

创新药物转化研究中 ADME 的评价

刘 瑶¹, 洪 岚¹, 余露山¹, 蒋惠娣¹, 陈建忠¹, 孟 琴², 陈枢青¹, 曾 苏^{1*}

(浙江大学 1. 药学院, 2. 化学工程与生物工程学系, 浙江 杭州 310058)

摘要: 新药研发是一复杂的庞大系统工程, 所涉及的学科门类众多, 研究周期长。而转化研究有助于构建创新药物的基础研究、临床前研究和临床疗效评价直至新药制造和临床应用的系统研发链, 顺畅基础医学和生物学与创新药物研发、临床医学之间的信息和研究关联, 缩短创新药物从实验室到临床应用的研发周期。在新药研发和临床应用过程中, 化合物的体内过程 (吸收、分布、代谢、排泄, ADME) 是其成药性的重要指标。化合物 ADME/T 性质在创新药物转化研究中发挥重要作用并贯穿研发过程。因此, 在药物设计及新药开发早期就开展药物代谢研究, 有利于提高新药研发的成功率, 降低新药开发的成本, 获得安全、有效的治疗药物。

关键词: 转化研究; 新药研发; 成药性; 药物处置

中图分类号: R-05

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 01-0019-11

The role of ADME evaluation in translation research of innovative drug

LIU Yao¹, HONG Lan¹, YU Lu-shan¹, JIANG Hui-di¹, CHEN Jian-zhong¹, MENG Qin²,
CHEN Shu-qing¹, ZENG Su^{1*}

(1. College of Pharmaceutical Sciences; 2. Department of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: New Chemical Entities (NCEs) development is a systematic long-term project that involves multiple disciplines. The translation research will help to build an advanced R&D system from the basic laboratory research, preclinical studies and clinical evaluation to clinical application of drug, for the purpose of shortening the R&D cycle and accelerate the launch of new drugs. In new drug R&D and its clinical application, drug disposition (absorption, distribution, metabolism, excretion, ADME) properties are important criteria for assessing drug-likeness of candidates. ADME evaluation of NCEs plays an important role in the translation research throughout innovative drug R&D process. Therefore, ADME evaluation at the early stage of drug design and development will be helpful to improve the success rate and reduce costs, and further access to safe, effective drugs.

Key words: translation research; new drug research and development; drug-likeness; drug disposition

2004 年美国 FDA 针对生物学和医学知识呈指数增长、新药研发投入不断加大, 但近年来新药问世却呈现减少的趋势, 发表了题为 “Innovation/stagnation: challenge and opportunity on the critical path to new medical products” 的报告, 提出了 “关键路径行动计划” (the critical path initiative, CPI), 这是美国 FDA 提出的新药、生物制品和医疗器械研发、评价、

生产和使用整个过程转化研究 (translation research) 的国家策略, 以缩小大量生物医学和技术的发现与新药成功率之间的鸿沟^[1]。

新药研发是一项复杂的庞大系统工程, 所涉及的学科门类众多。而转化研究有助于构建创新药物的基础研究、临床前研究和临床疗效评价直至新药制造和临床应用的系统研发链, 顺畅基础医学和生物学与创新药物研发、临床医学之间的双向信息和研究关联, 缩短创新药物从实验室到临床应用的研发周期, 对于提高新药研发效率十分重要。苏格兰卫生

收稿日期: 2010-09-10.

基金项目: 国家 “重大新药创制” 科技重大专项 (2009ZX09304-003).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-571-88208408, E-mail: zengsu@zju.edu.cn

部与惠氏制药公司合作,共同启动世界上第一个转化医学合作研究中心。罗氏公司在新加坡设立转化医学研发中心。阿斯利康公司建立阿斯利康中国创新中心,并开展精神疾病基因及药物研发领域的转化医学研究。

在新药研发和临床应用过程中,化合物的体内过程——吸收、分布、代谢和排泄 (absorption, distribution, metabolism, excretion, ADME) 是其成药性的重要指标^[2-4]。在药物设计及新药开发早期就开展药物代谢研究,有利于提高新药研发的成功率,降低新药开发的成本,有助于获得安全、有效的治疗药物。根据美国和欧洲十大制药公司的统计数据,1991 年由于药物代谢及其动力学性质被淘汰的研发药物近 40%,而到了 2000 年下降至不到 10%^[5]。因此,化合物 ADME/T 性质在创新药物转化研究中发挥重要作用并贯穿了研发过程 (图 1)^[4]。随着科学技术的突飞猛进,在经典药物代谢研究模型基础上,发展了一大批基于细胞分子生物学、系统生物学和高灵敏度分析检测技术等研究模型和方法。

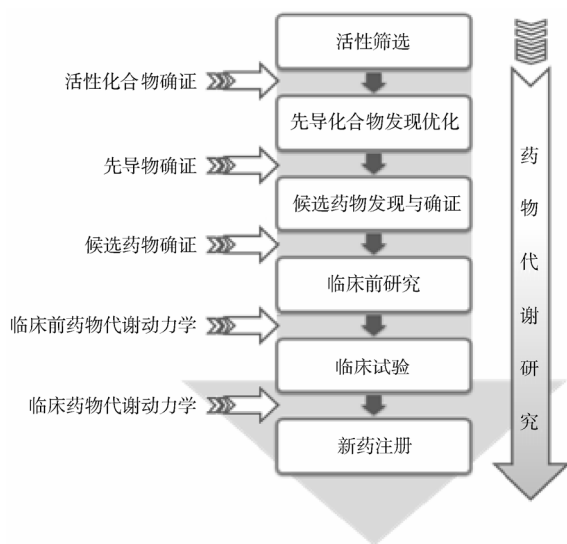


图 1 药物代谢研究贯穿新药研究过程

1 药物代谢在新药设计和虚拟筛选中的作用

许多在体外试验显示高活性的化合物由于其不良的药物代谢特性而在体内无效或由于代谢物产生毒性而失去开发价值,因此,药物代谢研究在新药设计和研发中发挥重要作用。合理的药物设计应考虑到药物代谢途径及相关的药物代谢酶 (drug metabolizing enzymes, DMEs),发现先导化合物的代谢弱点,对其结构进行改造,降低毒性或增加代谢稳定性,防止药物失活,增加药效,提高药物的安全性。例如,针对先

导化合物代谢过快或生成毒性代谢物的特性,可对其进行结构改造使新药候选物按照预定的代谢途径失活或不代谢而由原形排出体外,以获得安全稳定的候选物,使之更具开发价值;合成有效代谢物或模拟有效代谢物的结构以获得新的候选物;根据候选药物的吸收代谢特性设计合理的药物剂型及其处方^[6-8]。郭宗儒先生^[9]认为:先导物的优化是对分子的理化性质、药代和药效的综合修饰,过分地强调药效强度和选择性,追求高活性,而忽略理化和药代性质,会导致药物的效力低下,这往往也是体外有活性而体内无效的原因。

1.1 药物代谢酶和转运体在新药设计和虚拟筛选中的作用 合理药物设计已成为现代药物研究与开发的一个重要方法和工具。将计算机辅助药物设计、生物信息学、化学信息学等加入新药研究的循环,通过采用分子对接、构效关系、分子类药性、虚拟筛选化合物数据库、药物代谢和毒性预测等方法进行计算机辅助药物设计,提供可合成的、成药概率高的化合物。计算机辅助药物设计和虚拟筛选通常可分为两种方式:基于蛋白受体结构的方法和基于已知活性配体 (ligand) 化学信息的方法。

