

# 脑靶向肽偶联药物研究进展

崔娜<sup>1,2</sup>, 史亚军<sup>1\*</sup>, 白敏<sup>1,2</sup>, 王胜正<sup>3</sup>, 丁一<sup>2\*</sup> (1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 空军军医大学第一附属医院药剂科, 西安 710032; 3. 空军军医大学药理学系药物化学与药物分析学教研室, 西安 710032)

**摘要:** 中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病严重危害人类的生命健康。但由于血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的存在, 缺乏将药物输送到大脑的有效技术, 这严重影响 CNS 疾病相关药物的开发成功率, 致使治疗效果往往不尽如人意。因此, 迫切需要一种新技术解决上述问题。脑靶向肽偶联药物由脑靶向肽、连接基团和有效载荷 3 部分组成, 其利用生物相关的内源性转运机制使生物活性分子透过 BBB, 并到达脑实质, 已成为一种有前景的 CNS 药物。本文简要介绍了脑靶向肽偶联药物中脑靶向肽、连接基团和有效载荷的种类及特征等, 并列举了一些常见的脑靶向肽偶联药物, 以及此类药物面临的挑战和改进的方法, 以期为后续 CNS 药物的设计和开发提供新思路。

**关键词:** 多肽偶联药物; 脑靶向肽; 连接基团; 有效载荷; 中枢神经系统; 血脑屏障

doi: 10. 11669/epj. 2024. 09. 002 中图分类号: R945 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)09-0768-08

## Research Progress in Brain Targeting Peptide-Drug Conjugates

CUI Na<sup>1,2</sup>, SHI Yajun<sup>1\*</sup>, BAI Min<sup>1,2</sup>, WANG Shengzheng<sup>3</sup>, DING Yi<sup>2\*</sup> (1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Department of Medicinal Chemistry and Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

**ABSTRACT:** Central nervous system (CNS) diseases are a serious threat to human health. However, due to the existence of blood-brain barrier (BBB), there is a lack of effective technology to deliver drugs to the brain, which seriously affects the success rate of drug development related to CNS diseases, resulting in treatment results that are often unsatisfactory. Therefore, a new technology is urgently needed to solve the above problems. Brain targeted peptide-drug conjugates, which consist of a brain targeted peptide, a linker, and a payload, have become a promising CNS drug by enabling bioactive molecules to cross the BBB and reach the brain parenchyma by using biologically relevant endogenous transport mechanisms. In this review, the types and characteristics of brain targeting peptides, linkers, and payloads are briefly introduced, and some common brain targeting peptide-drug conjugates are listed, as well as the challenges faced by such drugs and the improvement methods, in order to provide ideas for the design and development of drugs for CNS diseases.

**KEY WORDS:** peptide-drug conjugate; brain targeting peptide; linker; payload; central nervous system; blood-brain barrier

中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病是世界范围内的主要健康问题之一, 尤其是脑卒中、脑癌和神经退行性疾病等。目前, 这些疾病还没有行之有效的治疗方法, 究其主要原因之一是大多数药物无法充分穿过血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB)。因此, 克服此生物障碍仍然是开发 CNS 药物的主要挑战。BBB 的基本组成部分是神经血管单元 (neurovascular unit, NVU), 主要由脑毛细血管内皮细胞和脑星形胶质细胞构成。此外, 其他细胞也有助于 BBB 的形成和维持, 包括神经元、少突细胞、小胶质细胞和肥大细胞等<sup>[1]</sup>。然而, 与存在于 CNS 外的大多数器官中的高渗透性脉管系统不同, BBB 表现出高的跨内皮电阻 (transendothelial

electrical resistance, TEER) 以及低的转胞率和细胞旁渗透性。研究表明, 这都是由于紧密连接 (tight junction, TJ) 蛋白复合物构成的膜内颗粒形成的链网络相对有效地堵塞了脑微血管内皮细胞 (cerebral microvascular endothelial cell, BMEC) 之间的细胞旁通路<sup>[2]</sup>。该结构虽然阻止了有毒物质或病原体进入 CNS, 但也显著限制了治疗和诊断药物进入大脑的可能性。此外, BBB 内皮细胞中存在的 ATP 结合盒转运体 (ABC 转运体) 将一些可能穿过 BBB 的化合物外排回血液, 进一步限制了 CNS 中药物和成像探针的可用性<sup>[3]</sup>。因此, 只有极少量的分子被有效地输送到大脑。

为了克服限制药物输送到大脑的生物屏障, 研究者已经

**基金项目:** 国家自然科学基金项目资助 (82274313); 陕西省重点研发计划项目资助 (2023GHZD43)

**作者简介:** 崔娜, 女, 硕士研究生 研究方向: 中药药理 \* 通讯作者: 史亚军, 男, 博士, 副教授 研究方向: 中药新剂型 Tel: (029) 38183689; 丁一, 男, 博士, 副主任药师 研究方向: 中药药理 Tel: (029) 84775471

