dang W, Chen R, Xie JQ, Zhang BZ, Song JJ, Wang R. Two Hits are better than one: Membrane active and DNA binding related double action mechanism of NK-18, a novel antimicrobial peptide derived from mammalian NK-lysin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 220–228
- 62 Wang KR, Zhang BZ, Zhang W, Yan JX, Li J, Wang R. Antitumor effects, cell selectivity and structure-activity relationship of a novel antimicrobial peptide polybia-MPI. *Peptides*, 2008, 29: 963–938
- 63 Wang KR, Yan JX, Zhang BZ, Song JJ, Jia PF, Wang R. Novel mode of action of polybia-MPI, a novel antimicrobial peptide, in multi-drug resistant leukemic cells. *Cancer Lett*, 2009, 278: 65–72
- 64 Zhang W, Li J, Liu LW, Wang KR, Song JJ, Yan JX, Li ZY, Zhang BZ, Wang R. A novel analog of antimicrobial peptide Polybia-MPI, with thioamide bond substitution, exhibits increased therapeutic efficacy against cancer and diminished toxicity in mice. *Peptides*, 2010, 31: 1832–1838
- 65 Wang KR, Yan JX, Liu X, Zhang JD, Chen R, Zhang BZ, Dang W, Zhang W, Kai M, Song JJ, Wang R. Novel cytotoxicity exhibition mode of polybia-CP, a novel antimicrobial peptide from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Toxicology*, 2011, 288: 27–33
- 66 Yan JX, Wang KR, Chen R, Song JJ, Zhang BZ, Dang W, Zhang W, Wang R. Membrane active antitumor activity of NK-18, a mammalian NK-lysin-derived cationic antimicrobial peptide. *Biochimie*, 2012, 94: 184–191
- 67 Aina OH, Sroka TC, Chen ML, Lam KS. Therapeutic cancer targeting peptides. *Biopolymers*. 2002, 66: 184–99
- 68 Fu CY, Kong ZQ, Wang KR, Yang Q, Zhai K, Chen Q, Wang R. Effects and mechanisms of supraspinal administration of rat/mouse hemokinin-1, a mammalian tachykinin peptide, on nociception in mice. *Brain Res*, 2005, 1056: 51–58
- 69 Fu CY, Kong ZQ, Long Y, Chen Q, Wang R. Cardiovascular responses to rat/mouse hemokinin-1, a mammalian tachykinin peptide: Systemic study in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol*, 2007, 572: 175–181
- 70 Fu CY, Tang XL, Yang Q, Chen Q, Wang R. Effects of rat/mouse hemokinin-1, a mammalian tachykinin peptide, on the antinociceptive activity of pethidine administered at the peripheral and supraspinal level. *Behav Brain Res*, 2007, 184: 39–46
- 71 Fu CY, Zhao YL, Dong L, Chen Q, Ni JM, Wang R. *In vivo* characterization of the effects of human hemokinin-1 and human hemokinin-1(4–11), mammalian tachykinin peptides, on the modulation of pain in mice. *Brain Behav Immun*, 2008, 22: 850–860
- 72 Kong ZQ, Fu CY, Chen Q, Wang R. Cardiovascular responses to intravenous administration of human hemokinin-1 and its truncated form hemokinin-1(4–11) in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol*, 2008, 590: 310–316
- 73 Mou LY, Xing YH, Zhou Y, Kong ZQ, Chen ZY, Wang R. The N-terminal domain of human hemokinin-1 influences functional selectivity property for tachykinin receptor neurokinin-1. *Biochem Pharmacol*, 2011, 81: 661–668
- 74 Mou L, Kang Y, Zhou Y, Zeng Q, Song H, Wang R. Neurokinin-1 receptor directly mediates glioma cell migration by up-regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP). *J Biol Chem*, 2013, 288: 306–318
- 75 Song HJ, Yin W, Zeng Q, Jia HZ, Lin L, Liu XD, Mu LY, Wang R. Hemokinins modulate endothelium function and promote angiogenesis through neurokinin-1 receptor. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44: 1410–1421
- 76 Zhang W, Song JJ, Mu LY, Zhang BZ, Liu LW, Xing YH, Wang KR, Li ZY, Wang R. Improving anticancer activity and selectivity of camptothecin through conjugation with releasable substance P. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 1452–1455
- 77 Fonseca SB, Pereira MP, Kelley SO. Recent advances in the use of cell-penetrating peptides for medical and biological applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 953–964
- 78 Dubikovskaya EA, Thorne SH, Pillow TH, Contag CH, Wender PA. Overcoming multidrug resistance of small-molecule therapeutics through conjugation with releasable octaarginine transporters. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 12128–12133
- 79 Lee ES, Gao Z, Bae YH. Recent progress in tumor pH targeting nanotechnology. *J Control Release*, 2008, 132: 164–170
- 80 Song JJ, Kai M, Zhang W, Zhang JD, Liu LW, Zhang BZ, Liu X, Wang R. Cellular uptake of transportan 10 and its analogs in live cells: Selectivity and structure-activity relationship studies. *Peptides*, 2011, 32: 1934–1941
- 81 Zhang W, Song JJ, Zhang BZ, Liu LW, Wang KR, Wang R. Design of acid-activated cell penetrating peptide for delivery of active molecules into cancer cells. *Bioconjugate Chem*, 2011, 22: 1410–1415

## Advances in the strategies for the development of novel peptide drugs

ZHANG Wei, SONG JingJing, ZHANG BangZhi, YANG WenLe, WANG Rui\*

Key Laboratory of Preclinical Study for New Drugs of Gansu Province; Institute of Biochemistry and Molecular Biology,  
School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

\*Corresponding author (email: wangrui@lzu.edu.cn)

**Abstract:** The development of peptide drugs has become a global concern due to their merits such as high biological activity, low medicinal dose and easy to industrialization. However, low enzymatic stability, short half-life and low tissue permeability hamper the clinical application of nature peptide drugs. In order to overcome the bottlenecks, we developed a series of new modified strategies. By applications of these strategies, we wish to accelerate the pace of the development in clinical application of peptide drugs.

**Keywords:** peptide drug, neuropeptide, antimicrobial peptide, targeting peptide, cell penetrating peptide