

噻吩诺啡在人、比格犬和大鼠的肝微粒体中体外代谢比较

邓婧婷, 庄笑梅, 李 桦*

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 采用体外肝微粒体孵育体系, 研究噻吩诺啡在大鼠、比格犬和人肝微粒体中酶代谢动力学及代谢产物差异。通过对噻吩诺啡浓度、微粒体蛋白含量和孵育时间等条件的考察优化噻吩诺啡与肝微粒体的反应体系; 应用 LC-MS/MS 定量检测孵育体系中的噻吩诺啡及代谢产物, 分析比较噻吩诺啡在 3 种肝微粒体中代谢产物种类和生成量的差异, 计算并比较相应的动力学参数。噻吩诺啡在人肝微粒体中代谢转化最慢, 其相应的动力学参数 $K_m = (4.00 \pm 0.59) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $V_{\max} = (0.21 \pm 0.06) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $T_{1/2} = (223 \pm 6.10) \text{ min}$ 、 $\text{CL}_{\text{int}} = (117 \pm 3.19) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$; 比格犬和大鼠肝微粒体中相应的参数 K_m 、 $V_{\max}$ 、 $T_{1/2}$ 和 CL_{int} 分别为 (3.57 ± 0.69) 和 $(3.28 \pm 0.50) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 (0.18 ± 0.04) 和 $(0.14 \pm 0.04) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 (244 ± 1.21) 和 $(70.7 \pm 1.05) \text{ min}$ 、 (213 ± 1.06) 和 $(527 \pm 7.79) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在 3 个种属肝微粒体中均观察到噻吩诺啡的 6 个 I 相代谢产物, 但 6 个产物的相对生成百分比在不同种属肝微粒体中有一定差异。实验结果表明, 噻吩诺啡在体外人、比格犬和大鼠肝微粒体中主要的 I 相代谢途径相同, 但是代谢产物的生成量及噻吩诺啡的代谢动力学性质存在着一定的差异。

关键词: 噻吩诺啡; 肝微粒体; 种属差异; 代谢产物; LC-MS/MS; 细胞色素 P450

中图分类号: R969.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 01-0098-06

In vitro comparison of thienorphine metabolism in liver microsomes of human, Beagle dog and rat

DENG Jing-ting, ZHUANG Xiao-mei, LI Hua*

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: The inter-species differences of thienorphine metabolism were investigated in human, Beagle dog and rat liver microsomes, by comparing enzyme kinetics of the parent drug and the formation of its major metabolites. The incubation systems of thienorphine with liver microsomes of the three species were optimized in terms of thienorphine concentration, microsomal protein content and incubation time. The concentrations of thienorphine and its metabolites in incubates were measured by a LC-MS/MS method. The biotransformation of thienorphine by human liver microsomes was the lowest among the three species. The K_m , $V_{\max}$, CL_{int} and $T_{1/2}$ of thienorphine obtained from human liver microsomes were $(4.00 \pm 0.59) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(0.21 \pm 0.06) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $(117 \pm 3.19) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $(223 \pm 6.10) \text{ min}$, respectively. The corresponding kinetic parameters for dog and rat liver microsomes were (3.57 ± 0.69) and $(3.28 \pm 0.50) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, (0.18 ± 0.04) and $(0.14 \pm 0.04) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, (213 ± 1.06) and $(527 \pm 7.79) \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, (244 ± 1.21) and $(70.7 \pm 1.05) \text{ min}$, respectively. A total of six phase I metabolites were observed in liver microsomes, including one *N*-dealkylated metabolite, three oxidative metabolites and two *N*-dealkylated oxidation metabolites. All these six metabolites were detected in the liver microsomes of the three species. However, the relative amounts of the metabolites generated were different in three species. The results indicated that the major phase I metabolic pathway of thienorphine was similar in the liver microsomes from all three species. However, the inter-species differences

收稿日期: 2009-08-14.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09304-004, 2009ZX09301-002).

*通讯作者 Tel: 86-10-66930664, E-mail: amms_hli@126.com

observed were relative amounts of the metabolites as well as the metabolic characteristics of thienorphine in liver microsomal incubates.

