

花生四烯酸代谢网络研究：从关键酶的单靶标抑制剂到多靶标抑制剂

刘莹*, 陈政, 尚尔昌, 杨坤, 位灯国, 周璐, 蒋小路, 贺冲, 来鲁华*

(北京大学化学与分子工程学院, 北京分子科学国家实验室(筹), 分子动态与稳态结构国家重点实验室, 北京 100871)

摘要: 炎症引发的疾病是人类常见的免疫系统疾病, 医药市场对抗炎药物的需求量极大。花生四烯酸代谢网络是产生炎症介质的主要网络, 网络中的一些蛋白质已成为抗炎药物设计的重要靶标, 但这些单靶标药物不能很好地控制网络的平衡, 同时容易引起副作用。大多数炎症引发的疾病是由多级联炎症代谢共同影响的结果, 为了更好地治疗这类由多个药靶参与调控的复杂疾病, 发展针对花生四烯酸代谢网络的多靶标药物具有迫切性。本文综述花生四烯酸代谢网络的关键靶标 (如磷脂酶 A2、环氧合酶、5-脂氧合酶和白三烯 A4 水解酶等) 的特异性抑制剂和多靶标抑制剂研究进展。

关键词: 花生四烯酸代谢网络; 关键酶; 单靶标抑制剂; 多靶标抑制剂

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 03-0231-11

Controlling arachidonic acid metabolic network: from single- to multi-target inhibitors of key enzymes

LIU Ying*, CHEN Zheng, SHANG Er-chang, YANG Kun, WEI Deng-guo, ZHOU Lu, JIANG Xiao-lu, HE Chong, LAI Lu-hua*

(College of Chemistry and Molecular Engineering, BNLMS, State Key Laboratory for Structural Chemistry of Unstable and Stable Species, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Inflammatory diseases are common medical conditions seen in disorders of human immune system. There is a great demand for anti-inflammatory drugs. There are major inflammatory mediators in arachidonic acid metabolic network. Several enzymes in this network have been used as key targets for the development of anti-inflammatory drugs. However, specific single-target inhibitors can not sufficiently control the network balance and may cause side effects at the same time. Most inflammation induced diseases come from the complicated coupling of inflammatory cascades involving multiple targets. In order to treat these complicated diseases, drugs that can intervene multi-targets at the same time attracted much attention. The goal of this review is mainly focused on the key enzymes in arachidonic acid metabolic network, such as phospholipase A2, cyclooxygenase, 5-lipoxygenase and eukotriene A4 hydrolase. Advance in single target and multi-target inhibitors is summarized.

Key words: arachidonic acid metabolic network; key enzymes; single-target inhibitors; multi-target inhibitors

1 前言

花生四烯酸代谢网络 (AAnetwork) 是炎症代谢

网络中的一个核心网络。当致炎因子入侵细胞时, 磷脂被磷脂酶 A2 (PLA2) 【EC 3.1.1.4, phospholipase A2】催化, 发生花生四烯酸 (AA) 的炎症级联代谢。人体的 AAnetwork 中, 主要有两条代谢路径: ① 通过环氧酶 (COX) 【EC 1.14.99.1, cyclooxygenase】的作用生成各种前列腺素 (prostaglandins, PGs); ② 通

收稿日期: 2009-01-05.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20773002, 20873003).

*通讯作者 Tel: 86-10-62751490 or 62757486, Fax: 86-10-62751725,

E-mail: liuying@pku.edu.cn or lhlai@pku.edu.cn

过脂氧酶 (LOX) 【EC 1.13.11.34, 5-lipoxygenase】的作用生成白三烯 (leukotrienes, LTs)、脂质过氧化物。该代谢网络中的 PLA2、COX、5-LOX、白三烯 A4 水解酶 (LTA4H) 【EC 3.3.2.6, leukotriene A4 hydrolase】等, 分别是抗炎药物设计的重点靶标。

研究表明, 人体内炎症代谢网络存在着复杂的动态调控机制, 多种致炎因子、细胞因子参与调控, 单靶点药物不能起到良好的治疗效果, 如传统的非甾体类抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 阿司匹林有诱发加剧哮喘的毒副作用, Merck 公司的选择性 COX-2 抑制剂 rofecoxib 增加了病人患心血管疾病的危险, 发展多靶标药物具有迫切性和非常重要的意义。目前多靶标药物已用在阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease)^[1, 2]、癌症^[3, 4]和精神类疾病^[5]的治疗中。以系统生物学观点开展基于蛋白质相互作用网络、细胞器网络、信号传导网络、代谢作用网络、基因转录网络等的多靶点药物设计已受到关注^[6-8]。本文综述花生四烯酸代谢网络中关键酶的单靶标抑制剂和多靶标抑制剂研究进展。

2 单个靶标抑制剂

如图 1 所示, 花生四烯酸代谢网络的关键酶有 PLA2、COX、5-LOX、LTA4H 等, PLA2 位于花生四烯酸代谢网络的源头, COX、前列腺素 E₂ 合成酶 (PGES) 【EC 5.3.99.3, prostaglandin E synthase】属于 COX 代谢通路, 5-LOX、LTA4H 属于 LOX 代谢通路。各关键酶的单靶标抑制剂在炎症研究与治疗中发

挥了重要作用。

2.1 PLA2 抑制剂

PLA2 催化磷脂水解生成花生四烯酸, 进而花生四烯酸发生炎症级联代谢。根据其存在部位、氨基酸序列同源性和生化特点, 磷脂酶 A2 可以分为三类: 分泌型磷脂酶 A2 (sPLA2)、胞浆型磷脂酶 A2 (cPLA2) 和非钙离子依赖型磷脂酶 A2 (iPLA2)^[9], 其中 sPLA2 分子质量较低 (13~18 kDa), 催化活性需要毫摩尔浓度的钙离子; cPLA2 通常分子质量较大 (85 kDa), 其活性位点不需要钙离子的参与, 但是需要微摩尔浓度的钙离子来协助 cPLA2 从胞液转移至细胞膜上; 而 iPLA2 的催化反应不需要钙离子的参与。cPLA2 和 sPLA2 能够选择性水解磷脂得到花生四烯酸, 成为抗炎药物研究的重要靶标^[9, 10]。自从 Peter Vadas 发现 PLA2 与炎症的关系以来^[11], 人们一直在设法研究 PLA2 的高效抑制剂, 并取得了很大的进展。

2.1.1 cPLA2 抑制剂 最早的 cPLA2 底物类似物抑制剂 (AACOCF₃) (1) 是将花生四烯酸分子的末端羧基改为三氟甲基羰基结构得到的。研究发现 AACOCF₃ 对人的 cPLA2 有很好的抑制活性, 它与靶标缓慢结合形成紧密结合复合物^[12], 核磁证明 AACOCF₃ 以可逆方式结合在 cPLA2 活性部位。进一步研究表明三氟甲基羰基在结合过程中起着重要作用, 围绕保留三氟甲基羰基的 cPLA2 抑制剂设计, 得到结构新颖的 cPLA2 选择性抑制剂 (BMS-229724)

