

基于体外 CYP3A4 抑制和诱导数据定量预测体内药物-药物相互作用

张庆颢, 李 燕*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 抑制和诱导 CYP3A4 所引起的药动学药物相互作用是临床药物相互作用的常见机制之一, 在新药研究以及临床应用中已引起广泛关注。在新药研发早期定量预测药物相互作用可缩短新药开发的时间和成本, 并为后期的临床研究提供参考依据。本文综述了近年应用体外 CYP3A4 代谢数据构建数学模型定量预测体内药物相互作用的研究进展。

关键词: CYP3A4; 药物-药物相互作用; 预测模型; 诱导; 抑制

中图分类号: R969.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 08-0952-08

Quantitative prediction of *in vivo* drug-drug interactions based on *in vitro* inhibition or/and induction data for CYP3A4

ZHANG Qing-hao, LI Yan*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Inhibition or/and induction of CYP3A4 are the major mechanisms underlying the common clinical drug-drug interactions, which has been gained attention in new drug discovery and development as well as clinical practice. Quantitative prediction of drug-drug interactions at the early stage of drug development is advantageous for reducing the cost and duration of development and providing more information for the later clinical studies. The review summarizes the update progress on quantitative prediction of *in vivo* drug-drug interactions derived from models based on *in vitro* inhibition or/and induction for CYP3A4.

Key words: CYP3A4; drug-drug interaction; prediction model; induction; inhibition

联合用药是临床药物治疗的常用手段, 尤其是多疾病老年患者的药物治疗和肿瘤患者的联合化疗增加了药物-药物相互作用 (DDI) 发生的可能性。此外, 由于补益类食品及天然植物药中存在结构多样的天然产物, 当与化学药物同时服用也存在发生 DDI 的风险。DDI 可分为药动学、药效学以及体外 DDI, 在 DDI 的发生机制中, 药动学 DDI 尤其是细胞色素 P450 介导的 DDI 无疑是最重要的机制之一。

CYP3A4 是肝脏及肠壁中含量最丰富的 P450 同工酶, 可参与代谢约 50% 的临床药物^[1], 包括钙通道阻滞剂、苯二氮草类和他汀类、HIV 蛋白酶抑制剂

等^[2]。临床联合用药时, 抑制或诱导 CYP3A4 的药物 (perpetrator drug) 可以影响合并用其他药物 (victim drug) 的药动学, 从而影响血浆中药物的暴露量 (以 AUC 的变化表示) 导致药动学 DDI。抑制性 (包括可逆、机制性失活) 药物相互作用多提高药效, 但对于治疗窗较窄的药物易引起临床不良反应, 严重时危及生命。而诱导引起的药动学 DDI 较少引起用药安全问题, 但可降低药物的疗效。因此, 预测新药可能引起的 DDI 是新药研发中评价候选药物特性的重要内容。目前应用体外代谢数据构建数学模型是定量预测新药可能引起体内 DDI 的有效方法之一。

1 体外可逆抑制 CYP3A4 与体内 DDI 的定量预测

一般而言, 可逆性抑制包括竞争性、非竞争性、反竞争性和混合性抑制^[3]。目前在新药研发中, 评价

收稿日期: 2009-11-30.

*通讯作者 Tel/Fax: 86-10-63165172, E-mail: yanli@imm.ac.cn

先导化合物对 CYP3A4 的可逆抑制作用已作为常规检测而广泛开展。另外通过构建数学模型, 应用体外 CYP3A4 可逆抑制数据可定量预测体内 DDI^[4]。

1.1 应用 $[I]/K_i$ 预测体内 DDI 体外数据预测体内 DDI 基于以下基本原理: 药物相互作用的程度可以血浆药物暴露量的变化即 AUC 的比值表示。根据药理学原理 $AUC_i/AUC = CL/CL_i$, 其中 AUC_i 和 CL_i 分别代表同时给予抑制剂后 victim 药物的药时曲线下面积和清除率, AUC 和 CL 分别代表只给予 victim 药物的药时曲线下面积和清除率。对于竞争性和非竞争性抑制, 进一步推导得到 $CL/CL_i = CL_{int}/CL_{int,i} = 1 + [I]/K_i$, 其中 CL_{int} 和 $CL_{int,i}$ 分别为无抑制剂和存在抑制剂时肝脏固有清除率。 $AUC_i/AUC = 1 + [I]/K_i$, 式中 $[I]$ 为酶活性位点的抑制剂浓度, 以系统中血浆药物总浓度代替。 K_i 为体外实验中抑制剂的解离常数。目前 FDA 关于 DDI 研究的指导草案^[5]中建议: $[I]/K_i$ 值大于 0.1 可作为进行临床 DDI 试验的标准, 即该化合物引起 DDI 的可能较大。

这种简化预测 DDI 的方法基于以下假设: ① 药物经肠道完全吸收, 肠道不参与药物的代谢; ② 药物只经肝脏代谢消除; ③ 血浆药物浓度远远小于其 K_m 值; ④ 该公式的推导是应用肝脏“充分搅拌模型”, 即药物在肝内迅速均匀分布, 灌流速率是药物从血液进入肝脏的限速步骤^[6]。

