

新药设计与 开发基础

赵桂森 史国生 主编

山东大学出版社

《新药设计开发基础》

新药设计与开发基础

赵桂森 史国生 主 编

山东大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

新药设计与开发基础/赵桂森,史国生主编. —济南:山东大学出版社,2015. 11
ISBN 978-7-5607-5402-4

I. ①新… II. ①赵… ②史… III. ①药品—开发—研究 IV. ①R954

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 281555 号

策划编辑:刘 彤
责任编辑:唐 棣
封面设计:张 荔

出版发行:山东大学出版社

社 址 山东省济南市山大南路 20 号
邮 编 250100
电 话 市场部(0531)88364466

经 销:山东省新华书店经销
印 刷:泰安金彩印务有限公司
规 格:787 毫米×1092 毫米 1/16
21.75 印张 498 千字
版 次:2015 年 11 月第 1 版
印 次:2015 年 11 月第 1 次印刷
定 价:36.00 元

版权所有,盗印必究

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社营销部负责调换

《新药设计与开发基础》

编 委 会

主 编 赵桂森 史国生

副主编 徐玉文

编 者 (按姓氏笔画排序)

王小兵(山东省食品药品检验研究院)

史国生(山东省食品药品检验研究院)

刘 洋(山东大学药学院)

刘德胜(滨州医学院)

李红彩(滨州职业学院)

李奕婧(滨州市食品药品检验中心)

杨德志(山东大学药学院)

赵桂森(山东大学药学院)

徐玉文(山东省食品药品检验研究院)

前 言

《新药设计与开发基础》是山东大学网络教育学院规划用教材,定位于从事新药研究与开发的科研、企业界人士,在确保读者掌握药物设计学基本理论和基本知识的同时,通过理论与实践相结合,创建具有鲜明专业特色的教材,以满足广大药物研究开发领域工作者的需要。

本书将传统的药物设计理论与实际应用紧密结合,在讲述基本原理和基本知识的基础上,系统介绍新药从开发到上市的过程,并结合药物开发的技术和方法,给出典型案例及分析;本书中加入了互联网在药物开发中的应用等内容,介绍药物开发涉及的信息检索及应用技术,增强本书在实践中的应用性;另外,本书正文中附有知识链接版块,介绍药物开发新理论或新技术,拓宽读者视野,真正适合读者学习与工作的需求,是从事新药研究与开发的科研人员的有益参考书。

尽管本书凝聚了全体编委的心血,并多次修稿,但限于编写任务时间紧,编者水平有限,本书内容中难免存在缺点和疏漏之处,恳请广大读者在使用过程中提出宝贵意见。

编 者

2015 年 6 月

目 录

第一章 新药设计与开发概述	(1)
第一节 新药的发现	(1)
第二节 新药的开发	(6)
第三节 新药注册分类	(72)
第四节 药物的命名	(76)
第二章 药物的化学结构与生物活性的关系	(80)
第一节 影响药物活性的主要因素	(80)
第二节 物理化学性质对活性的影响	(84)
第三节 药物的晶型与生物活性	(92)
第四节 药物与受体的相互作用对药效的影响	(104)
第三章 先导化合物的发现	(111)
第一节 从天然产物得到先导化合物	(111)
第二节 以现有药物作为先导化合物	(115)
第三节 以活性内源性物质作先导化合物	(118)
第四节 利用组合化学和高通量筛选得到先导化合物	(120)
第五节 利用计算机辅助设计发现先导化合物	(120)
第四章 先导化合物的优化	(127)
第一节 拼合原理	(127)
第二节 局部修饰	(130)
第三节 生物电子等排替换	(139)
第四节 “me-too”药物	(141)
第五节 定量构效关系	(143)

第五章 药物代谢与药物研发	(156)
第一节 药物的官能团化反应	(157)
第二节 药物的结合反应	(172)
第三节 前药设计	(180)
第四节 软药设计	(184)
第五节 李 药	(185)
第六章 受体作为药物研发的靶点	(188)
第一节 基本概念	(189)
第二节 药物-受体相互作用	(195)
第三节 药物-受体相互作用学说	(202)
第七章 酶抑制剂与新药开发	(215)
第一节 基本概念	(215)
第二节 可逆性酶抑制剂	(225)
第三节 不可逆酶抑制剂	(239)
第八章 互联网与药物研发	(256)
第一节 信 息	(256)
第二节 专 利	(264)
第三节 2010~2013 年上市的新药	(275)
附录 新药申报资料	(327)
主要参考文献	(339)

第一章 新药设计与开发概述

学习要求

1. 了解新药研究发现与开发的一般过程。
2. 了解新药设计与优化相关的理论基础和一般方法。
3. 了解新药临床前和临床研究的设计方案和基本内容。
4. 了解我国新药的注册分类与申报的基本流程。