Key words: thienorphine; liver microsomes; inter-species difference; metabolites; LC-MS/MS; cytochrome P450

噻吩诺啡(thienorphine), 化学名称为 *N*-环丙甲基-7 α -[1*R*-羟基-1-甲基-3-(2-噻吩)丙基]-6, 14-内乙基桥四氢去甲基蒂巴因, 是由军事医学科学院毒物药物研究所研发的、具有自主知识产权的一类新药, 目前已经进入 I 期临床研究。大量的药理研究结果表明, 该化合物是一个阿片受体部分激动剂, 对吗啡受体具有激动-拮抗的双重效应, 且抗吗啡依赖作用强, 有效剂量小, 药效作用时间长, 具有良好的戒毒应用前景^[1]。前期的临床前药代动力学研究结果表明, 噻吩诺啡在动物体内的代谢途径复杂、生成的产物较多、生物利用度低, 口服给药后经历明显的首过代谢, 血浆中葡萄糖醛酸结合产物的浓度高于原形药物^[2, 3]。为了解噻吩诺啡在人体的可能代谢途径和代谢转化动力学特性, 并与临床前研究所用的主要实验动物进行比较, 本文应用人、比格犬和大鼠的肝微粒体在体外比较研究了噻吩诺啡在不同种属肝脏中的主要代谢转化途径和酶动力学过程, 为噻吩诺啡的临床试验研究及临床应用的有效性和安全性提供信息及实验依据。

材料与方法

药品 盐酸噻吩诺啡由本所合成(纯度为 99.5%)。内标丁丙诺啡(buprenorphine)购自 Sigma(美国)公司, 乙腈(J&K Chemica)为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

仪器 美国 Finnigan 公司 TSQ Quantum 型液相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪(LC-MS/MS), 配有 Finnigan Surveyor LC 泵、Surveyor AS 自动进样器、电喷雾离子化电源(ESI)。控制软件为 Xcalibur 1.4, 质谱数据分析采用 Lcquan 2.0 数据处理系统。BataBasic-C₁₈ 色谱柱(150 mm × 2.1 mm ID, 5 μ m, Finnigan, USA)。

动物 雄性 SD 大鼠 4 只, 体重 (240 ± 10) g, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK-(军) 2007-004; 雄性比格犬 4 只, 体重 (10 ± 2) kg, 购自四川成都达硕生物科技有限公司, 动物合格证号 SCXK-(川) 2006-24。

肝微粒体来源或制备 人肝微粒体购自美国 BD Gentest 公司, 为 40 人混合肝微粒体, 蛋白含量为 20

g·L⁻¹, 批号为 18888。差速离心法制备大鼠和比格犬肝微粒体^[4], 并用 Lowry 法^[5]测定微粒体蛋白含量。

噻吩诺啡与各种属微粒体孵育的代谢动力学 用 5 mmol·L⁻¹ K₂HPO₄ 缓冲液 (pH 7.4) 配制其中含有蛋白浓度为 1.25 g·L⁻¹ 的各种属肝微粒体孵育液, 孵育开始前将 4 μ mol·L⁻¹ 噻吩诺啡 100 μ L 与上述孵育液 80 μ L 混合, 在 37 °C 水浴中预孵育 5 min 后加入同样经预孵育 5 min 的 NADPH 溶液 (10 mmol·L⁻¹) 20 μ L 启动反应, (反应体系中各种属肝微粒体蛋白含量 0.5 g·L⁻¹、噻吩诺啡终浓度为 2 μ mol·L⁻¹) 在 37 °C 水浴中振荡孵育, 并于 0、0.5、1、2、5、10、15、30 和 60 min 取出, 立即加入 200 μ g·L⁻¹ 盐酸丁丙诺啡(内标) 甲醇溶液 200 μ L 并混合以终止反应。将终止后的孵育样品振荡 2 min、离心 (4 °C、20 200×g) 10 min 后取上清液至 LC-MS/MS 检测, 定量分析噻吩诺啡的剩余量和代谢产物的生成量。

