

多靶点作用药物及其设计

姜凤超*

(1. 华中科技大学同济医学院药学院; 2. 天然药物化学与资源评鉴湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430030)

摘要: 疾病起因的多因素性导致单靶点作用药物活性的降低或副作用的增加, 利用多靶点作用的药物有可能有利于解决这些问题, 本文就多靶点作用药物设计所存在的问题和解决方法进行探讨, 提出利用药效团模型法设计多靶点作用药物的理念。

关键词: 多靶点药物; 多因素疾病; 计算机辅助药物设计; 药效团模型

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2009) 03-0282-06

The multi-target drugs and their design

JIANG Feng-chao*

(1. School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology;
2. Hubei Key Laboratory of Natural Medicinal Chemistry and Resource Evaluation, Wuhan 430030, China)

Abstract: The reduce of bioactivity and augment of the side effect of single-target drugs is generated by the multi-factorial properties of the pathogenesis of disease, which could be solved by the multi-target drugs. The problems and its solution of the design of the multi-target drugs were discussed in this paper, at the same time, the design of the multi-target drugs by pharmacophore model method is presented.

Key words: the multi-target drug; multi-factorial diseases; computer-aided drug design; pharmacophore model

随着分子生物学、分子病理学、分子药理学、生物信息学等学科的发展, 以及对酶、受体等靶标、内源性活性物质、生物信号及其传导途径等与疾病相关因素的深入了解, 对于疾病发生、发展的机制有了更深刻的认识, 药物研究已进入理性设计时代, 许多选择性作用于特殊靶点的药物不断被发现。然而, 对于某些疾病, 即使靶点选择得非常准确, 设计的化合物的活性和选择性也很强, 但最终对于疾病的疗效却不尽人意, 甚至出现相应的副作用。究其原因, 除了经常谈到的ADME/T (吸收、分布、代谢、排泄/毒性) 等方面的因素外, 疾病起因的多因素性也是不可忽视的因素之一。因此, 针对疾病成因的多靶点作用药物将有利于提高药物疗效, 降低副作用, 达到药物设计的理想目的。

1 疾病产生的多因素性

许多常见疾病, 如心血管疾病、肿瘤及神经退行性疾病 (degenerative diseases of the central nervous system, ND) 等均属多因素疾病 (multi-factorial diseases)。这里的多因素性包括多种因素共同诱发疾病的产生、同一信号分子的不同信号传导途径及体内自我保护而具有的平衡机制—旁路系统的影响等。

1.1 多因素共同诱发疾病发生 在许多情况下, 疾病的发生都是由多种因素共同诱发的, 如通过对阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 病理机制研究, 发现导致 AD 产生的原因有: ① 乙酰胆碱转移酶活性降低或胆碱摄取能力低下引起的神经元或神经胶质细胞不能提供充分的营养、轴突传递功能受损等导致的皮下神经元系统功能衰退; ② 谷氨酸受体活性过高、活性氧水平过高、炎症过程、病毒感染等导致代谢通路受损、线粒体能量产生减少; ③ β -淀粉样

收稿日期: 2009-01-06.

*通讯作者 Tel: 86-27-83692749, E-mail: fengchao@mails.tjmu.edu.cn

前体蛋白经 β -分泌酶、 γ -分泌酶作用产生的 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid, A β) 引起的淀粉样蛋白团块聚集; ④ 由 Tau 蛋白的异常磷酸化等导致的神经纤维缠结、细胞核或线粒体 DNA 突变、折叠错误的蛋白质形成以及 RNA 或蛋白质的加工过程不正确等。虽然诱发 AD 的病因和病变部位不尽相同,但它们都有一个共同的特征,即发生神经元的退行性病变和凋亡,并最终导致细胞个体死亡(图 1)。

