

多靶点药物分子设计

郭彦伸, 郭宗儒*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 作用于单一分子靶标的药物治愈多基因相关疾病如癌症、或影响多个组织或细胞类型的疾病如糖尿病等存在的问题逐渐被人们所认识。与选择性药物的治疗作用相比, 几个靶标间的平衡调节能够提供较好的疗效和较低的副作用, 同时作用于多个靶标的多靶点药物能够较好地控制复杂的疾病。本文详细比较分析了单靶点药物的不足和多靶点药物的优势, 介绍了多靶点配体药物分子设计的方法及需要优化的参数。对于多靶点药物设计, 关键的挑战是如何保证获得平衡的活性同时又能实现选择性以及适当的药代动力学性质。到目前为止, 多靶点药物分子设计的方法对于药物化学家、药理学家、毒理学家以及生物化学家仍然是一项新的挑战。

关键词: 多靶点配体; 药效团组合; 药物分子设计

中图分类号: R916.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 03-0276-06

Design of multiple targeted drugs

GUO Yan-shen, GUO Zong-ru*

(Institute Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Drugs designed to act on individual molecular targets usually can not combat multigenic diseases such as cancer, or diseases that affect multiple tissues or cell types such as diabetes. Increasingly, it is being recognised that a balanced modulation of several targets can provide a superior therapeutic effect and side effect profile compared to the action of a selective ligand. The multi-target drugs which impact multiple targets simultaneously are better at controlling complex disease systems and are less prone to drug resistance. Here, we compare the disadvantage of the selective ligands and the predominance of multi-targets drugs in detail and introduce the approaches of designing multiple ligands and the procedure of optimization particularly. A key challenge in the design of multiple ligands is attaining a balanced activity at each target of interest while simultaneously achieving a wider selectivity and a suitable pharmacokinetic profile. On this point, the multi-target approach represents a new challenge for medicinal chemists, pharmacologists, toxicologists, and biochemists.

Key words: multiple targeted ligands; pharmacophore combination; design of drug

药物靶标是指与疾病的发生有因果关系或者参与疾病的发展过程, 并通过药物对其进行调节而实现治疗目的的生物分子。自 30 多年前引入离体筛选 (*in vitro*) 的概念以来, 基因组学和高通量筛选技术的进步, 使药物发现从依赖动物筛选逐渐转变到“一病一靶”。现代药理学研究已深入到细胞和分子水平, 更加强调整药物作用的靶标, 发现了许多单一靶点选择

性的药物, 在临床上表现出显著的疗效, 如选择性的 HMG 辅酶 A 还原酶抑制剂^[1]。随着进一步的深入研究, 发现单一靶点药物也存在着明显的不足。单一靶点抗肿瘤药物单独用药对于晚期患者的化疗效率不高, 人们逐渐认识到单一靶点药物之间的联合应用或作用于多个分子靶标的“多靶点”药物在治疗功能失调类疾病时将起到重要作用^[2,3]。目前人们有意识地、理性地设计作用于特定的多个靶点的配体成为研究趋势, “多靶点”药物研发将成为研究的热点。

1 单一靶点药物的不足

收稿日期: 2009-02-11.

*通讯作者 Tel: 86-10-83155752, E-mail: zrguo@imm.ac.cn

随着人们对疾病相关分子作用机制研究的深入,以及药物靶标研究、高通量筛选、组合化学为代表的现代药物研发技术的迅速发展和生物技术药物的兴起,出现许多单一分子靶点的药物,如抗炎药物选择性 COX-2 抑制剂(塞来昔布, celecoxib)^[4]、胰岛素增敏剂 PPAR- γ 激动剂(罗格列酮, rosiglitazone)^[5]、抗肿瘤药物 DNA 拓扑异构酶抑制剂(拓扑替康, topotecan)^[6]、蛋白酪氨酸激酶抑制剂(格列卫, Gleevec)^[7]和表皮生长因子受体-酪氨酸激酶(EGFR-TK)抑制剂 iressa^[8]等,其中部分药物在临床中发挥了显著的疗效。以分子靶标为中心的药物治疗思路,遵循“一病一靶”的理念,目的是寻求药物与某一受体或酶的高亲和力、选择性结合,以期产生显著的疗效,但是单一靶点的药物在本质上存在着不足。

