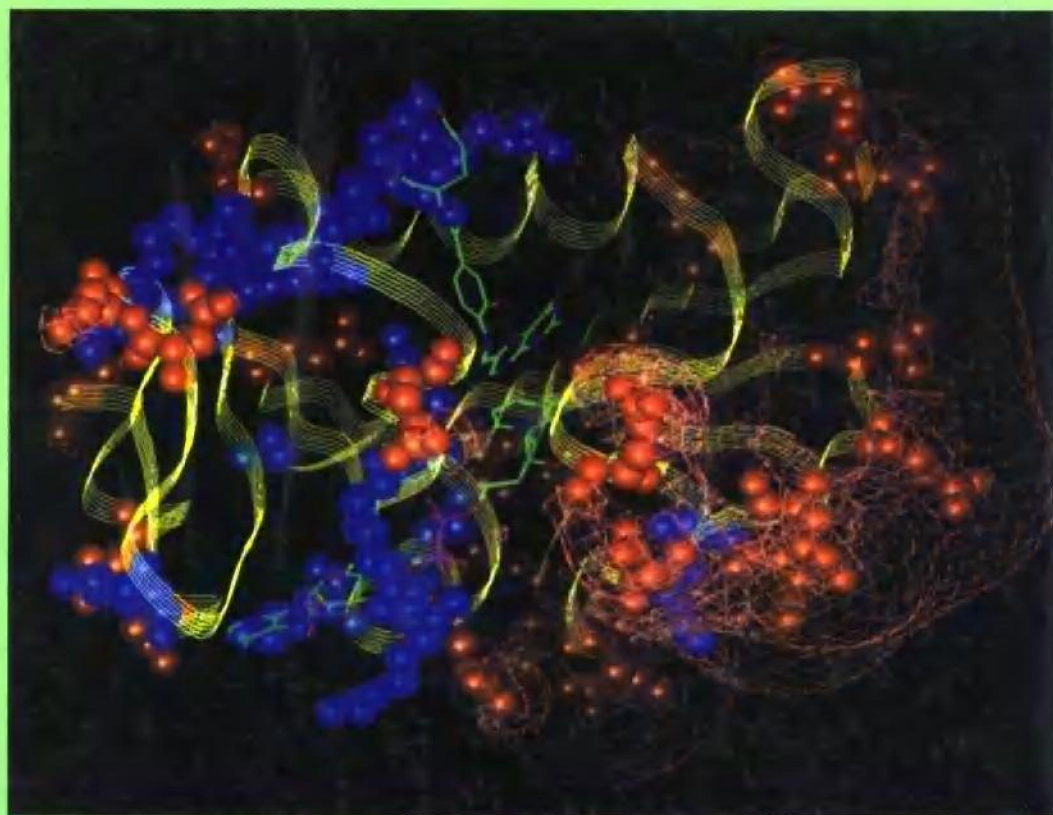


药物学 研究与展望

田乃旭 屠鹏飞 主编



科学出版社

RP-53
TNX

Y+122/21

药物学研究与发展

田乃旭 屠鹏飞 主编

科学出版社

内 容 简 介

本书对目前国内外普遍关注的药理学发展、新药设计与筛选、艾滋病、癌症、心血管疾病、人类基因组计划、转基因动物制药等进行了综述和展望,并报道了合成药物、生物技术药物、天然药物、药物生产与制剂等学科的最新研究成果。

本书可供药理学及相关学科的研究人员和研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

药理学研究与展望/田乃旭,屠鹏飞主编. - 北京:科学出版社, 1999

ISBN 7-03-006825-4

I. 药… II. ①田… ②屠… III. 药理学-文集 IV. R953

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 16503 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:100717

科地五印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1999 年 2 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1999 年 2 月第一次印刷 印张: 13

印数: 1—2 100 字数: 298 000

定价: 30.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

前 言

近 10 年来,随着分子生物学、生物技术及其他有关生命科学、计算机科学和材料科学等的发展,使医药学也有了飞速的发展。21 世纪的药物在其适应病谱、疗效、安全性及研究方法、生产方法、制剂、给药途径等方面都会有惊人的突破。为了促进我国药物学科的发展,中国博士后科学基金会组织部分出站和在站的博士后研究人员,于 1997 年 6 月在浙江省台州市召开了“中国博士后面向 21 世纪医药学科发展前瞻及成果交流研讨会”,我们在此基础上编写了《药物学研究与发展》一书。

本书重点介绍药物学及其分支学科的研究展望和博士后近年来的最新研究成果,内容涉及合成药物、天然药物、生物技术药物、药物生产与制剂等方面。在本书编写和出版过程中,始终得到中国博士后科学基金会的大力支持,在此致以衷心的感谢。

编 者

1998.5

目 录

前 言

一、综合论述

1. 21 世纪药物展望及其发展对策 屠鹏飞等(1)
2. 以结构为基础的药物设计与分子模拟 张亮仁(7)
3. 新药设计和筛选新方法 樊天蓓(15)
4. 海洋生物——中国天然药物研究的新领域 林文翰(18)
5. 抗艾滋病及抗 HIV 药物作用研究及展望 杨正奇(27)
6. 癌侵袭、转移分子机理与药物研究 施 波(34)
7. 血小板生化药理学研究 李柏岩等(41)
8. 新一代抗凝药物——凝血酶受体拮抗剂的研究 樊天蓓(51)