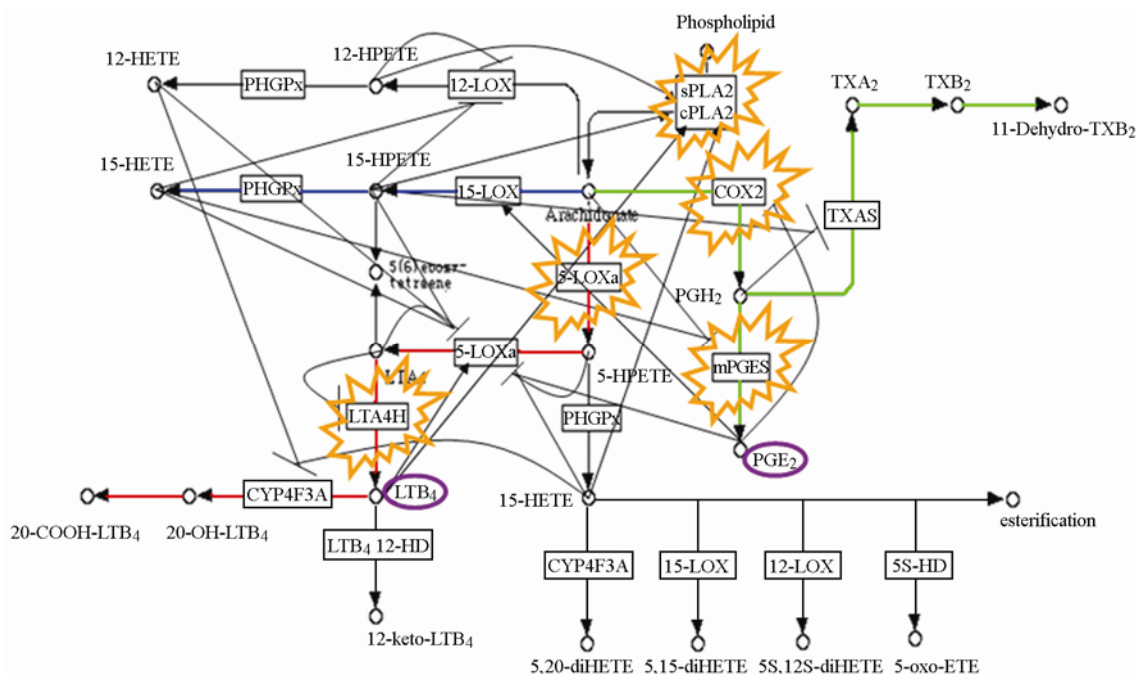


图 1 花生四烯酸代谢网络示意图, 黄色星内的是网络的关键酶

(2), 这是第一个有体内抗炎活性的 cPLA2 抑制剂^[13], BMS-229724 先进入磷脂双分子层与底物竞争, 再与 cPLA2 结合而抑制其活性, 在一系列炎症反应模型研究中 BMS-229724 表现出显著的抗炎活性。

根据磷脂底物的结构, 设计并合成了系列以 2-羰基酰胺为中心骨架并带有末端羧基结构的 cPLA2 抑制剂, 并对侧链进行了构效关系研究。比较这些抑制剂对 cPLA2、iPLA2 及 sPLA2 的选择性, 最近得到了在炎症模型中有很高活性的 cPLA2 选择性抑制剂。

Lehr 课题组^[14-18]深入研究了吡啶环骨架的 cPLA2 抑制剂, 其中一个对 cPLA2 体外活性达到纳摩尔级。惠氏公司以 LTD4 受体拮抗剂 zafirlukast 为先导化合物, 得到另一类吡啶 cPLA2 抑制剂, 其中 efipiladib (3) 目前已进入临床 I 期研究^[19]。日本盐野义公司开发的以吡咯为基本结构的 cPLA2 抑制剂 pyrrophenone, 其体外 IC₅₀ 达到 0.042 μmol·L⁻¹ 且有很高的细胞活性^[20]。

2.1.2 sPLA2 抑制剂 Bennion 等设计并合成了一系列含有羧基的 sPLA2 的磷脂类似物抑制剂, 并利用核磁技术和分子建模研究了抑制剂和酶之间的相互作用, 其中最有效的抑制剂为 (FPL67047XX), 对人非胰腺分泌 PLA2 的 IC₅₀ 为 0.021 μmol·L⁻¹^[21]。在此基础上, Cha 等解出了 FPL67047XX 与人类关节滑液 PLA2 所形成的复合物晶体结构, 并详细阐述了两者之间的相互作用^[22]。

Katsumura 课题组^[23]基于非环甘油磷脂同系物的分子模型进行第二代 PLA2 抑制剂的研究, 得到了具有强抑制活性的噁唑啉酮磷脂类似物 (oxazoline)。典型的非底物类似物抑制剂有羧酸类化合物和吡啶酰胺类化合物。其中双乙酸 (R023-9358) 是一类具

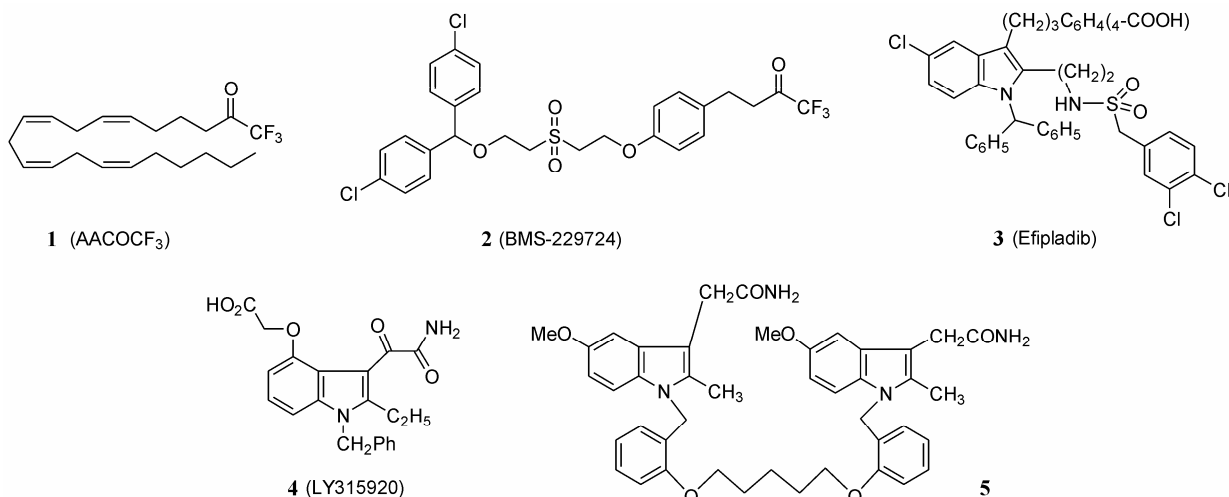
有强抗炎、抗过敏活性的磷脂酶 A2 抑制剂, 其对 sPLA2 的 IC₅₀=0.23 μmol·L⁻¹^[24], 二酸 (BMS-181162) 对 sPLA2 的 IC₅₀=8 μmol·L⁻¹^[25]。

