

## 多靶点肽类镇痛药物的研究进展

方泉, 李宁, 许彪, 王锐\*

(兰州大学基础医学院生理学研究所 甘肃省新药临床前研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

**[摘要]** Mu 阿片受体为吗啡和芬太尼等传统阿片类镇痛药物的主要作用靶点。传统的阿片类镇痛药物广泛用于中度和重度疼痛的临床治疗, 但长期使用该类药物会引起镇痛耐受和成瘾等副作用, 并伴随着眩晕、恶心、呕吐、便秘、瘙痒、呼吸抑制等不良反应, 从而限制了其临床应用。近年来, 多靶点分子的研究取得重要进展, 可对此类药物的镇痛活性与副作用进行有效分离。同时靶向 mu 阿片受体和其他受体的多靶点分子能产生有效的镇痛活性, 并能降低镇痛耐受、成瘾、呼吸抑制和便秘等阿片样副作用, 其在高效、低副作用的镇痛新药研发中具有潜在的应用前景。综述多靶点肽类镇痛药物的设计及其药理学活性, 为新型肽类镇痛新药的研发提供新的思路。

**[关键词]** 多靶点药物; 多肽药物; 阿片; 镇痛活性; 耐受性; 成瘾性

**[中图分类号]** R971 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2019) 10-0726-12

## Advances in the Research on Multi-target Peptide Analgesics

FANG Quan, LI Ning, XU Biao, WANG Rui

(Institute of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Key Laboratory of Preclinical Study for New Drugs of Gansu Province, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** The mu opioid receptor (MOR) is the main target for opiate analgesics such as morphine and fentanyl. The classical opioid analgesics are widely used clinically for moderate to severe pain, however, their long-term use often induces antinociceptive tolerance and addiction, together with side-effects such as dizziness, nausea, vomiting, constipation, pruritus and respiratory depression, which undermine their clinical application. Significant progress has been made in recent years in the research on multi-target compounds for the effective segregation of analgesia from unwanted effects. These multi-target ligands targeting MOR and other receptors produce effective antinociceptive effects with reduced side-effects on antinociceptive tolerance, addiction, respiratory depression and constipation. This article reviews the designing strategies and pharmacological activities of the multi-target peptide ligands, with an aim to provide a new approach to the development of peptide-based analgesics.

**[Key words]** multi-target drug; peptide drug; opioid; analgesic activity; tolerance; addiction

疼痛是临床患者最常见的症状之一, 药物治疗能有效缓解病人的痛苦。吗啡、芬太尼和羟考酮等传统阿片类镇痛药物已广泛用于中度和重度疼痛的临床治疗, 但长期使用该类药物会引起耐受和成瘾等副作用, 并伴随着眩晕、恶心、呕吐、便秘、瘙痒、呼吸抑制等不良反应, 从而限制了其临床应用<sup>[1]</sup>。近年来, 美国因芬太尼等阿片类药物滥用而致死的人数不断攀升, 阿片类药物滥用已成为严重的公共卫生问题, 即“阿片危机”<sup>[2-3]</sup>。

已有研究表明, mu 阿片受体 (MOR) 在介导阿片镇痛中起着重要作用, MOR 敲除动物的研究进一步验证了该受体能同时引起阿片镇痛和阿片样副作用。近年来, 为了有效降低传统阿片类镇痛药物的副作用, 研究人员发展了以下 2 种新策略<sup>[4]</sup>: 1) 利用阿片受体的药理学功能选择性, 开发不激活  $\beta$ -arrestin 信号通路的阿片类偏向性激动剂以降低便秘、呼吸抑制和耐受等副作用; 2) 开发“一药多靶”的阿片镇痛分子, 即同时激活 MOR 及其相关的其他 G 蛋白偶联受体 (G-protein-coupled receptor, GPCR) 的多靶点阿片类镇痛分子, 以平衡与镇痛相关且具有内在联系的多个药物作用靶点, 从而实现增加其疗效, 且降低其阿片样副作用的目标。

近年来, 阿片类偏向性激动剂的研究取得了重要进展。美国 Trevena 公司开发的阿片类偏向性

**接受日期:** 2019-08-20

**项目资助:** 国家自然科学基金 (No. 81973159; No. 81673282; No. 81273355)

**\*通讯作者:** 王锐, 教授, 博士生导师;

**研究方向:** 多肽药物;

**Tel:** 0931-8912567; **E-mail:** wangrui@lzu.edu.cn

激动剂 TRV130, 已进入 III 期临床研究阶段。与吗啡相比, TRV130 的呼吸抑制、便秘、恶心呕吐等副作用有所降低, 但其阿片样副作用未完全消除, 且最近的啮齿类动物实验结果显示 TRV130 仍具有一定的成瘾性<sup>[5-10]</sup>。诺贝尔奖得主 Brian Kobilka 教授团队报道的 PZM21, 其偏向选择性虽高于 TRV130, 在动物实验中也未出现便秘、成瘾等副作用, 但其镇痛效果却不到吗啡的 1/4, 且产生镇痛耐受<sup>[11-12]</sup>。Schmid 等<sup>[13]</sup>发现的阿片类偏向性激动剂 SR-17018, 其镇痛作用与吗啡相当, 且无呼吸抑制副作用, 但目前仍缺乏临床研究数据的支持。因此, 阿片类偏向性激动剂的临床镇痛和副作用研究仍需进一步验证。

多靶点药物能平衡与疾病相关且具有内在联系的多个药物作用靶点, 从而产生更好的疗效, 且有望降低副作用; 近年来, “一药多靶”的阿片类多靶点镇痛药物的研究也引起广泛关注, 特别是在复杂性疼痛治疗药物的研发中具有潜在的应用前景<sup>[14-17]</sup>。恒河猴的实验结果表明, MOR/孤啡肽受体 (NOR) 的多靶点镇痛分子 BU08028、AT121 和 BU10038 的成瘾、瘙痒、耐受、呼吸抑制、低血压等阿片样副作用均大幅降低<sup>[18-20]</sup>。MOR/NOR 的多靶点镇痛分子西博帕多 (cebranopadol, GRT-6005) 也已进行 III 期临床研究, 在关节炎和神经痛治疗等方面具有较好的应用前景<sup>[21]</sup>。此外, 从化学结构分类上看, 无论是小分子类多靶点阿片镇痛分子, 还是肽类多靶点阿片镇痛分子都取得了重要进展。其中, 肽类药物具有疗效好、安全性高等优势, 且笔者课题组长期从事多肽新药创制的研究工作, 因此, 本综述将

着重介绍肽类多靶点阿片镇痛分子的最新研究进展, 表 1 总结了各多靶点肽类镇痛配体的序列结构和药理学作用。

## 1 阿片类多靶点肽类镇痛药物

### 1.1 Mu/Delta 阿片受体多靶点肽类镇痛药物

早期研究表明, 联合使用 delta 阿片受体 (DOR) 激动剂和 MOR 激动剂, 不影响 MOR 激动剂所介导的镇痛作用, 却显著降低耐受、成瘾和自发运动加强等副作用<sup>[22]</sup>。Lowery 等<sup>[23]</sup>发现低剂量的 DOR 激动剂能显著增强 MOR 激动剂的亲和性和镇痛作用。上述结果表明 DOR 激动剂和 MOR 激动剂的联合使用, 能有效降低 MOR 激动剂的给药剂量, 并减轻其阿片样副作用, 有效提高药物的治疗指数。然而, 有趣的是 Zielinska 等<sup>[24]</sup>发现 DOR 拮抗剂也能降低 MOR 激动剂海洛因的成瘾性。不过, 对于不同效能的 DOR 配体均降低 MOR 所引起的阿片样副作用的作用机制迄今仍不清楚。基于 MOR 与 DOR 之间的功能性联系, 从理论上推测, 同时作用于 MOR 和 DOR 的多靶点分子在发挥镇痛活性的同时, 有望降低其阿片样副作用 (见表 1)。基于亮氨酸脑啡肽通过糖基化修饰而获得的 MMP-2200, 在体内和体外实验中均表现为 MOR/DOR 的多靶点激动剂。外周注射 MMP-2200 在小鼠温浴甩尾实验中可产生剂量依赖性镇痛作用。与吗啡相比, 连续注射 MMP-2200 所引起的耐受和成瘾副作用均大幅度降低, 其自发运动加强和便秘等副作用也显著减弱<sup>[23]</sup>。此外, 恒河猴全身注射 MMP-2200 在辣椒素诱导的痛敏模型中产生显著的镇痛作用, 未出现明显的成瘾性<sup>[25]</sup>。

