

药物分子设计的发展

*
陈凯先 罗小民 蒋华良

(上海药物研究所 上海 200031)

摘要 简要回顾了药物分子设计的发展,重点评述了间接药物设计方法和直接药物设计方法,并列举了若干药物分子设计的成功例子,最后提出了该领域在 21 世纪的发展前景。

关键词 药物分子设计, 发展, 展望

新药的寻找迄今为止仍是一件耗资巨大而效率很低的工作,迫切需要应用新的理论方法和技术加以改进。药物分子设计就是在这种社会需求的强大推动下逐步发展起来的。

药物分子设计作为一个独立和明确的研究领域,始于 20 世纪 60 年代,迄今已有 40 年。值此世纪交替之际,谨就药物分子设计的发展,作一简单的回顾和展望。

很久以前,药物分子设计就已成为人们的美好梦想。但是,直到物理学、化学、计算机科学和现代生物学有了充分的发展之后,药物分子设计才具有现实的可能性。

1 药物分子设计的发展

1894 年,Emil Fischer 提出了药物作用的“锁钥原理”,即药物作用于体内特定部位,有如钥匙与锁的关系。这一思想虽然过于简单粗糙,但是其基本思路至今仍然富有活力和价值。

从 20 世纪 60 年代以来,经过 40 年的不断探索和努力,现代药物设计的策略和方法已经大为丰富,基本可以分成两大类:间接药物设计和直接药物设计。

1.1 间接药物设计

这类方法是从一组小分子(例如几十个)化合物的结构和生物活性数据出发,研究其结构-活性关系的规律,在此基础上预测新化合物的生物活性(药效)和进行高活性分子的结构设计。在药物设计研究的早期(60—80 年代),人们对于药物作用的靶标分子大多缺乏了解,只能从药物小分子化合物的结构和活性出发,去归纳和认识药物分子的构-效关系,因此,间接药物设计成为这一时期药物设计研究的主要方法。

定量构效关系(Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR)是一种重要的间接药物设计方法。最早的 QSAR 方法由 Hansch 于 1962 年提出。它对一组小分子化合物的理化参数

* 中国科学院院士,上海药物研究所所长
收稿日期:2000 年 6 月 20 日

和生物活性数据进行线性回归,拟合各项系数,得到反映化合物构-效关系的方程,可用于预测新化合物的生物活性,设计具有更高活性的药物分子。稍后出现的此类方法还有 Free Wilson 分析方法(1964)等。

Hansch 和 Free Wilson 模型,都没有考虑化合物的空间结构,因此被称为 2D-QSAR 方法。从 70 年代末期至 90 年代前半期,各种在化合物三维结构基础上进行 QSAR 研究的方法,即 3D-QSAR 方法逐步发展起来,较重要的方法有: Distance Geometry (G. M. Crippen, 1979) 方法、CoMFA (R. D. Cramer III, 1988) 方法和 CoMSIA (G. Klebe, 1994) 方法。

其中, CoMFA 方法应用较广,它采用化合物周围的静电场、范德华力场、氢键场的空间分布作为化合物结构描述变量,通过数学方法建立化合物的生物活性与化合物周围上述各力场空间分布之间关系的模型。根据这一模型,即可经计算机处理,显示出应当如何进行结构的改造,以提高化合物的生物活性。

除了 2D 和 3D QSAR 方法之外,药效基团模型方法也是一种重要的间接药物设计方法。药效基团通常是指那些可以与受体结合位点形成氢键相互作用、静电相互作用、范德华相互作用和疏水相互作用的原子或官能团。对一组具有生物活性的化合物进行化学结构的分析和比较,找出其共同的特征结构,即可建立药效基团的模型。

1.2 直接药物设计

这类方法以药物作用的对象——靶标生物大分子的三维结构为基础,研究小分子与受体的相互作用,设计出从空间形状和化学性质两方面都能很好地与靶标分子相结合的药物分子。这种方法就象根据“锁”的形状来配钥匙一样,因此被称为直接药物设计。随着分子生物学、细胞生物学和结构生物学的发展,越来越多的药物作用靶标分子(蛋白质、核酸、酶、离子通道……)被分离、鉴定,其三维结构被阐明,为直接药物设计方法的应用提供了有利的条件。90 年代以来,直接药物设计已逐渐成为药物设计研究的主要方法。