从疾病本身来看,人类多数疾病并不是由单一基因或靶点导致的疾病,单一靶基因异常导致的疾病仅占少数,如慢性粒细胞白血病(CML)等,虽然选择性抑制 Bcr-Abl 的药物 Gleevec 对部分患者取得了显著疗效,但 Terre 等^[9]报道了在 1001 例用 Gleevec 治疗的 ph 阳性的 CML 病人中 34 例出现了克隆性染色体异常,已发现了多种 Bcr-Abl 突变^[10]。对人类健康危害最大的是些慢性疾病和传染性疾病,如心脑血管疾病、糖尿病、恶性肿瘤、乙型肝炎和艾滋病等,这些疾病发病机制复杂,多数有多基因相关性,在临床上使用单一靶点的药物并不能有效控制或治愈^[2]。

从药物靶标来看,药物靶标并不是疾病所独有的,多数具有多重生物功能,或者与其他功能蛋白相互影响。过分抑制或激活体内某一生物分子,在干预其本身生物功能的同时,有可能影响与其相关的生物分子的功能,从而导致副作用,如长期使用 TNF- α 抑制剂可能会诱发淋巴瘤^[11]。“一病一靶”的理论忽视了体内或细胞内生物大分子的相互影响,细胞内信号传导通路存在着网络系统^[12],只抑制一种细胞信号分子,细胞内的信号往往可以通过其他传导途径,最终对细胞的功能和状态影响不大,治疗效果不佳;或者信号传导过程中影响了其他的信号分子,导致不良反应。

从药物分子本身来看,很难找到仅作用于单一靶点的分子。因为体内的蛋白质分子,如果其氨基酸序列的同源性大于 35%,就可能具有相似的三维结构,组成药物作用位点的主要结构的分子折叠也基本相同,只是在非螺旋或非折叠区域有所差别,而且蛋白质结构比序列更具保守性。因此,细胞内具有不同功能的蛋白质分子,可能具有相似的药物结合域。结合

能力强的化合物进入体内后,除与靶分子结合外,还能够与其靶分子结合位点相似的其他非靶分子发生不同程度的结合,从而导致副作用。尽管在药物功能性筛选阶段要进行选择性筛选,如对命中化合物进行几十个同类或相关受体结合的试验,以便确定得到的阳性化合物是否具有选择性。高选择性的配体在实际使用中也会产生副作用,在某种程度上单靶点药物也发生了多靶点的结合,只是发现的药理作用是副作用而已。

2 多靶点药物分子设计的基础

从疾病发生、发展的过程看,很多疾病是由于同一超家族或相关的基因紊乱造成^[13],同一超家族中受体又分为若干亚型,如肾上腺素受体又分为 α_1 、 α_2 、 β_1 和 β_2 等亚型,其分布和功能都有区别,这些超家族受体或不同亚型的受体的结合位点存在相似性,能够兼容同一小分子配体,可以根据受体结合腔相似性设计多靶标的小分子药物。内源性的配体如激素、神经递质等,具有很强的调节生物功能的能力,一些超家族尽管基因不同,但它们的内源性配体几乎是相似或相同的,如与血栓素 A₂ 有关的类花生酸(eicosanoid),包括前列腺素(prostaglandin)、血栓素(thromboxane)和白三烯(leucotriene)等^[14],它们是哺乳动物组织产生的激素类物质;神经递质 5-羟色胺系统的内源性配体之间存在很大的相似性^[13]。模拟这些内源性物质进行小分子药物设计有可能实现多重作用的目的。相关受体结合位点的相似性,以及相似或相同内源性配体与疾病的相关性(如 5-羟色胺与抑郁症)是进行多靶点配体药物分子设计的基础,也可以通过内源性配体的相似性和受体种系遗传学的角度分析它们之间的相关性。

