

基于微量合成的药物发现研究进展

陶昱岑, 徐淑静, 张续杰, 刘新泳*, 展鹏**

(山东大学药学院药物化学研究所 化学生物学教育部重点实验室, 山东 济南 250012)

[摘要] 现代创新药物研发中, 化合物库的质量直接影响着整个研发的成功与否。因此, 如何快速构建数目庞大、结构多样的高质量化合物库是药物发现中的关键环节。随着微量合成技术与生物活性筛选技术的快速发展, 短时间内构建多个高质量化合物库的目标逐渐被实现, 新的苗头化合物与先导化合物也随之不断被发现。综述近几年基于微量合成的药物研究最新进展, 以期为基于微量合成的新药研发提供参考。

[关键词] 微量合成; 药物靶标; 药物发现; 生物活性筛选

[中图分类号] R971

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2022) 01-0019-14

Research Advances in Drug Discovery Based on Miniaturized Synthesis

TAO Yucen, XU Shujing, ZHANG Xujie, LIU Xinyong, ZHAN Peng

(Institute of Medicinal Chemistry, Ministry of Education Key Laboratory of Chemical Biology, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

[Abstract] In modern discovery of innovative drugs, the quality of compound library directly affects the success of the whole process of research and development. Thus, how to quickly construct a high-quality library of compounds large in number and rich in structural diversity is a key step in drug discovery. With the rapid development of miniaturized (microscale/nanoscale) synthetic technology and biological screening technology, the goal of constructing multiple high quality compound libraries in a short time has been gradually realized, new hit and lead compounds being constantly discovered. Based on the relevant research in recent years, the latest progress in drug discovery through nanoscale synthesis is summarized, aiming to provide new insights to drug discovery based on miniaturized synthesis.

[Key words] miniaturized synthesis; drug target; drug discovery; biological assay

传统的药物发现来源于多轮的化合物设计、合成与生物活性评价, 需要从超过 10^{60} 种可能的化合物结构中去发掘潜在具有生物活性的小分子, 该过程需要耗费巨大的人力、物力与时间, 已经无法满足当前对新药快速发现的迫切需求, 因此, 新方法、新理念亟待发现^[1]。

进入 21 世纪后, 在高通量合成技术与生物活性筛选技术快速发展的基础上, 药物发现的速度得到

了极大的提升。其中, 微量合成技术与生物活性筛选技术的有机结合极大地增加了先导化合物发现的概率与速率。微量合成相比于传统实验室合成具有极其显著的优点: 1) 原料使用量大大降低, 节约了实验成本的同时也降低了化学废料的排放量, 更符合绿色化学的理念; 2) 可以在短时间内平行合成大量的化合物; 3) 微量合成辅以智能反应检测系统与合理的活性筛选方法, 可以提高化合物从合成到活性筛选的自动化程度, 极大地节省了人力物力。因此, 微量合成技术在新药研发中的应用越来越广泛。微量合成技术的应用主要包括在以下几方面: 1) 基于 96 或 384 孔微孔板的微量合成; 2) 基于小分子或液滴微阵列的微量合成; 3) 基于微流控芯片的微量合成; 4) 靶标模板诱导的微量合成。本文精选近几年的研究实例, 根据微量合成的不同类别, 从药物化学的角度总结了基于微量合成的药物研究进展。

接受日期: 2021-10-21

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 81773574); 山东省杰出青年基金 (No. ZR2020JQ31); 山东省重大科技创新工程项目 (No. 2019JZZY021011)

* **通信作者:** 刘新泳, 教授, 博士生导师;

研究方向: 抗病毒、抗痛风、抗心脑血管疾病药物研究;

Tel: 0531-88380270; **E-mail:** xinyongl@sdu.edu.cn

** **通信作者:** 展鹏, 教授, 博士生导师;

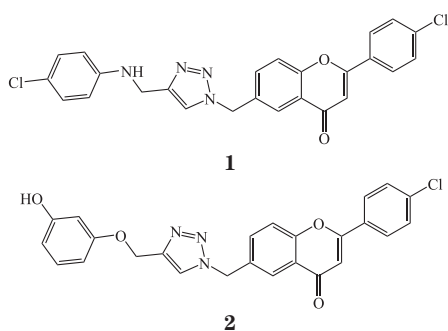
研究方向: 抗病毒、抗痛风创新药物研究;

Tel: 0531-88382005; **E-mail:** zhanpeng1982@sdu.edu.cn

1 基于 96 或 384 微孔板的微量合成药物

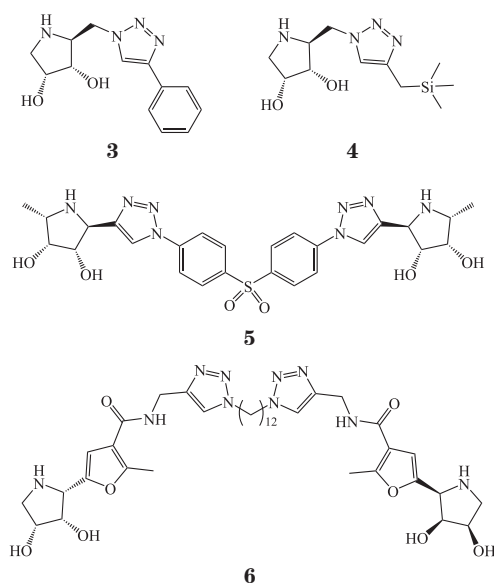
通过在微孔板上快速构建具有结构多样性的化合物库, 并辅以原位筛选技术可以极大地提高先导化合物的发现效率。选择一种合适的反应来生成具有结构多样性的化合物库是该策略的核心步骤, 其基本特点为: 目标化合物产率高、反应条件温和、反应易于操作。目前, 该方法中常用的反应有点击反应^[2]、酰胺缩合反应^[3]、多组分反应^[4]等。除此之外, 也有文献报道了利用氨基与醛基生成亚胺的反应来快速构建聚焦型化合物库的方法等^[5]。

单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 是一种具有多个结合位点的酶, 主要分布于肝、肾、胰、心等器官。正常情况下, 该酶可氧化胺类底物脱氨并产生过氧化氢。因此, MAO 的过表达会使机体体内过氧化氢、乙醛等过量蓄积, 从而导致神经元异常和情绪异常^[6-8]。2016 年, Jia 等^[9]利用点击化学微量合成辅以原位筛选技术, 快速合成并筛选了 40 个黄酮衍生物。该化合物库设计思路为通过点击化学在黄酮 C6 位引入不同片段, 伸入毗邻位点, 从而实现潜在的双位点抑制作用, 其中化合物 **1** 的活性最好 (对 MAO-A 的 IC_{50} 为 $1.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 MAO-B 的 IC_{50} 为 $2.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); 化合物 **2** 的选择性最高, 对 MAO-A 无活性, 对 MAO-B 的 IC_{50} 为 $(71.3 \pm 7.6) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其选择性指数 (SI) 大于 14。



溶酶体贮积症 (lysosomal storage diseases, LSD) 是一组遗传性代谢疾病, 是由于基因突变致溶酶体中有关酸性水解酶缺陷, 导致机体中相应的生物大分子不能正常降解而在溶酶体中贮积, 引起细胞组织器官功能障碍^[10]。由 LSD 引发的戈谢病在世界各地均有报道, 然而现在临床对其缺乏有效

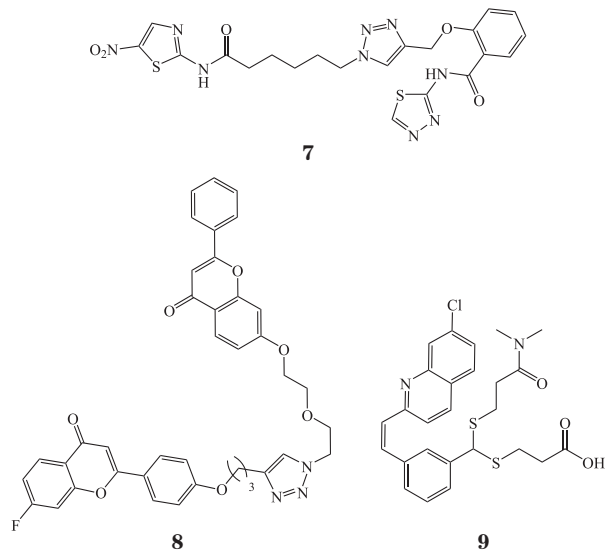
的治疗手段。2017 年, Martínez-Bailén 等^[11]在吡咯亚氨基糖骨架的基础上, 通过点击化学在 96 孔板上快速构建了 2 类聚焦型化合物库, 并通过后续生物活性筛选发现了选择性 β -葡糖苷脂酶抑制剂 **3** ($IC_{50} = 11 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 **4** ($IC_{50} = 19 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。2018 年, Carmona 等^[12]通过点击反应原位筛选技术发现了 α -岩藻糖苷酶抑制剂二聚体化合物 **5**, β -半乳糖苷酶抑制剂二聚体化合物 **6**, 其中化合物 **5** 的抑制常数 K_i 为 $0.15 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 化合物 **6** 的 K_i 为 $5.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