表 1 多靶点肽类镇痛配体一览

Table 1 Multi-target peptide analgesic ligands

多靶点配体名称	多靶点类型	序列结构	药理学作用
UFP-505	MOR、DOR	Dmt-Tic-Gly-NH-Bzl	大鼠鞘内注射镇痛, 有耐受、运动抑制
MMP-2200	MOR、DOR	Tyr-D-Thr-Gly-Phe-Leu-Ser-(O-β-D-lactose)-NH <sub>2</sub>	小鼠外周注射镇痛, 耐受、成瘾、便秘和自发运动加强等副作用减弱; 恒河猴全身注射镇痛, 无成瘾性
VRP26	MOR、DOR	Dmt-c(SETS)[D-Cys-Aic-D-Pen]-Ser(O-β-D-glucose)-NH <sub>2</sub>	小鼠腹腔注射镇痛, 无急性和慢性耐受, 低成瘾性
RV-Jim-C3	MOR、DOR	fentanyl analogue-enkephalin analogue (未报道)	小鼠或大鼠鞘内注射镇痛, 无运动抑制
	MOR、DOR	carboxyfentanyl-NH-NH-Phe-Gly-D-Ala-Tyr	小鼠鞘内注射镇痛, 无镇静、运动抑制
	MOR、KOR	Tyr-D-Lys-Phe-Phe-Asp-NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> -Asp-Phe-Phe-D-Lys-Tyr	小鼠侧脑室或腹腔注射镇痛

续表 1

多靶点配体名称	多靶点类型	序列结构	药理学作用
	MOR、KOR	Dmt-c[D-Lys-Phe-D-1-Nal-Asp]-NH <sub>2</sub>	小鼠侧脑室或腹腔注射镇痛
KGNOPI	MOR、NOR	Dmt-D-Arg-Aba-β-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Arg-Ile-Lys-NH <sub>2</sub>	大鼠或小鼠静脉注射长效镇痛, 呼吸抑制减弱; 大鼠鞘内注射镇痛, 延缓耐受发展, 对吗啡耐受大鼠产生镇痛
DeNo	MOR、NOR	Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln-Cys-NH <sub>2</sub> Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-Lys(Mal)-NH <sub>2</sub>	大鼠鞘内注射弱镇痛, 有运动抑制
PWT2-[Dmt <sup>1</sup> ]	MOR、DOR、KOR、NOR	PWT2-[Dmt <sup>1</sup> ]/N/OFQ(1-13)-NH <sub>2</sub>	恒河猴鞘内注射镇痛, 无瘙痒、运动抑制、镇静等副作用
AWL-60	MOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-Pro-D-Phe-Phe-D-Phe-D-Trp-Met-NH <sub>2</sub>	大鼠鞘内注射强效镇痛
AA501	MOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH-NH-Trp-benzyloxycarbonyl	大鼠鞘内注射镇痛
AA3052	MOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-D-Arg-Phe-Lys-D-Phe-Phe-D-Phe-Leu-Leu-NH <sub>2</sub>	大鼠侧脑室注射镇痛, 无耐受和镇静等副作用
ESP7	MOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-Pro-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH <sub>2</sub>	大鼠鞘内注射镇痛, 无耐受
TY005	MOR、DOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met-Pro-Leu-Trp-O-3,5-Bn(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	大鼠鞘内和静脉注射镇痛, 无耐受和镇静等副作用
TY027	MOR、DOR、NK <sub>1</sub> R	Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met-Pro-Leu-Trp-NH-Bn(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	大鼠和小鼠鞘内、侧脑室和静脉注射强效镇痛, 无成瘾、便秘和恶心呕吐等副作用
RCCHM3	MOR、DOR、NK <sub>1</sub> R	Dmt-D-Arg-Aba-β-Ala-NMe-2'-methylenenaphthyl	小鼠鞘内注射镇痛, 无运动抑制
RCCHM6	MOR、DOR、NK <sub>1</sub> R	Dmt-D-Arg-Aba-Gly-NMe-2'-methylenenaphthyl	小鼠鞘内注射镇痛, 无运动抑制
RSA-504	MOR、DOR、CKKR	Tyr-D-Nle-Gly-Trp-Nle-Asp-Phe-NH <sub>2</sub>	大鼠鞘内注射镇痛, 无耐受、运动抑制和镇静等副作用
RSA-601	MOR、DOR、CKKR	Tyr-D-Phe-Gly-D-Trp-NMe-Nle-Asp-Phe-NH <sub>2</sub>	大鼠鞘内注射镇痛, 无耐受、运动抑制和镇静等副作用
EN-9	KOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Tyr-Pro-Phe-Phe-Gln-Pro-Gln-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠中枢注射无耐受镇痛, 奖赏和便秘等副作用降低
BN-9	MOR、KOR、DOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Gln-Pro-Gln-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠中枢、外周和全身注射无耐受镇痛, 便秘副作用降低
DN-9	MOR、KOR、DOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Tyr-D-Ala-Gly-NMe-Phe-Gly-Pro-Gln-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠中枢注射镇痛, 便秘和运动抑制等副作用降低
EKR	MOR、DOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Tyr-Pro-Phe-Phe-Lys(Phe-Arg-1-Aca)-NH <sub>2</sub>	小鼠侧脑室注射镇痛, 耐受和便秘等副作用降低
RKE	MOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	1-Aca-Arg-Phe-Lys(Phe-Phe-Pro-Tyr)-NH <sub>2</sub>	小鼠侧脑室注射镇痛, 耐受和便秘等副作用降低
KGFF03	MOR、KOR、DOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Dmt-D-Arg-Aba-β-Ala-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠皮下注射镇痛, 有耐受, 呼吸抑制和便秘副作用降低
KGFF09	MOR、KOR、DOR、NPFF <sub>1</sub> R、NPFF <sub>2</sub> R	Dmt-D-Arg-Aba-β-Ala-Bpa-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠皮下注射镇痛, 无耐受, 呼吸抑制和便秘副作用降低
PK20	MOR、DOR、NTS <sub>1</sub> R	Dmt-D-Lys-Phe-Phe-Lys-Lys-Pro-Phe-Tle-Leu	大鼠鞘内和静脉注射长效镇痛
[Ile <sup>9</sup> ]PK20	MOR、DOR、NTS <sub>1</sub> R	Dmt-D-Lys-Phe-Phe-Lys-Lys-Pro-Phe-Ile-Leu	大鼠鞘内或小鼠静脉注射镇痛, 无运动抑制
	MOR、DOR、KOR、CB <sub>1</sub> R	RS5269-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH <sub>2</sub>	小鼠侧脑室注射无镇痛作用

DOR: delta阿片受体; KOR: kappa阿片受体; N/OFQ: 孤啡肽; NK<sub>1</sub>R: 神经激肽1受体; CCKR: 胆囊收缩素受体; NPFF<sub>1</sub>R: 神经肽FF受体亚型1; NPFF<sub>2</sub>R: 神经肽FF受体亚型2; NTS<sub>1</sub>R: 神经降压素受体亚型1; CB<sub>1</sub>R: 大麻受体亚型1

