

## 胰高血糖素样肽-1 类似物药物的研究进展

赵琳琳, 黄昆\* (华中科技大学同济药学院, 武汉 430030)

**摘要:** 目的 介绍胰高血糖素样肽-1(GLP-1)及其类似物药物在2型糖尿病治疗中的应用。方法 通过归纳总结近年来国内外相关文献,介绍了GLP-1的序列结构及其生理功能,并对其类似物药物(如Exendin-4, Liraglutide等)的临床应用或研发进展,以及它们目前在临床应用上的缺陷及相应的修饰或改造途径进行了阐述。结果与结论 与现有药物比较,GLP-1及其类似物药物对2型糖尿病有着显著的疗效,在糖尿病治疗领域有广泛的应用前景。

**关键词:** 2型糖尿病; 胰高血糖素样肽-1; Exendin-4; Liraglutide

中图分类号: R917.796 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2010)01-0016-05

### Latest Progress in the Drug Development of Glucagon-Like Peptide 1 Analogues

ZHAO Linlin, HUANG Kun\* (Tongji School of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To introduce the clinical applications of GLP-1 and its analogues in type 2 diabetes. **METHODS** The latest research reports on the structural property and physiological functions of GLP-1 were summarized, as well as the clinical research and recent progress of clinically used GLP-1 analogues (Exendin-4 and Liraglutide, etc). Obstacles associated with their clinical usages and the remedy modification approaches were also described. **RESULTS AND CONCLUSION** Compared with the other clinical medicines, GLP-1 and its analogues have been proven to have greater therapeutic potential in treating type 2 diabetes.

**KEY WORDS:** type 2 diabetes; GLP-1; Exendin-4; Liraglutide

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种全球性的高发病。据世界卫生组织(WHO)最新公布数据显示,2007年全球糖尿病患者人数已达1.8亿,且发病率仍逐年增加,预测到2025年,全球糖尿病患者人数将达3亿<sup>[1]</sup>。

糖尿病主要分为1型和2型,后者占糖尿病患者总数的90%以上。2型糖尿病患者多存在胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足两方面异常<sup>[2]</sup>,在发病的中晚期往往出现胰岛β细胞凋亡。目前临床使用的口服降糖药的作用机理多为增强胰岛素敏感性或促进胰岛素分泌以稳定血糖,均无法解决β细胞凋亡这一难题。然而,胰高血糖素样肽-1及其类似物药物的应用使得2型糖尿病的治疗获得突破性进展,有望为糖尿病治疗提供全新的选择方案。

### 1 胰高血糖素样肽-1

#### 1.1 GLP-1的发现及其生理功能

近年来,以胰高血糖素样肽-1(glucagon-like

peptide 1, GLP-1)为代表的胃肠激素多肽类药物在糖尿病治疗上受到广泛关注。研究表明,一方面GLP-1可通过刺激胰岛素分泌、抑制胰高血糖素分泌及胃排空来降低血糖;另一方面,GLP-1还有减缓β细胞凋亡,促进其再生的独特作用。

1983年McIntyre等<sup>[3]</sup>在分析胰高血糖素前体——胰高血糖素原(proglucagon, PG)的基因序列时发现了GLP-1。GLP-1基因在胰腺α细胞、肠道L细胞表达。完整的GLP-1多肽由37个氨基酸构成,在体内的生物活性形式为GLP-1(7-37)多肽和GLP-1(7-36)酰胺,其中约80%的GLP-1循环活性来自GLP-1(7-36)酰胺<sup>[4]</sup>。GLP-1(1-37)在体内生成后,通过两步酶切,分别去除N端6个氨基酸及形成C端酰胺化,最终生成具有高度活性的GLP-1(7-36)酰胺(也称GLP-1片段)。研究表明,C末端酰胺化不但大幅提高了GLP-1肽的生物活性,也提高了GLP-1肽的体内稳定性<sup>[5]</sup>。

基金项目: 国家自然科学基金(No.30801445, No.30970607); 教育部博士点基金(200804871111); 武汉市创新人才开发基金重大创新专项项目

作者简介: 赵琳琳, 女, 博士研究生 Tel: 15171507630 E-mail: q60719@yahoo.com.cn \*通信作者: 黄昆, 男, 博士, 教授