1.2 信号传导途径的多样化 在人类不断的进化过程中,体内信号分子的传递,可能存在许多不同的信号传导途径。在疾病的发生、发展及治疗过程中,这些传导途径分别起着重要的作用,如调控 Ras 信号传导途径在以细胞信号传导通路为靶点的抗肿瘤药物设计中就非常重要。且不说 Ras 信号传导途径的上游信号系统,仅其下游系统就存在有 Ras、Raf 与 MAPK 信号途径形成交错的生物信息网,协调蛋白或转录因子磷酸化,调控细胞增殖、分化及凋亡,在肿瘤发生中起着重要的作用。与其相关且已了解比较清楚的包括 Raf-MEK-ERK 信号传导途径、JNK-SAPK 途径和 P38 途径。这是三条并行的 MAPK 信号传导途径,它们之间相互调控,介导着不同的细胞生物学反应,其级联途径见图 2 所示^[1]。

其他一些疾病如神经退行性疾病,心血管疾病等也存在着类似的多个信号通路传递途径。

1.3 平衡机制—旁路系统 每一种酶或者受体在体内的作用都不完全是单一的,对其过分的抑制或者激活,势必会对其他体系产生影响,导致副作用的产生,如血管紧张素转化酶抑制剂 (ACE inhibitor, ACEI) 可以减少血管紧张素 A₂ 的生成,降低血压,并能减少尿蛋白和改善肾功能,是常用的降压药物。但 ACE 本身是非特异性蛋白酶,对缓激肽、脑啡肽、P 物质、神经降压素等均有一定的影响,因此,当 ACE 抑制

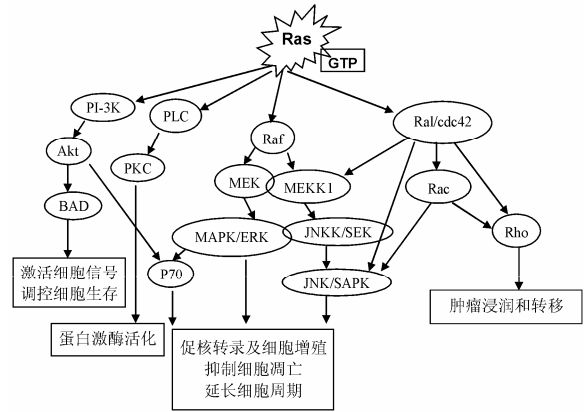


图 2 Ras 传导通路的下游信号途径

后,可能会引起一些副作用如咳嗽等。另一方面,基于自身保护的需要,体内许多通路都存在着相应的旁路系统。在肾素-血管紧张素-醛固酮 (RAS) 系统中,除了 ACE 可催化 A₁ 转化为 A₂ 外,糜酶、组织蛋白酶等也具有类似的作用,因此 ACEI 的长期应用,可能导致反馈性激活旁路途径产生 A₂,导致对 RAS 系统的抑制不完全(图 3)。

2 药物设计的发展

随着分子病理学、分子生物学等学科的飞速发展,与疾病相关的靶点不断的被发现和证实。从靶点角度来看,新药的设计有非选择性药物、选择性药物以及多靶点作用药物等三种不同的层次。单靶点选择性药物比非选择性药物在药效学和提高安全性等方面有较大进展,但选择性较好的单靶点药物,也可能存在干扰体内不同的生物化学反应机制并具有新的化学反应类型(产生相应的后续效应),而这些非预期的或者未知功能的作用,则可能产生作用于靶点以外的副作用。一般药物分子所损伤的生物功能越多,相应的副作用增加越多。另一方面,由于疾病产生的多因素性原因,即使对某一种酶或受体具有较强