基于芬太尼和脑啡肽的化学结构而构建的 MOR/DOR 多靶点分子 RV-Jim-C3, 在体内和体外实验中均表现为 MOR/DOR 的多靶点激动剂。大鼠鞘内注射 RV-Jim-C3 能产生强效的镇痛作用, 有效

减缓急性痛、炎症痛和神经痛等病理性疼痛, 且未出现运动抑制现象<sup>[26]</sup>, 因此具有较好的临床应用前景。最近, 以芬太尼和脑啡肽为模板分子而构建的 MOR/DOR 的多靶点激动剂 carboxyfentanyl-NH-NH-



Phe-Gly-D-Ala-Tyr, 经鞘内注射时, 在急性痛、炎症痛和神经痛等不同模型中均产生镇痛作用, 未出现镇静和运动抑制的副作用<sup>[27]</sup>。

UFP-505 是表现为 MOR 激动活性和 DOR 拮抗活性的多靶点分子, 大鼠鞘内注射 UFP-505 在急性痛中可产生剂量依赖性镇痛作用, 仅在高剂量时出现显著的运动抑制现象。然而, 与吗啡一样, 连续鞘内注射 UFP-505 仍产生镇痛耐受现象<sup>[28]</sup>。

多靶点分子 VRP26 在体外功能性实验中表现出 MOR 激动活性和 DOR 拮抗活性<sup>[29]</sup>, 并具有血脑屏障通透性。腹腔注射 VRP26 在小鼠温浴甩尾模型中可产生剂量依赖性镇痛作用。此外, VRP26 不引起急性耐受现象, 连续注射时未出现镇痛耐受现象, 与芬太尼相比, VRP26 的成瘾性也显著降低。

综上所述, 已有的研究结果表明 MOR/DOR 的多靶点分子能产生高效的镇痛活性, 并且其运动抑制、耐受和成瘾等副作用均不同程度地减弱。然而, 值得注意的是, MOR/DOR 的多靶点分子无论表现出 DOR 激动活性还是 DOR 拮抗活性, 其阿片样副作用均有所降低, 但其具体的作用机制仍需进一步的实验来探讨。

### 1.2 Mu/Kappa 阿片受体多靶点肽类镇痛药物

Kappa 阿片受体 (KOR) 广泛分布于中枢神经系统和外周组织<sup>[30]</sup>。与奖赏、情绪和认知等功能密切相关的脑区核团, 如腹侧被盖区 (VTA)、海马和纹状体, 均有 KOR 的 mRNA 高水平表达。同时, KOR 也广泛表达于与痛觉相关神经组织中, 如背根神经节、脊髓、中脑导水管周围灰质和丘脑。已有的药理学结果表明, KOR 的激动剂在发挥镇痛作用的同时, 无显著的成瘾性出现。此外, 研究表明 KOR 激动剂可降低可卡因诱导的行为敏化、耐受和成瘾等副作用<sup>[31]</sup>。KOR 激动剂对成瘾性的调节, 可能与其抑制了多巴胺能神经元释放多巴胺的性质有关。基于这些理论, MOR 激动剂/KOR 激动剂的多靶点分子, 与 MOR 或 KOR 的单靶点激动剂相比, 在高效、低副作用的镇痛新药研发中具有更好的应用前景。

基于内啡肽 2 通过 2 个分子间环化而构建的二聚体结构 (Tyr-[D-Lys-Phe-Phe-Asp]-NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>[32]</sup>, 在体外亲和实验和钙流实验中能同时表现出 MOR 和

KOR 的亲合性和激动活性。药理学实验表明该多靶点分子不能穿透血脑屏障, 侧脑室注射 (Tyr-[D-Lys-Phe-Phe-Asp]-NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 在 小鼠热板实验中可剂量依赖性地产生镇痛活性; 此外, 腹腔注射 (Tyr-[D-Lys-Phe-Phe-Asp]-NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 也在小鼠扭体实验中发挥显著的镇痛作用。

多靶点分子 Dmt-c(D-Lys-Phe-D-1-Nal-Asp)-NH<sub>2</sub> 也是基于内啡肽 2 结构环化修饰而来<sup>[33]</sup>。体外功能实验结果表明其表现出 MOR 激动活性和 KOR 激动活性, 且对于 2 种受体的激动活性的效价基本相当。侧脑室和腹腔注射 Dmt-c(D-Lys-Phe-D-1-Nal-Asp)-NH<sub>2</sub> 在 小鼠热板实验中均产生剂量依赖性镇痛作用。

上述研究结果表明, MOR/KOR 的多靶点激动剂可产生有效的镇痛作用, 然而, 这些多靶点分子的阿片样副作用仍待进一步评价。

### 1.3 Mu 阿片受体/孤啡肽受体多靶点肽类镇痛药物

已有研究表明 NOR 与 MOR、DOR 和 KOR 等传统的阿片受体之间存在高度的氨基酸序列同源性, 被认为是阿片受体家族的新成员, 但 NOR 的药理学功能与经典阿片受体存在一定的差异性, MOR、DOR 和 KOR 的配体对 NOR 的亲合性不高。已有的研究表明, 在啮齿类和灵长类动物实验中, 鞘内联合使用 MOR 激动剂吗啡和 NOR 激动剂孤啡肽可产生协同的镇痛作用, 并且 NOR 激动剂能有效降低 MOR 激动剂的呼吸抑制、瘙痒、耐受和成瘾等副作用<sup>[34]</sup>。免疫共沉淀结果表明, NOR 和 MOR 在与痛觉相关的脑区存在共分布<sup>[35]</sup>。因此, 开发同时作用于 MOR 和 NOR 的多靶点分子是发展高效、低副作用的新型镇痛药物的有效策略。该策略已被临床使用小分子结构的镇痛药物所验证, 如丁丙诺啡, 对 MOR、DOR、KOR 和 NOR 受体同时表现出激动活性, 因其在呼吸抑制和成瘾性等副作用中具有天花板效应, 而在镇痛作用中无此效应, 因此是一种安全指数较高的镇痛药物, 而且还可用于治疗阿片类药物的成瘾<sup>[16]</sup>。

基于 MOR 激动剂皮啡肽 (dermorphin) 和 NOR 激动剂孤啡肽的化学结构而构建的多靶点分子 DeNo, 对 MOR 和 NOR 都表现出较高的亲合性和激动活性, 然而, 与母体皮啡肽相比, 大鼠鞘内注

射 DeNo 的镇痛作用有所降低, 且在转棒实验中表现出运动抑制<sup>[36]</sup>。

[Dmt<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)-NH<sub>2</sub> 是作用于阿片受体/NOR 的多靶点激动剂, 以其为化学模板分子, 通过肽装订技术 (peptide welding technology, PWT) 构建了树枝状的多靶点分子 PWT2-[Dmt<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)-NH<sub>2</sub>(PWT2-[Dmt<sup>1</sup>])<sup>[37]</sup>。在体外实验中, PWT2-[Dmt<sup>1</sup>] 对 MOR、DOR、KOR 和 NOR 都表现出较好的亲和性和激动活性。在恒河猴的体内实验中, 鞘内注射 PWT2-[Dmt<sup>1</sup>] 在温水浴甩尾实验中对急性痛产生剂量依赖性镇痛作用, 其作用强度和持续时间均高于母体 [Dmt<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)-NH<sub>2</sub>, 且药理学实验表明该镇痛作用由 NOR 受体介导, 而与阿片受体无关。此外, PWT2-[Dmt<sup>1</sup>] 不产生瘙痒、运动抑制和镇静的副作用。