Tel: (027)83691499 E-mail: kunhuang2008@hotmail.com

GLP-1 是已发现的促胰岛素分泌作用最强的肠肽类激素,它通过与 GLP-1 受体(GLP-1R, 属于  $\beta$  受体家族的 G 偶联蛋白)结合发挥作用。GLP-1 结合 GLP-1R 后,激活细胞膜内环腺苷酸(cAMP)和丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)通路。胰岛成熟  $\beta$  细胞的 GLP-1 受体偶联 Gs, 活化腺苷酰环化酶, 产生 cAMP, 后者与葡萄糖协同刺激胰岛素合成和分泌, 刺激胰岛素基因转录和胰岛素原生物合成, 降低胰高血糖素浓度并抑制胰高血糖素分泌, 增强细胞对胰岛素的敏感性, 刺激胰岛素依赖性糖原合成, 降低餐后血糖浓度。通过激活蛋白激酶、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、MAPK 通道, 调节凋亡前蛋白及诱导抗凋亡蛋白 Bcl-2 与 Bcl-xL 的表达以减缓  $\beta$  细胞凋亡, 增进其再生<sup>[6]</sup>, 促使胰岛  $\beta$  细胞分化并增殖<sup>[7-8]</sup>。此外, GLP-1 还能减慢胃排空速度; 通过作用下丘脑, 抑制食欲。

## 1.2 GLP-1 在临床使用中所面临的问题

GLP-1 在人体血循环中可以被二肽酶 IV (dipeptidyl peptidase IV, DPP IV; CD26)迅速降解。二肽酶 IV 是一种广泛地存在于肾脏、胃肠道、结缔组织、淋巴等组织中的跨膜丝氨酸蛋白酶, 它能快速降解皮下组织和血液中的 GLP-1, 将具有生物活性的 GLP-1(7-36)酰胺水解成无活性的 GLP-1(9-36)酰胺, 导致 GLP-1 的体内半衰期仅 2 min 左右, 故外源 GLP-1 难以获得临床使用。为此, 科研人员根据二肽酶 IV 和 GLP-1 的特点设计了一系列新药, 以阻断或延缓 GLP-1 类药物的降解, 延长其半衰期, 这是目前能够用于临床的 GLP-1 类似物药物的研究关键点之一。

GLP-1 及其相关新药的研发目前已成为 2 型糖尿病药物治疗研究的新热点, 研究者主要从 3 个方面开发 GLP-1 的相关新药:

### ① 研制二肽酶 IV 抑制剂以提高内源性 GLP-1

A	
GLP-1	HDEEER <b>HAE</b> GTFTSDVSSYLE <b>QQA</b> AKE <b>PIA</b> WLVRGRG
Glucagon	HS <b>Q</b> GTFTSDISKYLD <b>S</b> RR <b>AQ</b> Q <b>PV</b> Q <b>W</b> LMNT
GLP-2	H <b>A</b> D <b>G</b> S <b>F</b> S <b>D</b> E <b>M</b> I <b>N</b> T <b>I</b> L <b>D</b> N <b>L</b> A <b>A</b> R <b>D</b> P <b>I</b> N <b>W</b> L <b>I</b> Q <b>T</b> K <b>I</b> T <b>D</b>
GLP-1 (7-36)	<b>HAE</b> GTFTSDVSSYLE <b>QQA</b> AKE <b>PIA</b> WLVRGRG
Liraglutide	<b>HAE</b> GTFTSDVSSYLE <b>QQA</b> AKE <b>PIA</b> WLVRGRG
Exendin-4	H <b>G</b> E <b>G</b> TFTSDLSK <b>Q</b> M <b>E</b> B <b>E</b> A <b>V</b> R <b>L</b> P <b>I</b> E <b>W</b> L <b>K</b> N <b>G</b> P <b>S</b> S <b>G</b> A <b>P</b> P <b>S</b>

的半衰期。其中由美国 Merck 公司研究开发的 Sitagliptin (Januvia, MK0431, 具有口服活性)是首个临床用于治疗 2 型糖尿病的二肽酶 IV 抑制剂。2006 年 10 月获 FDA 批准上市<sup>[9]</sup>。2009 年 7 月, 另一个具有口服活性的二肽酶 IV 抑制剂 Saxagliptin (Onglyza, Bristol-Myers Squibb 与 AstraZeneca 公司联合开发)也由美国 FDA 批准上市。