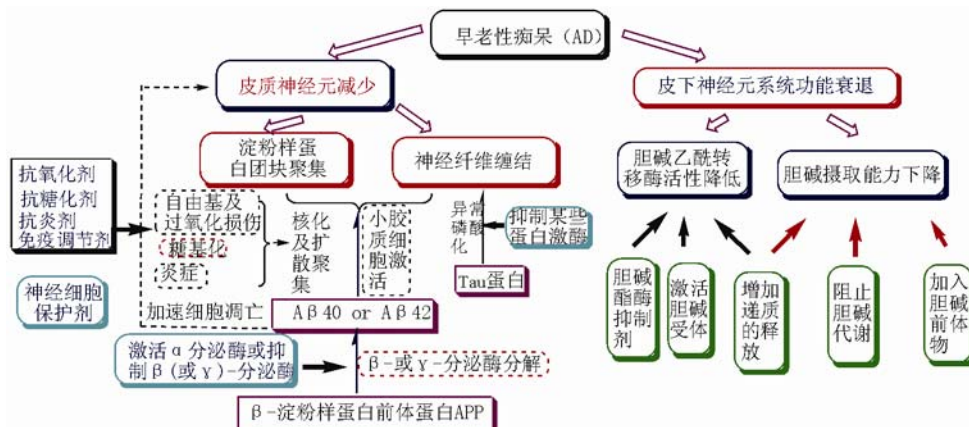


图 1 AD 的病理机制及治疗

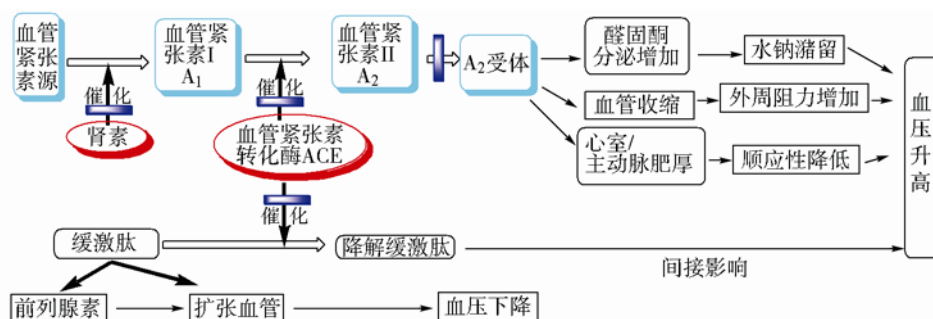


图3 RAS 信号传导通路及对血压的影响

的作用,单一靶标药物也不一定能够真正达到治疗相关疾病的目的。通过多靶标调节,一种药物作用于不同的靶标,从多方面来调控疾病的发生,才有可能产生最佳的治疗效果和最少的副作用^[2-4]。中药尤其是复方制剂的有效性,本质上也源于其作用的多靶性,现已为人们所认识,成为中药研究的热点,目前研究工作虽较为初步,需要进一步深入的研究,但也为中药的应用及多靶点作用药物的研究和应用提供了相应的理论依据^[5]。

由于多靶点作用药物产生药效的复杂性以及难以解释多靶点作用药物相互作用之间的关系等原因,药物研究者较倾向于考虑作用效果较易预测的特异性药物。然而,根据病理学和分子生物学等基础学科的研究结果,通过疾病发生的机制和靶点结构的综合分析,合理设计具有选择性的能够作用于多靶标、多途径的药物,在不同的靶点和位置,阻止疾病信号的产生、传递和作用,从而达到治疗疾病的目的,这是今后药物设计的发展方向。