Eli Lilly 公司以人非胰腺分泌 PLA2 为靶酶, 对吡啶美辛进行基于结构的设计和优化, 得到高选择性的人非胰腺分泌 PLA2 抑制剂^[26], 其中 LY315920 (4), 已进入 II 期临床评价。作者课题组综合复合物晶体结构 (PDB code:1DB4) 研究, 得到稠合杂环噁啉、吡啶做中心骨架的活性化合物, 其中一系列是新型双吡啶化合物, 化合物 5 对人非胰腺分泌 PLA2 的抑制达到 0.024 μmol·L⁻¹^[27]。

2.2 COX 代谢路径关键酶抑制剂研究进展

花生四烯酸代谢网络的 COX 代谢通路中, 通过 COX 的作用生成多种前列腺素 (prostaglandins, PGs), 具体过程为: ① COX 本身具有环氧化酶和过氧化酶的双重功能, 首先通过环氧化酶的催化使 AA 转化生成前列腺素 G2 (prostaglandin G₂, PGG₂), 再通过过氧化酶的催化使 PGG₂ 获得 2 个电子, 进而被还原成 PGH₂; ② PGH₂ 是各种前列腺素的共同前体, 可以被单个的合成酶、还原酶或异构酶转化成各种具有生物活性的前列腺素类化合物如 PGE₂、PGD₂、PGH₂、PGH₂ 和血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂) 等。关键酶有 COX, PGES 等。

2.2.1 PGES 抑制剂 目前已发现的 PGES 有 4 种形式: 膜相关 PGE₂ 合成酶 1 (mPGES₁)、胞质 PGE₂ 合成酶 (cPGES)、膜相关 PGE₂ 合成酶 2 (mPGES₂) 及 μ 类谷胱甘肽 S 转移酶 (GSTμ)。与其他几类酶不同, mPGES₁ 作为一种诱导酶, 在花生四烯酸炎症代谢网络中扮演着重要的角色^[28], 是抗炎药物研究的新靶标^[29]。但 mPGES₁ 发现时间较短, 对其抑制剂的研究尚处于初始阶段, Thorén 等^[30]发现环氧合酶抑制剂



NS398 及硫化舒林酸对 PGES 抑制活性 IC_{50} 分别为 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Riendeau 等^[31]对脂肪酸类及其类似物以及前列腺素类化合物进行了对 $m\text{PGES}_1$ 的抑制研究。发现有较高抑制活性的 15-脱羟基- $\Delta^{12,14}$ 前列腺素 J_2 (15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂) IC_{50} 为 $0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。之后, 他们又根据 5-脂氧合酶激活蛋白 FLAP 抑制剂 MK-886 设计合成一系列 $m\text{PGES}_1$ 抑制剂, 最终得到化合物 (6) 和 (7) 均达到纳摩尔水平抑制活性, 且相对于 $m\text{PGES}_2$ 有很高的选择性。

最近 Merck 公司开发的 MF63 (8) 抑制 $m\text{PGES}_1$ 活性也达到 $0.013 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 且对其他同类酶有很高的选择性^[32]。

2.2.2 COX-2 抑制剂 研究表明, NSAIDs 的抗炎活性机制是抑制 COX 的产生^[33]。20 世纪 90 年代初发现了 COX 存在两种不同的类型: 构造型 COX-1 和诱导型 COX-2, 随后证实 NSAIDs 的抗炎作用来源于对 COX-2 的抑制, 不良反应来源于对 COX-1 的抑制, 经典的 NSAIDs 由于抑制了具有正常生理功能的 COX-1 产生严重的副作用, 如胃肠溃疡或出血、肾功能障碍等, 由于这些不良反应, 选择性与特异性 COX-2 抑制剂的研究曾成为抗炎药研究的热点^[34]。

已报告的 COX-2 选择性抑制剂以 rofecoxib 类化合物^[34]和 celecoxib 类化合物为代表。

Rofecoxib (9) 为二芳基咪唑酮类化合物, 其他一些结构修饰的咪唑酮类化合物被研究并作为 COX-2 选择性抑制剂。如化合物 10 可以在体内代谢成为甲磺基类化合物^[35], 作为甲磺基类化合物的前药, 具有更好的生物利用度。

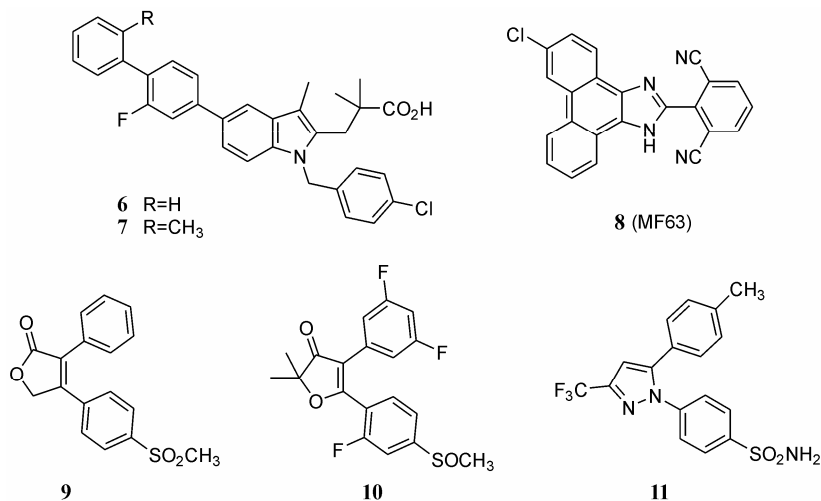
Celecoxib (11) 是二芳基吡唑类化合物, 于 1998 年被批准在美国上市, 现今仍然是市面上的主要消

炎镇痛药之一。对二芳基吡唑类化合物进行类似物研究, 得到更具选择性和更高生物利用度的 COX-2 选择性抑制剂^[36]。COX-2 抑制剂作为抗炎药物在临床试验和上市早期, 因其显著的疗效和较小的肠胃道不良反应都达到人们的预期标准, 一度销量大增。但随后的心血管疾病上升事件和肾脏毒副作用接踵而来, 2005 年美国 FDA 经安全性评估决定, rofecoxib 和 valdecoxib 撤出市场停止使用, 其他产品则要在使用说明书上特别标明黑框警示。这种状况要求开发更有效的、安全性更好的抗炎药物^[37]。

2.3 5-LOX 代谢途径关键酶抑制剂研究进展

花生四烯酸代谢网络的 LOX 代谢通路中, 通过 LOX 作用生成白三烯 (leukotrienes, LTs) 和脂质过氧化物, 具体代谢途径为: 花生四烯酸在 5-脂氧酶的催化下, 生成 5-羟基过氧化二十碳四烯酸 (5-HPETE); 接下来被氧化成白三烯 A_4 (LTA_4) 和 5-羟基二十碳四烯酸 (5-HETE), LTA_4 既可以在 LTA_4H 的作用下生成 LTB_4 , 又可以在 LTC_4 合成酶的作用下生成 LTC_4 , 进而可被催化为 LTD_4 、 LTE_4 等其他白三烯类化合物。这些白三烯类代谢产物对炎症反应、肿瘤、哮喘、动脉硬化、心脑血管疾病的发生和发展起着十分重要的作用。5-脂氧酶催化 5-HPETE 和 LTA_4 这两步的生物合成^[38], 关键酶有 5-LOX, LTA_4H 。