随着 P-gp^[10]、I 相代谢酶 CYP3A4^[11]、CYP2C9^[12] 和 II 相代谢酶 UGT2B7C 末端区域^[13]三维晶体结构的确定,越来越多地运用分子对接方法开展基于受体三维晶体结构^[14]或同源蛋白结构模型^[15]的药物设计和虚拟筛选,搜寻它们的底物或抑制剂。例如基于 CYP2C9 的三维晶体结构,运用分子对接方法在化合物数据库中虚拟筛选得到化学结构全新的 P450 活化剂。新结构活化剂的发现,将有助于研究 P450 代谢的活化并进一步研究 P450 代谢药物催化的关键步骤。分子对接方法还成功地运用于预测抗炎药物 COX-2 抑制剂 celecoxib 及其类似物的 CYP2C9 的代谢活性^[16]。

基于转运蛋白和代谢酶的三维结构,运用分子对接方法,分子动力学模拟和量子化学从头计算,可开展药物先导物的吸收分布和血脑屏障通透性预测、药物先导物的药物代谢机制和药物代谢预测等研究^[17, 18]。比较一般的分子对接方法,分子动力学无疑将更好地模拟底物与蛋白的结合,研究蛋白的活性位点和氨基酸组成,以及底物的活性结合构象,更准确地探索底物与蛋白之间的相互作用模式。例如分子对接和分子动力学运用于模拟选择性抑制剂白杨素分别与 CYP1A2 和 2C9 的结合模式^[19],计算结果表明白杨素与 CPY1A2 之间存在着氢键和 π - π 等较强的

分子间相互作用,而相对较大的 CYP2C9 活性口袋使得白杨素与 CYP2C9 的结合自由能较 CPY1A2 弱 $2.70 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$,从分子水平上解释白杨素选择性抑制 CYP1A2 的原因,也为进一步设计活性更好的 CYP1A2 抑制剂提供了必要的理论依据。另外,分子动力学模拟已知的 82 个抑制剂与 CYP2D6 相互作用的研究结果也表明计算模型具有很好的对化合物结合活性预测能力^[20]。由于位于肝脏的 CYP2D6 能代谢 20%~25% 的药物^[21],这类分子动力学模拟研究对于药物先导物和候选物的血清半衰期预测将有重要的现实意义。

量子化学从头计算是目前研究细胞色素代谢催化机制的主要方法之一。由于药物分子的代谢途径将对其毒性有直接影响^[22],因此通过量子化学从头计算药物分子以及代谢反应过渡态电子结构和能量位垒,研究药物分子经细胞色素 P450 氧化代谢的反应途径和区域选择性,从而预测药物分子的稳定性和毒性。近年来,多篇综述文章^[9, 23, 24]阐述了量子化学从头计算运用于药物代谢途径的研究方法和研究实例。

另一方面,基于小分子的计算机辅助药物设计和虚拟筛选也得到了广泛的运用,并通过已知生物活性的有机小分子化学结构特征来实现。运用分子结构相似性(包括药效团如疏水基团、亲水基团和氢键给受体等或化合物三维结构表面形态)比较搜寻化合物数据库,根据药效团模型匹配或表面形态匹配,并通过定量构效关系(Quantum Structure-Activity Relationship, QSAR)预测活性等计算机辅助虚拟筛选有机小分子进行生物活性测试。药效团模型是开展基于小分子虚拟筛选的重要手段,因此在药物发现的早期研究阶段,包括针对药物转运蛋白^[25, 26]和 I 相代谢酶 P450^[27, 28]等与 ADME/T 相关的靶标蛋白,得到了十分广泛的运用。并基于所建立的药效团模型,通过虚拟筛选化合物数据库分别寻找潜在的药物转运蛋白 P-gp^[29]或 P450 的抑制剂^[30]。分子相似性比较还包括分子 2D 或 3D 描述符,如分子指纹(finger printer),分子形态(shape)等分子信息学参数。随着分子结构信息学技术的日益完善,运用分子信息学参数进行分子相似性比较在药物设计中也越来越受到重视,并运用于确定细胞色素 P450 的活性底物^[31]。

发现结构新颖的活性化合物是新药研发的基础,但是活性化合物并非新药候选物,活性化合物的成药性将是新药研发的关键,因此活性化合物的 ADME/T 研究则成为新药研发的必须。研究表明化合

物的 ADME/T 性质与化合物的物理化学性质有很大的相关性。对活性化合物的 ADME/T 研究的同时,对活性或非活性系列化合物进行物理化学性质的实验表征,建立药代动力学参数、生物利用度、血脑屏障通透性和毒性与化合物理化性质,如分子量,油水分配系数 $\log P$, pK_a , 分子氢键给受体数,分子表面积,分子体积和分子偶极矩等等的二维定量构效关系(2D-QSAR)模型^[32]。2D-QSAR 模型有助于根据小分子的理化性质预测其在体内的 ADME/T 性质,并通过结构修饰改变小分子的理化性质,以提高改善其在体内的 ADME/T。例如基于分子量、 $\log P$ 、正离子化和负离子化等四个分子理化性质所建立的 QSAR 模型表明,分子量大于 400 和 $\log P$ 高于 4 的中性或碱性分子将比酸性或两性离子化合物更容易被蛋白 ABCB1 转运^[33]。而 3D-QSAR 是研究小分子结合于受体蛋白的结合率与基于其三维结构的分子静电空间分布和分子疏水性空间分布的相关性。分析所建立的 3D-QSAR 模型,可以理解化合物结合于细胞色素 P450^[34]或药物转运体 P-gp^[35]起重要作用的分子结构特征。例如, Korhonen 等^[36]根据 41 个已知的 CYP2B6 抑制剂,通过比较力场分析(CoMFA)建立的 3D-QSAR 模型,揭示了影响化合物抑制 CYP2B6 活性的关键分子静电和疏水结构特征。同时,依据所建立的 3D-QSAR 模型确定了 3 个新型的、具有选择性的 CYP2B6 抑制剂。CoMFA 方法同样运用于建立针对转运蛋白调节剂的 3D-QSAR 模型。例如 Pick 等^[37]基于第 3 代 P-gp 调节剂 tariquidar 及其类似物建立 3D-QSAR 模型研究影响化合物与转运蛋白相结合的关键分子结构特征,并运用所建立的 3D-QSAR 模型确定选择性的 P-gp 抑制剂。结合 2D 和 3D-QSAR 模型,将有助于指导药物先导物的结构改造,以优化活性化合物 ADME/T 性质,探索活性化合物成药的途径^[38]。

近年来,随着动物和人体中转运蛋白分子鉴定的长足进展,人们发现转运蛋白对药物的分布、排泄甚至是代谢,起着至关重要的作用。这些种类多样的蛋白广泛分布在人体的肠道、肾脏、肝脏和脑毛细血管内皮细胞,成为许多药物体内代谢动力学的重要影响因素,甚至有学者将转运蛋白对药物的作用,称为药物的第三相代谢。目前转运蛋白主要分为两类:ATP 依赖型(ATP-binding cassettes, ABC)转运蛋白超家族(分子质量 150~200 kDa)和溶质载体(solute carrier, SLC)超家族(分子质量多为 50~100 kDa)。