目前已有一些多靶点作用药物被发现并应用于

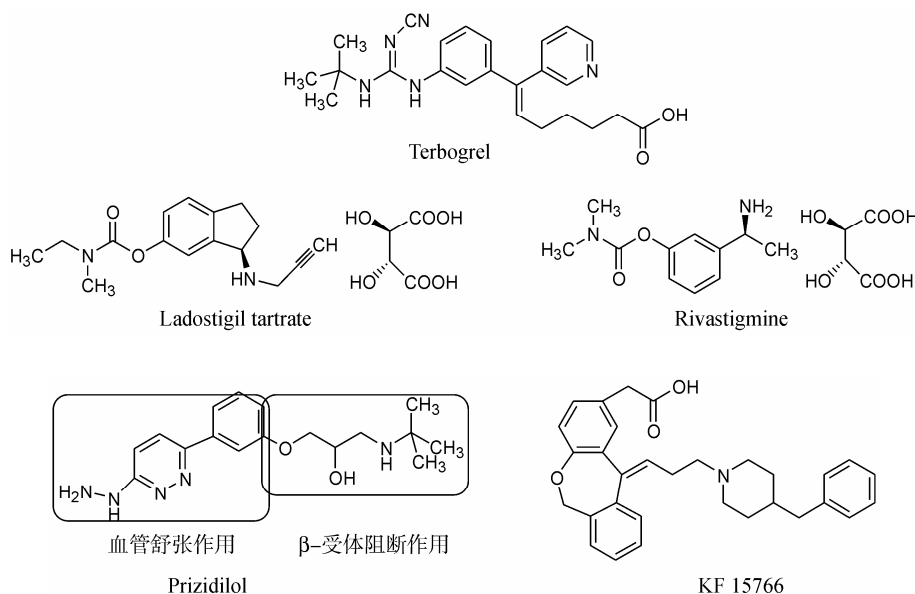
临床,如能够同时作用于 TXA_2 受体和 TXA_2 合成酶的抗哮喘药物 *terbogrel*, 活性远远超过只作用于单个受体的化合物; 可同时作用于乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和脑单胺氧化酶 (MAO) 等靶点的抑制剂 (拉多替吉 *ladostigil*、雷伐斯的明 *rivastigmine* 等) 等, 为多靶标多功能药物的研究提供了先例^[6]。

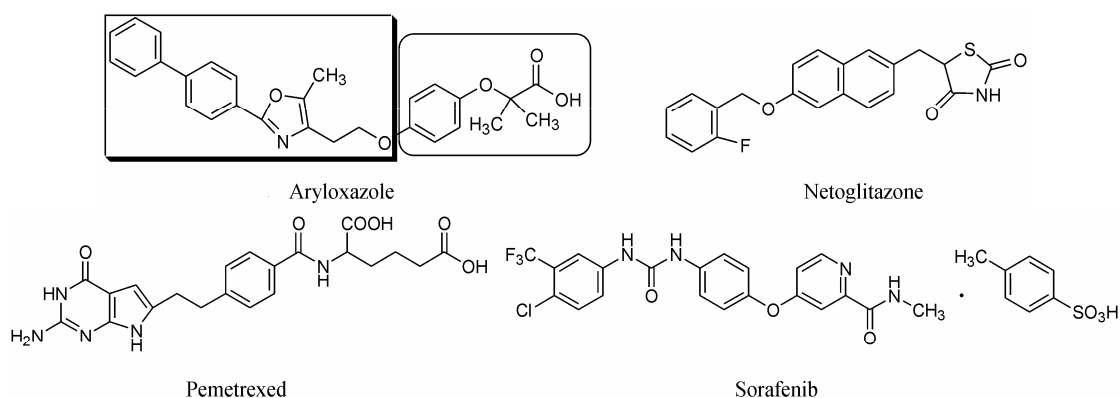
3 多靶点作用药物的类型

按照作用机制对多靶点作用药物进行分类,可以分为下述几种。

3.1 针对疾病的起因, 作用于相应的靶点 高血压的致病机制很多, 其中血管堵塞导致血液流动不畅及肾上腺素受体的影响是重要的原因, 具有血管扩张功能的胍基吡嗪骨架和普萘洛尔结合后得到的普齐地洛 (*prizidilol*) 既作用于 β -受体, 具有较强的 β -受体阻断作用, 同时也是磷酸二酯酶的抑制剂, 具有扩张血管的作用, 二者结合降压作用明显。

过敏是引发哮喘的重要原因之一, 血栓素 A_2 (TXA_2) 受体拮抗剂具有潜在的抗哮喘作用, 组胺 H_1 受体拮抗剂具有抗过敏作用。化合物 *KF 15766* 可同





时抑制上述两个受体 (TXA₂受体, $K = 0.7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, H₁受体 $K = 20 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 将导致哮喘产生的两个起因同时控制, 抗哮喘作用更为明显。

