

· 综述 ·

基于功能蛋白设计靶向多肽及小分子化合物:5个神经系统疾病候选药物的设计策略

汤依然, 李 迎, 厉廷有*

南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166

[摘要] 目的: 肽类化合物具有靶点亲和力强、特异性高、免疫原性低等优势, 因此在明确靶点后可通过蛋白片段截短策略获得肽类化合物作为先导化合物, 但肽类化合物存在稳定性差、口服生物利用度低、生产成本高等固有局限; 相反, 小分子具有口服生物利用度高、代谢稳定、生产成本低等优势。因此, 通过分析肽类化合物与靶点蛋白的相互作用模式, 筛选可模拟其作用方式并保留活性的小分子化合物就变得尤为重要。文章聚焦于阿尔兹海默病等难治性脑部疾病, 通过5个典型转化案例, 系统阐述了基于功能蛋白获取活性肽类化合物, 解析肽类与靶向蛋白的作用模式, 进一步获得靶向小分子化合物的研发路径, 可为其他药物设计提供参考。

[关键词] 肽类化合物; 小分子化合物; 结构改造; 神经系统疾病

[中图分类号] R918

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2026)06-927-08

doi: 10.7655/NYDXBNSN260146

Design strategies of five candidate drugs for neurological diseases based on functional protein-targeted peptide and small molecule compound development

TANG Yiran, LI Ying, LI Tingyou*

School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] Peptide compounds exhibit the advantages of high target affinity, strong specificity, and low immunogenicity. Therefore, after clarifying the therapeutic target, peptide compounds can be obtained as lead compounds *via* the protein fragment truncation strategy. However, the inherent structural limitations of peptide compounds result in several drawbacks, such as poor stability, low oral bioavailability, and high production costs. In contrast, small-molecule compounds possess the prominent advantages of high oral bioavailability, metabolic stability, and low production costs. Thus, it is particularly important to screen small-molecule compounds that can mimic the action mode of peptides and retain biological activity by analyzing the interaction modes between peptide compounds and target proteins. Focusing on intractable brain diseases such as Alzheimer's disease, this paper systematically elaborates on the research and development pathway of deriving active peptide compounds from functional proteins, deciphering the interaction modes between peptides and target proteins, and further obtaining targeted small-molecule compounds through five typical transformation cases, which can provide a valuable reference for subsequent compound design.

[Key words] peptide compound; small-molecule compound; structural modification; neurological disorder

[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(06):927-934]

[基金项目] 国家自然科学基金(82473768); 江苏省自然科学基金(BK20231266)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: L_tingyou@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0002-4216-2206)

肽是氨基酸通过肽链连接形成的化合物, 通常由2~50个氨基酸组成。自1922年加拿大生物学家贝斯特从牛胰腺中提取胰岛素用于治疗1型糖尿病以来^[1], 肽类化合物的研究已发展了百余年。1963年美国生物化学家罗伯特提出固相肽合成法, 极大推

动了肽类化合物的后续研究。肽类化合物具有与靶点亲和力强、特异性高、不良反应少、免疫原性低等优势,在药物研发领域有重要作用,但其同时存在渗透性低、稳定性差、口服生物利用度低、生产成本高等成药缺陷^[2]。小分子药物凭借高口服生物利用度、稳定代谢、低生产成本等优势,一直是药物开发的理想目标^[3]。因此,从已知靶点出发获得活性天然肽或者肽类化合物,并通过结构改造获得保留活性的小分子化合物,是药物研发的重要方法。阿尔兹海默病、亨廷顿病等神经退行性疾病均属于中枢神经系统难治性疾病,药物转化需求高^[4],在药物研发中均存在难以通过血-脑屏障及脑内靶向性差等问题^[5],文章通过5个典型转化案例系统阐述如何基于功能蛋白获得活性肽类化合物,并通过改造获得保留靶向活性的小分子化合物。

1 基于传统药化改造从睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)获得小分子P21

CNTF属于白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)细胞因子家族,主要表达于大脑神经发生区的部分星形胶质细胞中,CNTF受体主要定位于海马体祖细胞及神经元中。大脑损伤状态下,CNTF及其受体表达上调,开启下游信号通路,发挥营养神经的作用。已有研究表明,给予神经营养因子是阿尔兹海默病等神经性退行性疾病的重要治疗策略^[6]。

CNTF具有神经发生诱导和神经营养作用,可改善正常大鼠空间记忆能力,但与多数神经因子类似,通过外周给药其半衰期较短,导致研究中多采用皮下植入微球等有创给药方式,而该给药方式存在药代动力学不可预测等问题,不利于后续研究^[7]。