基于 MOR 激动剂活性片段 Dmt-D-Arg-Abα-Ala-NH<sub>2</sub> 和 NOR 拮抗剂活性乙酰基六肽 Ac-Arg-Tyr-Tyr-Arg-Ile-Lys-NH<sub>2</sub> 的化学结构而构建的 MOR/NOR 的多靶点配体 KGNOP1, 对 MOR 和 NOR 都具有较高的亲和性, 且同时表现出 MOR 激动活性和 NOR 拮抗活性<sup>[38]</sup>。在大鼠或小鼠体内, 静脉注射 KGNOP1 在急性痛或慢性缩窄性神经损伤 (CCI) 诱导的神经痛等模型中均产生剂量依赖性镇痛作用, 且镇痛效果显著强于吗啡, 作用时间更长, 同时其呼吸抑制的风险明显降低。此外, 大鼠鞘内注射 KGNOP1 在急性痛和神经痛模型中产生镇痛作用, 与吗啡相比, 延缓了其镇痛耐受现象的出现, 同时在吗啡耐受大鼠中仍有效地缓解疼痛。

MOR/NOR 多靶点肽类分子具有高效镇痛作用, 且能有效降低耐受、呼吸抑制、瘙痒、运动抑制、镇静等阿片样副作用。值得注意的是, 现有研究表明, MOR 激动剂无论与 NOR 激动剂或拮抗剂的多靶点组合均可以降低阿片样副作用, 因此 NOR 的激动活性或拮抗活性在 MOR/NOR 多靶点分子中的作用仍待进一步的实验进行阐明。

## 2 阿片/非阿片受体的多靶点肽类镇痛药物

### 2.1 阿片/神经激肽 1 受体的多靶点肽类镇痛药物

P 物质 (substance P, SP) 作为神经递质和神

经调质, 在痛觉信号传导中具有重要的调节作用, 也被认为是一种阿片调节肽, 其作用靶点为痛觉相关的神经激肽 1 (NK<sub>1</sub>) 受体<sup>[39]</sup>。在动物实验中, 联合使用 NK<sub>1</sub> 受体拮抗剂和阿片类药物, 能加强阿片的镇痛作用, 并且, NK<sub>1</sub> 受体拮抗剂能减缓阿片所介导的镇痛耐受和恶心呕吐副作用。因此, 药物化学家们基于阿片肽/神经激肽来设计阿片/NK<sub>1</sub> 受体的多靶点分子。

2000 年, Foran 等<sup>[40]</sup> 基于内啡肽 2 和 SP 的 C 末端五肽 SP(7-11) 的化学结构构建了多靶点分子 ESP7。体外功能性实验表明 ESP7 能同时激活 MOR 和 NK<sub>1</sub> 受体。大鼠脊髓注射 ESP7 可产生阿片受体介导的镇痛作用, 且连续注射 5 d 未出现耐受现象, 进一步的药理学研究表明 NK<sub>1</sub> 受体参与了 ESP7 的无耐受镇痛作用。在吗啡耐受的动物体内注射 ESP7 仍可产生高效的镇痛作用, 未出现交叉耐受现象。此外, ESP7 经氨基酸替换的类似物 ESP6 (Tyr-Pro-Phe-Phe-Pro-Leu-Met-NH<sub>2</sub>) 保留了 ESP7 的 NK<sub>1</sub> 受体激动活性, 但其 MOR 受体激动活性大幅降低, 因此单独注射时只产生轻微的镇痛作用, 但能有效加强并延长吗啡的镇痛作用, 减缓其镇痛耐受现象的出现<sup>[40]</sup>。

AWL-60 是将阿片与神经激肽的药效团进行化学连接的首个多靶点分子。在体外和体内实验中, AWL-60 可显著拮抗 SP(6-11) 的作用, 表现出 NK<sub>1</sub> 受体的拮抗活性。脊髓注射 AWL-60 可产生强效、长时程的镇痛作用<sup>[41]</sup>。随后, Bonney 等<sup>[42]</sup> 基于脑啡肽和 NK<sub>1</sub> 拮抗剂的药效团进一步构建了 AA501, 大鼠鞘内注射 AA501 在急性痛、炎症痛和神经痛等模型痛中均产生显著的镇痛作用。此外, 该课题组以阿片肽 DALDA (Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH<sub>2</sub>) 和 SP 类似物为化学模板分子, 构建了多靶点分子 AA3052, 大鼠侧脑室注射 AA3052 能产生无耐受镇痛作用, 且未出现镇静副作用<sup>[43]</sup>。

美国 Hruby 研究组基于阿片受体和 NK<sub>1</sub> 受体药效团构建了一系列阿片/NK<sub>1</sub> 受体的多靶点分子, 以期筛选出高效、低副作用的镇痛新药。基于阿片激动剂和 NK<sub>1</sub> 受体拮抗剂构建出多靶点分子 TY005, 大鼠鞘内和静脉注射 TY005 均能产生无耐受镇痛

作用, 且无镇静副作用出现<sup>[44]</sup>。此外, 多靶点分子 TY027 同样表现出 MOR、DOR 激动活性及 NK<sub>1</sub> 受体拮抗活性, 其血浆酶解半衰期可保持 4 h 以上。鞘内、侧脑室和静脉注射 TY027 在急性痛和神经痛等模型痛中产生强效镇痛作用, 且未出现明显的成瘾、便秘和恶心呕吐等阿片样副作用<sup>[45]</sup>。

2017 年, Starnowska 等<sup>[46]</sup>构建了一系列阿片激动剂/NK<sub>1</sub>拮抗剂的多靶点分子 RCCHM1~RCCHM8。在大鼠急性痛模型中, 鞘内注射先导化合物 RCCHM3 和 RCCHM6 所产生的镇痛活性低于模板分子 KGOP1 (Dmt-D-Arg-Aba-β-Ala-NH<sub>2</sub>)。然而, 在神经病理性痛模型中, 这 2 种先导化合物的镇痛活性均显著强于模板分子 KGOP1。

阿片/NK<sub>1</sub>受体的多靶点肽类分子可产生无耐受镇痛作用, 并有效降低部分阿片样副作用。同样, NK<sub>1</sub>受体的激动活性或拮抗活性在阿片/NK<sub>1</sub>受体的多靶点分子中的作用需进一步阐述。

## 2.2 阿片/胆囊收缩素 2 受体的多靶点肽类镇痛药物

胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK) 能减弱阿片类药物所介导的镇痛作用, 被认为是一种阿片调节肽。CCK 可作用于 CCK<sub>2</sub> 受体, 促进吗啡镇痛耐受现象的出现; 反之, CCK<sub>2</sub> 受体的拮抗剂可有效地逆转吗啡耐受现象, 且减轻吗啡所引起的生理性成瘾等副作用。因此, 开发具有阿片激动活性和 CCK<sub>2</sub> 受体拮抗活性的多靶点分子有望降低阿片样副作用<sup>[47]</sup>。

美国 Hruby 研究组基于阿片药效团和 CCK 的类似物 SNF9007 的化学结构构建了多靶点分子 RSA-504 和 RSA-601。两者均具有 MOR、DOR 激动活性及 CCK<sub>2</sub> 受体拮抗活性, 大鼠鞘内注射 RSA-504 和 RSA-601 可产生无耐受镇痛作用, 且不出现运动抑制和镇静等阿片样副作用<sup>[48]</sup>。

## 2.3 阿片/神经肽 FF 受体的多靶点肽类镇痛药物

神经肽 FF (NPFF) 是一类重要的内源性阿片调节肽, 对阿片类药物所引起的镇痛、耐受和成瘾均具有一定的调节作用。已有的研究表明 NPFF 及其相关肽主要通过 NPFF<sub>1</sub> 和 NPFF<sub>2</sub> 这 2 种不同的受体来介导其生物活性。笔者课题组在 NPFF 活性鉴定过程中发现 NPFF 能加强内啡肽 2 的镇痛作用,