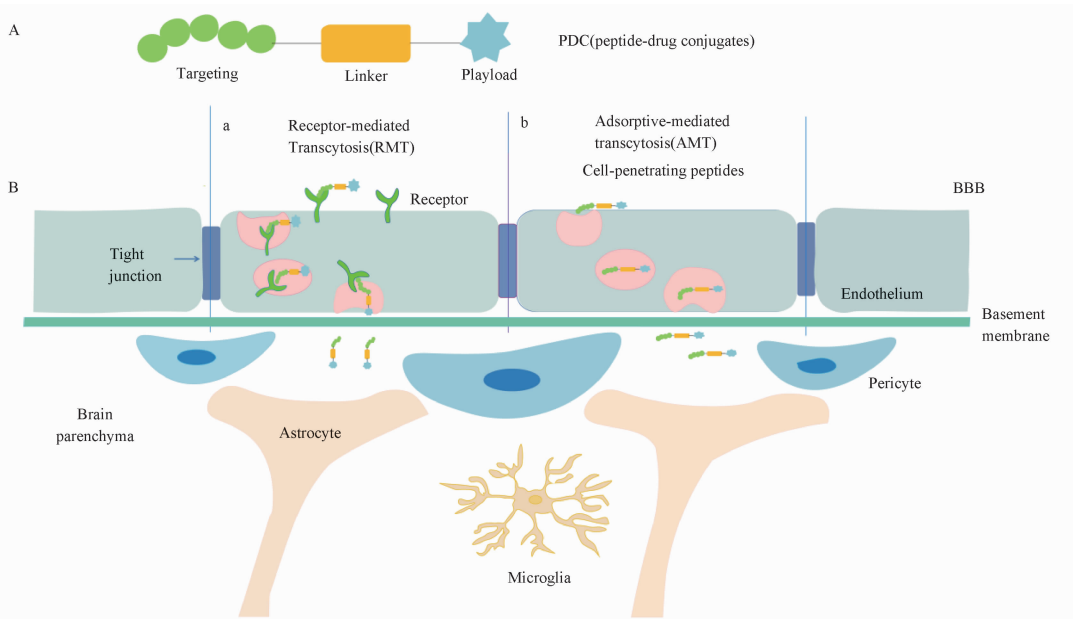
尝试开发了多种策略。其中,一种具有前景的给药策略引起了研究者的广泛关注。该策略是一种非侵入给药方式,以脑靶向肽为载体,将药物以化学键的方式与脑靶向肽偶联,脑靶向肽可以穿过 BBB,将药物带入脑实质,从而达到治疗的目的<sup>[4]</sup>。其结构与作用机制均与抗体偶联药物(antibody drug conjugates, ADC)相似,具体结构见图 1A。但与 ADC 相比,脑靶向肽偶联药物由于多肽自身的特性而具有相对分子质量更低、易于大规模合成、成本更低、穿透 BBB 能力更好且低免疫原性等优点<sup>[5]</sup>,见表 1。由此可见,脑靶向肽偶联药物在精准治疗上已表现出巨大潜力。本文将对脑靶向多肽偶联药物各结构作简要的介绍,并总结一些常见的脑靶向多肽偶联药物,以及此类药物面临的挑战和改进的方法。

## 1 脑靶向肽偶联药物的结构

### 1.1 脑靶向肽

靶向部分在脑靶向肽偶联药物中起着至关重要的作用。首先,它通过对药物的修饰,可以改变药物的理化性质,增加药物的吸收;其次,它可以使药物输送到指定部位,提高选择性,降低毒副作用,增加疗效<sup>[6-7]</sup>。由此可以看出,脑靶向肽对药物的疗效、药动学和治疗指标都有显著影响。因此,选择一个合适的多肽是至关重要的。理想的脑靶向肽应具有较强的目标结合亲和力、高稳定性、低免疫原性、高效内化和较长的血浆半衰期等特点<sup>[8]</sup>。

通常选择的脑靶向肽为靶向大脑内特定受体的多肽。这类多肽可以通过受体介导的胞吞作用(receptor-mediated transcytosis, RMT)特异性摄取某些大分子,其具体过程如图 1B 所示。常见的靶向大脑内特定受体的多肽<sup>[9-13]</sup>见表 2。据研究,一种针对乳腺癌患者癌细胞脑转移情况的脑靶向肽偶联药物 ANG4043 已经被合成,即 angiopep-2 多肽偶联曲妥珠单抗。曲妥珠单抗可以靶向人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)的胞外结构域,使 HER2 阳性乳腺癌患者的生存率显著提高<sup>[14-15]</sup>。但当癌细胞转移到大脑内时,由于其脑渗透能力差,它就缺乏疗效。因此,研究者选择靶向低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(low-density lipoprotein receptor-related proteins 1, LRP1)的多肽 angiopep-2,与曲妥珠单抗偶联。LRP1 是低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体家族的一员,在 BBB 毛细血管内皮细胞上高度表达,并已被证明在脑毛细血管内皮细胞中转运多种配体,包括乳铁蛋白(lactoferrin, LF)、载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)和  $\beta$ -淀粉样肽等<sup>[16]</sup>。该多肽偶联药物既保留了对 HER2 受体的体外结合亲和力和对 HER2 阳性 BT-474 乳腺导管癌细胞的抗增殖效力,又增加了脑内皮细胞的吸收。此外,测量颈动脉内递送后的脑暴露水平,发现该多肽偶联物以  $1.6 \times 10^{-3} \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  的脑进入率穿透 BBB。最后,在脑内异种移植 BT-474 细胞的小鼠模型中,表明给予 ANG4043 治疗后可明显提高生存率。所以,这项研究表明 angiopep-2 与抗 HER2 单抗的结合可以增加脑



A - 脑靶向多肽偶联药物的基本结构<sup>[6-8]</sup>; B - 脑靶向多肽偶联药物通过血脑屏障的主要运输路线图<sup>[4]</sup>。

图 1 脑靶向多肽偶联药物的结构及其常见的穿过血脑屏障(BBB)的运输过程

表 1 抗体偶联药物与多肽偶联药物(PDC)的差异

名称	靶向部分	相对分子质量	免疫原性	穿透性	清除速度
抗体偶联药物	抗体	大(约 $1.6 \times 10^5$ )	高	限制运输	半衰期长
多肽偶联药物	多肽	小(约 $2 \times 10^3 \sim 20 \times 10^4$ )	低	容易穿透	半衰期短

**表 2** 常见的靶向大脑内某些细胞表面受体的多肽

多肽名称	序列	来源	靶向的受体
Angiopep-2	TFFYGGSRGKRNFKTEEY-OH	Kunitz 结构域衍生肽家族	低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 <sup>[9]</sup>
THR	THRPPMWSVWP-NH <sub>2</sub>	噬菌体展示技术	转铁蛋白受体 <sup>[10]</sup>
RVG29	YTIWMPENRPGTPCDIFNRSRGKRASNG	狂犬病病毒	烟碱型乙酰胆碱受体 <sup>[11]</sup>
Peptide-22	Ac-c[MPRLRGC]e-NH <sub>2</sub>	噬菌体展示技术	低密度脂蛋白受体 <sup>[12]</sup>
ApoE(159~167) <sub>2</sub>	(LRKLRKRL) <sub>2</sub>	内源性嗜神经蛋白	低密度脂蛋白受体相关蛋白 1, 低密度脂蛋白受体相关蛋白 2 和低密度脂蛋白受体 <sup>[13]</sup>