应用设计特定转运体的底物可以改进药物吸收, 提高生物利用度。例如, 加巴喷丁 (Neurontin®) 的血液 (和大脑) 药物水平与口服剂量不成正比, 血液中 $C_{\max}$ 有限, 患者口服吸收存在高度变异性, 半衰期短 (5~7 h), 一天需要服用 3 或 4 次。加巴喷丁是定位于小肠低转运能力的氨基酸转运体底物。XP13512 是加巴喷丁的转运前体药 (transported prodrug), 它与 CYP450 或 P-gp 不发生相互作用^[39, 40]。体外转运实验表明, XP13512 是两种在全肠道表达的转运体的底物: 一种是单羧酸转运体 (MCT-1), 底物包括乳酸、丙酮酸、短链脂肪酸和某些单羧酸药物, 具有高转运能力; 另一种是钠依赖多维生素转运体 (SMVT), 底物包括生物素、硫辛酸和泛酸, 转运能力可能不如 MCT-1。XP13512 在肠、肝和血被非特异性酯酶裂解生成加巴喷丁 (图 2)。XP13512 在宽剂量范围内与加巴喷丁生物利用度 (≥ 70) 成正比。猴子口服 XP13497 (相当于 $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $n = 4$), 与服用加巴喷丁比较, 血浆中加巴喷丁 $C_{\max}$ 增加 5 倍, AUC 增加 3 倍^[39, 40]。

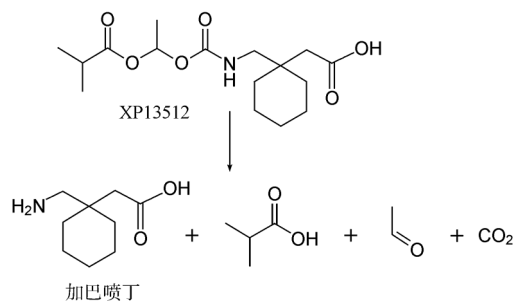


图 2 XP13512 的体内代谢

1.2 代谢产物研究在新药发现和药物设计中的作用

通过研究药物在体内外的代谢产物, 既能设计生物转化激活的前体药物, 又可以发现一些活性代谢物比母体药物更安全有效或再经过结构修饰发现新药, 这已成为新药发现和药物设计的一种重要来源^[41]。

世界上第一个有效的磺胺类抗急性细菌感染药物百浪多息 (Prontosil) 在体内还原代谢后生成的代

谢物见图 3。

1887 年问世的解热镇痛药非那西丁 (phenacetin) 由于可引起高铁血红蛋白血症 (methemoglobinemia)、肾脏损害 (nephrotoxic) 等不良反应而被许多国家禁用。1948 年发现其在肝内迅速脱去乙基生成的氧化代谢物扑热息痛 (图 4) 毒性较非那西丁小而解热作用强, 1955 年美国将此药列为非处方药。

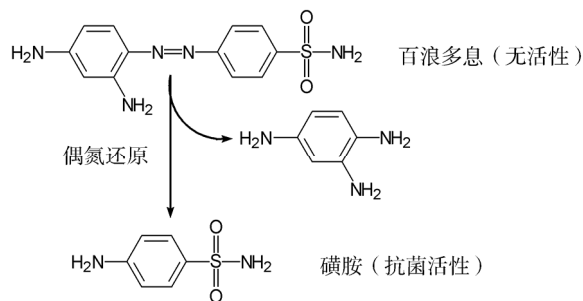


图 3 偶氮化合物的还原

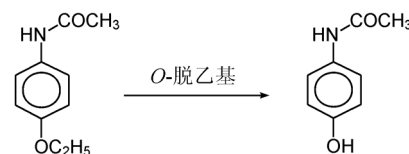


图 4 非那西丁脱乙基反应

安眠镇静药地西洋可经 CYP2C9、2C19、2B6、3A4 和 3A5 代谢, 生成活性代谢物 *N*-去甲基地西洋 (去甲西洋); 随后由 CYP 3A4 和 2C19 催化, 在环上 3 位羟基化生成奥沙西洋 (图 5), 该代谢物具有显著抗惊厥活性。

1.3 药物代谢性质用于制剂设计 抗哮喘药异丙肾上腺素在肠道和肝中代谢迅速失活, 口服给药无法使其有效到达作用部位肺组织, 所以采用喷雾剂吸入给药, 这样可绕过使药物失活的代谢途径, 以产生足够药理活性的浓度到达肺组织。另一方面, 肠道代谢在口服给药中也可作为有利的一面加以应用, 如琥珀酰磺胺噻唑 (succinylsulfathiazole) 的肠吸收较差, 但是易被肠道酶水解生成有活性的磺胺噻唑 (sulfathiazole), 这种局部水解作用可保证肠道中有效

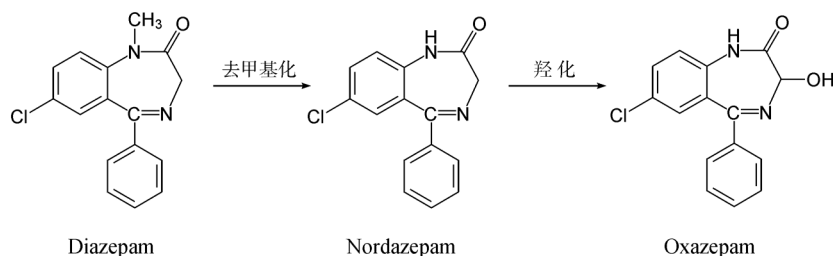


图 5 地西洋氧化代谢为去甲西洋和奥沙西洋

的抗菌浓度, 有利于治疗肠道感染^[42]。

2 体外药物代谢研究在药物临床前 ADME 研究中的作用

SFDA 指出: “非临床药代动力学研究在新药研发和评价过程中起着重要的桥梁作用, 为药效学和毒理学评价提供了药物或活性代谢物浓度数据, 是产生、决定或阐明药效或毒性大小的基础, 是提供药效或毒性靶器官的依据, 也是药物制剂学研究的主要依据和工具, 并为设计和优化临床研究给药方案提供有关依据”^[43]。随着科学技术的发展, 除了常规的药物代谢研究方法外, 近年来还发展了大量新方法和新模型, 有效地加快了药物的筛选和评价。

2.1 细胞模型预测药物吸收和转运特性 目前, 口服给药在各种给药途径中仍占主导地位。口服药物制剂欲发挥全身作用, 吸收是关键。对吸收过程的研究有助于药物的结构设计、处方筛选、工艺优化等。药物在肠道的吸收是个复杂的过程, 包括通过细胞间隙或者细胞膜的被动扩散、囊泡摄取 (胞饮/胞吞) 和基底膜的释放 (胞吐)、受体或转运体介导的主动运输等。同时药物吸收还受胃肠道生理性因素如肠道的蠕动、肠道 pH、血流等的影响。许多具有良好前景的药物因为口服吸收不良而遭淘汰。自从组合化学问世以来, 候选化合物的合成速度大大加快, 如何在早期阶段就对候选化合物进行高通量的吸收、代谢、毒性等的体外筛选, 并结合体外疗效筛选结果, 尽早作出综合评价, 目前已成为创新药研究的重要方面。其中利用肠上皮细胞作为研究药物吸收机制的模型研究, 取得了令人鼓舞的进展^[44-46]。美国 FDA 推荐 Caco-2 细胞系、MDCK-MDR1 细胞和 LLC-PK1 MDR1 细胞, 用于评价药物摄取、外排和跨细胞转运等与吸收和透过有关的性质^[47]。同时这些细胞模型还能预测被动扩散药物在体内的吸收情况。MDCK-MDR1 也用于预测化合物血脑屏障的透过性^[48-50]。Wang 等还建立了 Bcap37-MDR1 细胞模型, 用于筛选和确定 P-gp 的底物^[51-53]。

抗病毒候选药物 RDS 在 Caco-2 细胞双向转运透过实验表明, 该候选药物的透过系数很小 ($<1 \times 10^{-8} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$), 总透过率小于 1%, 加入 P-gp 抑制剂或底物后, 在 Caco-2 细胞单层的透过性增强, 认为是外排泵 P-糖蛋白的底物^[54]。动物静注后, 方可研究 RDS 药物动力学^[55]。因此, 该化合物不适合于开发成为普通口服制剂。