由于未考虑其他途径对药物消除的影响, 而是将药物的消除假定为只经受抑制的酶介导, 因此该方法的预测将有高估 DDI 的可能。而 $[I]$ 以血浆药物总浓度替代也将高估实际的药物相互作用。目前该方法主要用于严重 DDI 的保守预测, 可以排除假阴性结果, 最大限度地预测新药开发阶段的 DDI。 Einolf 等^[7]研究表明, $[I]/K_i$ 的方法可准确地预测药物相互作用的有或无 (即 $AUC_i/AUC \geq 2$ 存在 DDI, $AUC_i/AUC < 2$ 无 DDI), 约 17% 的 DDI 可利用该方法准确预测 (预测值在实际值的 2 倍以内)。

1.2 兼顾其他消除途径的 DDI 预测模型 $[I]/K_i$ 预测方法将药物的消除假定为只经受抑制的酶介导, 当兼顾其他消除途径时得到等式 (1):

$$\frac{AUC_i}{AUC} = \frac{1}{f_{m,CYP3A4} \left(\frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) + (1 - f_{m,CYP3A4})} \quad (1)$$

等式中 $f_{m,CYP3A4}$ 为 CYP3A4 介导的 victim 药物的消除

占整个消除的百分比。 $[I]$ 用进入肝脏的药物游离浓度替代以得到更准确的预测结果, 肝入口浓度 $I_{inlet} = f_u (C_{max} + K_a \cdot D \cdot f_a / Q_H)$, 其中 C_{max} 、 K_a 、 D 、 f_a 、 Q_H 和 f_u 分别为系统最大血浆药物浓度、吸收速率常数、给药剂量、吸收分数、肝脏血流速度和血浆游离分数。虽然 $f_{m,CYP3A4}$ 可提高应用体外数据预测体内 DDI 的准确性^[7], 但是估算 $f_{m,CYP3A4}$ 也存在一定的不确定性。目前尚不能直接测定人体内 CYP3A4 对某底物代谢的 f_m 值, 只能通过间接方法获得。常用方法有: ① 应用体外的底物转归表型^[8]和主要代谢途径的反应表型数据^[9, 10]估算; ② 通过体内 DDI 实验, 应用特异性抑制剂完全抑制 CYP3A4 估算 $f_{m,CYP3A4}$ 。

1.3 肠代谢对 CYP3A4 介导的体内 DDI 预测的影响 人体肠道有 CYP3A4 的表达, 表达总量约为 67.5~70.5 nmol, 占肝脏 CYP3A4 总量的 1%^[11]。虽然肠道 CYP3A4 的总量远低于肝内总量, 但每毫克微粒体蛋白催化底物生成的活性相当。加之口服给药后, 肠壁中药物浓度相对较高, 因此肠道 CYP3A4 对经 CYP3A4 代谢的口服药物体内 DDI 发挥重要作用。多个临床试验表明, 与肝脏相比, 抑制剂对肠道 CYP3A4 的抑制作用更加显著^[12-14]。目前 DDI 预测模型中多以存在抑制剂 (F_g') 和不存在抑制剂 (F_g) 时的肠道药物生物利用度之比来反映肠道的作用, 等式为 $F_g'/F_g = 1/(F_g + (1 - F_g)[1/(1 + [I]_G/K_i)])$, 其中肠壁药物浓度 $[I]_G = K_a \cdot D \cdot f_a / Q_{ent}$, 其中 Q_{ent} 为肠壁血流量。优化等式 (1) 得到等式 (2):

$$\frac{AUC_i}{AUC} = \frac{1}{f_{m,CYP3A4} \left(\frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) + (1 - f_{m,CYP3A4}) F_g + (1 - F_g) \left(\frac{1}{1 + \frac{[I]_G}{K_i}} \right)} \quad (2)$$

目前考虑肠代谢影响的 DDI 预测模型是否可提高预测准确性尚有不同看法。在维拉帕米机制性失活 CYP3A4 的 DDI 预测中, 应用游离的平均血浆药物浓度, 并代入 F_g 值可成功预测咪达唑仑 AUC 的增加^[15]。但是 Brown 等^[16]的实验却得到相反的结论。值得注意的是在 Brown 的实验中应用的 $[I]$ 是系统平均血浆药物浓度, K_i 为校正微粒体蛋白结合后的 K_{iu} 值, 因此对于预测准确性的判断也应该考虑其他变化的因素, 尤其是那些对特定参数敏感的模式^[11]。上文提到的 F_g'/F_g 的方法需要估算 F_g 、 $[I]_G$ 和 K_i 参数, 因此 Galetin

等^[17]提出了一个简单实用的估算 F_g'/F_g 的方法。该方法假定肠道的最大抑制作用, 即 $F_g'=1$, 从而得到 $F_g'/F_g=1/F_g$, 因此只需要估算出未加入抑制剂时的 F_g 值就可以预测肠道对于整个 DDI 的影响。这种简便方法虽然可以较准确地预测强抑制剂引起的 DDI, 但同时可能高估中等和弱抑制剂引起的 DDI。此外, 在考虑肠道代谢对整个 DDI 的影响时, F_g 值的不确定性将影响 DDI 预测的准确性, 因此准确估算 F_g 值十分重要。