2.3.1 5-LOX 抑制剂 1976 年, 人们从兔子多形核白细胞的代谢产物中发现 5-HPETE 和 5-HETE, 首次发现了 5-脂氧合酶。5-LOX 蛋白包含 674 个氨基酸残基, 分子质量为 78 kD。按与 5-LOX 的作用方式, 其抑制剂可分为 3 大类: 影响 5-LOX 氧化还原过程的抗氧化类抑制剂、金属螯合剂和与 AA 竞争结合活性位点的非氧化还原类抑制剂。还有一种间接的 5-LOX 抑制剂 (FLAP 抑制剂), 通过阻止 5-LOX



与 FLAP 作用而抑制 LT 的生物合成。

从吡唑啉酮衍生物 phenidone 改进得到的抗氧化类抑制剂 AA-861 等, 是非特异性的, 因干扰其他氧化还原系统血红蛋白的形成^[39]、毒副作用较大, 限制了其发展。

直接针对 5-LOX 活性位点设计, 得到 ZD-2138^[40] 和 ZM 230487 (L-697, 198) 两个特异性抑制剂^[41]。这两类化合物的体外抑制活性 IC_{50} 值约为 $0.02 \sim 0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 但是在临床试验中药代动力学实验结果不理想。

金属螯合剂类化合物主要以羟肟酸 (hydroxamic acid) 和 *N*-羟基脲羟肟酸 (*N*-hydroxyurea) 的衍生物为主。羟肟酸类化合物因在体内可迅速代谢为羧酸类衍生物不再发展。第一个 *N*-羟基脲羟肟酸衍生物类 5-LOX 抑制剂是齐留通 (zileuton) (12), 经 FDA 批准作为处方药在美国治疗支气管哮喘^[42], 但这个化合物有肝脏损伤等副作用。后来得到的 atreleuton (13), 已进入 III 期临床^[43]。

通过抑制 FLAP 蛋白的 5-LOX 的间接抑制剂有 MK-866^[44] 和 Bay-X-1005 (14) 等, Bay-X-1005 已在临床试验中评价对于哮喘的疗效。

2.3.2 LTA4H 抑制剂 LTA4H 是含锌金属蛋白酶, 具有水解酶和氨肽酶双重活性。作为水解酶, LTA4H 功能性水解炎症代谢的关键中间产物白三烯 A_4 (LTA_4), 得到白三烯 B_4 (LTB_4)。LTB₄ 是炎症细胞的化学诱导和激活剂, 被认为是许多急性和慢性炎症的重要化学介质。抑制 LTA4H 等于减少了 LTB₄ 的含量, 从而降低炎症的发生^[45]。作为氨肽酶, LTA4H 作用于炎症相关的多肽^[46]。LTA4H 起双重活性作用的活性位点是部分重叠的, 锌离子、残基 Glu271 和 Arg563 是两种活性起作用都必须的, 残基 Glu296 和 Tyr383 为氨肽酶活性所必须, 而残基 Asp375 只是水解酶活性所必须。

在过去 30 年中, 大量关于 LTA4H 的抑制剂已见报道。

SC-57461A (15) 作为典型的 LTA4H 抑制剂^[47], 具有很强的体内和体外抑制活性, 但由于 SC-57461A 在体内代谢缓慢和积累性的毒性, 研究已止步于 II 期临床试验。

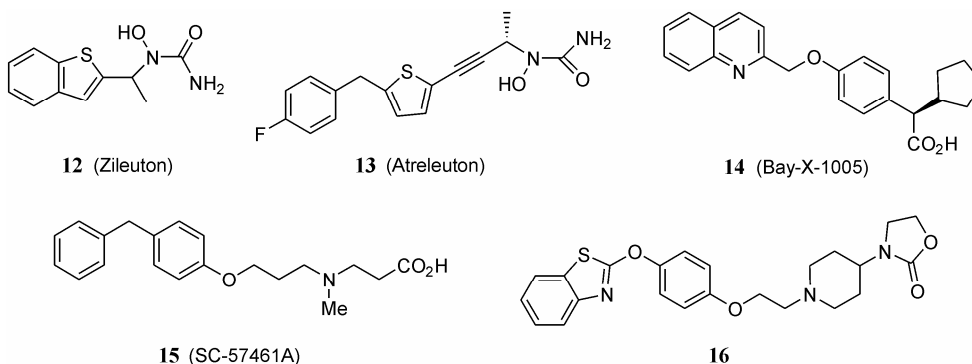
接下来又对 SC-57461A 第一个芳环、含氮烷基链、羧基以及含羧基的烷基链等进行修饰^[48, 49], 得到一系列有较好体内外活性的新结构化合物, 如将第一个苯环用苯并噻唑环代替的化合物 (16), 体外活性 $IC_{50} = 0.011 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 人全血实验 (WBA) $IC_{50} = 0.060 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Haeggstrom 课题组报道了 LTA4H 与 BESTAIN^[50]、captopril 和两个竞争性抑制剂^[51]的复合物晶体结构, 给出许多关键残基和活性作用位点的信息。四种抑制剂以不同的方式与该酶的同一个活性口袋进行了结合, 这为基于 LTA4H 结构多样性的抑制剂的设计提供了有益的信息。

在花生四烯酸代谢网络中, 单靶标药物的研究, 除了治疗其直接引发的炎症, 还为多靶标抑制剂设计奠定了基础。这些靶标都是网络的关键酶, 而多靶标是由不同通路的关键酶组成, 目前大多数的多靶标药物是从已知的单靶标药物改造过来或是将两种单靶标化合物拼接而成的。

3 多靶标抑制剂

多靶标药物这一新概念传承了祖先几千年药物研究的精髓和数亿年自然的进化, 如蛇毒与蜘蛛毒素是多组分体系, 而植物也具有自身抵抗病菌的组合策略, 多靶标研究策略可看成是当代研究人员的再发现。多靶标药物大致可分为: ① 同时作用于多个靶点的一种抑制剂, 如治糖尿病药物 metformin, 治白血病的 Gleevec; ② 多个单靶标药物的组合, 如把蛋白酶抑制剂与多种抗病毒的药物混合使用治疗 AIDS



的“鸡尾酒疗法”。

3.1 多靶标药物研究概况

目前科学地获得有效的多靶标药物还处于探索阶段,如何系统地进行多靶标药物的设计还有待于进一步研究。系统生物学在多靶标药物的研究中正在发挥越来越多的作用^[52]。

3.1.1 系统生物学在疾病相关分子网络控制研究方面的进展 分子网络控制强调药物对于体系的综合效应,不仅考虑药物分子对疾病蛋白的调控,也考虑药物分子对其他与疾病表征无关的分子的影响,通过调控多种蛋白,使体系恢复正常状态,以达到高效、低毒副作用的治疗效果^[1–5]。作者课题组的杨坤等人最近提出了一种针对疾病相关分子网络进行多靶标控制的方法,该方法的步骤包括:① 构建疾病相关的分子网络和数学模型;② 利用计算的方法找出网络的关键结点以及最优的控制方案;③ 针对多靶标开展药物设计。作者利用所建立的网络模型预测了一些常用 NSAIDs 药物的毒副作用,与已知的临床数据相吻合 (表 1)^[53]。