直接药物设计,可以分为全新药物设计(*de novo drug design*)和数据库搜寻(或称分子对接, Docking)两类。

1.2.1 全新药物设计 这类方法是根据靶标分子与药物分子相结合的活性部位(“结合口袋”)的几何形状和化学特征,设计出与其相匹配的具有新颖结构的药物分子。目前实现全新药物设计的方法主要有两种。一种方法称为碎片连接法,该方法首先根据靶标分子活性部位的特征,在其“结合口袋”空腔中的相应位点上放置若干与靶标分子相匹配的基团或原子,然后用合适的连接片段(linker)将其连接成一个完整的分子。另一种方法称为碎片生长法,该方法首先从靶标分子的结合空腔的一端开始,逐渐“延伸”药物分子的结构。在“延伸”过程中,每一步都要对其延伸的片段(基团或原子)的种类及其方位进行计算比较,选择最优的结果,再向下一步延伸,直至完成。

1.2.2 数据库搜寻(分子对接, Docking) 这类方法首先要建立大量化合物(例如几十至 100 万个化合物)的三维结构数据库,然后将库中的分子逐一与靶标分子进行“对接”(Docking),通过不断优化小分子化合物的位置(取向)以及分子内部柔性键的二面角,寻找小分子化合物与靶标大分子作用的最佳构象,计算其相互作用及结合能。在库中所有分子均完成了对接计算之后,即可从中找出与靶标分子结合的最佳分子(前 50 名或前 100 名)。这类方法虽然计算量较大,但库中分子一般均是现存的已知化合物,可以方便地购得,至少其合成方法已知,因而可

以较快地进行后续的药理测试, 实际上这种方法就是在计算机上对几十万、上百万化合物通过分子对接的理论计算进行一次模拟“筛选”。只要库中的化合物具有足够好的分子多样性, 从中搜寻出理想的分子结构就是可能的。自 1982 年美国加州大学旧金山分校的 Kuntz 发展了第一个 Dock 程序后, 这一方法已得到广泛应用。

靶标生物大分子的三维结构是直接药物设计的基础, 然而迄今为止仍有许多靶标生物大分子的三维结构由于种种原因无法用实验方法测定。但是其中一些蛋白, 它们的一维结构(氨基酸序列)都已阐明。因此, 蛋白质三维结构的研究, 特别是从蛋白质的氨基酸序列预测其三维结构, 就成为药物设计研究中必须解决的重要问题。现已发展起来的预测蛋白质三维结构的计算方法主要有以下三类: ①同源模建法(homology), 即根据蛋白质一级序列的相似性, 预测蛋白质的三维结构; ②穿针引线法(threading), 即根据蛋白质的一级序列与某已知结构的相容性预测蛋白质的三维结构; ③从头预测法(ab initio), 即从氨基酸序列以及氨基酸在水溶液中的物化性质来推测蛋白质的三维结构。

随着药物设计方法的逐步建立、发展和完善, 药物设计研究的深度和广度都有了空前的发展。目前已有一些应用理论方法设计而获得成功的药物上市或进入临床研究阶段。这标志着药物设计的研究已开始向实用化方向迈进。下面, 试列举若干药物分子设计的成功例子。

(1) HIV-蛋白酶抑制剂的设计。艾滋病毒 HIV 损害人体免疫系统须通过多个环节。阻断这些环节, 有可能找到治疗艾滋病的药物。HIV 蛋白酶、逆转录酶、整合酶是其中的三个重要靶点。Hoffmann-La Roche 的研究人员首先设计了 HIV-1 蛋白酶的底物模拟物。通过分子模拟, 确定了该酶的抑制剂所需的最短长度, 并确定了该抑制剂中心带羟基的碳原子倾向于 R 构型。在此基础上, 设计成功了抗艾滋病药物 Saquinavir, 该化合物具有很强的 HIV-1 蛋白酶抑制作用($K_i = 0.12\text{nm}$), 1995 年经美国 FDA 批准上市。

