

药物

主编 杨 铭

研究中的分子识别



北京医科大学中国协和医科大学联合出版社

药物研究中的分子识别

主编 杨 铭

参编人员

李荣昌 张亮仁 周田彦 郝美荣 朱树梅

北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

(京) 新登字 147 号

YAOWU YANJIU ZHONG DE FENZI SHIBIE

图书在版编目 (CIP) 数据

药物研究中的分子识别/杨铭主编. - 北京: 北京医科大学、
中国协和医科大学联合出版社, 1999.3

ISBN 7-81034-850-7

I. 药… II. 杨… III. 药物-分子-识别 IV. R91

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 37947 号

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社出版发行
(100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内)

责任编辑: 苟宝迪

责任校对: 何 力

责任印制: 张京生

山东莱芜市印刷厂印刷 新华书店经销

* * *

开本: 850×1168 1/32 印张: 5.75 字数: 148 千字

1999 年 3 月第 1 版 1999 年 3 月山东第 1 次印刷 印数: 1—3000 册

定价: 13.00 元

本书由
北京医科大学科学出版基金
资助出版

作者衷心感谢美国乔治亚州立大学 David Boykin 教授、David Wilson 教授及北京医科大学王夔教授、张礼和教授对本工作的支持。

序

在各种化学物质的应用中，关键性能之一是作用的选择性。从分析鉴定、化学诊断、农药和医药的作用，到体内为数众多又互相牵连但又各行其事的生化过程，以及精确的生物合成，无不选择性和可靠性。

在化学和生物化学发展历史中，对选择性的认识和利用，一直是一个主题。最早研究反应选择性的是分析化学家。Feigl 的经典著作 *Specific, Selective and Sensitive Reactions* 最先总结了避免干扰、提高分析检出选择性的方法。但最早发现结构选择性的是生物化学家。他们为解释酶对底物的选择性，设想了一些模型，其中一些概念与方法成为现在这方面研究的基础。这两方面的研究实际上开拓了两个领域，一是识别某一分子或离子，另一是识别一个分子（主要是大分子）的局部结构。这两方面都因生物学与化学的融合在本世纪中叶以后有了新的发展。不过开始化学家与生物学家在思路和方法上有很大不同。把北欧传统继承下来的化学家中，澳大利亚的 Perrin 开创用计算机模拟体液中多金属多配体体系中的物种平衡企图解释在如此复杂的体液中为什么能各就各位，各行其事。其后瑞士的 Sigel 用 Perrin 的思路和方法试图解决核酸对氨基酸（蛋白质）的识别。他以三元体系（一金属两配体体系）中混合配体络合物的稳定化为主线分析核酸如何选择氨基酸。他是以化学家观点对生物体系内选择性进行研究。他用的仍然是络合物溶液化学的方法，他所做的推论仅仅是按混配络合物中两不同配体相互作用强度进行的。因此距离生物大分子参与的结构选择性尚远。较早把化学与生物学融合从结构选择性讨论分子识别的是化学家出身的 Perrin 的同事 Albert。他所写的

Selective Toxicity 是一本开创性的专著。由于 Albert 既有像 Perrin 那样的宏观化学基础，又是对有机化学有研究的专家，他来研究药物和毒物作用的选择性有独到之处。尽管化学家在探索反应选择性上多有建树，但始终缺少从微观结构解释分子识别的思路。这一点是重要的，尤其是在生命过程中。那里不只是在为数众多的分子中要识别和选择所需的分子，还要在一个分子或一个分子组装体中识别和选择所需的位点。事实上，生物学家早已在酶 - 底物、激素 - 受体、抗原 - 抗体相互作用中想到了这种局部结构识别。但是，真正认识和观察这种识别是在 60 年代以后 X 射线晶体分析用于生物大分子之后。以此为契机，化学与生物学会合，构筑了一系列研究分子识别的领域和课题。这些研究在药物与靶分子的相互作用、蛋白质与核酸的相互作用、蛋白质与蛋白质的相互作用中寻找结构选择性规律，在六十年代以后进展迅速。八十年代以后，又有两个重要推动力使分子结构识别研究进一步提高。一是计算机图形显示技术，一是超分子化学。目前我们依赖这些概念和方法就有可能更有效地设计有高度结构选择性的药物、催化剂、探针等等。它将成为今后化学和生物学的主要内容。