蓝氏贾第鞭毛虫是一种常见的能引起患者腹泻的寄生虫^[13-15]。目前治疗贾第虫病的主要药物是硝基杂环类药物, 包括咪唑衍生物、甲硝唑、替硝唑、噻唑、硝唑苯胺衍生物等。但这些药物的治疗失败率仍高达 20%, 并且有报道其体内外的耐药性^[16]。Kim 等^[17]通过经典点击化学——铜 (I) 催化的炔烃-叠氮化物环加成反应 [The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition, CuAAC] 快速微量合成了 442 个含有不同侧链取代基的氮杂环衍生物。对该化合物库直接进行活性筛选, 发现化合物 **7** 对代表性的蓝氏贾第鞭毛虫突变株 BRIS/83/HEPU/106 具有良好的活性 ($EC_{50} = 0.07 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

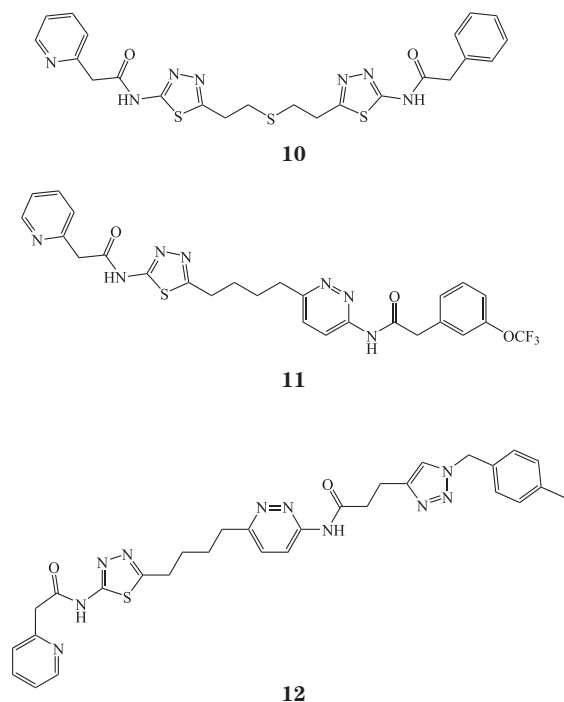
耐药性的产生是癌症治疗失败的主要原因之一。多药耐药相关蛋白 1 (multidrug resistance-associated protein 1, MDR1) 是一种腺嘌呤核苷三

磷酸 (adenosine-triphosphate, ATP) 结合蛋白, 其可以将药物泵出胞外, 从而减少药物在肿瘤细胞中的蓄积, 降低药物对肿瘤细胞的杀伤作用^[18-19], 抑制 MDR1 活性可以减少药物外排量, 从而达到药物原有的治疗效果。据报道, 天然产物中的黄酮类化合物是该靶标良好的小分子抑制剂, Wong 等^[20]选取黄酮结构为基本骨架, 通过点击化学微量合成的方法在微孔板上高效地构建了含有 300 个二聚体黄酮衍生物的化合物库, 原位筛选技术发现 35 个化合物对加有阿霉素 (doxorubicin, DOX) 的 2008/MRP1 细胞表现出较高的抑制率, 后续活性复筛发现化合物 **8** 活性较好, EC_{50} 为 $(41 \pm 3) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其对加有 DOX 的 2008/MRP1 细胞表现出了较好的活性, 相比阳性对照 MK571 (**9**, $EC_{50} = 19 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 活性提升了 400 多倍。后续机制研究表明, 化合物 **8** 在细胞内可以有效抑制 MRP1 细胞活性, 从而逆转肿瘤细胞对 DOX 的外排作用, 增强了 DOX 对耐药肿瘤细胞株的杀伤力。



谷氨酰胺酶 (glutaminase, GLS1) 是一种氨基水解酶, 是肿瘤细胞生长与增殖的重要调控蛋白, 通过抑制 GLS1 活性可以有效抑制肿瘤细胞的增殖扩散^[21]。因此, 基于 GLS1 的小分子抑制剂研究非常重要。Xu 等^[22]以 CB839 (**10**) 和 BPTES (**11**) 为先导化合物, 通过生物电子等排策略, 分别将 CB839 和 BPTES 右翼的苯环替换为三氮唑环。随后通过点击化学微量合成的方法将该片段与不同的小

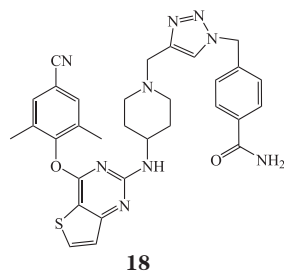
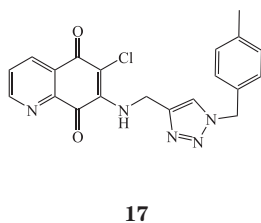
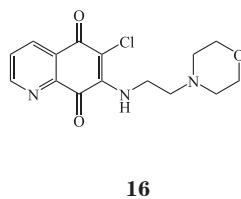
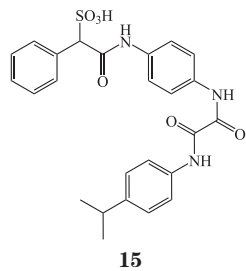
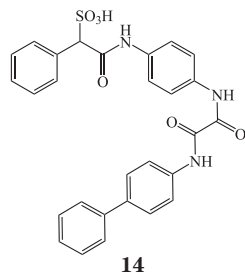
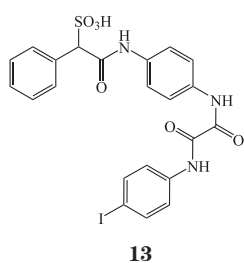
分子片段连接, 在微孔板上高效地合成了 200 个目标化合物。后续活性筛选发现化合物 **12** ($IC_{50} = 0.041 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的活性超过阳性对照 CB839 ($IC_{50} = 0.11 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。



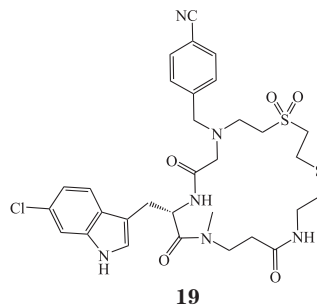
2018 年, He 等^[23]选取 *O*-苯并三氮唑-四甲基脲六氟磷酸盐 (*O*-benzotriazole-*N,N,N',N'*-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphate, HBTU) 催化的酰胺缩合反应, 在室温下仅用 12 h 便在微孔板中平行合成了 4 个化合物库 (共 768 个化合物)。对库中化合物快速筛选发现化合物 **13**~**15** 活性较好, 抑酶活性复筛发现化合物 **13**~**15** 对蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (src homology 2 containing protein tyrosine phosphatase 2, SHP-2) 具有良好的抑制活性, 其中, 化合物 **13** 的 IC_{50} 为 $(1.5 \pm 0.1) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 化合物 **14** 的 IC_{50} 为 $(1.4 \pm 0.04) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 化合物 **15** 的 IC_{50} 为 $(2.3 \pm 0.04) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 化合物 **13** 的活性是阳性对照药物头孢磺啉 [$IC_{50} = (16.8 \pm 2.0) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] 的 10 多倍。药理机制实验表明, 化合物 **13** 在细胞层面可以通过抑制 SHP-2 介导的信号通路来抑制肿瘤细胞的增殖。

近期, 笔者所在课题组以细胞分裂周期因子 25 蛋白 (cell division cycle 25 phosphatase, Cdc25

phosphatase) 磷酸酶的代表性抑制剂 NSC663284 (**16**) 为先导化合物, 选取优势萘醌片段, 在其右翼通过点击化学微量合成的方式引入不同的取代基, 发现了高活性、高选择性的 Cdc25C 磷酸酶抑制剂 **17**, 其对 Cdc25A 的 IC_{50} 为 $(0.53 \pm 0.03) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 Cdc25B 的 IC_{50} 为 $(1.39 \pm 0.95) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 Cdc25C 的 IC_{50} 为 $(0.09 \pm 0.01) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其对 Cdc25C 活性相对于先导化合物 NSC663284 ($IC_{50} = 0.76 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 提高了近 10 倍^[24]。此外, 笔者所在课题组以二芳基嘧啶 (diarylprimidines, DAPY) 类化合物为先导, 运用基于药效团模型与靶标结构的药物设计对 DAPY 类非核苷类逆转录酶抑制剂 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NNRTI) 进行结构优化^[25]。随后通过点击化学微量合成的方法快速合成了 234 个 DAPY 衍生物, 辅以原位筛选技术与活性复筛, 短时间内发现了人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus-1, HIV-1) 抑制剂化合物 **18**, 其 EC_{50} 为 $3.28 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时, 化合物 **18** 对 HIV 双突变株 RES056 也具有抑制活性, 其 EC_{50} 为 $481 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