药物(药品, drug, medicine)是指用于预防、治疗、诊断人的疾病,有目的地调节人的生理机能并规定有适应证或者功能主治、用法和用量的物质,包括中药材、中药饮片、中成药、化学原料药及其制剂、抗生素、生化药品、放射性药品、血清、疫苗、血液制品和诊断药品等。其基本属性为安全、有效、质量可控,属于一种特殊的商品。近年来,随着世界财富的增长和人口的老龄化,人们对健康的重视程度和支付能力不断提高,而已有药物还远远不能满足社会的需求。现在已知的大约 7000 种罕见病也只有 350 多个被批准的治疗药物,即使癌症、糖尿病、阿尔茨海默症等现代大众疾病也仍然缺乏有效的治疗手段。因此,新药设计与开发研究是我们医药工作者肩负的神圣责任,同时也是世界各国面临的重大机遇和挑战。

新药设计与开发,是指新药从实验室发现到上市应用的整个过程,是一项综合利用各种学科和高新技术的系统工程。进入生命科学后基因组时代的 21 世纪,人类可以从大量的基因测序结果中寻找和发现新基因,深入研究它们的功能及其调控网络,并通过生物信息库、化合物信息库以及生物芯片等高新技术提高创新药物研究的质量和效率。分子生物学、细胞生物学、生物工程、组合化学、高通量筛选、超微量分离分析技术和计算机科学等迅速崛起,为发现和开发新药提供了新的作用靶点、新的技术方法,开辟了崭新的道路。

第一节 新药的发现

新药研究与开发的第一关键是新药发现,在确定了所针对的疾病类型或药物作用的

受体(receptor)、酶(enzyme)或靶点(target)后,通过广筛或药物设计(drug design)的方法,获得具有进一步研究价值的先导化合物(lead compound),并对先导化合物进行结构优化,使之成为可能开发成药物的新化学实体(new chemical entities, NCE)。狭义上来说,药物的设计就是新药的发现过程,其研究内容是药物发现的中心环节——先导化合物的发现和优化,以及所涉及的理论、技术和方法。

一、作用靶点的发现

药物的设计,首先应确定防治的疾病目标,并选定药物作用的靶点。一般而言,病理过程有多个环节构成,当某个环节或靶点被抑制或切断,则可达到治疗的目的,故生物靶点的选择是研究设计新药的起始。药物作用的生物靶点一般是指能够与生物大分子结合并产生药物效应的生物大分子,主要包括受体、酶、离子通道和核酸等。合理药物设计(rational drug design)就是依据生命科学研究中所揭示的包括酶、受体、离子通道、核酸等潜在的药物作用靶点,再参考其内源性配体或天然底物的化学结构特征来设计药物分子,以发现选择性作用于靶点的新药。这些药物往往具有活性强、选择性好、副作用小的特点。这是目前新药研究的主要方向之一。据报道,迄今已发现作为治疗药物靶点的总数已达到 500 多个,还不包括抗菌、抗病毒、抗寄生虫药的作用靶点,其中受体尤其是 G-蛋白偶联受体(GPCR)靶点占绝大多数。就目前上市的药物来说,以受体为作用靶点的药物约占 52%,以酶为作用靶点的药物约占 22%,以离子通道为作用靶点的药物约占 6%,以核酸为作用靶点的药物约占 3%,其余药物的作用靶点尚不清楚。

二、作用靶点的确定

(一)以受体为作用靶点

受体(receptor)是指生物体的细胞膜上或细胞内的一种能选择性地同相应的递质、激素、自身活性物质等相结合,并能产生特定效应的一种特异性的大分子物质(主要为糖蛋白、脂蛋白或核酸、酶的一部分)。

受体的类型主要包括:①G 蛋白偶联受体:是鸟苷酸结合调节蛋白的简称,大多数受体属于此种类型。诸多神经递质和激素受体需要 G 蛋白介导细胞作用,例如 M 型乙酰胆碱、肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺、嘌呤类、阿片类、前列腺素、多肽激素的受体等。②门控离子通道型受体:存在于快速反应细胞膜上,受体激动时导致离子通道开放,细胞膜去极化或超极化,引起兴奋或抑制。N 型乙酰胆碱、 γ -氨基丁酸(GABA)、天门冬氨酸的受体等属于此类受体。③酪氨酸激活性受体:例如上皮生长因子、血小板生长因子和一些淋巴因子的受体等。④细胞内受体:例如甾体激素、甲状腺素的受体等。

近年来受体的亚型和新受体不断被发现和克隆表达,有关它们的生化、生理、药理性质也相继被阐明,为新药的设计和研究提供了更准确的靶点和理论基础。现已知道,肾上腺受体有 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 、 β_3 亚型,多巴胺受体有 D_1 、 D_2 、 D_3 、 D_4 、 D_5 亚型,阿片受体有 μ 、 κ 、 σ 、