Morphy 等在一篇综述中介绍了一个基于片段的数据库用于多靶标药物设计的进展,认为这些小片段的使用,可以避免先导发现策略中产生的键合低、口服生物利用性差的大而复杂的分子^[8]。

网络中各靶点间存在着相互作用,与单靶标药物的高选择性、强抑制相比,多靶标药物一般具有低选择性和弱抑制性的特点^[54]。

3.1.2 系统生物学在基因功能调控的研究进展 系统生物学的研究包括两方面的内容,首先是实验数

据的取得,这主要包括提供生物数据的各种组学技术平台,其次是利用计算生物学建立数学模型。Wei 等^[55]建立了药物成瘾相关基因的知识数据库,作者统计分析了 1 500 套人类药物成瘾相关基因,确定了 18 条直接与成瘾相关基因的路径,进一步选出与常见的成瘾药物乙醇、尼古丁、可卡因、 μ 阿片密切相关的 5 条路径,其中有 2 条是以前没有被联系到药物成瘾的。作者参考真实系统的功能调控,建立了这 5 条路径的分子网络图,通过钙离子依赖的蛋白激酶 II 连接信号转导快的正反馈和转录翻译慢的正反馈,这些快慢正反馈可解释一些药物成瘾的不可逆现象,有望在药物的成瘾控制中起到指导作用。

3.2 与炎症相关的多靶标抑制剂

3.2.1 抗炎药物副反应的发生机制 本文前面所讲的 NSAIDs 能诱发加剧哮喘、引发消化道损伤和肾损害等, COX-2 选择性抑制剂增加患心血管疾病的危险,受这些不良反应影响的严重患者需要住院治疗,极其严重的导致死亡。研究表明,这些不良反应的发生机制是抑制 COX 活性而干扰了花生四烯酸代谢,从而阻断前列腺素 (PG) 的生物合成。PG 具有多种生理功能,如通过抑制胃酸分泌、增加胃黏液及碳酸氢盐分泌、稳定溶酶体膜等对胃黏膜起保护作用。抑制 COX 导致 PG 减少,结果使胃黏膜失去保护屏障而造成了胃肠道的损害。另一方面,由于 COX 被抑制,脂氧酶代谢途径被激活,产生更多的致炎性白三烯,对机体内在平衡产生新的干扰。

3.2.2 与炎症相关的多靶标抑制剂研究 与炎症相关的多靶标抑制剂中,研究最多的是 COX 和 5-LOX

表 1 上市药物毒副作用预测

Inhibitor	Relative IC ₅₀	Inhibition of PGE ₂	Inhibition of LTB ₄	[PGI ₂]/[TXA ₂]
Control	—	—	—	0.681 7
Aspirin	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 0.01	90.0%	—	5.194 7
Ibuprofen	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 0.5	90.0%	—	3.559 9
Naproxen	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 0.7	90.0%	—	2.291 5
6-MNA	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 1.5	90.0%	—	2.233 4
Acetaminophen	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 1.6	90.0%	—	2.157 4
Indomethacin	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 1.9	90.0%	—	1.961 3
Meloxicam	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 18	90.0%	—	0.533 5
Nimesulide	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 19	90.0%	—	0.520 7
Diclofenac	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 29	90.0%	—	0.439 9
Celecoxib	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 30	90.0%	—	0.434 7
Rofecoxib (VIOXX)	IC ₅₀ (COX-1:COX-2) = 267	90.0%	—	0.280 4
Licofelone	IC ₅₀ (5-LOX) = 0.18 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IC ₅₀ (COX-2) = 0.21 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IC ₅₀ (COX-1) = 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	96.5%	90.0%	0.698 3

注: Control 是不给药时的正常情况。PGI₂/TXA₂ 比值用于毒副作用预测指标。当 PGI₂/TXA₂ 比值比正常值偏高时, 药物具有出血的副作用; 当比值偏低时, 具有心血管毒副作用。

的双靶标抑制剂。de Gaetano 等^[56]的综述指出: ① 抑制 COX-1 可防止血小板 TXA₂ 形成; ② 抑制 COX-2 可下调白细胞的激活和增加血管炎症; ③ 抑制 5-LOX 可进一步减少白细胞炎症、防止血栓形成并减少因抑制 COX-1 引起的肠胃损伤。用低剂量的阿司匹林与 COX-2 选择性抑制剂联合使用, 对凝血有效, 但没改变对消化道的副作用; 而 5-LOX 与 COX 的双靶标抑制剂可以突破抑制 COX-1/COX-2 的局限—具有少的肠胃损伤、小的心血管风险同时防止血栓形成。COX 和 5-LOX 的双靶标抑制剂有 tepoxalin、tebufelone、DHDMBF、darbufelone、BF389、RJW63556、PGV20229、CI986 和 licofelone 等。Tepoxalin、tebufelone 和 CI986 因代谢问题不再发展, 其他的还在继续研究中, 最具有代表性的 5-LOX/COX 双重抑制剂是 licofelone (又称作 ML3000)^[57], 正进行临床 III 期试验, 它能有效地抑制白细胞的跨细胞代谢和粘附, 所以能抑制半胱氨酰 LTs 的合成, 在动物实验中, licofelone (17) 在抗炎、抗过敏、退热剂量下未引起胃肠损害, 在临床前期和临床期研究也未表现出肝毒性。报道的 COX-2/5-LOX 双靶标抑制剂按 4 种方式获得: ① 从 NSAIDs 改进的抑制剂^[58]; ② 从 COX-2 选择性抑制剂改进的抑制剂^[59]; ③ 从 5-LOX 抑制剂改进的抑制剂^[60]; ④ 组合 COX-2/5-LOX 药效片段得到的抑制剂^[61]。

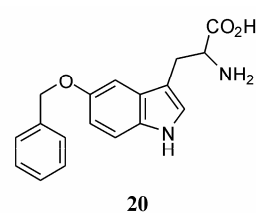
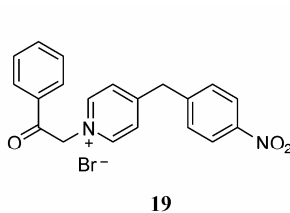
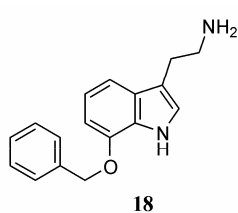
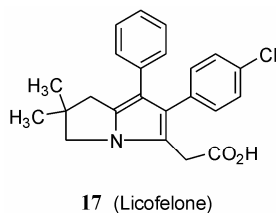
最近也有文献报道同时抑制花生四烯酸代谢两条代谢路径的其他关键酶的多靶标抑制剂, 如 5-LOX/PGES 双靶标抑制剂, 但这些已知的双靶标抑制剂并不是综合考虑整个花生四烯酸代谢网络性质设计的。

3.3 针对花生四烯酸代谢调控网络的多靶标抑制剂设计

3.3.1 多靶标抑制剂的控制方案 为了系统研究花生四烯酸代谢网络的多靶标药物, 本课题组发展出进行多靶标抑制剂的控制方案。基于 KEGG 数据库与累积的实验数据, 首先建立了中性粒细胞中的花生四烯酸代谢调控网络模型^[62], 并通过实验对模型预测的结果进行了检验, 确认单靶标的抗炎药不能有效地同时控制 PGs 与 LTs 的产生, 无法实现无毒副作用的有效治疗。通过进一步的网络动力学分析, 发现组