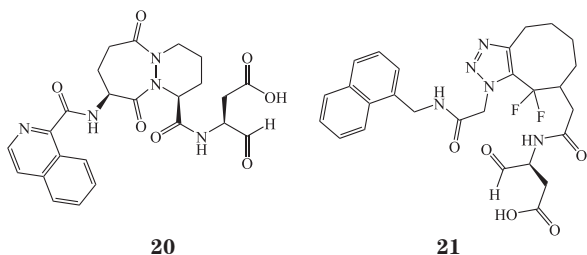


2021 年, Sangouard 等^[26]将声学液滴喷射 (acoustic droplet ejection, ADE) 技术与基于微孔板的微量合成相结合, 短时间内构建了大型组合大环化合物文库。随后通过直接筛选快速发现了鼠双微粒体基因-2 蛋白和 p53 蛋白 (murine double minute 2-p53, MDM2-p53) 蛋白-蛋白相互作用的抑制剂 **19**, 其展现出了良好的抑酶活性, IC_{50} 为 $(0.6 \pm 0.2) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。传统的基于微孔板的高通量合成受到高成本移液头和合成所需的毫克级前体化合物等因素的限制。为克服上述缺点, Sangouard 等^[26]对建库方法进行了改进, 并首次报道了应用 ADE 技术, 将砌块库逐步转移到 384 孔微量滴定板中来合成大型组合大环化合物文库的方法。该方法与传统微孔板合成 (反应液体积为微升) 相比, 仅需要纳升体积的反应液, 为基于微孔板的微量合成提供了全新的思路, 避免了前体物料过度消耗, 进一步实现了绿色化学的理念。



需要指出的是, CuAAC 是经典的点击化学反应之一, 但由于该反应中催化所必需的铜离子对生物体系中的酶、细胞等具有毒性, 因此易造成假阳性或假阴性结果。2004 年, Agard 等^[27]提出了无铜催化的炔烃-叠氮环加成反应 (strain-promoted azide-alkyne cycloaddition, SPAAC)。通过环的构象限制, 可以提高炔烃的反应活性, 从而使得 SPAAC 可以在温和的无铜催化下进行。半胱氨酸蛋白酶 (Caspase) 是一类非常保守的蛋白酶, 其可以调控细胞的凋亡和促炎细胞因子的成熟, Qian 等^[28]选择 Vertex 公司研发的口服 Caspase-1 抑制剂 pralnacasan (**20**) 为先导化合物, 通过骨架跃迁策略, 将 pralnacasan 分子中的六元和七元并环结构替换为三氮唑并八元环, 而后通过 SPAAC 反应, 在微孔板中快速合成了 52 个化合物。由于该反应液中不含铜离子, 因

此可以直接用于细胞活性的初步筛选, 接着选取抑制率最高的 5 个化合物对其进行了后续的活性复筛。生物实验结果表明化合物 **21** 活性较好, 其对 Caspase-1 的 IC_{50} 为 $(0.899 \pm 0.001) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、对 Caspase-3 的 IC_{50} 大于 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、对 Caspase-7 的 IC_{50} 大于 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



在 96 或 384 微孔板上进行的微量合成除了上述的点击反应外, 还包括多组分反应。2020 年, Osipyan 等^[29]报道了利用微量多组分反应制备亚胺基吡咯烷聚焦库的方法。该方法核心是利用即时喷点移液 (immediate drop on demand technology, I-DOT) 技术将载有原料的溶液准确加入到 384 孔板中, 并控制每孔所含反应液为 660 nL。反应 16 h 后, 将反应液注入质谱 (mass spectra, MS) 中进行检测, 结果显示大部分微孔 (66%) 中目标产物的产率都在中等及偏上水平 ($\geq 50\%$)。接着, Osipyan 等^[29]又随机选择了 12 个微孔中的反应进行毫摩尔级的扩大合成以验证其产率。结果显示, 反应底物有环酮时, 反应具有不错的产率 (82%~83%), 然而当酮类底物为环丁酮时, 反应产率仅有 34%。醛基底物中, 脂肪醛相比于芳香醛, 更有利于目标化合物的生成。该方法的报道丰富了微孔板合成技术的反应类型, 为后续基于微孔板的微量合成提供了新的反应类型。同时, I-DOT 技术的出现使得微量合成反应中加料量的精确度进一步提升, 更加有利于微孔板中反应的进行。

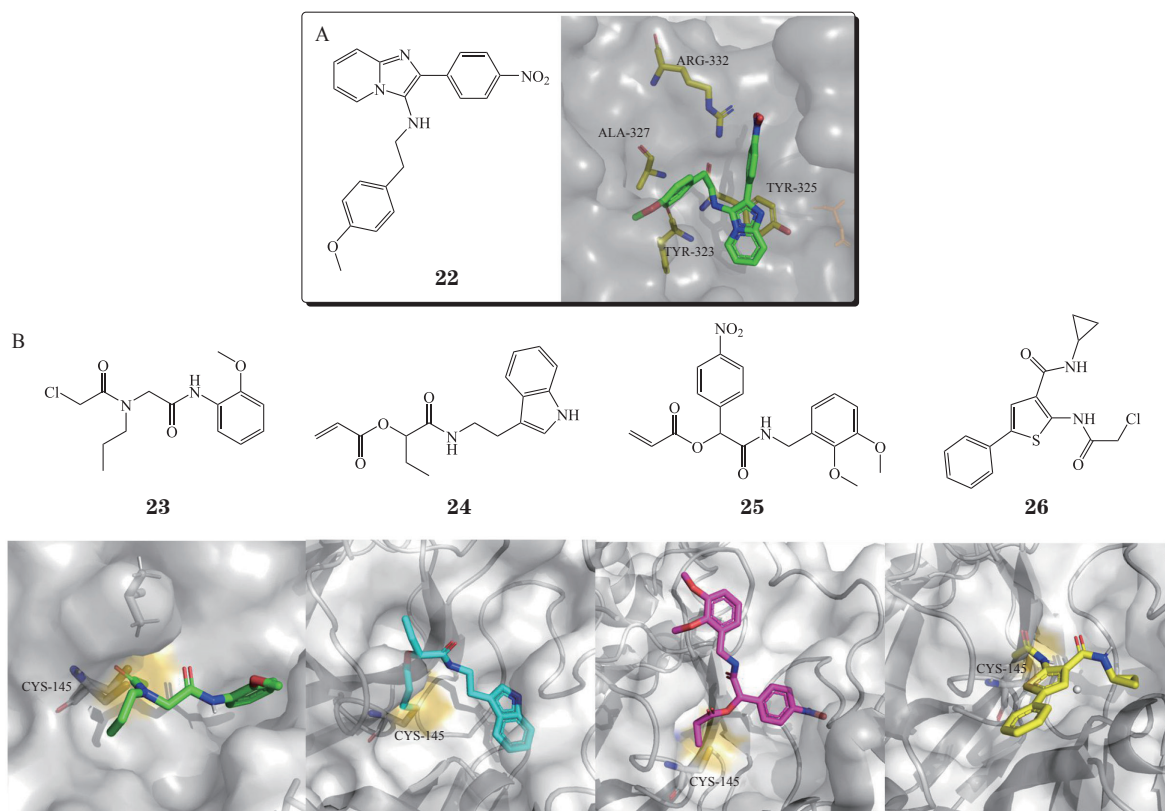
2021 年, Gao 等^[30]通过声学传感移液技术将 3 组分反应液快速固定在微孔板中, 短时间内合成了 1 536 个化合物, 后续通过原位筛选和抑酶活性复筛实验发现化合物 **22**, 其对多发性内分泌腺瘤 1 型基因编码蛋白 (Menin) 表现出了微摩尔级的活性, 其 IC_{50} 为 $2.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。除此之外, Gao 等^[30]通过共晶进一步探讨了化合物 **22** 与 Menin 蛋白的

结合模式 (见图 1A)。2021 年, Sutanto 等^[31]通过 Ugi 多组分反应和 Passerini 多组分反应分别在 96 和 384 微孔板上快速构建了具有结构多样性的化合物库, 由于终产物水溶性较差, 当反应完成时, 大部分终产物在微孔中直接析出, 核磁氢谱显示, 该类析出化合物纯度较高 (纯度大于 80%), 而未析出的化合物可以通过快速柱层析迅速纯化。随后的高通量蛋白-小分子共晶实验发现, 4 个苗头化合物 **23**~**26** 与活性位点的氨基酸残基 Cys145 形成共价结合, 通过荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 实验测定以上 4 个苗头化合物对 2019 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的主蛋白酶 (3CL-Pro) 的活性, 其 IC_{50} 分别为 3.96、139.1、9.39 及 $2.36 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其结合模式如图 1B 所示。

综上, 基于微孔板的高通量合成技术可以在短时间内平行合成大量化合物, 极大地提高了苗头化合物/先导化合物发现的概率。同时, 微量的条件下, 反应溶剂及试剂的消耗量极小, 节约原料的同时, 也减少了有毒废弃物的排放, 更符合绿色化学理念。除此之外, 基于微孔板的微量合成技术由于其操作的简便性、方法的实用性等优点, 越来越多的实验室将该方法运用到了新药研发中^[32-33]。

