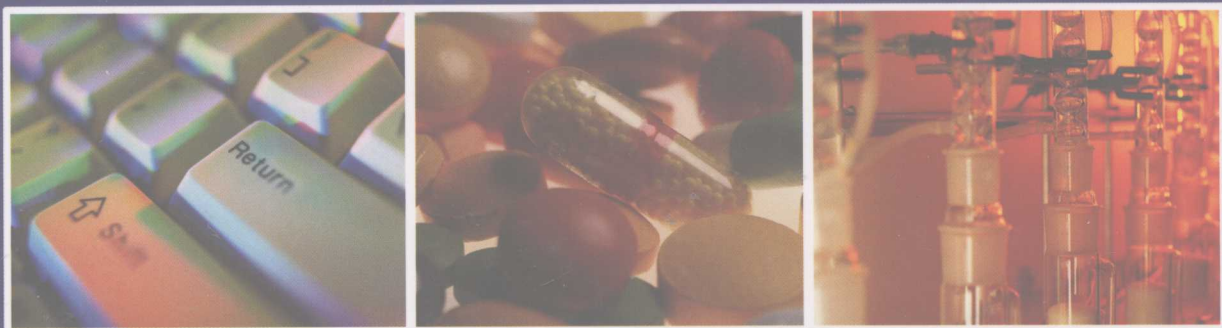


药物化学研究与新药开发概论

宋晓凯 编著



科学出版社

www.sciencep.com

药物化学研究与新药开发概论

高峻 编著



药物化学研究与新药开发概论

宋晓凯 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书从分子水平上揭示药物及具有生理活性物质的作用机制,阐明药物与受体的相互作用,探讨药物的化学结构与药效的关系,研究药物及生理活性物质在体内的吸收、转运、分布及代谢过程。从新药发现的基本途径、先导化合物及其来源和先导化合物的优化方法几个方面介绍新药设计与开发,展望未来的研究趋势和发展动态。

本书适合制药企业、化学合成和新药研发研究机构的从业人员,以及高校药学和相关专业的学生与研究开发人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

药物化学研究与新药开发概论/宋晓凯编著. —北京:科学出版社,2009
ISBN 978-7-03-023445-2

I. 药… II. 宋… III. ①药物化学—研究②新药—开发—概论
IV. R914 R97

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 183446 号

策划编辑:王 霞 责任编辑:王 霞 责任校对:陈玉凤
责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 5 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009 年 5 月第一次印刷 印张:23 3/4

印数:1—2 000 字数:566 000

定价:86.00 元

如有印装质量问题,我社负责调换

前 言

20 世纪以来,科学技术进入了一个高速发展的历史时期。信息技术、现代生物技术的发展迅速地改变着世界的面貌,推动着社会的进步。进入 21 世纪,生命科学领域更是发生了翻天覆地的变化,许多生命科学的最新成果已经应用到药物化学领域中。

药物化学(medicinal chemistry)是发现与发明新药、合成化学药物、阐明药物化学性质、研究药物分子与机体细胞(生物大分子)之间相互作用规律的综合学科,也是药学领域中重要的带头学科。为反映当代药物化学领域的最新进展,笔者查阅、整理了大量国内外有关药物化学方面的科技文献和图书资料,编写了本书。

本书内容较为丰富、全面,根据药物化学发展趋势和面临的新挑战及其在化学和药学科学中日益重要的地位和作用,追踪药物化学与生命科学和计算机科学等学科领域相互渗透、相互促进的发展前沿;系统地介绍了 21 世纪药物化学不断更新的知识体系和内涵,包括药物化学的基础知识,国内外新药研究的现状、实际应用和最新研究进展;展望了未来的研究趋势和发展动态。

本书从分子水平上揭示药物及具有生理活性物质的作用机制,阐明药物与受体的相互作用,探讨药物的化学结构与药效的关系,研究药物及生理活性物质在体内的吸收、转运、分布及代谢过程。从新药发现的基本途径,先导化合物及其来源和先导化合物的优化方法等方面介绍新药设计与开发。

本书编写过程中参考并引用了大量国内外发表的论文,在此向这些论文的作者们表示感谢。在本书编写过程中,笔者得到了天津理工大学校长马建标教授、天津医科大学段宏泉教授、天津武警医学院陈虹教授真诚的关心与帮助,他们提出了许多宝贵意见,特此感谢。

