

·学科进展与展望·

药理学科学基础研究中的重要前沿领域

黄文龙* 吴 镭†

(* 中国药科大学药学院,南京 210009;† 国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085)

[摘 要] 本文着重从重大疾病防治药物作用机制与新靶点研究,药物研究的新理论、新方法和新技术两个方面概要地介绍了药理学科学基础研究中的一些重要前沿领域。

[关键词] 药理学科学,药理学,新药,科学前沿

药理学科学是研究药物及其作用规律的科学,经过长期发展已形成了多门分支学科,如药物化学、药物分析、药理学、药物毒理学、药物代谢与药代动力学、药剂学等。目前国际药理学科学基础研究中的重要前沿领域主要有以下一些方面:

1 重大疾病防治药物作用机制与新靶点的研究进展

1.1 神经精神系统疾病^[1]

在研究发病机制的基础上,多种受体、离子通道、递质转运蛋白纷纷被克隆,定点突变可以确定蛋白质上某些氨基酸残基是药物的作用点。同源重组技术剔除特定基因可以研究其表达蛋白的功能。受体克隆的速度已超过药理学能发现受体的速度,出现了孤儿受体(orphan receptor),推动了孤儿受体同源性配体的寻找。这种逆相药理学具有极大的创造性。

一氧化氮(NO)和乙酰胆碱酯酶等具有信号传递和介导其他非胆碱能神经元的特性。对胆碱酯酶新功能的研究有可能对神经变性、再生及药物的开发有重要意义。对阿尔茨海默氏病、帕金森氏综合症等神经退行性疾病的分子遗传学研究取得了进展。小鼠脑内 NR2B 基因的敲除(Knock out)或敲入(knock in)实验,表明该基因与记忆、联想、识别有关,促进了激活 NR2B 基因药物的研究,将对早老性痴呆和记忆力缺失的治疗产生重要影响。

1.2 肿瘤^[2]

人类经过长期不懈的努力,正在逐步揭示恶性

肿瘤发生的本质,抗肿瘤药物的研究也进入新阶段。紫杉醇、喜树碱衍生物等药物的研究成功,表明继续寻找有新作用机制及独特化学结构的细胞毒药物仍有重要意义。随着分子生物学的进步以及肿瘤基础研究的发展,已经证明肿瘤是一个多基因疾病。肿瘤细胞分子生物学的进步为肿瘤防治提供了许多新靶点及治疗方向,如肿瘤细胞分化诱导及治疗,抗肿瘤侵袭及转移药物研究,克服肿瘤多药耐药性及其逆转剂的研究,单克隆抗体及肿瘤靶向治疗,细胞因子及免疫治疗,肿瘤相关基因及基因治疗等。

最近有关肿瘤发生发展的机制研究表明,在恶性肿瘤细胞中,细胞内原有各种基本过程的调节失控。这些过程包括:细胞周期的调控,信号转导通路的异常,细胞凋亡,端粒的稳定性,血管生成以及胞外基质的相互作用等。研究者正在利用最新的肿瘤基础研究中的发现,重点研究肿瘤发生与发展过程中起关键作用的特异分子及生物靶点,如细胞凋亡诱导剂、信号传导阻滞剂、血管生成抑制剂,以发现对肿瘤具有特异性作用的药物。

1.3 心血管系统疾病^[3-5]

分子药理学、基因分子生物学的发展为心血管疾病防治药物研究提供了可靠的手段,取得了实质性进展。血管内皮细胞的研究及内皮素和内皮舒张因子的发现加深了对平滑肌调节过程的认识。内皮舒张因子的本质是 NO,指导人们开发新一代 NO 供体药物,并积极寻找可供临床使用的内皮素受体拮抗剂。在抗凝血方面,作用于血小板特殊部位上的糖蛋白受体 GPIIb/IIIa 拮抗剂,通过阻断纤维蛋白