内皮细胞的吸收以及 BBB 的通透性。ANG4043 的这些特征导致 BT-474 脑肿瘤暴露水平较高,可以在全身治疗后延长生存期<sup>[17]</sup>。既往研究表明狂犬病病毒糖肽(RVG)是由狂犬病病毒 G 蛋白中的 29 个氨基酸组成的多肽片段。RVG 肽为特异性配体,可识别  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)和烟碱乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR),促进病毒转运至 CNS<sup>[18]</sup>。因此, RVG 肽常常用于修饰药物递送系统,以提高药物脑内递送效率<sup>[19]</sup>。THR 是通过噬菌体展示技术筛选出的 12 聚体多肽,可通过与转铁蛋白受体(TIR)结合,透过 BBB,运输金纳米粒到达 CNS<sup>[10,20]</sup>。这些数据进一步验证了脑靶向多肽药物偶联策略可以作为神经肿瘤学和其他中枢神经系统疾病的治疗新方法。

某些细胞穿透肽(cell-penetrating peptides, CPPs)也常作为 CNS 药物的递送载体。CPPs 指一般不超过 30 个氨基酸的多肽<sup>[21]</sup>。通常表现出有助于跨细胞膜转运的两亲性和净正电荷特征。它们仅通过与暴露的细胞膜相互作用,便可独立地进入细胞<sup>[22]</sup>,其机制可能为吸附介导的胞吞作用(adsorptive-mediated transcytosis, AMT),具体过程如图 1B 所示。这是一种非特异性胞吞作用,由某些大分子的带正电部分与含有阴离子肝素蛋白多糖的脑内皮细胞带负电的膜之间的静电相互作用触发<sup>[23]</sup>。此外,它们由于具有高细胞渗透性和低免疫原性的特点,也表现出不依赖于受体的特征。这也是它们被认为是安全的和高效的原因<sup>[24]</sup>。但此类多肽往往缺乏一定的选择性。常见的相关细胞穿透肽<sup>[25-29]</sup>见表 3。如 TAT 多肽是来自人类免疫缺陷病毒 1 型(human immunodeficiency virus type-1, HIV-1)的转录激活物 TAT 蛋白的转导结构域<sup>[30]</sup>。它可以偶联异源蛋白质或纳米粒等,使其透过 BBB<sup>[31]</sup>。另外,它还可以运送量子点穿过 BBB 到达脑实质<sup>[32]</sup>。Liu 等<sup>[33]</sup>在载环丙沙星的纳米胶束表面偶联 TAT 多肽,结果显示偶联 TAT 多肽,可以使该胶束穿过 BBB,从而增强了人星形胶质细胞对胶束的摄取。SynB1 作为一种来自于抗菌肽蛋白 1 的载体材料,在递送药物透过 BBB 方面已显示出一定优势。有实验表明 SynB1 在不影响 BBB 完整性的情况下,可以显著增强大脑中的吗啡-6-葡糖醛酸酯(morphin-6-glucuronid, M6G)的含量<sup>[34]</sup>。

### 1.2 连接基团

完美的多肽偶联药物只有在到达指定部位后才会释放药物,而连接基团在这方面显得尤为重要。即一旦多肽偶联药物到达目标后,连接基团被裂解,药物以完全活性状态释放。所以,连接基团在循环时必须稳定,优先在目标部位

**表 3** 常见的作为中枢神经系统(CNS)药物载体的细胞穿透肽

多肽名称	序列	来源
TAT(47~57)	YGRKKRRQRRR-NH <sub>2</sub>	人类免疫缺陷病毒 1 型 <sup>[25]</sup>
R8	RRRRRRRR	精氨酸聚合物 <sup>[26]</sup>
TP10	AGYLLGKINLKALAALAKKIL-NH <sub>2</sub>	黄蜂毒液 <sup>[27]</sup>
SynB1	RGGRLSYRRRFSTSTGR	抗菌肽蛋白 1 <sup>[28]</sup>
SynB3	RRLSYRRRF	抗菌肽蛋白 1 <sup>[29]</sup>

裂解,从而确保最大剂量药物到达目标。然而,大多数连接基团在全身给药后,从进入血液那一刻开始就被裂解,当到达指定部位后,所剩不多的药物才被细胞吸收。因此,设计多肽偶联药物选择连接基团时,为避免干扰多肽与其受体的结合亲和力及药效,需要考虑到其所在的微环境,如其长度、稳定性、释放机制、官能团、亲水性/疏水性和其他特性<sup>[35]</sup>。目前,多肽偶联药物的连接基团分为可裂解基团和不可裂解基团(丁二酰硫醚、脲和三唑等)两大类。可裂解基团又分为 pH 敏感型(缩醛、酮和碳酸酯)、酶敏感型(酯酶、酰胺酶和氨基甲酸酯)、氧化还原敏感型(二硫键)三大类<sup>[36]</sup>。

在多肽偶联药物全身给药后,最不稳定的位点首先被裂解,其次是其他位点,最终成为包括未改性药物、具有部分连接基团的药物和带有连接基团的氨基酸在内的混合物。虽然在靶向治疗药物的开发中,可裂解的连接基团比不可裂解的连接基团更受青睐。但不可裂解基团具有不会因外部刺激(如化学诱导的刺激)而被裂解的优点,因而在循环中具有更高的稳定性,故其可能不会像可裂解基团那样在血液中被裂解,并在到达目标部位之前在血液中过早释放一些药物<sup>[37-38]</sup>。因此,脑靶向多肽和药物的具体连接方式,应根据实际需求确定。脑胶质瘤是最常见和最致命的原发性恶性脑肿瘤。由于存在药物溶解性差、缺乏肿瘤选择性、穿过 BBB 的渗透性差,以及广泛的肿瘤内和肿瘤间异质性等棘手问题,大多数治疗在临床上往往以失败告终<sup>[39]</sup>。但一种只在 CNS 中表达的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)糖蛋白,称为 brevican(Bcan),被发现于脑胶质瘤中表现为上调,并与肿瘤侵袭性和侵袭性增加有关<sup>[40]</sup>。其被称为 dg-Bcan 的去糖基化亚型仅在人类高级别胶质瘤(包括胶质瘤)组织样本中发现,并在整个肿瘤组织中表达出肿瘤特异性和一致性。这强调了其作为一种新型胶质瘤特异性标记物因而具有开发新的靶向药物的潜力<sup>[41]</sup>。于是,研究者筛选了 1 个名为 BTP-7 靶向肽,该肽在血清中稳定,可以穿过 BBB,特异性结合 dg-Bcan。于是,就将该多肽与喜树碱(camptothecin,