② 上海药物研究所在国际上首次研究发现了化学合成的非多肽类 GLP-1 受体激动剂 Boc5(口服有效)。这是一个由化学基团取代环丁烷侧链的小分子物质, 通过提高细胞内的 cAMP 水平而发挥作用, 是 GLP-1 受体的完全激动剂<sup>[10]</sup>。在为期 4 周的 2 型糖尿病小鼠模型实验中, 王明伟、陈凯先研究组发现注射 Boc5 可刺激胰岛素分泌, 提高胰岛素敏感性, 并减少小鼠摄食量, 维持正常体重, 且促使其血糖水平正常化<sup>[11]</sup>。

③ 通过序列改造并结合化学修饰研究多肽类的 GLP-1 受体长效激动剂, 代表药物包括 Exendin-4 与 Liraglutide。相对于 GLP-1, 该类物质能够有效地延长在体内的半衰期。近年来, 国内外出现许多此类的研究, 本课题组也进行了一系列有关 GLP-1 修饰、表达的研究工作。

## 2 GLP-1 的多肽类受体激动剂

### 2.1 Exendin-4(Exenatide)

1992 年, Eng 等<sup>[12]</sup>发现: 一种从墨西哥巨蜥 (*Heloderma suspectum*) 的唾液中分离得到的与 GLP-1 有 53% 的序列同源性的 Exendin-4 多肽(39 个残基), 不但具有类 GLP-1 促胰岛素分泌的功能, 而且其体内稳定性(半衰期)也远高于 GLP-1。这是因为, 一方面 Exendin-4 的 C 端含有 GLP-1 所没有的 9 个残基 (PSSGAPPPS), 不易被肽链内切酶降解; 另一方面, Exendin-4 的序列中也没有二肽酶 IV 的作用位点, 见图 1。

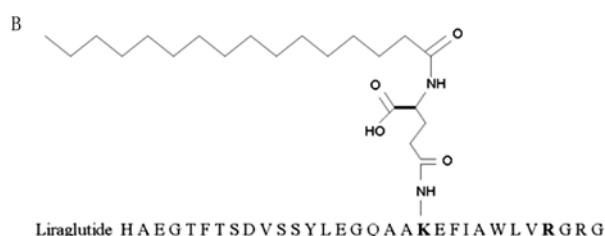


图 1 GLP-1 及其类似物的结构

A-GLP-1 及其类似物的氨基酸序列: 相同氨基酸(黑体), 同源氨基酸(黑), 不同氨基酸(灰); B-Liraglutide 的化学结构

Fig 1 Structures of GLP-1 and related peptides

A-sequence alignment of GLP-1 and related peptides: identical residues(bold), similar residues(black), varied residues(grey); B-chemical structure of Liraglutide

根据 Exendin-4 的这一特点, 美国 Amylin 公司和 Eli Lilly 公司联合开发了化学合成的药物 Exendin-4(又称为 Exenatide, 或 AC2993, 商品名 Byetta)。Byetta 是世界上首个肠促胰岛素类似物药物, 在 2005 年 4 月经美国 FDA 批准上市<sup>[13]</sup>。2007 年, Byetta 的年销售额已达 6.36 亿美元。

作为第一个临床使用的肠促胰岛素类似物药物, Exendin-4 不但可模拟体内自然分泌的激素, 帮助人体调节血糖水平, 而且当血糖水平恢复正常时还会停止该作用。此外, Exendin-4 能够降低糖尿病患者的血糖, 修复在 2 型糖尿病中受到损伤的  $\beta$  细胞的机能并抵抗  $\beta$  细胞凋亡, 属于一种标本兼治的药物。临床研究表明, Exendin-4 能降低大部分患者的体重(经过 30 周的治疗患者体重平均减少 2~3 kg)<sup>[14]</sup>, 其血药浓度达峰时间为皮下注射后 2.1 h, 半衰期为 2.4 h<sup>[15]</sup>。Exendin-4 的耐受性较好, 不良反应较轻, 常见为轻度和中度恶心、呕吐以及其他胃肠道症状<sup>[16]</sup>。