* 本文于 2001 年 11 月 5 日收到。

原与血小板的结合,有效地抑制血小板聚集。

ATP 敏感钾通道近年来一直是研究热点。新近发现不同组织中 ATP 敏感钾通道结构不同,如血管平滑肌的 ATP 敏感钾通道由 Kir6.1 型钾通道和 SUR2B(磺酰脲受体)共同组成,在心脏则由 Kir6.2 和 SUR2A 组成,它们均不同于胰腺中 ATP 敏感钾通道 Kir6.2 和 SUR1。据此有可能研制出选择性作用于血管、心脏的钾通道开放剂。

大多数心血管疾病与多基因变化有关,如高血压、心肌肥厚患者均有多基因过度表达现象,而在家族性(遗传性)长 QT(LQT)综合症患者中至少分离得到三种变异基因,引起 QT 间期延长,引发尖端扭转型心律失常和病人猝死。随着人类基因组计划的实施,这些基因及基因产物作为药物作用新靶点的可能性越来越大,届时将会有效地推动心血管药物的研究开发。

1.4 免疫性疾病^[6,7]

近年来对某些免疫炎症性发病机制的研究发现细胞与细胞间相互作用是多种疾病发生的共同通路之一,这种细胞间相互作用包括效应细胞与靶细胞、效应细胞与效应细胞、效应细胞与细胞外基质、靶细胞与细胞外基质等的相互作用。阻断其中某一或某些环节,有可能阻断炎症的发生或发展,或引起免疫耐受而降低机体对异物的应答能力。在这些相互作用中,细胞粘附分子起关键作用,引起细胞内信号转导的改变。因此,新粘附分子的发现,新的信号转导通路,酶与底物,配体与受体相互作用及其调节网络的阐明,细胞周期分子、细胞因子、炎症过程关键分子的调控,均有可能产生免疫药物作用的新靶点,并有可能为新型免疫抑制剂或调节剂的研究开发带来革命性的进展。

1.5 糖尿病^[8]

非胰岛素依赖的 II 型糖尿病的病理特征为胰岛素虽仍在分泌,但效应细胞缺乏对其响应,因此提高效应细胞的敏感性成为近期的治疗目标。新近发现过氧化酶体增殖激活受体(PPAR)激动剂具有这方面的作用,与该受体相关的蛋白质有三种亚型 PPAR α , β , γ 。这些蛋白质可与维甲酸 RXR 受体形成异二聚体,当配体和受体结合后,该二聚体可反馈式激活某些特定基因的启动子,这些基因同属 PPAR 结合的基因。控制脂类代谢的脂蛋白酯酶的乙酰 CoA 合成酶等的基因都属此类。现已证明 PPAR α 激动剂与受体结合后,可促进脂类代谢;而 PPAR γ 激动剂与受体结合后可使效应细胞对胰岛素敏感,从

而为 II 型糖尿病提供了新的治疗途径。

1.6 病毒感染性疾病^[9]

病毒学的进展,特别是病毒基因组的测定,为抗病毒药物研究提供了许多靶点。目前针对病毒传染和成熟后的靶点主要有两类,逆转录酶和蛋白分解酶。逆转录酶抑制剂可以作用于病毒的逆向转录酶,阻止病毒 RNA 的逆转录,具有抗包括 HIV 在内的逆转录病毒的作用;蛋白分解酶抑制剂作用于感染后的细胞,逆转录病毒的 RNA 在逆转录酶的作用下逆转录为 DNA,此 DNA 进入染色体后,编码合成出带 RNA 和逆转录病毒粒子的蛋白质,经蛋白分解酶水解后形成逆转录病毒粒子。蛋白分解酶受到抑制后干扰病毒粒子的产生,阻止反复感染。由于病毒具有快速变异功能,极易产生耐药性,故现在研究思路已逐渐转向病毒的宿主细胞如 T 淋巴细胞,主要针对逆转录病毒的受体 CD₄, CD₂₆, CCR₅ 等,抑制这些蛋白可阻止逆转录病毒感染 T 淋巴细胞的通路。对于整合到宿主细胞 DNA 链中的病毒基因,利用反义寡核苷酸阻断其表达,也已取得某些突破性进展,目前仍是研究的热点。