目前估算 F_g 的方法: ① 通过口服和静脉给药的药时曲线间接估算。由于该方法是酶与转运体共同作用后的结果, 因此限制了该方法的应用。另外该方法忽略静脉给药时的肠代谢, 影响其准确性^[18]; ② 葡萄柚汁与药物相互作用实验估算。假定给予葡萄柚汁后可完全抑制肠道 CYP3A4 的活性而其对肝脏酶活性和吸收分数没有影响, 通过比较给药前和给药后的 AUC 变化估算 F_g ^[11]; ③ 以体外数据估算 F_g ^[19], 即通过整合细胞渗透性、肠血流量、肠代谢酶的分布差异和相对活性信息估算 F_g 。

1.4 不考虑酶活性位点部位抑制剂浓度 [I] 的预测模型 以不同的药物浓度来替代 [I] 值将对 DDI 预测带来一定的不确定性。理想的 [I] 值应是酶活性位点的抑制剂浓度, 目前预测可逆性抑制剂引起的 DDI 通常以游离肝入口血药浓度来替代 [I], 而对于不可逆抑制作用则以游离系统血浆药物浓度替代 [I]。Lu 等^[20-22]构建的预测模型中, 利用底物的反应表型数据计算 $f_{m,CYP}$ 以及抑制剂对同工酶的交叉抑制数据 $f_{A,CYP}$ 。利用上述两个参数而不考虑酶活性位点部位的 [I] 值和体外 K_i 值, 可成功预测可逆性抑制剂的体内 DDI。该模型是将冻存的人肝细胞悬浮于人血浆中, 在此条件下肝细胞外液的抑制剂浓度相当于血浆抑制剂浓度, 而肝细胞内的抑制剂浓度应该等于酶活性位点的抑制剂浓度。这样体内肝细胞剩余酶活性的分数应该等于体外剩余酶活性的分数 (f_A), 而 f_A 等于加入抑制剂 (v') 和未加入抑制剂时的酶催化反应速度 (v) 之比即: $f_A = v'/v = 1/(1+[I]/K_i)$, 同时考虑其他代谢途径的影响, 可以得到等式 (3):

$$\frac{AUC_i}{AUC} = \frac{1}{f_{m,hep}(f_{m,CYP3A4} \cdot f_{A,CYP3A4} + \dots) + f_{m,other} \cdot f_{A,other}} \quad (3)$$

其中 $f_{m,hep}$ 为肝脏消除分数。该模型已成功用于预测 CYP3A4 的强抑制剂酮康唑和中等强度抑制剂氟康唑引起的咪达唑仑、环孢素、阿普唑仑等药物的体内

DDI, 但需要注意的是该模型未考虑肠道代谢对 DDI 的影响。

2 机制性失活作用及体内 DDI 预测

2.1 机制性失活及评价标准 机制性失活 (MBI) 是指抑制剂经代谢生成中间代谢产物, 后者与 P450 酶蛋白或血红素发生共价结合, 或与血红素配位结合使酶失去催化活性。机制性失活包括不可逆抑制和半不可逆抑制, 二者均需经过酶的催化循环生成中间代谢产物而发挥作用, 因此是时间、NADPH 和药物浓度依赖的抑制作用^[23]。已知的 CYP3A4 机制性失活剂包括葡萄柚汁和抗 HIV 药物、钙通道阻滞剂、大环内酯类抗生素等天然产物和药物^[24]。目前判断 MBI 有以下标准: ① 时间依赖性的失活作用; ② 失活速率表现为饱和动力学; ③ 失活需要 NADPH、O₂、P450 还原酶的存在; ④ 有代谢产物的生成; ⑤ 加入酶的底物或抑制剂时可减慢失活速率; ⑥ 透析或凝胶过滤不能恢复酶的活性; ⑦ 失活反应的化学计量比为 1:1, 在亲核试剂 GSH 存在时不影响失活速率或化学计量比; ⑧ 失活动力学不存在拖尾时间^[25]。由于 MBI 引起的酶失活, 即使抑制剂已消除也不能恢复酶的活性, 只有通过新合成代谢酶才能恢复酶的活性, 因此 MBI 引起的 DDI 将更持久和严重。

2.2 体内 MBI 介导的 DDI 预测 Mayhew^[26]最先构建了 MBI 介导的 DDI 预测模型。基于上文提到的 $AUC_i/AUC = CL/CL_i$, 引入了失活速率常数 $\lambda = K_{inact} \cdot [I]/(K_i + [I])$, 其中 K_{inact} 为最大失活速率常数, K_i 为达到最大失活速率时的抑制剂浓度。同时考虑酶自身的转归速率常数 K_{deg} 、失活酶相对于总体清除的清除分数 $f_{m,CYP3A4}$ 以及肠道代谢的影响, 可以等式 (4) 估算 MBI 引起的 DDI (注: 以 G 为角标的参数为肠壁参数)。

$$\frac{AUC_i}{AUC} = \frac{1}{f_{m,CYP3A4} \left(\frac{K_{deg}}{K_{deg} + \frac{K_{inact} \cdot [I]}{K_i + [I]}} \right) + (1 - f_{m,CYP3A4})} \cdot \frac{1}{F_g + (1 - F_g) \left(\frac{K_{deg,G}}{K_{deg,G} + \frac{K_{inact,G} \cdot [I]_G}{K_{i,G} + [I]_G}} \right)} \quad (4)$$