杨铭教授所编写的这本书包括分子识别的概念和研究方法，并且对基于药物与靶分子相互识别的药物设计做了详细的讨论。它对生物学、化学和药物化学工作者都是一本富有启发性的参考书。

王 夔

一九九八年八月二十四日

目 录

序.....	(1)
第一章 分子识别的理化基础.....	(1)
一、前言.....	(1)
二、分子之间的相互作用力.....	(1)
(一) 共价键	(4)
(二) 非共价键	(7)
三、分子识别中的立体化学因素	(20)
(一) 构象对分子识别的影响.....	(20)
(二) 构型对分子识别的影响.....	(22)
四、研究分子识别的实验方法	(25)
第二章 分子识别的计算机模拟与药物设计	(28)
一、前言	(28)
二、分子模拟与计算方法	(29)
(一) 量子力学方法.....	(29)
(二) 分子力学方法.....	(30)
(三) 统计力学方法.....	(31)
(四) 神经网络方法.....	(32)
三、基于受体结构的药物分子设计	(33)
(一) 先导化合物优化.....	(34)
(二) 先导化合物的全新设计.....	(37)
(三) 先导化合物的三维数据库搜寻.....	(40)
四、三维定量构效关系	(42)
五、结语	(46)
第三章 反义核酸的分子识别与药物设计	(48)

一、以核酸为靶的药物研究进展概况	(48)
二、反义 RNA (asRNA) 与反义 DNA (asDNA)	(50)
三、三螺旋 DNA 的形成、结构及生物学意义	(52)
(一) 三螺旋 DNA 的结构及形成的分子机理	(53)
(二) 三螺旋 DNA 结构、构象的表征	(54)
(三) 三螺旋 DNA 的应用	(55)
四、反义核苷酸的修饰	(58)
(一) 磷酸骨架的修饰	(58)
(二) 碱基的修饰	(61)
(三) 核糖的修饰和取代	(61)
* (四) 多肽核酸	(62)
第四章 以 DNA 为靶的小分子药物研究中的分子识别	(66)
一、前言	(66)
二、小分子药物与 DNA 的识别与作用方式	(67)
(一) 共价结合	(68)
(二) 非共价结合	(71)
三、小分子药物与 DNA 作用的特异性研究	(86)
(一) 小分子药物与 DNA 作用的碱基特异性	(86)
(二) 小分子药物与 DNA 作用的序列特异性	(87)
(三) 提高药物与 DNA 作用序列特异性的方法 ——药物—寡核苷酸偶合物的设计	(88)
第五章 酶学研究中的两个重要进展与分子识别	(93)
一、核酶 (ribozyme)	(93)
(一) ribozyme 的发现	(93)
(二) 天然 ribozyme 类型及生物功能	(94)
(三) 催化作用的分子机理	(95)
(四) HH ribozyme 的设计	(96)
(五) HH ribozyme 的化学修饰	(97)
(六) 非经典的化学键修饰 ribozyme 研究新进展	(97)