2 基于小分子或液滴微阵列的药物

1995 年, Schena 等^[34]发明 DNA 微阵列技术, 将已知序列的寡核苷酸固定在固体表面上, 同时对待检测的探针核酸序列与上述已知的核苷酸序列进行杂交, 从而实现基因信息的快速检测。随着化学的发展, 微阵列技术不再局限于 DNA 分子, 蛋白质分子、化学合成小分子等也相继被固定到固相表面用于微阵列分析。小分子微阵列技术 (small molecule microarray, SMM) 是指将目标化合物有序地固定到固体表面, 从而实现快速、平行的活性筛选的技术^[35]。SMM 技术包含: 化合物库的合成、化合物的固定等, 与传统有机溶剂中的合成相比, SMM 技术中的固相合成技术具有以下显著优点: 自动化程度高、反应产率高, 因此, 其应用越来越广泛^[36-38]。



A: 化合物 **22** 结构式及其与 Menin 蛋白的结合模式 (PDB ID: 6S2K); B: 化合物 **23**~**26** 结构式及其分别与 2019 新型冠状病毒主蛋白酶的结合模式 (PDB ID: 7NUK, 7NT1, 7NT2, 7NTV)

图 1 化合物 **22**~**26** 的结构式及其与靶蛋白的结合模式

Figure 1 Structures and binding modes of compounds **22**~**26**

乳腺癌相关基因 1 编辑蛋白 (breast cancer 1 protein, BRCA1) 是一种包含有磷酸化丝氨酸结合域的细胞调控蛋白, 其可以抑制细胞的癌变, 在 DNA 损伤的修复中发挥重要作用。在多种肿瘤细胞中均发现了突变型的 *BRCA1*, 因此针对 *BRCA1* 突变型的小分子抑制剂研发非常重要^[39]。Na 等^[40]通过 SMM 技术, 将优势氨基酸片段固定于活化玻璃板上, 通过微量的酰胺缩合反应, 快速合成了 101 个拟肽类化合物。接着 Takaoka 等^[39]使用 *N,N*-二甲基甲酰胺和二氯甲烷对玻璃板进行多轮的清洗, 快速除掉残留的反应液和催化剂, 从而对玻璃板上的化合物进行准确的活性筛选。该方法极大地缩短了化合物合成到先导化合物发现的时间, Takaoka 等^[39]利用该方法成功地发现 BRCA1 抑制剂 **27** ($IC_{50}=0.31 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) (见图 2)。

2017 年, Peng 等^[41]针对多聚 ADP-核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 进行合

理药物设计, 利用 SMM 技术, 通过 CuAAC 点击反应在树脂板上微量合成了 1 120 个化合物, 后续活性筛选发现化合物 **28** 是 PARP14 双位点抑制剂 ($IC_{50}=0.49 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。为了探讨化合物 **28** 与 PARP14 的具体结合模式, Peng 等^[41]进行了共晶的培养, 结果显示化合物 **28** 同时结合于 2 个空腔中, 并与 Ser1700、Ser1688、Thr1684、Ser1722 等多个氨基酸残基形成了氢键作用 (见图 3)。

RNA 是体内重要的遗传信息载体, 其中微小核糖核酸 21 型 (microRNA-21, miRNA-21) 在多种肿瘤中发现了过表达的现象。敲除肿瘤细胞中的 miRNA-21 后可以诱导肿瘤细胞的凋亡。2010 年, Medina 等^[42]通过小鼠模型确证了 miRNA-21 的过表达与前体 B 细胞淋巴瘤的发生直接相关。然而, 针对 RNA 的高亲和力小分子抑制剂鲜有报道。2017 年, Connelly 等^[43]通过微量合成将 20 000 个小分子固定于 γ -氨基丙基硅烷 (γ -aminopropyl silane,

GAPS) 玻璃板上, 接着将其与荧光标记的 pre-miRNA-21 共孵育 1 h 后, 通过荧光成像的不同判断小分子与 miRNA-21 的结合力强弱 (评分 $Z\text{-score} > 3$ 即被认为是苗头化合物)。其中, 19 个化合物 ($Z\text{-score} > 3$) 表现出了对 miRNA-21 较好的亲和力。后续活性复筛发现化合物 **29** 和 **30** 活性最好, 其中, 化合物 **29** 的解离常数 (K_d) 为 $(2.3 \pm 0.5) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 化合物 **30** 的 K_d 为 $(0.8 \pm 0.2) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

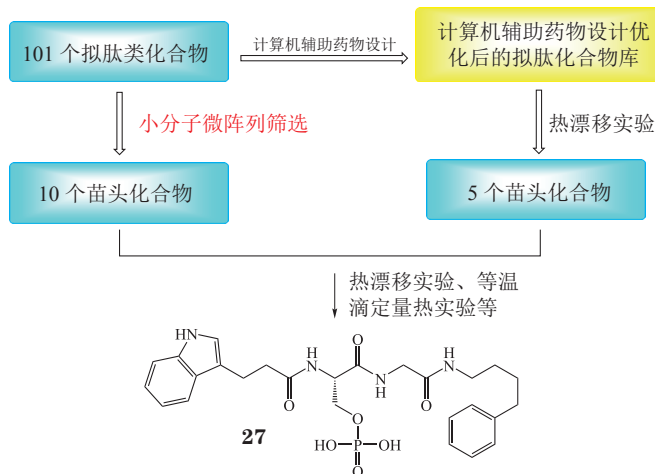


图 2 先导化合物 **27** 的发现过程及结构式

Figure 2 Discovery and structure of compound **27**

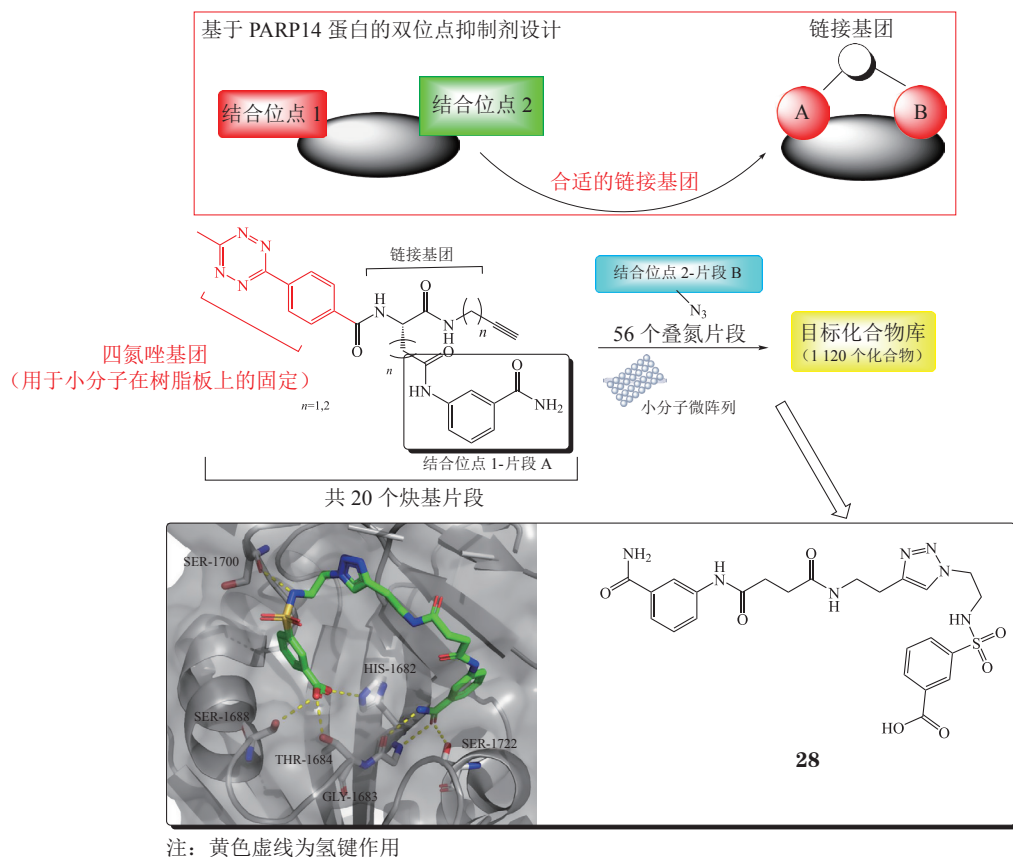
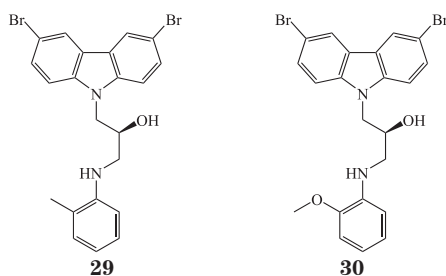