噻吩诺啡与各种属微粒体孵育计算 K_m 及 V_{max} 反应体系中含有各种属微粒体蛋白含量 0.5 g·L⁻¹、噻吩诺啡终浓度分别为 0.25、0.5、1、2 和 4 μ mol·L⁻¹, 在 37 °C 水浴中预孵育 5 min 后加入同样经预孵育 5 min 的 NADPH 溶液 (10 mmol·L⁻¹) 启动反应, 在 37 °C 水浴中振荡孵育, 并于反应 0、10 min 取出, 按上述方法处理后至 LC-MS/MS 检测噻吩诺啡的含量。

HPLC-MS/MS 定量测定方法 色谱条件: 流动相为 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵水溶液 (含有 0.1% 甲酸)-乙腈溶液 (含有 0.1% 甲酸) (50 : 50), 流速为 0.2 mL·min⁻¹, 进样量 20 μ L。质谱条件: 选择大气压化学电喷雾源 (ESI), 以选择性反应离子 (SRM) 模式在正离子模式下检测碎片离子, 原药和代谢产物的质谱分析参数见表 1。

Table 1 MS/MS conditions

Compound	<i>m/z</i>		Collision energy/V
	Parent	Product	
Thienorphine	522	97	51
Buprenorphine (IS)	468	414	41
M1	468	450	28
M2	484	324	40
M3	484	466	25
M4	538	378	40
M5	538	520	40
M6	554	536	40

方法学验证

标准曲线的配制: 用 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液配制浓度为 0.01 、 0.05 、 0.1 、 0.25 、 1 、 2.5 和 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的噻吩诺啡溶液, 各取 $100 \mu\text{L}$ 与肝微粒体溶液 (蛋白含量浓度 $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $80 \mu\text{L}$ 、 NADPH 溶液 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $20 \mu\text{L}$ 和内标溶液 $200 \mu\text{L}$ 终止液混合, 离心 (4°C 、 $20\ 200\times g$) 10 min , 取上清液进样。

精密度: 连续 3 d 依照标曲方法配制浓度为 0.025 、 0.5 和 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 样品各 5 份, 分别计算日内测定与日间测定值的相对标准偏差为日内和日间精密度。

准确度 (相对回收率): 质控样品各测定 5 次, 按标准曲线算出浓度与理论浓度之比。

绝对回收率: 用空白缓冲液替代肝微粒体溶液制备质控样品对应浓度的样品, 其浓度与质控样品浓度之比。

数据处理与分析 将噻吩诺啡的零时浓度作为 100% , 其他时间点的浓度与零时的浓度相比得到噻吩诺啡的剩余百分比。各时间点的剩余百分比的自然对数与相应的孵育时间经直线回归求得斜率 ($-k$), 由公式 (1) 求得原药微粒体代谢的 $T_{1/2}$ (min), 应用 Well Stirred Model 对微粒体的数据进行外推可以得到噻吩诺啡在人、大鼠和比格犬肝中的固有清除率 CL_{int} ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和肝清除率 CL_h ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[6], 其中相关的理化参数经验值^[7]见表 2。

$$T_{1/2} = -0.693/k \quad (1)$$

$$\text{CL}_{\text{int}} = \frac{0.693}{T_{1/2}} \times \frac{\text{Incubation}(\text{mL})}{\text{Microsomes}(\text{mg})} \times \frac{\text{Microsomes}(\text{mg})}{\text{Liver}(\text{g})} \times \frac{\text{Liver}(\text{g})}{\text{BW}(\text{kg})} \quad (2)$$

$$\text{CL}_h = \frac{Q_h \times \text{CL}_{\text{int}}}{Q_h + \text{CL}_{\text{int}}} \quad (3)$$

Table 2 Physiological parameters for calculation of intrinsic clearance in rats, Beagle dogs and human^[7]

Parameter	Rat	Dog	Human
Liver (g) / BW(kg)	44.8	77.9	48.8
Microsomes (mg) / Liver (g)	40	32	25.7
Liver blood flow (Q_h)	55.2	30.9	20.7