Wang 等用 Caco-2 细胞模型对槲皮素、山柰酚、异鼠李素进行转运研究发现, 它们的表现透过系数都不是很高, 而且存在外排现象^[52], 人体实验已证明口服吸收不良^[56]。比较 3 种黄酮的表现透过系数, 山柰酚是最高的, 提示山柰酚的口服吸收会大于其他两种黄酮。即使很低的口服剂量, 山柰酚的吸收也优于槲皮素^[57]。Wang 等^[58]研究花旗松素和落新妇苷在 Caco-2 细胞单层中的吸收和转运, 结果显示两者的表现渗透系数均 $\leq 1 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 提示两者口服后生物利用度较差。花旗松素和落新妇苷在 Caco-2 细胞单层中的转运存在显著的外排现象, 花旗松素的外排可被多药耐药蛋白 2 (MRP2) 抑制剂 MK-571 抑制, 而落新妇苷的外排可被 P-糖蛋白 (P-gp) 的经典抑制剂维拉帕米和 GF 120918 抑制, 表明 MRP2 和 P-gp 分别参与花旗松素和落新妇苷在 Caco-2 细胞中的吸收和外排转运, 提示外排转运蛋白可能是制约其口服生物利用的主要生理屏障因素之一。大鼠体内实验证明, 其绝对生物利用度均低于 0.2%^[59]。

与动物模型相比, 细胞和人源化转基因细胞模型 (如 Caco-2 细胞、MDR1 转基因细胞等^[47]) 更经济, 重现性更好, 而且无种属差异, 容易操作, 所要求的供试药物量少, 可以用于模拟药物在体内经小肠上皮和脑组织的吸收转运过程, 快速评估药物的细胞透过性, 阐述药物转运的途径, 还可用于评价提高膜透过性的方法, 确定被动扩散药物最合适的理化性质等^[47, 48]。

2.2 药物代谢酶诱导和抑制与化合物成药性 新药开发过程中关于药物相互作用的研究通常被安排在临床试验阶段, 致使很多问题不能及早发现和处理, 对人类健康和开发商的经济利益都造成了重大损失。代谢性药物-药物相互作用 (metabolism-based drug-drug interactions) 发生率最高, 约占药物动力学相互作用的 40%。例如, 美贝拉地尔 (mibefradil) 于 1997 年 8 月由美国 FDA 批准问世。它是一个 T 通道阻滞剂, 因其疗效较好、不良反应较少而迅速在多个国家上市。但却因严重药物相互作用, 于 1998 年 6 月被美国 FDA 决定撤出市场, 寿命仅 11 个月^[60]。究其原因, 此药为一个强效 CYP3A4 和 2D6 抑制剂, 致使许多心血管药物代谢受到抑制而产生毒性作用。又如, 抗组胺药特非那定由 CYP3A4 代谢解毒, 当与 CYP3A4 强抑制剂如酮康唑合并用药时, CYP3A4 失去活性无法代谢特非那定, 致使特非那定血药浓度

超过治疗窗, 显著延长 QTc 间期, 而发生 TdP (尖端扭转型) 室性心动过速, 甚至死亡, 最终被美国 FDA 停用^[61]。所以外源物对药物代谢酶的诱导或抑制作用是导致药物相互作用的重要因素。一个理想的新药应不具有引起药物相互作用的可能。在新药研发过程中, 需要研究候选药物对主要药物代谢酶和转运体是否具有诱导或抑制作用, 并用于预测化合物的成药性和指导临床合理用药, 最大限度地预防毒副作用的发生 (表 1)^[62]。

表 1 药物代谢酶的抑制和诱导效应与化合物成药性

体外研究	实验结果	成药性
P450 代谢酶	低 Cl_{int}/Cl_{tot} 或非 P450 酶途径	好
	主要由一种 P450 酶	底物 $\xrightarrow{\text{评估}}$ 酶
	多种 P450 酶	好
P450 酶抑制	没有抑制作用	如果 $[S]_{肝} \geq K_i$
	抑制至少一种 P450 酶	底物 $\xrightarrow{\text{评估}}$ 酶
	K_i 测定 ($IC_{50} < 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
P450 酶诱导	没有诱导作用	好
	诱导至少一种 P450 酶	底物 $\xrightarrow{\text{评估}}$ 酶

近年来的研究表明, 一些核受体对药物代谢酶和转运体的调控发挥重要作用。如孕烷 X 受体 (pregnane X receptor, PXR)、组成型雄甾烷受体 (constitutive androstane receptor, CAR)、芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AhR)、糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR)、维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 等, 为筛选药物代谢酶诱导或抑制活性提供了许多新的方法, 例如报告基因分析法、闪烁接近法、“人源化”小鼠模型等^[63, 64]。

2.3 应用人源化重组酶预测药物代谢反应 药物代谢酶蛋白及其调控因子在性质上存在种属差异。在新药研发的临床前研究中, 根据动物或动物组织获得的数据预测药物的药理毒理性存在局限性, 甚至导致预测失败。由于分子生物学技术的发展, 可在宿主细胞中, 表达人的 DMEs、转运体的基因信息编码的酶。人源化的重组酶模型可以模拟少数目的代谢途径, 实验结果更接近人类^[65]。目前, 美国 FDA 关注的人类药物代谢酶都已经成功构建^[66–72]。

狼毒乙素与人 CYP3A4 重组酶反应生成单羟基化代谢物, 在人肝微粒体中也生成相同的单羟基化代谢物^[73]。Wang 等^[66]使用 5 种人 UGT 研究参与普萘洛尔边链葡萄糖醛酸代谢的亚族, 结果表明 UGT1A9 和 UGT2B7 催化该反应, 以 UGT1A9 为主, 并呈现相

反的立体选择性^[74]。16 例中国志愿者口服普萘洛尔片 20 mg 后, 在尿中其边链葡萄糖醛酸排泄与人 UGT1A9 的立体选择性一致, S-(–)-普萘洛尔葡萄糖醛酸苷生成量大于 R-(+)-普萘洛尔葡萄糖醛酸苷^[75]。可见, 人重组酶体外实验结果可以预测体内代谢特征。此外, 应用人 UGT1A4 专属性的形成 N-葡萄糖醛酸苷的性质可以鉴定含氮药物的 N-葡萄糖醛酸化代谢^[76, 77]。Chen 等^[78]应用人 UGT 重组酶, 筛选了 20 个化合物, 发现了 8 个 UGT1A3 新底物和 6 个 UGT1A9 新底物。

2.4 药物代谢多态性在新药研发中的作用 DMEs 基因呈高度多态性, 其遗传变异可导致不同的表型, 引起药物疗效和毒性差异。许多 DMEs 基因的遗传多态性已经被广泛报道, 并具有毒理和临床相关的意义^[79, 80]。新药研发和评价中药物代谢多态性的作用和影响也日益受到关注和研究^[81, 82]。美国 FDA 对新药注册材料中关于遗传药理学数据的递交和药物标签发布了指导性意见^[83–85]。