CPT)通过二硫键偶联,得到多肽偶联药物 BTP-7-CPT。实验结果表明,该多肽偶联药物在体外对患者源性脑胶质瘤干细胞表现出抑制作用,在人源性脑胶质瘤颅内异种移植(patient-derived tumor xenograft, PDX)小鼠模型中增加了对肿瘤部位的药物输送。而且,与健康脑组织相比,该多肽偶联药物还增强了肿瘤毒性,并延长了动物的生存期。但该化合物仍存在一些不足,虽然天然 BTP-7 在人血清中稳定超过 12 h,但 BTP-7-CPT 多肽偶联药物在 1 h 内完全降解,这表明在还未到达肿瘤部位时,血液中的二硫键很可能已经被裂解<sup>[42]</sup>。因此,需要提高该化合物在血液中的连接基团的稳定性。

### 1.3 有效载荷

脑靶向肽偶联药物中的有效载荷,不只局限于治疗药物,还可以是造影剂。将药物与脑靶向多肽偶联后,可以改变药物的理化性质,如溶解度、选择性和半衰期等,使药物具有选择性,可以提高原本药物的疗效,减少毒副作用,改善溶解度,增加吸收<sup>[43]</sup>。

以治疗脑胶质瘤为例,常用的是传统的化疗药物,如紫杉醇(paclitaxel, PTX)、CPT 或多柔比星(doxorubicin, DOX)等。其主要是通过各种机制来阻止癌细胞的有丝分裂或促进细胞凋亡,从而达到治疗目的<sup>[44]</sup>。这类药物虽然有一定的疗效,但也有一定的缺点,如毒副作用大、溶解度差。选择合适的脑靶向肽偶联就可以解决这些问题。研究者根据该策略设计了 PTX 偶联双功能肽 SynB3 和序列为 PVGLIG 的基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)敏感肽,用于脑胶质瘤的治疗。实验结果表明,①SynB3-PVGLIG-PTX 与 MMP-2 表现出较强的亲和力,它可以通过聚合形成带正电荷的特殊结构来提高水溶性;②MMP-2 裂解后, SynB3-PVGLIG-PTX 可控制释放 PTX,这表明 SynB3-PVGLIG-PTX 对胶质瘤细胞具有特异性的细胞毒性;③SynB3-PVGLIG-PTX 在体内外均能有效抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。此外, SynB3-PVGLIG-PTX 的抑制率显著高于阳性药替莫唑胺(temozolomide, TMZ)和 PTX;④联合使用 MMP-2 敏感的多肽和 CPPs(SynB3),既增强了 BBB 渗透性,又提高了 SynB3-PVGLIG-PTX 的胶质瘤靶向效应,使药物在治疗期间具有低不良反应的高抗肿瘤活性<sup>[45]</sup>。除此之外,脑靶向肽偶联药物还可以用于向肿瘤细胞传递小干扰 RNA(siRNA)。一旦被靶向, siRNA 可以抑制翻译和随后的蛋白质合成。这种结合策略,还有助于对抗耐药性<sup>[46]</sup>。

但如果能够使用不同的成像方式对发病部位的结构功能成像,确定病变部位和状态,就可以更加精准地诊断和治疗疾病。例如美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的首个含放射性核素的多肽偶联药物<sup>111</sup>in-DTPA-octreotide(octrescan),用于治疗神经内分泌肿瘤<sup>[47]</sup>。然而,研究表明奥曲肽(octreotide)扫描对治疗肿瘤的作用有限,因此该药物就主要用于诊断。而大脑的结构和功能更为复杂,如果能对其成像观察病理生理状态,可以达到更好的治疗效果。近年来为了同时解决药物定位、

药物释放和药物疗效的相关问题,已经探索了将药物和显像剂组合在分子或纳米级平台上的多成分结构,称为治疗诊断剂。这种方法,有望显著改善治疗效果欠佳的脑部疾病,如体内分子神经成像等。Woods 等<sup>[48]</sup>设计了[(99mTcO<sub>4</sub>)-CPepH3]复合物, PepH3 多肽为脑靶向肽, CPepH3 为客体, 99mTcO<sub>4</sub> 放射性标记为主体。研究表明,该复合物能够穿过 BBB,其脑积累量高于其他用于脑靶向传递的肽。CPepH3 结构呈笼状结构,该笼状支架可以使用不同的技术进行正交成像,如为正电子发射断层扫描成像术(positron emission tomography, PET)设计的客体笼和为磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)设计的主体笼等。同样,这些超分子金属基结构的坚固性和模块化组成可以引入靶向部分,如多肽或抗体等。目前,该实验室正在探索实现具有不同功能的异质笼,同时封装抗癌药物在内,如顺铂等。

## 2 常见的脑靶向肽偶联药物

### 2.1 ANG1005

ANG1005 是由 1 分子 angiopep-2 多肽和 3 分子的 PTX 通过可裂解的琥珀酰酯偶联而成的, angiopep-2 以 LRP-1 为靶点,使其穿过血-脑脊液屏障(blood-cerebrospinal fluid barrier, BCB)和 BBB,进入肿瘤细胞,在肿瘤细胞中裂解出 PTX 以发挥其抗肿瘤活性。原位脑灌注实验显示, ANG1005 进入大脑的量比 PTX 更大,并且可以绕过 BBB 上的 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)。体外实验证明 ANG1005 对人类癌细胞株的抗肿瘤效力与 PTX 相似;体内实验证明 ANG1005 对肿瘤异种移植的抑制作用比 PTX 更有效,可显著提高脑内植入 U87 MG 胶质母细胞瘤细胞或 NCI-H460 肺癌细胞的小鼠的存活率<sup>[49]</sup>。在 I 期研究中,单次静脉注射该多肽偶联药物,在 3~6 h 后切除的复发性胶质瘤中可以检测到治疗浓度的 ANG1005,这为其通过 BBB 转运和肿瘤渗透提供了有力证据<sup>[50]</sup>。在复发性乳腺癌脑转移(brain metastases from breast cancer, BCBM)、伴或不伴有软脑膜癌(leptomeningeal carcinomatosis subset, LMC)的 II 期临床研究中, ANG1005 每 3 周静脉注射 600 mg·m<sup>-2</sup>, 77% 颅内和 86% 颅外患者获益,主要表现为病情稳定或更好;在软脑膜癌中, 79% 的患者颅内疾病得到控制,估计中位总生存期为 8.0 个月(95% 置信区间, 5.4~9.4 个月)<sup>[51]</sup>。一项注册号为 NCT03613181 的 III 期临床试验正在进行中,目的是观察与医生选择的最佳药物相比, ANG1005 是否可以延长新近诊断为 LMC 并曾治疗过脑转移的 HER2 阴性乳腺癌患者的生存期。