按 Line Weaver-Burk 法分别计算噻吩诺啡在大鼠、比格犬和人微粒体中的米氏常数 (K_m) 和最大反应速度 (V_{max})^[8]。

主要代谢产物的相对定量: 各种属孵育终点样品处理后, 得到 6 个产物峰面积分别与内标峰面积的比值, 将 6 个比值相加作为分母, 各产物峰面积与内

标峰面积比值与其相比得到各产物在总产物中的丰度, 观察各种属微粒体 P450 酶对噻吩诺啡代谢转化的差别。

应用 Windows Excel Microcal Origin 6.0 (微软公司) 进行数据分析和制图。数据比较用成组 t 检验进行。

结果

1 孵育液中噻吩诺啡的 LC-MS/MS 检测方法学验证

图 1 为人肝微粒体中色谱图, 孵育液中的杂质不干扰噻吩诺啡以及内标物的测定。噻吩诺啡在 $0.01 \sim 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时呈良好的线性关系, 相关系数大于 0.99 , 定量限为 $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。噻吩诺啡在 3 个浓度水平 (0.025 、 0.5 和 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的绝对回收率均大于 80% , 日内和日间精密度分别小于 3.5% 和 5% , 准确度在 $85\% \sim 110\%$ 。方法学验证结果表明, 该法特异性、灵敏度和精密度均能满足本研究要求。

2 噻吩诺啡在人、大鼠和比格犬微粒体中的代谢动力学

噻吩诺啡与 3 个种属的肝微粒体 (蛋白浓度为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 温孵不同时间后, 发现在人和比格犬的肝微粒体中药物在 $0 \sim 15 \text{ min}$ 内呈线性消除, 而在大鼠

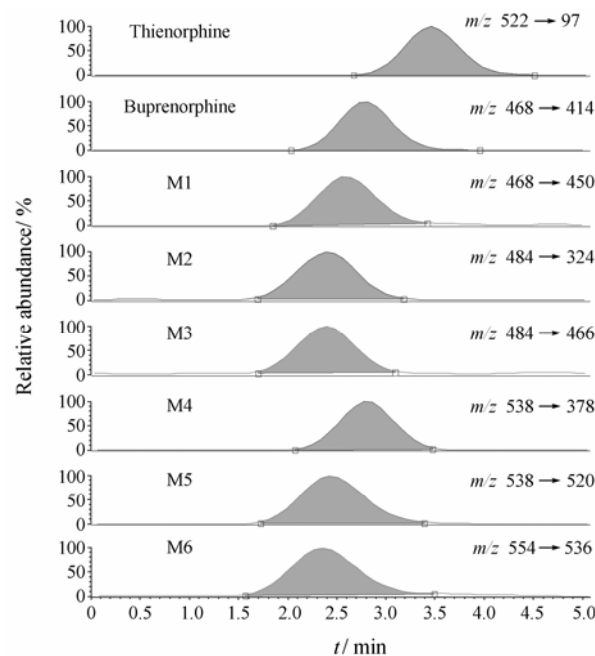


Figure 1 Extracted ion chromatograms of thienorphine and metabolites in the human liver microsomal incubate after 5 min incubation. The 5 min incubate of thienorphine ($2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) with the human liver microsomes was analyzed by a Finnigan TSQ Quantum LC-MS/MS with a BataBasic- C_{18} column ($150 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm ID}$, $5 \mu\text{m}$, Finnigan, USA)

肝微粒体中药物在 0~5 min 内呈线性消除; 将不同浓度的噻吩诺啡分别与肝微粒体孵育, 观察到当噻吩诺啡浓度超过 $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 消除呈饱和特性。因此进行代谢动力学实验时, 选择 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 噻吩诺啡与蛋白浓度为 $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的微粒体共孵育, 不同时间点取样, 测定其 $T_{1/2}$ 及 CL_{int} (图 2)。在测定噻吩诺啡与不同种属肝微粒体反应的 K_m 及 V_{max} 时, 选择 0.25、0.5、1、2 和 $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 噻吩诺啡与 $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 微粒体蛋白共孵育 10 min, 结果见表 3。