由于本人水平有限,编写时间短促,考虑和讨论都不充分,缺点和不妥之处在所难免,尚希同行专家不吝指正。

宋晓凯
2008 年 12 月

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 药物化学的定义、研究内容和任务	(1)
第二节 药物化学研究的新技术和新方法	(2)
第三节 相关学科在药物化学发展中所起的作用	(3)
第四节 药物化学研究的发展趋势	(5)
第五节 我国药物化学发展的现状及战略方针	(13)
第二章 药物作用的分子药理学基础	(17)
第一节 药物靶标研究	(17)
第二节 药物与受体相互作用的化学本质	(52)
第三节 药物分子与受体的作用形式	(54)
第三章 药物的化学结构与药效的关系	(73)
第一节 构效关系的基础知识	(73)
第二节 影响药物产生作用的主要因素	(108)
第三节 药物的理化性质对药效的影响	(110)
第四节 药物的键合特征对药效的影响	(113)
第五节 药物的立体结构对药效的影响	(115)
第六节 药物定量构效关系研究	(117)
第七节 影响药效学的化学修饰	(144)
第四章 药物的化学结构与药物代谢	(158)
第一节 药代动力学研究的内容	(158)
第二节 官能团化反应	(162)
第三节 轭合反应	(164)
第四节 药物代谢	(165)
第五章 新药研究与开发	(210)
第一节 新药研究开发的过程	(210)
第二节 先导化合物的发现	(212)
第三节 先导化合物优化的一般方法	(238)
第四节 类药性的评价	(247)
第五节 立体异构体新药研究	(249)
第六节 计算机辅助药物设计简介	(253)
第七节 分子生物学在新药开发中的应用	(257)
第八节 生化信息学在药物创新过程中的重要作用	(258)

第九节	新药非临床评价中的几个基本问题	(261)
第十节	新药研究与开发进展及实例简介	(264)
第十一节	新药研发项目的风险	(277)
第十二节	我国新药筛选研究的回顾	(280)
第十三节	新药研究与开发实例简介	(284)
第六章	专利与药物研发及生产	(292)
第一节	专利与化学研究	(292)
第二节	反应的优化	(328)
第三节	新药研究有关生产工艺及结构确证方面的技术问题	(330)
第四节	反应的放大试验	(339)
第五节	工艺研究	(342)
第六节	FDA 有关变更生产规模的药品申报最新意向及 cGMP 规定	(346)
第七节	固体口服常规制剂溶出度实验	(350)
第八节	新药的质量研究和质量标准的建立	(350)
第九节	药品质量生产管理规范(cGMP)新特点	(355)

第一章 绪论



第一节 药物化学的定义、研究内容和任务

一、药物化学的定义

药物化学(medicinal chemistry)是建立在化学和生物学基础上,发现、设计、合成和研究用于预防、诊断和治疗疾病的药物,阐明药物构效关系、研究药物分子与机体细胞和生物大分子之间相互作用规律,对药物结构和活性进行研究的一门综合性学科。

药物化学在新药创制中,提供了后续学科研究的物质基础,因而起着十分重要的作用,是药学研究领域中的带头学科。

二、药物化学的研究内容

药物化学这门学科有着十分丰富的内涵和广阔的研究领域,既要研究化学药物的结构、性质和变化规律,又要了解用于人体后的生理、生化效应。

药物化学的主要研究内容包括:①药物的化学结构与物理化学性质、生物活性间的关系,通常称为构效关系(structure activity relationships, SAR);②从分子水平上揭示药物及生理活性物质同机体相互作用的机制和作用方式,阐明药物与受体,包括酶、核酸和离子通道等的相互作用;③鉴定药物,研究药物及生理活性物质在体内吸收、转运、分布、代谢的过程及其代谢产物,了解药物作用于人体的生理生化效应和毒副反应;④基于生命科学研究揭示药物作用靶点(受体、酶、离子通道、核酸等),参考天然配体或底物的结构特征,利用现代技术如计算机辅助药物设计(computer aided drug design, CADD),进行药物分子设计(molecular drug design),以便设计、筛选以及合成有生物活性的化合物,发现选择性作用于靶点的新药;⑤通过各种途径,如天然有效成分、内源性活性物质的发掘,活性代谢物的发现,现有药物的结构改造等,寻找先导化合物,对先导化合物进行化学修饰和优化,获得新化合物实体;⑥进行药物合成新工艺、新技术和新方法研究,以提高药物合成设计水平;⑦为研究设计新药及临床上科学合理用药、药物制剂分析检验提供化学依据;⑧对已知药理作用、并已在临床应用的药物进行深入研究;⑨药物提取分离、分析确证、质量控制及化学改造研究等。