δ 、 ϵ 亚型,组胺受体有 H_1 、 H_2 、 H_3 亚型,5-羟色胺受体有 5-HT_{1A-1F}、5-HT_{2A-2C}、5-HT₃、5-HT₄、5-HT₅、5-HT₆、5-HT₇ 亚型等。已有几百种作用于受体的新药问世,其中绝大多数是 GPCR 的激动剂或拮抗剂,例如治疗高血压的血管紧张素 AT₁ 受体拮抗剂氯沙坦、依普沙坦;中枢镇痛的阿片 κ 受体激动剂丁丙诺啡、布托啡诺, μ 受体激动剂阿芬他尼;抗过敏性哮喘的白三烯(leukotriene, LT)受体拮抗剂普仑司特和扎鲁司特;治疗胃溃疡的组胺 H₂ 受体拮抗剂西咪替丁、雷尼替丁等。

孤儿受体(orphan receptor)是近年来提出的一种新概念,它是指其编码基因与某一类受体超族成员的编码有同源性,但目前在体内还没有发现其相应的配体。孤儿受体的发现以及应用逆向分子药理学(reverse molecular pharmacology)建立孤儿受体筛选新药的模型,为新药研究提供了更多有效的手段。

(二)以酶为作用靶点

酶(enzyme)是一种维持“生命正常运转”的重要催化剂,是一类具有特殊三维结构且担负着专一催化用的蛋白质,它能使许多生物化学反应在温和的条件下以很高的速率和效率进行。酶的功能与许多疾病的发生密切相关。由于酶催化生成或灭活一些生理反应的介质和调控剂,从而构成了一类重要的药物作用靶点。

酶抑制剂在现有的治疗药物中占有重要地位,世界上销售量最大的 20 个药物中近一半为酶抑制剂。近年来合理设计的酶抑制剂发展较快,应用较广。酶抑制剂研究比较活跃的领域有:降压药血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、肾素抑制剂,调血脂药(HMG-CoA)还原酶抑制剂,非甾体抗炎药物中的环氧酶-2(COX-2)抑制剂,抗肿瘤药物中的芳构酶抑制剂,前列腺增生治疗药中的 5- α 还原酶抑制剂等。一氧化氮(NO)作为生物体内的重要信使分子和效应分子,在心血管、神经和免疫系统方面具有重要的生理功能。但过量产生或释放时能介导多种疾病的发生和发展。一氧化氮合酶(NOS)抑制剂可阻止 NO 过量生成,因此具有重要的治疗意义。NO 以及有关的 NOS 抑制剂的研究已成为近年来生物医学和药学研究的前沿之一。

(三)以离子通道为作用靶点

离子通道(ion channel)是细胞膜上的蛋白质小孔,属于跨膜的生物大分子,具有离子泵的作用,可选择性地允许某种离子出入。离子经过通道内流或外流跨膜转运,产生和传输信息,成为生命活动的重要过程,以此调节多种生理功能。人体组织中存在多种离子通道,如钠离子通道、钾离子通道、氯离子通道、钙离子通道等,每种离子通道又存在多种亚型,钾离子通道甚至多达数十种通道亚型。这些离子通道既是生理调节的重要因素,又是药物作用的靶点。

现有药物主要以 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等离子通道为靶点。

以 K^+ 通道为作用靶点的药物主要为 K^+ -ATP 通道激活剂和拮抗剂。激活剂亦称 K^+ 通道开放药,例如抗高血压药中的血管扩张剂尼可地尔、吡那地尔、色满卡林等,作用机制是 K^+ 通道的开放,致使 K^+ 外流增加,导致细胞膜超极化,阻止 Ca^{2+} 内流,促进 Na^+ - Ca^{2+} 交换导致 Ca^{2+} 外流,增加钙储池中的膜结合 Ca^{2+} ,最终使细胞内的 Ca^{2+} 量降低,血

管平滑肌松弛,外周阻力减少,血压下降。拮抗剂亦称 K^+ 通道阻滞药,例如抗心律失常药胺碘酮、索他洛尔、N-乙酰卡尼、氯非铵、多非利特、溴苄胺、司美利特等,作用机制是抑制 K^+ 外流,延长心肌动作电位时程(APD)和有效不应期(ERP)。此外治疗 2 型糖尿病的磺酰脲类药物,如甲苯磺丁脲和格列本脲也属于 K^+ 通道拮抗剂。以 Na^+ 通道为作用靶点的药物:主要为 I 类抗心律失常药,作用机制是阻滞 Na^+ 内流,抑制心脏细胞动作电位振幅及超射幅度,使其传导减慢,有效不应期延长。按阻滞 Na^+ 通道程度的不同, Na^+ 通道阻滞剂分为 I_A、I_B、I_C 三个亚类。I_A 类中度阻滞 Na^+ ,对 Na^+ 通道的活性(V_{max})中度抑制(30%),减慢传导,延长复极,代表药有奎尼丁、普鲁卡因胺;I_B 类轻度阻滞 Na^+ ,对 Na^+ 通道活性(V_{max})轻度抑制(10%),传导微减或不变,加速复极,代表药有利多卡因、苯妥英钠;I_C 类重度阻滞 Na^+ ,对 Na^+ 通道的活性(V_{max})重度抑制(50%),明显减慢传导,对复极影响较小,代表药有氟卡尼、普罗帕酮。

