

基于化学基因组学的创新药物发现

何宝坤, 马增春, 王宇光, 高月*

(军事医学科学院 放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 化学基因组学已经广泛用于创新药物发现。本文简要介绍了化学基因组学的概念, 综述了基于正向化学基因组学、反向化学基因组学和预测化学基因组学的创新药物发现以及制药公司将化学基因组学应用于新药发现的研究进展。

关键词: 创新药物发现; 正向化学基因组学; 反向化学基因组学; 预测化学基因组学

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2008)11-1077-05

Advance in the research and discovery of novel drugs based on chemogenomics

HE Bao-kun, MA Zeng-chun, WANG Yu-guang, GAO Yue*

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

Abstract: Chemogenomics/chemical genomics has been widely used in novel drug research and discovery. Firstly, the concept of chemogenomics was introduced briefly. Secondly, we reviewed the progress of novel drug research and discovery based on forward chemogenomics, reverse chemogenomics and predictive chemogenomics. Finally, we showed progress of the research that chemogenomics has been used to novel drug research and discovery in pharmaceuticals companies.

Key words: novel drug research and discovery; forward chemogenomics; reverse chemogenomics; predictive chemogenomics

化学基因组学 (chemogenomics/chemical genomics) 是伴随基因组学研究诞生的新兴领域, 它整合了药物化学、基因组学、分子生物学和信息学等领域的相关技术, 是联系基因和药物的桥梁和纽带。它以化学合成或植物化学的方法获得的各种具有生物活性的化学小分子配体作为探针, 在各种体内外生物模型上研究小分子化合物对靶器官、靶细胞或靶点的影响, 全面了解小分子化合物的生物学特点。化学基因组学已经广泛用于药物分子设计、治疗靶标的选择、药物筛选、活性评估以及毒性的预测等药物研发过程^[1-4]。本文仅对其用于药物发现方面进行简要介绍。

1 化学基因组学的概念

传统的化学基因组学由哈佛大学的 Stuart Schreiber 教授首先提出, 他指出由单个的化合物对一个基因或蛋白进行试验来阐明生物学机制。他的研究小组合成某些小分子化合物, 使之与蛋白质结合并改变蛋白质的功能^[5]。这种使用类似药品的化学试剂或已知的小分子化合物去探测复杂的、以前未知的基因组靶标和路径的方法被称为化学基因组学或化学遗传学。

1996年 Glaxo Wellcome 的研究者^[6]提出了基于靶基因家族如 GPCRs、离子通道和蛋白酶等药物发现系统化研究的化学基因组学概念, 即通过特异分子识别模式验证基因组编码的靶蛋白与小分子化合物的相互作用。随着化学合成和生物评价的高通量化, 化学基因组学发展为化合物库中小分子对潜在在大分子靶标生物影响的系统研究^[4]。从广义上

收稿日期: 2008-03-31.