CNTF二级结构由4组反平行的 α 螺旋组成。结

合中和抗体表位图谱进行分析,筛选出人源CNTF片段上能与中和抗体结合的5个关键生物活性区域,将这些核心区域片段进一步拆分,并进行N端乙酰化及C端酰胺化的修饰。其中由11个氨基酸组成的肽6(Ac-VGDGGLFEKKL-NH₂),相比溶剂组,在0.01~1.00 μ mol/L浓度下成年大鼠海马神经祖细胞存活率提升3.5倍,与重组CNTF(血浆半衰期3 min)相比,肽6的血浆半衰期超过6 h,同时兼具血脑屏障渗透性,因此将肽6作为“先导肽”开展后续研究^[8]。

长链肽虽具备一定的成药性,但存在较多蛋白酶识别与降解位点,具有不稳定性。为进一步优化其活性,研究人员缩短序列以获得最小活性区域,因此,Blanchard等^[9]基于肽6结构,设计1组3个残基依次重叠的四肽,其中肽6c(Ac-DGGL-NH₂)具有良好的神经源性及神经营养活性。序列缩短过程中,亲脂性氨基酸的大量删减使得肽6c不易透过血脑屏障发挥作用,因此在肽6c的C端引入“金刚烷修饰的甘氨酸”以提升血脑屏障通透性,获得化合物P21(图1)。实验表明,P21可显著增强祖细胞的增殖与分化功能,上调下游突触标志物的表达,改善小鼠认知障碍;引入金刚烷修饰可减少外肽酶降解作用,在人工胃液中表现出良好的酸稳定性,30 min内超90%稳定保留,口服给药血浆半衰期>3 h^[10]。口服P21可通过上调脑源性神经营养因子表达来发挥营养神经作用^[11],对于阿尔兹海默病模型鼠,P21可显著降低tau蛋白及可溶性淀粉样蛋白(amyloid β , A β)水平,即使对重度病理阶段小鼠仍可改善其认知障碍,增强齿状神经发生,改善突触缺陷^[12]。与CNTF蛋白相比,P21半衰期显著延长,长期给药安全性良好;与肽6相比,P21口服更稳定,是潜在的口服小分子候选药。

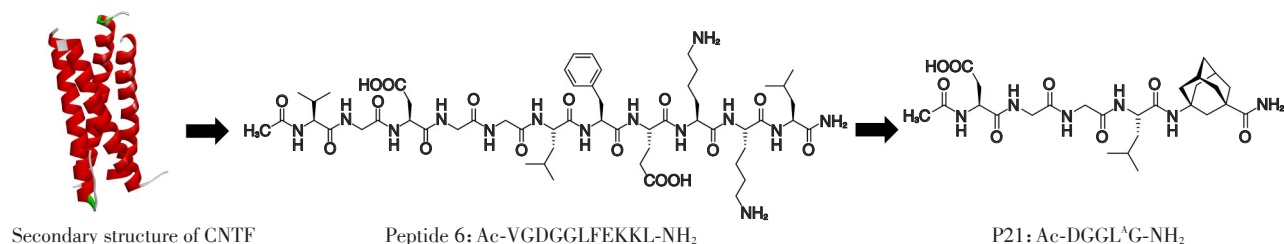


图1 基于传统药物化学改造从肽类CNTF获得小分子P21

Figure 1 Small molecule P21 derived from CNTF peptides by traditional medicinal chemistry modification

该案例采用传统药物化学方法,以功能蛋白为起点,通过物种差异对比结合中和抗体表位图谱筛选获得活性肽类化合物;经截短修饰及功能基团引

入,最终实现向小分子化合物的转化。其中,中和抗体表位图谱作为关键筛选手段,可显著提升活性肽的发现效率,适用于结构中存在“药效功能

区”与“免疫原性区”堆叠,无法区分的大分子,通过该法可有效避免截短过程中破坏药效结构。此外,通过引入金刚烷修饰改善血脑屏障通透性的设计思路,可为其他难穿透血脑屏障的药物研发提供借鉴。

2 基于配体药效团的虚拟筛选从垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (pituitary adenylate cyclase - activating peptides, PACAP) 获得小分子 PA-915

PACAP 是一种从绵羊下丘脑提取物中分离出来的多功能神经肽,可通过结合星形胶质细胞表面的 PACAP I 型受体 (PAC I), 激活 G 蛋白引发疼痛等自发性伤害行为^[13]。

PACAP 存在两种天然生物活性形式,其一为 38 个氨基酸组成的 PACAP38, 其二为 C 端截短后保留 27 个氨基酸的 PACAP27。二维核磁共振与圆二色谱构象分析表明: PACAP N 端前 8 个氨基酸呈无序分布, 第 9~12 位氨基酸形成了 1 个类似 β -转角结构, 第 12~38 位氨基酸形成 α 螺旋结构^[14]。将 PACAP38 N 端截短发现: 截短 5 个氨基酸所得化合物 PACAP 6-38 具有最强抑制活性, 半数抑制浓度 (inhibitory concentration 50, IC_{50}) 为 2 nmol/L; 其 N 端无序序列是决定肽类化合物活性类型的关键结构域; C 端 α 螺旋结构对维持受体结合亲和力至关重要, 令人遗憾的是目前的给药方式仍停留在鞘内给药或脑内注射, 通过皮下、静脉给药未见镇痛效果^[15]。