二、合成药物

9. 唾液酸及其衍生物生物学研究进展 李绍顺等(54)
10. 唾液酸衍生物的合成及生物活性研究 李绍顺等(60)
11. 神经甾体——一类新的神经调节剂 李文姬等(64)
12. 2-(E)-苯亚甲基-5-(N-取代胺甲基)环戊酮的合成及抗炎作用.....
..... 董金华等(71)
13. 喹诺酮类药物的结构改造及构效关系研究 杨玉社等(78)

三、生物技术药物

14. 人类基因组计划与医药新技术产业 余 龙(96)
15. 转基因动物制药研究进展 荀德明等(102)
16. 血液表达系统生产人血清白蛋白转基因动物模型的建立 荀德明等(108)
17. 紫杉烷化合物选择性羟基化反应及生物重排 胡尚慧等(112)

四、天然药物

18. 中药温莪术抗癌有效成分和有关化合物的研究概况 董金华(116)
19. 异三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱诱导 HL-60 细胞凋亡及对凋亡相关基因
表达的影响 施 波(119)
20. 小檗胺对心脑血管抗钙作用的药理学研究 李柏岩等(132)
21. 紫杉烷类二萜化合物的 MS/MS 研究 再帕尔·阿不力孜等(140)
22. 新型资源植物迷迭香的化学成分及其应用 屠鹏飞等(144)
23. 金刚大化学成分研究 林文翰(151)
24. 白花前胡中有效成分花椒毒素和北美芹素的分离和鉴定 孔令义等(157)
25. 紫杉醇资源现状及相关研究展望 胡尚慧等(160)
26. 不同生长年限、不同采集时间对北细辛根挥发油的影响 陈世忠等(165)

五、生产与制剂

- 27. 生物反应器在医药生产中的应用 刘德华(169)
- 28. 21 世纪的药剂学发展展望 印春华(176)
- 29. 粉体微细化技术在生物药学中的应用 盖国胜等(181)
- 30. 卷积(褶合)光谱分析法和卷积(褶合)光谱仪 吴玉田等(187)
- 31. 褶合光谱比值法在未知背景干扰样品分析中的应用 方慧生等(194)
- 32. 质谱新技术及其在研究药物代谢中的应用概况 再帕尔·阿不力孜等(199)

21 世纪药物展望及其发展对策

屠鹏飞 李仁利 马大龙

(北京医科大学药学院, 100083)

随着经济发展和社会进步,人类对自身的生命、健康和生活质量的要求越来越高,疾病是严重威胁着人类的生命和健康的最主要因素,而当前乃至下个世纪,药物治疗仍是治疗疾病的主要手段,因此药物科学的发展,在世界范围内都是极其重要的课题。近 10 年来随着分子生物学、生物技术及其他与药物有关的生命科学、材料科学等学科的发展,使药物也有了飞速的发展。21 世纪的药物,在其研究方法、生产方法、适应病谱、疗效、给药途径、给药方法等方面都将有较大的发展。本文对 21 世纪药物发展进行展望,并对我国应采取的对策提出我们的看法。

一、21 世纪药物展望

随着生命科学的发展和人民生活水平的提高,人类对药物的要求从以前的有效性、安全性,向高效、专一、低毒性发展,生物制品、天然药物将备受青睐,而传统的合成药物所占的比例将会相对减少。因此下个世纪生物制品、天然药物将会迅速发展,而合成药物及新的制剂也将有新的进展。

(一) 今后 10 年的新药发展动态

随着世界性人口谱、健康谱、疾病谱的变化,医学模式也发生了变化,对新药的开发、研究也提出了新的要求。根据世界卫生组织及国内外有关疾病谱的报告,我们分析今后 10 年世界性新药的研究动态,名列前茅的将是下述 10 类药物:(1) 脑功能改善药;(2) 心脑血管病药(包括降血压、降血脂药);(3) 抗肿瘤药;(4) 肝炎防治药;(5) 抗病毒药(包括抗艾滋病毒药);(6) 抗风湿药(包括类风湿药);(7) 免疫功能调节药;(8) 功能紊乱调节药(包括抗抑郁、内分泌、性功能障碍药等);(9) 非甾体类强心药;(10) 抗衰老药。

(二) 生物技术药物

生物制品包括疫苗、各种内源性物质、生物大分子等。这类药物通常活性高,作用专一,副作用较小,是 21 世纪重点发展的药物之一。其中特别引人注目的是利用现代生物技术生产的基因工程药物,在过去短短的 10 年间,已有近 20 种基因工程药物被批准生产,约 200 种在进行临床试验,为一些疑难病症如肿瘤、病毒感染、血液病、自身免疫病、免疫缺陷症等的治疗带来新的希望。这一类药物实质上多是人体内的成分,它们调节人体的生理功能,维持细胞发育生长和行使功能,提高机体的免疫力。这些成分缺乏将导致严

重疾病。由于正常情况下这些成分含量极微,无法直接提取,只能利用基因工程技术将这些人体基因导入微生物,使微生物按照我们的意愿生产人体成分,经大规模发酵、纯化、包装、检验就可制成基因工程药物,其结构、功能与人体成分无异,经病人应用后,可有效地调节机能,提高免疫力,收到治疗效果。目前这一类新药已得到越来越广泛的应用,发展前景良好,到 21 世纪,这一类药物还将有以下几方面的发展。

(1)从生命体特别是人体开发更多更有效的基因工程药物:人体本身就是一个取之不尽的药物宝藏,随着人类基因组计划的深入,将有更多的有价值的人体成分被发现,其中一部分可通过基因工程技术生产,并造福于人类。