三、药物化学的主要任务

药物化学的主要任务是发现具有进一步研究开发前景的先导化合物,创制新药。

从药物化学 100 多年的发展历史中可以看出,药物化学的发展是与相关学科的发展密不可分的。现代药物化学是建立在有机化学及相关的物理化学、结晶学、光谱学、计算机信息技术及多种生命科学,例如生物化学、药理学、分子生物学、免疫学、毒理学基础上的一门综合性、应用性学科。

近 20 年以来,由于计算机技术、现代合成技术、生物技术的应用,分子生物学、遗传学、免疫学等学科的飞速发展,以及这些学科间的相互衔接和渗透,为药物化学的理论与实践发展提供了进一步的科学依据,并注入了新的活力。因而使我们有可能更深入地从化学方面理解药物与机体的相互作用和药物呈现药理作用的分子机制,以及化学结构与生物活性关系的内涵。

探索、研究和发现新的、高效的、低毒的药物,一直是药物化学的发展动力和核心工作,先导化合物的设计、发现及结构优化,是药物化学研究最根本的任务,也是创新药物研究成败的关键。



第二节 药物化学研究的新技术和新方法

各国药物化学家都在思考和研究如何更多、更快地发现先导化合物和更加合理地对其进行结构优化和合成。近 20 年来,有关这方面的新理论、新方法和新技术取得了很大的进展。

现代药物研究已深入到分子水平和电子水平,关联到诸多新学科和新技术,特别是现代仪器分析技术日新月异的发展,为药物化学提供了强有力的研究手段,发挥着非常重要的作用。

现在,可借助现代色谱和光谱技术以及色谱-光谱联用等新技术,例如,X 线衍射、高分辨率磁共振、多维磁共振、高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)联用等技术,以及电生理、分子力学、量子化学和计算机技术来研究药物分子和靶分子的三维结构、药效构象、二者结合模式及其复合物的电子结构,利用药物代谢动力学性质,探讨药物构效关系、推测其作用机制和生物活性等一系列复杂问题和进行复杂体系分析。结合计算机图形学和有关数据库进行三维定量构效关系(3D-QSAR)研究。将计算机与化学合成、生物测试相结合,先进行虚拟筛选,然后再进行药理测试。这一研究策略的效率比直接进行药理测试提高了很多。

创新药物设计的困难,往往在于受体结构未知。受体(往往是生物大分子)的三维结构测定,对合理药物设计研究的影响极大。一旦获得受体生物大分子的三维结构,即可进行基于结构的合理药物设计,这将大大加速创新药物研究的过程。

现在,受体的结构可用 X 线晶体学、高分辨率多维-NMR 和同步辐射法测定。高通量结晶学分析使蛋白结晶化过程做到微量化、平行化、自动化。比如,用同步加速器射线解析蛋白-配体复合物晶体结构,强度和聚焦性优于 10 年前,可迅速地解析微量结晶,分辨率高。

总之,药物化学与生命科学和计算机技术的紧密结合,一定能取得更大的成就,为加速新药研究、促进医药工业进步做出应有的贡献,从而推动药物化学学科自身的进一步发展。



第三节 相关学科在药物化学发展中所起的作用

药物化学学科的建立,以近代化学和化学工业的建立为基础,其发展则受益于生物化学、生物物理、理论有机化学及药理学的发展。在药物化学的发展史中,相关学科的影响是多方面的。特别是近年来分子生物学、分子药理学、量子生物化学取得的一系列成果,使人们对机体的认识从宏观进入到微观的分子水平。

近代科学研究的特点是,学科间的渗透和交叉越来越突出。在解决一个关键问题时,往往分不清学科界限。而且,基础研究成果向应用方面转化非常迅速,新药的研究过程也反映了这种情况。

20 世纪 60 年代以来,特别是近 20 年来,科学技术蓬勃发展,新技术、新发现层出不穷,不少新学科相继建立。

(1) 分子生物学(molecular biology)的出现,揭示了生命过程中的分子基础。

(2) 电子学、波谱技术及化学各分支学科的发展,使得生物大分子的结构与功能得到了较深入的研究。

(3) 结构生物学(structural biology)为药物作用的靶分子提供了详尽的数据,为药物的合理设计打下了基础。

(4) 基因重组技术、分子克隆技术的出现,使人们获得了一大批有治疗价值的活性蛋白、激素和疫苗。随着人类基因组计划的实施,揭示了一大批功能基因和疾病基因。

(5) 计算机技术的应用,又衍生出生物信息学(bioinformatics)这一新学科,使人们有可能预测一些可用做药物治疗的靶分子;同时,也可通过计算机分子图形学的技术去预测一些靶分子的结构,并有目的地去修饰某些已知的结构或创造新的功能分子。