基于上述研究成果, Takasaki 等^[16] 通过核磁共振技术解析 PAC I N 端胞外结构域与 PACAP 6-38 的结合模式, 发现 PACAP 6-38 的 Y22、V26 和 R30 残基位于其螺旋结构的同一侧, Y22 侧链酚羟基嵌入 PAC I 中 A112、G91、P107 组成的疏水空腔, R30 侧链胍基则嵌入 PAC I 中 L80、S120、E121 组成的另一

空腔并形成氢键作用。对上述 3 个位点进行单点突变 (Y22A、V26G、R30A) 均可导致亲和力下降, 所以研究团队将这 3 个残基作为模板, 分别对应了芳香环、疏水基团、氢键供体和氢键配体构建药效团模型。基于药效团模型对市售小分子库进行高通量虚拟筛选, 获得 3 万个初筛化合物。进一步以“至少形成 2 个氢键”作为约束条件对初筛化合物进行二次虚拟筛选, 得到 109 个二级化合物。随后通过结构聚合, 结合自由能计算, 最终筛选出有市售的 10 个化合物。其中, PA-9 可剂量依赖性抑制 PACAP 诱导的环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 及 cAMP 反应元件结合蛋白 (cyclic-AMP response binding protein, CREB), IC_{50} 值为 5.6 nmol/L。分子对接结果显示: PA-9 的咪唑环可与蛋白主链上的酰胺键形成 1 个氢键, 代替 Y22 侧链酚羟基占据 PAC I 中 A112、G91、P107 组成的空腔, 另一端的咪唑环则代替 R30 侧链胍基与 PAC I 的 S120 及 L83 侧链残基形成 2 个氢键以及 1 个盐桥^[17]。通过在咪唑环上引入卤素或者羟基基团, 发现在苯环 7 位引入氯原子得到化合物 PA-915, 可显著抑制 PACAP 诱导的 cAMP 水平升高及 CREB 磷酸化, 10 nmol/L 便对 PAC I 产生强拮抗, 即使大剂量下也只对 PAC I 选择性拮抗, 而对其他亚型无明显作用。其作用机制主要是氯原子可更深入地嵌入 PAC I 中由 A112、G91、P107 组成的空腔, 紧密的空间契合作用增强了分子间非共价相互作用^[18]。最新研究表明, 口服小分子化合物 PA-915 便具有镇痛活性, 此外在焦虑及抑郁等与压力有关的动物模型中也表现出显著改善作用^[19-20]。与 PACAP 6-38 相比, PA-915 摒弃了多肽的固有结构, 虽然 IC_{50} 值略有所上升, 但成功获得了可成药的小分子骨架, 并显著改善了靶点选择性 (图 2)。

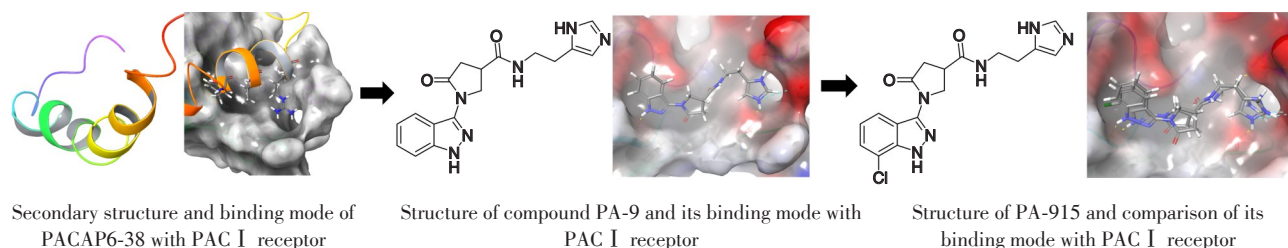


图2 基于配体药效团的虚拟筛选从肽类 PACAP 获得小分子 PA-915

Figure 2 Ligand-based pharmacophore virtual screening to obtain small molecule PA-915 from PACAP peptide

通过本案例可见, 蛋白片段截短获得活性肽类化合物的过程, 本质是对蛋白-蛋白结合模式的挖掘

与验证。该法适用于分子量较大、序列较长的肽段, 此时进行片段截短可精准去除残基, 保留与靶

点结合的核心药效团。后续通过分析肽类化合物与靶蛋白结合模式并辅助核磁共振技术,基于上述结合特征定义药效团并进行虚拟筛选可显著提升小分子化合物的研发效率与筛选特异性。该法适用于已知靶点结合模式,但缺少合适的活性骨架或原有活性片段结构过大、柔性过强,希望直接获得小分子替代。

3 基于受体的虚拟筛选从聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)获得小分子CS4566

半胱天冬酶(cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase)是一类活性位点包含半胱氨酸残基,可特异性切割靶蛋白天冬氨酸残基肽键的蛋白酶,目前已在哺乳动物细胞中发现14种Caspase,其在稳态及程序性细胞死亡调控中发挥重要作用。研究证实,Caspase-3是凋亡通路中关键“执行者”^[21-22]。