合抑制这两条通路上的两种或多种酶, 可以有效地同时抑制两种炎症因子的产生, 并保持其他有正常功能产物的浓度; 在此基础上作者将原来的单细胞模型扩展为三细胞模型, 即中性粒细胞、内皮细胞与血小板中的花生四烯酸代谢调控网络模型, 发展了一套基于生物网络的最优多靶标控制方案计算方法—MTOI (multiple-target optimal intervention)。MTOI 采用蒙特卡罗模拟退火计算方法, 通过研究疾病状态 (疾病时网络的状态) 向治愈状态 (期望得到的疾病治愈后网络的状态) 的转变过程, 来设计安全有效的多靶点控制方案。MTOI 分为两个阶段: 第一阶段是通过基于网络的药物靶标敏感性分析, 找出体系中关键蛋白 (靶标), 第二阶段是通过蒙特卡罗模拟退火优化给药策略, 寻找符合用户定义的安全给药方案。通过 MTOI 分析, 作者确认 PLA2、COX-2、PGES、5-LOX 与 LTA4H 是治疗炎症的重要靶标, 在此基础上开展了药靶组合分析, 找到了可能的多靶点组合方案, 包括 licofelone 与具有很好的开发潜力的药靶组合: PGES/LTA4H、PLA2/COX/LTA4H 等。

3.3.2 基于结构的多靶标药物设计方法 为了针对预测出的最优药靶组合进行多靶标药物设计, 作者正在发展基于结构的多靶标药物设计方法。在花生四烯酸代谢网络中, 作者探索了针对其中的两种关键酶——PLA2 和 LTA4H 的双功能抑制剂设计。作者利用 Pocket v.2^[63]程序分别建立这两种酶与抑制剂作用的药效团, 分析比较这些蛋白药效团进而确定它们的公共药效团; 再与数据库分子对接相结合, 筛选有可能与两种酶都结合的分子。具体计算过程如下: ① 利用对接程序 DOCK4.0 对 ACD3D 数据库中 22 万多个化合物与 LTA4H 结合的构象进行了预测; ② 采用本实验室开发的 Pscore 程序来挑选能够与公共药效团匹配的化合物, 得到了 163 个能够与公共药效团匹配的化合物; ③ 利用 Autodock 程序进一步精确地分析这些化合物在 PLA2 和 LTA4H 中的结合构象, 并分析与公共药效团的匹配情况来进一步进行挑选; ④ 对打分较好的化合物进行了酶抑制活性测定, 发现 3 个化合物 (18~20) 能在 10 μmol·L⁻¹ 级别同时抑制 LTA4H 和 PLA2。作者还利用该方法, 设计合成了一种已知 LTA4H 抑制剂的类似物, 用于研究对 PLA2



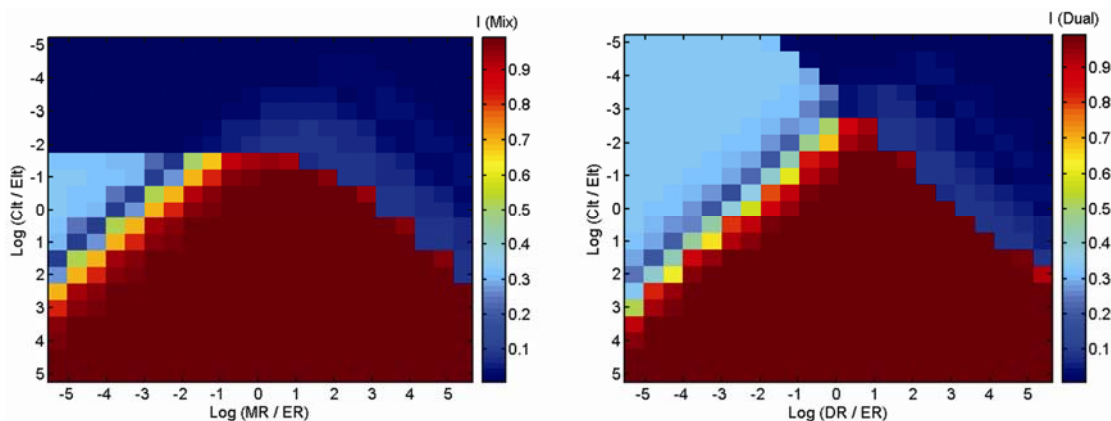


图2 双功能 COX-2/5-LOX 抑制剂 (a) 与单功能抑制剂混合物 (b) 治疗效果模拟。图中, I (Mix) 是单功能抑制剂混合物的抑制强度, I (Dual) 是双功能抑制剂的抑制强度, CIt 是抑制剂的总浓度, CEt 是酶的总浓度, ER 是 COX-2 与 5-LOX 的酶活比例值

的可能作用, 酶活性测试显示: 其对 LTA4H 的水解酶抑制活性 IC_{50} 为 $0.035 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对于 PLA2 的抑制活性为 $7.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [64]。

3.3.3 双靶标药物的优势 双靶标药物可以与两种靶标作用, 为了探讨双靶标抑制剂与两种单靶标抑制剂比较, 作者在花生四烯酸代谢调控网络模型中, 模拟了抑制剂浓度与抑制剂对不同靶标的相对抑制强度对双靶标 COX-2/5-LOX 抑制剂与两种单靶标抑制剂混合物的治疗效果的影响 (图 2) [62]。在模型中, 双靶标抑制剂对不同靶标的相对抑制强度通过设计分子与靶标作用的抑制常数进行调控, 用 5-LOX 与 COX-2 双靶标抑制剂的抑制常数的比值 DR 表示, $DR = Ki_{5-LOX}/Ki_{COX-2}$; 单靶标抑制剂混合物对不同靶标的相对抑制强度通过调节抑制剂的混合比例实现, 用 COX-2 抑制剂与 5-LOX 抑制剂在混合物中浓度的比值 MR 表示, $MR = CI_{COX-2}/CI_{5-LOX}$ 。抑制剂的治疗效果通过它们对前列腺素类和白三烯类致炎因子的抑制强度进行评估。

模拟结果发现, 当抑制剂浓度较大时, 双靶标抑制剂与单靶标抑制剂混合物都能达到很好的治疗效果。但在低浓度情况下, 双靶标抑制剂的抑制强度明显好于单靶标的抑制剂混合物。这一结果表明, 双靶标抑制剂比单靶标抑制剂混合物可以在更大的浓度范围内发挥作用。一方面, 在使用相同剂量药物的情况下, 如果这两类抑制剂在体内的代谢速率相同, 双靶标抑制剂则更持久地发挥治疗效果, 这样就可以延长双靶标药物两次服药的时间间隔, 更方便患者使用; 另一方面, 双靶标抑制剂较低的药物剂量就能达到和单靶标抑制剂混合物相同的治疗效果, 在临床治疗时可以避免抑制剂混合物出现的各组分相互干扰问题, 降低毒副作用发生的可能性。

从整体考虑, 多靶标药物比单靶标药物更具有发展意义。虽然多靶标药物可从已知的单靶标药物改造得到, 或从两种单靶标化合物拼接而成, 但多靶标药物并不是若干单靶标药物的简单加合, 还需要很多规律性的研究。