这些新学科的兴起,为新药研究提供了与过去研究模式完全不同的理论和策略。

在影响新药研究的诸多因素中,明确治疗靶点是成功的关键。无论是计算机辅助的药物合理设计,还是机器人的自动快速筛选,都必须明确药物作用的靶点,这就必须对疾病发生、发展过程中的大量生理、病理和生化等方面的现象进行基础研究。

由于新药研究与基础研究的密切关系及开发后的巨大经济利益,使各大制药集团都把研究新的药物作用靶点作为核心项目,往往投入大量的人力、财力去开发新的靶点。

进入 20 世纪 90 年代以来,世界各大制药公司开始了新一轮的兼并和重组,形成了人力、财力更加集中的跨国集团。这些大的制药集团在强大的技术力量和财力支持下,发展了全新的研究新药的技术和方法:①利用组合化学(combinatorial chemistry)方法合成具有分子多样性的分子库(molecular library);②通过对疾病过程的深入了解,建立起以生物靶分子为模型的筛选系统,用机器人进行快速筛选(high throughput screening);③针对靶分子,用计算机进行药物的合理设计。

目前,新药研究的队伍已形成了一个多种技术、多个学科互相融合的群体。

一、化学学科在新药研究中的地位

随着药物科学发展,药物化学与相关学科的合作日益增多,界限日益模糊,先后出现了

生物无机化学、生物有机化学、生物药物化学等一系列交叉学科,使化学与生物学的理论和技术进一步相互融合、相互渗透,出现了一体化的趋势。这是科学技术发展的普遍规律,也对药物化学发展有着极其重要的实践意义和理论意义。

新药研究打破了过去单纯的化合物筛选模式,融入了大量的生命科学的内容。虽然新药研究的模式在不断改变,但化学学科在新药研究各个环节的重要地位是不容置疑的。

在研究生物靶分子的过程中,生物化学、结构化学和物理化学等都是其工作的基础,而有机化学,特别是有机合成,更有其突出的作用。在有机化合物的合成方面,又发展了组合化学的技术,使成千上万个筛选的化合物的合成可在数日内完成。

新药研究是淘汰率很高、竞争性很强的研究。一代新药上市后,对第二代、第三代新药的研究会随之而来。在当前科技信息交流十分迅速的情况下,一个新的药物设计思想很快会被世界各国所接受。因此,药物化学家应该尽快地得到所设计化合物的药效学结果。此外,如果化合物的合成研究花了很长时间,当拿到化合物时,可能别的竞争者已捷足先登,这将致使先前的设计思想变得毫无意义。因此,药物化学家必须要有熟练的有机合成理论和相关的技术。

二、医学研究的基础科学

药理学、毒理学和药物代谢动力学对评价药物的活性、安全性和在体内的处置过程,提供了动物模型、实验方法和数据,由此得出的量效关系和时效关系,可以用来推断药物作用的理化性质和作用机制。

分子药理学和分子生物化学,则从分子水平上研究药物的作用与作用过程,解析药物与受体部位的相互作用。通过药物与机体内物质(酶、蛋白、核酸、生物膜等)的化学或物理化学的反应,对药物的吸收、分布、转运、转化、代谢有更清楚的了解,从而揭示药物产生效应的微观过程,把握受体部位的理化环境和拓扑结构,以及药物的相互作用本质。

生理学和病理学的研究,提示了正常组织与器官同病态的组织器官之间的结构与功能的变化和差异。这种差异为合理地设计新药,尤其是研制具有特异性选择作用的新药,提供了依据。

三、现代生物技术

建立在分子生物学基础上的现代生物学技术在医药领域中的应用,为传统的药学研究提供了新方法、新思路,使其从过去的以无生命体系为主要研究对象转向研究生命体系,帮助人们从整体水平到分子水平的各个层次上认识机体的生理和病理本质,研究药物分子怎样与机体内的生物大分子相互作用。

随着受体学说的证实,药物作用的确切靶位日益明确。以此来指导药物的结构和功能研究,不仅帮助克服了化学模式的缺陷,而且为化学理论和技术在药学领域中的应用开辟了广阔的天地。

更重要的是,现代生物技术本身是由多种学科构成的综合性技术学科。构成这一体系的三大主要基础学科中的化学和生物学,已经在这里得到有机的结合,并在其主要应用领域中融为一体,在研究方式和手段上促成了生物药学模式的建立。

从以上阐述中可以看出,药物化学的发展与相关学科的发展是相辅相成的。一方面,不同的学科发展促成了药物化学的不同发展阶段,相关学科的发展不仅为药学研究提供了物质手段,也对其思维方式和研究方法产生了影响,出现了崭新的认识途径和方式,甚至使药学模式发生转变;另一方面,药学发展的需求又迫使相关学科进一步发展,以适应其研究的需要,为其提供更有力的工具。