二、抗体酶 (abzyme)	(100)
(一) abzyme 的发现	(100)
(二) abzyme 的分子识别基础	(101)
(三) abzyme 设计中的分子识别问题	(102)
第六章 以酶为靶的药物设计中的分子识别	(106)
一、前言	(106)
二、HIV 相关酶抑制剂的研究	(107)
(一) HIV 的复制机理	(107)
(二) HIV 逆转录酶抑制剂研究进展	(108)
(三) HIV 蛋白酶抑制剂设计中的分子识别	(109)
三、端粒酶 (telomerase) 及其抑制剂的研究	(114)
(一) 端粒酶 RNA 的结构识别与抑制剂研究	(115)
(二) 端粒酶蛋白质的结构识别与抑制剂研究	(117)
第七章 以受体为靶的药物分子设计	(121)
一、前言	(121)
二、受体与药物的相互作用—原理和生化基础	(123)
三、以受体为靶的药物分子设计	(126)
(一) 毒蕈碱型胆碱能受体 (M-R) 激动剂与阿尔茨海默病 (AD) 的研究进展	(127)
(二) 血管紧张素 II (A-II) 受体及拮抗剂的研究进展	(132)
(三) 血小板活化因子 (PAF) 受体拮抗剂的研究进展	(138)
第八章 抗癌金属配合物研究中的分子识别	(146)
一、金属配合物药物研究中分子识别的一般特点	(146)
二、顺铂类抗癌配合物研究中的分子识别	(150)
(一) 抗癌铂配合物的结构要求	(150)
(二) 细胞摄入铂配合物的机理及手性选择性	(152)
(三) 抗癌铂配合物与主要靶分子 DNA 的作用	(156)

三、非铂类金属抗癌配合物	(162)
(一) 主族金属配合物	(163)
(二) 过渡金属配合物	(164)
四、金属抗癌配合物的两极互补理论与多靶理论	(166)
(一) 两极互补理论	(166)
(二) 多靶理论	(167)

第一章 分子识别的理化基础

一、前言

分子间专一性地相互作用源于分子识别，而分子识别可以理解为配体与受体选择性地结合，并可能具有专一性功能的过程。一般较小的分子称为配体或底物，较大的分子称为受体。底物与受体的识别与分子结构密切相关，它不仅包括分子与分子间的识别，亦包括分子中某一部分结构对另一部分结构的识别，也就是说，分子识别已不是认识某种分子，而是认识分子中的某一部分结构。特别是在一个有序的高级结构的体系中，自己能够识别应该结合的方式而产生分子的自组装体更是赋予了分子识别以更深的意义。100年前 E. Fisher 用“锁匙”学说来描述分子识别，还只是针对刚性分子，之后 Koshland 提出的诱导契合学说则是开始趋向柔性分子的识别，这就是说不仅有一级结构的识别，而且有二级结构、三级结构的识别，而这种识别在化学及生命过程中是非常重要的，也是药物分子（底物）与蛋白质、核酸、生物受体等生物靶分子（受体）相互识别的关键所在。在本章中，我们将从决定这种识别的分子间相互作用力、能量及影响识别的小分子的结构因素诸方面对分子识别的理化基础进行阐述。

二、分子之间的相互作用力

大量研究结果表明，要直接测定两个微观对象（原子、分子）之间的相互作用力是不可能的，但许多情况下可以测出相互

作用能量。按照物理学的观点，力正是能量的导数，所以了解分子之间相互作用的能量就知道了相互作用力，可以根据能量来衡量力的大小。

分子间作用能所依赖的独立变量的数目随分子大小的增大而增多。如两个原子的相互作用能（E）只是相互间距离（R）的函数，E 与 R 的关系如图 1-1 所示，当两个氩原子相距很远时，