Caspase家族成员在氨基酸序列及空间结构方面具有保守性,使得多数天然底物可被多个家族成员交叉识别,缺少特异性。例如PARP中的DEVD序列可以被Caspase-3识别并切割,其衍生四肽化合物Ac-DEVD-CHO具有较强的Caspase-3抑制活性,但对Caspase-7和Caspase-8同样存在抑制作用,特异性较差^[23]。序列相似性分析表明,Caspase家族成员的活性位点均含1个带正电的S₁亚位点,该亚位点可与底物上N端带负电的天冬氨酸(P₁位)结合,从而启动切割反应。分子对接结果显示,除已证实的P₁位天冬氨酸与Caspase-3的S₁位点形成多个氢

键外,化合物Ac-DEVD-CHO N端天冬氨酸插入R207、S209、Y204所形成的空腔并形成1个氢键,缬氨酸残基嵌入Caspase-3 F256、W206形成疏水空腔,产生疏水作用,同时化合物主链中酰胺键可以与Caspase-3主链形成多个氢键,增强分子间结合作用,在10 μmol/L即可显著抑制Caspase-3活性,但其体内稳定性差,因此只用作工具化合物^[24]。

基于上述发现,Sakai等^[25]构建关键药效团模型,并对小分子数据库参考里宾斯基五规则进行初筛,排除分子质量过大、脂溶性过差、氢键供体或配体数量异常的化合物,得到40万个初筛化合物。通过药效团匹配分析,从初筛化合物中筛选出同时具有氢键供体或配体及疏水区域的二级化合物。进一步基于蛋白结构对二级化合物进行高通量筛选,最后按照结合自由能的高低选择前50个化合物进行体外酶活性抑制实验。其中,4-(乙氧羰基甲氧基)-1-羟基-2-萘甲酸(CS4566)表现出强效抑制活性,IC₅₀值为13.6 μmol/L,且对Caspase家族其他成员无显著抑制作用。分子对接结果显示,CS4566的强效抑制作用源于羧基占据原P₁天冬氨酸的结合位点与R207形成了1个盐桥;间位的酯基占据缬氨酸的结合区域并进一步向下延伸嵌入疏水口袋,萘环疏水骨架则嵌入Y204、W206、F256形成的疏水空腔,通过π—π堆积增强疏水相互作用,还与W206形成1个氢键^[25]。数据提示,CS4566在高效抑制Caspase-3的同时表现出优于Ac-DEVD-CHO的选择性,且就结构而言口服的潜在可行性更大(图3)。

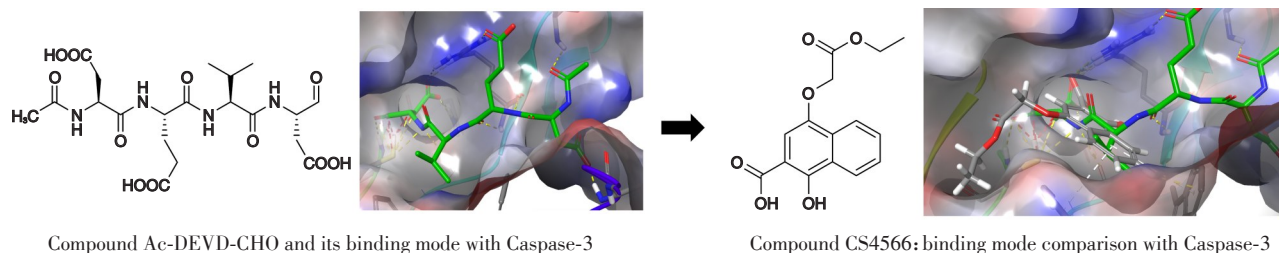


图3 基于受体的虚拟筛选从肽类PARP获得小分子CS4566

Figure 3 Receptor-based virtual screening for small molecule CS4566 derived from PARP peptide

本案例中,对于具有活性空腔的靶点,基于蛋白结构的高通量筛选可保障配体筛选的特异性,适用于通过冷冻电镜、X线晶体衍射等技术已获得明确三维结构的蛋白靶点,可直接从化合物库中筛选能精准匹配口袋的小分子。此外,针对大规模化合物文库的筛选,联合里宾斯基五规则进行初筛,可

有效剔除不具有成药性的结构,提升候选化合物的成药潜力与筛选效率。

4 利用荧光偏振测定法进行筛选从16肽获得小分子23

研究证实,亨廷顿病等退行性疾病中存在神经

元氧化应激增加现象, 调控 Keap1-Nrf2 通路抑制细胞氧化应激可延缓疾病进程。生理状态下, 核因子相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-like 2, Nrf2) 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 结合, 并靶向 E3 泛素化降解, 在体内维持低表达水平。而在疾病模型中, 过量活性氧激活下游抗氧化应激元件, 使 Keap1 构象改变, 失去对 Nrf2 的抑制活性; Nrf2 大量蓄积并转入细胞核, 启动抗氧化酶、解毒酶等多种保护性基因的转录, 发挥对有毒物质及氧化损伤的防御功能^[26-27]。