并能减弱阿片奖赏和成瘾作用<sup>[49-50]</sup>。在此基础上, 率先提出将 NPFF 和阿片受体作为新型阿片类多靶点分子的组合靶点。

前期的阿片肽和 NPFF 构效关系研究表明, NPFF 的 C 末端以酰胺结尾的四肽结构是其激活 NPFF 受体的关键药效团, 而内啡肽激活 MOR 受体的关键药效团是 N 末端三肽结构。基于阿片肽和 NPFF 的结构和功能研究, 笔者课题组利用多肽“分子嵌合”策略, 以内啡肽 2 和 NPFF 为化学模板分子, 成功构建了多靶点分子 EN-9<sup>[51]</sup>。体外功能性鉴定发现, EN-9 能同时激活 KOR 和 NPFF 受体, 但不能激活 MOR。体内活性检测发现, 中枢注射 EN-9 能产生无耐受镇痛作用。与模板分子内啡肽 2 相比, EN-9 的奖赏和便秘等副作用均有所降低<sup>[51]</sup>。进一步以 EN-9 为化学模板, 对阿片肽和 NPFF 的药效团进行替换, 通过活性筛选发现了阿片/NPFF 受体的多靶点分子 BN-9<sup>[52]</sup>。体外功能性实验表明 BN-9 能同时激活 MOR、KOR、DOR、NPFF<sub>1</sub> 和 NPFF<sub>2</sub> 受体。侧脑室注射 BN-9 能产生 MOR 和 KOR 受体介导的镇痛作用, 且未出现镇痛耐受现象, 其便秘副作用也有所降低, 但保留与吗啡相当的奖赏作用。进一步的药理学鉴定发现 BN-9 不能穿透血脑屏障<sup>[53-54]</sup>, 脚掌或腹腔注射 BN-9 在内脏痛、手术后痛和炎症痛等不同的病理痛模型中均能产生外周阿片受体介导的镇痛活性, 并且无镇痛耐受现象, 其便秘副作用也有所降低。在先导化合物 BN-9 的基础上, 利用氨基酸替换修饰的方法进行结构优化, 成功筛选出高效镇痛的多靶点分子 DN-9<sup>[55]</sup>, 其能同时激活阿片和阿片受体, 且侧脑室注射时能通过 MOR 和 KOR 介导高效的镇痛活性, 并在炎症痛模型中具有镇痛作用, 无镇痛耐受现象, 其便秘和运动协调性副作用也明显降低。

此外, 笔者课题组以内啡肽 2 和 NPFF 受体拮抗剂 RF9 为化学模板分子, 设计并合成了树枝状多靶点分子 EKR 和 RKE<sup>[56]</sup>。体外功能性实验表明 EKR 和 RKE 表现为阿片受体激动剂、NPFF<sub>1</sub> 受体拮抗剂和 NPFF<sub>2</sub> 受体半激动剂, 脊髓以上水平注射 EKR 和 RKE 在光热甩尾急性痛模型中产生 MOR 受体介导的镇痛作用, 而在炎症痛模型中, 它们的脊



髓水平镇痛作用与阿片和 NPFF 受体的激活有关。进一步的研究发现, EKR 和 RKE 能有效减缓镇痛耐受的形成, 且其便秘副作用也有所降低。

最近, Smionin 和 Ballet 课题组合作研究发现了一系列阿片/NPFF 受体的多靶点肽类分子, 其中, KGFF03 在体外功能性实验中表现为 MOR 激动剂、DOR 激动剂、KOR 半激动剂、NPFF<sub>1</sub> 和 NPFF<sub>2</sub> 受体的激动剂, 而 KGFF09 表现为 MOR 激动剂、DOR 激动剂、KOR 拮抗剂、NPFF<sub>1</sub> 和 NPFF<sub>2</sub> 受体的拮抗剂; 且 KGFF03 和 KGFF09 均表现为不激活  $\beta$ -arrestin 信号通路的 MOR 的阿片类偏向性激动剂, 具有 NOR 受体的弱拮抗活性, 并对 GPR10、GPR54 和 GPR103 等其他 RF-NH<sub>2</sub> 相关肽的受体基本无亲和性<sup>[57]</sup>。体内活性鉴定发现皮下注射 KGFF03 和 KGFF09 都能产生长效的镇痛作用, 且两者的呼吸抑制和便秘等副作用明显降低<sup>[57]</sup>。然而, KGFF03 和 KGFF09 在镇痛耐受方面存在一定的差异性, 即具有 MOR、DOR 激动活性和 NPFF 受体激动活性的 KGFF03 产生镇痛耐受现象, 而具有 MOR、DOR 激动活性和 NPFF 受体拮抗活性的 KGFF09 未出现镇痛耐受现象<sup>[57]</sup>。因此, KGFF03 和 KGFF09 的体内活性的作用机制仍需进一步的验证, 例如考察 KGFF03 和 KGFF09 所产生的镇痛作用具体由哪些阿片受体亚型参与。

综上所述, 已有的研究表明阿片/NPFF 受体的多靶点分子可产生镇痛活性, 但仍有一些现象需进一步的研究来阐明。例如: 阿片/NPFF 受体的多靶点激动剂 BN-9 和 KGFF03 存在不同的镇痛耐受现象, 引起这种差异现象的原因需从以下几个方面来探求: 其一, 体外功能性实验表明 BN-9 和 KGFF03 在 KOR 上存在不同药理学特性, 则需考虑参与镇痛的阿片受体亚型是否存在差异性; 其二, BN-9 和 KGFF03 分别为九肽和六肽结构, 则需考虑阿片和 NPFF 药效团是否需要维持一定的空间距离以使多靶点分子不出现镇痛耐受现象, 笔者课题组未发表的研究结果也发现 BN-9 的六肽和七肽类似物的确存在镇痛耐受现象, 进一步说明阿片和 NPFF 药效团的空间距离对于所构建的多靶点分子是否产生镇痛耐受极其重要。此外, 树枝肽 EKR、RKE 与

六肽 KGFF03 的体外药理学活性相近, 但其镇痛耐受却不同, 这种差异性进一步验证了空间结构和距离对于多靶点分子的重要性。值得一提的是, 虽然绝大部分研究都表明 NPFF 受体拮抗剂能有效降低阿片镇痛耐受, 但也有报道发现 NPFF<sub>2</sub> 受体的选择性激动剂 AC-263093 能减缓吗啡耐受的现象<sup>[58]</sup>。

#### 2.4 阿片/其他受体的多靶点肽类镇痛药物

内源性神经肽神经降压素 (neurotensin, NT) 主要通过神经降压素受体亚型 1 (NTS<sub>1</sub>) 和亚型 2 (NTS<sub>2</sub>) 来介导其生物活性, 可产生不依赖于阿片系统的镇痛活性。其构效关系研究表明, NT 的 C 末端六肽 NT (8-13) 是保持其受体亲和性和激动活性的关键药效团。在大鼠热板实验中, 皮下注射 NTS 激动剂 NT69L 与吗啡具有协同的镇痛作用<sup>[59]</sup>。基于 MOR 激动剂内啡肽 2 和 NT 关键药效团而构建的多靶点分子 PK20, 对 MOR、DOR 和 NTS<sub>1</sub> 受体均具有较好的亲和性和激动活性。大鼠鞘内或小鼠静脉注射 PK20 在温浴甩尾实验中具有长效的镇痛活性, 其镇痛效价比吗啡强 150 倍以上<sup>[60]</sup>。大鼠鞘内或小鼠静脉注射 PK20 的类似物 [Ile<sup>9</sup>]PK20, 在光热甩尾实验中同样能够产生镇痛作用, 虽其镇痛效果弱于 PK20, 但未出现运动抑制的副作用<sup>[61]</sup>。