少数多靶点配体作用于不同超家族或内源性配体不相似的受体, Fujita 等^[15]首次发现双重作用的血栓素合成酶抑制剂(TxSI)和血小板活化因子受体(PAF)拮抗剂, Ryckmans 等^[16]首次报道双重作用的 5-羟色胺转运体(SERT)重摄取抑制剂和神经激肽受体(NK₁)拮抗剂。同一小分子配体能够作用于不同的靶蛋白,是因为蛋白质的三维结构比序列更具保守性,存在相似的结合位点,结合腔具有相似的空间和化学特征。在一个分子中实现对两个不同靶点的双重作用是比较困难的,仔细研究不同受体结合腔能够容纳的化学特征,在相应的位置设计能够符合两个靶标要求的药效团,结合腔的兼容性是进行多靶点药物分子设计的基础。

3 多靶点药物的优势

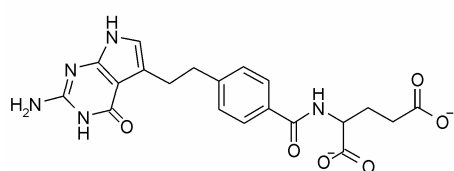
多靶点药物能够有效地调节整个细胞复杂的系统,不完全消除信号传导系统中各成员之间的关系。多靶点药物能够提高疗效和(或)改善安全性,作用于疾病相关的多个靶点,产生多种药理活性,获得所需的多样性的生物调节功能,减少副作用。多靶点药物二氢叶酸还原酶抑制剂培美曲塞(pemetrexed, alimta),能同时阻断癌细胞生存所必须的、多个与叶酸系统相关的酶的活性,从而抑制嘌呤及嘧啶的生物合成,影响DNA的合成,具有较强的抗肿瘤活性和广谱抗癌性。美国FDA于2004年2月以快速审批途径批准其联合顺铂治疗恶性胸膜间皮瘤,同年8月FDA又批准其第二个适应证,治疗复发的局部晚期或转移性非小细胞肺癌(NSCLC)^[17]。抗抑郁药物从非选择性的三环类阿米替林(amitriptyline)到选择性的5-羟色胺转运蛋白(SERT)抑制剂,然后再到双重的SERT和去甲肾上腺素转运蛋白(NET)抑制剂度洛西汀(duloxetine)^[18],组合了快速起效和增强药效的特点。非甾体抗炎药(NSAIDs)的研究历程反映了人们对药物的认识过程,从非选择性的COX-1和COX-2抑制剂阿司匹林开始,经过选择性的COX-2抑制剂罗非昔布(rofecoxib, 万络, Vioxx),到设计的多靶点配体药物分子——具有双重作用的COX-2和5-酯氧酶(LOX)抑制剂,该抑制剂能够增加药物的有效性,减小选择性COX-2抑制剂的副作用^[19]。

4 多靶点配体药物分子设计

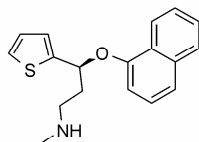
多靶点配体的靶标大部分源自同一超家族,其内源性底物是相同或相似的,也反映了内源性配体和疾病的关系,为针对相似性靶标理性地设计多靶点配体提供了可能。对于不同超家族或内源性配体不相似的情况,可通过计算的方法确定合适的靶标组合,CavBase^[20]能够对不同蛋白结合位点的几何和物理

化学特征进行相似性比较,提示哪些靶点组合适合设计多靶点配体。首先探测蛋白表面的裂隙或腔穴,对腔穴几何和物理化学性质特征进行编码,然后进行比较,寻找结合腔特征相似的一组靶点,以此为基础指导多靶点配体的设计。另外催化位点数据库CSA(Catalytic Site Atlas)^[21]提供了源自蛋白催化域2~6个重要功能残基的结构模板,可以通过3D搜索程序SPASM、RIGOR、JESS寻找适合设计多靶点配体的靶标组合。Csermely等^[22]提出了基于系统生物学网络的方法,能够对特定的疾病提供一组适合多靶点配体分子的靶标组合。Keiser等^[23]提出了以化学结构为核心比较靶标相似性的方法SEA(Similarity Ensemble Approach),通过比较配体分子间的化学相似性映射靶标药理的相似性。该方法能够预测原认为在生物学上不相关的两个靶标之间的相似性,例如预测作用于 μ -阿片受体的美沙酮与作用于M3毒蕈碱受体的分子相似,所以其可能拮抗M3毒蕈碱受体;阻断蛋白质生物合成的依米丁(emetine)可能作用于肾上腺素受体等,这些预测得到了实验证明。受体化学信息学网络方法用于预测药物的脱靶效应,也可以用来研究药物的多重药理作用、副作用等^[24]。遗传学、结构生物学、系统生物学以及化学信息学的知识能够提供适合多靶点配体设计的靶标组合。