Abbott 的研究人员通过 HIV-1 蛋白酶三维结构的研究, 发现该酶具有一个二重旋转轴的对称性(C_2)。针对这一特点, 研究人员设计了一种对称性的抑制剂。分子对接模拟计算的结果发现, 所设计的对称性抑制剂实际上以一种不对称的结合方式与 HIV-1 蛋白酶结合。于是研究人员重新设计了不对称的抑制剂, 并考虑了抑制剂末端对口服生物利用度的影响, 终于得到了抗艾滋病药物 Ritonavir, 该药于 1996 年经美国 FDA 批准上市。

(2) 抗疟原虫药物的设计。F. E. Cohen 等利用同源模建法建立了疟原虫半胱氨酸蛋白酶的三维结构, 然后针对该结构利用 Dock 程序对 MDL/ACD 数据库进行“分子对接”, 从中选择出 400 多个与酶结合较好的化合物做进一步研究, 对一些有希望的化合物都进行了药理测试, 发现有 10% 的化合物活性至少达到 $100\mu\text{m}$, 有一个化合物对疟原虫半胱氨酸蛋白酶的活性达到 $10\mu\text{m}$ 。利用 Dock 程序得到的结合模型对其实行进一步结构改造, 发现其同系物中有一个化合物阻断疟原虫传染或在红细胞中成熟的 IC_{50} 值为 150nm 。这个结果非常鼓舞人心, 因为它表明即使是同源模建的生物大分子结构也可成功地用于药物设计。

(3) 乙酰胆碱酯酶抑制剂的分子设计。石杉碱甲是我国发明的抗早老性痴呆药物, 其疗效和安全性均显著优于美国 FDA 1994 年批准的同类药物他克林。石杉碱甲是从我国特有的植物千层塔中提取的一种生物碱, 但该种植物资源有限, 有效成分含量很低。

石杉碱甲的抗早老性痴呆作用是通过抑制人脑内乙酰胆碱酯酶活性来实现的。我国研究人员从乙酰胆碱酯酶-药物复合物的晶体结构出发, 以酶活性区域的氨基酸残基为作用位点,

用药物设计软件 LUDI 来搜寻 Insight ③ 碎片库, 设计了化合物骨架, 经合成和药理测试, 证实其 IC_{50} 值与计算的预测值一致。然后基于乙酰胆碱酯酶-药物复合物的三维结构, 进行了 3D-QSAR(三维构效关系)研究, 从基本骨架出发设计一系列结构改造和修饰的衍生物。经过几轮设计—合成—药理测试的研究循环, 合成了不多的化合物, 就使其活性(IC_{50})从 $1\mu\text{m}$ 数量级提高到 $0.01\mu\text{m}$ 数量级, 超过天然提取的石杉碱甲大约 10 倍, 且作用的选择性明显优于石杉碱甲。

(4) 基于 HIV-1 衣壳蛋白(Capsid Protein)与 Cyclophilin A 作用机理寻找新的抗 HIV 病毒抑制剂。李全等基于壳体蛋白与 CypA 复合物的晶体结构以及 HIV-1 壳体蛋白与 CypA 之间的分子识别机制, 设计了一系列多肽化合物。用固相多肽组合合成和经典有机合成方法合成了多肽组合库。其中一个多肽抑制 CypA 的 IC_{50} 约为 $6\mu\text{m}$, 是目前为止所发现的活性最高的 CypA 抑制剂, 为进一步设计有机分子抑制剂奠定了基础。这也是目前基于蛋白质-蛋白质作用界面进行药物设计的有限几个成功的例子之一。

(5) 药物作用的靶标生物大分子——蛋白质(酶)、核酸、离子通道的三维结构模建。核酸生物大分子的三维结构在一定程度上决定了对一个有效药物的结构要求, 因而是药物设计的重要基础。我们采用同源模建方法并结合结构优化的理论计算, 建立了一批药物作用的靶标生物大分子的三维结构, 包括: 阿片 μ , δ 和 κ 受体; 多巴胺 D_1 和 D_2 受体; 人体乙酰胆碱酯酶和丁酰胆碱酯酶; 钾离子通道的孔区结构; HIV-1 共受体 CCR5; 阿片孤儿受体(ORL1)等。

这些受体(酶)是国际研究的热点, 其三维结构至今未能用实验方法测定。我国研究人员用理论计算和分子模拟方法建立了其三维结构, 为这方面的深入研究提供了条件。其中一些模型已得到国外实验研究的证实。