(2)蛋白质工程药物:所谓蛋白质工程是在基因工程基础上进一步在结构上改造生物大分子,使之活性更高,稳定性更好,毒副作用更小,做为药物可收到更好的治疗效果。

(3)基因药物:通过基因转移技术,将一些编码生物药物的基因直接导入人体,可在体内合成释放有治疗作用的成分。与基因工程药物相比,这种基因药物生产工艺简单,疗效更好,剂量可明显减少,具有更好的应用前景。

(三) 天然药物

天然药物(包括中药和其他传统药物),数千年来为人类的身体健康作出了巨大的贡献。近年来,随着人类生存环境的不断恶化、合成药物产生越来越明显的副作用,使人类的疾病谱发生了很大的变化,一些疑难病和药源性疾病大量出现。“崇尚自然、返璞归真”已成为全球的强烈呼声,天然药物越来越受到人们的重视和青睐,紫杉醇的发现,使人们对天然药物再次刮目相看。因此,天然药物在今后的药物研究、新药开发和疾病治疗中将占越来越重要的地位。

1. 传统天然药物研究方向的三大转变

由于受“医食同源”的影响,传统的天然药物主要以草本植物和灌木为主,数十年来的研究也发现了许多活性成分,但随着筛选量的增加和筛选工作的深入,发现这些植物的次生代谢产物结构较简单,发现活性成分的概率越来越小,因此传统的天然药物研究应把研究方向转向高大乔木、海洋生物和鲜活动物的内源性物质的研究和开发。

(1)高大乔木活性物质的研究与开发:高大乔木活性物质研究以前开展较少,近 20 年的研究表明,高大乔木中除了含有一些常见结构类型的植物化学成分外,尚含有一些结构类型较新颖、生理活性较强的成分。发现活性成分的概率较高,如紫杉醇、三尖杉酯碱、喜树碱、番荔枝内酯等都来源于高大的乔木。

(2)海洋生物活性成分的研究与开发:海洋面积占地表面积的 71%,海洋矿物资源和生物资源都非常丰富,因此有 21 世纪为海洋世纪之称。由于受样品采集、提取、分离和结构鉴定等条件的限制,对海洋生物进行有组织的研究开展较晚。60 年代以来,随着科学技术的发展,新的分离技术和分析仪器的利用,使海洋生物的研究成为可能。近 10 年来的研究表明,海洋生物中所含化学成分结构新颖、复杂,常具有较强的生物活性,如海洋海绵 *Hyrtilia altum* 所含的细胞毒活性成分 althyrins A, B, C 和 5-desacetylalthyrin A 对 KB 细胞的 IC_{50} 为 0.01 ~ 0.3ng/ml;海洋海绵 *Dysidea arenaria* 中分离的 arenastatin A 对 KB 细胞的 IC_{50} 为 5pg/ml,显示了极强的细胞毒活性。海洋是生物资源的宝藏,对海洋生物进行系统的活性成分研究和新药开发,有着广阔的前景。

(3) 动物药的活性成分研究与开发:动物药在我国有着悠久的历史,有“血肉有情之品”之称。《神农本草经》记载动物药 67 种。但对动物药进行系统的活性成分研究开展较晚。近 20 年的研究表明,动物药,特别是鲜活动物含有大量的活性物质,而且动物药的活性成分有生理活性强、疗效确切、副作用小等特点,如蛇毒、蚯蚓纤溶酶、水蛭素、斑蝥素、蜂毒等都是活性较强的天然产物。我国有药用动物 2000 余种,目前已进行过较系统研究的不到 1%,因此对动物药,特别是鲜活动物进行系统的活性研究,有望开发出疗效显著、作用专一、副作用小的药物。

2. 生物技术在天然药物中的应用

(1)天然活性成分的微生物代谢:天然产物的微生物代谢研究可以达到二个目的。①通过微生物代谢,改变天然产物结构,提高天然产物的活性,降低副作用,达到临床使用的目的。②采用基因工程的手段,改变微生物的代谢途径,达到生产天然药物的目的。天然活性成分一般在植(动)物中含量都较低,而且成分复杂,分离困难,生产成本低,很难满足临床需要,同时也造成植(动)物资源的大量破坏,采用基因工程的手段改变微生物的代谢途径,使之大量产生需要的活性成分,既可使生产成本降低,又保护了资源。如目前美国的部分科学家采用真菌发酵生产紫杉醇,已取得了较大的进展。

(2)植物组织培养:植物组织培养主要有三个方面的用途。①通过愈伤组织的培养,满足临床用药的需要。有些珍稀、濒危植物,其药材资源很难满足临床需要,可以通过组织培养大量生产愈伤组织,在检测其活性成分和药效都达到要求的前提下,应用于临床,解决处方用药问题。如 80 年代初的人参愈伤组织的培养。②通过植物细胞的液体培养,大规模生产天然活性成分。对于一些资源比较少或有效成分含量低的药材,可以通过植物细胞的液体培养,从培养物中提取有效成分,同时也可通过基因工程、改变培养基配方、添加前体化合物等手段提高其有效成分的含量,满足临床用药的需要,如此既可降低成本,又可保护植物资源。如通过紫草的组织培养,大量生产紫草素,目前已在日本进入工业化生产。③药用植物的快速繁殖。通过试管苗的培养,进行快速繁殖,既可大大提高繁殖速度,又可节约大量药材,对珍稀药用植物和采用营养体繁殖的药用植物有极其重要的意义。如美国采用组织培养的方法大量繁殖紫杉树,解决紫杉的资源问题。贝母为常用中药材之一,传统采用鳞茎繁殖,一般情况下,一株贝母有 2~4 瓣鳞叶,其中的 1/4~1/2 将用来再繁殖,浪费了大量的药材,如果采用组织培养的方法,一个鳞叶就能繁殖出成千上万株种苗,大大节约药材资源。