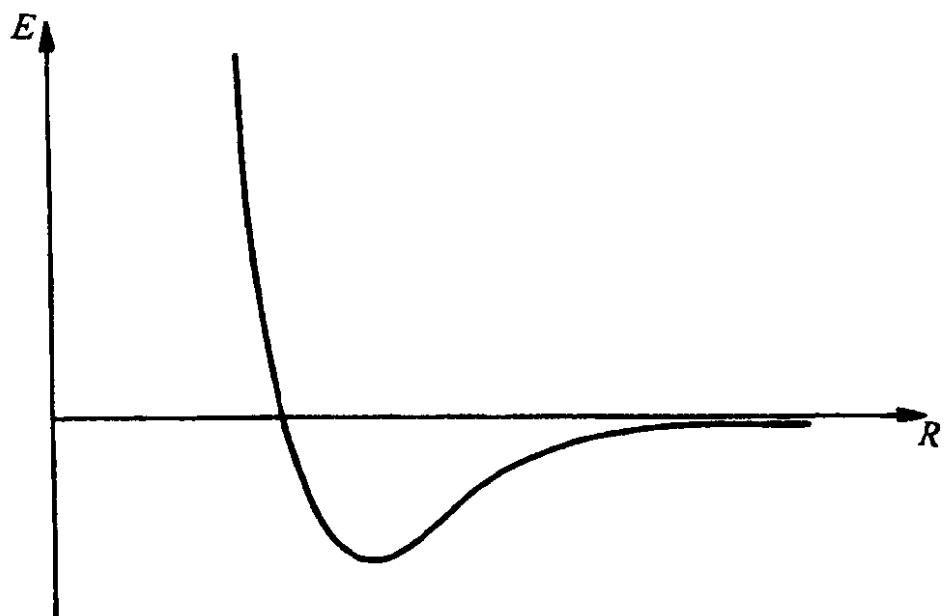


图 1-1 双原子间作用能 E 和原子间距 R 的函数关系

Figure 1.1 The interaction energy E as a function of the separation R of two atoms.

可以认为两者间没有作用力，规定此时体系的势能为零；当距离到一定程度时，表现为引力势能；两个原子进一步靠近时，则斥力势能占优势。能量最低的距离叫平衡间距（ R_e ），两个氩原子的平衡间距为 $3.76 \times 10^{-10} \text{ m}$ 。对于一个原子和一个双原子分子作用，则作用能有 3 个变量 R、 θ 及 r， θ 是原子与双原子分子中心的连线与双原子分子中两原子连线的夹角，r 是双原子分子的两原子核间距离。对于两个双原子分子，则需 6 个独立变量（R， θ_1 ， θ_2 ， ϕ ， r_1 ， r_2 ），其中 ϕ 是两个分子间中心轴与各自双原子核间连线所形成的平面之间的夹角（二面角）。对于含有 N_1 和 N_2 个原子的两个分子之间的作用能，其独立变量数为 $3(N_1 + N_2) - 6$ ，其中每个分子含有 $3N_1 - 6$ 和 $3N_2 - 6$ 个振动坐标（vibra-

tional coordinates) 用来描述分子的几何构型, 还剩 6 个变量 ($R, \theta_1, \chi_1, \theta_2, \chi_2, \phi$) (见图 1-2) 决定分子的位置和方向。 χ_1, χ_2 分别代表分子 1 和分子 2 在 θ_1 和 θ_2 时的取向。如 $(\text{H}_2\text{O})_2$ 分子有 12 个变量, 其中 6 个与两个水分子的振动坐标有关, 6 个决定水分子的位置与方向。