* 通讯作者 Tel / Fax: 86-10-66931312,
E-mail: gaoyue@yahoo.com

来说,化学基因组学也被描述为“验证基因组中所有潜在药物靶点,发现和描述针对每个靶点的所有潜在药物”^[7]。

2 基于化学基因组学的药物发现策略

2.1 正向化学基因组学与药物发现

正向化学基因组学(图1)能够用于药物靶点和新型先导化合物的发现。Mayer等^[8]通过荧光显微镜观察16320个化合物处理细胞的微管、肌动蛋白和染色质变化,筛选出能使细胞内单星状微管排列代替两极性有丝分裂纺锤体的化合物monastrol,并发现monastrol通过作用于驱动蛋白Eg5,抑制了Eg5驱动的微管运动。新化合物monastrol既可以作为先导化合物开发为抗癌药物,又可以作为化学探针研究Eg5蛋白在纺锤体两极化和其他细胞过程中的功能。正向化学基因组学方法还能用于筛选诱导干细胞分化的小分子化合物,Ding等^[9]首先用转染荧光素酶并具有多潜能的鼠类P19 EC细胞筛选化合物库,发现一些化合物具有诱导P19 EC细胞向神经细胞分化,其中对4,6-取代的吡咯嘧啶(pyrrolopyrimidine)类似物进行结构分析和改进,发现新合成化合物TWS119不仅诱导P19 EC细胞向神经细胞分化,还能诱导原代鼠胚胎干细胞向神经细胞分化;随后用亲和层析方法发现糖原合成酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)是TWS119作用的靶点,进一步分析发现TWS119通过改变P19 EC细胞内的GSK-3 β / β -catenin信号通路诱导了向神经细胞分化。为了验证白藜芦醇延长寿命的分子机制,用白藜芦醇处理小鼠发现能明显增加小鼠的有氧代谢能力,其主要通过降低过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子 α (peroxisome proliferators activated receptor γ coactivator 1 α , PGC-1 α)乙酰化和增加PGC-1 α 活性调控了氧化磷酸化和线粒体生物发生相关基因的表达来实现,而PGC-1 α 乙酰化又与白藜芦醇激活sirt1有关,表明白藜芦醇通过激活sirt1基因延长寿命^[10]。Leucascandrolide A和neopeltolide是结构相似的海藻天然产物,具有抑制哺乳动物细胞和酵母

增殖的作用,研究发现它们通过抑制线粒体内ATP的合成发挥作用,进一步研究发现细胞色素bc1复合体是它们的作用靶点,该结果揭示了海洋大环内酯类天然产物抗增殖活性的分子机制^[11]。

2.2 反向化学基因组学与药物发现

反向化学基因组学方法(图2)用于发现针对某个已知药物靶点的新先导化合物。Chang等^[12]首先合成2,6,9-取代的嘌呤化合物库;然后用细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和白血病细胞对化合物库进行筛选,找出对CDK活性和白血病细胞生长具有抑制作用的嘌呤化合物;其次根据筛选的先导物结构和构效关系,用反复合成的方法对先导物进行结构优化;最后找到最具有CDK抑制活性的化合物。缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)在肿瘤发生和发展中起重要作用,为了筛选作用于HIF-1信号通路的小分子,Lin等^[13]用反向化学基因组学方法首先克隆HIF-1基因并建立了报告基因细胞株;然后对含有691200个小分子的化合物库进行筛选,发现烷基亚胺基乙酸苯酯类化合物能够抑制缺氧诱导的HIF-1报告基因活性。Sirt1是一种NAD⁺依赖的组蛋白脱乙酰基酶。根据反向化学基因组学原理,用荧光脱乙酰作用检测对化合物库进行筛选,发现白藜芦醇、piceatannol和槲皮素等3类化合物都具有Sirt1激活作用^[14]。由于白藜芦醇对Sirt1激活作用较弱,根据已发现的具有Sirt1激活作用的先导化合物结构,利用离体高通量荧光检测和高通量质谱法对先导化合物进行了结构优化,进一步发现了比白藜芦醇激活作用高1000多倍的SRT1720和SRT2183等化合物。用这些化合物处理饮食诱导肥胖小鼠或遗传突变肥胖小鼠,它们能够改善胰岛素敏感性、降低血糖和增加线粒体功能;这些化合物也改善了Zucker fa/fa大鼠整体血糖平衡以及脂肪组织、骨骼肌和肝脏的胰岛素敏感性^[15]。从而发现具有糖尿病治疗作用的新药物靶点Sirt1和针对该靶点的具有降糖作用的SRT1720和SRT2183等先导物。