(四) 合成药物

由化学合成手段(包括全合成及半合成)提供新药仍将是主要的方法。在这方面的关键问题是先导化合物(或称原型药物)的发现。因此,研究先导化合物的发现方法仍将是焦点。目前应用于先导化合物发现的途径主要是广泛筛选及合理的药物设计。广泛筛选在未来的年代仍将会普遍采用,在筛选的方法上会有很大的发展,而合理药物设计的研究又将是焦点中的焦点问题。新药研究的重点仍将是抗肿瘤药,防治心血管疾病的药物,抗病毒药(包括抗艾滋病药),神经、精神系统药物,防治老年疾患药物,此外免疫调节剂的研究也将受到重视。

1. 合理药物设计

随着人们对生命过程的深入了解,例如正常生理、生化和病理状态下的生理、生化的了解,对药物受体及其典型的结构及调节机理的认识,在此基础上从适当的推理和假设入手进行药物设计的研究将会越来越重要。计算机辅助药物设计所起的作用是不容忽视的。采用适当的软件系统利用计算机模拟生物大分子的结构,以此为模型进行合理的药物设计是目前和未来研究的一个重要的方面。就是在生物大分子的结构应用适当方法测定出来以后(不是短期内可以实现的),计算机分子图形学在合理药物设计上仍将是一个有威力的工具。在人们对受体结构知之甚少的今天和近期的未来,计算机辅助进行药效团的研究,并应用专家系统进行药物设计是一个非常值得探索的问题。

2. 广泛筛选和组合化学

广泛筛选是一种行之有效的发现先导化合物的方法。国外各大公司花费大量的人力、物力、财力于广泛筛选的工作上。这方面的关键是可靠而精确的筛选模型的建立问题。采用特异性的受体及其亚型做为筛选模型是当前和今后普遍被采用的方法。因此,新的受体的发现、分离、纯化将会受到重视,因为一种新的筛选模型的建立将意味着一类新作用类型的药物的出现。由于化学合成的新化合物及从天然物中分离的新化合物的速度远不能满足广泛筛选的需要,组合化学便应运而生。组合化学是运用固相合成方法通过不稳定基因的保护或利用光控合成法同步合成出毫微克级的大量(可高达数百种、数千种)化合物。其合成化合物的速度比目前要快数千乃至数万倍。这是 90 年代初期开始的方法,今后可能会有更大的发展。目前的组合化学主要应用于肽类和核苷酸类的合成,也有应用于合成苯二氮杂草类的报道。组合化学合成的化合物的量是很少的,因此必须与灵敏、精确的筛选方法相结合。随之而来的便是对灵敏、精确筛选方法的研究。组合化学向其他类型化合物的推广前提是缓和条件下快速有机反应的研究,因此,组合化学的应用前景尚有赖于有机化学反应的突破性进展。

(五) 药物新制剂

药物通常制成一定的制剂用于临床,所以药物制剂的质量直接影响着临床疗效。近 10 年来,药物制剂发展迅速,预计 21 世纪药物制剂在长效制剂、靶向制剂和智能化制剂方面将有引人注目的发展。

1. 长效制剂

长效制剂根据不同的疾病需要可制成连续释放、控制释放、定时脉冲释放等不同制剂。如某些抗菌素,需维持较长时间的血药浓度,才能达到抑菌目的,如果采用普通制剂,每天服药 3~4 次;而采用控释制剂,能长时间保持有效的血药浓度,避免多次服药给病人带来的影响。如糖尿病药物必须在吃饭前服用,给病人带来很大的麻烦,有时忘记服药,血糖就会升高,给病人带来痛苦,甚至有生命危险,如果采用定时脉冲制剂,每次吃饭前定时释放,可以避免上述问题。

2. 靶向制剂

靶向制剂即将药物通过某些特定的载体,运送到病变部位,而在非病变部位不分布或分布很少的一种新型药物制剂,也称生物导弹。该制剂不仅可以提高药物的疗效,而且可以大大降低药物对非病变部位的副作用。如某些抗癌药物其毒副作用较大,如果与一定

的载体结合,服药后集中分布于肝脏,增加肝脏中的药物浓度,提高疗效,对其他正常组织和器官又无毒副作用,治疗肝癌效果较好。

3. 智能化药物制剂

该制剂是将药物装于微电子泵或其他载体中,再将微电子泵植于器官或皮下,在即将发病或发病时,微电子泵迅速释放药物,达到迅速控制症状的目的。如癫痫,其发病无规律性,而且随时有发病的危险,长期服药副作用又很大,如果能制成一种智能化制剂,植于颅内或其他部位,当脑电发生变化时,微电子泵迅速释放药物,达到迅速控制症状的目的。该制剂也可用于冠心病、糖尿病等许多其他疾病。

二、我国药物发展对策

当前我国药物发展主要存在着五个方面的问题:(1)新药研制经费严重不足;(2)科研人员大量流失;(3)与药物研制有关的生命科学其他学科和材料科学的基础较差;(4)医药生产企业和研究机构相对分散,形成不了规模经营;(5)进口药物的冲击。为了促进我国的药物发展,解决我国人民的用药问题,现提出下列建议,供参考。