3 噻吩诺啡在肝微粒体中的代谢产物

应用 Symyx 药物信息系统 (Symyx 公司, 美国) 预测噻吩诺啡可能的代谢产物, 结果表明噻吩诺啡的 I 相代谢主要为 *N*-脱烷基反应和 *N*-氧化反应。上述噻吩诺啡原形及代谢产物又可经过 II 相代谢产生其对应的葡萄糖醛酸结合物。

根据上述预测结果以及药物生物转化的相关知识和经验, 在 LC-MS/MS 上选择 SRM 扫描方式测定

代谢产物, 并将噻吩诺啡分别与人、大鼠和比格犬肝微粒体孵育 15 min 后的选择离子色谱图与噻吩诺啡零时的孵育样品进行比较, 均可见 6 个基线分离的新增色谱峰, 依次编号为 M1 (m/z 468 $\rightarrow$ 450)、M2 (m/z 484 $\rightarrow$ 324)、M3 (m/z 484 $\rightarrow$ 466)、M4 (m/z 538 $\rightarrow$ 378)、M5 (m/z 538 $\rightarrow$ 520) 和 M6 (m/z 554 $\rightarrow$ 536), 并根据各个产物的二级质谱图初步推测它们分别为 *N*-脱烷基产物 (M1)、*N*-氧化产物 (M5)、*S*-氧化产物 (M4) 和 *N* 位和 *S* 位同时氧化产生的双氧化产物 (M6), 以及 *S*-和 *N*-氧化产物再 *N*-脱烷基生成的产物 (M2 和 M3)。噻吩诺啡在 3 个种属肝微粒体中的主要 I 相代谢途径见图 3。

4 大鼠、比格犬及人肝微粒体对噻吩诺啡代谢转化的差异

噻吩诺啡与人、大鼠和比格犬肝微粒体孵育 15 min 后, 均能检测到 6 个 I 相代谢产物, 但产物的生成比例有所差别。由于没有获得代谢产物的对照品,

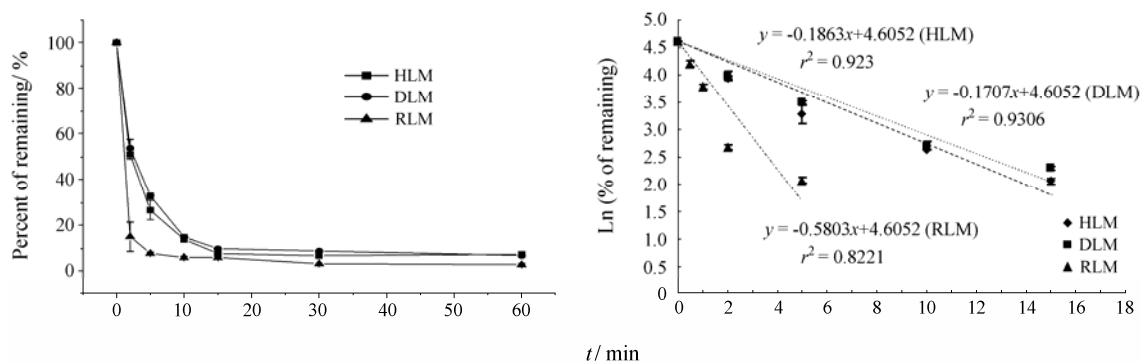


Figure 2 *In vitro* metabolic kinetics of thienorphine in human, Beagle dog and rat liver microsomes. HLM: Human liver microsomes; RLM: Rat liver microsomes; DLM: Dog liver microsomes. Thienorphine ($2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was incubated with human, Beagle dog and rat liver microsomes (protein concentration of $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) at 37°C for 60 min. Samples were taken at different time points and the remaining amounts of thienorphine were analyzed with a LC-MS/MS method