Figure 1 Forward chemogenomics

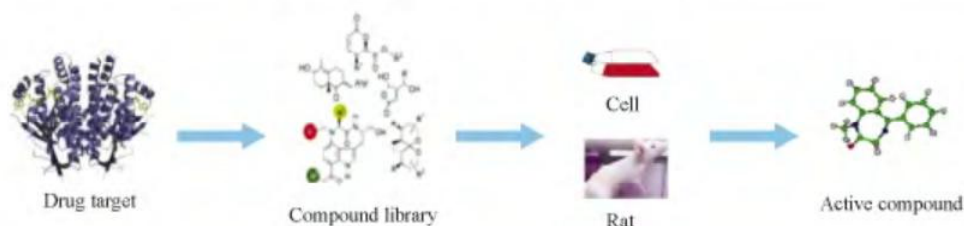


Figure 2 Reverse chemogenomics

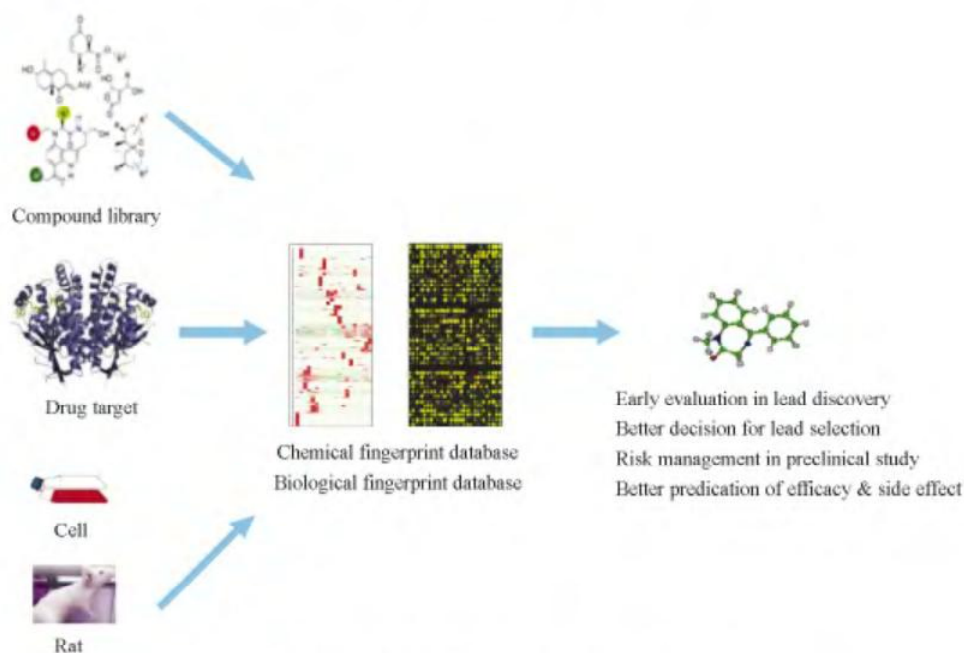


Figure 3 Predictive chemogenomics

2.3 预测化学基因组学与药物发现 预测化学基因组学(图3)通过对化学基因组学数据的整合和挖掘,用于揭示基因-靶点-疾病-药物-药效或毒性的关系,能够建立起基因到药物和药物到疾病的预测模型,在新药发现中的应用越来越广泛。为了验证FK506的作用靶点和对其他靶点的影响, Marton等^[16]根据预测化学基因组学的原理,利用各种基因标记物表达模式之间的相关系数,对FK506的作用靶点和次靶点进行了预测,发现FK506处理组野生型酿酒酵母基因标记物与神经钙蛋白突变体基因标记物的表达模式非常相似,表明神经钙蛋白是FK506的作用靶点;另外,还发现FK506处理组野生型和*fpr1*基因突变体基因标记物的表达模式不存在相似性,表明*fpr1*基因产物参与了FK506对细胞内信号通路的影响,即*fpr1*可能作为FK506药物的作用次靶点。预测化学基因组学也可以利用小分子与靶点的结合关系数据库探索化学结构和生物靶标