为进一步增加 Exendin-4 的稳定性及生物活性, 研究人员对 Exendin-4 多肽进行了一系列的化学修饰。清华大学的蔡中华<sup>[17]</sup>课题组进行了聚乙二醇化 Exendin-4 (PEGylation Exendin-4) 的研究。该研究利用赤毕酵母表达 Exendin-4 多肽并纯化后, 将活化的 PEG<sub>5K</sub> 同纯 Exendin-4 多肽偶联, 进一步分离纯化后, 得到聚乙二醇化的 Exendin-4。动物实验(大鼠模型)证明, 聚乙二醇修饰的 Exendin-4 使原始 Exendin-4 的半衰期由近 1 h 延长至 4 h, 并可加强原始 Exendin-4 的生物活性与治疗效果(降低血浆中的血糖浓度和促进胰岛素的释放)。组织化学检测表明聚乙二醇化的 Exendin-4 还可降低 Exendin-4 的组织毒性, 显示出了良好的临床应用前景。

## 2.2 Liraglutide

**2.2.1 结构修饰** Liraglutide(NN2211)是继 Byetta 之后的新型 GLP-1 长效类似物, 由 Novo Nordisk 公司研究开发。Liraglutide 对 GLP-1(7-37)酰胺的天然结构进行了两处修饰: 第 34 位赖氨酸由精氨酸取代, 第 26 位上的赖氨酸通过一个  $\gamma$ -谷氨酸与棕榈酸进行侧链脂酰化反应, 见图 1。由于 Liraglutide 在血浆中能够与血清白蛋白结合, 缓释效果明显<sup>[18]</sup>。其药代动力学发生明显改变, 表现在吸收速度减慢, 达峰时间为 9~12 h; 同时, 被二肽酶 IV 裂解的速度也减慢, 血浆半衰期为 11~15 h, 生物利用度达到 55%<sup>[19]</sup>。

2001 年首次公开了 Liraglutide 的动物实验结果, 发现给肥胖大鼠模型注射 Liraglutide 可有效地减轻肥胖个体的体重, 表明 Liraglutide 可能有降低 2 型糖尿病患者体重的功效<sup>[20]</sup>。此后发表的各项研究成果也清晰地表明, Liraglutide 有着与 GLP-1 完全相同的生理功能<sup>[21]</sup>。

与 Exendin-4 比较, Liraglutide 更具有两大优点。一是与人 GLP-1 同源性更高。Liraglutide 的氨基酸序列更接近人 GLP-1, 有约 97% 相符, 而 Exendin-4 只有约 53% 相符, 见图 1, 因此其非同源所致免疫副作用也较小。此外, 它的半衰期更长, 为 11~15 h, 而 Exenatide 的半衰期是 2.4 h。临床研究表明 Liraglutide 耐受良好, 最常出现的不良反应是暂时性的轻度至中度恶心<sup>[19]</sup>。

关于 Liraglutide (NN2211)对胰岛  $\beta$  细胞的影响, Rolin 等<sup>[22]</sup>进行了一系列的研究。实验以 2 型糖尿病小鼠为动物模型, 每日给予 Liraglutide (NN2211)的剂量为 200  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 共计 2 周。动物处死前 4 h 注射溴-脱氧尿苷(BrdU)用以标记(注射量为 100  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), pH 7.3~7.5 的磷酸盐溶液作为空白对照, 将动物处死后取出胰腺, 经过一系列固定处理, 进一步结合组织化学研究结果, 统计学分析数据表明: Liraglutide (NN2211)能够明显地增加胰岛  $\beta$  细胞的数量(按 BrdU 活化的  $\beta$  细胞的数量统计, NN2211 治疗组约是对照组的 3 倍,  $P<0.05$ ), 并且 Liraglutide 还显著地增加了胰岛  $\beta$  细胞再生的速率(NN2211 治疗组约是对照组的 1.5 倍,  $P<0.001$ )。该结果有力地证明了 Liraglutide 在修复  $\beta$  细胞中所起的作用。

**2.2.2 Liraglutide 的最新 III 期临床实验结果** 2008 年召开的第 68 届美国糖尿病学会年会上 (ADA 2008), Novo Nordisk 公司首次公布了一系列 Liraglutide 相关 III 期临床研究结果, 并于 2009 年在 Lancet 上正式发表。临床双盲试验 LEAD-3 (liraglutide effect and action in diabetes, LEAD) 研究结果显示: 746 名 18~80 岁之间的糖尿病患者(患病时间均超过 5 年)经过为期 52 周的 Liraglutide 治疗后, 与对照组格列美脲比较, 单独使用 Liraglutide 对早期 2 型糖尿病患者的血糖控制, 在统计学上显著并且持续有效: 使用格列美脲 8 mg 用于治疗, 糖化血红蛋白降低 0.51% $\pm$ 1.20%; 使用 Liraglutide 1.2 mg 用于治疗, 糖化血红蛋白降低 0.84% $\pm$ 1.23%; 使用 Liraglutide 1.8 mg 用于治疗,