以 Ca^{2+} 通道为作用靶点的药物,临床上称为 Ca^{2+} 通道阻滞剂或钙拮抗药,是发现最早、研究最深的以离子通道为靶点的药物,作用机制是抑制细胞外 Ca^{2+} 跨膜内流而产生药理效应。根据世界卫生组织(WHO)的建议,将此药分为选择性 Ca^{2+} 通道阻滞剂和非选择性 Ca^{2+} 通道阻滞剂。选择性 Ca^{2+} 通道阻滞剂包括:I 类苯烷胺类,例如维拉帕米、噻帕米、戈洛帕米等;II 类二氢吡啶类,例如硝苯地平、尼莫地平、尼伐地平、非洛地平、伊拉地平、拉西地平、依福地平、乐卡地平、马尼地平、尼卡地平、尼索地平、尼群地平、氨氯地平等;III 类苯硫草类,例如地尔硫草、克仑硫草、二氯呋利等。非选择性 Ca^{2+} 通道阻滞剂包括:IV 类二苯哌嗪类,例如桂利嗪、氟桂利嗪等;V 类普尼拉明类,例如普尼拉明;VI 类其他类,例如哌克昔林。以 Cl^- 通道为作用靶点的药物:这类药是近年来研究发现的苯二氮草类药物,例如地西泮、硝西泮、氟西泮、氯氮草、奥沙西泮、三唑仑、咪达唑仑、艾司唑仑、溴替唑仑、夸西泮、度氟西泮、氟硝西泮等,是 γ -氨基丁酸(GABA)调控的 Cl^- 通道启开剂。当 GABA 受体被 GABA 激活时, Cl^- 通道开放, Cl^- 内流,细胞内 Cl^- 增加,产生超极化而引起抑制效应,导致镇静、催眠等药理作用。

(四)以核酸为作用靶点

核酸(nucleic acid)是基因的基本化学物质,按照作用不同,核酸可分为脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)两大类,是指导蛋白质合成和控制细胞分裂的生命物质。DNA 链是由两条脱氧核苷酸链通过碱基互补(A-T、G-C 相互补充结合)反向平行、旋转而形成的双螺旋结构。每个脱氧核苷酸都是由一个相应的碱基、一个脱氧核糖及一个磷酸分子组成。除了碱基种类有腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)四种外,糖基和磷酸基是相同的,碱基的不同决定了脱氧核苷酸种类和性质的差别。RNA 链由碱基不同的核苷酸结合形成,一般以单链形式存在,主要是负责 DNA 遗传信息的翻译和表达。每个核苷酸也是由一个碱基、一个核糖及一个磷酸分子组成,但碱基中的 T 用尿嘧啶(U)取代,可通过 A-U、G-C 互补自身形成局部双链和双螺旋。根据 RNA 的功能,可以分为信使 RNA(mRNA)、转运 RNA(tRNA)和核糖体 RNA(rRNA)。mRNA 的主要功能是将 DNA 的遗传信息传递到蛋白质合成基地——核糖体,约占全部 RNA 的 5%。tRNA 的主要功能是在蛋白质生物合成中翻译氨基酸信息并将相应的氨基酸转运到核糖

核蛋白体,约占全部 RNA 的 80%。

药物设计可以蛋白质为靶点,同样可以核酸为靶点。对肿瘤、病毒等基因表达环节(复制、转运、翻译等)进行阻断,或通过抑制肿瘤、病毒等有害蛋白的合成,即调整或关闭导致疾病产生的酶和受体的合成来达到药物设计、治疗疾病的目的。目前,以核酸为靶点的药物设计主要集中在反义核酸技术(antisense nucleic acid technology)和核酶(ribozyme)的设计及小分子与核酸的相互作用两个方面。反义核酸技术是指用人工合成的或天然存在的寡核苷酸,以碱基互补的方式抑制或封闭靶基因的表达,从而抑制细胞的繁殖。核酶是具有核酸结构但可以发挥酶的功效,既能存储和转运遗传信息,又能发挥生物催化功能的 RNA 分子,是一种金属依赖酶。

近年来,以核酸为作用靶点的药物主要包括一些抗生素、抗病毒药、喹诺酮类抗菌药、抗肿瘤药等。

(1)作用于 RNA 靶点的药物:①利福霉素类抗生素,作用机制是影响 RNA 的合成。②抗肿瘤药阿糖胞苷、氟尿嘧啶、放线菌素 D、柔红霉素、多柔比星、普卡霉素等,作用机制是抑制 RNA 的合成。