3.2 针对信号传导途径 这一类的多靶点作用药物, 可以是作用于主要靶点和与其在同一信号传导通路的上游或者下游的相关靶点, 也可能是作用于与该疾病相关的不同信号传导通路的相关靶点。

过氧化物酶体增殖生物激活受体 (PPARs) 是核受体超家族的成员, 类固醇受体、类视色素受体、甲状腺激素受体等均属 PPARs。降血脂的氯贝特类 (fibrate) 和胰岛素敏化剂格列酮类分别通过 PPAR α 和 PPAR γ 调节生物活性, 双效的 PPAR α/γ 激动剂芳香噁唑 (aryloxazole) 衍生物适用于治疗高血糖症, 为 2 型糖尿病患者预防心血管疾病提供了良好的药物。另外, 作用于 PPAR α/β 的双重抑制剂 netoglitazone 也是较好的 2 型糖尿病的治疗药物^[7]。

作用于与叶酸系统相关靶酶的培美曲塞 (临床用其二钠盐, pemetrexed disodium), 对胸腺嘧啶脱氧核苷酸合成酶 (TS)、二氢叶酸还原酶 (DHFR)、甘氨酸甲酰转移酶 (GRAFT) 以及 5-氨基咪唑-4-甲酰氨基转移酶 (AICARFT) 等具有抑制作用, 可很好的抑制嘌呤及嘧啶的生物合成途径, 影响 DNA 的合成, 因此活性高、抗癌谱广, 对许多肿瘤具有抑制作用。目前是临床唯一治疗恶性胸膜间皮瘤 (MPM) 的药物^[8]。

通过抑制 RAF/MEK/ERK 信号传导通路 (包括 RAF 激酶、FLT3 和 KIT 受体酪氨酸激酶) 及血管内

皮生长因子受体 (VEGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR), 既能抑制血管的形成又能直接抑制肿瘤细胞增殖的多靶点抗肿瘤药索拉菲尼 (sorafenib) 已于 2005 年 12 月被 FDA 批准用于临床, 成为第一个上市的多靶点抗肿瘤药物^[9]。与此类似的还包括苏尼替尼 (sunitinib) 和范德它尼 (vandetanib) 等都属于通过阻断同一疾病的不同信号通路的信号传递而达到治疗疾病的目的。

3.3 作用于同一靶标的不同位点 乙酰胆碱酯酶抑制剂 1 是由雪花莲胺和邻苯二甲酰通过一个中间连接基连接起来形成的, 其中前者作用于 AChE 的催化部位, 后者作用于 AChE 的周边部位, 二者的结合使活性增加, 研究发现二者之间的连接基的长度对活性影响很大。对 AChE 抑制剂的药效团模型研究发现, 仅作用于催化部位 (如 tacrine, $\text{IC}_{50} = 333 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 4a) 和周边部位 (如 huperzine A, $\text{IC}_{50} = 260 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 4b) 虽然也具有活性, 但活性远低于与两个部位同时结合的化合物 ($\text{IC}_{50} = 0.25 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 4c)^[10]。严格来讲, 该类化合物仍属单靶点作用药物, 酶的多底物类似物抑制剂也可以归结到这一类。

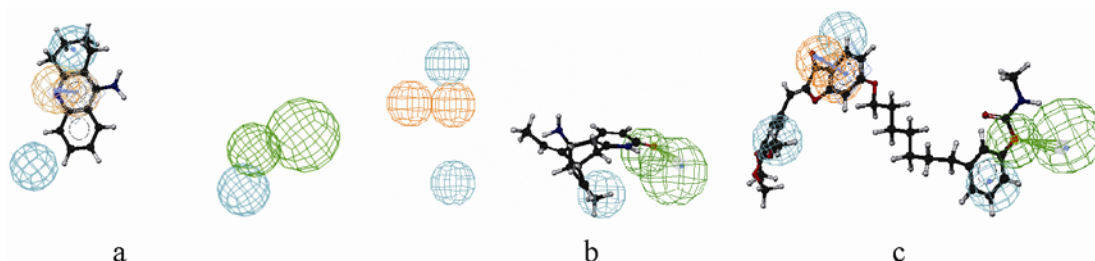
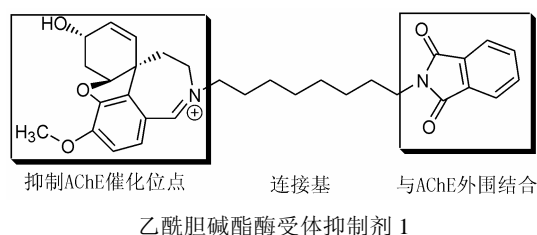