相对于野生型 CYP3A4, CYP3A4.5 活性明显低于野生型, 而 CYP3A4.3、CYP3A4.4 和 CYP3A4.18 活性高于野生型, 尤其 CYP3A4.18 最高。非典型动力学模型拟合的结果发现 CYP3A4.4 和 CYP3A4.5 可能具有正协同性质, 而 CYP3A4.18 可能具有负协同性质^[86]。Chen 等以 6 种广泛分布的黄酮, 槲皮素、木犀草素、山柰酚、水飞蓟、桑色素和异鼠李素作为底物, 检测 UGT1A3 及其 4 个变异体对黄酮葡萄糖醛酸结合活性的差异。UGT1A3.4 对所有测试黄酮的活性都有显著增加, 催化效率 (V_{max}/K_m) 是野生型 UGT1A3.1 的 3.6~7.8 倍。而 UGT1A3.2 和 UGT1A3.3 则导致葡萄糖醛酸结合活性显著下降, 它们对于大部分测试黄酮的活性甚至低于野生型的 20%。UGT1A3.5 只引起微弱的活性差异。运用特异性等位基因扩增方法 (ASA) 对 125 名健康汉族成年人的血样进行分析, 确定了 UGT1A3 各等位基因和几个 UGT1A3 SNPs 在中国汉族人群中的分布。具有显著增长的总葡萄糖醛酸结合效率, 并且倾向于生成高活性的槲皮素葡萄糖醛酸苷的 UGT1A3.4 变异体, 在中国汉族人群中的分布显著不同于高加索人群和日本人群, 表明中国汉族人群对于黄酮的利用可能与高加索人群和日本人群显著不同^[86, 87]。

3 预测由药物代谢引起的毒性

3.1 细胞模型联用 MTT 法^[88] 采用 HepG2 细胞、原代肝细胞等, 加入药物代谢酶的经典诱导剂预处理后或抑制剂与底物共同培养, 通过 MTT 法比较生成

的代谢物的细胞毒性, 并初步确定毒性代谢物的催化酶。如将 HepG2 细胞经 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 利福平 (CYP3A 诱导剂) (A) 和 $25\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ β -萘黄酮 (CYP1A 诱导剂) 预处理后, 加入银杏酸 (15:1) 培养后, 用 MTT 法测定, 发现银杏酸 (15:1) 代谢后对细胞的毒性增加。而用 α -萘黄酮 (CYP1A 抑制剂) 和酮康唑 (CYP3A 抑制剂) 共孵育可降低银杏酸 (15:1) 对原代培养大鼠肝细胞的毒性。上述实验结果显示, CYP1A 和 CYP3A 可以催化银杏酸 (15:1) 生成毒性更强的代谢物。

3.2 肝组织工程反应器 多孔板上的肝细胞单层贴壁 (二维) 培养虽然具有操作方便和适合高通量的优势, 但由于缺乏体内微环境, 使肝细胞功能很快丧失, 导致严重低估代谢引起的药物肝毒性^[89]。基于中空纤维膜的组织化肝细胞培养既可以方便开展生物人工肝的基础研究, 又可用于高通量药物肝毒性筛选。在这种基于中空纤维膜的肝组织工程反应器内, 肝细胞形成多个细胞聚集体, 内部呈致密结构、具有肝脏特有的类胆管通道和细胞的极性定向排列方式, 类似于肝脏腺泡的结构。组织化培养的肝细胞能存活 21 天以上, 且在此期间能保持尿素和白蛋白的合成能力和主要的细胞色素亚族 (CYP1A2、CYP3A 和 CYP2E1 等) 活性, 由转运蛋白介导的药物肝胆转运能力也与体内相近。其蛋白合成及药物代谢等各项功能的维持时间和水平远高于传统的单层贴壁培养方式^[89]。因能更好地维持肝细胞各项功能, 采用组织化培养大鼠肝细胞检测得到的药物毒性浓度与发生毒性反应时体内血药浓度接近 (表 2)^[89, 90]。

4 临床药物 ADME 研究与个体化用药^[91]

新药准备进入临床研究前一定要了解药物的代

谢特征, 只有这样才能确定药物在人体内不会产生未知代谢物, 适当的体外实验可以避免由于暴露于未知代谢物而发生毒性的风险。如果进入临床后, 在人体内发现有大量未知代谢物的生成, 通常要暂停开发, 直到合成出该未知代谢物并通过动物实验确定无毒后才能继续临床研究^[92]。

新药的临床药物代谢动力学研究目的在于阐明新药在人体内的 ADME 变化规律, 为临床上制订用药方案和个体化给药提供依据。在临床试验的起始期, 即 I 期临床阶段, 常以健康受试者为研究对象, 研究单次给药和多次给药后的药物代谢动力学行为以及饮食对口服药物的药物代谢动力学影响, 其意义在于阐明药物在人体中的吸收、分布、代谢和排泄动力学特征, 以及饮食是否影响口服药物吸收行为, 可提供有关药物代谢、代谢物、以及实际或潜在的药物相互作用和个体差异的重要信息^[93]。

根据临床药物代谢动力学和药物临床耐受性试验研究结果, 设计 II 期临床试验的剂量和用药间隔。研究主要代谢产物的结构和活性 (或毒性), 并与动物体内代谢转化结果进行比较, 从而分析药物在人体内是否产生活性 (或毒性) 代谢产物及其代谢动力学行为特征, 为药物的安全性评价提供依据^[94]。

在 II 期和 III 期临床阶段, 以特殊人群为研究对象进行药物代谢动力学研究。研究药物在肝或肾受损病人中的药物代谢动力学, 阐明其临床药代动力学的变化情况, 确定肝、肾受损病人是否需要调整用药方案^[95, 96]。药物在妊娠妇女、老年或儿童患者的药物代谢动力学研究, 可以阐明妊娠妇女、老年或儿童患者的药物代谢动力学特征, 为妊娠妇女、老年或儿童患者的合理用药提供依据^[97, 98]。

基因型分析试验表明, DMEs 在 ADME 性质或潜在的安全问题上显示较大的个体变异。若未能正确识别 DME 的基因型可能导致病人不合适的用药。在这种情况下, 病人可能会服用一个不适当的药物或药物剂量, 由于减弱或增强药物代谢而增加药物不良反应的风险。同样, 若未能正确地解释基因分型结果可能会导致不正确的表型和错误的预测病人用药结果。因此, 研究遗传因素对药物代谢动力学的影响, 探明药物代谢多态性、代谢的种族差异以及程度大小, 预测药物之间可能发生的 ADME 方面相互作用, 可以指导临床实施个体化药物治疗及不同患者临床用药方案的优化 (表 3)^[83, 84, 93, 99]。

表 2 组织化培养与贴壁培养药物肝毒性浓度与血药浓度比较

药物	组织化培养大鼠肝细胞毒性检出浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	贴壁培养大鼠肝细胞毒性检出浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	大鼠体内毒性发生时的血药浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
硫唑嘌呤	1	1	1
氯喹	2.5	5	2.5
氯氮平	5	30	4
胺碘酮	5	10	2.5
利福平	12	200	12
四环素	25	100	26
异烟肼	110	1100	102
水杨酸钠	500	1000	250
乙醇	25 000	100 000	25 000