图 3 化合物 **28** 的设计、合成过程及其与 PARP14 蛋白的结合模式图 (PDB ID: 5LYH)

Figure 3 The design and synthesis of compound **28** and its mode of binding with PARP14 (PDB ID: 5LYH)



2019年, Rosenfeld等^[44]报道了在纳米聚合材料上微量合成多肽的方法, 其开发的纳米聚合材料上有序地分布着亲水性微孔, 孔内含有活化的光敏性链接基团, 从而有效地支持孔内肽段的固相合成。Rosenfeld等^[44]还证实该方法除了支持肽段合成以外, 还可以在微孔中加入反应液进行微量的小分子化合物合成。后续通过特定波长的紫外光照射光敏性链接基团, 使其断裂, 从而释放出目标产物。通过改变光线照射时长与光线强度等因素, 可以有效控制目标化合物释放的数量和时间等。该技术实现了目标化合物的微量合成与光诱导的控制释放, 辅以后续的原位筛选技术可以极大地提高化学合成到活性筛选的效率, 增加苗头化合物的发现机率。

除了上述小分子微阵列技术以外, 液滴微阵列也同样是一种常见的微阵列技术。液滴微阵列技术是指将含有目标化合物的甘油溶液有序滴加在固相表面, 从而直接进行活性筛选的技术。该技术有着诸多优势: 1) 无需将溶液蒸干, 液滴即为合成反应的微环境; 2) 与小分子微阵列相比, 液滴微阵列技术无需通过化学反应将化合物共价结合于平板表面, 甘油自带的表面张力与附着力保证了液滴有序地排列在固相表面; 3) 甘油的微环境可以使得多种酶在体外环境中变得稳定, 同时, 甘油也是一种极佳的液体介质, 其与二甲亚砜、水等常见溶剂完全互溶^[45-47]。

由于干细胞的自我更新能力和高度分化能力^[48-49], 使其在过去的几十年中引起了医学生物学家们越来越广泛地关注。通过基于干细胞的高通量筛选发现对自身组织具有促进更新与修复能力的小分子化合物是一项极有意义的研究^[50-52]。但该研究的实施面临着诸多问题, 其中最主要的问题是干细胞在培养时会自发地细胞分化, 从而使得实验失

败。2017年, Tronser等^[53]证明了液滴微阵列技术可以成功阻止干细胞的自发性细胞分化。实验中, Tronser等^[53]发现液滴中的鼠源干细胞状态趋于稳定, 自发的细胞分化作用停止了72 h。后续机制实验表明, 该现象可能归因于固相载体表面的孔隙率和粗糙程度。虽然该实验仅短时间内抑制了干细胞的自发分化作用, 但为后续干细胞药物研发提供了全新的思路与方法。

2020年, Brehm等^[54]在之前研究基础之上报道了光控释放目标产物的液滴微阵列技术。他们在玻璃薄片上覆盖一层多孔的纳米聚合物材料, 该材料每个微孔中都含有1个光敏连接链用以诱导微孔中的反应进行。当反应完成时, 通过多次洗涤该玻璃板, 将残留的反应液清除干净, 之后在纳米微孔中滴加溶剂, 并同时使用365 nm的紫外光照射来控制产物按需释放入微孔液滴中。后续通过在液滴中直接加入细胞, 从而进行快速的活性筛选。Brehm等^[54]在该技术基础之上, 使用Ugi四组分反应, 在微滴中快速合成了588个化合物。

3 基于微流控芯片的药物

从中世纪的炼金术开始, 人们习惯于在玻璃器皿(烧瓶、烧杯)中操纵反应原料, 获得产物。然而, 面对人类对新物质、新规律的不断需求, 传统玻璃器皿的劣势日渐凸显: 集成化、自动化程度低, 资源浪费, 选择性、重现性差, 以及安全隐患等。在此背景下, 微流控芯片反应器应运而生, 并以其独特优势, 在合成方法学、药物筛选以及大规模应用等诸多领域扮演着重要角色。

微流控芯片反应器一般是指微加工和精密加工技术制造的小型反应系统, 内部微通道尺寸在亚微米到亚毫米数量级。常见的微流控芯片反应器从材质上分, 有玻璃/石英/硅芯片、聚合物芯片和金属芯片3类^[55-57]。

玻璃和石英芯片因具有优异的电渗、光学和表面性质, 其刻蚀加工方法和表面改性的化学方法比较成熟^[33, 58]。但由于玻璃芯片不耐强酸, 因此其应用也具有一定局限性。

有机聚合物类芯片由于其种类较多、加工方便,

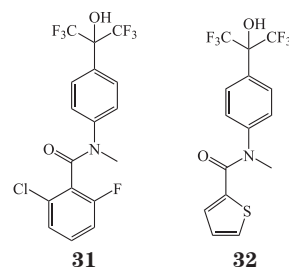
是玻璃和石英芯片不错的替代品。聚二甲基硅氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS) 芯片具有良好的光学性能, 价格便宜易加工, 应用比较广泛。PDMS 的化学性质大部分情况趋于稳定, 但遇到丙酮等会发生形变, 并且这类芯片散热不及玻璃和石英^[59]。

不锈钢芯片相比于以上 3 种芯片的稳定性较高。这类芯片一般为多模块组装而成, 易拆卸可清洗, 避免了微通道发生堵塞而使整个反应器报废。但由于这类芯片的特殊材质和各模块的精密加工, 不锈钢芯片成本非常高, 对微加工技术的要求也很高^[60-61]。

不同材质的微流控反应器都具有扩散距离短、传质更快的优点。化学反应的实质在于分子的碰撞从而反应生成新的化学键, 因此合成中反应物的混合情况是提高反应效率的关键之一。其次, 微流控芯片反应器相比传统圆底烧瓶等反应容器在比面积上有了飞跃。微流控芯片反应器比面积通常可以达到 $5\,000\text{--}50\,000\text{ m}^2\cdot\text{m}^{-3}$, 超大的换热面积使微反应器的热传导系数与常规反应器相比高出 10 倍, 无论是对反应的加热还是反应本身释放的热量都可以快速传递, 从而使反应温度更稳定, 反应过程的控温更容易^[62]。

以上几大优势使得微反应器在有机合成中的应用越来越广泛, 这方面的研究也在不断深入。

Grisoni 等^[63]将人工智能辅助药物设计与微流控反应器有机结合, 极大地提高了苗头化合物发现的效率。他们首先针对肝 X 受体 (liver X receptor, LXR) 利用人工智能深度学习的方法对所获得化合物库进行虚拟筛选, 同时对筛选所得分子进行合成可行性分析, 最后得到了 44 个具有全新结构的可合成化合物。其中, 41 个化合物通过自动化的微流控反应仪合成, 3 个化合物从试剂公司购买所得。接着 Grisoni 等^[63]对其进行了活性测试, 发现化合物 **31** 和 **32** 分别是 LXR α 和 LXR β 型的激动剂, 其 EC₅₀ 分别为 (0.183 ± 0.006) 和 (0.34 ± 0.02) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该结果进一步证明了微流控合成在药物合成领域的可行性。同时, 将微流控反应仪与人工智能深度学习、液相色谱-质谱联用技术 (high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 等分子设计与反应实时监测的方法整合, 加快了苗头化合物发现速率。