Keap1 的 Kelch 结构域是 1 个六叶片 β 螺旋桨, 4 条 β 链通过不同长度的连接环相连, 连接环长度差异使其顶端形成浅口袋, 作为 Nrf2 的结合位点。Nrf2 N 端 Neh2 结构域是与 Keap1 结合的核心区域, 其中 DXETGE 序列高度保守。Chen 等^[28] 基于该序列设计不同长度肽段并展开体外竞争结合实验, 结果显示, 肽段 AFFAQLQLDEETGEFL (16 肽) 可有效抑制 Keap1-Nrf2 的结合, 其 K_d 值为 20 nmol/L, 与完整 Nrf2 结合亲和力相当。X 线晶体衍射解析表明, 16 肽能形成稳定的 β 转角构象, 该构象可模拟 Nrf2 与 Keap1 的相互作用, 嵌入 Keap1 口袋^[29]。16 肽 β 转角上的 E79、E82 与 Keap1 的 R415、R380 等残基形成氢键, 且 T80 可形成分子内氢键来稳定构象^[30]。

鉴于目前缺乏靶向 Keap1-Nrf2 蛋白互作的直接小分子抑制剂, 研究团队用荧光标记肽段作为探

针, 采用荧光偏振法对小分子化合物库进行初筛, 挑选了抑制率 >12% 的化合物, 获得 489 个初筛化合物。随后结合量效曲线及表面等离子体共振技术对初筛化合物进行二次验证, 最终获得 8 个二级化合物, 其中含有四氢异喹啉的小分子化合物 LH601A 具有开发为新一代抑制剂的潜力^[31]。分子对接显示, LH601A 主要通过结构中的羧基基团与 Keap1 的 R415 和 R380 形成盐桥。

通过分析 LH601A 对接结果可见, LH601A 未能完全占据由 L365、V604 等疏水残基围绕的口袋, 该口袋内部含有 6 个结构保守的水分子, 若与水分子形成氢键可显著提升化合物活性, 对此研究人员在四氢异喹啉 5 位引入羟基, 其可直接与 L365、V604 形成氢键; 此外, 参考肽类在该位点是由酰胺与 Keap1 的 S363 和 N414 形成氢键, 推测将羧基替换为酰胺可保留结合活性, 同时增加血-脑屏障透过性。酰胺键搭配环丁烷可有效解决环己烷的空间位阻问题, 基于上述改造策略, 最终获得化合物 23, X 线晶体衍射证实, 化合物 23 可与 Keap1 的 S363、N414、R415 形成 3 个氢键, IC_{50} 为 2.5 μ mol/L, 并能透过血-脑屏障^[32-33]。化合物 23 亲和力弱于 16 肽, 但其易通过膜扩散进入细胞, 且极大地解决了 16 肽只能注射给药的问题, 为后续 Keap1-Nrf2 相互作用抑制剂的研发提供了具有成药潜力的骨架(图 4)。

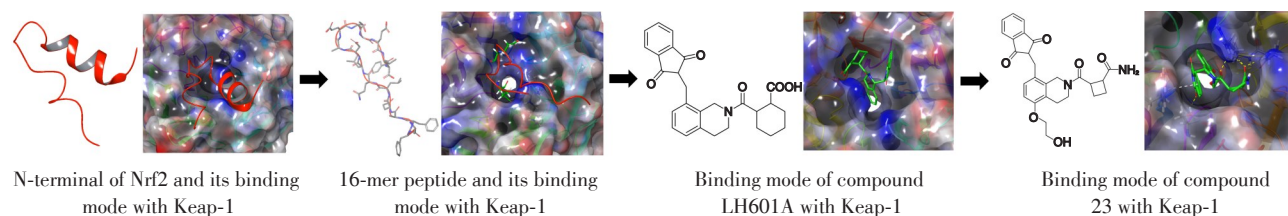


图 4 利用荧光偏振测定法进行筛选从 16 肽获得小分子 23

Figure 4 Identification of small molecule 23 from the 16-mer peptide via fluorescence polarization assay screening

本案例通过截短优化确定最小活性肽段序列, 并以该活性肽段为探针, 采用均质荧光偏振法对化合物库进行筛选, 实现肽类化合物向小分子化合物的转化。该筛选策略适用于有已知受体-配体结合体系但蛋白晶体尚未解析、无法开展虚拟筛选的情况, 其核心优势在于依托实验验证保障筛选特异性; 但该方法存在筛选工作量大、通量受限的局限性, 不适用于大规模化合物文库的初筛, 更适用于二级筛选阶段的活性化合物验证与优化。