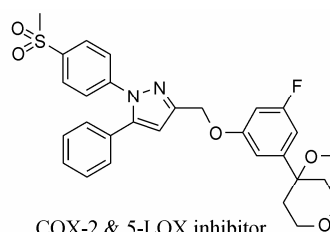
将两个选择性的配体分子的药效团组合是获得多靶点配体的重要手段。药效团的组合可以通过连接或整合的方式实现,前者通过可断裂的或不可断裂的间隔基连接具有不同作用的药效片段;后者通过不同药效结构中相同部分的叠加,或者对其中一个药效结构进行修饰,得到整合了另一个药效团的新分子。通



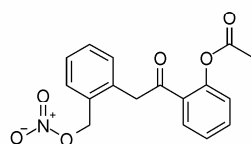
Pemetrexed



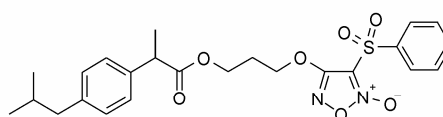
Duloxetine



COX-2 & 5-LOX inhibitor



NO-Aspirin



Ibuprofen

Figure 1 The structures of some multi-target ligands

过连接产生的分子结构复杂, 相对分子质量大, 通常是在作用于主要靶标的分子上增加新的结构。例如把能够释放 NO 的功能基连接到阿司匹林^[25]和布洛芬^[26]得到的衍生物(图 1), 通过酯基将两个分子连接起来, 进入体内后经过酯酶水解, 断裂成两个独立的药物, 尽管药代动力学-药效学的关系在断裂后可能变的复杂, 但是在给药时作为单一组分, 与“鸡尾酒”药物相比仍然具有潜在的优势。通过整合得到的分子通常是将二者相同部分叠加, 使新结构同时满足两种配体的要求。例如用于治疗高血压的血管紧张素-1 (AT₁) 受体和内皮素-A (ET_A) 受体的双重拮抗剂是应用药效团叠合实现多靶点配体设计的例子^[27], 从图 2 中可以看出化合物 **1** 和 **2** 分别是 AT₁ 和 ET_A 的高选择性拮抗剂, 其选择性活性相差 4 个数量级, 二者均含有联苯的骨架结构(这里可以看作是优势结构), 在联苯的 2 位和 4' 分别可以引入不同的取代基, 两个靶点选择性拮抗剂的构效关系表明, 在 2 位均可以引入磺酰基的片段, 4' 位均可以引入咪唑啉酮基团, 叠合二者相同的骨架, 将二者的药效团进行组合, 得到了多靶点配体的先导化合物 **3**, 活性在 nmol·L⁻¹ 水平, 两个靶点的活性仅相差 1 个数量级, 二者的活性尚未达到平衡, 通过进一步的修饰得到了化合物 **4**, 对两个靶标的活性达到了平衡, 处于同一个数量级, 同时对 ET_B 受体作用很弱, 实现了对 AT₁ 和 ET_A 的双重作用和对 ET_B 受体的选择性。

药效团组合的方法也可以使两个看起来无关的受体的药效团融合在单一的分子中, 例如用于治疗阿尔茨海默氏症的双重乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和 5-羟色胺转运蛋白 (SERT) 抑制剂^[28], AChE 抑制剂卡巴拉汀 (rivastigmine) 具有该抑制剂的药效团的三个特征, 但是缺少疏水作用基团; 在卡巴拉汀中引入氟西汀 (fluoxetine) 的片段后, 使得新结构既满足 AChE 抑制剂的药效团要求, 又符合 SERT 抑制剂药效团的

特征, 得到了二者活性平衡的双重抑制剂, 但是二者活性均有些偏低, 通过进一步的修饰得到了构象约束的化合物, 二者的活性都得到了提高(图 3)。

对已知的药物或活性化合物进行筛选是获得多靶点配体的重要途径^[2]。从已上市的药物中筛选多靶点活性也是一种常用的手段, 如塞来昔布 (celecoxib) 能够抑制 COX-2 和碳酸酐酶^[29], 尽管两种酶的作用机制不同, 两种酶与塞来昔布复合物的晶体结构表明, 二者结合腔的拓扑结构及表面的物理化学性质是相似的。