大麻 (cannabinoid) 受体 (CB<sub>1</sub> 和 CB<sub>2</sub> 受体) 激动剂具有镇痛作用, 四氢大麻酚 ( $\Delta^9$ -THC) 等部分激动剂已应用于临床<sup>[62]</sup>。因此, 大麻受体被认为是构建非阿片类多靶点分子的候选组合靶标之一。阿片受体和大麻受体的激动剂共注射时能产生协同增强的镇痛作用。此外, CB<sub>1</sub> 受体拮抗剂能逆转吗啡的镇痛耐受和依赖性。基于阿片肽活性片段 Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH<sub>2</sub> 和 CB<sub>1</sub> 受体拮抗剂利莫那班 (rimonabant) 类似物构建的多靶点配体, 对 MOR、DOR、KOR、CB<sub>1</sub>R 表现出亲和性和反向激动活性, 然而在小鼠热板和甩尾实验中侧脑室注射后丧失镇痛作用<sup>[63]</sup>。

美国 Hruby 研究组构建了一些阿片/其他受体的多靶点分子。基于 MOR 药效团 Tyr-D-Ala-Gly-Phe 与黑皮质素受体拮抗剂 SHU9119 构建的 VVK052 和 VVK054, 对 MOR 和 MC4R 具有极好的亲和性<sup>[64]</sup>。基于 DOR 激动剂脑啡肽的类似物

Tyr-D-Ala-Phe、Tyr-D-Ala-Gly-Phe、Tyr-Pro-Phe 和缓激肽 B<sub>2</sub> 受体拮抗剂 Hoe140 构建了一系列多靶点分子, 部分分子表现出较高的 MOR 和 DOR 受体亲和性, 但对 B<sub>2</sub> 受体的亲和性较弱<sup>[65]</sup>。基于脑啡肽药效团和 5-羟色胺再摄取抑制剂 (selective serotonin re-uptake inhibitors, SSRIs) 药效团构建的多靶点分子, 同时具有阿片受体激动活性以及 5-羟色胺或去甲肾上腺素再摄取抑制活性<sup>[66]</sup>。然而, 基于黑皮素质受体、缓激肽受体或 5-羟色胺再摄取抑制剂系统构建的阿片类多靶点配体, 其是否保持了镇痛活性, 且其阿片样副作用是否有所降低, 目前这些化合物的体内药理学活性鉴定结果仍未见报道。

### 3 结语

近年来, 阿片类多靶点分子的研究在新型高效、低副作用镇痛新药研发方面具有潜在的应用前景, 特别是在降低耐受、成瘾、呼吸抑制、便秘和运动抑制等阿片样副作用方面取得重要进展, 例如 MOR/NOR 多靶点镇痛分子的药理学活性在非人灵长类动物和临床研究中得以验证。虽然多靶点镇痛药物的治疗优势已被广泛接受, 但是真正意义上的多靶点药物 (单药多靶) 的发现和药理学鉴定仍需进一步的研究来深入阐述, 迄今还未建立完善的多靶点肽类分子系统设计、优化的策略和理论。多靶点药物设计过程中通常会存在以下 3 个技术难点: 1) 可能组合靶点的发现; 2) 活性筛选技术的复杂性; 3) 多靶点分子中各药效团之间的配比和协同效应。针对上述技术难点, 结合已有的研究, 初步总结出多靶点肽类分子的研究策略: 1) 2 个受体之间存在内在的功能性联系, 并有助于提高镇痛药效、降低阿片样副作用, 对可以作为候选的组合靶点予以验证;

2) 体外和体内筛选方法相结合, 体外活性筛选方法用于评价多靶点分子对单靶点的亲和和激动/拮抗活性, 而体内活性评价用于检测多个受体系统之间的协同效应, 是否达到预期的镇痛药效提高或阿片样副作用降低等目标; 3) 结合传统单靶点肽类分子的构效关系研究数据, 对多靶点分子中的关键药效团进行替换修饰, 并在化学修饰过程中一定要统筹考虑单位点或多位点对各个药效团的效能和效价的影响, 多靶点分子中一般存在 2 个以上药效团, 结构的细微改变都会直接影响不同药效团对其受体的亲和性和药理学特性。由于已有的多靶点肽类镇痛分子的研究仍十分有限, 上述研究策略尚需进一步的实践和研究来不断地完善和提升。

多靶点肽类镇痛药物的设计和研发需要考虑多方面的因素: 1) 多个受体系统之间的内在联系和相互协同效应; 2) 每个药效团具有不同的内在活性和药理学特性, 如完全激动剂、半激动剂、反向激动剂、中性拮抗剂、构象调节剂等; 3) 靶向的多受体之间是否存在受体异源性聚合现象; 4) 多靶点肽类分子是否具有血脑屏障通透性和细胞穿透性。虽然阿片类多靶点分子的设计和化学构建目前受到广泛关注, 但不同给药途径时多靶点肽类分子的镇痛活性和功能存在一定的差异性, 其具体的药理学功能鉴定仍需系统的研究来深入阐明, 以期全面地评价多靶点镇痛分子在高效、低副作用的镇痛新药研发中的成药性。此外, 由于单个受体可介导多种生物学功能, 并且单个受体能激活不同的下游信号转导通路具有药理学功能的选择性, 如 MOR 对下游的不同信号转导通路具有偏好选择性, 因此, 仍需进一步的研究来阐明高效、低副作用的多靶点镇痛分子的具体神经生物学机制。

### [ 参考文献 ]

- [1] Stein C. Opioid Receptors[J/OL]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 433-451[2019-08-20]. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-med-062613-093100>. Doi: 10.1146/annurev-med-062613-093100.
- [2] Soelberg C D, Brown R E Jr, Du Vivier D, *et al*. The US opioid crisis: current federal and state legal issues[J]. *Anesth Analg*, 2017, 125 (5): 1675-1681.
- [3] Lyden J, Binswanger I A. The United States opioid epidemic[J]. *Semin Perinatol*, 2019, 43 (3): 123-131.
- [4] Azzam A A H, McDonald J, Lambert D G. Hot topics in opioid pharmacology: mixed and biased opioids[J]. *Br J Anaesth*, 2019, 122 (6): e136-e145.