### 2.2 DA-TP10

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的进行性神经退行性疾病,但治疗效果并不完全令人满意。目前 PD 治疗的主要难点之一是药物 BBB 渗透性较差。研究者设计选用细胞穿透肽 TP10 作为药物载体,采用“click”反应,偶联多巴胺(dopamine, DA)。实验结果表明,该多肽偶联药物具有比 DA 更好的药动学和药效学性能。它可穿过 BBB,进入

脑组织,对儿茶酚-*O*-甲基转移酶的 *O*-甲基化反应的敏感性较低,甚至低于 DA,对多巴胺 1 型受体(dopamine receptor 1, D1)和多巴胺 2 型受体(dopamine receptor 2, D2)受体的亲和力较高,如在 D1 受体的情况下,远高于 DA。在药物诱导的 PD 临床前动物模型中,与左旋多巴(L-DOPA)相比,抗帕金森活性更明显<sup>[52]</sup>。因此,治疗 PD 的药物与 CPPs 的结合可能会成为一种治疗 PD 的新策略。

### 2.3 An2-M6G

M6G 在脑内注射后的镇痛效果比吗啡高 50 倍。然而, M6G 的脑穿透性明显低于吗啡,从而影响了其疗效。因此,设计了 An2-M6G 多肽偶联药物,即 1 分子 angiopep-2 多肽通过二硫键偶联 3 分子的 M6G。实验证明,静脉注射或皮下注射 An2-M6G 多肽偶联药物,与 M6G 或吗啡单体相比, An2-M6G 增加了 BBB 通透性,其比同等剂量的吗啡或 M6G 具有更大、更持久的镇痛活性,且 An2-M6G 表现出减少便秘副作用的优点<sup>[53]</sup>。这些结果表明使用脑靶向多肽载体作为一种新型的透过 BBB 的技术,可应用于 CNS 疾病的治疗。

### 3 目前脑靶向肽偶联药物面临的挑战及改进方法

尽管脑靶向肽偶联药物有很多优点,但仍存在一些局限性。由于其相对分子质量较生物大分子低,稳定性较差,肾脏可快速清除,半衰期和循环周期较短,可能导致药物疗效有限<sup>[54]</sup>。此外,因为胃肠道有多种酶类,会使多肽在胃肠道内降解,故此类药物不适合口服给药,常用的给药方式是静脉注射,致使患者依从性差。目前,研究者也通过不同的技术来克服这些挑战。

#### 3.1 对多肽自身结构的修饰

目前,研究者常采用环化肽(头尾环化、二硫键环化等)、拟肽、订书肽、bicycle 策略和用 D-氨基酸代替 L-氨基酸等,增强多肽的稳定性,以此来延长半衰期。RAP12 肽来源于受体相关蛋白(receptor associated protein, RAP)的微型化,与 LRP-1 具有结合亲和力。然而,当其脱离稳定蛋白环境时, RAP12 表现出弱的  $\alpha$ -螺旋片段。考虑到  $\alpha$ -螺旋结构是该肽中介导配体-受体相互作用的常见结构基序,研究者利用肽吻合器技术合成了订书肽 stapled RAP12 (ST-RAP12)。经验证,与 RAP12 相比,优化后的 ST-RAP12 具有更高的  $\alpha$ -螺旋含量、与 LRP-1 的结合亲和力和血清稳定性。此外, ST-RAP12 表现出对 bEnd.3 细胞、U87 胶质瘤细胞和人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)内化增强。而且, ST-RAP12 在体外穿透 BBB 和血脑肿瘤屏障(blood-brain tumor barrier, BBTB)的能力也增强了。进一步应用 ST-RAP12 肽修饰高分子材料,构建 ST-RAP12 胶束。实验结果表明,该胶束在体内外可以有效穿透 BBB/BBTB 并靶向胶质瘤。此外, ST-RAP12 胶束能有效地向胶质瘤传递 PTX,延长胶质瘤荷瘤小鼠的生存时间,抑制肿瘤血管生成,诱导胶质瘤细胞凋亡,具有明显的抗胶质瘤作用<sup>[55]</sup>。处于临床试验阶段的 BT1718,是由双环肽通过可裂解的二硫键与美登素(mertansine, DM1)偶联得到

的。双环肽可以特异性结合膜型 1 基质金属蛋白酶(MT1-MMP), MT1-MMP 在乳腺癌、肺癌、卵巢癌、结肠癌等恶性肿瘤中过表达。与 ADC 相比, BT1718 相对分子质量低,分布良好,可快速穿透并“杀死”肿瘤细胞,对晚期实体瘤有治疗作用<sup>[56]</sup>。已有大量研究表明 angiopep-2 修饰的纳米载体显著增加了脑分布。Wei 等<sup>[57]</sup>构建了 angiopep-2 的反向异构体,命名为<sup>D</sup>angiopep-2,建立了脑靶向药物输送系统。虽然在体外试验中,<sup>D</sup>angiopep-2 被大脑毛细血管内皮细胞摄取的效率比<sup>L</sup>angiopep-2 低,但它表现出了增强的稳定性,并且修饰后的胶束比<sup>L</sup>angiopep-2 修饰后的胶束在正常的大脑和颅内胶质母细胞瘤细胞中具有更高的分布。

#### 3.2 与化学大分子的结合修饰

多肽的电荷也与药物清除率有关。带负电荷的多肽序列比带正电荷的有更长的半衰期,这是因为肾小球内膜上阴离子电荷的存在限制了尿液中阴离子化合物的过滤。此外,还可通过增加多肽的大小和血浆蛋白结合,以防止结合物通过肾脏被过滤出来<sup>[58]</sup>。有一种策略是将聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)与脑靶向肽药物偶联,可以延长半衰期。PEG 的固有性质使其成为改性的理想候选材料:便宜、亲水、生物相容性和非免疫原性。它是最广泛使用的非天然聚合物之一,用于增加肽的溶解度、降低免疫反应和提高肽的生物利用度。PEG 聚合物分子中的每个氧原子都能结合 2~3 个水分子,这样会大大增加附着在其上的化合物的质量和溶解度<sup>[59]</sup>。FDA 也批准了多种聚乙二醇化蛋白质,如 PEG-牛磺腺苷脱氨酶和 PEG- $\alpha$ -干扰素等<sup>[60]</sup>。但相对分子质量为  $3 \times 10^4$  及以上的聚乙二醇化的多肽会导致其在各种器官中的空泡化,如肾脏、肝脏、脾脏和骨髓等<sup>[61]</sup>。因此,PEG 天然替代品被开发出来。最突出的替代品是 PASylation 和 XTEN。XTEN 是由丙氨酸(A)、谷氨酸(E)、甘氨酸(G)、脯氨酸(P)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T)这 6 种化学稳定氨基酸的非重复随机片段组成的遗传融合多肽。这些氨基酸的选择是基于避免可能影响蛋白质溶解度、活性和稳定性原则。艾塞那肽与 XTEN 偶联可显著改善肽的药动学,将其在大鼠、小鼠或猴子体内的半衰期分别延长 65.71 或 125 倍<sup>[62]</sup>。PASylation 化是指脯氨酸(P)、丙氨酸(A)和丝氨酸(S)的聚合物。由这些氨基酸组成的聚合物被认为对肽的水力动态体积与 PEG 有类似的影响,并且是可生物降解的,已经成功应用于超过 10 种第一代生物制剂,包括人类生长激素、瘦素、促红细胞生成素、艾塞那肽、尿酸酶和凝血因子等<sup>[63-64]</sup>。