基于片段设计多靶点配体是一个比较方便可行的方法^[30], 相对分子质量小于 250 的分子片段, 就每个重原子的结合能而言, 结合效率较高^[31]。通过筛选片段数据库, 能够得到对两个或多个靶标小亲和力的基本核心骨架, 在结构生物学的指导下, 增加其他功能性片段, 实现增加对两个靶标的亲和力或者达到所希望的平行的活性。基于片段的多靶点配体设计, 仅需要相当少的化合物进行合成和筛选, 在获得先导化合物方面表现出较高的成功率。

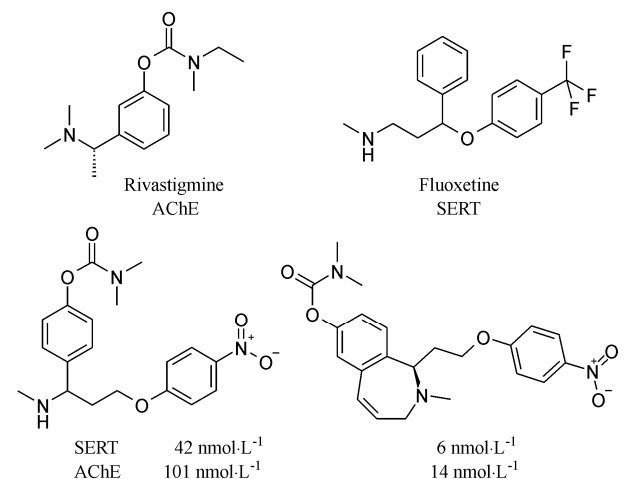
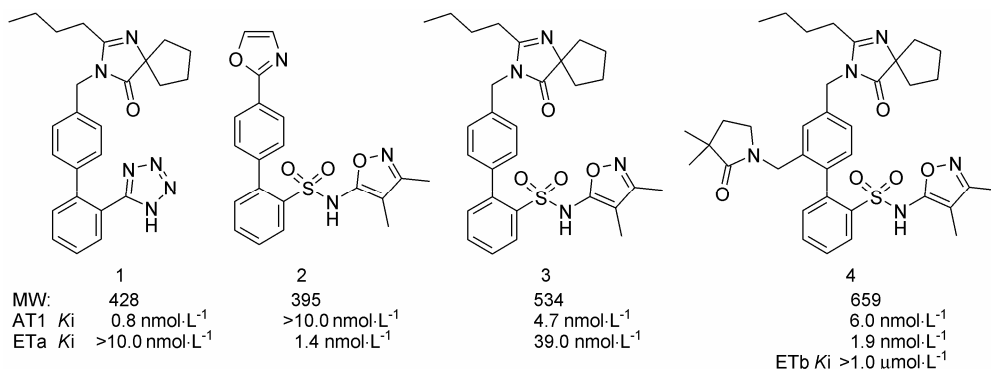
**Figure 3** The application of pharmacophore combination in dual acetylcholinesterase and SERT inhibitors

Figure 2 Dual antagonists of angiotensin-1(AT₁) and endothelin-A (ET_A) receptor based on pharmacophore combination

5 多靶点配体的优化

多靶点配体的优化包括提高活性和选择性。在实际工作中,对于紧密相关的靶点,药物化学家容易找到多靶点活性化合物。针对不同家族和不同内源性配体的多靶点配体,提高活性和实现选择性是一项挑战性的工作,巧妙地组合每一组配体的药效片段将变成一种艺术,例如前面所述血管紧张素-1(AT₁)受体和内皮素的 ET_A受体双重拮抗剂,提高活性的同时也实现了对 ET_B受体的选择性^[27];双重的 AChE 和 SERT 抑制剂表现出对丁酰胆碱酯酶和去甲肾上腺素转运蛋白(NET)选择性^[28];还有双重的 COX-2 和 5-LOX 抑制剂实现了对 COX-1 的选择性^[19]。