表 3 美国 FDA 所列出的与 DMEs 相关的基因生物标志物

生物标志物	标签内容		与此生物标志物有关的其他药物
	药物	代表性标签	
CYP2C19 变异体	氯吡格雷	CYP2C19 弱代谢型减低疗效	
CYP2C19 变异体供选择内容	伏立康唑	遗传缺陷的 CYP2C19 变异体 (弱代谢型和快代谢型) 导致药物暴露改变。已有鉴定 CYP2C19 基因型的方法, 可用于帮助决定治疗策略	奥美拉唑, 泮托拉唑, 埃索美拉唑, 地西洋, 奈非那韦, 雷贝拉唑
CYP2C19 变异体供选择内容 (变异体无影响)	普拉格雷	注明代谢状态	
CYP2C9 变异体	塞来昔布	CYP2C9 变异体弱代谢型和快代谢型基因型和药物暴露	
CYP2C9 变异体供选择内容	华法林	根据 CYP2C9 变异体基因型调整药物剂量	
CYP2D6 变异体	托莫西汀	与 EMs 比较 PMs 酶活性减弱血药浓度升高	文拉法辛, 利培酮, 噻托溴铵吸入, 他莫昔芬, 马来酸噻吗洛尔
CYP2D6 供选择内容	盐酸氟西汀	注明 CYP2D6 弱代谢型和快代谢型变异体和药物暴露及风险	盐酸氟西汀奥氮平, 盐酸西维美林, 托特罗定, 特比萘芬, 曲马多 + 乙酰氨基酚, 氯氮平, 阿立哌唑, 美托洛尔, 普萘洛尔, 卡维地洛, 普罗帕酮, 疏利达, 盐酸普罗替林, 丁苯那酮
CYP2D6 (UM) 供选择内容	硫酸可待因	注明可待因的超快速代谢型用药策略	含可待因制剂 Fiorinal (布他比妥, 阿司匹林, 咖啡因和磷酸可待因) 和含可待因制剂 Fioricet (布他比妥, 对乙酰氨基酚, 咖啡因和磷酸可待因) 硝酸异山梨酯和胍屈嗪盐酸盐
NAT 变异体	利福平、异烟肼、吡嗪酰胺	注明 N-乙酰基转移酶慢和快速乙酰化型和毒性	
TPMT 变异体	咪唑硫嘌呤	因突变硫嘌呤甲基转移酶缺乏或活性降低, 增加骨髓毒性风险。推荐检测患者的 TPMT 基因型或表型	硫鸟嘌呤、巯基嘌呤
UGT1A1 变异体	依立替康	UGT1A1 基因突变的患者, 暴露于药物, 增加其毒性易感性	
UGT1A1 变异体供选择内容	尼罗替尼	注明药物基因组学 (安全性)	

References

- [1] Critical Path Reports [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD. [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/ScienceResearch/Special-Topics/CriticalPathInitiative/CriticalPathOpportunitiesReports>.
- [2] Hodgson J. ADMET—turning chemicals into drugs [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19: 722–726.
- [3] Selick HE, Beresford AP, Tarbit MH. The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery [J]. Drug Discov Today, 2002, 7: 109–116.
- [4] Baranczewski P, Stańczak A, Sundberg K, et al. Introduction to *in vitro* estimation of metabolic stability and drug interactions of new chemical entities in drug discovery and development [J]. Pharmacol Rep, 2006, 58: 453–472.
- [5] Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3: 711–715.
- [6] A JY, Wang GJ. Drug metabolism research for the design and structural modification of drugs [J]. Prog Pharm Sci (药科学进展), 2002, 26: 80–86.
- [7] Zhao DM, Li Y, Lu YH. The role of drug metabolism in new drug development [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2000, 35: 156–160.
- [8] Zeng S. Enhancing study on drug metabolism in pharmaceutical sciences [J]. J Zhejiang Univ (Med Sci) (浙江大学学报 医学版), 2008, 37: 109–112.
- [9] Guo ZR. Strategy of molecular design of drugs: the unification of macro-properties and micro-structures of a molecule [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 227–233.
- [10] Aller SG, Yu J, Ward A, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding [J]. Science, 2009, 323: 1718–1722.
- [11] Williams PA, Cosme J, Vinkovic DM, et al. Crystal structures of human cytochrome P450 3A4 bound to metyrapone and progesterone [J]. Science, 2004, 305: 683–686.
- [12] Williams PA, Cosme J, Ward A, et al. Crystal structure of human cytochrome P450 2C9 with bound warfarin [J]. Nature, 2003, 424: 464–468.
- [13] Miley MJ, Zielinska AK, Keenan JE, et al. Crystal structure of the cofactor-binding domain of the human phase II drug-metabolism enzyme UDP-glucuronosyltransferase 2B7 [J]. J Mol Biol, 2007, 369: 498–511.
- [14] Locuson CW, Gannett PM, Ayscue R, et al. Use of simple docking methods to screen a virtual library for heteroactivators of cytochrome P450 2C9 [J]. J Med Chem, 2007, 50: 1158–1165.
- [15] de Graaf C, Oostenbrink C, Keizers PH, et al. Molecular modeling-guided site-directed mutagenesis of cytochrome P450 2D6 [J]. Curr Drug Metab, 2007, 8: 59–77.
- [16] Ahlström MM, Ridderström M, Zamora I. CYP2C9 structure-metabolism relationships: substrates, inhibitors, and metabolites

- [J]. *J Med Chem*, 2007, 50: 5382–5391.
- [17] Klepsch F, Ecker GF. Impact of the recent mouse P-glycoprotein structure for structure-based ligand design [J]. *Mol Inform*, 2010, 29: 276–286.
- [18] Sun H, Scott DO. Structure-based drug metabolism predictions for drug design [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2010, 75: 3–17.
- [19] He L, He F, Bi HC, et al. Isoform-selective inhibition of chrysin towards human cytochrome P450 1A2. Kinetics analysis, molecular docking, and molecular dynamics simulations [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 6008–6012.
- [20] Bazeley PS, Prithivi S, Struble CA, et al. Synergistic use of compound properties and docking scores in neural network modeling of CYP2D6 binding: Predicting affinity and conformational sampling [J]. *J Chem Inf Model*, 2006, 46: 2698–2708.
- [21] Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity [J]. *Pharmacogenomics J*, 2005, 5: 6–13.
- [22] Eaton DL, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1994, 34: 135–172.
- [23] Mulholland AJ. Modelling enzyme reaction mechanisms, specificity and catalysis [J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10: 1393–1402.
- [24] Shaik S, Cohen S, Wang Y, et al. P450 Enzymes: their structure, reactivity, and selectivity-modeled by QM/MM calculations [J]. *Chem Rev*, 2010, 110: 949–1017.
- [25] Ekins S. Drug transporter pharmacophores[M]//Ecker GF, Chiba P. *Transporters as Drug Carriers: Structure, Function, Substrates*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009: 215–227.
- [26] Penzotti JE, Lamb ML, Evensen E, et al. A computational ensemble pharmacophore model for identifying substrates of P-glycoprotein [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 1737–1740.
- [27] Chang C, Ekins S. Pharmacophores for human ADME/Tox-related proteins, in pharmacophores and pharmacophore searches [M]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006: 299–324.
- [28] Schuster D, Laggner C, Steindl TM, et al. Development and validation of an in silico P450 profiler based on pharmacophore models [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2006, 3: 1–48.
- [29] Crivori P, Reinach B, Pezzetta D, et al. Computational models for identifying potential P-glycoprotein substrates and inhibitors [J]. *Mol Pharm*, 2006, 3: 33–44.
- [30] Byvatov E, Baringhaus KH, Schneider G, et al. A virtual screening filter for identification of cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) inhibitors, in *QSAR & Combinatorial Science* [M]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- [31] Freitas RF, Bauab RL, Montanari CA. Novel application of 2D and 3D-similarity searches to identify substrates among cytochrome P450 2C9, 2D6, and 3A4 [J]. *J Chem Inf Model*, 2010, 50: 97–109.
- [32] Vedani A, Dobler M, Lill MA. The challenge of predicting drug toxicity in silico [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2006, 99: 195–208.
- [33] Gleeson MP. Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 817–834.
- [34] Chohan KK, Paine SW, Waters NJ. Quantitative structure activity relationships in drug metabolism [J]. *Curr Top Med Chem*, 2006, 6: 1569–1578.
- [35] Pajeva IK, Globisch C, Wiese M. Combined pharmacophore modeling, docking, and 3D QSAR studies of ABCB1 and ABCC1 transporter inhibitors [J]. *ChemMedChem*, 2009, 4: 1883–1896.
- [36] Korhonen LE, Turpeinen M, Rahnasto M, et al. New potent and selective cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) inhibitors based on three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) analysis [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 150: 932–942.
- [37] Pick A, Muller H, Wiese M. Structure-activity relationships of new inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 8224–8236.
- [38] Chohan KK, Paine SW, Waters NJ. Advancements in predictive in silico models for ADME [J]. *Curr Chem Biol*, 2008, 2: 215–228.
- [39] Cundy KC, Branch R, Chernov-Rogan T, et al. XP13512 [(+/-)-1-((alpha-isobutanoyloxyethoxy)carbonyl)aminomethyl]-1-cyclohexane acetic acid], a novel gabapentin prodrug: I. Design, synthesis, enzymatic conversion to gabapentin, and transport by intestinal solute transporters [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 311: 315–323.
- [40] Cundy KC, Sastry S, Luo W, et al. Clinical pharmacokinetics of XP13512, a novel transported prodrug of gabapentin [J]. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48: 1378–1388.
- [41] Dobson PD, Patel Y, Kell DB. ‘Metabolite-likeness’ as a criterion in the design and selection of pharmaceutical drug libraries [J]. *Drug Discov Today*, 2009, 14: 31–40.
- [42] Zeng S. *Drug Metabolism (药物代谢学)* [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2008.
- [43] Guidance for Industry: nonclinical pharmacokinetics of chemical drug, [H]GPT5-1[EB/OL]. SFDA. 2004 [2010-09-10]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0001/>.
- [44] Hu XY, Yao TW, Zeng S. Application of Caco-2 cells to drug absorption and metabolism [J]. *Chin J Mod App Pharm (中国现代应用药学)*, 2002, 19: 88–90.
- [45] Wang XD, Zeng S. *Advances in Caco-2 cells and drug absorption* [M]//Wei MJ. *Methods for Studying ADME of New Drugs (新药研发中的药物吸收、分布、代谢、排泄研究方法)*. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2007.
- [46] Yu L, Zeng S. Transport characteristics of zolmitriptan in a