1. 国家加大对药物研制经费的投入

1993年实行药品专利法以来,国家已加大了药物研制经费的投入,并设立了新药基金,目前每年投入新药研制的基金已高达三千多万元,但此经费远远不能满足目前药物研究的需要。当前在发达国家研究一个新药平均需要花费二亿多美元,国际上的一些大公司如葛兰素公司,每年投入新药研制的费用就高达十几亿美元,所以我国政府应设法加大研制经费的投入。

2. 政府制定政策,鼓励企业直接投资或参与新药研制

国家可以采取一定的政策,如企业投入科研的经费可以免去税收,或者对一类新药实行若干年的减免税政策。鼓励企业积极参与新药开发。

3. 稳定科技队伍

与其他行业相比,医药科技系统近年来人员流失尤其严重,主要原因有4个方面,其一是科研单位工资、住房、生活待遇较低;其二是医药行业出国相对来说比较容易;其三是国外大量的企业在中国设立办事处,吸引了一大批科研人员;其四是近几年来各地大办药厂,招聘了大批科研人员。当前要稳定科技队伍,就必须提高中青年科研人员的生活待遇,在职称等问题上给予优先考虑,并在研究工作中加以重视,为其提供一个发挥才干的场所,充分显示出科研机构的优越性。

4. 加强进口药品的管理,保护民族医药工业的发展

近几年来,进口药品大量涌入我国,对我国自身的医药工业是一个很大的打击。进口药品与国产药品相比,在销售上有很大的优越性,进口药品定价较高,同类产品,进口药品的价格一般是国产药品的3~10倍,因此在销售时,可以给予医生和经销人员大量的回扣,因此经销人员愿意购买进口药品,医生也愿意使用进口药品。如此发展下去,不但冲击了我国的医药工业,而且大大提高了医药费的支出。为此我们提出下列建议:①加强公费医疗的管理。公费医疗应尽量使用国产同类药品,如无国产同类产品,使用进口药品应由有关部门批准(急救药品除外)。②对进口药品实行严格的价格管理。③对医生和经销

人员接受回扣问题应严格禁止。

5. 在加强新药研制的同时,继续仿制国外专利到期或即将到期的药物,解决我国人民的用药,仍是应该重视的问题

6. 提高现有药品的质量,打入国际市场

我国的现有药品与国外同类产品相比,在质量上仍有一定的差距,如一些生物制品效价不稳定,天然药物如银杏总黄酮等有效成分含量达不到要求,某些制剂血药浓度达不到规定的标准等等。所以我们必须加强对现有产品的技术完善工作,提高质量,争取打入国际市场。

7. 解决中试薄弱环节

在基因工程药物开发中,我国存在的一个问题是中试环节薄弱,造成中试阶段的瓶颈效应,阻碍了进一步的成果转化。由于中试阶段收益低,风险高,技术难度大,因而有必要由国家、企业、科研单位联合成立中试基地,发挥各自优势,风险共担,利润共享,国家给予政策上的优惠和全面布局安排,企业提供资金和管理,科研单位提供技术,突破中试的瓶颈效应,使我国的基因工程药物开发进入新阶段。

8. 尽快确立新药审批法规和标准

基因工程药物是一种新型药物,有许多自身特点,而一些药学家对其不很熟悉,在新药审批方面未形成明确的法规、标准,造成开发单位在报批阶段无所适从、浪费现象严重。建议改进目前基因工程药物的审批手续,加速审批步伐,批准进行临床人体试验的标准可以放松,而批准生产的标准加严,这样有利于新药研制,吸引科学家和企业家进行创新性的新药研究,也能防止不合格药物入市。

作者简介

屠鹏飞,男,1963年4月出生于浙江省黄岩市,1985年毕业于中国药科大学,1990年获博士学位,先后师从于著名生药学家徐国钧院士、难波恒雄教授及楼之岑院士。现为北京医科大学药学院教授,中国博士联谊会执行副理事长,科学出版社《博士丛书》常务编委。

主要从事天然活性物质研究与新药开发、中药质量评价等方面的研究。先后对中药沙参类、肉苁蓉类和新型资源植物迷迭香等进行了系统的研究,在国内外刊物上发表科研论文40余篇,著作2部,获国家科技进步一等奖1项、三等奖1项,部级科技进步一等奖2项。

以结构为基础的药物设计与分子模拟

张 亮 仁

(北京医科大学药学院, 100083)

早在 100 多年前, Emil Fischer 就提出了以结构为基础的药物设计这一概念, 他的“锁与钥匙”的设计思想仍旧在现代药物中常常被采用。“锁”是“钥匙”(即候选药物)必须匹配的生物靶点, 早期的以结构为基础的药物设计, 是通过对一系列配体的构效关系分析, 获得靶点结构信息, 然后利用这些信息指导配体设计。随着 X 射线衍射、NMR 波谱技术及计算机模拟方法在生物大分子三维结构解析上的成功应用, 人们获得了越来越多的生物靶点的结构信息。近年来, 分子图形学在药物研究中的广泛应用, 使得以结构为基础的药物设计与计算机分子模拟密不可分。本文所述以结构为基础的药物设计就是指建立在计算机模拟基础上的药物设计。