2.3 参数的选择和估算 在 MBI 的预测模型中, [I] 以游离系统血浆抑制剂浓度代表, 以得到最佳的预

测准确度, 这与之前提到的可逆抑制预测模型中应用游离肝入口血浆抑制剂浓度不同^[27], 可能是可逆性抑制主要是药物首次经过肝及肠道清除时发挥作用。当药物经首过清除进入系统组织后, 可逆性抑制作用不再明显, 因此以 I_{inlet} 作为 $[I]$ 可得到最准确的预测。由于 MBI 或诱导作用是给药后需经过一定时间后才能发挥作用, 因此系统游离血浆药物浓度最接近酶活性位点的抑制剂浓度, 从而得到更准确的预测结果。

体外实验中准确地测定失活动力学参数 K_{inact} 和 K_I 对于正确预测体内 DDI 十分重要。目前推荐测定 K_{inact} 和 K_I 的方法是两步温孵测定^[28, 29], 即首先设定失活时间, 酶与至少 6 个浓度的抑制剂及共温孵因子孵育失活后, 再经 10 倍以上稀释, 加入 $4 \times K_m$ 的底物后进行第二步活性测定。以酶剩余活性的自然对数与失活时间做图, 估算 K_{inact} 和 K_I 值。另外通过比较不经失活温孵直接测定的 IC_{50} 值与经失活温孵后测定的 shifted IC_{50} 值, 如果 shifted IC_{50} 值减少 1.5 倍以上, 说明存在 MBI。Obach 等^[27]研究发现, shifted IC_{50} 与 K_{inact}/K_I 存在一定的相关性。Grime 等^[30]进一步发现通过该相关性可以简化 K_{inact} 和 K_I 的测定。该方法首先将得到的 shifted IC_{50} 与 K_{inact}/K_I 线性回归得到一条线性关系良好的回归曲线, 随后将通过体外实验得到的 shifted IC_{50} 代入曲线得到 K_{inact}/K_I 值, 通过设定 K_{inact} 为固定值, 从而计算出 K_I 值, 利用得到的 K_{inact} 和 K_I 准确预测了体内 DDI。

K_{deg} 与体内 P450 同工酶的半衰期有关, 由于该参数不能直接测定, 因此其估测值的不确定性将影响 DDI 预测的准确性。 K_{deg} 估算方法包括: ① 动物实验估算, 虽然可直接测定 K_{deg} 值, 但是动物的酶降解半衰期较人类短, 所以使用动物的 K_{deg} 将低估人体内 DDI; ② 绘制 P450 脱诱导 (即酶经药物诱导后活性恢复到基础值) 和口服给予特定失活剂后酶活性恢复的时间曲线估算 K_{deg} 值。例如给予葡萄柚汁后, 测定 CYP3A4 恢复活性的时间曲线, 估算肠道 CYP3A4 的 K_{deg} 为 0.000 481。给予维拉帕米诱导后, 测定脱诱导的时间曲线加上体外人原代肝细胞转归数据, 可估算肝脏 CYP3A4 的 K_{deg} 值为 0.000 321^[24]。

3 体外 CYP3A4 诱导与体内 DDI 预测

3.1 体外 CYP3A4 诱导实验 与抑制作用不同, 诱导通常不易引起用药安全问题, 但可降低药物的疗效, 甚至导致治疗失败。以往研究指出, CYP3A4 的诱导机制涉及转录因子激活、基因转录、蛋白合成等

多个步骤, 且需长时间多次给药才能观察到诱导作用。已知众多药物如利福平、苯妥英、贯叶金丝桃素、克霉素等均可通过激活转录因子 PXR 诱导 CYP3A4 的表达。此外, 对人 CYP3A4 有诱导作用的药物通常也是其他种属的 CYP3A 诱导剂, 但诱导强度有所不同^[31]。如利福平是人 PXR 的强诱导剂, 但对于大鼠和小鼠只显示较弱的诱导活性, 使得非人源模型不能用于评估药物对人 CYP3A4 的诱导活性^[32]。

3.2 CYP3A4 体外诱导模型 目前主要应用人源体外模型进行诱导实验, 包括原代培养人肝细胞^[33]、转录报告基因的永生细胞系^[34]和永生人肝细胞^[2], 上述不同模型各有利弊。人原代培养肝细胞诱导被认为是体外诱导研究的“金标准”, 但是原代培养肝细胞的来源紧缺且存在明显的个体间差异^[35]。利用 HepG2 报告基因诱导模型可成功地归类和分级 CYP3A4 的诱导剂^[36], 该体系具有较宽的动力学范围, 并可较好地鉴别出激活 PXR 的化合物, 可用于高通量筛选。但应注意肿瘤细胞可能缺少完全转录所需的共调节因子, 报告基因测定值也不能完全代表自然状态下的基因表达和酶活性。虽然应用永生人肝细胞 Fa2N-4 可以克服以上问题^[2], 但由于 Fa2N-4 细胞缺少 CAR 活性, 低表达或不表达肝脏摄取蛋白, 对于筛选需要 PXR 和 CAR 协同作用的诱导剂时会产生假阴性结果^[37]。