5 利用死亡陷阱筛选技术获得 NH 多肽并筛选获得小分子 2

阿尔兹海默病核心病理特征为 β 淀粉样蛋白沉积, 神经元大量死亡。其中, 淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) V642I 突变是诱导神经元死亡的关键环节^[34]。

Hashimoto 等^[35] 构建了 V642I-APP 稳转细胞系, 该细胞系可诱导细胞死亡。利用“死亡陷阱筛选” (death-trap screening) 技术, 通过转染候选 cDNA 文

库,回收存活细胞携带的cDNA,获得初始活性cDNA片段。总结发现:具有保护活性的片段均含有75个碱基开放阅读框,阅读框编码24个氨基酸残基的HN多肽(MAPRGFSCLLLLTSEIDLPKRRA),若片段缺失则丧失保护活性^[36]。

研究表明,HN通过与GP130复合物结合,诱导受体构象变化,激活下游抗凋亡基因,减轻氧化应激损伤,抑制细胞凋亡,促进细胞存活^[37]。因此将GP130确定为靶点,通过计算机建模并结合分子动力学模拟,证实HN多肽结合于GP130胞外第4~5结构域,在该区域中HN多肽由无序构象转变为 α 螺旋结构;核心疏水区嵌入由V437、A443、L445组成的疏水口袋,通过疏水作用形成稳定结合;N端正电荷与GP130的D315、E326形成盐桥作用,辅助增强构象稳定性^[38]。基于上述结构分析,研究人员对

含20万种化合物骨架的加利福尼亚大学洛杉矶分校数据库进行高通量筛选,发现2-氨基噻唑类化合物(RCGD423)的作用机制与HN高度匹配,可特异性结合GP130,逆转IL-6所介导的细胞凋亡及炎症因子产生。为进一步提升化合物亲和力,研究团队将4位溴原子进行结构修饰,其中,溴原子替换为氟原子的化合物2可以进一步与GP130的D315形成静电吸引,自由结合能为 -18.61 kcal/mol,较RCGD423显著提升;口服给药时具有良好的血脑屏障穿透能力;在原代神经元模型中,完全逆转N-甲基-D-天冬氨酸诱导的神经损伤,体现出优于RCGD423的保护作用^[39]。综上,化合物2作为小分子化合物可口服给药,且具备高效血-脑屏障穿透能力,此外其结构简单适合作为先导化合物进行二次改造(图5)。

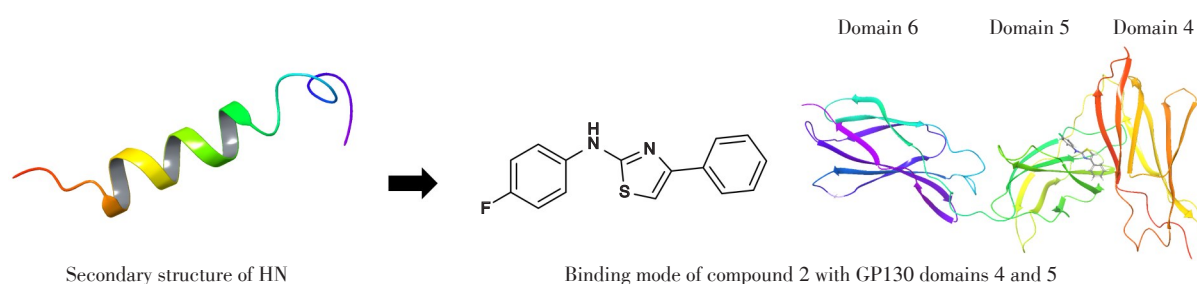


图5 利用死亡陷阱筛选技术获得NH多肽并筛选获得小分子2

Figure 5 Identification of peptide NH and small molecule 2 via death trap screening technology

该案例建立的“死亡陷阱筛选”技术,可高效获得活性肽类化合物,该法适用于已验证存在蛋白-蛋白作用,但未获得合适活性片段的情况,通过本方法可显著提升肽类先导化合物的发现效率。针对未知靶点场景,先通过分子动力学模拟确定结合区域,再借助高通量筛选获得作用机制类似的小分子化合物。在有目标蛋白但无确定结合位点的情况下,无法直接开展基于结构的药物设计,通过此法可明确靶点作用模式,并为筛选提供依据。

6 总结与展望

随着生物技术的发展,难治性脑部疾病相关药物靶点不断被挖掘。以疾病相关功能蛋白为着手点,通过对蛋白片段截短、死亡陷阱等技术获得有活性肽类片段作为先导化合物;借助核磁共振、X线晶体衍射等技术手段解析肽类片段与靶点蛋白相互作用模式,结合虚拟筛选、荧光偏振测定等技术获得先导小分子化合物,再针对先导小分子化合物存在的具体问题,进行局部结构修饰,最终获得该

靶点的候选新药。这一技术流程已逐渐成为靶向特效药设计的标准化策略。本综述围绕阿尔兹海默病、亨廷顿病等常见神经退行性疾病,系统探讨了“功能蛋白-活性肽类化合物-小分子化合物”的转化路径,重点描述了该路径下药物设计思路及关键技术,可为后续化合物设计提供参考。前期研究中,在脑卒中靶点上发现具有强效抑制活性的肽类化合物,该肽类化合物可显著改善小鼠的运动功能与认知功能^[40],但存在生物利用度低,给药方式受限等问题。未来,希望借鉴多种转化策略,尽早开发出靶向该靶点的小分子抑制剂,进而明确该靶点的病理生理功能,促进脑卒中疾病的机制研究及临床转化。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

The authors declare no conflict of interests.