一、分子模拟在药物设计中的应用

靶点结构信息的获得, 使得基于靶点模型而直接设计药物成为可能。尽管在这一方法最初阶段持怀疑观点的大有人在, 但现在基于三维结构信息的新治疗药物的设计已经成为现实, 而且已经成为药物开发的一种强有力的工具。这种方法的成功之处在于它可以使产生一个临床候选药物所需合成和检测的化合物数目大大减少。按照传统的药物研究方法, 平均物色得到一个候选药物, 要筛选上万个合成的和从天然产物中提取的化合物, 而按照以结构为基础进行药物设计与开发, 要筛选的化合物数目可降低到 4000 个左右。尽管现在还鲜见有用这种方法开发的药物进入市场, 但无可否认的事实是, 在进入临床的新化学实体中, 以结构为基础而设计的比例在持续增加, 这些药物包括肿瘤、病毒感染(包括 HIV)和牛皮癣等治疗药物^[1]。

传统的药物开发是由化合物→体外筛选→体内筛选→临床实验这样一个过程所组成, 但随着从结构为基础的药物设计等技术与方法在药物研究中的应用, 一个新的药物开发过程正在形成, 它包括合理药物设计、传统药物设计、组合化学、化学合成等。图 1 展示了这些技术与方法的协同作用^[2]。从图中可以看到, 分子模拟可以应用于药物开发的众多环节中, 它除了可以用于确定生物大分子的三维结构外, 在寻找先导化合物、优化先导化合物方面更能大显身手。例如, 从三维结构数据库中搜索能嵌合到靶点的分子的方法已经用于先导化合物的发现; 以结构为基础的计算机全新药物设计已经用于设计先导化合物。本文将通过具体实例, 介绍分子模拟方法在设计先导化合物与优化先导化合物中的应用。

药物开发是一个系统工程, 同样以结构为基础的药物设计也是一个多学科综合研究

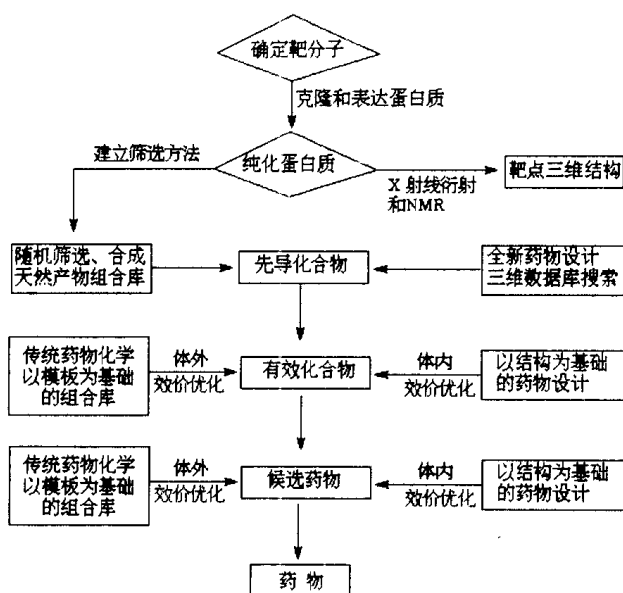


图 1 药物发现与设计流程

领域,它需要各学科的通力合作,这些学科包括计算化学、有机合成、药物化学、分子生物学、X 射线晶体学和 NMR 波谱学等方面。例如,在从事以结构为基础的药物设计之前,必须首先知道生物大分子靶的三维结构或其相似物的三维结构,而这些信息就需要 X 射线衍射、NMR 波谱技术或计算机蛋白质结构同源模拟方法提供;而先导化合物的设计与优化就要求有有机化学的知识,使先导化合物的结构便于化学合成。

药物开发可以简单地分成两个步骤:(1)新先导化合物的发现;(2)先导化合物的优化。一个合适的先导化合物应该是在微摩尔级与靶点具有亲和性,同时在化学结构上具有可接受性,以便容易对其进行修饰改造。在缺乏配体约束结构的情况下,从最简单的先导化合物转化成生物可行性药物不容易进行;但在配体结合于靶点的复合物结构清楚后,可以设计出具有完全不同物化性质的类似物。

二、先导化合物的优化

为使先导化合物足够可行和具有适当的生物利用度,通常需要进行先导化合物优化。通过优化,通常是使配体与靶点的结合能力提高,有时也可通过优化而提高配体的选择性。

以结构为基础的优化,必须建立在一个嵌合有配体的结构模型上,这种模型可以是假设的,也可以是通过计算或实验方法得到的。当有一个化合物与其靶点的复合物实验结构时,先导化合物的优化则更为可靠。实际优化操作是,一旦一轮优化过程结束(合成化合物并进行效价评价),常在获得实验结构后用新化合物作为先导物进一步进行优化,并通过一系列具有不同效价化合物进行实验结构确定而获得更多的信息,以便能得到各化合物准确的嵌合模型。从这些结果出发,能更详细地了解影响效价的因素。这些研究也许对某一特定的优化工作没有必要,但它对于以结构为基础的药物设计这一学科的发展具有重要价值。

通过先导化合物的优化能提高其与靶点的匹配性,这些匹配包括空间匹配、电性匹配、疏水性匹配、亲水性匹配等。与靶点的空间匹配性是最容易估算的一个参数,其中范德华距离是衡量这种匹配状况的一个重要指标。疏水、亲水与氢键作用等可称为化学匹配,分子模拟时是通过具体的分值来衡量的^[3]。