4 结论

花生四烯酸代谢网络中的关键酶 PLA2、COX、5-LOX、LTA4H 等作为抗炎药物设计的重要靶标已经引起了广泛重视, 在这些酶抑制剂基础上已经研发出很多药物, 并用于治疗炎症引发的疾病, 但也出现了不少的毒副作用, 这些毒副作用的可能原因之一是这些单靶标药物不能维持整个体系的平衡。这种情况在很多复杂疾病的药物研发中都存在, 因此多靶标药物的研究越来越受到关注, 系统生物学在药物研发中的作用也受到更多的重视。作者发展了针对疾病相关分子网络寻找关键作用靶标和最优控制方案的 MTOI 计算方法, 并且在花生四烯酸代谢网络的分析中取得了成功; 所发展的基于公共药效团和分子对接相结合的方法在双功能抑制剂设计中取得了初步成功。相关研究不仅为基于花生四烯酸代谢网络的抗炎药物设计提供了新思路, 也为基于系统生物学的药物设计提供了可行的研究方法, 有望在更多的针对疾病相关分子网络的多靶标药物设计中发挥作用。

References

- [1] Bolognesi M, Minarini A, Rosini M, et al. From dual binding site acetylcholinesterase inhibitors to multi-target-directed ligands (MTDLs): a step forward in the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2008, 8: 960–967.
- [2] Bolognesi ML, Banzi R, Bartolini M, et al. Novel class of

- quinone-bearing polyamines as multi-target-directed ligands to combat Alzheimer's disease [J]. *J Med Chem*, 2007, 50: 4882–4897.
- [3] Chen CH, Liu DZ, Fang HW, et al. Evaluation of multi-target and single-target liposomal drugs for the treatment of gastric cancer [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72: 1586–1594.
- [4] Petrelli A, Giordano S. From single- to multi-target drugs in cancer therapy: when aspecificity becomes an advantage [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15: 422–432.
- [5] Wong EH, Nikam SS, Shahid M. Multi- and single-target agents for major psychiatric diseases: therapeutic opportunities and challenges [J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2008, 9: 28–36.
- [6] Korcsmáros T, Szalay M, Böde C, et al. How to design multi-target drugs: target search options in cellular networks [J]. *Invited Review to Expert Opinion on Drug Discovery*, 2007, 2: 1–10.
- [7] Csermely P, Agoston V, Pongor S. The efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26: 178–182.
- [8] Morphy R, Rankovic Z. Fragments, network biology and designing multiple ligands [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12: 156–160.
- [9] Meyer MC, Rastogi P, Beckett CS, et al. Phospholipase A(2) inhibitors as potential anti-inflammatory agents [J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11: 1301–1312.
- [10] Serhan CN. Preventing injury from within, using selective cPLA₂ inhibitors [J]. *Nat Immunol*, 2000, 1: 13–15.
- [11] Vadas P, Hay JB. Secretion of a hyperemia-inducing moiety by mitogen or glycogen stimulated mononuclear inflammatory cells of sheep and rabbit [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1980, 62: 142–151.
- [12] Street IP, Lin HK, Laliberte F, et al. Slow-binding and tight-binding inhibitors of the 85-kDa human phospholipase-A2 [J]. *Biochemistry*, 1993, 32: 5935–5940.
- [13] Burke JR, Davern LB, Stanley PL, et al. BMS-229724 is a tight-binding inhibitor of cytosolic phospholipase A2 that acts at the lipid/water interface and possesses anti-inflammatory activity in skin inflammation models [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 298: 376–385.
- [14] Lehr M. Synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of 3-acylindole-2-carboxylic acids as inhibitors of the cytosolic phospholipase A2 [J]. *J Med Chem*, 1997, 40: 2694–2705.
- [15] Lehr M, Klimt M, Elfringhoff AS. Novel 3-dodecanoylindole-2-carboxylic acid inhibitors of cytosolic phospholipase A(2) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11: 2569–2572.
- [16] Griessbach K, Klimt M, Elfringhoff AS, et al. Structure-activity relationship studies of 1-substituted 3-dodecanoylindole-2-carboxylic acids as inhibitors of cytosolic phospholipase A(2)-mediated arachidonic acid release in intact platelets [J]. *Arch Pharm*, 2003, 335: 547–555.
- [17] Ludwig J, Bovens S, Brauch C, et al. Design and synthesis of 1-indol-1-yl-propan-2-ones as inhibitors of human cytosolic phospholipase A(2)α [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 2611–2620.
- [18] Hess M, Elfringhoff AS, Lehr M. 1-(5-Carboxy- and 5-carbamoylindol-1-yl)propan-2-ones as inhibitors of human cytosolic phospholipase A2α: bioisosteric replacement of the carboxylic acid and carboxamide moiety [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 2883–2891.
- [19] McKew JC, Lee KL, Shen MW, et al. Indole cytosolic phospholipase A2 α inhibitors: discovery and *in vitro* and *in vivo* characterization of 4-{3-[5-chloro-2-(2-[(3,4-dichlorobenzyl) sulfonyl] amino) ethyl]-1-(diphenylmethyl)-1H-indol-3-yl} propyl}benzoic acid, efipladib [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 3388–3413.
- [20] Ono T, Yamada K, Chikazawa Y, et al. Characterization of a novel inhibitor of cytosolic phospholipase A2α, pyrrophenone [J]. *Biochem J*, 2002, 363: 727–735.
- [21] Beaton HG, Bennion C, Connolly S, et al. Discovery of new non-phospholipid inhibitors of the secretory phospholipases A2 [J]. *J Med Chem*, 1994, 37: 557–559.
- [22] Cha SS, Lee D, Adams J, et al. High-resolution X-ray crystallography reveals precise binding interactions between human nonpancreatic secreted phospholipase A2 and a highly potent inhibitor (FPL67047XX) [J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 3878–3881.
- [23] Iwama S, Segawa M, Fujii S, et al. Design and synthesis of new secretory phospholipase A2 inhibitor of a phospholipid analog [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8: 3495–3498.
- [24] Lemahieu RA, Carson M, Han RJ, et al. N-(carboxymethyl)-n-[3, 5-bis(decyloxy)-phenyl]glycine (RO-23-9358)—a potent inhibitor of secretory phospholipases-A2 with antiinflammatory activity [J]. *J Med Chem*, 1993, 36: 3029–3031.
- [25] Tramposch KM, Steiner SA, Stanley PL, et al. Novel inhibitor of phospholipase-A2 with topical anti-inflammatory activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 189: 272–279.
- [26] Schevitz RW, Bach NJ, Carlson DG, et al. Structure-based design of the first potent and selective inhibitor of human nonpancreatic secretory phospholipase A2 [J]. *Nat Struct Biol*, 1995, 2: 458–465.
- [27] Zhou L, Fang C, Wei P, et al. Chemically induced dimerization of human nonpancreatic secretory phospholipase A2 by bis-