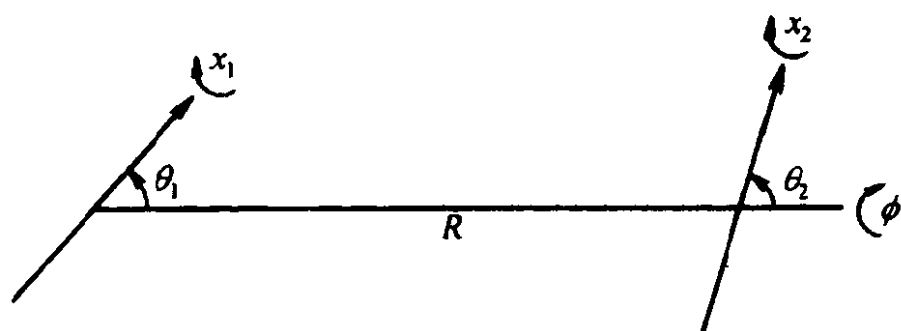


图 1-2 描述两个相互作用的非线性分子的位置和方向的六个变量 $R, \theta_1, \chi_1, \theta_2, \chi_2, \phi$

通常可以用 Born-Oppenheimer 近似来确定分子间作用势能 $E(R, \theta, r)$ 。但在处理实际问题时, 为方便起见, 通常把分子间相互作用力分为两类, 即强相互作用 (主要指共价键) 和弱相互作用 (又称分子间力, 包括范德华力、氢键等)。前者通常维持分子的基本结构, 它是使分子中或分子间的原子之间结合的主要相互作用, 这些作用决定着生物大分子的一级结构。也有部分药物是通过强相互作用起作用的, 其结合能远远超过分子的平均热动能 kT , (k 是 Boltzmann 常数, T 是绝对温度)。在正常体温, 分子的平均热动能相当于 2.5kJ/mol (0.6kcal/mol)。弱相互作用在数值上虽比强相互作用小得多, 但它在维持生物大分子的二级、三级、四级结构中以及在维持其功能活性中起着相当重要的作用, 也是药物与受体识别的重要识别方式。药物与生物大分子相互作用类型见表 1-1, 下面我们将逐一介绍这些作用类型。

表 1-1 药物与生物大分子作用成键类型

类型	键能(kcal/mol)	键半径(nm)	相关性质参数
共价键	40~110	-	键能
非共价键			
离子键	5	0.5~1.0	原子静电荷
加强离子键	10	0.5~1.0	原子静电荷
离子—偶极作用	1~7	0.5~1.0	原子电荷密度
偶极—偶极作用	1~7	0.2~0.4	原子电荷密度
氢键	1~7	0.2~0.4	原子电负性
电荷转移作用	1~7	0.2~0.4	电离势、电子亲合势
疏水作用	1~2(-CH ₂) ₅ (苯基)	0.2~0.4	分配系数、克分子折射
范德华力	0.5~1	0.2~0.4	极化率、等张比容

注：1kcal/mol = 4.18kJ/mol

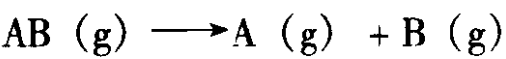
(一) 共价键

本世纪初，Lewis 等提出了原子价的电子理论，第一次指出原子间共用电子对可以生成共价键，满足“八隅律”。这个理论解释了大量事实，但对价键的方向和许多与“八隅律”矛盾的事例无法解释。直到 1927 年 Heitler 和 London 用量子力学处理氢分子问题之后，发展了价键（VB）理论和分子轨道（MO）理论，许多实质性问题才得以解决。现在，人们对共价键已有比较充分的了解，它是原子间较强的结合力，生命系统中底物与受体的键合也主要是指共价键的形成，也是一些药物在体内起作用的机制。

一般说来，每种原子都有确定数目的共价键，这是由原子的大小和原子外层的电子数目决定的。生物系统中常见的六种元素：C、H、N、P、O、S，这些原子极易和其他原子形成共价键，很少单独存在。每一种原子都有和其他原子形成共价键的特征数目：H 是 1。C 是 4。N 是 3，最多形成 4 个（如 NH₄⁺）。P

能形成 5 个共价键，这是由于体积大的 P 有更大的空间容纳电子。同理，O 可以形成 2 个共价键，而 S 的数目为 2 或 6。

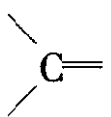
共价键的形成和断裂伴有很大的能量变化。按热力学的观点，双原子分子 A - B 的键能是指在 0.103MPa 和 298K 时反应体系



焓的改变量，它可以直接从热化学测量中测到。表 1 - 2 列出了生物系统中一些重要的共价键的键能。

表 1 - 2 生物系统中重要共价键键能 (kJ/mol 298K)

单键	能量	单键	能量	双 (叁) 键	能量
O - H	465	S - H	364	C = O	708
H - H	436	C - N	293	C = N	615
P - O	352	C - S	289	C = C	620
C - H	415	N - O	201	P = O	501
C - O	343	S - S	264	C ≡ C	812
C - C	331				