2 新世纪的展望

药物分子设计研究作为化学、物理学、生命科学、计算机和信息科学几大学科交叉、综合的产物, 在 20 世纪奠定了发展的基础, 不仅在理论和方法上取得了丰硕的成果, 而且也己迈开实际应用的步伐。21 世纪将是科学技术更加蓬勃发展的世纪。可以预期, 药物分子设计领域将会成为一个充满新的挑战、激动人心的科学前沿。

2.1 人类基因组和生物信息学的发展, 将为药物设计研究开辟更广阔的空间

今年 3 月 17 日出版的 *Science* 以大量的篇幅刊登了有关 drug discovery 的文章。据其统计, 目前治疗药物的作用靶点共 483 个, 其中受体占 45%, 酶占 28%, 激素和细胞因子占 11%, DNA 占 2%, 核受体占 2%, 离子通道占 5%, 其余 7% 为未知。随着人类基因组研究的进展, 大量的疾病相关基因将被发现, 这将使得药物作用的靶标分子急剧增加, 药物分子设计将面临前所未有的广阔的用武之地。因此, 要加强药物分子设计与人类基因组和生物信息学研究的衔接, 发展相应的配套方法。

2.2 超级计算机的发展将为复杂生物体系的理论计算和药物设计创造有利条件

计算机技术的发展日新月异。当前, 国外已出现每秒运算万亿次以上的超级计算机, 我国研制的超级计算机运算速度也已达 3 000 亿次以上。这种迅猛发展的势头, 必将引起计算化学、计算生物学和药物分子设计领域的革命性变化。美国 IBM 公司提出的“兰色基因”计划,

NIH 提出的万亿次计算时代的分子生物学计划, 值得我们充分注意。目前复杂生物大分子体系的理论计算和分子模拟仍面临严重困难, 其主要原因是受到计算机能力的限制。随着计算机技术的迅速发展, 这种状况将有很大改观。为此, 要大力发展基于超级计算机、能适应复杂生物体系理论计算和药物设计要求的新方法和软件技术。

2.3 计算机辅助药物设计与组合化学技术相结合将显示巨大威力

组合化学是 90 年代发展起来的能迅速产生大量不同化合物的新方法。由于它在寻找新药和发展新型材料方面具有巨大的应用前景, 受到国际学术界和产业界的高度重视, 发展很快。几年来的实践表明, 组合化学与计算机辅助药物设计两者之间不仅没有出现互相代替的动向, 相反出现了互相结合、互相促进的趋势。药物分子设计方法在组合化学库的模拟和优化、具有特定导向的“聚焦库”(Focus Library) 的设计及以天然产物为基础的组合化学库的结构衍化等方面, 将可发挥独特的重要作用。

2.4 基于结构的药物设计将向基于作用机理的药物设计方向发展

目前的药物设计方法, 主要是一种基于药物和靶标生物大分子三维结构的设计方法 (Structure-Based Drug Design)。这种方法仅仅考虑了化合物与靶标生物大分子之间的相互结合, 而未考虑两者之间的其它作用方式。一个优良的药物除了与靶标分子产生所预期的相互作用之外, 还应该具有良好的体内输运和分布性质以及良好的代谢性质, 而这些要求在基于结构的药物设计方法中未能予以考虑。随着新世纪生命科学、计算机科学的发展, 考虑药物作用不同机理和全部过程的药物设计方法——基于作用机理的药物设计方法 (Mechanism-Based Drug Design) 将逐步建立和完善。

尽管今天人们在药物设计领域中取得的成功还非常有限, 但我们有充分的理由相信, 在新的世纪里药物设计研究一定会取得迅速发展, 人们的梦想一定可以逐步实现。

参考文献

- 1 Hansch C., Maloney P., Fujita T. *et al.* Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*, 1962, 194: 178– 180.
- 2 Cramer III R., Paterson D., Bunce J. Comparative molecular field analysis (CoMFA). I. effect of shape on binding of steroids to carried proteins. *J Am Chem Soc*, 1988, 110: 5959– 5967.
- 3 Lewis R. A., Leach, A. R. Current methods for site-directed structure generation. *J Comput Aided Mol Des*, 1994, 8: 467– 475.
- 4 Kuntz I. D. Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science*, 1992, 257: 1078– 1082.