(2)作用于 DNA 靶点的药物:①喹诺酮类抗菌药,作用机制是阻断 DNA 的合成。②抗病毒药阿昔洛韦、碘苷、阿糖腺苷、齐多夫定等,作用机制是干扰 DNA 的合成。③抗肿瘤药氮芥、环磷酰胺、噻替哌、甲氨蝶呤、羟基脲、丝裂霉素、博来霉素、白消安、顺铂、喜树碱等,作用机制是破坏 DNA 的结构和功能。

三、先导化合物的发现

先导化合物(lead compound)又称原型物(prototype),是通过各种方法或手段确定的具有某种生物活性的化学结构,是现代新药研究的出发点。先导化合物未必是可实用的优良药物,可能由于活性不强,作用的特异性低,药代动力学性质的不合理或毒性较大等缺点,不能直接药用,但作为新的结构类型和新的线索物质,对下一步结构改造或修饰,即先导化合物的优化,却起着引导作用。

先导化合物可以是天然生物活性物质,或根据生物化学和药理学原理衍化出的结构,也可以根据化学的或物理化学的理论产生,或者从已知活性的药物或化合物中提取出决定生物活性有共同性的部分结构作为先导物等。先导化合物的发现途径,详见第三章。

四、先导化合物的优化

先导化合物优化是研究和开发新药的重要环节。由于先导化合物只提供一种新作用的结构类型,往往因作用强度弱、药代性质不合理和(或)不良作用的存在不能直接临床使用,需要对该先导物进行化学结构的改造或修饰,以得到与先导化合物类似结构的较好的药物,使其活性更强、选择性更好、毒性作用更小以及具有符合使用的药代动力学性质。通常用于先导化合物优化的方法有:生物电子等排、前药修饰、软药设计、立体异构及外消旋转换,以及其他方法如活性亚结构拼接、局部修饰、Me-too 药物等,详见第四章。

第二节 新药的开发

一、新药开发的一般过程

新药的开发研究是一个长期、艰难而又昂贵的过程。候选药物从实验室研究到上市平均需要花费 12 年的时间,临床前研究的 5000 种化合物中只有 5 种可能进入临床试验阶段,最终只有 1 种可能获准上市。新药的开发研究又是现代新药研制必不可少的过程,它居于发现研究和市场化之间,通过临床前与临床两个阶段的充分研究,以验证候选药物安全、有效以及质量稳定可控等,同时获得足够的新药研究申报数据和资料,并经国家食品药品监督管理局(CFDA)批准而使新药上市应用。

新药的开发分为临床前(preclinical)研究、临床(clinical)研究和新药注册(registration)三个阶段;国外分为研究中新药(investigational new drug, IND)、新药申请(new drug application, NDA)和新药上市(marketing)阶段。

新药的开发研究必须按药物非临床研究质量管理规范(GLP)、药物临床试验质量管理规范(GCP)、药品生产质量管理规范(GMP)等规范合法地进行,即由具备资质认证的机构承担相关工作。新药的开发研究还应参照 CFDA 发布的、具有较高指导意义和权威性的一系列技术指导原则进行,若采用其他评价方法和技术则需要证明其科学性。CFDA 目前正式发布的技术指导原则有 79 个,其所涉及的领域及深度尚显不足。基于新药研究和评价工作的需要,CFDA 审评中心在 2009 年初启动了系统翻译和转化国外技术指导原则的工作,并已于 2009 年 9 月、2010 年 1 月和 11 月发布了三批“国外参考指导原则”,用于新药研究和审评的参考。通过这种借鉴的方法,以逐步将其吸收、转化为“自己的”技术指导原则,加速我国技术指导原则体系的建设。此外,候选药物在进行各项评价时,数据统计应由专门机构同步进行,质量保证(quality assurance, QA)部门要经常抽查检验研究的结果,使整个研究纳入系统化管理。新药从发现到上市的流程如图 1-1 所示。

二、新药的临床前研究

临床前研究为临床研究奠定必备的基础,但不能替代临床研究。候选药物进入临床试验,也不等于各项临床前的研究就此停止,仍可在临床试验阶段继续调整、补充,使之更趋完善。临床前研究与临床研究虽相互独立,但研究内容紧密相关,如图 1-2 所示。

新药的临床前研究,包括合成工艺、提取方法、理化性质及纯度、剂型选择、处方筛选、制备工艺、检验方法、质量指标、稳定性、药理、毒理、动物药代动力学研究等。中药制剂还包括原药材的来源、质量标准、保存条件、生物学特征、遗传稳定性及免疫学的研究等。

这些内容总体可概括为新药临床前的药效学(pharmacodynamics)、药动学(pharmacokinetics)、药理毒理学研究(亦即安全性评价)、药学研究、制剂研究等五个方面。