共价键的形成还有精确的成键方向，我们用键角来表示键与键之间的夹角，这个角度决定于中心原子外层电子轨道的相互排斥作用。例如，CH₄ 中中心原子 C 和 4 个 H 形成正四面体，任意两个 C - H 键之间的夹角为 109.5°，这里每一个键都是单键，C 和 H 共享一对电子。当一个 C 和 3 个其他原子相连时，则有一个原子和 C 分享两对电子，形成双键 ，此时 C 和其他三个原子存在于一个平面上，原子在双键轴上不能自由转动，这种双键的刚性结构对蛋白质、核酸等生物大分子的形状具有很大意义。在生物系统中，两个原子很少分享 6 个电子，因此很少形成叁键。此外，外层电子轨道中不成键的孤对电子也能影响键角的大小，比如 H₂O 中两个 H - O 键之间的夹角为 104.5°，小于正四

面体时的夹角，这就是 O 的孤对电子的排斥作用所引起的。

通过衍射、光谱等实验，已测定大量分子立体构型的数据，获得许多分子中成键原子间的距离。由实验结果得知，在不同分子中两个原子间形成相同类型的化学键时，键长相近，这说明共价键键长有一定的守恒性。通过实验测定各种共价化合物的键长，求出它们的平均值，即得到共价键的键长。根据键长可以求出原子的共价半径，如实验测定 C—C 单键键长为 154pm，取该值的一半可以当作 C 原子的共价半径，即 77pm。表 1-3 中列出生物体系中常见原子的共价半径数据。利用这些数据又可近似算出键长。

表 1-3 生物体系中主要原子的共价半径 (pm)

共价单键	C	H	N	P	O	S
	77	32	75	106	73	102
共价双键	C	N	O	S		
	67	62	60	94		

如前所述，共价键有一定的大小和方向，是有机分子之间最强的作用力。药物与受体的某（些）原子共享一对或数对电子，构成共价键合。共价键能很高，除非被体内特异的酶解可使其断裂外，很难恢复原形，是不可逆过程。不可逆共价作用的药物常形成长期的药理效应及毒理效应，这类作用方式常见于抗癌药、抗寄生虫药、化疗药、抗生素、杀虫剂等。药物的主要共价结合方式有烷基化作用、酰基化作用和磷酸化作用，举例如表 1-4。药物的共价基团往往具有较高的化学活性而缺乏特异选择性。有些药物或毒物本身结构并不包含共价结合基团，而是在人体内转化生成共价结合基团，所生成的化合物再和生物分子以共价键相互作用。自力霉素和致癌物苯并蒽已被证实先在体内转化，再通过生成正碳离子而发生烷基化作用。

表 1-4 药物的主要共价结合方式

方式	作用基团	药物举例
烷基化	N-氯乙基	氮芥药物、环磷酰胺
	正碳离子	甲磺酸乙酯
	氮丙啶基 (aziridine)	氮丙啶苯醌
	双氧乙基	T-2 毒素
酰基化	β -内酰胺基	青霉素、头孢菌素
	氨甲酰基	毒扁豆碱
	邻二甲酸酐基	斑螫素
磷酸化	磷酸基	丙氟磷 (PFP)

(二) 非共价键

生物体系中分子识别的过程不仅包含了化学键的形成，而且具有选择性的识别。共价键存在于一个分子或多个分子的原子之间，决定分子的基本结构，是分子识别的一种方式。而非共价键（又称次级键或分子间力）决定生物大分子和分子复合物的高级结构，在分子识别中起着非常重要的作用，许多药物也是通过非共价作用而起到药效的。

非共价键这里是指分子间或基团间弱相互作用的总称。其本质离不开分子间的静电作用，虽然分子间也有磁力和重力作用，但一般予以忽略。从分子间势能出发，我们把各种非共价键分为两大类：长距离作用和短距离作用，两种类型的作用能又是由不同形式的能量所组成，见表 1-5。前者本质上为离子、偶极矩、诱导偶极矩之间的作用力，其分子间作用的势能随分子间距离以 R^{-m} 下降 (m 是正整数)，各种作用详见表 1-6。而短距离分子间的作用能随一个 e^{-aR} 倍于含 R 的多项式而减小，其库仑力和交换能可以用孤立分子的电子波函数的重叠来解释，而在长距离作用中通常认为电子只属于某一特定的分子，没有必要考虑这种