之间的全部关系,为了实现这个目标首先需建立包括大量小分子与靶标结合的构效关系数据库,用贝叶斯预测模型构建配体-靶标矩阵,根据已知数据进行药理学和作用靶点的预测,从而将靶点和药物的化学结构等特性之间的关系用于提高药物发现效率^[17]。预测化学基因组学还能够用于药物的临床药效评价, Gunther等^[18]用抗抑郁药、抗精神病药和阿片受体抑制剂分别处理人的原代神经元细胞,并用基因芯片检测这些药物处理后的基因表达谱,再采用分类树等分类算法对基因表达谱数据进行分析,分别找出了抗抑郁药、抗精神病药物和阿片受体抑制剂的基因标志物,最后根据基因标志物对这些药物的临床疗效进行预测,其准确率达到88.9%。Lamb等^[19]首先收集了164种已上市药物和未上市的活性化合物,分别检测这些化合物处理不同细胞系的基因表达谱,建立了化学基因组学数据库;然后用非参数的Kolmogorov-Smirnov统计学方法建立了

小分子与小分子、小分子与疾病之间的“联系图”预测模型,如根据阿尔茨海默病的基因标记物,建立了阿尔茨海默病与其治疗药物之间的“联系图”,发现4,5-dianilino phthalimide(DAPH)与阿尔茨海默病呈负相关,表明DAPH具有潜在的阿尔茨海默病治疗作用,因此该“联系图”也可用于疾病的新治疗分子发现。Young等^[20]利用因素分析方法预测细胞表型与化合物活性之间的关系,比较了活性化合物的细胞表型、化学相似性和蛋白结合活性,有效揭示了化合物的作用机制。

3 国内外制药公司将化学基因组学用于药物发现的进展

在过去的数年里,化学基因组学已经成为国内外制药工业界炙手可热的新兴词汇,诸如Iconix、Infinity和NeoGenesis等制药集团相继进入这一市场。根据化学基因组学策略,利用各种高通量技术方法建立化学基因组学数据库,试图筛选出针对某个药物靶点的小分子,并确定该小分子是否具备成为有效的候选药物的潜质。Iconix利用其大规模化学基因组参考数据库及信息学系统——DrugMatrix(R)平台,得到Drug Signatures数据库^[21]。阿斯利康公司(AstraZeneca)选择并使用Iconix的参考数据库和预测生物标志物,为一种特效癌症药物开发计划提供化学基因组学的描绘与分析服务。Infinity制药公司将结构化学与天然化合物的相结合,这种多样性介导的合成能够使针对目标确认过程从为期1年缩短到6个月,加快了该公司第1个新药的发现——一个被称为IPI-504的小分子,其作用靶点是热激蛋白90(heat shock protein90,HSP90)系统,参与细胞内蛋白质平衡和完整性的调节^[22]。

为了实现国内创新药物发现的突破,深圳微芯生物科技有限公司针对2型糖尿病、肿瘤等重大疾病,利用自建的化学基因组学技术平台已发现了多个具有自主知识产权的药物分子。目前公司已有两种自主设计、合成、筛选和评价、具全球专利保护和作用机制领先的创新药物进入临床评价,其中治疗2型糖尿病候选化合物CS1300038已经进入IIb期临床试验,抗肿瘤药物候选化合物CS055已经进入I期临床试验^[23~25]。

4 展望

化学基因组学能够多大程度上改变新药发现进程人们仍拭目以待。化学基因组学现在面临的挑战主要是如何建立足够丰富多样的化合物库、生物学特征的数据库以及这些数据库的整合挖掘工具。但

是在对待化学基因组学的前景这一问题上,大多数制药工业界的同仁们都保持着乐观的态度。另外,化学基因组学可利用天然产物结构多样性以及中药疗效确切的特点,阐明中药的多靶点作用机制以及从天然产物中寻找针对某个疾病的先导化合物,在中药现代化研究中也都有着广阔的应用前景。