2 药物研究的新理论、新方法和新技术

2.1 合理药物设计^[10]

近来新药设计越来越多地依据结构生物学、酶学、分子生物学及遗传学等生命科学的研究成果,针对这些基础研究中所揭示与疾病过程相关的酶、受体、离子通道及核酸等潜在药物作用靶位,或参考药物作用靶、内源性配体以及天然底物的化学结构特征,借助于计算机以及一些新理论、新方法,设计药物分子,以发现选择性作用于靶位的新药。这些药物往往具有活性强、作用专一、副作用较低的特点。这种“合理药物设计”(Rational drug design)已逐步进入实用阶段。基于与发病机制密切相关的药物作用靶(Mechanism-based)和基于药物靶分子(受体、酶、核酶等)和配体或底物的三维结构(Structure-based)的药物分子设计方法,从理论到应用都有重大发展。在靶分子结构已知情况下可通过数据库搜寻和全新药物设计等方法,设计出满足要求的化合物;在靶分子结构未知情况下,采用药效团(pharmacophore)分析法,映射和受体,2D/3D-OSAR 方法更合理地设计化合物。基于机制的药物设计已取得广泛成果,基于结构设计的化合物物也已有近 10 个进入 FDA 审查过程。

2.2 重视先导化合物的发现

发现先导化合物是创制新药的前提,先导物的来源有多种渠道,包括天然有效成分(植物、海洋生物、微生物发酵产物、内源性活性成份、药物代谢产物)、改进现有药物、化合物库的随机筛选和偶然发现、组合化学获得的化合物库(多肽库、小分子化合物库)以及计算机辅助设计等。

组合化学^[11](Combinatorial Chemistry)是近年迅速发展起来的一种寻求先导物的新方法、新技术。它可以快速、简便地合成大量新化合物供筛选,大大促进先导化合物的寻找和发现,对新药发现产生极大的影响。目前这种方法正在逐步走向成熟,已用于氨基酸、核苷(酸)以组合方式构成化合物库,寡糖的组合也接近实用阶段。目前正着重研究一些小分子化合物的多样性化合物库。此项工作不仅提供了快速合成、建立化合物库、扩大分子多样性的方法,还为高通量筛选(High throughput screen)提供了可靠的化合物来源,为寻找活性先导物和研究构效关系提供了有力武器。

2.3 药物合成新技术^[12,13]

药物合成与有机化学制备技术关系密切,近年来有机化学有了飞跃发展,新理论、新反应、新试剂及新技术不断出现,使得合成反应具有化学选择性、区域和立体选择性。反应收率高,产品纯,合成步骤渐趋简单化,分离操作也大大得到简化,使得药物合成技术有了极大的提高。

而在此领域中越来越受到重视的是药物手性合成技术。手性是自然界的本质属性之一,药物的生物应答常受到手性的影响,包括药物在体内的吸收、分布、转运、与活性位点的作用、代谢、转化和消除。研究开发新的手性药物和现有外消旋药物的手性化已成为药物研究的重要方向。手性药物的制备技术发展较快的为化学合成法和生物合成法。化学合成法是在不对称催化剂存在下,利用化学反应的动力学和热力学不对称性,进行单一对映体合成,它是近年来手性药物合成研究的热点。生物合成法则利用生物催化剂(酶、产酶细胞、抗体)催化反应的底物、区域、位点和立体高度民主选择性。生物合成法具有反应选择性高、产率高、反应条件温和等特点。随着各种技术的日趋完善,生物合成法将成为制备手性药物最有效的手段。

2.4 药物代谢与药代动力学研究的新进展^[14]