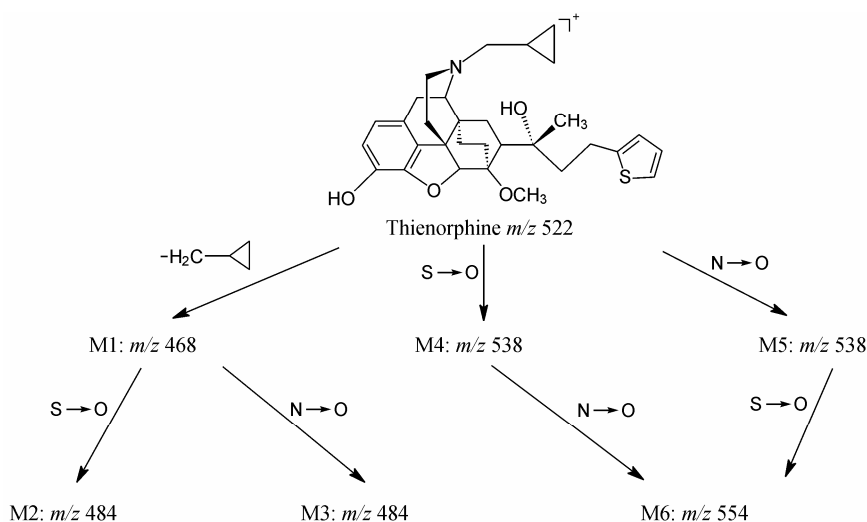


Figure 3 Metabolic pathway of thienorphine

Table 3 *In vitro* metabolic parameters and predicted hepatic clearances of thienorphine in liver microsomes of three species

Liver microsomes	Parameter				
	$T_{1/2}/\text{min}$	$CL_{\text{int}}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	$CL_{\text{h}}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	$K_{\text{m}}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$
Human	223 ± 6.10	117 ± 3.19	17.6 ± 0.07	4.00 ± 0.59	0.21 ± 0.06
Dog	244 ± 1.21	213 ± 1.06**	27.0 ± 0.02**	3.57 ± 0.69	0.18 ± 0.04
Rat	70.7 ± 1.05**	527 ± 7.79**	50.0 ± 0.07**	3.28 ± 0.50	0.14 ± 0.04*

$n = 5$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs human group. The metabolic parameters and predicted hepatic clearances of thienorphine were calculated by equation 1-3 above with the parameters of Table 2

所以将各产物面积与内标面积相比, 进行归一化处理。分别将大鼠和比格犬的代谢产物比例与人相比(图 4), 可见大鼠的各产物丰度与人相比有显著性差异。

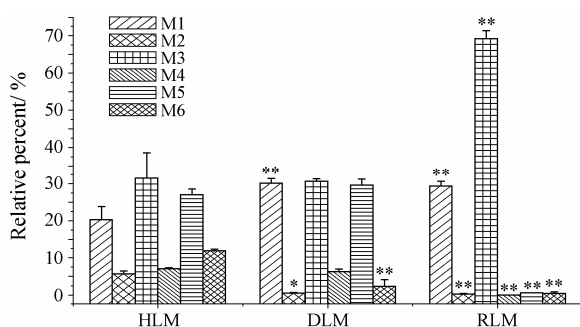


Figure 4 Mean relative amounts of six thienorphine metabolites measured in incubates after thienorphine ($2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was incubated with human, dog and rat liver microsomes at 37°C for 15 min. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs human group

讨论

孔琦等^[2]曾在大鼠和比格犬体内药代动力学实验中发现噻吩诺啡 *N*-脱烷基反应产物噻吩胺 (M1) 及其葡萄糖醛酸结合物, 并研究了原形和葡萄糖醛酸结合物在大鼠和比格犬体内的药代动力学。本实验应用肝微粒体进行的体外研究观察到噻吩诺啡除了 *N*-脱烷基外, 还可在 *S* 和 *N* 位产生单氧化或双氧化产物。噻吩诺啡在鼠和比格犬肝微粒体中生成的代谢产物均可在人肝微粒体中观察到, 说明噻吩诺啡的氧化和 *N*-脱烷基反应是人、比格犬和大鼠肝中的共有的 I 相代谢途径。噻吩诺啡及其产物可以进一步与葡萄糖醛酸结合, 形成极性较大的结合物而排出体外。噻吩诺啡在人体的代谢产物还将通过临床试验加以证实。

进一步比较 3 个种属肝微粒体孵育 15 min 体系中 6 个产物的相对生成量可见, 代谢产物的生成量存在种属差异, 其中大鼠与人的差异显著, 所有 6 种代谢产物在两个种属之间均存在着显著性差异。M1 和 M3 在鼠肝的相对生成量明显高于人肝, 而双氧化产