- human intestinal epithelial cell line Caco-2 [J]. J Pharm Pharmacol, 2007, 59: 655–660.
- [47] Guidance for industry: drug interaction studies-study design, data analysis, and implications for dosing and labeling. US FDA: Silver Spring, MD, 2006 [2010-09-10]. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/2004-4079B1_04_Topic2-TabA.pdf.
- [48] Liu Y, Yu CN, Zeng S. Establishment of MDCK cell line with high p-glycoprotein expression [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2009, 44: 1608–1613.
- [49] Liu Y, Wang XD, Yu CN, et al. BYYT permeability across an *in vitro* model of the blood-brain barrier [J]. Drug Metab Rev, 2008, 40: 209.
- [50] Liu Y, Zeng S. Advances in the MDCK-MDR1 cell model and its applications to screen drug permeability [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 559–564.
- [51] Wang Y, Cao J, Zeng S. Establishment of a P-glycoprotein substrate screening model and its preliminary application [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10: 1365–1368.
- [52] Wang Y, Cao J, Zeng S. Involvement of P-glycoprotein in regulating cellular levels of Ginkgo flavonols: quercetin, kaempferol, and isorhamnetin [J]. J Pharm Pharmacol, 2005, 57: 751–758.
- [53] Wang Y, Cao J, Weng JH, et al. Simultaneous determination of quercetin, kaempferol and isorhamnetin accumulated human breast cancer cells, by high-performance liquid chromatography [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 39: 328–333.
- [54] He Y, Zeng S. Transport characteristics of rutin deca (H^-) sulfonate sodium across Caco-2 cell monolayers [J]. J Pharm Pharmacol, 2005, 57: 1297–1303.
- [55] Wang XJ, Jin YX, Ying JY, et al. Determination of rutin deca(H^-) sulfate sodium in rat plasma using ion-pairing liquid chromatography after ion-pairing solid-phase extraction [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006, 833: 231–235.
- [56] Wang FM, Yao TW, Zeng S. Disposition of quercetin and kaempferol in human following an oral administration of Ginkgo biloba extract tablets [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokin, 2003, 28: 173–177.
- [57] DuPont MS, Day AJ, Bennett RN, et al. Absorption of kaempferol from endive, a source of kaempferol-3-glucuronide, in humans [J]. Eur J Clin Nutr, 2004, 58: 947–954.
- [58] Wang XD, Meng MX, Gao LB, et al. Permeation of astilbin and taxifolin in Caco-2 cell and their effects on the P-gp [J]. Int J Pharm, 2009, 378: 1–8.
- [59] Wang X, Xia H, Xing F, et al. A highly sensitive and robust UPLC-MS with electrospray ionization method for quantitation of taxifolin in rat plasma [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877: 1778–1786.
- [60] Comparison of Postapproval Risks for Drugs Approved Before and After the Implementation of PDUFA [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2009 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/Safety/SafetyofSpecificProducts/ucm180599.htm>.
- [61] Risk Intervention Examples [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2009 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/Safety/SafetyofSpecificProducts/ucm180605.htm>.
- [62] Sinz M, Wallace G, Sahi J. Current industrial practices in assessing CYP450 enzyme induction: preclinical and clinical [J]. AAPS J, 2008, 10: 391–400.
- [63] Xie W, Evans RM. Pharmaceutical use of mouse models humanized for the xenobiotic receptor [J]. Drug Discov Today, 2002, 7: 509–515.
- [64] Yu C, Ye S, Sun H, et al. PXR-mediated transcriptional activation of CYP3A4 by cryptotanshinone and tanshinone IIA [J]. Chem Biol Interact, 2009, 177: 58–64.
- [65] Yu L, Lu S, Lin Y, et al. Carboxyl-glucuronidation of mitoglinide by human UDP-glucuronosyltransferases [J]. Biochem Pharmacol, 2007, 73: 1842–1851.
- [66] Wang XW, Zeng S. Heterogenous expression and activity analysis of human cytochrome P450 3A4 mutants CYP3A4.3, CYP3A4.4, CYP3A4.5 and CYP3A4.18 [J]. Chin J Pharmacol Toxicol (中国药理学与毒理学杂志), 2009, 23: 456–463.
- [67] Ruan H, Chen SQ, Yao TW. Heterogenous expression and activity determination of human cytochrome P450 1A2 [J]. Chin J Modern App Pharm (中国现代应用药理学), 2009, 26: 697–702.
- [68] Lu K, Zeng S, Yao TW. Expression of human CYP2E1 in insect cells using bac-to-bac expression system [J]. Zhejiang Univ (Med Sci) (浙江大学学报 医学版), 2008, 37: 118–125.
- [69] Lv Q, Chen SQ, Zeng S. Study heterogenous expression and activity determination of human cytochrome P450 2B6 [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2007, 42: 1610–1614.
- [70] Zheng SL, Qian MR, Li X, et al. Expression of human UGT1A6 in insect cell with baculovirus expression system [J]. Chin J Pharmacol Toxicol (中国药理学与毒理学杂志), 2004, 18: 444–448.
- [71] Gao LB, Wang JZ, Zeng S. Cloning, expression and the application of human, rat alcohol dehydrogenase and aldo-keto reductase [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2009, 44: 778–784.
- [72] Zhou Q, Yao TW, Zeng S. Chiral reversed phase high-performance liquid chromatography for determining propranolol enantiomers in transgenic Chinese hamster CHL cell lines expressing human cytochrome P450 [J]. J Biochem Biophys Methods, 2002, 54: 369–376.
- [73] Zhang X, Yao Y, Lou Y, et al. Metabolism of ebracteolata compound B studied *in vitro* with human liver microsomes, HepG2 cells, and recombinant human enzymes [J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38: 2157–2165.
- [74] Yu L, Qian M, Liu Y, et al. Stereoselective metabolism of propranolol glucuronidation by human UDP-glucuronosyl-