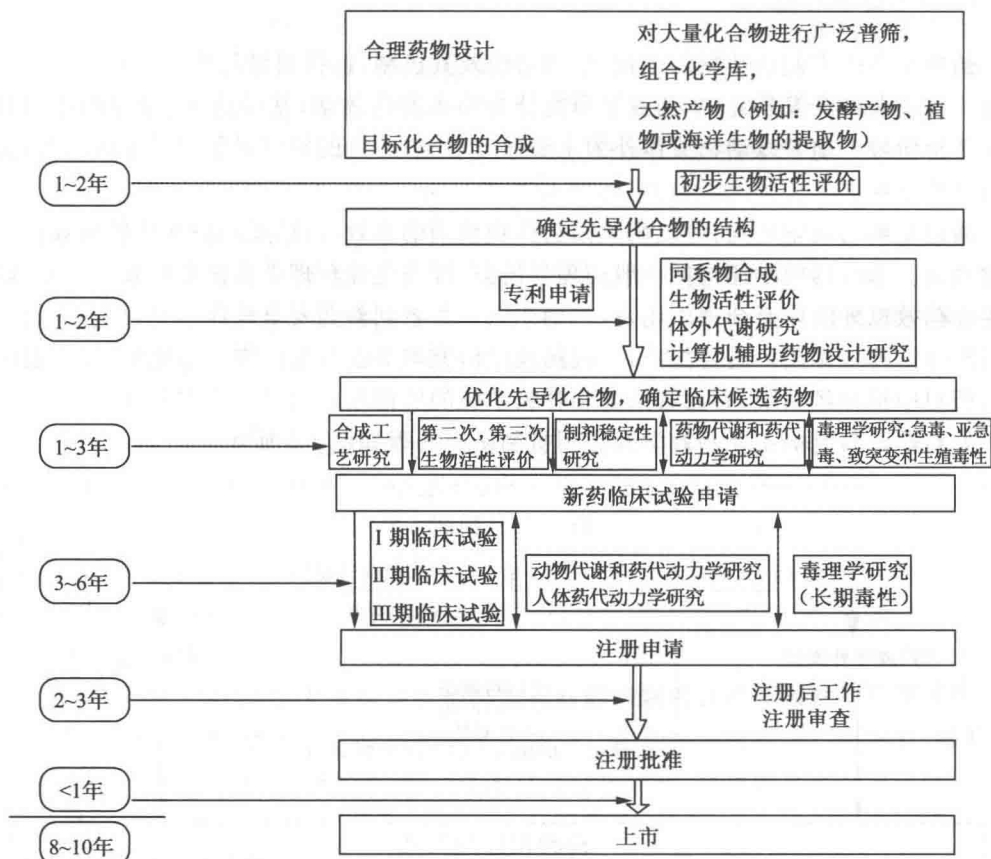


图 1-1 新药从发现到上市的流程图

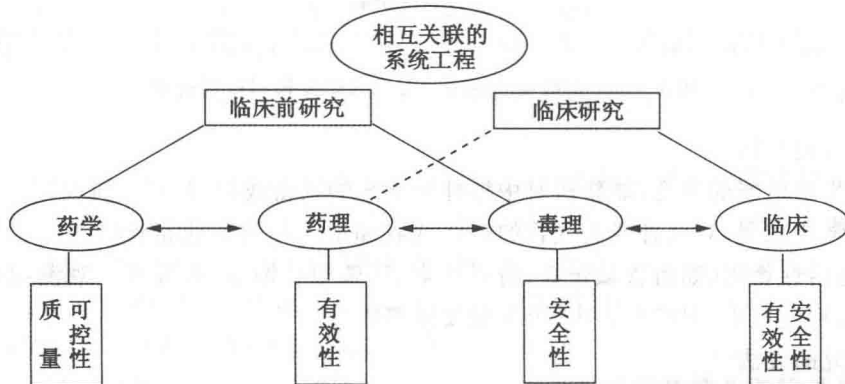


图 1-2 临床前研究与临床研究相互关联

(一) 药效学研究

药效学系研究候选药物的生化、生理效应及其机制,包括剂量与效应之间的关系及规律等。在新药的开发研究中,药效学研究分为临床前药效学(基础药效学)与临床药效学两个评价阶段。前者以动物或体外为主要研究对象;后者的研究对象为适应证病人,属临床研究的范畴。

通过基础药效学研究,可以明确候选药物预期的有效性,以及药物作用的构效、量效、时效关系。基础药效学还包括一般药理学研究,即安全性药理学和次要药效学研究,以了解主要药效以外的广泛药理作用,这有助于认识关系到新药安全性即不良反应的信息,甚至发现新的药理作用。需要指出,一般药理学研究贯穿在开发研究全过程中,临床前应完成新药对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统的所谓核心组合实验的研究。