物 M6 在鼠和犬肝的相对生成量显著低于人肝。噻吩诺啡在人、比格犬和大鼠肝微粒体中的代谢动力学特性也有一定的差异。噻吩诺啡与大鼠肝 P450 酶的亲和力最高 (K_{m} 值最小), 比格犬和人肝则很相近; 噻吩诺啡在大鼠肝微粒体中的代谢消除速度、内在清除率及肝清除率均明显高于人和比格犬肝微粒体。

本研究室应用重组人细胞色素 P450 (CYP) 同工酶进行的相关实验结果表明, 噻吩诺啡主要由 CYP3A4 代谢 (87%), 其次是 CYP2D6; *N*-脱烷基反应主要由 CYP2C19 介导, *S* 位氧化和 *N* 位氧化反应主要由 CYP3A4 和 CYP2D6 介导, 而每一种同工酶对噻吩诺啡结构上氧化位点有一定的选择性。由此可以推论, 噻吩诺啡代谢产物在人和两种常用实验动物肝微粒体中生成量的差异以及代谢动力学上的差异, 很可能是因为涉及噻吩诺啡代谢的药酶 (特别是 CYP 同工酶) 在不同种属肝脏中的组成和相对含量差异所致。

综上所述, 噻吩诺啡在体外人、大鼠和比格犬肝微粒体中的主要 I 相代谢途径相同, 但是代谢产物的生成量及噻吩诺啡的代谢动力学性质存在着一定的种属差异, 与已报道的动物体内实验结果相符^[9], 推测在人体内生物利用度可能会略高于大鼠, 且与比格犬相近。因此在设计、实施噻吩诺啡的临床试验研究时, 应充分考虑到实验动物与人体在噻吩诺啡代谢方面的这些异同, 降低药物代谢种属差异对人体的潜在风险。

References

- [1] Yu G, Yue YJ, Cui Mx, et al. Thienorphine is a potent long-acting partial opioid agonist: a comparative study with buprenorphine [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318: 282-287.
- [2] Qi K, Qiao JZ, Yuan SL, et al. Simultaneous determination of thienorphine and its metabolite thienorphine-glucuronide in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic studies [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 859: 52-61.
- [3] Wei SX, Wang XY, Zhang ZQ, et al. Metabolism of thienor-

- phine in rat *in vivo* [J]. Chin Pharmacol (中国药理通讯), 2003, 20: 72.
- [4] von Bahr C, Groth CG, Jansson H, et al. Drug metabolism in human liver *in vitro*: establishment of a human liver bank [J]. Clin Pharmacol Ther, 1980, 27: 711-725
- [5] Lowey OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. J Biol Chem, 1951, 193: 265-275.
- [6] Obach RS. Prediction of human clearance of twenty-nine drugs from hepatic microsomal intrinsic clearance data: an examination of *in vitro* half-life approach and nonspecific binding to microsomes [J]. Drug Metab Dispos, 1999, 27: 1350-1359.
- [7] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans [J]. Pharm Res, 1993, 10: 1093-1095.
- [8] Xue JF, Ruan JX. Biotransformation of etheofazine in hepatic subcellular fractions from rat, dog and monkey [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1999, 34: 810-813.
- [9] Qi K. Pharmacokinetics of Thienorphine and Its Metabolites (噻吩诺啡及其代谢物的药动学) [D]. Beijing: Institute of Pharmacology and Toxicology of Academy of Military Medical Sciences, 2007.

《药学报》抗艾滋病药物研究专刊预告

为了展示国内外艾滋病药物研究的最新进展和成果,为相关研究人员提供学术交流的平台,《药学报》编辑部组织了一期以“抗艾滋病药物研究”为主题的专刊,邀请了国内外活跃在抗艾滋病药物研究领域的知名专家撰稿。

本专刊以综述和研究论文的形式反映了国内外抗艾滋病药物研究领域的研究现状和发展趋势。敬请读者关注《药学报》2010年第45卷第2期“抗艾滋病药物研究专刊”。

《药学报》编辑部