3.3 定量预测诱导 CYP3A4 引起的 DDI Ripp 等^[2]研究了 18 个阳性和 8 个阴性诱导药物在 Fa2N-4 细胞的体外诱导作用, 得到两个参数 E_{max} 和 EC_{50} , 加上体内诱导剂的游离血浆药物浓度 $C_{eff, free}$ 构建了相对诱导分数 (RIS) 等式 (5)。其中 E_{max} 是最大诱导倍数, EC_{50} 是达到最大诱导倍数一半时的诱导剂浓度。

$$RIS = \frac{C_{eff, free} \cdot E_{max}}{C_{eff, free} + EC_{50}} \quad (5)$$

将得到的 RIS 值与 AUC 下降分数进行相关性分析, 二者符合 Hill 方程, 相关系数可达 0.92 以上。作者也尝试将 C_{max} 作为浓度值代入等式中, 但得到的 RIS 与 AUC 下降分数相关性较差。在相同实验条件下也可绘制一条简化的标准曲线, 以罗格列酮和尼非地平作为低标点, 吡格列酮和阿伐麦布作为中标点, 利福平作为高标点。将测定的 E_{max} 和 EC_{50} 值代入等式中得到 RIS 值, 将该值代入标线中预测新药可能引起的 DDI。Fahmi 等^[37]应用人肝细胞同样以 RIS 的方法预测了 10 种诱导药物引起的体内 DDI, 和 Ripp 等得到的结果类似。考虑到人原代培养肝细胞

存在较大的个体间差异,实验需在同一批次肝细胞中进行。

与抑制作用的预测模型类似,Shou 等^[38]构建了等式 (6) 定量预测 CYP3A4 诱导引起的 DDI。

$$\frac{AUC_i}{AUC} = \frac{1}{f_{m,CYP3A4} \cdot \left(1 + \frac{E_{max} \cdot [f_{u,p} \cdot Ind]^n}{([EC_{50} \cdot f_{u,hept}]^n + [f_{u,p} \cdot Ind]^n)} \right) + (1 - f_{m,CYP3A4})} \quad (6)$$

其中[Ind]为诱导剂体内药物浓度, $f_{u,hept}$ 为药物在体外肝细胞中的游离分数, $f_{u,p}$ 为体内血浆游离分数, n 为希尔系数。应用两个不同来源的人肝细胞进行实验,当考虑 $f_{u,hept}$ 和 $f_{u,p}$ 时可得到最佳的预测结果 ($R^2 = 0.624$ 和 0.578),但该模型未考虑肠道 CYP3A4 对药物首过代谢的影响。与抑制作用的预测模型一样,正确代入酶活性位点的诱导药物浓度对准确预测体内 DDI 十分重要。通过被动扩散进入肝细胞的药物,可以游离的系统血浆药物浓度 ($[f_{u,p} \cdot Ind]$) 替代肝细胞内的诱导剂药物浓度。但当摄取或外排转运体参与药物的转运时,转运体被诱导剂或是受影响药物抑制以及诱导剂被大量代谢时就不能用游离血浆药物浓度来替代肝细胞内的药物浓度。

3.4 预测中需要注意的问题 在 DDI 预测过程中除应注意上述模型存在的各自优点和局限性,还应注意以下相关问题:① 在体外估算 E_{max} 和 EC_{50} 实验中,由于某些药物溶解度的限制,不能绘制完整的剂量反应曲线,此时可用曲线中线性部分的斜率代入等式 (7), $slop = E_{max}/EC_{50}$ (当 $EC_{50} \gg [Ind]^n$)。② 对于那些除具有诱导作用也表现为竞争性抑制的药物,如果 K_i 值远高于体内药物浓度,单纯的诱导预测模型仍然可用。③ 如果诱导剂的代谢产物也具有诱导作用,并且产物浓度较高,在预测时应一并考虑产物的作用。④ 在使用原代培养人肝细胞作为诱导模型时,由于存在较大的个体间差异,因此应用 RIS 方法预测 DDI 时应该用同一批次肝细胞。⑤ 以测定的 mRNA 或酶活性作为诱导指标时,二者往往具有不一致性。如 Shou 等^[38]的研究中以 mRNA 为指标测定 E_{max} 时高估了体内 DDI,而以酶活性为指标测定的 E_{max} 预测的 DDI 较为准确。⑥ 体内和体外的诱导倍数存在一定的差异,可用系数进行校正。⑦ 应充分考虑由于诱导剂代谢、肠道首过效应以及各参数如 f_u 、 f_m 等对 DDI 预测准确性的影响^[39]。

4 涉及多种机制 (可逆抑制、不可逆抑制、诱导) 的联合预测模型

以上提到的各种模型均是涉及单一机制的 DDI 预测,而有些药物如利托那韦涉及多种作用机制,只考虑一种机制显然不能得到准确的预测结果。为此,Fahmi 等^[40]构建了一个综合以上 3 种单一机制的复杂数学模型。该模型可同时考虑竞争性抑制、不可逆抑制以及诱导作用对于肠道和肝脏 CYP3A4 的影响,预测 3 种作用机制共同作用后的 DDI。该模型既能准确预测单一机制引起的 DDI,对混合机制引起的 DDI 也能获得准确的预测结果,值得注意的是应用总的血浆药物浓度和不考虑肠代谢影响时,该模型可得到最大的预测准确性和最小的预测偏差。在另一实验中,Fahmi 等^[41]预测了 30 个药物的体内 DDI,包括 13 个可逆性抑制剂,12 个时间依赖性抑制剂,1 个药物表现为诱导作用,而其中 5 个药物涉及 3 种作用机制,应用联合模型可准确预测各药物的体内 DDI。