作者贡献声明:

汤依然负责文献收集、分析与初稿撰写;李迎负责内容格式校对;厉廷有负责资金支持与文稿审阅。

Author's Contributions:

TANG Yiran was responsible for literature collection, analysis and first draft writing; LI Ying was responsible for content and format proofreading; LI Tingyou was responsible for funding support and manuscript review.

[参考文献]

- [1] SIMS E K, CARR A L J, ORAM R A, et al. 100 years of insulin: celebrating the past, present and future of diabetes therapy[J]. *Nat Med*, 2021, 27(7): 1154-1164
- [2] 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
- [3] HAN Z Y, SHEN Z K, PEI J Y, et al. Transformation of peptides to small molecules in medicinal chemistry: challenges and opportunities[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(10): 4243-4265
- [4] LI Q, MA Z B, QIN S H, et al. Virtual screening-based drug development for the treatment of nervous system diseases[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2023, 21(12): 2447-2464
- [5] RAWALS S U, PATEL B M, PATEL M M. New drug delivery systems developed for brain targeting[J]. *Drugs*, 2022, 82(7): 749-792
- [6] DA COSTA A, FRANCO-DUARTE R, MACHADO R, et al. Uncovering the promiscuous activity of IL-6 proteins: a multi-dimensional analysis of phylogeny, classification and residue conservation[J]. *Protein Sci*, 2022, 31(11): e4469
- [7] ZHANG X, YANG C, ZHANG C L, et al. Functional optic tract rewiring *via* subtype- and target-specific axonal regeneration and presynaptic activity enhancement [J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 2174
- [8] CHOCHAN M O, LI B, BLANCHARD J, et al. Enhancement of dentate gyrus neurogenesis, dendritic and synaptic plasticity and memory by a neurotrophic peptide [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(8): 1420-1434
- [9] BLANCHARD J, CHOCHAN M O, LI B, et al. Beneficial effect of a CNTF tetrapeptide on adult hippocampal neurogenesis, neuronal plasticity, and spatial memory in mice[J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 21(4): 1185-1195
- [10] MOTTOLESE N, LOI M, TRAZZI S, et al. Effects of a ciliary neurotrophic factor (CNTF) small - molecule peptide mimetic in an *in vitro* and *in vivo* model of CDKL5 deficiency disorder[J]. *J Neurodev Disord*, 2024, 16(1): 65
- [11] BOLOGNIN S, BUFFELLI M, PUOLIVÄLI J, et al. Rescue of cognitive-aging by administration of a neurogenic and/or neurotrophic compound [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(9): 2134-2146
- [12] KAZIM S F, IQBAL K. Neurotrophic factor small-molecule mimetics mediated neuroregeneration and synaptic repair: emerging therapeutic modality for Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11(1): 50
- [13] ASHINA M, PHUL R, KHODAIIE M, et al. A monoclonal antibody to PACAP for migraine prevention[J]. *N Engl J Med*, 2024, 391(9): 800-809
- [14] XU W Q, KEITH A M, YE W J, et al. Design of peptide-based PAC1 antagonists combining molecular dynamics simulations and a biologically relevant cell-based assay[J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 242: 117300
- [15] ZHANG L, ZHOU Y J, YANG L, et al. PACAP6-38 improves nitroglycerin - induced central sensitization by modulating synaptic plasticity at the trigeminal nucleus caudalis in a male rat model of chronic migraine [J]. *J Headache Pain*, 2023, 24(1): 66
- [16] TAKASAKI I, WATANABE A, YOKAI M, et al. In silico screening identified novel small-molecule antagonists of PAC1 receptor[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 365(1): 1-8
- [17] LU J, PIPER S J, ZHAO P, et al. Targeting VIP and PACAP receptor signaling: new insights into designing drugs for the PACAP subfamily of receptors[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8069
- [18] TASMA Z, REES T A, GUO S, et al. Pharmacology of PACAP and VIP receptors in the spinal cord highlights the importance of the PAC1 receptor [J]. *British J Pharmacology*, 2024, 181(15): 2655-2675
- [19] SHINTANI Y, HAYATA-TAKANO A, YAMANO Y, et al. Small-molecule non-peptide antagonists of the PACAP receptor attenuate acute restraint stress-induced anxiety-like behaviors in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 631: 146-151
- [20] SHINTANI Y, HAYATA-TAKANO A, TAKASAKI I, et al. Rapid and long-lasting antidepressant-like effects of the pituitary adenylate cyclase - activating polypeptide receptor antagonist PA - 915 in chronic stress mouse models[J]. *Mol Psychiatry*, 2026, 31(2): 1014-1026
- [21] UNNISA A, GREIG N H, KAMAL M A. Inhibition of caspase 3 and caspase 9 mediated apoptosis: a multimodal therapeutic target in traumatic brain injury [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2023, 21(4): 1001-1012
- [22] DHANI S, ZHAO Y, ZHIVOTOVSKY B. A long way to go: caspase inhibitors in clinical use[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 949
- [23] XIA Y, HUANG P, QIAN Y Y, et al. PARP inhibitors