References

- [1] Gaither LA. Chemogenomics approaches to novel target discovery [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2007,4:411-419.
- [2] Harris CJ, Stevens AP. Chemogenomics: structuring the drug discovery process to gene families [J]. *Drug Discov Today*, 2006,11:880-888.
- [3] Zanders ED, Gordon RD, Gershtater CJ. The emergence of chemical genomics in drug discovery [J]. *IDrugs*, 2005,8:919-923.
- [4] Rognan D. Chemogenomic approaches to rational drug design [J]. *Br J Pharmacol*, 2007,149:1-15.
- [5] Spencer DM, Wandless TJ, Schreiber SL, et al. Controlling signal transduction with synthetic ligands [J]. *Science*, 1993,262:1019-1024.
- [6] Jacoby E. Chemogenomics: drug discovery's panacea? [J]. *Mol Biosyst*, 2006,2:218-220.
- [7] Caron PR, Mullican MD, Mashal RD, et al. Chemogenomic approaches to drug discovery [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2001,5:464-470.
- [8] Mayer TU, Kapoor TM, Haggarty SJ, et al. Small molecule inhibitor of mitotic spindle bipolarity identified in a phenotype-based screen [J]. *Science*, 1999,286:971-974.
- [9] Ding S, Wu TY, Brinker A, et al. Synthetic small molecules that control stem cell fate [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100:7632-7637.
- [10] Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α [J]. *Cell*, 2006,127:1109-1122.
- [11] Ulanovskaya OA, Janjic J, Suzuki M, et al. Synthesis enables identification of the cellular target of leucascandrolide A and neopeltolide [J]. *Nat Chem Biol*, 2008,4:418-424.
- [12] Chang YT, Gray NS, Rosania GR, et al. Synthesis and application of functionally diverse 2,6,9-trisubstituted purine libraries as CDK inhibitors [J]. *Chem Biol*, 1999,6:361-375.
- [13] Lin XY, David CA, Donnelly JB, et al. A chemical genomics screen highlights the essential role of mitochondria in HIF-1 regulation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100:7632-7637.

- Sci USA, 2008, 105:174 – 179.
- [14] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan [J]. Nature, 2003, 425:191 – 196.
- [15] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes [J]. Nature, 2007, 450:712 – 716.
- [16] Marton MJ, Derisi JL, Bennett HA, et al. Drug target validation and identification of secondary drug target effects using DNA microarrays [J]. Nat Med, 1998, 4: 1293 – 1301.
- [17] Paolini GV, Shapland RH, van Hoorn WP, et al. Global mapping of pharmacological space [J]. Nat Biotechnol, 2006, 24:805 – 815.
- [18] Gunther EC, Stone DJ, Gerwien RW, et al. Prediction of clinical drug efficacy by classification of drug-induced genomic expression profiles *in vitro* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100:9608 – 9613.
- [19] Lamb J, Crawford ED, Peck D, et al. The connectivity map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease [J]. Science, 2006, 313: 1929 – 1935.
- [20] Young DW, Bender A, Hoyt J, et al. Integrating high-content screening and ligand-target prediction to identify mechanism of action [J]. Nat Chem Biol, 2008, 4:59 – 68.
- [21] Engelberg A. Iconix Pharmaceuticals, Inc. – removing barriers to efficient drug discovery through chemogenomics [J]. Pharmacogenomics, 2004, 5:741 – 744.
- [22] Sydor JR, Normant E, Pien CS, et al. Development of 17-allylamino-17-demethoxy geldanamycin hydroquinone hydrochloride (IPI-504), an anti-cancer agent directed against Hsp90 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 17408 – 17413.
- [23] Lu XP, Li ZB, Liao CZ, et al. Substituted arylalcanoic acid derivatives as dual PPAR agonists with potent antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity: US, 60/429221 [P]. 2002-11-26.
- [24] Lu XP, Li ZB, Xie AH, et al. Histone deacetylase inhibitors of novel benzamide derivatives with potent differentiation and anti-proliferation activity: US, 60/447915 [P]. 2003-02-14.
- [25] Li PP, Shan S, Chen YT, et al. The PPAR/dual agonist chiglitazar improves insulin resistance and dyslipidemia in MSG obese rats [J]. Br J Pharmacol, 2006, 148:610 – 618.