- indole derivatives [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 3360–3366.
- [28] Samuelsson B, Morgenstern R, Jakobsson PJ. Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target [J]. *Pharmacol Rev*, 2007, 59: 207–224.
- [29] Bazan NG. COX-2 as a multifunctional neuronal modulator [J]. *Nat Med*, 2001, 7: 414–415.
- [30] Thoren S, Jakobsson PJ. Coordinate up- and down-regulation of glutathione-dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells. Inhibition by NS-398 and leukotriene C-4 [J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 6428–6434.
- [31] Riendeau D, Aspiotis R, Ethier D, et al. Inhibitors of the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase (mPGES-1) derived from MK-886 [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 3352–3355.
- [32] Xu DG, Rowland SE, Clark P, et al. MF63 [2-(6-chloro-1*H*-phenanthro[9, 10-*d*]imidazol-2-yl)-isophthalonitrile], a selective microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitor, relieves pyresis and pain in preclinical models of inflammation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 326: 754–763.
- [33] Deasy BM, O'Sullivan-Coyne G, O'Donovan TR, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors demonstrate anti-proliferative effects in oesophageal cancer cells by prostaglandin E-2-independent mechanisms [J]. *Cancer Lett*, 2007, 256: 246–258.
- [34] Prasit P, Wang Z, Brideau C, et al. The discovery of rofecoxib, [MK 966, Vioxx, 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2(5*H*)-furanone], an orally active cyclooxygenase-2 inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9: 1773–1778.
- [35] Moh JH, Choi YH, Lim KM, et al. A prodrug approach to COX-2 inhibitors with methylsulfone [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 1757–1760.
- [36] Singh SK, Vobbalareddy S, Kalleda SR, et al. Identification of 2-hydroxymethyl- 4-15-(4-methoxyphenyl)-3-trifluoromethylpyrazol-1-yl]-*N*-propionylbenzenesulfonamide sodium as a potential COX-2 inhibitor for oral and parenteral administration [C]. 225th National Meeting of the American-Chemical-Society, New Orleans, 2003: 8626–8634.
- [37] Khanna D, Khanna PP, Furst DE. COX-2 controversy: where are we and where do we go from here? [J]. *Inflammopharmacology*, 2005, 13: 395–402.
- [38] Shimizu T, Radmark O, Samuelsson B. Enzyme with dual lipoxygenase activities catalyzes leukotriene A4 synthesis from arachidonic-acid [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 689–693.
- [39] Ford-Hutchinson AW, Gresser M, Young RN. 5-Lipoxygenase [J]. *Annu Rev Biochem*, 1994, 63: 383–417.
- [40] Crawley GC, Dowell RI, Edwards PN, et al. Methoxytetrahydropyrans — a new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 1992, 35: 2600–2609.
- [41] Delorme D, Ducharme Y, Brideau C, et al. Dioxalbicyclooctanyl naphthalenenitriles as nonredox 5-lipoxygenase inhibitors: structure-activity relationship study directed toward the improvement of metabolic stability [J]. *J Med Chem*, 1996, 39: 3951–3970.
- [42] Wenzel SE, Kamada AK. Zileuton: the first 5-lipoxygenase inhibitor for the treatment of asthma [J]. *Ann Pharmacother*, 1996, 30: 858–864.
- [43] Lehnigk B, Rabe KF, Dent G, et al. Effects of a 5-lipoxygenase inhibitor, ABT-761, on exercise-induced bronchoconstriction and urinary LTE4 in asthmatic patients [J]. *Eur Respir J*, 1998, 11: 617–623.
- [44] Miller DK, Gillard JW, Vickers PJ, et al. Identification and isolation of a membrane-protein necessary for leukotriene production [J]. *Nature*, 1990, 343: 278–281.
- [45] Tsuji F, Oki K, Fujisawa K, et al. Involvement of leukotriene B4 in arthritis models [J]. *Life Sci*, 1998, 64: 151–156.
- [46] Penning TD. Inhibitors of leukotriene A4 (LTA4) hydrolase as potential anti-inflammatory agents [J]. *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 163–179.
- [47] Penning TD, Chandrakumar NS, Desai BN, et al. Synthesis of imidazopyridines and purines as potent inhibitors of leukotriene A4 hydrolase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 1137–1139.
- [48] Grice CA, Tays KL, Savall BM, et al. Identification of a potent, selective, and orally active leukotriene A4 hydrolase inhibitor with anti-inflammatory activity [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 4150–4169.
- [49] Ye B, Bauman J, Chen M, et al. Synthesis of *N*-alkyl glycine amides as potent inhibitors of leukotriene A4 hydrolase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 3891–3894.
- [50] Haeggstrom JZ. Leukotriene A4 hydrolase/aminopeptidase, the gatekeeper of chemotactic leukotriene B4 biosynthesis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 50639–50642.
- [51] Thunnissen MM, Andersson B, Samuelsson B, et al. Crystal structures of leukotriene A4 hydrolase in complex with captopril and two competitive tight-binding inhibitors [J]. *FASEB J*, 2002, 16: 1648–1650.
- [52] Schrattenholz A, Soskic V. What does systems biology mean for drug development? [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15: 1520–1528.
- [53] Yang K, Bai HJ, Ouyang Q, et al. Finding multiple target optimal intervention in disease-related molecular network [J]. *Mol Syst Biol*, 2008, 4: 228.

- [54] Csermely P. Strong links are important, but weak links stabilize them [J]. Trends Biochem Sci, 2004, 29: 331–334.
- [55] Li CY, Mao XZ, Wei LP. Genes and (common) pathways underlying drug addiction [J]. PLoS Comput Biol, 2008, 4: 28–34.
- [56] de Gaetano G, Donati MB, Cerletti C. Prevention of thrombosis and vascular inflammation: benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors [J]. Trends Pharmacol Sci, 2003, 24: 245–252.
- [57] Bannwarth B. Is licofelone, a dual inhibitor of cyclo-oxygenase and 5-lipoxygenase, a promising alternative in anti-inflammatory therapy ? [J]. Fundam Clin Pharmacol, 2004, 18: 125–130.
- [58] Kolasa T, Brooks CD, Rodrigues KE, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as scaffolds for the design of 5-lipoxygenase inhibitors [J]. J Med Chem, 1997, 40: 819–824.
- [59] Beers SA, Malloy EA, Wu W, et al. *N*-(5-substituted) thiophene-2-alkylsulfonamides as potent inhibitors of 5-lipoxygenase [J]. Bioorg Med Chem, 1997, 5: 779–786.
- [60] de Leval X, Julemont F, Delarge J, et al. New trends in dual 5-LOX/COX inhibition [J]. Curr Med Chem, 2002, 9: 941–962.
- [61] Ulbrich H, Fiebich B, Dannhardt G. Cyclooxygenase-1/2 (COX-1/COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibitors of the 6, 7-diaryl-2, 3-1*H*-dihydropyrrolizine type [J]. Eur J Med Chem, 2002, 37: 953–959.
- [62] Yang K, Ma WZ, Liang HH, et al. Dynamic simulations on the arachidonic acid metabolic network [J]. PLoS Comput Biol, 2007, 3: 523–530.
- [63] Chen J, Lai LH. Pocket v.2: Further developments on receptor-based pharmacophore modeling [J]. J Chem Inf Model, 2006, 46: 2684–2691.
- [64] Wei DG, Jiang XL, Zhou L, et al. Discovery of multitarget inhibitors by combining molecular docking with common pharmacophore matching [J]. J Med Chem, 2008, 51: 7882–7888.