得益于新技术、新方法、新概念的运用,药物代谢与药代动力学综合运用物理学、化学、生物学、计

算机技术,开发出快速灵敏、准确测定生物样品中药物及代谢产物浓度的方法。这些方法包括组织培养、细胞培养、微生物转化、基因工程酶表达等体外代谢模型;LC/MS、LC/MS/MS、LC/NMR、放射标记示踪技术等,结合型代谢及代谢转化产物结构鉴定方法,以及与研究药物代谢参与酶及其表达有关的细胞生物学、分子生物学方法等。

近年来的研究热点包括:根据药代动力学性质对化合物进行高通量筛选,药物转运的细胞机制与分子机制,药物代谢酶的遗传药理学研究,特定类别药物的吸收、转运和靶向性机制,药代动力学和药效学的相关性,人体药代动力学、制剂生物利用度和生物等效性预测,手性药物立体选择性体内过程研究等。

2.5 药物分析新技术^[15]

随着各种新建立的先进分析技术越来越多的被采用,药物分析的领域正在扩大。在新药的研究开发和生产管理过程中,从化学结构、提取分离(特别是天然药物)、生产合成和中间体控制、稳定性考察、微量杂质检查以及临床用药的治疗监控、血药浓度及代谢产物的分析等方面,药物分析研究都显得十分活跃。

由于现代分析仪器的迅速发展,药物的分离分析水平得到了提高。目前常用的是各种色谱和光谱技术。以液相色谱、气相色谱、超临界液体色谱和电泳技术为代表的现代色谱分析方法,能对复杂体系进行分析。X射线衍射、多维NMR技术、各种MS测定等光谱技术,使药物分子的结构得以确证。近年来发展起来的多种仪器联用技术,如LC-MS联用,LC-NMR联用以及正在研制的LC-IR联用等,能快速分离并给出光谱谱图。现代分析化学所发展的简便、快速、高效、微量的新技术,对药物研究中药物分析、代谢、质量控制等环节起着关键作用。今后应重点开发专门用于药物研究和开发的多维色谱技术、光谱-光谱联用技术或称多维光谱技术及色谱-光谱联用技术。上述技术可实现高通量复杂化合物的分离和结构分析,与高通量药物筛选结合可进一步加快先导化合物的发现速度。

2.6 药物毒理学研究新趋势^[16]

新药安全评价是新药创新体系中不可缺少的重要组成部分。国际上新药安全评价和研究发展迅速,总的趋势是充分利用分子生物学(如转基因动物、生物芯片技术)、分子遗传学(如遗传药理学)、细胞培养等现代理论和技术建立毒性筛评价模型,减

少实验动物使用数量。许多国家和国际性组织采纳动物保护的3R原则(Refinement, Reduction, Replacement),并制定相关法律,要求尽可能建立和使用新的替代试验,以改进、减少和替代动物试验。替代模型往往采用组织培养、荧光分析、受体、酶活性检测等分子生物学技术,这些方法和技术不仅符合3R原则,而且可提供新的检测终点和更灵敏的检测手段,在分子水平阐明药物毒性机制,提供与传统动物试验相同的或更多的有关受试药物的毒性信息,有些方法还可自动化,有利于对大量先导化合物潜在毒性快速、灵敏、经济地筛选。毒理学在药物开发过程中,还应发挥积极主动的指导作用,在决定是否合成或测试某类化合物时,毒理学家根据毒理学模型和QSTR对该类化合物作出预筛选,从而找出潜在的毒性较低的活性化合物。这一过程正在形成新兴学科-发现毒理学(Discovery Toxicology)。

2.7 新制剂,新剂型^[17]

20世纪90年代以来,药剂学已进入药物传输系统(Drug Delivery System, DDS)时代。新型药物传输系统如口服缓释及控释系统、粘膜给药系统、透皮给药系统、靶向给药系统、应答式给药系统和速效给药系统成为药剂学发展的主流。国际发展趋势对DDS的研究提出了更高要求,即从平稳血药浓度的要求发展到以提高病人在疾病状态下的药效为目标。优化剂型和技术,优化释药特征,使之具有治疗需要的释药速度、释药时间及部位或靶位,不仅取得药动学与药效学的相关,还特别注重在疾病状态下的提高治疗值。