图 4 乙酰胆碱酯酶受体抑制剂药效团模型与相应抑制剂的叠合^[10]

4 多靶点作用药物的设计方法及存在问题

虽然人们已重视,且有不少成功例证,但由于缺乏相应的理论依据,多靶点作用药物的设计仍然存在着许多问题,多数此类药物都是筛选时偶然发现的,也有部分药物是利用拼合法(也称药效团结合法)得到的,偶然性依然很大,因此寻找多靶标作用药物的设计方法显得非常必要。

计算机辅助药物设计近年来发展迅速,已广泛应用于药物设计中。作为间接药物设计的药效团模型法(pharmacophore modeling)是对一系列活性化合物进行3D-QSAR分析研究,并结合构象分析,总结出一些对活性至关重要的原子和基团以及空间关系,反推出与之结合的受体的立体形状、结构和性质,推测出靶点的信息,得到虚拟受体模型,再依此来设计新的配基分子。按照药效团模型的概念,化合物如果能够符合药效团模型,就有可能具有相应的药理活性。以此类推如果该化合物能够同时符合两个以上的药效团模型,则有可能同时作用于两个以上的靶点,因此药效团模型法可以被用来设计多靶点作用药物。同时该法还具有活性预测能力,有助于提高设计的成功率,减少盲目性。

理论上讲,如果两个靶点的作用位点的结构具有相似之处,如空间结构、电性或者疏水性等方面具有相似性时,就有可能设计出同时作用于二者的化合物。在体内条件下,一个化合物可能具有不同的构象(计算机辅助药物设计时设定能量允许值为84 kJ,也就是说产生的构象与最低能量构象相比能量差值在84 kJ以下时形成的构象是允许的)。不同的构象可能适合作用于不同的靶点,如果该化合物作用的是无靶点的靶点,将使其在体内的量减少活性降低,并可能产生副作用。设定使其作用于与疾病相关的靶点,就可能诱导化合物作用在指定的靶点上,除了辅助主靶点的作用外,还可能减少对其他靶点的进攻,减少副作用。因此,利用计算机辅助设计技术设计多靶点作用药物不仅是可能的,也是有利的。

在利用药效团模型法设计多靶点作用药物时,首先要根据疾病的病理机制,选择并确定主要靶点和次要靶点,针对相应的靶点建立有效的药效团模型,对药效团模型进行分析,找出各药效团模型相似和差异的地方,再结合靶点的空间结构进一步分析是否有可能设计出同时作用于不同靶点的先导化合物。利用主要靶点的药效团模型在数据库中查询符合标准的相关化合物,按照一定的标准选择化合物并进行虚拟筛选。将已选择的虚拟活性较高的化合物利用其他的药

效团模型进行虚拟筛选,同时进行必要的修饰和改造,修饰后的先导化合物再利用主靶点的药效团模型进行虚拟筛选和相应修饰,由此反复多次,最终可得到对于不同靶点均具有较好作用的多靶点作用化合物。合成筛选的化合物并进行相应的活性测定以确定设计化合物的作用。本课题组已利用药效团模型法设计出一些可以作用于多靶点的化合物,如同时作用于GSK-3受体和 β -分泌酶的化合物及作用于酪氨酸蛋白激酶和法尼基转移酶的具有抗肿瘤活性的化合物。