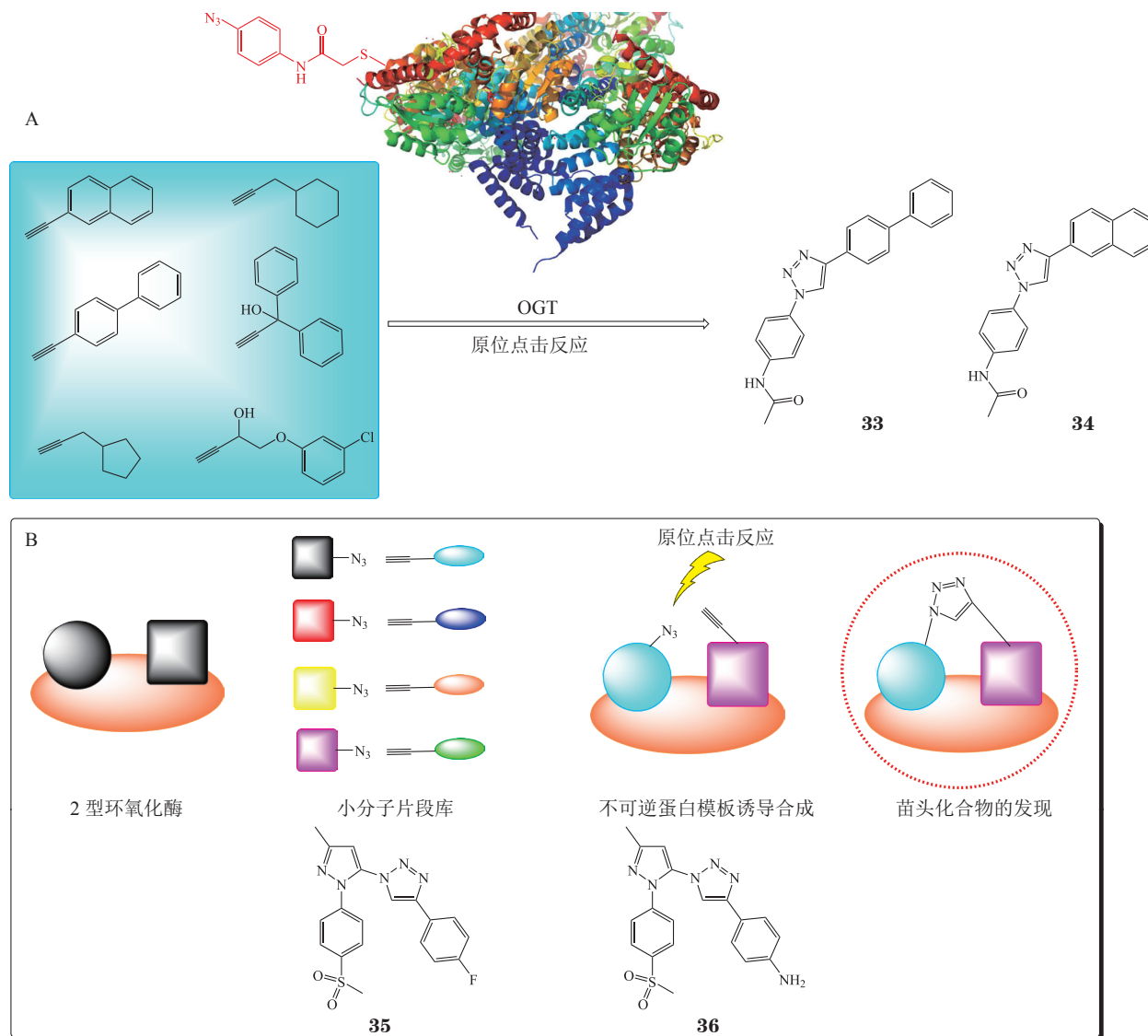
4 基于靶标模板诱导的合成策略

靶标模板诱导的合成 (target-guided synthesis, TGS) 是药物发现中一种极其重要的策略, 该策略以蛋白质靶标为模板诱导与其结合的小分子片段相互连接。该策略主要分为 2 类: 1) 动态组合化学 (dynamic combinatorial chemistry, DCC), 其目的在于建立可变通的适合新药开发的组合库, 其途径类似于分子水平上的达尔文进化论。通过“适者生存”的方法, 在组合库重组的过程中, 与模板无关的化合物或结合比较弱的配体逐渐“死亡”减少, 解离成原来的“分子单元”, 而这些分子单元在模板的引导下重新组合、反应, 形成新的活性配体, 它们以此方式“繁殖”增加。组合库的分子单元作为“生存”的竞争者, 依赖于单元之间的可逆反应, 与模板牢固结合的分子将产生新分子, 然而, 与模板结合较弱的分子将作为原料留在母液中。2) 不可逆的蛋白模板诱导合成 (kinetic target-guided synthesis, KTGS), 该方法与 DCC 唯一不同的是, KTGS 中的片段链接是不可逆的^[64-66]。目前, 2 种方法均已被成功运用在多种靶标的苗头化合物的发现中^[67]。

2017 年, Wang 等^[68]在 DCC 策略的指导下, 通过点击化学原位合成技术将低活性 ($\text{IC}_{50} > 1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的不同小分子片段拼接, 发现了 2 个具有透膜性的化合物 **33** 和 **34** (见图 4A), 其 IC₅₀ 分别为 139 和 66.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。同年, Bhardwaj 等^[69]以 2 型环氧化酶 (cyclooxygenase-2, COX-2) 蛋白为模板, 通过原位点击反应发现化合物 **35** 和 **36** (见图 4B) (化合物 **35**: $\text{IC}_{50}=0.09\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 化合物 **36**: $\text{IC}_{50}=0.05\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 展现出了与阳性药物塞来昔布 ($\text{IC}_{50}=0.07\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 相当的抑酶活性。后续动物模型实验发现化合物 **35** 和 **36** 在小鼠体内活性明显优于阳性药物塞来昔布, 其半数有效量 (median

effective dose, ED_{50}) 分别为 0.44 和 0.12 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而塞来昔布 ED_{50} 为 10.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。构效关系分析表

明, 在引入甲磺酰基药效团后, 化合物的活性有所提高。



OGT: *N*-acetylglucosamine transferase (*N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶)

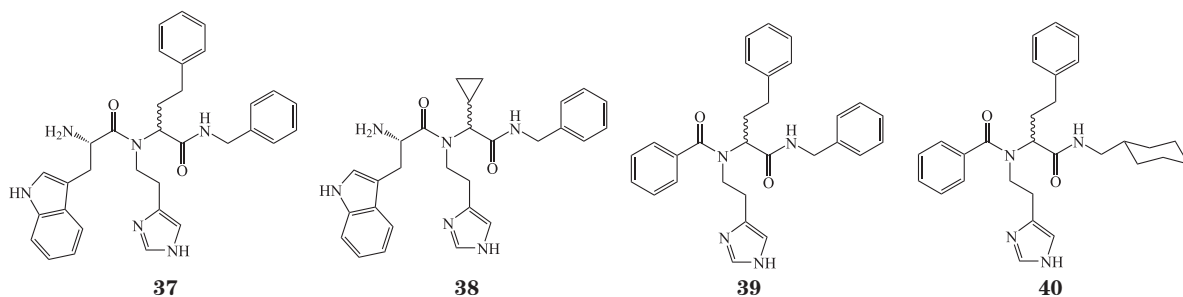
A: 化合物 **33** 和 **34** 的发现过程及其结构式; B: 化合物 **35** 和 **36** 的发现过程及其结构式

图 4 化合物 **33**~**36** 的发现过程及其结构式

Figure 4 The discovery and structures of compounds **33**~**36**

靶标模板诱导的合成中除了常见的点击反应以外, 2020 年, Mancini 等^[70] 首次报道了蛋白模板诱导的原位四组分 Ugi 反应。Mancini 等^[70] 利用 endothiapepsin 蛋白为模板, 选取羧基砌块库、氨基砌块库、氰基砌块库和醛基砌块库合成了 48 个化合物, 其中化合物 **37** 和 **38** 对 endothiapepsin 蛋白表现出了微摩尔级的活性, 其 IC_{50} 分别为 (1.3 ± 0.03) 和 $(3.5 \pm 0.1) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随后, Mancini 等^[70] 又

将原位四组分反应成功应用在了细菌 β -滑动钳 DnaN 蛋白模板上, 并发现了化合物 **39** 和 **40** 可以与靶标蛋白相结合, 其 K_d 分别为 650 和 510 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。原位四组分反应在 2 种蛋白模板上的成功丰富了 TGS 策略中的反应类型。除此之外, Mancini 等^[70] 观察到 Ugi 反应中的副反应 (Pictet-Spengler 环合反应) 也在原位合成实验中同时发生, 因此, 基于该类副反应的蛋白模板诱导合成或许又是一种全新的尝试。



值得注意的是, 在大多数靶标模板诱导的小分子片段组装中, 对酶的纯度要求较高, 这也限制了该技术的广泛应用。2018年, Antti等^[71]报道了在细胞内的蛋白模板诱导合成, 为那些难以纯化的蛋白模板提供了新的思路。

综上所述, 虽然TGS展现出了其在苗头化合物发现中的高效性, 但该技术依旧存在诸多限制。比如对蛋白质与目标小分子复合物的分析技术还未完全成熟, 虽然现阶段可通过共晶、核磁共振以及HPLC-MS等技术对蛋白质-小分子复合物进行分析, 但这几类技术需要耗费大量的时间。除此之外, 文献中报道的能用于TGS方法的反应比较匮乏, 常见的反应有: 点击反应、酰胺缩合反应、环氧乙烷的开环反应等。因此, 新的反应类型和新型检测技术亟需被发现。

5 结语与展望

在新药研发中, 药物化学家们通过微量合成将优势片段、优势结构进行重组, 在保证药物设计合理性与结构新颖性的同时, 加速了化合物库的构建, 解决了新药研发中“如何快速获得大量目标化合物”的难题。随着分析检测技术的发展, 构建化合物库的同时也能对其进行结构鉴定, 如微量合成与LC-MS技术的联用等。

同时, 在多样性导向合成理念的指导下, 通过微量合成将现有小分子砌块库排列组合, 进一步丰

富了化合物库的结构多样性, 为药物化学家们阐明靶标与化合物的潜在构效关系提供了有力保障。除此之外, 生物活性筛选技术的发展, 使得对化合物库的活性筛选更加准确, 假阳性/假阴性结果逐步减少, 进一步促进了苗头化合物的发现。在苗头化合物的基础之上, 微量合成与晚期多样性修饰等新理念的有机结合可以缩短从苗头到先导化合物所需的时间。