多靶点药物希望平衡的活性,以便在体内相同血浆(或脑组织)浓度下,针对每个靶标的作用能够调节到合适的强度。通常在体外试验中实现对每个靶标的活性的平衡,并由此推断,在体内试验中也能够达到相似的水平。但是因为不同水平的受体占有率、药物的分布、受体或酶在不同组织中的表达水平等因素会影响多靶点配体在体内的最佳平衡,优化不同靶标活性比将是一项挑战性的工作。不同靶标的选择性配体的构效关系不能简单、直接地指导多靶点配体的设计,在平衡多靶点配体的活性时,不能过分地受选择性配体构效关系的约束。在优化活性平衡的过程中,由于某一靶点活性严格的构效关系的影响,很多时候很难得到所期望的活性平衡的化合物,这时要对所研究的靶标分清主次,弄清哪一个是难调节的,确定该靶点什么情况下已经达到或接近所期望的活性。这种处理方法对于一个靶标的构效关系和药效团要求等信息明显多于另一个靶点时也是非常有用的。即使得到了所期望的体外活性平衡的多靶点配体,还需要优化功能的活性,这是一项更复杂的工作。多靶点配体的设计比较常见的是双重拮抗剂或抑制剂,尽管也有多重激动剂,如三重 PPAR 激动剂^[32],多数多重激动剂的内源性配体和靶标的超家族都是相似的^[2]。

多靶点药物药理学和药代动力学性质的优化需要重视口服生物利用度问题,因为通过药效团组合得到的多靶点药物通常具有较大的相对分子质量和较复杂的结构,例如选择性的 AT₁ 和 ET_A 受体拮抗剂的相对分子质量分别为 428 和 395,药效团组合得到的相对分子质量是 534,优化后得到的活性平衡的化合物的相对分子质量是 659(图 2),因为药物化学家更善于做“加法”。人们通常希望能够口服给药,希望得到药效团高度兼容、相对分子质量小、结构简单的

多靶点药物,对于相关程度高的靶点,药效团容易整合,也更容易得到相对分子质量小的化合物,通过筛选和基于片段的方法得到的多靶点药物可以减少这方面的问题。多靶点配体药代动力学研究过程中,有效持续时间和代谢产物的活性也是非常重要的。即使代谢产物的结构和母体化合物非常相似,涉及多靶点的活性时,也可能发生较大变化。通常希望代谢产物具有和母体化合物类似的多靶点活性或者没有活性,以免带来难以预料的问题。在先导化合物优化的过程中,很难同时优化多个参数,获得高质量的多靶点的先导化合物是非常重要的。

6 小结

人们认识到针对单一靶点高特异性的药物并不是总能带来所期望的疗效和较少的副作用,多靶点药物无疑是药物化学新的研究方向。在深入了解疾病发病环节的基础上,利用遗传学、系统生物学、结构生物学以及化学信息学的知识,提供特定疾病适合设计多靶点配体的靶标组合,通过不同的方法,设计和发现多靶点配体的先导化合物,在优化活性强度和选择性的同时,完善候选药物的药代和药效学性质,实现在多维空间中进行微观的分子操作和宏观的生物学效应的完整统一。对生物化学家、药物化学家、药理学家以及毒理学家,多靶点药物研究是一项新的挑战。

References

- [1] Olsson AG, McTaggart F, Raza A. Rosuvastatin: a highly effective new HMG-CoA reductase inhibitor [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2002, 20: 303–328.
- [2] Zimmermann GR, Lehar J, Keith CT. Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12: 34–42.
- [3] Morphy R, Kay C, Rankovic Z. From magic bullets to designed multiple ligands [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9: 641–651.
- [4] Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study [J]. *JAMA*, 2000, 284: 1247–1255.
- [5] Fonseca V, Rosenstock J, Patwardhan R, et al. Effect of metformin and rosiglitazone combination therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2000, 283: 1695–1702.
- [6] Gore M, Carmichael J, Gordon A, et al. Topotecan versus