虽然如此,但是设计多靶点作用药物时仍然存在一些问题,主要包括:①作用靶点的选择。是选择作用于同一疾病的不同起因还是选择相应的信号传导途径,是选择同一途径的不同靶点还是不同途径的相关靶点,即使在同一信号传导通路也有不同的靶酶(包括上游和下游),选择那种酶作为主靶标,那些酶作为辅助靶标是多靶点作用药物设计成功与否的一个关键。②对靶点的选择性。虽然多靶点作用药物可同时作用于不同的靶点,但仍然应该具有选择性,也就是说对于相应的靶点应具有选择性。因此有必要对相应靶点的结构和性质(相互作用形式、位阻敏感区域、局部亲水性和疏水性区域等)有较为充分的了解。靶标的作用位点的结构相似性越强,作用于两个靶点的可能性就越大,设计难度越小。另外还应该了解药物与相关靶点的作用机制,了解与不同靶点作用时作用机制的差异,很多时候单靶点药物的作用机制可以参考,但有时单靶点作用药物和多靶点作用药物的作用机制可能不完全相同,对于最终活性的影响也可能不一样,这些在药物设计时都要予以考虑。③作用强度的差异。活性强度的匹配程度是多靶点作用药物设计的关键。有些靶点,很少量的药物就可以满足要求,而有些则相反。如果药物对不同靶点的 IC_{50} 相近,则问题相对较小;如果它们的 IC_{50} 相差较远,可以利用结构修饰的方法尽量使它们的 IC_{50} 预测值接近,甚至可以从药代动力学角度进行修正。如果对两个受体分别呈激动或拮抗作用的多靶点作用药物(如作用于乙酰胆碱酯酶和乙酰胆碱受体的多靶点作用药物),设计时要达到作用强度适配的难度就更大一些。总之,作用强度的适配性仍然是多靶点作用药物设计的瓶颈问题之一。④作用于不同靶点时,药物的药代动力学(如代谢速率、转运方式、生物利用度等)存在着差异,并且多靶点作用药物的作用机制可能与选择性的单靶点药物不一致,因此应该对多靶点作用药物进行SAR、QSAR、作用机制、代谢等方面的研究,利用研究结果,进一步设计新型的多靶点作用药物。

尽管存在着很多困难和问题, 但多靶点作用药物的有效性已引起人们的广泛关注, 应用生物信息学、计算机辅助药物设计等技术, 解决药物设计中的瓶颈问题, 多靶点作用药物必将取得更大的发展。

References

- [1] Huang WL, Zhu XF. Signal Transduction [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 20–100.
- [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] Bolognesi ML, Minarini An, Tumiatti V, et al. Lipoic acid, a lead structure for multi-target-directed drugs for neurodegeneration [J]. Mini Rev Med Chem, 2006, 6: 1269–1274.
- [4] Holtzman DM, Mobley WC. Molecular studies in Alzheimer's disease [J]. Trends Biochem Sci, 1991, 16: 140–144.
- [5] Su W, Xu ZY. Research progress on cancer targeted therapy and multiple target effect of Chinese material medica [J]. Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志), 2007, 41: 87–88.
- [6] Liang YQ, Tang XC. Comparative studies of huperzine A, donepezil, and rivastigmine on brain acetylcholine, dopamine, norepinephrine, and 5-hydroxytryptamine levels in freely-moving rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27: 1127–1136.
- [7] Lehmann JN, Moore LB, Smith-Oliver TA, et al. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR gamma) [J]. J Bio Chem, 1995, 270: 12953–12956.
- [8] Sigmond J, Backus HH, Wooters D, et al. Induction of resistance to the multitargeted antifolate Pemetrexed (ALIMTA) in WiDr human colon cancer cells is associated with thymidylate synthase overexpression [J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66: 431–438.
- [9] Wang F, Fu LW. Research advances in sorafenib: a multiple targeted anti-tumor agent [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2008, 24: 1117–1120.
- [10] Zhu Y, Tong XY, Jiang FC, et al. Construction of the pharmacophore model of acetylcholinesterase inhibitor [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 267–276.