糖化血红蛋白降低 1.14%±1.24%。除了能够显著降低糖化血红蛋白含量,应用 Liraglutide 治疗可更显著地使 2 型糖尿病患者体重减轻,降低收缩压,减少低血糖的发生率(与格列美脲比较,  $P=0.0001$ )<sup>[23]</sup>。

2009 年,Novo Nordisk 公司又公布了为期 26 周的 LEAD-6 研究结果<sup>[24]</sup>,此项研究的对象包括 15 个国家的 464 名使用二甲双胍类和磺脲类药物已无法控制 2 型糖尿病的患者,研究中将患者平分为 2 组,平行使用 Liraglutide (1.8 mg, 1 剂·d<sup>-1</sup>) 及 Exenatide (10 μg, 2 剂·d<sup>-1</sup>)。研究证明,与 Exenatide 比较, Liraglutide 在降低糖化血红蛋白含量方面发挥的作用更为显著(使用 Liraglutide 的患者糖化血红蛋白含量降低 1.12%, 而使用 Exenatide 只降低 0.79%,  $P<0.0001$ ); 在减轻体重方面两者并无较大差异(使用 Liraglutide 体重减轻 3.24 kg, 使用 Exenatide 则减轻 2.87 kg); 低血糖并发症与恶心呕吐等不良反应在 2 组药物的对比研究中均有发生,但 Liraglutide 的不良反应该较 Exenatide 为少。

总之, Liraglutide 具有优异的降血糖效果,无论其单独应用还是与其他口服降糖药联用, 均能迅速、高效和持久地降低血糖及糖化血红蛋白水平。而且, 由于其具有葡萄糖依赖的降糖机制, Liraglutide 仅在血糖水平高的时候通过刺激胰岛素释放达到治疗效果, 患者出现低血糖症状的几率非常低。另外, Liraglutide 还能改善 β 细胞功能, 降低血压, 显示出了延缓糖尿病进展及减少糖尿病心血管并发症的潜能。这种集多种疗效于一身的优点是大多数现有糖尿病治疗药物所不具备的。据悉, Liraglutide 有望在近年内通过核准并投入临床造福患者, 可预见的是, 鉴于该药在治疗 2 型糖尿病上的独特方式和良好疗效, 其使用人群和市场潜力十分巨大。

### 2.3 其他肽类 GLP-1 受体激动剂

除 Exenatide 和 Liraglutide 外, 还有其他多种通过氨基酸序列改变或化学修饰所获得的 GLP-1 受体的多肽类激动剂。CJC1131(ConjuChem 公司)是将 GLP-1(7-36)酰胺的 N 端第 2 位 L-丙氨酸用 D-丙氨酸替换, 且在其 C 端增加一个赖氨酸以增强 GLP-1 与血清蛋白的结合能力(与人血清白蛋白的 34 位半胱氨酸偶联), 研究表明 CJC1131 表现出了比 GLP-1 更高的体内活性与稳定性, 它在体内的半衰期很长, 能达到 9.1~13.8 d<sup>[25-26]</sup>。ZP10A

(Zealand 公司)是另外一种正在研发的 GLP-1 受体激动剂, 它与 GLP-1R 的结合能力较 GLP-1(7-36)酰胺高 4 倍, ZP10A 能够提高 2 型糖尿病小鼠血糖的耐受量, 降低糖化血红蛋白和控制血糖水平, 但 ZP10A 的用药存在剂量依赖<sup>[27]</sup>。此外, 还有另一 GLP-1 受体激动剂 Albugon (GSK), 这是一种重组人 GLP-1 与血清白蛋白的融合蛋白, 与 Exenatide 比较, Albugon 存在同 GLP-1 受体的结合能力较弱的问题(Exenatide 的 EC<sub>50</sub> 为 20 nmol·L<sup>-1</sup>, Albugon 仅为 0.2 nmol·L<sup>-1</sup>)<sup>[28]</sup>, 这几种 GLP-1 受体激动剂目前均处于临床 II 期试验阶段。