5 基于生理药动学 (PBPK) 的预测模型

以上提到的预测模型中,[I]应用的是游离肝入口血浆药物浓度、平均或最大总/游离血浆药物浓度等。然而,在生理状态下抑制剂或诱导剂浓度是随时间不断变化的。此外,CYP3A4 的个体表达差异、人种、疾病以及性别等生理病理因素均可影响体内 DDI。因此,出现了基于复杂 PBPK 模型的 DDI 预测。该类模型考虑到药物浓度的实时变化、酶的基因多态性和人口统计学等信息,可使 DDI 预测更加科学准确。

Grime 等^[30]利用体外 MBI 数据构建了“Unbound systemic exposure DDI prediction”模型,通过录入 V_{ss} 、 CL 、 K_a 以及血浆蛋白结合 (ppb) 等参数预测抑制剂浓度随时间的变化,准确地预测了几种临床 MBI 药物的 DDI。Zhang 等^[42]开发了一个半-PBPK 模型,用于机制性失活剂地尔硫草及其代谢产物 *N*-去甲基地尔硫草 (nd-DTZ) 介导的咪达唑仑 DDI^[43] 预测。Fenneteau 等^[44]将体外 ADM 数据整合到 Whole Body-PBPK 模型中,同时考虑肝及肠壁内抑制剂浓度的动力学变化。该 PBPK 模型将人体分为 14 个房室,包括脂肪、骨、脑、肠道、心、肾、肺、肌肉、皮肤、脾和胃,彼此以动静脉血管相连,所有组织和器官都被认为是“充分搅拌”系统,药物在其中达到平衡。该模型可成功预测可逆性抑制和机制性失活两类药物引起的体内 DDI,同时可预测药物的药代动力学参数。

基于 PBPK 模型的 Simcyp 软件可用于预测群体 DDI^[7, 45], 由于其功能强大已被各大制药公司和药物研发机构使用。Simcyp 通过整合 CYP 表达水平的差异、基因多态性、肠首过代谢、药物肝摄取和人口统计学等信息, 可对目标人群的药动学 DDI 进行预测。Simcyp 还可以自动捕获被抑制的平行代谢途径, 这对于存在多态性的 P450 同工酶十分重要。如在 EM 人群中奥美拉唑主要经 2C19 代谢, 而在 PM 人群中 CYP3A4 对其代谢发挥重要作用, 因此在该类人群中酮康唑引起更为显著的 DDI^[46]。另外, 正确估算肝摄取^[47]对 DDI 的准确预测很重要, Simcyp 软件也提供了该参数的参考值。

6 结语

在新药研发的早期阶段应用体外 CYP3A4 代谢数据定量预测体内 DDI 可较好评价候选化合物的开发风险, 研究结构-活性关系以避免 DDI 的发生。在研发后期则可为设计临床试验提供参考。目前应用体外数据预测体内 DDI 已经取得了一定的成功, 但仍有许多难题需要解决, 如代入模型的体外参数的准确性, 是否考虑肠道代谢, 生成的代谢产物对酶同样具有活性的 DDI 预测以及拥有不同代谢能力和药代特征的异构体的 DDI 预测等。虽然 PBPK 为基础的 DDI 模型整合了多种生理病理因素的影响, 但是该模型仍需不断完善。在方法学方面, 对于体外模型参数的测定应更加自动化以适应药物高通量筛选的需要。总之, 随着分子生物学、生物信息学、分析检测技术以及计算机技术的不断进步, 将会出现更加准确、科学、实用的预测模型, 更好地应用于新药研发中 DDI 的定量预测。