诚然, 微量合成加速了苗头化合物发现的速率, 但以下问题依旧值得注意: 1) 片段的类药性; 2) 小分子砌块库的多样性; 3) 分子片段的手性异构以及其大小等, 这些问题直接决定了微量合成所构建化合物库的质量, 从而间接决定了最后苗头化合物发现的成功与否。此外, 微量合成所使用的反应类型也是库的构建中一项决定性因素。因此, 基于微量合成的药物发现需要药物化学家们综合考虑多种因素^[72-73]。

综上所述, 微量合成与新方法、新理念的创新性组合, 帮助药物化学家们节约了大量的人力和物力, 缩短了药物研发所需的时间, 将“以小博大”体现得淋漓尽致。虽然现阶段微量合成在药物研发中依旧面临着部分不足之处, 但随着各学科的发展, 学科之间的交叉与融合越来越广泛、新方法与新理念的有机结合越来越普遍, 微量合成在新方法、新理念的促进下变得越来越成熟, 为应对未来公共健康危机的新药研发提供了全新的思路。

【参考文献】

- [1] Reymond J L. The chemical space project[J]. *Acc Chem Res*, 2015, 48(3): 722-730.
- [2] Jiang X Y, Hao X, Jing L L, *et al.* Recent applications of click chemistry in drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(8): 779-789.
- [3] Coumar MS, Chu C Y, Lin C W, *et al.* Fast-forwarding hit to lead: aurora and epidermal growth factor receptor kinase inhibitor lead identification[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(13): 4980-4988.

- [4] Müller T J J. Multi-component synthesis of fluorophores via catalytic generation of alkynoyl intermediates[J/OL]. *Drug Discov Today Technol*, 2018, 29: 19–26[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.06.003>.
- [5] Gerber-Lemaire S, Popowycz F, Rodriguez-García E, *et al*. An efficient combinatorial method for the discovery of glycosidase inhibitors[J]. *Chembiochem*, 2002, 3(5): 466–470.
- [6] Shih J C, Chen K, Ridd M J. Monoamine oxidase: from genes to behavior[J/OL]. *Annu Rev Neurosci*, 1999, 22: 197–217[2020-10-21]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844879/>. DOI: 10.1146/annurev.neuro.22.1.197.
- [7] Berry M D, Juorio A V, Paterson I A. The functional role of monoamine oxidases A and B in the mammalian central nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 1994, 42(3): 375–391.
- [8] Binda C, Newton-Vinson P, Hubálek F, *et al*. Structure of human monoamine oxidase B, a drug target for the treatment of neurological disorders[J]. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(1): 22–26.
- [9] Jia W Z, Cheng F, Zhang Y J, *et al*. Rapid synthesis of flavone-based monoamine oxidase (MAO) inhibitors targeting two active sites using click chemistry[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 89(1): 141–151.
- [10] Platt F M, d’Azzo A, Davidson B L, *et al*. Lysosomal storage diseases[J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4(1): 27[2020-10-21]. <https://www.nature.com/articles/s41572-018-0025-4>. DOI: 10.1038/s41572-018-0025-4.
- [11] Martínez-Bailén M, Carmona A T, Moreno-Clavijo E, *et al*. Tuning of β -glucosidase and α -galactosidase inhibition by generation and in situ screening of a library of pyrrolidine-triazole hybrid molecules[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2017, 138: 532–542[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.055>.
- [12] Carmona A T, Carrión-Jiménez S, Pingitore V, *et al*. Harnessing pyrrolidine iminosugars into dimeric structures for the rapid discovery of divalent glycosidase inhibitors[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2018, 151: 765–776[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.008>.
- [13] Baldursson S, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010[J]. *Water Res*, 2011, 45(20): 6603–6614.
- [14] Troeger H, Epple H J, Schneider T, *et al*. Effect of chronic giardia lamblia infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum[J]. *Gut*, 2007, 56(3): 328–335.
- [15] Hanevik K, Wensaas K A, Rortveit G, *et al*. Irritable bowel syndrome and chronic fatigue 6 years after giardia infection: a controlled prospective cohort study[J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(10): 1394–1400.
- [16] Löfmark S, Edlund C, Nord C E. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(Suppl 1): S16–S23.
- [17] Kim W J, Korthals K A, Li S H, *et al*. Click chemistry-facilitated structural diversification of nitrothiazoles, nitrofurans, and nitropyrroles enhances antimicrobial activity against giardia lamblia[J/OL]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(6): e02397. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5444119/>. DOI: 10.1128/AAC.02397-16.
- [18] Cole S P C. Targeting multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1): past, present, and future[J/OL]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014, 54: 95–117[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011613-135959>.
- [19] Cole S P, Bhardwaj G, Gerlach J H, *et al*. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line[J]. *Science*, 1992, 258(5088): 1650–1654.
- [20] Wong I L K, Zhu X Z, Cha K F, *et al*. Discovery of novel flavonoid dimers to reverse multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediated drug resistance in cancers using a high throughput platform with “click chemistry”[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(22): 9931–9951.
- [21] Xu X, Meng Y, Li L, *et al*. Overview of the development of glutaminase inhibitors: achievements and future directions[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(3): 1096–1115.
- [22] Xu X, Kuang Z J, Han J, *et al*. Development and characterization of a fluorescent probe for GLS1 and the application for high-throughput screening of allosteric inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(21): 9642–9657.
- [23] He R J, Yu Z H, Zhang R Y, *et al*. Exploring the existing drug space for novel pTyr mimetic and SHP2 inhibitors[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(7): 782–786.
- [24] Jing L L, Wu G C, Hao X, *et al*. Identification of highly potent and selective Cdc25 protein phosphatases inhibitors from miniaturization click-chemistry-based combinatorial libraries[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2019, 183: 111696[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111696>.
- [25] Kang D W, Feng D, Jing L L, *et al*. In situ click chemistry-based rapid discovery of novel HIV-1 NNRTIs by exploiting the hydrophobic channel and tolerant regions of NNIBP[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2020, 193: 112237[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112237>.
- [26] Sangouard G, Zorzi A, Wu Y T, *et al*. Picomole-scale synthesis and screening of macrocyclic compound libraries by acoustic liquid transfer[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(40): 21702–21707.
- [27] Agard N J, Prescher J A, Bertozzi C R. A strain-promoted [3+2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(46): 15046–15047.
- [28] Qian L H, Zhang C J, Wu J, *et al*. Fused bicyclic caspase-1 inhibitors