- enhance antitumor immune responses by triggering pyroptosis *via* TNF-caspase 8-GSDMD/E axis in ovarian cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(10):e009032
- [24] XU W F, ZHANG Q, DING C J, et al. Gasdermin E-derived caspase-3 inhibitors effectively protect mice from acute hepatic failure[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 68-76
- [25] SAKAI J, YOSHIMORI A, NOSE Y, et al. Structure-based discovery of a novel non-peptidic small molecular inhibitor of caspase-3[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(9): 4854-4859
- [26] KARUNATILLEKE N C, FAST C S, NGO V, et al. Nrf2, the major regulator of the cellular oxidative stress response, is partially disordered[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7434
- [27] LI L, XIE D, YU S, et al. WNK1 interaction with KEAP1 promotes NRF2 stabilization to enhance the oxidative stress response in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(17): 2776-2791
- [28] CHEN Y, INOYAMA D, KONG AN. Kinetic analyses of Keap1-Nrf2 interaction and determination of the minimal Nrf2 peptide sequence required for Keap1 binding using surface plasmon resonance [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2011, 78(6): 1014-1021
- [29] BARRECA M, QIN Y T, CADOT M E H, et al. Advances in developing noncovalent small molecules targeting Keap1[J]. *Drug Discov Today*, 2023, 28(12): 103800
- [30] ULASOV A V, ROSENKRANZ A A, GEORGIEV G P, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: towards specific regulation[J]. *Life Sci*, 2022, 291: 120111
- [31] CRISMAN E, DUARTE P, DAUDEN E, et al. KEAP1-NRF2 protein - protein interaction inhibitors: design, pharmacological properties and therapeutic potential [J]. *Med Res Rev*, 2023, 43(1): 237-287
- [32] ONTORIA J M, BIANCOFIORE I, FEZZARDI P, et al. Combined peptide and small-molecule approach toward nonacidic THIQ inhibitors of the KEAP1/NRF2 interaction[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11(5): 740-746
- [33] AFONSO A L, CAVALEIRO C T, CASTANHO M A R B, et al. The potential of peptide-based inhibitors in disrupting protein-protein interactions for targeted cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(7): 3117
- [34] OROBETS K S, KARAMYSHEV A L. Amyloid precursor protein and Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14794
- [35] HASHIMOTO Y, NIIKURA T, TAJJMA H, et al. A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and Abeta[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(11): 6336-6341
- [36] HA C P, HUA T N M, VO V T A, et al. Humanin activates integrin α V-TGF β axis and leads to glioblastoma progression[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(6): 464
- [37] LI Z, SREEKUMAR P G, PEDDI S, et al. The humanin peptide mediates ELP nanoassembly and protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress [J]. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2020, 24: 102111
- [38] ZHU Y, LIN X W, ZONG X, et al. Structural basis of FPR2 in recognition of A β 42 and neuroprotection by humanin[J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 1775
- [39] ALAM M P, BILOUSOVA T, SPILMAN P, et al. A small molecule mimetic of the humanin peptide as a candidate for modulating NMDA-induced neurotoxicity [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(3): 462-468
- [40] LIN Y H, WU F, LI T Y, et al. Disrupting stroke-induced GAT-1-syntaxin1A interaction promotes functional recovery after stroke[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(11): 101789
- (收稿:2026-01-27;修回:2026-04-09;录用:2026-04-11)
(本文编辑:蒋 莉)

(上接第918页)

- science[J]. *Patterns*, 2021, 2(10): 100347
- [52] LAVECCHIA A. Advancing drug discovery with deep attention neural networks[J]. *Drug Discov Today*, 2024, 29(8): 104067
- [53] JOHNSON K B, WEI W Q, WEERARATNE D, et al. Precision medicine, AI, and the future of personalized health care[J]. *Clin Transl Sci*, 2021, 14(1): 86-93
- [54] STRUBLE T J, ALVAREZ J C, BROWN S P, et al. Current and future roles of artificial intelligence in medicinal chemistry synthesis [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(16): 8667-8682
- [55] STOKES J M, YANG K, SWANSON K, et al. A deep learning approach to antibiotic discovery[J]. *Cell*, 2020, 180(4): 688-702
- (收稿:2026-02-10;修回:2026-04-26;录用:2026-04-26)
(本文编辑:蒋 莉)