References

- [1] Guengerich FP. Cytochromes P450, drugs, and diseases [J]. Mol Interv, 2003, 3: 194-204.
- [2] Ripp SL, Mills JB, Fahmi OA, et al. Use of immortalized human hepatocytes to predict the magnitude of clinical drug-drug interactions caused by CYP3A4 induction [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34: 1742-1748.
- [3] Fowler S, Zhang H. *In vitro* evaluation of reversible and irreversible cytochrome P450 inhibition: current status on methodologies and their utility for predicting drug-drug interactions [J]. AAPS J, 2008, 10: 410-424.
- [4] Obach RS, Walsky RL, Venkatakrishnan K, et al. The utility of *in vitro* cytochrome P450 inhibition data in the prediction of drug-drug interactions [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 316: 336-348.
- [5] Ohno Y, Hisaka A, Ueno M, et al. General framework for the prediction of oral drug interactions caused by CYP3A4 induction from *in vivo* information [J]. Clin Pharmacokinet, 2008, 47: 669-680.
- [6] Brown HS, Ito K, Galetin A, et al. Prediction of *in vivo* drug-drug interactions from *in vitro* data: impact of incorporating parallel pathways of drug elimination and inhibitor absorption rate constant [J]. Br J Clin Pharmacol, 2005, 60: 508-518.
- [7] Einolf HJ. Comparison of different approaches to predict metabolic drug-drug interactions [J]. Xenobiotica, 2007, 37: 1257-1294.
- [8] Gibbs JP, Hyland R, Youdim K. Minimizing polymorphic metabolism in drug discovery: evaluation of the utility of *in vitro* methods for predicting pharmacokinetic consequences associated with CYP2D6 metabolism [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34: 1516-1522.
- [9] Rodrigues AD. Integrated cytochrome P450 reaction phenotyping: attempting to bridge the gap between cDNA-expressed cytochromes P450 and native human liver microsomes [J]. Biochem Pharmacol, 1999, 57: 465-480.
- [10] Venkatakrishnan K, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Human drug metabolism and the cytochromes P450: application and relevance of *in vitro* models [J]. J Clin Pharmacol, 2001, 41: 1149-1179.
- [11] Galetin A, Gertz M, Houston JB. Potential role of intestinal first-pass metabolism in the prediction of drug-drug interactions [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008, 4: 909-922.
- [12] Tsunoda SM, Velez RL, von Moltke LL, et al. Differentiation of intestinal and hepatic cytochrome P450 3A activity with use of midazolam as an *in vivo* probe: effect of ketoconazole [J]. Clin Pharmacol Ther, 1999, 66: 461-471.
- [13] Gorski JC, Jones DR, Haehner-Daniels BD, et al. The contribution of intestinal and hepatic CYP3A to the interaction between midazolam and clarithromycin [J]. Clin Pharmacol Ther, 1998, 64: 133-143.
- [14] Floren LC, Bekersky I, Benet LZ, et al. Tacrolimus oral bioavailability doubles with coadministration of ketoconazole [J]. Clin Pharmacol Ther, 1997, 62: 41-49.
- [15] Wang YH, Jones DR, Hall SD. Prediction of cytochrome P450 3A inhibition by verapamil enantiomers and their metabolites [J]. Drug Metab Dispos, 2004, 32: 259-266.
- [16] Brown HS, Galetin A, Hallifax D, et al. Prediction of *in vivo* drug-drug interactions from *in vitro* data: factors affecting

- prototypic drug-drug interactions involving CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 [J]. Clin Pharmacokinet, 2006, 45: 1035–1050.
- [17] Galetin A, Hinton LK, Burt H, et al. Maximal inhibition of intestinal first-pass metabolism as a pragmatic indicator of intestinal contribution to the drug-drug interactions for CYP3A4 cleared drugs [J]. Curr Drug Metab, 2007, 8: 685–693.
- [18] Kato M, Chiba K, Hisaka A, et al. The intestinal first-pass metabolism of substrates of CYP3A4 and P-glycoprotein-quantitative analysis based on information from the literature [J]. Drug Metab Pharmacokinet, 2003, 18: 365–372.
- [19] Yang J, Jamei M, Yeo KR, et al. Prediction of intestinal first-pass drug metabolism [J]. Curr Drug Metab, 2007, 8: 676–684.
- [20] Lu C, Hatsis P, Berg C, et al. Prediction of pharmacokinetic drug-drug interactions using human hepatocyte suspension in plasma and cytochrome P450 phenotypic data. II. *In vitro-in vivo* correlation with ketoconazole [J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36: 1255–1260.
- [21] Lu C, Berg C, Prakash SR, et al. Prediction of pharmacokinetic drug-drug interactions using human hepatocyte suspension in plasma and cytochrome P450 phenotypic data. III. *In vitro-in vivo* correlation with fluconazole [J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36: 1261–1266.
- [22] Lu C, Miwa GT, Prakash SR, et al. A novel model for the prediction of drug-drug interactions in humans based on *in vitro* cytochrome p450 phenotypic data [J]. Drug Metab Dispos, 2007, 35: 79–85.
- [23] Kalgutkar AS, Obach RS, Maurer TS. Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 enzymes: chemical mechanisms, structure-activity relationships and relationship to clinical drug-drug interactions and idiosyncratic adverse drug reactions [J]. Curr Drug Metab, 2007, 8: 407–447.
- [24] Venkatakrishnan K, Obach RS. Drug-drug interactions via mechanism-based cytochrome P450 inactivation: points to consider for risk assessment from *in vitro* data and clinical pharmacologic evaluation [J]. Curr Drug Metab, 2007, 8: 449–462.
- [25] Hollenberg PF, Kent UM, Bumpus NN. Mechanism-based inactivation of human cytochromes p450s: experimental characterization, reactive intermediates, and clinical implications [J]. Chem Res Toxicol, 2008, 21: 189–205.
- [26] Mayhew BS, Jones DR, Hall SD. An *in vitro* model for predicting *in vivo* inhibition of cytochrome P450 3A4 by metabolic intermediate complex formation [J]. Drug Metab Dispos, 2000, 28: 1031–1037.
- [27] Obach RS, Walsky RL, Venkatakrishnan K. Mechanism-based inactivation of human cytochrome p450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions [J]. Drug Metab Dispos, 2007, 35: 246–255.
- [28] Ghanbari F, Rowland-Yeo K, Bloomer JC, et al. A critical evaluation of the experimental design of studies of mechanism based enzyme inhibition, with implications for *in vitro-in vivo* extrapolation [J]. Curr Drug Metab, 2006, 7: 315–334.
- [29] Grimm SW, Einolf HJ, Hall SD, et al. The conduct of *in vitro* studies to address time-dependent inhibition of drug-metabolizing enzymes: a perspective of the pharmaceutical research and manufacturers of America [J]. Drug Metab Dispos, 2009, 37: 1355–1370.
- [30] Grime KH, Bird J, Ferguson D, et al. Mechanism-based inhibition of cytochrome P450 enzymes: an evaluation of early decision making *in vitro* approaches and drug-drug interaction prediction methods [J]. Eur J Pharm Sci, 2009, 36: 175–191.
- [31] Moore JT, Kliewer SA. Use of the nuclear receptor PXR to predict drug interactions [J]. Toxicology, 2000, 16: 153: 1–10.
- [32] Vignati LA, Bogni A, Grossi P, et al. A human and mouse pregnane X receptor reporter gene assay in combination with cytotoxicity measurements as a tool to evaluate species-specific CYP3A induction [J]. Toxicology, 2004, 199: 23–33.
- [33] Hewitt NJ, Lechon MJ, Houston JB, et al. Primary hepatocytes: current understanding of the regulation of metabolic enzymes and transporter proteins, and pharmaceutical practice for the use of hepatocytes in metabolism, enzyme induction, transporter, clearance, and hepatotoxicity studies [J]. Drug Metab Rev, 2007, 39: 159–234.
- [34] Goodwin B, Hodgson E, Liddle C. The orphan human pregnane X receptor mediates the transcriptional activation of CYP3A4 by rifampicin through a distal enhancer module [J]. Mol Pharmacol, 1999, 56: 1329–1339.
- [35] Madan A, Graham RA, Carroll KM, et al. Effects of prototypical microsomal enzyme inducers on cytochrome P450 expression in cultured human hepatocytes [J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31: 421–431.
- [36] Sinz M, Kim S, Zhu Z, et al. Evaluation of 170 xenobiotics as transactivators of human pregnane X receptor (hPXR) and correlation to known CYP3A4 drug interactions [J]. Curr Drug Metab, 2006, 7: 375–388.
- [37] Fahmi OA, Boldt S, Kish M, et al. Prediction of drug-drug interactions from *in vitro* induction data: application of the relative induction score approach using cryopreserved human