- [5] Altarifi A A, David B, Muchhala K H, *et al.* Effects of acute and repeated treatment with the biased mu opioid receptor agonist TRV130 (oliceridine) on measures of antinociception, gastrointestinal function, and abuse liability in rodents[J]. *J Psychopharmacol*, 2017, 31 (6): 730-739.
- [6] Chen X T, Pitis P, Liu G, *et al.* Structure-activity relationships and discovery of a G protein biased mu opioid receptor ligand, [(3-methoxythiophen-2-yl)methyl]({2-[(9R)-9-(pyridin-2-yl)-6-oxaspiro-[4.5]decan-9-yl]ethyl})amine (TRV130), for the treatment of acute severe pain[J]. *J Med Chem*, 2013, 56 (20): 8019-8031.
- [7] Singla N, Minkowitz H S, Soergel D G, *et al.* A randomized, phase IIb study investigating oliceridine (TRV130), a novel micro-receptor G-protein pathway selective (mu-GPS) modulator, for the management of moderate to severe acute pain following abdominoplasty[J/OL]. *J Pain Res*, 2017, 10: 2413-2424[2019-08-20]. <https://www.dovepress.com/a-randomized--phase-iib-study-investigating-oliceridine-trv130-a-novel-peer-reviewed-article-JPR>. Doi: 10.2147/JPR.S137952.
- [8] Fossler M J, Sadler B M, Farrell C, *et al.* Oliceridine (TRV130), a novel G protein-biased ligand at the mu-opioid receptor, demonstrates a predictable relationship between plasma concentrations and pain relief. I: development of a pharmacokinetic/pharmacodynamic model[J]. *J Clin Pharmacol*, 2018, 58 (6): 750-761.
- [9] Viscusi E R, Skobieranda F, Soergel D G, *et al.* APOLLO-1: a randomized placebo and active-controlled phase III study investigating oliceridine (TRV130), a G protein-biased ligand at the micro-opioid receptor, for management of moderate-to-severe acute pain following bunionectomy[J/OL]. *J Pain Res*, 2019, 12: 927-943[2019-08-20]. <https://www.dovepress.com/apollo-1-a-randomized-placebo-and-active-controlled-phase-iii-study-in-peer-reviewed-article-JPR>. Doi: 10.2147/JPR.S171013.
- [10] Singla N K, Skobieranda F, Soergel D G, *et al.* APOLLO-2: a randomized, placebo and active-controlled phase III study investigating oliceridine (TRV130), a G protein-biased ligand at the mu-opioid receptor, for management of moderate to severe acute pain following abdominoplasty[J]. *Pain Pract*, 2019, 19 (7): 715-731.
- [11] Manglik A, Lin H, Aryal D K, *et al.* Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects[J]. *Nature*, 2016, 537 (7619): 185-190.
- [12] Hill R, Disney A, Conibear A, *et al.* The novel mu-opioid receptor agonist PZM21 depresses respiration and induces tolerance to antinociception[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175 (13): 2653-2661.
- [13] Schmid C L, Kennedy N M, Ross N C, *et al.* Bias factor and therapeutic window correlate to predict safer opioid analgesics[J]. *Cell*, 2017, 171 (5): 1165-1175.
- [14] Cunningham C W, Elballa W M, Vold S U. Bifunctional opioid receptor ligands as novel analgesics[J/OL]. *Neuropharmacology*, 2019, 151: 195-207[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390818308335?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.03.006.
- [15] Singh A, Srivastava V. Multi-functional chimeric peptides: the more the merrier[J]. *Protein Pept Lett*, 2018, 25 (12): 1090-1100.
- [16] Gunther T, Dasgupta P, Mann A, *et al.* Targeting multiple opioid receptors - improved analgesics with reduced side effects?[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175 (14): 2857-2868.
- [17] Turnaturi R, Arico G, Ronsisvalle G, *et al.* Multitarget opioid ligands in pain relief: new players in an old game[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2016, 108: 211-228[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415303652?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejmech.2015.11.028.
- [18] Ding H, Czoty P W, Kiguchi N, *et al.* A novel orvinol analog, BU08028, as a safe opioid analgesic without abuse liability in primates[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113 (37): E5511-5518.
- [19] Ding H, Kiguchi N, Yasuda D, *et al.* A bifunctional nociceptin and mu opioid receptor agonist is analgesic without opioid side effects in nonhuman primates[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2018, 10 (456): eaar3483[2019-08-20]. <https://stm.sciencemag.org/content/10/456/eaar3483.short>. Doi: 10.1126/scitranslmed.aar3483.
- [20] Kiguchi N, Ding H, Cami-Kobeci G, *et al.* BU10038 as a safe opioid analgesic with fewer side-effects after systemic and intrathecal administration in primates[J]. *Br J Anaesth*, 2019, 122

- (6): e146-e156.
- [21] Tzschenke T M, Linz K, Koch T, *et al.* Cebranopadol: a novel first-in-class potent analgesic acting via NOP and opioid receptors[J/OL]. *Handb Exp Pharmacol*, 2019, 254: 367-398[2019-08-20]. [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F164\\_2019\\_206](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F164_2019_206). Doi: 10.1007/164\_2019\_206.
- [22] Rozenfeld R, Abul-Husn N S, Gomez I, *et al.* An emerging role for the delta opioid receptor in the regulation of mu opioid receptor function[J]. *Sci World J*, 2007, 7 (S2): 64-73.
- [23] Lowery J J, Raymond T J, Giuvelis D, *et al.* *In vivo* characterization of MMP-2200, a mixed delta/mu opioid agonist, in mice[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 336 (3): 767-778.
- [24] Zielinska M, Jarmuz A, Salaga M, *et al.* Mixed MOP/DOP agonist biphalin elicits anti-transit effect in mouse models mimicking diarrhea-predominant irritable bowel syndrome symptoms[J]. *Pharmacol Rep*, 2016, 68 (1): 32-36.
- [25] Do Carmo G P, Polt R, Bilsky E J, *et al.* Behavioral pharmacology of the mu/delta opioid glycopeptide MMP2200 in rhesus monkeys[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 326 (3): 939-948.
- [26] Podolsky A T, Sandweiss A, Hu J, *et al.* Novel fentanyl-based dual mu/delta-opioid agonists for the treatment of acute and chronic pain[J]. *Life Sci*, 2013, 93 (25/26): 1010-1016.
- [27] Vardanyan R S, Cain J P, Haghighi S M, *et al.* Synthesis and investigation of mixed mu-opioid and delta-opioid agonists as possible bivalent ligands for treatment of pain[J]. *J Heterocycl Chem*, 2017, 54 (2): 1228-1235.
- [28] Dietis N, Niwa H, Tose R, *et al.* *In vitro* and *in vivo* characterization of the bifunctional mu and delta opioid receptor ligand UFP-505[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175 (14): 2881-2896.
- [29] Anand J P, Boyer B T, Mosberg H I, *et al.* The behavioral effects of a mixed efficacy antinociceptive peptide, VRP26, following chronic administration in mice[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2016, 233 (13): 2479-2487.
- [30] Snyder L M, Chiang M C, Loeza-Alcocer E, *et al.* Kappa opioid receptor distribution and function in primary afferents[J]. *Neuron*, 2018, 99 (6): 1274-1288.e6.
- [31] Wang Y H, Sun J F, Tao Y M, *et al.* The role of kappa-opioid receptor activation in mediating antinociception and addiction[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31 (9): 1065-1070.
- [32] Piekielek J, De Marco R, Gentilucci L, *et al.* Redoubling the ring size of an endomorphin-2 analog transforms a centrally acting mu-opioid receptor agonist into a pure peripheral analgesic[J]. *Biopolymers*, 2016, 106 (3): 309-317.
- [33] Perlikowska R, Piekielek J, Gentilucci L, *et al.* Synthesis of mixed MOR/KOR efficacy cyclic opioid peptide analogs with antinociceptive activity after systemic administration[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2016, 109: 276-286[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415303998?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejmech.2015.12.012.
- [34] Kiguchi N, Ding H, Ko M C. Central N/OFQ-NOP receptor system in pain modulation[J/OL]. *Adv Pharmacol*, 2016, 75: 217-243[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1054358915000526>. Doi: 10.1016/bs.apha.2015.10.001.
- [35] Anand J P, Montgomery D. Multifunctional opioid ligands[J/OL]. *Handb Exp Pharmacol*, 2018, 247: 21-51[2019-08-20]. [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F164\\_2018\\_104](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F164_2018_104). Doi: 10.1007/164\_2018\_104.
- [36] Bird M F, Cerlesi M C, Brown M, *et al.* Characterisation of the novel mixed mu-NOP peptide ligand dermorphin-N/OFQ (DeNo) [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (6): e0156897.
- [37] Molinari S, Camarda V, Rizzi A, *et al.* [Dmt<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)-NH<sub>2</sub>: a potent nociceptin/orphanin FQ and opioid receptor universal agonist[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168 (1): 151-162.
- [38] Starnowska J, Guillemyn K, Makuch W, *et al.* Bifunctional opioid/nociceptin hybrid KGNOP1 effectively attenuates pain-related behaviour in a rat model of neuropathy[J/OL]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 104: 221-229[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098717301641?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejps.2017.03.029.
- [39] Guilarte T R. TSPO in diverse CNS pathologies and psychiatric disease: a critical review and a way forward[J/OL]. *Pharmacol Ther*, 2019, 194: 44-58[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725818301578?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.09.003.