- assembled by copper-free strain-promoted alkyne-azide cycloaddition (SPAAC)[J]. *Chemistry*, 2017, 23(2): 360-369.
- [29] Osipyan A, Shaabani S, Warmerdam R, *et al.* Automated, accelerated nanoscale synthesis of iminopyrrolidines[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(30): 12423-12427.
- [30] Gao K, Shaabani S, Xu R X, *et al.* Nanoscale, automated, high throughput synthesis and screening for the accelerated discovery of protein modifiers[J]. *RSC Med Chem*, 2021, 12(5): 809-818.
- [31] Sutanto F, Shaabani S, Oerlemans R, *et al.* Combining high-throughput synthesis and high-throughput protein crystallography for accelerated hit identification[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(33): 18231-18239.
- [32] Gesmundo N J, Sauvagnat B, Curran P J, *et al.* Nanoscale synthesis and affinity ranking[J]. *Nature*, 2018, 557(7704): 228-232.
- [33] Reid G E. 2019 ASMS "Emerging Investigators" focus[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(8): 1339-1342.
- [34] Schena M, Shalon D, Davis R W, *et al.* Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray[J]. *Science*, 1995, 270(5235): 467-470.
- [35] Uttamchandani M, Yao S Q. The expanding world of small molecule microarrays[J/OL]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1518: 1-17[2020-10-21]. https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-6584-7_1. DOI: 10.1007/978-1-4939-6584-7_1.
- [36] Foong Y M, Fu J Q, Yao S Q, *et al.* Current advances in peptide and small molecule microarray technologies[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2012, 16(1/2): 234-342.
- [37] Uttamchandani M, Walsh D P, Yao S Q, *et al.* Small molecule microarrays: recent advances and applications[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2005, 9(1): 4-13.
- [38] He X G, Gerona-Navarro G, Jaffrey S R. Ligand discovery using small molecule microarrays[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(1): 1-7.
- [39] Takaoka M, Miki Y. *BRCA1* gene: function and deficiency[J]. *Int J Clin Oncol*, 2018, 23(1): 36-44.
- [40] Na Z K, Pan S J, Uttamchandani M, *et al.* Discovery of cell-permeable inhibitors that target the BRCT domain of BRCA1 protein by using a small-molecule microarray[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(32): 8421-8426.
- [41] Peng B, Thorsell A G, Karlberg T, *et al.* Small molecule microarray based discovery of PARP14 inhibitors[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56(1): 248-253.
- [42] Medina P P, Nolde M, Slack F J. OncomiR addiction in an *in vivo* model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma[J]. *Nature*, 2010, 467(7311): 86-90.
- [43] Connelly C M, Boer R E, Moon M H, *et al.* Discovery of inhibitors of microRNA-21 processing using small molecule microarrays[J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(2): 435-443.
- [44] Rosenfeld A, Brehm M, Welle A, *et al.* Solid-phase combinatorial synthesis using microarrays of microcompartments with light-induced on-chip cell screening[J/OL]. *Mater Today Bio*, 2019, 3: 100022[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2019.100022>.
- [45] Gosalia D, Diamond S L. Nanodroplet chemical microarrays and label-free assays[J/OL]. *Methods Mol Biol*, 2010, 669: 69-78[2020-10-21]. https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-60761-845-4_6. DOI: 10.1007/978-1-60761-845-4_6.
- [46] Feng W Q, Ueda E, Levkin P A. Droplet microarrays: from surface patterning to high-throughput applications[J/OL]. *Adv Mater*, 2018, 30(20): e1706111[2020-10-21]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.201706111>.
- [47] Haidas D, Bachler S, Köhler M, *et al.* Microfluidic platform for multimodal analysis of enzyme secretion in nanoliter droplet arrays[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(3): 2066-2073.
- [48] Kobel S, Lutolf M. High-throughput methods to define complex stem cell niches[J]. *Biotechniques*, 2010, 48(4): ix-xxii.
- [49] Laustriat D, Gide J, Peschanski M. Human pluripotent stem cells in drug discovery and predictive toxicology[J]. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(4): 1051-1057.
- [50] Seki T, Fukuda K. Methods of induced pluripotent stem cells for clinical application[J]. *World J Stem Cells*, 2015, 7(1): 116-125.
- [51] Kitambi S S, Chandrasekar G. Stem cells: a model for screening, discovery and development of drugs[J/OL]. *Stem Cells Cloning*, 2011, 4: 51-59[2020-10-21]. <https://doi.org/10.2147/SCCAA.S16417>.
- [52] Nirmalanandhan V S, Sittampalam G S. Stem cells in drug discovery, tissue engineering, and regenerative medicine: emerging opportunities and challenges[J]. *J Biomol Screen*, 2009, 14(7): 755-768.
- [53] Tronser T, Popova A A, Jaggy M, *et al.* Droplet microarray based on patterned superhydrophobic surfaces prevents stem cell differentiation and enables high-throughput stem cell screening[J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6(23)[2020-10-21]. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700622>.
- [54] Brehm M, Heissler S, Afonin S, *et al.* Nanomolar synthesis in droplet microarrays with UV-triggered on-chip cell screening[J/OL]. *Small*, 2020, 16(10): e1905971[2020-10-21]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/smll.201905971>.
- [55] Zhang L, Feng Q, Wang J L, *et al.* Microfluidic synthesis of rigid nanovesicles for hydrophilic reagents delivery[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(13): 3952-3956.
- [56] Bruijns B, van Asten A, Tiggelaar R, *et al.* Microfluidic devices for forensic DNA analysis: a review[J/OL]. *Biosensors*, 2016, 6(3): 41[2020-10-21]. <https://doi.org/10.3390/bios6030041>.

- [57] Liu Y, Jiang X Y. Why microfluidics? Merits and trends in chemical synthesis[J]. *Lab Chip*, 2017, 17(23): 3960–3978.
- [58] Song P S, Ma Z, Ma J, *et al.* Recent progress of miniature MEMS pressure sensors[J/OL]. *Micromachines*, 2020, 11(1): 56[2020-10-21]. <https://doi.org/10.3390/mi11010056>.
- [59] Abgrall P, Gué A M. Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem—a review[J]. *J of Micromech and Microeng*, 2007, 17(5): R15–R49.
- [60] Cheng Y T, Lin L. MEMS packaging and thermal issues in reliability[M]// Bhushan B, *Springer Handbook of Nanotechnology*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 1111–1132.
- [61] Chew Y T, Xia H M, Shu C. Fluid micromixing technology and its applications for biological and chemical processes[M]// *IFMBE Proceedings*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007: 16–20.
- [62] Lombardi D, Dittrich P S. Advances in microfluidics for drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2010, 5(11): 1081–1094.
- [63] Grisoni F, Huisman B J H, Button A L, *et al.* Combining generative artificial intelligence and on-chip synthesis for *de novo* drug design[J/OL]. *Sci Adv*, 2021, 7(24): 3338[2020-10-21]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8195470/>. DOI: 10.1126/sciadv.abg3338.
- [64] Bosc D, Camberlein V, Gealageas R, *et al.* Kinetic target-guided synthesis: reaching the age of maturity[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(8): 3817–3833.
- [65] Schmidt M F, Rademann J. Dynamic template-assisted strategies in fragment-based drug discovery[J]. *Trends Biotechnol*, 2009, 27(9): 512–521.
- [66] Wu G C, Zhao T, Kang D W, *et al.* Overview of recent strategic advances in medicinal chemistry[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(21): 9375–9414.
- [67] Unver M Y, Gierse R M, Ritchie H, *et al.* Druggability assessment of targets used in kinetic target-guided synthesis[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(21): 9395–9409.
- [68] Wang Y, Zhu J J, Zhang L W. Discovery of cell-permeable *O*-GlcNAc transferase inhibitors via tethering *in situ* click chemistry[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(1): 263–272.
- [69] Bhardwaj A, Kaur J, Wuest M, *et al.* *In situ* click chemistry generation of cyclooxygenase-2 inhibitors[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1[2020-10-21]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5431875/>. DOI: 10.1038/s41467-016-0009-6.
- [70] Mancini F, Unver M Y, Elgaher W A M, *et al.* Protein-templated hit identification through an ugi four-component reaction[J]. *Chemistry*, 2020, 26(64): 14585–14593.
- [71] Antti H, Sellstedt M. Cell-based kinetic target-guided synthesis of an enzyme inhibitor[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9(4): 351–353.
- [72] Wang X S, Huang B, Liu X Y, *et al.* Discovery of bioactive molecules from CuAAC click-chemistry-based combinatorial libraries[J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(1): 118–132.
- [73] Huang B, Kang D W, Zhan P, *et al.* Fragment-based approaches to anti-HIV drug discovery: state of the art and future opportunities[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10(12): 1271–1281.



【专家介绍】刘新泳: 山东大学特聘教授, 博士生导师, 泰山学者, 山东省医学领军人才, 享受国务院特殊津贴。长期从事抗病毒、抗痛风、抗心脑血管疾病、抗神经退行性疾病创新药物的研发, 先后承担国家级重大、重点和面上课题 10 余项; 在 *J Med Chem*、*Chem Soc Rev*、*Elife* 等重要期刊发表论文 400 余篇; 获国家发明专利 70 余项。主编《基于靶标的抗艾滋病药物研究》、*Antiviral Drug Discovery and Development*、《抗艾滋病药物研究》、《实验室有机化合物制备与分离技术》等专著; 曾获国家科技进步二等奖 1 项 (第 3 位), 山东省科技进步一等奖 1 项 (第 2 位), 山东省教育厅科技进步三等奖 2 项, 山东省高等学校优秀科研成果奖一等奖 2 项、二等奖 1 项 (第 1 位, 2010、2016、2005); 曾获山东省青年科技奖、全国优秀百篇论文提名奖指导教师、山东省优秀科技工作者等称号。入选“全球前 2% 科学家”榜单 (斯坦福大学, 2020) 及“全球顶尖前 10 万科学家”榜单 (药学科, 2021, 2022)。2014—2020 年连续七年入选 Elsevier “中国高被引学者”。



【专家介绍】展鹏: 山东大学药学院教授, 博士生导师, 入选国家高层次青年人才、山东省杰青、齐鲁青年学者。从事抗病毒、抗痛风创新药物研究。先后主持国家自然科学基金面上项目、山东省杰出青年基金、山东省重大科技创新工程等项目 10 余项。以第一或通信作者在 *Chem Soc Rev*、*J Med Chem* (23 篇)、*Signal Transduct Target Ther*、*Elife*、*Drug Discov Today* (5 篇)、*Med Res Rev*、*ACS Med Chem Lett* 等专业期刊发表 SCI 文章 150 余篇, 多篇为 ESI 高被引论文, H 指数为 35; 以第一发明人申请及授权国家发明专利 15 项; 国际专利 (PCT) 4 项。主编专著《基于靶标的抗艾滋病药物研究》及 *Antiviral Drug Discovery and Development*, 副主编国家统编教材 1 部, 参编中英文专著 4 部。担任 *Curr Med Chem*、《药学报》及《中国化学快报》等 8 种国内外专业期刊的 (青年) 编委, 以及 *Eur J Med Chem*、*Bioorg Med Chem*、*Molecules*、*Pharm Res*、*Pharmaceutics* 专刊的客座编辑。获中国药学会-施维雅青年药物化学奖、日本学术振兴会特别研究员奖学金、教育部全国百篇优博论文提名、山东高等学校优秀科研成果奖等。入选“全球前 2% 科学家”榜单 (斯坦福大学, 2020) 及“全球顶尖前 10 万科学家”榜单 (药学科, 2021, 2022)。