#### 3.3 剂型修饰

胃肠道的生理机能阻碍了大多数口服蛋白质制剂的临床转化。胃中含有刺激性的酸和酶,为了确保药物发挥作用,必须保护其和传递载体不受影响。有一些方法可以提高多肽类药物的口服生物利用度,如使用耐酸涂层、肠道酶抑制剂、黏液穿透肽和渗透增强剂等<sup>[65]</sup>。Lamson 等<sup>[66]</sup>研究发现小于 100 nm 的阴离子纳米颗粒可以充当物理化学渗透增强剂,促进蛋白质的口服输送。需要注意的是,这里描述的纳米颗粒不是通过作为运输载体移动穿过肠上皮,而是通过

结合肠表面的受体介导紧密连接的开放,即纳米颗粒通过结合整合素和激活肌球蛋白轻链激酶(myosin-light-chain kinase,MLCK)增加肠道通透性,且这种作用是可逆的,不会导致肠组织坏死或炎症。此外,使用酸稳定涂层,是通过在表面涂上pH敏感的肠道聚合物来实现的,这种聚合物只有在肠道达到中性pH值时才会溶解,导致涂层破裂和包裹物释放<sup>[67]</sup>。

#### 4 小结

由于BBB的存在,发现和开发新的治疗各种CNS疾病有效药物是非常具有挑战性的。脑靶向肽偶联药物作为一种非侵入性药物输送系统,可以透过BBB,将药物带入脑实质。与ADC相比,低相对分子质量的脑靶向肽偶联药物可能具有高渗透性、高效的细胞运输、低免疫原性,以及更容易合成和纯化。这使得它成为继ADC后,靶向给药领域又一研究热点。影响脑靶向肽偶联药物成为治疗CNS疾病有效药物的因素有:①药物运送到大脑的效率;②脑内药物的分布情况;③有效药物的释放和脑内的蓄积量;④与药物释放和体内稳定性有关的连接基团的选择;⑤受体饱和性等。因此,脑靶向肽偶联药物各部分的选择和设计尤为重要。

但由于多肽的特性,也使其应用受到一定的限制。目前,研究者也发明了许多新技术,用来克服这些缺点,如对其结构修饰、与生物大分子偶联和剂型修饰等。随着相关技术的发展,如来自噬菌体、酵母展示、嗜神经病毒和干细胞的肽库的新型筛选平台以及基于特定靶点的计算机模拟设计,研究者将开发出更好的BBB选择性、更高的转运能力、更强的代谢稳定性的脑靶向肽。相信在未来脑靶向肽偶联药物输送系统可以取得实质性进展,在CNS疾病治疗中发挥其独特优势。

#### REFERENCES

- [1] LOCHHEAD J J, YANG J, RONALDSON P T, et al. Structure, function, and regulation of the blood-brain barrier tight junction in central nervous system disorders [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 914. DOI:10.3389/fphys.2020.00914.
- [2] FURTADO D, BJÖRNMALM M, AYTUN S, et al. Overcoming the blood-brain barrier: the role of nanomaterials in treating neurological diseases [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(46):1801362. DOI: 10.1002/adma.201801362.
- [3] MARTINELLI C, PUCCI C, BATTAGLINI M, et al. Antioxidants and nanotechnology: promises and limits of potentially disruptive approaches in the treatment of central nervous system diseases [J]. *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(3):1901589. DOI: 10.1002/adhm.201901589.
- [4] JAFARI B, POURSEIF M M, BARAR J, et al. Peptide-mediated drug delivery across the blood-brain barrier for targeting brain tumors [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2019, 16(6):583-605.
- [5] WANG L, CHEN H, WANG F, et al. The development of peptide-drug conjugates (PDCs) strategies for paclitaxel [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2022, 19(2):147-161.
- [6] MA L, WANG C, HE Z, et al. Peptide-drug conjugate: a novel drug design approach [J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(31):3373-3396.
- [7] CHENG H, XIAN J C, HONG Y L, et al. Research progress of protein pharmaceuticals [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2023, 58(3):205-212.
- [8] FU C, YU L, MIAO Y, et al. Peptide-drug conjugates (PDCs): a novel trend of research and development on targeted therapy, hype or hope? [J]. *Acta Pharm Sin B* (药理学报 英文), 2023, 13(2):498-516.
- [9] HABIB S, SINGH M. Angiopep-2-modified nanoparticles for brain-directed delivery of therapeutics: a review [J]. *Polymers*, 2022, 14(4):712. DOI: 10.3390/polym14040712.
- [10] LEE J H, ENGLER J A, COLLAWN J F, et al. Receptor mediated uptake of peptides that bind the human transferrin receptor [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(7):2004-2012.
- [11] HUA H, ZHANG X, MU H, et al. RVG29-modified docetaxel-loaded nanoparticles for brain-targeted glioma therapy [J]. *Int J Pharm*, 2018, 543(1/2):179-189.
- [12] HAN Z, SHANG W, LIANG X, et al. An innovation for treating orthotopic pancreatic cancer by preoperative screening and imaging-guided surgery [J]. *Mol Imaging Biol*, 2019, 21: 67-77. DOI: 10.1007/s11307-018-1209-8.
- [13] MORITO T, HARADA R, IWATA R, et al. Synthesis and pharmacokinetic characterisation of a fluorine-18 labelled brain shuttle peptide fusion dimeric affibody [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):2588. DOI: 10.1038/s41598-021-82037-2.
- [14] SLAMON D J, LEYLAND-JONES B, SHAK S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(11):783-792.
- [15] WANG L, YU C F, YANG Y L, et al. Biological effects of trastuzumab and T-DMI on different breast cancer lines [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2016, 51(13):1096-1100.
- [16] DE BOER A G, GAILLARD P J. Strategies to improve drug delivery across the blood-brain barrier [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2007, 46(7):553-576.
- [17] REGINA A, DEMEULE M, TRIPATHY S, et al. ANG4043, a novel brain-penetrant peptide-mab conjugate, is efficacious against her2-positive intracranial tumors in mice peptide-mab conjugate crosses the blood-brain barrier [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(1):129-140.
- [18] PARK T E, SINGH B, LI H, et al. Enhanced BBB permeability of osmotically active poly (mannitol-co-PEI) modified with rabies virus glycoprotein via selective stimulation of caveolar endocytosis for RNAi therapeutics in Alzheimer's disease [J]. *Biomaterials*, 2015, 38: 61-71. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.068.
- [19] XIN X, LIU W, ZHANG Z A, et al. Efficient anti-glioma therapy through the brain-targeted RVG15-modified liposomes loading paclitaxel-cholesterol complex [J]. *Int J Nanomed*, 2021, 16: 5755. DOI: 10.2147/IJN.S318266.
- [20] DÍAZ-PERLAS C, OLLER-SALVIA B, SÁNCHEZ-NAVARRO M, et al. Branched BBB-shuttle peptides: chemoselective modification of proteins to enhance blood-brain barrier transport [J]. *Chem Sci*, 2018, 9(44):8409-8415.
- [21] DERAKHSHANKHAH H, JAFARI S. Cell penetrating peptides:

- a concise review with emphasis on biomedical applications [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1090-1096. DOI:10. 1016/j. biopha. 2018. 09. 097.
- [22] DESALE K, KUCHE K, JAIN S. Cell-penetrating peptides (CPPs): an overview of applications for improving the potential of nanotherapeutics [J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(4):1153-1188.
- [23] HERVÉ F, GHINEA N, SCHERRMANN J M. CNS delivery via adsorptive transcytosis [J]. *AAPS J*, 2008, 10: 455-472. DOI: 10. 1208/s12248-008-9055-2.
- [24] SILVA S, ALMEIDA A J, VALE N. Combination of cell-penetrating peptides with nanoparticles for therapeutic application; a review [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(1):22. DOI: 10. 3390/biom9010022.
- [25] FRØSLEV P, FRANZYK H, OZGÜR B, *et al.* Highly cationic cell-penetrating peptides affect the barrier integrity and facilitates mannitol permeation in a human stem cell-based blood-brain barrier model [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 168: 106054. DOI: 10. 1016/j. ejps. 2021. 106054.
- [26] LIU Y, RAN R, CHEN J, *et al.* Paclitaxel loaded liposomes decorated with a multifunctional tandem peptide for glioma targeting [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(17):4835-4847.
- [27] PARRASIA S, SZABÓ I, ZORATTI M, *et al.* Peptides as pharmacological carriers to the brain: promises, shortcomings and challenges [J]. *Mol Pharm*, 2022, 19(11):3700-3729.
- [28] BARANYAI Z, BIRI-KOVÁCS B, KRATKY M, *et al.* Cellular internalization and inhibition capacity of new anti-glioma peptide conjugates: physicochemical characterization and evaluation on various monolayer-and 3d-spheroid-based *in vitro* platforms [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(6):2982-3005.
- [29] LIU H, ZHANG W, MA L, *et al.* The improved blood-brain barrier permeability of endomorphin-1 using the cell-penetrating peptide synB3 with three different linkages [J]. *Int J Pharm*, 2014, 476(1/2):1-8.
- [30] FAWELL S, SEERY J, DAIKH Y, *et al.* Tat-mediated delivery of heterologous proteins into cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91(2):664-668.
- [31] QIN Y, CHEN H, YUAN W, *et al.* Liposome formulated with TAT-modified cholesterol for enhancing the brain delivery [J]. *Int J Pharm*, 2011, 419(1/2):85-95.
- [32] SANTRA S, YANG H, STANLEY J T, *et al.* Rapid and effective labeling of brain tissue using TAT-conjugated CdS: Mn/ZnS quantum dots [J]. *Chem Commun*, 2005, (25):3144-3146.
- [33] LIU L, VENKATRAMAN S S, YANG Y Y, *et al.* Polymeric micelles anchored with TAT for delivery of antibiotics across the blood-brain barrier [J]. *Pept Sci*, 2008, 90(5):617-623.
- [34] TEMSAMANI J, BONNAFOUS C, ROUSSELLE C, *et al.* Improved brain uptake and pharmacological activity profile of morphine-6-glucuronide using a peptide vector-mediated strategy [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(2):712-719.
- [35] LIANG Y, LI S, WANG X, *et al.* A comparative study of the antitumor efficacy of peptide-doxorubicin conjugates with different linkers [J]. *J Controlled Release*, 2018, 275: 129-141. DOI: 10. 1016/j. jconrel. 2018. 01. 033.
- [36] ALAS M, SAGHAEIDEHKORDI A, KAUR K. Peptide-drug conjugates with different linkers for cancer therapy [J]. *J Med Chem*, 2020, 64(1):216-232.
- [37] DÓKUS L E, LAJKÓ E, RANDELOVIĆ I, *et al.* Phage display-based homing peptide-daunomycin conjugates for selective drug targeting to PANC-1 pancreatic cancer [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(6):576. DOI: 10. 3390/pharmaceutics12060576.
- [38] ZHENG B Y, YANG X Q, ZHAO Y, *et al.* Synthesis and photodynamic activities of integrin-targeting silicon (IV) phthalocyanine-cRGD conjugates [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 24-33. DOI: 10. 1016/j. ejmech. 2018. 05. 039.
- [39] GALA U H, MILLER D A, WILLIAMS III R O. Harnessing the therapeutic potential of anticancer drugs through amorphous solid dispersions [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1):188319. DOI: 10. 1016/j. bbcan. 2019. 188319.
- [40] GIAMANCO K A, MATTHEWS R T. The role of BEHAB/Brevican in the tumor microenvironment; mediating glioma cell invasion and motility [J]. *Tumor Microenviron Extracell Matrix Compon Part B*, 2020: 117-132. DOI: 10. 1007/978-3-030-48457-6\_7.
- [41] VON SPRECKELEN N, FADZEN C M, HARTRAMPF N, *et al.* Targeting glioblastoma using a novel peptide specific to a deglycosylated isoform of brevican [J]. *Adv Ther*, 2021, 4(4): 2000244. DOI: 10. 1002/adtp. 202000244.
- [42] CHO C F, FARQUHAR C E, FADZEN C M, *et al.* A tumor-homing peptide platform enhances drug solubility, improves blood-brain barrier permeability and targets glioblastoma [J]. *Cancers*, 2022, 14(9): 2207. DOI: 10. 3390/cancers14092207.
- [43] HEH E, ALLEN J, RAMIREZ F, *et al.* Peptide drug conjugates and their role in cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(1):829. DOI: 10. 3390/ijms24010829.
- [44] BAILLY C, THURU X, QUESNEL B. Combined cytotoxic chemotherapy and immunotherapy of cancer: modern times [J]. *NAR Cancer*, 2020, 2(1):zcaa002. DOI: 10. 1093/narcan/zcaa002.
- [45] HUA D, TANG L, WANG W, *et al.* Improved anti-glioblastoma activity and BBB permeability by conjugation of paclitaxel to a cell-penetrative MMP-2-cleavable peptide [J]. *Adv Sci*, 2021, 8(3):2001960. DOI: 10. 1002/advs. 202001960.
- [46] KHAN M M, FILIPCZAK N, TORCHILIN V P. Cell penetrating peptides: a versatile vector for co-delivery of drug and genes in cancer [J]. *J Controlled Release*, 2021, 330: 1220-1228. DOI: 10. 1016/j. jconrel. 2020. 11. 028.
- [47] ZHU Y S, TANG K, LÜ J. Peptide-drug conjugate-based novel molecular drug delivery system in cancer [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42(10):857-869.
- [48] WOODS B, SILVA R B D, SCHMIDT C, *et al.* Bioconjugate supramolecular Pd<sup>2+</sup> + metallacages penetrate the blood brain barrier *in vitro* and *in vivo* [J]. *Bioconjug Chem*, 2021, 32(7):1399-1408.
- [49] REGINA A, DEMEULE M, CHE C, *et al.* Antitumor activity of ANG1005, a conjugate between paclitaxel and the new brain delivery vector Angiopep-2 [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 155(2): 185-197.
- [50] DRAPPATZ J, BRENNER A, WONG E T, *et al.* Phase I study of GRN1005 in recurrent malignant GliomaGRN1005 for recurrent glioma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(6):1567-1576.
- [51] KUMTHEKAR P, TANG S C, BRENNER A J, *et al.* ANG1005, a brain-penetrating peptide-drug conjugate, shows activity in patients with breast cancer with leptomeningeal carcinomatosis and recurrent brain MetastasesANG1005 for leptomeningeal and CNS metastases