第四节

药物化学研究的发展趋势

生物学在 20 世纪取得了巨大进展,以基因重组技术为代表的一批新成果标志着生命科学研究进入了一个崭新的时代。人们不但可以从分子水平了解生命现象的本质,而且可以从更新的高度去揭示生命的奥秘。

生命科学研究从宏观向微观发展,从最简单的体系了解基本规律,向最复杂的体系探索相互关系。生命过程的大量化学问题也将成为化学家关心的焦点。药物研究与生命科学的前沿领域紧密结合,如基因组、蛋白质组、生物芯片、转基因动物、生物信息学等,以发现和确证药物作用新靶点作为重要目标,取得了蓬勃的发展。

近年来,人类基因组研究计划的实施,将越来越清楚地揭示出各种功能基因及其相应的蛋白。同时,也将揭示各种致病基因,这就有可能克隆出大量过去很难得到的各种蛋白,包括各种受体亚型、酶等,这也将给结构生物学家提供大批研究对象,从而使药物的合理设计有明确的靶分子。

新药设计要求从空间结构上了解这些靶分子,结构生物学提供的这些靶分子的三维空间结构大大推动了新药研究。例如,对 HIV 蛋白酶的晶体结构的研究,为药物化学家设计抗艾滋病药物开辟了广阔前景。

由于环境与遗传因素相互作用,导致不同人群易患上各种不同的疾病,同时使同一药物的疗效也大相径庭。针对人类疾病的这一特点,各国科学家正在积极寻找不同人种、民族之间的基因差异,筛选与一些重要疾病相关联的功能基因,力图设计出“因人而异”的药物。

药物化学的发展趋势主要表现在以下几个方面:

一、药物作用新靶标的发现

药物大多通过与人体内“靶标”分子的相互作用而产生疗效,药物作用靶点的寻找,已成为当今创新药物研究激烈竞争的焦点。新的药物作用靶点一旦被发现,往往成为一系列新药发现的突破口。

二、新的筛选模型和筛选技术的研究

在新药研究过程中,通过化合物活性筛选而获得具有生物活性的先导化合物,是创新药物研究的基础。近 20 年来,许多药物作用的受体已被分离、纯化,一些基因的功能及相关调控物质被相继阐明,这就使得许多在生命活动中发挥重要作用的生物大分子可以直接成为大规模药物筛选的新模型,使得药物筛选模型从传统的整体动物、器官和组织水平发展到细胞和分子水平。

三、结构生物学、生物信息学和药物分子设计

随着人类基因组和蛋白质组计划的兴起,将会有大量的新蛋白产生。目前的结构测定方法还不能满足这两个研究计划的需求。正在发展的两项技术为高通量结构测定和计算机分子模拟技术。

计算机辅助药物设计包括基于配体的药物设计,基于受体的药物设计,基于机制的药物设计。

计算机辅助药物设计的另一种重要策略和方法是虚拟药物筛选。它利用各种计算方法对化合物数据库进行“筛选”,可以大大减少工作量与成本,加快新药发现步伐。

一些新兴学科越来越多地渗入到新药的发现和前期研究中。化学、物理学、理论和结构生物学、计算机和信息科学等学科与药物研究的交叉、渗透与结合日益加强,使得新药研究的面貌发生了重大变化,包括出现了一些新的研究领域和具有重大潜力的新技术。

这些研究的进展和综合集成,将对创新药物的研究与开发产生长远的影响。

四、药物蛋白质组学研究

20 世纪 90 年代初,生物学家提出并开始实施了人类基因组计划。随着这一计划的提前完成,生命科学的研究重心将从基因组学转移到蛋白质组学。

蛋白质组学与药学的学科交叉也逐渐形成新的研究领域——药物蛋白质组学。其研究内容在临床前应包括发现所有可能的药物作用靶点,以及针对这些靶点的全部可能的化合物,也包括应用蛋白质组学方法研究药物作用机制和毒理学。

在临床研究方面应包括药物作用的特异蛋白作为患者选择有效药物的依据和临床诊断的标志物,也可应用类似于药物遗传学的方法,按照蛋白质谱来分类患者,给予个体化治疗,并预测药物疗效。

(一) 构建分子药理筛选模型

采用分子水平的筛选模型进行大规模药物筛选已被普遍用于第一步初筛,其特异性强、灵敏度高、微量、快速。这需要复杂的动物模型对可能的药物靶点做临床前评价,要尽可能地反映疾病的各种病理现象,但传统的动物模型很难做到这一点。