- paclitaxel for the treatment of recurrent epithelial ovarian cancer [J]. *J Clin Oncol*, 1997, 15: 2183–2193.
- [7] Druker BJ. STI571 (Gleevec) as a paradigm for cancer therapy [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8(4 Suppl): S14–18.
- [8] Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Inhibition of growth factor production and angiogenesis in human cancer cells by ZD1839 (Iressa), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 1459.
- [9] Terre C, Eclache V, Rousselot P. Report of 34 patients with clonal chromosomal abnormalities in Philadelphia-negative cells during imatinib treatment of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18: 1340–1346.
- [10] Li HL, Wang CM. Analysis of mutations of bcr-abl gene and P53 gene in different phases of chronic myelogenous leukemia [J]. *J Lanzhou Univ (Nat Sci) (兰州大学学报 (自然科学版))*, 2002, 38: 96–99.
- [11] Antoni C, Braun J. Side effects of anti-TNF therapy: current knowledge [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2002, 20 (6 Suppl 28): S152–S157.
- [12] Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network [J]. *Nature*, 2000, 408: 307–310.
- [13] Garzya V, Forbes IT, Gribble AD, et al. Studies towards the identification of a new generation of atypical antipsychotic agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 400–405.
- [14] Shimizu T. The future potential of eicosanoids and their inhibitors in paediatric practice [J]. *Drugs*, 1998, 56: 169–176.
- [15] Fujita M, Seki T, Inada H, et al. Approach to dual-acting platelet activating factor (PAF) receptor antagonist/ thromboxane synthase inhibitor (TxSI) based on the link of PAF antagonist and TxSIs [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 341–344.
- [16] Ryckmans T, Balancon L, Berton O, et al. First dual NK1 antagonists-serotonin reuptake inhibitors: synthesis and SAR of a new class of potential antidepressants [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 261–264.
- [17] Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 1589–1597.
- [18] Troelsen KB, Nielsen EO, Mirza NR. Chronic treatment with duloxetine is necessary for an anxiolytic-like response in the mouse zero maze: the role of the serotonin transporter [J]. *Psychopharmacology*, 2005, 181: 741–750.
- [19] Barbey S, Goossens L, Taverne T, et al. Synthesis and activity of a new methoxytetra-hydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 779–782.
- [20] Bergner A, Günther J, Hendlich M, et al. Use of rebase for retrieving complex three-dimensional interaction patterns including crystallographic packing effects [J]. *Biopolymers*, 2001, 61: 99–110.
- [21] Porter CT, Bartlett GJ, Thornton JM. The catalytic site atlas: a resource of catalytic sites and residues identified in enzymes using structural data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32: 129–133.
- [22] 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.
- [23] Keiser MJ, Roth BL, Armbruster BN, et al. Relating protein pharmacology by ligand chemistry [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 197–206.
- [24] Glick M, Davies JW, Jenkins JL, et al. Prediction of biological targets for compounds using multiple-category Bayesian models trained on chemogenomics databases [J]. *J Chem Inf Model*, 2006, 46: 1124–1133.
- [25] Napoli MD, Papa F. NCX-4016 (NicOx) [J]. *Curr Opin Invest Drugs*, 2003, 4: 1126–1139.
- [26] Lolli ML, Cena C, Gasco A, et al. A new class of ibuprofen derivatives with reduced gastrotoxicity [J]. *J Med Chem*, 2001, 44: 3463–3468.
- [27] Murugesan N, Tellew JE, Gu Z, et al. Discovery of *N*-isoxazolyl biphenylsulfonamides as potent dual angiotensin II and endothelin A receptor antagonists [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 3829–3835.
- [28] Toda N, Tago K, Kogen H, et al. A conformational restriction approach to the development of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter as potential agents for Alzheimer's disease [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11: 4389–4415.
- [29] Weber A, Casini A, Heine A, et al. Unexpected nanomolar inhibition of carbonic anhydrase by COX-2-selective celecoxib: new pharmacological opportunities due to related binding site recognition [J]. *J Med Chem*, 2003, 46: 550–557.
- [30] Morphy R, Rankovic Z. Fragments, network biology and designing multiple ligands [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12: 156–160.
- [31] Rees DC, Congreve M, Murray CW, et al. Fragment-based lead discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3: 660–672.
- [32] Adams AD, Yuen W, Hu Z, et al. Amphipathic 3-phenyl-7-propylbenzisoxazoles; human PPAR γ , δ and α agonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 931–935.