- [40] Foran S E, Carr D B, Lipkowski A W, *et al.* A substance P-opioid chimeric peptide as a unique nontolerance-forming analgesic[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (13): 7621-7626.
- [41] Lipkowski A W, Misterek K. Bifunctional pharmacophores. Biological activities of the peptide analog containing both casomorphine-like and substance P antagonist-like active elements[J]. *Pol J Pharmacol Pharm*, 1992, 44 (1): 25-32.
- [42] Bonney I M, Foran S E, Marchand J E, *et al.* Spinal antinociceptive effects of AA501, a novel chimeric peptide with opioid receptor agonist and tachykinin receptor antagonist moieties[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 488 (1/2/3): 91-99.
- [43] Kowalczyk A, Kleczkowska P, Rekawek M, *et al.* Biological evaluation and molecular docking studies of AA3052, a compound containing a mu-selective opioid peptide agonist DALDA and *D*-Phe-Phe-*D*-Phe-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, a substance P analogue[J/OL]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 93: 11-20[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098716302639?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejps.2016.07.009.
- [44] Largent-Milnes T M, Yamamoto T, Nair P, *et al.* Spinal or systemic TY005, a peptidic opioid agonist/neurokinin 1 antagonist, attenuates pain with reduced tolerance[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 161 (5): 986-1001.
- [45] Largent-Milnes T M, Brookshire S W, Skinner D P Jr, *et al.* Building a better analgesic: multifunctional compounds that address injury-induced pathology to enhance analgesic efficacy while eliminating unwanted side effects[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 347 (1): 7-19.
- [46] Starnowska J, Costante R, Guillemyn K, *et al.* Analgesic properties of opioid/NK<sub>1</sub> multitarget ligands with distinct *in vitro* profiles in naive and chronic constriction injury mice[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2017, 8 (10): 2315-2324.
- [47] Agnes R S, Lee Y S, Davis P, *et al.* Structure-activity relationships of bifunctional peptides based on overlapping pharmacophores at opioid and cholecystokinin receptors[J]. *J Med Chem*, 2006, 49 (10): 2868-2875.
- [48] Hanlon K E, Herman D S, Agnes R S, *et al.* Novel peptide ligands with dual acting pharmacophores designed for the pathophysiology of neuropathic pain[J/OL]. *Brain Res*, 2011, 1395: 1-11[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899311007402?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.brainres.2011.04.024.
- [49] Wang Z L, Fang Q, Han Z L, *et al.* Opposite effects of neuropeptide FF on central antinociception induced by endomorphin-1 and endomorphin-2 in mice[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9 (8): e103773[2019-08-20]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103773>.
- [50] Han Z L, Wang Z L, Tang H Z, *et al.* Neuropeptide FF attenuates the acquisition and the expression of conditioned place aversion to endomorphin-2 in mice[J/OL]. *Behav Brain Res*, 2013, 248: 51-56[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432813001885>. Doi: 10.1016/j.bbr.2013.03.046.
- [51] Wang Z L, Li N, Wang P, *et al.* Pharmacological characterization of EN-9, a novel chimeric peptide of endomorphin-2 and neuropeptide FF that produces potent antinociceptive activity and limited tolerance[J/OL]. *Neuropharmacology*, 2016, 108: 364-372[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390816300892?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.03.017.
- [52] Li N, Han Z L, Wang Z L, *et al.* BN-9, a chimeric peptide with mixed opioid and neuropeptide FF receptor agonistic properties, produces nontolerance-forming antinociception in mice[J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173 (11): 1864-1880.
- [53] Zhang R, Xu B, Zhang M N, *et al.* Peripheral and central sites of action for anti-allodynic activity induced by the bifunctional opioid/NPFF receptors agonist BN-9 in inflammatory pain model[J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 813: 122-129[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299917304995?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejphar.2017.07.044.
- [54] Li N, Han Z L, Xu B, *et al.* Systemic administration of the bifunctional opioid/neuropeptide FF receptors agonist BN-9 produced peripheral antinociception in preclinical mouse models of pain[J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837: 53-



- 63[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299918305028?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.ejphar.2018.08.039.
- [55] Wang Z L, Pan J X, Song J J, *et al.* Structure-based optimization of multifunctional agonists for opioid and neuropeptide FF receptors with potent nontolerance forming analgesic activities[J]. *J Med Chem*, 2016, 59 (22): 10198-10208.
- [56] Zhang T, Han Z, Shi X, *et al.* Discovery of two novel branched peptidomimetics containing endomorphin-2 and RF9 pharmacophores: synthesis and neuropharmacological evaluation[J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27 (4): 630-643.
- [57] Drieu la Rochelle A, Guillemyon K, Dumitrascuta M, *et al.* A bifunctional-biased mu-opioid agonist-neuropeptide FF receptor antagonist as analgesic with improved acute and chronic side effects[J]. *Pain*, 2018, 159 (9): 1705-1718.
- [58] Lin Y T, Kao S C, Day Y J, *et al.* Altered nociception and morphine tolerance in neuropeptide FF receptor type 2 over-expressing mice[J]. *Eur J Pain*, 2016, 20 (6): 895-906.
- [59] Boules M, Shaw A, Liang Y, *et al.* NT69L, a novel analgesic, shows synergy with morphine[J/OL]. *Brain Res*, 2009, 1294: 22-28[2019-08-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899309015856?via%3Dihub>. Doi: 10.1016/j.brainres.2009.07.086.
- [60] Kleczkowska P, Kosson P, Ballet S, *et al.* PK20, a new opioid-neurotensin hybrid peptide that exhibits central and peripheral antinociceptive effects[J/OL]. *Mol Pain*, 2010, 6: 86[2019-08-20]. [https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1186/1744-8069-6-86?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dpubmed](https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1186/1744-8069-6-86?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed). Doi: 10.1186/1744-8069-6-86.
- [61] Kleczkowska P, Hermans E, Kosson P, *et al.* Antinociceptive effect induced by a combination of opioid and neurotensin moieties vs. their hybrid peptide [Ile<sup>9</sup>]PK20 in an acute pain treatment in rodents[J]. *Brain Res*, 2016, 1648 (Pt A): 172-180.
- [62] Iversen L. Cannabis and the brain[J]. *Brain*, 2003, 126 (Pt 6): 1252-1270.
- [63] Mollica A, Pelliccia S, Famiglini V, *et al.* Exploring the first rimonabant analog-opioid peptide hybrid compound, as bivalent ligand for CB<sub>1</sub> and opioid receptors[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2017, 32 (1): 444-451.
- [64] Kulkarni V V, Lee Y S, Salibay C, *et al.* Novel analogues of bifunctional ligands for opioid and melanocortin 4 receptor[J/OL]. *Adv Exp Med Biol*, 2009, 611: 195-196[2019-08-20]. [https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-73657-0\\_90](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-73657-0_90). Doi: 10.1007/978-0-387-73657-0\_90.
- [65] Deekonda S, Rankin D, Davis P, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of multifunctional ligands targeting opioid and bradykinin 2 receptors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25 (19): 4148-4152.
- [66] Mehr-un-Nisa, Munawar M A, Lee Y S, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of a series of bifunctional ligands of opioids/SSRIs[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23 (6): 1251-1259.



**【专家介绍】王锐:** 中国工程院院士, 教授, 博士生导师, 全国政协常委。现任兰州大学副校长、医学院院长、甘肃省新药临床前研究重点实验室主任。教育部“长江学者”特聘教授, 国家杰出青年科学基金获得者, 中组部国家“万人计划”领军人才, 负责“多肽药物”教育部创新团队和科技部十一五、十二五“重大新药创制”国家重大科技专项多肽关键技术课题。率领团队围绕制约多肽新药创制的关键科学和技术问题, 进行了系统的创新性研究, 取得了突出成绩, 通过从新合成方法到新制备技术的连续创新努力, 推动了我国多肽新药创制及产业化发展。作为第一完成人荣获国家自然科学奖二等奖、国家技术发明奖二等奖、省部级一等奖4项、国际学术奖励3项、何梁何利科学与技术创新奖。