蛋白质组学技术应用于筛选模型构建中的一个最大的优势,就是提供更为有效、合理的药理模型,从而能更清楚、更详尽地阐明分子药理机制。

Fountoulakis 等在对新生小鼠和成年小鼠脑组织中蛋白变化的研究中发现,随年龄变化最大的是 α -胎蛋白,它只在新生小鼠脑中存在。22 种蛋白,包括二氢嘧啶酶相关蛋白 1、3、4 及 14-3-3 蛋白在新生小鼠脑中含量高。而 28 种蛋白,包括二氢嘧啶相关蛋白-2、动力蛋白-1 及其他一些酶在成年小鼠脑中含量高。这对研究神经系统紊乱性疾病如唐氏综合征、阿尔茨海默病、精神分裂症及脑缺血、焦虑等将有重大意义。

另外,在疟疾的研究上,由于人类疟疾的寄生虫疟原虫的生命周期必须在生物体内完成,研究难度很大。

Florens 等从蚊子的唾液腺中分离出了疟原虫,并对不同生长阶段的疟原虫的蛋白质组进行了分析,阐明了其不同生长阶段的关键蛋白质,为发现新的抗疟疾疫苗或药物提供了依据。

可见,将蛋白质组学方法运用到疾病方面,通过对动物模型,以及人和疾病与正常状态的蛋白质表达的比较,可以建立高效、敏感分子药理筛选模型,来评价药物的作用。

(二) 筛选药物作用靶点

药物蛋白质组学在蛋白质组学的基础上,通过系统地研究药物与细胞内蛋白质的相互作用,可以发现药物的作用靶点,并为新药物的合成提供依据。

1. 发现药物作用靶点/标志物

每种药物都是针对某一靶点起作用,药物作用靶点就是对药物敏感的机体微细部分。许多蛋白是控制人类疾病的药物潜在靶点,粗略估计大约有 5000 ~ 10 000 个。然而,在过去 100 年中发现的靶点,仅约有 500 ~ 1000 个蛋白。疾病特异性蛋白的不断发现为药物设计提供了丰富的靶点。如国内学者应用蛋白质组学对 MCF-7 乳腺癌细胞在加入 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 抗肿瘤药多柔比星 2 天后的蛋白质表达变化进行了研究,发现热休克蛋白 27 (HSP27) 变化最显著,这提示了以 HSP27 作为药物靶点很有可能开发出新的抗乳腺癌药物。

Greenbum 等对疟原虫的生长全周期的蛋白质组进行了全程定量跟踪研究,发现胱氨酸蛋白酶在侵入宿主细胞时期含量和活性都很高。进一步以该酶作为抑制靶标已筛选鉴定出了一批可以阻断疟原虫对宿主细胞感染的化合物。

这些研究提示,通过对药物作用前后的差异蛋白质谱进行研究,可从中筛选和发现有效的药物作用靶点。

2. 以疾病特异性蛋白为靶点,定向合成有效药物

蛋白质组学研究策略为药物研究提供了新的平台。通过对疾病和正常组织或细胞的蛋白质组进行比较,可发现一些疾病特异性蛋白 (disease specific protein, DSP), 这些蛋白质可以成为药物筛选的作用靶点或是相关疾病的分子标志物。

目前,研究人员已开始利用蛋白质组学技术,通过对高低转移细胞株蛋白质图谱的比较来寻找与肿瘤转移相关的蛋白质,同样也可以以高转移株中特异表达的蛋白质为靶点,开发

抑制肿瘤转移的新药。

此外,由于大多数抗癌药物都伴有严重的毒副作用,而且在对癌症患者进行单一化疗或联合放疗、过热疗法时,经常面临癌细胞对细胞抑制剂耐药性的问题,如果能发现与细胞毒性密切相关的蛋白质或在耐药细胞系中表达异常的蛋白质,就可能以此为靶点设计出用于联合用药的新方案。

目前,已有学者进行了有益的探索,如采用蛋白质组学技术对有生物活性但未知靶点的化合物进行探测靶点研究,成功发现了 E7070 类抗肿瘤药物特异结合蛋白靶点,以此靶点为研究对象可进一步合成有效的针对性药物,为临床治疗提供更为理想的药物。

(三) 研究药物作用机制

应用蛋白质组学,高通量地对比分析药物作用前后蛋白质表达谱或蛋白质表达丰度的改变,可以提示药物的作用机制。如 Steiner 等通过分析抑制素类降胆固醇化合物对小鼠肝脏蛋白质组的影响,从药物治疗前后表达变化的蛋白质中鉴定出 HMG-CoA 合成酶(胆固醇合成途径的关键酶之一),从而阐明了该类降胆固醇药物的作用机制。