原料药及其制剂主要药效学及作用机制研究流程如图 1-3 所示。

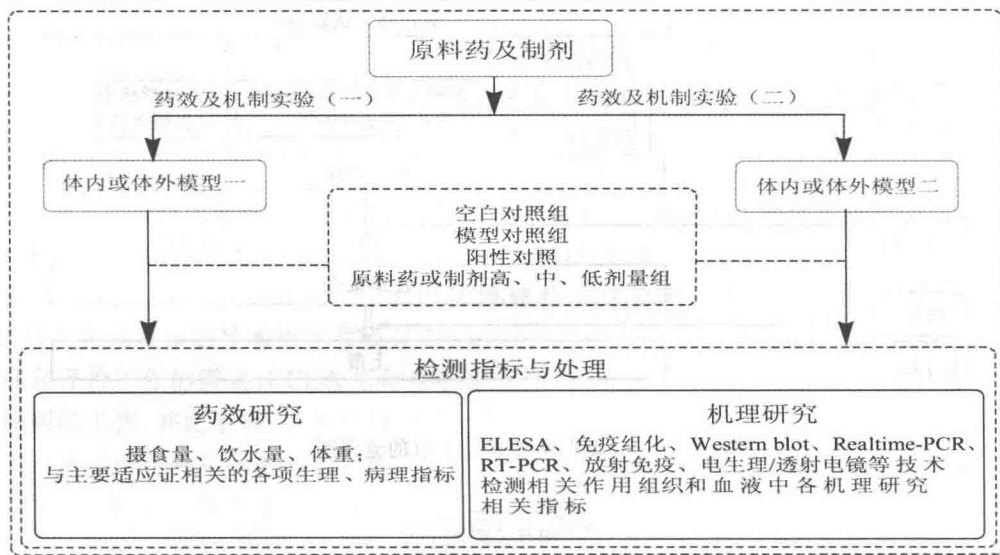


图 1-3 原料药及其制剂主要药效学及作用机制研究

1. 评价的指标

观察生理机能的改变,如新药对中枢神经系统的兴奋或抑制,对心肌收缩力或胃肠道运动的加强或减弱,对血管或支气管的扩张或收缩等。检测生化指标的改变,如血糖、电解质、生理活性物质(如血管紧张素、前列腺素、环磷腺苷浓度)改变等。观测组织形态学变化,如血细胞大小、甲状腺大小、肾上腺皮质萎缩等。

2. 研究的方法

临床前药效学从预期用于临床预防、诊断和治疗的主要药效学开始,研究候选药物作用的强度和特点,并尽可能阐明其作用机制和作用部位,同时开展一般药理学即预期以外的广泛药理作用研究。具体研究步骤如下:理解疾病的发病机制与治疗措施;选择合适的体外和体内动物模型;合理设计实验方案;实施药效学试验;实验数据处理;结果判定与

总结。

药效学评价一般按照指导原则要求,完成必需的项目,通过各项指标的观察予以判定。但每种新药作用于不同系统,有其自身特点及适应证范围,这就要求研究者具备多学科的知识,掌握多种实验方法,以正确评价和认识新药的有效性及其作用机制。

(1)整体动物实验根据不同情况选用正常动物、麻醉动物、病理模型动物。

①正常动物最常用于观察药物对动物行为的影响,是研究中枢神经系统药物作用的基本方法之一。如将动物的行为进行分级,细心观察用药组和对照组动物,按分级法打分并求出平均数,进行显著性测验,从而可判定新药是中枢抑制作用还是中枢兴奋作用;用转棒法观察动物的协调运动,是测定新药对中枢神经系统抑制作用和对骨骼肌弛张作用的最简单而经典的方法;观察药物对记忆力的影响,以及测定药物的依赖性实验都是用正常动物。

②病理模型动物则用于观测药物对疾病的疗效。如研究抗精神病药常用阿扑吗啡造成大白鼠舔、嗅、咬等定向行为,从而观测新药的安定作用;采用线结扎狗或家兔肾动脉造成肾性高血压,或使大白鼠长期处在噪声刺激中诱发神经源性高血压等方法,以观察抗高血压药物的疗效;给兔、大白鼠、狗、猫、猴、羊静脉注射四氧嘧啶,选择性地损伤胰腺 β 细胞,引起实验动物糖尿病,是经典的研究抗糖尿病的方法;而给动物移植肿瘤,目前最常用用来评价抗肿瘤药物。

③麻醉动物实验,应注意麻醉深度的控制和麻醉动物的选择。如在研究镇咳药物时,麻醉过深则明显抑制咳嗽反射,从而影响实验结果。在研究药物对子宫影响时,最好不用乙醚和氯仿,而选用戊巴比妥钠;因前者对子宫有明显抑制,而后者只要剂量适当,不影响子宫活动。