小范围匹配性的改进,通常可通过在高分辨图形工作站上简单地观察化合物的嵌合情况而实现。在这种情况下采用网状形式来显示溶剂化表面往往有助于问题的解决,而表面情况、化学匹配情况可用颜色显示出来。采用 GRID 程度进行考察和显示结合位点,并用官能团和疏收探针预测结合位点的方法,也已经成功地用于匹配性改进^[4]。尽管有人认为这些方式不是药物设计所必需,但无疑通过清晰的显示方式能引导高亲和性配体的设计。

当嵌合的配体结构受到制约或具有高度柔韧性时,优化的一个目标是适当减小制约或增加分子的刚性。这些变化所带来的影响,可通过计算机对起始化合物和修饰物的构象分析进行预测。此时,分子力学适应于这种研究,但在力场参数缺乏的情况下(如具有不正常的功能团、高度共轭体系或张力环),也许需要量子力学计算。现在在工作站上能方便地进行半经验或从头法计算。

通过先导化合物的优化可提高其生物利用度。为了提高生物利用度,有时必须改变化合物的物理化学性质,如辛醇/水分配系数、水中溶解度等,但通常要求在最低限度降低活性的情况下达到此目的。通过对先导化合物与靶点的嵌合结构的分子模拟研究后,可将优化选择在(1)分子与溶剂接触部分的效价中性部位,(2)分子中与靶点结合不重要的部位。

下面通过 HIV-1 蛋白酶抑制剂的设计,较全面地介绍先导化合物的优化过程^[5]。

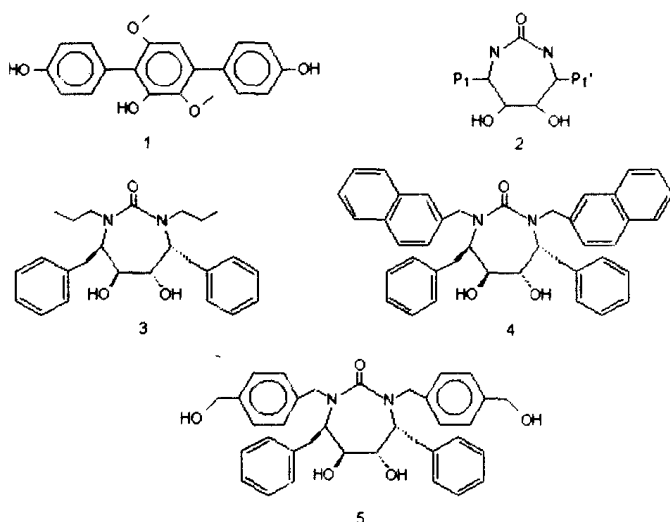
HIV-1 蛋白酶是一种天氨氨酸蛋白酶,该蛋白酶对于病毒粒子的组装与成熟是必需的。已经证明,通过抑制或突变使 HIV 蛋白酶失活,可以导致未成熟、非感染病毒粒子的产生。因此 HIV-1 蛋白酶已成为寻找抗 HIV 药物的一个重要靶点。

酶抑制剂设计的结构基础无疑是 HIV-1 蛋白酶。现在已经测定了 200 多个酶/抑制剂复合物的三维结构,而且数目仍在不断增加。为了开发能有效抑制这种可怕病毒感染的药物,已经广泛采用分子模拟技术。

到目前为止,已经设计了为数众多的具有抑制 HIV 蛋白酶活性的抑制剂,但是这些抑制剂大多数都具有多肽的特征而不利于生物利用。为了设计结构较小的抑制剂而使之具有较好的药代动力学特性,Dupont-Merck 公司采取了以下设计策略:(1)抑制剂中具有在高分辨 HIV 蛋白酶晶体结构中发现存在的与水分子相互作用的环境;(2)抑制剂为构象受到高度约束的环状抑制剂,这种抑制剂可能结构较小、并保留效价,而且能提高口服生物利用度。

从大量的 HIV 蛋白酶抑制剂的构象关系分析得知,具有 C_2 对称中心的双羟基结构对于效价十分重要,因此 Dupont-Merck 公司的设计者也在他们的设计中引入了这种结构。由于在他们的设计工作开始时,还没有有关双羟基如何结合到蛋白酶上的晶体结构,他们采用一种羟乙胺抑制剂结合到 HIV-1 蛋白酶上的 X 射线晶体结构^[6],并采用距离几何学程序 DGOM 来寻找药效团。从这种模型出发,他们构建了一个简单的三维数据库,搜索与酶 S1 和 S1' 片段结合的疏水基团、以及一个或两个与天冬氨酸催化中心结合的氢键

授体或受体。搜索是在剑桥数据库中进行,采用 MACCS - 3D 软件,结果得到化合物 1。



MACCS - 3D 可使用户从三维数据库中搜索到适合用户定义的几何限制参数的结构^[7]。结构 1 不单只是显示一个五取代的苯环能适当地使取代基与天冬氨酸 25 和 25' 作用,它同时也具有一个氧而与蛋白酶结构中的关键水分子相对应。考虑到苯环也许不是一个理想的能使其取代基到达酶疏水口袋中的骨架,因此分子模拟被用来逐步优化环的类型,这些环包括苯环、环己酮、环庚酮,最后得到七元环的环脲氮上的取代基及其他取代基的立体化学与构象。各种不同立体化学的实际效价与模拟结果得到了较好的吻合。模拟预测环脲取代基的立体化学最佳形式是:4R,5S,6S 和 7R。这种结构看起来是一种理想的刚性骨架,可以使芳香团进入 S1, S1', S2 和 S2' 口袋中,同时也可使羟基与天冬氨酸催化中心相互作用。另外,分子模拟显示脲的羰基氧占据了结构中关键水分子的位置。