基于对疾病机理及胃肠吸收机理的深入理解以及多学科新技术的介入,口服缓释及控释给药系统突破了传统的诸多限制,更多的药物将通过缓控释技术改善体内吸收特征,达到定速、定位、定时给药。透皮给药系统着眼于药物透过皮肤进入体循环产生全身治疗的作用,研究药物和载体与皮肤的相互作用、研究促进药物安全有效透过皮肤的机理、方法与技术是该领域的热点。由此衍生的逆向皮肤离子电渗技术已经为某些疾病无损伤性诊断提供了独特的工具,而无针头经皮注射药物粉末及溶液的研究使大分子药物及疫苗的无创性给药也成为现实。载体的趋靶性和长循环是靶向给药系统研究关注的问题,药物载体的研究向药物-抗体共轭,载体-抗体介导、载体物理或化学修饰、纳米粒等发展以达到更高级靶向目的。多肽及蛋白质药物的口服给药系统、口腔、鼻腔粘膜给药系统以及肺吸入给药系统等

研究十分活跃,有望在不久能够成为大分子注射给药剂型的一种重要补充。在药物及剂型、辅料及制剂技术等研究中充分利用和结合分子生物学、细胞生物学、电学、力学、结晶化学、高分子科学等多学科理论和技术的最新发展是DDS研究的明显特征。

2.8 临床药理学研究新发展^[18]

药物临床使用后在体内的作用规律和人体与药物之间相互作用过程近年来日益受到重视,包括药效学、药物不良反应、人体药代动力学以及药物上市后的监督等。这些研究结果可为药政部门提供评审依据,为临床合理用药提供可靠保证,为新药研究提供新的思路。

随着数理研究与生物学的结合,生物控制论所取得的进展为临床药理研究提供了模拟药物在人体内代谢动力学的各种数学模型,体内药物浓度检测技术的发展和不断改进使得药代动力学研究不断深入,对药物在体内的时间和空间,物理和化学过程有了深刻的认识。生物统计学的发展和无创性人体器官功能检测技术的优化以及相关仪器设备的更新,使临床试验设计不断改进,药物疗效与不良反应的观察更加客观,评价更加准确。临床药理学研究已开始综合应用分子生物学等其他学科的研究手段,如遗传药理学(Pharmacogenetics)、药物基因组学(Pharmacogenomics)、药物治疗学(Pharmacotherapeutics)、治疗药物浓度监测(TDM)、药物监测学(Pharmacovigilance)、DNA芯片技术,并直接参与到疾病的诊断、治疗、优化个体治疗方案的研究。在此过程中形成了另一门边缘学科——药物经济学(Pharmacoeconomy)。

2.9 药物研究相关的新理论、新技术

在药物创新过程中,知识创新和技术创新是新药发现的原动力。药学领域在其他学科的支撑下,新理论,新技术的不断建立为新药的发现提供了可靠保证。新理论包括生物大分子-配体小分子相互作用的热力学和动力学性质理论,蛋白-蛋白界面作用理论,药物分子水行为理论,结构生物学,生物信息学,化学生物学,化学信息学,化学遗传学,分子识别模式等。新技术包括基因工程、基因大规模序列分析、DNA及多肽自动合成、手性合成、基因芯片、蛋白质芯片、组合技术、转基因动物、色谱-光谱联用、多维色谱及光谱、高通量筛选、反义技术、纳米技术、超临界技术等。这些技术的综合与集成对提高新药发现的命中率,加速新药的研究与开发正在发挥越来越大的作用。