- transferases 2B7 and 1A9 [J]. *Chirality*, 2010, 22: 456–461.
- [75] Luan LJ, Shao Q, Ma JY, et al. Stereoselective urinary excretion of S-(–)- and R-(+)-propranolol glucuronide following oral administration of RS-propranolol in Chinese Han subjects [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11: 1822–1824.
- [76] Qian M, Chen S, Li X, et al. Cloning and expression of human UDP-glucuronosyltransferase 1A4 in Bac-to-Bac system [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319: 386–392.
- [77] Qian MR, Zeng S. Biosynthesis of imipramine glucuronide and characterization of imipramine glucuronidation catalyzed by recombinant UGT1A4 [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27: 623–628.
- [78] Chen Y, Xie S, Chen S, et al. Glucuronidation of flavonoids by recombinant UGT1A3 and UGT1A9 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76: 416–425.
- [79] Grossman I. ADME pharmacogenetics: current practices and future outlook [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2009, 5: 449–462.
- [80] Katz DA, Murray B, Bhatena A, et al. Defining drug disposition determinants: a pharmacogenetic-pharmacokinetic strategy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 293–305.
- [81] Williams JA, Andersson T, Andersson TB, et al. PhRMA white paper on ADME pharmacogenomics [J]. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48: 849–889.
- [82] Tu JH, Hu DL, Dai LL, et al. Effect of glycyrrhizin on CYP2C19 and CYP3A4 activity in healthy volunteers with different CYP2C19 genotypes [J]. *Xenobiotica*, 2010, 40: 393–399.
- [83] Table of valid genomic biomarkers in the context of approved drug labels [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2009 [2010-09-10]. http://www.fda.gov/cder/genomics/genomic_biomarkers_table.htm.
- [84] Guidance for industry: pharmacogenomic data submissions [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2005 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM126957.pdf>.
- [85] Yuan LM, Chen J, Zeng S. Construction, expression and activities of three active variants of human uridine diphosphate glucuronic acid transferase 2B7 [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2008, 22: 274–281.
- [86] Chen Y, Chen S, Li X, et al. Genetic variants of human UGT1A3: functional characterization and frequency distribution in a Chinese Han population [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34: 1462–1467.
- [87] Chen YK, Chen SQ, Li X, et al. Quantitative regioselectivity of glucuronidation of quercetin by recombinant UDP-glucuronosyltransferases 1A9 and 1A3 using enzymatic kinetic parameters [J]. *Xenobiotica*, 2005, 35: 943–954.
- [88] Liu ZH, Zeng S. Cytotoxicity of ginkgolic acid in HepG2 cells and primary rat hepatocytes [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 187: 131–136.
- [89] Meng Q. Three-dimensional culture of hepatocytes for prediction of drug-induced hepatotoxicity [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010, 6: 733–746.
- [90] Shen C, Zhang GL, Meng Q. An *in vitro* model for long-term hepatotoxicity testing utilizing rat hepatocytes entrapped in micro-hollow fiber reactor [J]. *Biochem Eng J*, 2007, 34: 267–272.
- [91] Guidance for Industry: Study on Clinic Pharmacokinetics. SFDA. 2005 [2010-09-10]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0001/>.
- [92] Zeng S. Clinic Pharmacokinetics (临床药代动力学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House. 2007.
- [93] Guidance for Industry: Food-Effect Bioavailability and Fed Bioequivalence Studies [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2002 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070241.pdf>.
- [94] Guidance for Industry: Pharmacokinetics in Patients with Impaired Renal Function — Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2010 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM204959.pdf>.
- [95] Guidance for Industry: Pharmacokinetics in Patients with Impaired Hepatic Function: Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2003 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072123.pdf>.
- [96] Guidance for Industry: Pharmacokinetics in Pregnancy — Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2004 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072133.pdf>.
- [97] Guidance for Industry: General Considerations for Pediatric Pharmacokinetic Studies for Drugs and Biological Products [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 1998 [2010-09-10]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072114.pdf>.
- [98] Guidance for Industry: Pharmacogenomic Data Submissions-Companion Guidance [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2007 [2010-09-10]. www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM079855.pdf.
- [99] Guidance for Industry: E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories [EB/OL]. US FDA: Silver Spring, MD, 2008 [2010-09-10]. www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm073162.pdf.

本期特邀综述主要作者简介

周宏灏 中国工程院院士，全国生物芯片标准化技术委员会副主任委员，中南大学国家重点学科药理学首席教授，国家精品课程药理学负责人。他发现和阐明了遗传因素引起药物种族和个体差异的若干现象和机制及其规律，建立了有我国国家和民族特色的遗传药理学理论体系，启动了以遗传药理学理论为基础的“量体裁衣”个体化药物治疗。已研究开发了有知识产权和产业化前景的我国第一张“高血压个体化用药基因诊断芯片”，并获得了国家专利，促进了药物基因组学和个体化医学的转化研究。

杨宝峰 中国工程院院士，哈尔滨医科大学校长，省部共建国家重点实验室培育基地主任，国家级重点学科药理学科带头人，教育部科学技术委员会委员，国家重大心脏疾病研究“973”项目首席科学家。首次发现心脏离子通道的作用特性并提出离子通道作用靶点假说，以此理论研究、评价了 20 余种作用于心血管系统药物；发现微小核苷酸是药物作用的新靶点和调控心血管系统疾病发生、发展的重要分子；发现微小核苷酸可作为心肌梗死/猝死的生物标志物；发现长期应用 β 受体阻断剂等药物降低患者心梗死亡率的新机制。

尤启冬 中国药科大学药学院院长，教授，博士生导师，第九届国家药典委员会委员，国家自然科学基金委员会学科评审组成员，中国药学会药物化学专业委员会副主任委员，国家及江苏省药品监督管理局新药审评专家，江苏省药物化学专业委员会主任委员等。主要从事药物化学、生物有机化学及化学生物学等相关领域研究工作，重点开展基于天然产物、生物分子结构和配体结构的药物设计和合成研究，研究领域涵盖抗肿瘤药物，心血管药物、抗感染药物、手性药物等。

曾 苏 浙江大学药学院教授、博士生导师。任国家自然科学基金委生命科学部专家评审组成员、国家药品审评专家、国家保健食品审评专家、中国药学会药物分析专业委员会副主任委员、中国药学会药物代谢专业委员会常委、国家杰出青年基金获得者。主要研究方向：手性药物分析，药物在生物体内转运与代谢，药酶相关基因细胞系的建立及其应用，药物质量控制等。

汪 晖 武汉大学基础医学院副院长、药理学系主任，教授、博士生导师。曾获霍英东教育基金会全国高校青年教师奖、中国药理学会 Servier 全国青年药理学工作者称号。研究方向：外源物发育毒理、药物靶标与新药研究。目前，探讨了如何运用转化医学的研究理念和系统生物学的研究方法，开展外源物所致宫内发育迟缓 (IUGR) 的临床早期诊断研究，以建立一种新的、无创性的、高敏感性的 IUGR 早期评价标准。

本期特邀编辑：王晓良研究员 李学军教授 曾苏教授