此外,药物蛋白质组学的应用可更快速、准确地揭示药物的分子药理机制,使药物作用的关键靶点更加清晰。如喹啉用于治疗疟疾、关节炎和狼疮等疾病已有多年,但机制一直不清楚。利用蛋白质组学技术很快发现红细胞膜上的 ALDH1 和 QR2 两种蛋白和喹啉有良好的结合性,进而确定 ALDH1 和 QR2 为喹啉类药物的靶点。

应用蛋白质组学对白色念珠菌在给予吡啶类药氟康唑和伊曲康唑以及 mulundcadin 类药物后的基因表达的变化,发现 mulundcadin 类药物作用机制为抑制 1,3-*D*-葡聚糖合成酶的表达,而吡啶类药的作用机制为抑制麦角固醇合成酶的表达。

上述研究提示,分子药理机制的明确,可使药物作用的关键靶点更加清晰,从而为药物研制带来新的思路和途径。

(四) 研究药物毒理机制

药物蛋白质组学的应用,使人们对药物毒理机制的认识提高到了一个新的高度。

临床上许多药物的毒性早已为人所知,但其机制并不完全清楚,通过药物蛋白质组学的研究可准确、快速地揭示药物的毒副作用。如庆大霉素明显的毒副作用是肾毒性,运用蛋白质组学研究庆大霉素治疗后的大鼠血清标本,发现了一个持续高表达的蛋白,此蛋白可能参与了补体的替代途径激活过程,并且能够与肾皮质上皮细胞结合,有望成为评价庆大霉素毒性的非侵入性标志物。

可见,检测经药物刺激的组织细胞的蛋白质组,建立其蛋白质谱数据库,有助于了解它们的毒理学机制,并建立可用于评估其安全性的生物标志物。

此外,与传统方法相结合,蛋白质组学在鉴定药物毒理机制上具有广阔的应用前景。如将蛋白质组学和基因组学结合起来研究溴苯的毒性,基因组学的研究得出溴苯诱导了包括谷胱甘肽-*S*-转移酶同工酶、环氧化物水解酶、血红蛋白加氧酶的基因在内的多个基因的表达,蛋白质组学的比较则发现谷胱甘肽等多种蛋白质及蛋白质总量发生变化。

这说明基因组学和蛋白质组学所得到的毒理学信息中虽有适度重叠,但也有各不相同的内容,表明了二者相结合的重要性。

(五) 药物蛋白质学在临床诊断和治疗中的应用

应用药物蛋白质组学可筛选出疾病特异性蛋白质,既可作为疾病分类分型的标志,也可作为临床系统诊断的标志,还可作为评价药物疗效及预测疾病预后的依据,进而实现药物个体化治疗。

1. 利用疾病特异性生物标记进行诊断

应用蛋白质组学技术能够动态、整体地观察疾病发生过程中蛋白质种类和数量的变化,通过比较正常和疾病状态下蛋白质的表达情况,可以鉴定出疾病特异性标记物,这些蛋白质实际上就是指示疾病发生的分子标志物。例如,对人类肺鳞癌组织与正常肺组织的研究结果显示,Cyclin D2, XEDAR, p53 结合蛋白 Mdm2 等 7 种蛋白上调或只在肺鳞癌组织中有表达。

通过 MALDI-MS 技术对结肠癌和正常结肠组织进行了分析,结果发现了 3 个特异的结肠癌标志物 calgranulin A, calgranulin B 和 calgizzarin。这些特异性蛋白的发现对于准确进行临床诊断具有重要意义,可形成未来诊断学、治疗学的基础理论。

不仅如此,应用蛋白质组学进行疾病筛查,还具有高度敏感性。有研究应用新的蛋白质芯片系统 SELDI-TOF-MS(表面加强激光解吸电离飞行时间质谱)对卵巢癌患者和正常对照者血清中的蛋白质进行了分析,结果 50 例卵巢癌患者全部被检出异常,包括 18 例 I 期患者;66 例非恶性肿瘤对照组患者中 63 例确定为非恶性肿瘤。利用该法筛查卵巢癌患者(包括早期),其敏感性达 100%,特异性达 95%,阳性预期值达 94%,能有效地筛查卵巢癌风险人群。