(2)不同的动物离体器官用于测定不同类型的药物作用。例如,离体蛙心和兔心是观测药物对心率、输出量、收缩力等心脏活动影响的最常用的标本;猫、兔、豚鼠和狗乳头肌标本制备比较简单,在适宜条件下,可较长时间保持良好的实验状态,是观测药物对心肌收缩性、兴奋性、自律性等基本生理特性影响的较好实验标本;蛙坐骨神经腓肠肌、白鼠膈神经标本常用来评价作用于骨骼肌的药物等。需要注意,不同动物的不同器官都要求最适宜的营养环境(渗透压、各种离子、pH等),因此各种动物的人工生理溶液的成分和配制均有区别。

(3)细胞培养试验是在细胞或亚细胞水平研究药物作用及其机制的试验方法。例如,根据癌细胞含有氢酶,该酶可使代谢底物脱氢使亚甲蓝还原变为无色这一原理,将肿瘤细胞悬液与受试药物混合,加入亚甲蓝孵育;如亚甲蓝不褪色,即初步判定该药具有抗癌作用。小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验及玫瑰花结试验,可用于初步评价免疫增强剂或免疫抑制剂。在抗生素作用机制研究中,利用透射式电子显微镜对超薄片进行观察,可以看到青霉素类抗生素使金葡菌细胞形态改变,还可看到氨基糖苷类抗生素使肺炎杆菌核糖体数目减少,这些都是在细胞或亚细胞水平对药物作用机制的探索。

(4)以生化或酶学手段为主的生化试验方法,实质上进入了分子药理学研究范畴。例如:

①利用存在 β 受体的离体脂肪组织研究作用于 β 受体的药物,如果药物对 β 受体有

兴奋作用,则引起游离脂肪酸释放增加;如果加入 β 受体阻断剂,则可使游离脂肪酸释放量明显减少,甚至完全阻断。因此,通过测定游离脂肪酸含量,可评价作用于 β 受体的药物。

②抗过敏药物研究,先腹腔注射抗原致敏,24h后注射受试药物,再次注射抗原攻击,然后处死动物,收集腹腔液并离心,用荧光分光光度法测定组胺含量,从而评价受试药物抗变态反应的作用。

③利用蛋白激酶与一定量 ^{3}H 标记的cAMP结合,而内源性cAMP可竞争置换出 ^{3}H 标记的cAMP;通过微孔滤膜把结合的和游离的 ^{3}H 标记的cAMP分开,再用液体闪烁计数器测定放射性,从而换算成体内cAMP含量,可分析鉴定作用于 β 受体药物的作用机制。

④将配基(如药物)用放射性同位素标记,应用放射自显影技术,可研究受体的分布和数量。

3. 研究的要点

(1)动物模型的选择:根据药物作用的特点、技术指导原则和实践经验,选择与人同源性、某一功能高度发达或敏感性较高的动物,一般应用小鼠、大鼠、兔、猫、猴、狗,还有转基因动物模型等。比如C57BL小鼠对肾上腺皮质激素的敏感性比DBA和BALB/C小鼠高12倍;鸽、狗、猫的呕吐反应敏感,常用来评价引起催吐和镇吐的药物的作用等。还应注意动物的等级、年龄、性别和健康情况对试验动物及结果有明显的影响。

此外,动物纯种亦很重要,有报道6个实验室测定同一药物的 LD_{50} 结果很不一致,后发现动物种系是一个重要因素,改为一农场繁殖的纯种动物后,结果变为一致。动物试验设计需随机分组,否则试验结果统计学处理不可靠。

(2)观测指标与指导原则:药物的疗效评价靠客观指标反映,如生理生化的化验指标、病理切片、X线检查等。为使客观指标更精确,应保证仪器先进、灵敏度高,适宜控制温度和湿度。许多药物的评价已非单指标所能满足,应根据具体情况,在技术指导原则上增加必要指标的综合评价。

(3)对照组的规范设立:以生理盐水代替受试新药称阴性对照或空白对照,用已知药或工具药代替受试新药称为阳性对照或标准对照。对照组与试验组动物数应相等,并在同时同样条件下进行,否则便失去统计学意义。

(4)基础药效学的局限性:人类与动物间机体和精神因素等种属差异,造成临床疾病与动物模型存在差异,必然使动物试验有一定的局限性。如巴豆对人泻下,在小鼠不引起泻下,反倒引起肥胖;丹皮酚可降低大鼠血压,对人的降血压作用不明显;葛根黄酮是小鼠避孕剂,对人则无作用等。因此,任何一种动物模型都不能替代临床药理研究。

(二)药理毒理学研究

药理毒理学试验研究,是指在实验室(体外或动物)条件下进行的各种毒性试验,包括一般药理试验、急性毒性试验、长期毒性试验、生殖毒性试验、遗传毒性试验、致癌试验、局部毒性试验、免疫原性试验、依赖性试验、毒代动力学试验及与评价药物安全性有关的其他试验。

通过各项毒理学试验,根据给药的剂量/暴露的程度、给药途径、给药周期、病理学检