为进一步探索修饰作用对 GLP-1 的影响, 2009 年 9 月中国药科大学姚文兵等<sup>[29]</sup>对 GLP-1 也进行了聚乙二醇化修饰。实验利用大肠杆菌表达一种硫氧化还原蛋白-GLP-1 融合蛋白, 并在对融合蛋白进行聚乙二醇修饰(聚乙二醇用马来酰亚胺活化, mPEG<sub>10K</sub>-MAL)后, 纯化 PEG-融合蛋白并使用肠激酶酶切得到目标产物 mPEG<sub>10K</sub>-cGLP-1。研究表明, 同原始的 GLP-1 比较, 经聚乙二醇修饰的 GLP-1(mPEG<sub>10K</sub>-cGLP-1)的降血糖作用明显增强, 表明 PEG 修饰 GLP-1 也具备良好的药用前景。

### 3 结语

大量研究发现, GLP-1 除了具有促进胰岛素分泌作用, 亦可抑制餐后胰高血糖素的分泌, 延缓肠排空和抑制食欲。但是 GLP-1 半衰期短, 在血液中被二肽酶 IV 迅速降解。为克服这一缺陷, 先后研究开发了 2 类药物: 一是肠促胰岛素类似物(包括多肽和化学合成的类似物), 除具有肠促胰岛素的生理作用外对二肽酶 IV 的降解作用不敏感, 半衰期延长; 二是二肽酶 IV 抑制剂, 它能抑制二肽酶 IV 活性, 防止肠促胰岛素失活。肠促胰岛素类似物和二肽酶 IV 抑制剂开拓了 2 型糖尿病的治疗方法。其作用机制包括促进葡萄糖刺激的胰岛素分泌, 抑制餐后胰高血糖素分泌, 延缓肠排空和抑制食欲。

Exenatide 和 Liraglutide 除能改善血糖控制, 还可减轻体重, 这对治疗 2 型糖尿病是有利的。此外, 我国科学家合成的非多肽类 GLP-1 受体激动剂 Boc5 也可用于治疗与代谢综合征相关的一系列临床症状, 而利用 PEG 修饰这两类多肽也有着良好的应用前景。基于以上研究, GLP-1 类似物(多肽类似物或化合物类激动剂)以及二肽酶 IV 抑制剂预期将会成为糖尿病治疗的重要新选择。