上述研究显示,药物蛋白质组学在临床实际应用中具有有良好的应用前景,对临床进行准确诊断将起到相当大的辅助作用。

2. 评价疗效及预测疾病的预后及转归

(1) 大多数药物和疾病的靶点是蛋白质,可以认为,如果一个药物越能够使疾病的蛋白质组学的表现与正常状态接近,表明这个药物的治疗效果越好。

目前已有学者对此进行了有益的探索,如国内学者研究辛伐他汀对家兔血管组织蛋白质组的影响,结果发现,患动脉粥样硬化血管组织与正常对照组织相比,17 个蛋白点明显上调,12 个蛋白点明显下调;服用辛伐他汀后,少数蛋白点有回调现象,多数蛋白点没有回调。此结果说明了辛伐他汀对动脉粥样硬化有一定的治疗作用,但却不能完全修复血管的损伤。

此外,应用蛋白质组学技术,结合其他传统方法对药物效应进行评价可以更灵敏地评估药物的作用,从而预测治疗效果。研究佐剂性关节炎小鼠模型服用非甾体类抗炎药前后血清蛋白质表达图谱的变化,对双向电泳上获得的蛋白点进行量化后发现,吲哚美辛对模型小鼠血清蛋白质表达的抑制作用是布洛芬的 3 倍。

这些研究表明,通过研究用药前后蛋白质谱的变化可以判断药物的治疗效果,进而为临床选择用药提供了有力依据。

(2) 在预测疾病的预后及转归上,蛋白质组学也起到了相当重要的作用。

如对 24 例慢性 B 淋巴细胞白血病(B-CLL)进行蛋白质组学分析后证明,大规模的蛋白质表达图谱可以反映患者的存活时间等临床参数,如生存时间短的 B-CLL 患者表现为氧化

磷酸化水平、HSP27 和二硫化物异构酶等方面的改变。根据核基质蛋白和结肠癌的相关性,利用双向电泳技术鉴定患者的肝样品中是否有核基质蛋白,以此作为结肠癌肝转移的早期诊断。

这些研究为临床对患者进行早期诊断提供了可靠依据,有利于抓住时机、及早开展治疗。

目前,蛋白质组学和药物蛋白质组学研究还处在一个初期发展阶段。但研究的开始,基础研究和应用研究就呈现出并驾齐驱、紧密结合的趋势。药物蛋白质组学研究的兴起,为研究重大疾病的发病机制、疾病诊断、防治和新药开发提供了重要的理论基础。在此基础上,临床新的治疗方案和诊断方法的开发将明显加快,并有望根据药效强弱和毒副作用大小进行排序,选择出最为理想的治疗药物,使基础研究与实际应用完美地结合。

虽然目前其实用性受到技术能力的限制,但随着蛋白质组技术的完善和技术限制的逐步解除,药物蛋白质组学将体现出其真正的价值,并成为生物技术药物发展的根本动力,明显地加快开发新的治疗方案和诊断方法的速度,最终使这一颇有希望的新工具发挥其最大的效用。

五、代谢物组学在新药研究中的应用

代谢物组学是近 5 年来发展起来的,与基因组学、蛋白质组学等并列的学科。代谢物组学是最早由 Oliver SG 等在 1998 年提出的一种和基因组学、转录组学、蛋白质组学等并列的组学概念,是目前生物学和药物学领域发展最快的学科之一。

代谢物组学是用来定量测量多细胞对病理生理刺激和基因改变导致的代谢物经时变化的学科,即运用磁共振、高效液相色谱、气相色谱、质谱等先进的分析技术,测定并评价细胞提取物、组织提取物和生物体液(包括血浆、血清、尿液、汗液、胆汁、脑脊液等)中所含的内源性或外源性代谢物的浓度与功能的经时变化,评价细胞功能和生物体的病理生理状态。

分析细胞和体液中内源性或外源性代谢物的代谢物组学的出现,为生命科学、药物科学、临床诊断、食品科学、农学等学科的发展带来了巨大变化。

(一) 研究方法

1. 磁共振法

代谢物组学是分析生物体液中所含物质的综合变化,以得到指纹图谱(或称代谢物图谱)。20 世纪 40 年代,磁共振(NMR)技术以其信息量大、无破坏性、快速(<5min)等优点,几乎是独占性地应用于该研究领域。

磁共振可提供化学位移、耦合常数、各种核的信号强度和弛豫时间 4 种结构信息,从而了解特定原子的化学环境、原子个数、邻接基团的种类及分子的空间构型等。

由于生物体液的构成十分复杂,成千上万的化合物同时存在,且生物标志物常常是微量的,所以常需用二维磁共振,包括 J 分解谱和化学位移相关谱(COSY 谱)等。

与一维谱相比,二维 J 分解谱把一维谱的信号按一定规律在一个二维平面上展开,即在 F1 轴(纵轴)上显示耦合信息,F2 轴(横轴)上显示化学位移,从而使图谱比一维谱更易解