- hepatocytes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 1971-1974.
- [38] Shou M, Hayashi M, Pan Y, et al. Modeling, prediction, and *in vitro in vivo* correlation of CYP3A4 induction [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 2355-2370.
- [39] Almond LM, Yang J, Jamei M, et al. Towards a quantitative framework for the prediction of DDIs arising from cytochrome P450 induction [J]. *Curr Drug Metab*, 2009, 10: 420-432.
- [40] Fahmi OA, Maurer TS, Kish M, et al. A combined model for predicting CYP3A4 clinical net drug-drug interaction based on CYP3A4 inhibition, inactivation, and induction determined *in vitro* [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 1698-1708.
- [41] Fahmi OA, Hurst S, Plowchalk D, et al. Comparison of different algorithms for predicting clinical drug-drug interactions, based on the use of CYP3A4 *in vitro* data: predictions of compounds as precipitants of interaction [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 1658-1666.
- [42] Zhang X, Quinney SK, Gorski JC, et al. Semiphenologically based pharmacokinetic models for the inhibition of midazolam clearance by diltiazem and its major metabolite [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 1587-1597.
- [43] Zhao P. The use of hepatocytes in evaluating time-dependent inactivation of P450 *in vivo* [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4: 151-164.
- [44] Fenneteau F, Poulin P, Nekka F. Physiologically based predictions of the impact of inhibition of intestinal and hepatic metabolism on human pharmacokinetics of CYP3A substrates [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 99: 486-514.
- [45] Xu L, Chen Y, Pan Y, et al. Prediction of human drug and drug interactions from time-dependent inactivation of CYP3A4 in primary hepatocytes using a population-based simulator [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 2330-2339.
- [46] Bottiger Y, Tybring G, Gotharson E, et al. Inhibition of the sulfoxidation of omeprazole by ketoconazole in poor and extensive metabolizers of *S*-mephenytoin [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1997, 62: 384-391.
- [47] Hallifax D, Houston JB. Saturable uptake of lipophilic amine drugs into isolated hepatocytes: mechanisms and consequences for quantitative clearance prediction [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 1325-1332.

欢迎订阅 2011 年《药学报》

《药学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目:述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来,一直报道药学领域原始性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学报》为我国自然科学核心期刊,据中国科学引文数据库的统计数据,在中国科技核心期刊排行榜中,《药学报》名列前茅,在药学类期刊中居首位;本刊已被世界主要检索系统收录,为我国药学界高水平的学术刊物,在国际上享有一定知名度。本刊 1999 年荣获首届“国家期刊奖”,2001 年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊;2002 年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”,并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖;2002~2008 年连续 7 届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号;2008、2009 年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助(B 类)。

本刊为 128 页,月刊,大 16 开本。每期定价 40 元,全年定价 480 元。国内邮发代码:2-233,国外代码:M105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

- 通过当地邮局;
 - 通过 E-mail (yxxb@imm.ac.cn) 或从网上 (www.yxxb.com.cn) 下载订阅单,填好后寄至编辑部;
 - 通过本刊编辑部,联系人:李淑芬、张晓晔
- 电话:86-10-63165208, 传真:86-10-63026192
编辑部地址:北京市先农坛街 1 号《药学报》编辑部
邮编:100050