## REFERENCES

- [1] WHO Media center: Diabetes [EB/OL]. WHO DATABASE [2009-11]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>.
- [2] KAHN S E. The importance of the beta-cell in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus [J]. *Am J Med*, 2000, 108(Suppl 6a): 2S-8S.
- [3] BELL G I, LAYBOURN P J, NAJARIAN R C, et al. Exon duplication and divergence in the human preproglucagon gene [J]. *Nature*, 1983, 304 (5924):368-371.
- [4] DRUCKER D J, NAUCK M A. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes [J]. *Lancet*, 2006, 368(9548): 1696-1705.
- [5] DRUCKER D J. Minireview: the glucagons-like peptides [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(2): 521-527.
- [6] BRUBAKER P L, DRUCKER D J. Glucagon-like peptide regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut and central nervous system [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(6): 2653-2659.
- [7] STOFFERS D A, KIEFFER T J, HUSSAIN M A, et al. Insulinotropic glucagon-like peptide-1 agonists stimulate expression of homeodomain protein IDX-1 and increase islet cell size in mouse pancreas [J]. *Diabetes*, 2000, 49(5): 741-748.
- [8] HUI H, NOURPARVAR A, ZHAO X, et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits apoptosis of insulin-secreting cells via a cyclic 5'-adenosine monophosphate-dependent protein kinase A- and a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(4): 1444-1455.
- [9] SCHEEN A J, VAN GAAL L F. Sitagliptine (Januvia): incretin enhancer potentiating insulin secretion for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Rev Med Liege*, 2008, 63(2): 105-109.
- [10] CHEN D, LIAO J, LI N, et al. A nonpeptidic agonist of glucagon-like peptide 1 receptors with efficacy in diabetes db/db mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(3): 943-948.
- [11] SU H, HE M, WANG M W, et al. Boc5, a non-peptidic glucagon-like peptide-1 receptor agonist, invokes sustained glycemic control and weight loss in diabetic mice [J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(8): e2892.
- [12] ENG J, KLEINMAN W A, SINGH L, et al. Isolation and characterization of exendin-4, an exendin-analogue, from *Heloderma suspectum* venom: further evidence for an exendin receptor on dispersed acini from guinea pig pancreas [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(11): 7402-7405.
- [13] SEGAL J B, DY S M, MILLMAN E A, et al. Diffusion into use of exenatide for glucose control in diabetes mellitus: a retrospective cohort study of a new therapy [J]. *Clin Ther*, 2007, 29(8): 1784-1794.
- [14] MADSBAD S, KRARUP T, DEACON C F, et al. Glucagon-like peptide receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of diabetes: a review of clinical trials [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008, 11(4): 491-499.
- [15] DE LEON D D, CRULCHLOW M F, HAM J Y, et al. Role of glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(5/6): 845-859.
- [16] DEFRONZO R A, RATNER R E, HAN J, et al. Effects of exenatide (Exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(5): 1092-1100.
- [17] ZHOU J, CAI Z H, LI L, et al. Preparation and PEGylation of exendin-4 peptide secreted from yeast *Pichia pastoris* [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 72(2):412-417.
- [18] AGERSO H, JENSEN L B, ELBROND B, et al. The pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of NN2211, a new long-acting GLP-1 derivative, in healthy men [J]. *Diabetologia*, 2002, 45(2): 195-202.
- [19] ELBROND B, JAKOBSEN G, LARSEN S. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of a single-dose of NN2211, a long-acting glucagon-like peptide 1 derivative, in healthy male subjects [J]. *Diabetes Care*, 2002, 25(8): 1393-1404.
- [20] LARSEN P J, FLEDELIUS C, KNUDSEN L B, et al. Systemic administration of the long-acting GLP-1 derivative NN2211 induces lasting and reversible weight loss in both normal and obese rats [J]. *Diabetes*, 2001, 50(11): 2530-2539.
- [21] HARDER H, NIELSEN L, TU D T, et al. The effect of liraglutide, a long-acting glucagon-like peptide 1 derivative, on glycemic control, body composition, and 24-h energy expenditure in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(8): 1915-1921.
- [22] ROLIN B, LARSEN M O, GOTFREDSEN C F, et al. The long-acting GLP-1 derivative NN2211 ameliorates glycemia and increases beta-cell mass in diabetic mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 283(4): E745-E752.
- [23] GARBER A, HENRY R, RATNER R, et al. Liraglutide versus glimepiride monotherapy for type 2 diabetes (LEAD-3 Mono): a randomised, 52-week, phase III, double-blind, parallel-treatment trial [J]. *Lancet*, 2009, 373(9662): 473-481.
- [24] BUSE JB, ROSENSTOCK J, SESTI G, et al. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6) [J]. *Lancet*, 2009, 374(9683): 39-47.
- [25] LEGER R, THIBAudeau K, ROBITAILLE M, et al. Identification of CJC-1131-albumin bioconjugate as a stable and bioactive GLP-1(7-36) analog [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(17): 4395-4398.
- [26] TIESSEN R G, CASTAIGNE J P, DREYFUS J F, et al. Pharmacokinetics and tolerability of a novel long-acting glucagon-like peptide-1 analog, CJC-1131, in healthy and diabetic subjects [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2008, 46(9): 443-452.
- [27] THORKILDSEN C, NEVE S, LARSEN B D, et al. Glucagon-like peptide 1 receptor agonist ZP10A increases insulin mRNA expression and prevents diabetic progression in db/db mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307(2): 490-496.
- [28] BAGGIO L L, HUANG Q, BROWN T J, et al. A recombinant human glucagon-like peptide (GLP)-1-albumin protein (albugon) mimics peptidergic activation of GLP-1 receptor-dependent pathways coupled with satiety, gastrointestinal motility, and glucose homeostasis [J]. *Diabetes*, 2004, 53(9): 2492-2500.
- [29] GAO M, TIAN H, MA C, et al. Expression, purification, and c-terminal site-specific PEGylation of cysteine-mutated glucagon-like peptide-1 [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2009, [Epub ahead of print].

收稿日期: 2009-06-24