如同分子模拟预测的一样,化合物 3 与酶具有强的结合能力($K_i = 4.7\text{nm}$),但是化合物 3 仅显示出中等抗病毒活性。分子模拟显示在 S2/S2' 亚基处仍能容纳较大的基团,因此在结构中引入萘基而得到化合物 4。实验表明,化合物 4 的效价提高了 10 倍($K_i = 0.3\text{nm}$),这也许是由于增加了疏水相互作用的缘故。但是这种酶抑制剂活性的增加,同样没有导致抗病毒活性的加强,这也许是由于萘基的亲脂性所致。因而进一步模拟时,在分子中增加了一个氢键基团,即萘环被对一羟基苯环取代而得到化合物 5。实验结果显示,化合物 5 具有抗 HIV 蛋白酶的活性($K_i = 0.27\text{nm}$) 和抗病毒复制的能力,同时也具有较好的口服生物利用度。该化合物是特异的 HIV 蛋白酶抑制剂,对血管紧张肽原酶、胃蛋白酶或组织蛋白酶 D 没有抑制作用,这也许是部分由于这些酶不具有 HIV 蛋白酶中所存在的结构水之故。X 射线衍射确定了十种环脲与 HIV 蛋白酶的结构,结果显示,化合物与 HIV 蛋白酶相互作用如同分子模型所预测的一样。

三、先导化合物的发现

利用分子模拟方法发现先导化合物大致包括两个方面:(1)三维数据库搜索,(2)全新药物设计。

1. 三维数据库搜索

三维数据库搜索发现,先导化合物就是利用计算机在含有大量化合物三维结构的数据库中,搜索能与生物大分子靶点匹配的化合物,或者搜索能与给定药效团相符的化合物。后面这种情形尤其适合于没有生物大分子的详细结构信息的情况,利用这种方法,可以快速地确定具有假定药效团的化合物。如果数据库与化合物样品资源库相配合,那么就可以形成设想、检测、优化或确定药效团的快速循环。目前实现这类搜索的软件很多,如 MSI 的 Catalyst 软件包等。在已知靶点结构的情况下,采用 DOCK 程序^[8,9],能对搜索到的化合物再次进行优化筛选,减少候选化合物的数目,以便采购或合成以及进行生物活性测试。

三维数据库的搜索常常可提供一些意想不到的化合物,或发现老药的新用途。有许多公司致力于建立三维数据库,如 MDL 公司的药物数据库(MDDR),综合医药化学数据库(CMC)等。NCI 将自己多年来针对不同形式的癌症筛选的近 50 万个合成和天然化合物,建立了相应的三维数据库^[10]。与此同时,各软件开发者在力争使软件微机化。所有这些都有助于使先导化合物的三维数据库搜索法在新药研究中发挥更大的作用。

下面以 HIV 整合酶抑制剂先导化合物的设计为例,对这一方法进行简单地介绍^[11]。

在 HIV 的生命周期中,病毒 DNA 插入寄主细胞染色体过程是病毒有效复制的关键一步。在 HIV-1 DNA 整合进入寄主细胞基因时的剪接与剪切等反应,都是由 HIV 整合酶所催化^[12]。由于整合酶在 HIV 复制循环中的关键作用,整合酶是抗 AIDS 药物研究的一个靶点。

体外实验已经发现了许多化合物能抑制整合酶活性,但是迄今为止还未见到基于整合酶抑制活性的抗 AIDS 药物出现。最近,整合酶催化中心及相关整合酶的晶体结构被确定^[13,14],但仍未见到有关整合酶——抑制剂的 X 射线或 NMR 结构的报道,有关抑制剂与整合酶活性部位结合的详细情况也不清楚,因此开发整合酶抑制剂的重要一步是确定药效团和发现先导化合物。

Nicklaus 等采用三维数据库搜索法成功地进行了药效团确定与先导化合物发现工作。他们从两个已知的 HIV-1 整合酶抑制剂咖啡酸苯乙酯 6 和蒽醌衍生物 7 出发^[15,16],得到了一个假定的抑制剂与整合酶结合的三点药效团(图 2),然后利用该药效团搜索 NCI 三维数据库。该数据库由 200 000 个化合物的三维结构组成,结果发现其中 267 个结构与该药效团匹配。这些匹配的化合物经体外筛选后,发现其中 19 个在微摩尔级能抑制整合酶的活性。为了确定该药效团的可靠性,他们接着建立了一个由已知的 152 个整合酶抑制剂组成的三维数据库,通过对该数据库的搜索,发现该药效团与这些化合物的活性之间存在着很好的相关性。通过对这些化合物进行药效团自动搜索后,证明了这些药效团对抑制整合酶活性的重要性,并显示可能存在第二个药效团,为进一步发现新的先导化合物提供了条件。

2. 全新药物设计

新的先导化合物可以在工作站上通过配体与靶点相互作用而设计,靶点表面的分子图形显示有助于完成这一工作。但是在没有构建和优化假想结构的情况下,很难用这种方法设计出全新的结构。采用全自动计算机全新药物设计可以有效地完成这项任务。全新药物设计又称为从头设计^[17],它根据受体部位的形状、性质要求,让计算机自动构建