- [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(12):2789-2799.
- [52] RUSIECKA I, RUCZYŃSKI J, KOZŁOWSKA A, *et al.* TP10-dopamine conjugate as a potential therapeutic agent in the treatment of Parkinson's disease [J]. *Bioconjug Chem*, 2019, 30(3):760-774.
- [53] EISELT E, OTIS V, BELLEVILLE K, *et al.* Use of a noninvasive brain-penetrating peptide-drug conjugate strategy to improve the delivery of opioid pain relief medications to the brain [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2020, 374(1):52-61.
- [54] CHEN M, SUN P, SU J, *et al.* Research progress in new drug delivery systems for proteins and polypeptides [J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2022, 57(15):1232-1240.
- [55] RUAN H, YAO S, WANG S, *et al.* Stapled RAPI2 peptide ligand of LRPI for micelles-based multifunctional glioma-targeted drug delivery [J]. *Chem Eng J*, 2021, 403:126296. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126296.
- [56] COOK N, BANERJI U, EVANS J, *et al.* Pharmacokinetic (PK) assessment of BT1718: a phase I/II a study of BT1718, a first in class bicyclic toxin conjugate (BTC), in patients (pts) with advanced solid tumours [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30:174. DOI: 10.1093/annonc/mdz244. 026.
- [57] WEI X, ZHAN C, CHEN X, *et al.* Retro-inverso isomer of angiopep-2: a stable d-peptide ligand inspires brain-targeted drug delivery [J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(10):3261-3268.
- [58] WU H, HUANG J. Optimization of protein and peptide drugs based on the mechanisms of kidney clearance [J]. *Protein Pept Lett*, 2018, 25(6):514-521.
- [59] ERAK M, BELLMANN-SICKERT K, ELS-HEINDL S, *et al.* Peptide chemistry toolbox-transforming natural peptides into peptide therapeutics [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(10):2759-2765.
- [60] MUTTENTHALER M, KING G F, ADAMS D J, *et al.* Trends in peptide drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(4):309-325.
- [61] AGHAABDOLLAHIAN S, AHANGARI COHAN R, NOROUZIAN D, *et al.* Enhancing bioactivity, physicochemical, and pharmacokinetic properties of a nano-sized, anti-VEGFR2 adnectin, through PASylation technology [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):2978. DOI: 10.1038/s41598-019-39776-0.
- [62] RONDON A, MAHRI S, MORALES-YANEZ F, *et al.* Protein engineering strategies for improved pharmacokinetics [J]. *Adv Funct Mater*, 2021, 31(44):2101633. DOI: 10.1002/adfm.202101633.
- [63] BINDER U, SKERRA A. PASylation®: a versatile technology to extend drug delivery [J]. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2017, 31:10-17. DOI: 10.1016/j.cocis.2017.06.004.
- [64] KHODABAKHSH F, SALIMIAN M, HEDAYATI M H, *et al.* Challenges and advancements in the pharmacokinetic enhancement of therapeutic proteins [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2021, 51(6):519-529.
- [65] DRUCKER D J. Advances in oral peptide therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(4):277-289.
- [66] LAMSON N G, BERGER A, FEIN K C, *et al.* Anionic nanoparticles enable the oral delivery of proteins by enhancing intestinal permeability [J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(1):84-96.
- [67] VASS P, DÉMUTH B, HIRSCH E, *et al.* Drying technology strategies for colon-targeted oral delivery of biopharmaceuticals [J]. *J Controlled Release*, 2019, 296:162-178. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.01.023.

(收稿日期:2023-02-28)