综上所述,目前国际药学科学的基础研究正沿着两个重要方向发展:一是针对重大疾病的发病机制,充分运用分子生物学、细胞生物学、遗传学、生物化学等生命科学的重要理论、思路和研究手段发现新的药物作用靶,如酶、受体、细胞因子、离子通道、核酸、碳水化合物、脂肪等;以及可能的干预环节,如细胞信号转导、细胞调控、基因表达等。二是利用与药学科学相关的生物信息学、计算机科学、化学等学科的最新研究成果发展药物研究的新方法、新技术。这两个重要研究方向所建立的新理论、新方法和新技术一方面促进了药学科学自身的发展,加深了对生命现象的认识。另一方面必将为创制优良的药物、加速新药的发现提供更为有效的手段和保证。

致谢 本文的完成得益于我国药学科学界众多科学家提出的宝贵意见,在此一并表示感谢!

参 考 文 献

- [1] Greenfield S. Brain drugs of the future. *BMJ*, 1998, **317**:1 698.
- [2] Buolamwini J K. Novel anticancer drug discovery *curr Opin Chem. Biol.*, 1999, **3**:500.
- [3] Ferrari P, Bianchi G. The Genomics of cardiovascular disorders. *Drugs*, 2000, **59**:1 025.
- [4] Scarborough R M, Gretler D D. Platelet glycoprotein II b-III a antagonists as prototypical integrin blocker: novel parenteral and potential oral antithrombotic agents. *J. Med. Chem.*, 2000, **43**:3 453.
- [5] Phillips M I, Culli S M, Mehta J L. The potential role of antisense oligodeoxynucleotide therapy for cardiovascular disease. *Drug.*, 2000, **60**:239.
- [6] Fahrer A M, Bazan J F, Papathanasiou P et al. A genomic view of immunology. *Nature*, 2001, **409**:836.
- [7] Talanian Rv, Brady K D, Cryhs V l. Caspase as targets for anti-inflammatory and antiapoptotic drug *Discovery. J. Med. chem.*, 2000, **43**:3 351.
- [8] Lampbell I W. Antidiabetic drugs Present and future *Drugs*. 2000, **60**: 1 017.
- [9] Brody T M, Larner J, Minneman K eds. *Human Pharmacology: Molecular to clinical*, 3rd edition, St. louis Masby, 1998, 745—761.
- [10] Hubbard R E. Can drugs be designed. *Curr Opin Biotech.*, 1997, **5**:1 139.
- [11] Myers P L. Will combinational chemistry deliver real medicine. *Curr Opin Biotech.*, 1997, **8**:701.
- [12] Kobayashi S. New methodologies for the syntheni of compound libraries. *Chem. Soc. Rev.*, 1999, **28**:1.
- [13] Canali L, Sherrington D C. Utilization of homogeneous and supported chiral metal(salen) complexes in asymmetric catalysis. *Chem. Soc. Rev.*, 1999, **28**:85.
- [14] Jochensen R, Laveille C, Briemer D D. Applicatin of pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling and population approaches to drug development. *Int. J. Pharm Med.*, 1999, **13**:243.
- [15] Kok S T Velthorst N H, Gooijir C. Analyteal irdanification techniques. *Electrophoresis*. 1998, **19**:2 753.
- [16] Alden C L. The pothologist and toxicologist in pharmaceutical product discovery. *Toxicol Payhol.*, 1999, **27**:104.
- [17] 侯惠民,王浩. 现代药物制剂中的高新技术. *中国药学杂志*, 1997, **32**:677.
- [18] Reid T L. Chincialpharmacology and therapeutics past, present and future. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1997, **5**:553.

THE IMPORTANT FRONTIER AREAS IN FUNDAMENTAL RESEARCH OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

Huang Wenlong* Wu Lei†

(* College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

†Department of Life Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085)

Abstract Some important frontier areas in fundamental research of pharmaceutical sciences are discussed in this paper, especially the studying of new mechanisms and targets of drug and the new theories, methods and techniques for discovering new drug.

Key words pharmaceutical sciences, pharmacology, new drug, frontier of science