

基于转运蛋白的代谢性数字肝生理模型预测普伐他汀、匹伐他汀与环孢素的药代动力学相互作用

尹雪芬¹, 林志强², 杨 劲^{1*}

(1. 中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009;
2. 国家食品药品监督管理局药品审评中心, 北京 100038)

摘要: 基于转运蛋白的代谢性数字肝生理模型 (digital liver model, DLM) 程序由 VBA (visual basic application) 编辑而成, 整合了代谢酶、转运蛋白多态性信息及动物生理学参数和中国人口统计学数据, 依据离体或在体的药代动力学实验结果模拟预测候选药物在动物及中国人肝脏内的代谢清除过程, 估算药物清除率及药物相互作用。本文应用该模型模拟预测了普伐他汀、匹伐他汀的清除率及与环孢素的相互作用。83.3% (5/6) 同一种属内参数预测平均值在文献值的 2 倍范围内, 且能够很好地预测药物在临床上的相互作用趋势, 对指明试验方向、降低临床试验风险有重要意义。

关键词: 代谢酶; 模型; 清除率; 相互作用; 转运蛋白

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 09-1108-09

Prediction of the pharmacokinetic drug-drug interaction of pravastatin and pitavastatin with cyclosporine by a digital liver model based on metabolism and transporter

YIN Xue-fen¹, LIN Zhi-qiang², YANG Jin^{1*}

(1. Key Lab of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;
2. Center for Drug Evaluation, State Food and Drug Administration, Beijing 100038, China)

Abstract: Information of metabolic enzymes and transporters, physiological parameters of animals and demography of Chinese people were integrated to establish a digital liver model (DLM) based on metabolism and transporter and coded with VBA. Clearance and drug-drug interaction (DDI) of candidate drugs in animal and human could be predicted based on the pharmacokinetic data obtained from *in vitro* and *in vivo* experiments. Pravastatin and pitavastatin were selected as the samples to examine this model, where their clearance and their DDI with cyclosporine were predicted. The results showed that the predicted values of median parameters in same species were within twofold of observed values for 83.3% (5/6). The program's successful prediction in DDI tendency might indicate its application in optimizing the dosage regimen and reducing the risk of clinical trial.

Key words: metabolic enzyme; model; clearance; drug interaction; transporter

在过去的一段时间中, 新药研发花费呈爆炸式增长, 但被批准上市的创新药物不但没有增加反而有所降低, 据此 FDA 提出了关于“创新药物研发关

键路径”的建议, 以期降低成本, 提高研发效率, 其中基于计算机的预测模型为研发关键路径的重要内容^[1, 2]。充分挖掘临床前数据、建立数学模型、预测药物在人体内的药动学特征, 可以指明试验方向, 降低临床试验风险。目前, 已有大量文献^[3-7]报道了以

收稿日期: 2011-01-23.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-25-83271386, E-mail: yangjingqw@263.net

代谢酶为主的生理模型, 并成功地应用于临床预测。最新研究表明, 很多药物的清除率及相互作用不但与代谢酶有关, 还与肠道、肝脏和肾脏的转运蛋白有关^[8], 如普伐他汀的清除率取决于肝脏转运蛋白的量及活性^[3]。但是, 由于缺乏转运蛋白的绝对定量数据, 基于代谢酶和转运蛋白的预测软件在预测以转运蛋白为限速步骤的药物时, 预测结果往往很不理想。近两年, 利用 LC-MS/MS 对转运蛋白进行绝对定量的技术获得了突破, 使开发出实用化的基于转运蛋白的清除率预测软件成为可能^[9-11]。作者由此改进了已开发的代谢性数字肝生理模型, 构建了基于转运蛋白的代谢性数字肝生理模型 (digital liver model, DLM)。

普伐他汀和匹伐他汀既是代谢酶的底物又是转运蛋白的底物, 具有典型性; 文献^[3]报道的药代动力学信息包含了离体肝灌注数据和相互作用临床信息, 故选取上述两种药物作为模型验证的底物, 同时模拟预测它们与环孢素的相互作用 (主要作用于肝中转运蛋白的摄取过程) 并与临床试验结果和 Simcyp® 预测结果进行比较。

原理与方法

DLM 程序原理 DLM 以肝充分搅拌生理模型^[12]为基础, 整合了代谢酶、转运蛋白多态性信息及动物

生理学参数和中国人口统计学数据, “数字化组装” 药物在肝脏内输送、跨膜转运、代谢等环节, 并引进了蛋白结合率比放因子、转运蛋白清除率种属间的比放因子、清除率的生理比放因子等各种转换因子以提高模型预测准确性。该模型可充分利用离体/在体的药理学实验结果, 模拟预测候选药物肝脏清除率及作用于肝脏代谢酶和转运蛋白环节的药物间相互作用, 同时通过 Monte Carlo 方法预测其变异。

DLM 程序的开发 DLM 程序以 Excel 2003 为平台, 由 VBA 编制而成, 运行后自动输出参数、图形及统计结果, 所有分析结果和图表可自动导入到文档中, 使用方便。DLM 程序开发过程主要包括: ① 程序方程的建立; ② 方程中人口统计学和生理参数的导入; ③ 主要转换因子 (蛋白结合率比放因子、转运蛋白清除率种属间的比放因子、清除率的生理比放因子) 的求算 (图 1)。

程序方程的建立 在肝的代谢消除过程中, 药物从血窦侧摄取进入肝细胞后, 代谢或以原形经由基底侧直接外排进入胆汁, 整个动力学过程包括了代谢酶及转运蛋白的共同作用。DLM 将肝脏分成 3 个房室: 肝血液室、肝细胞室和胆汁室, 并假设肝细胞室体积与生理上的肝体积相等。其中肝血液室分成两部分, 分别为肝内血液和血液。

血液、肝内血液、肝细胞和胆汁中的药物改变速率可用下述微分方程来描述^[13], 公式中 V 、 C 分别为

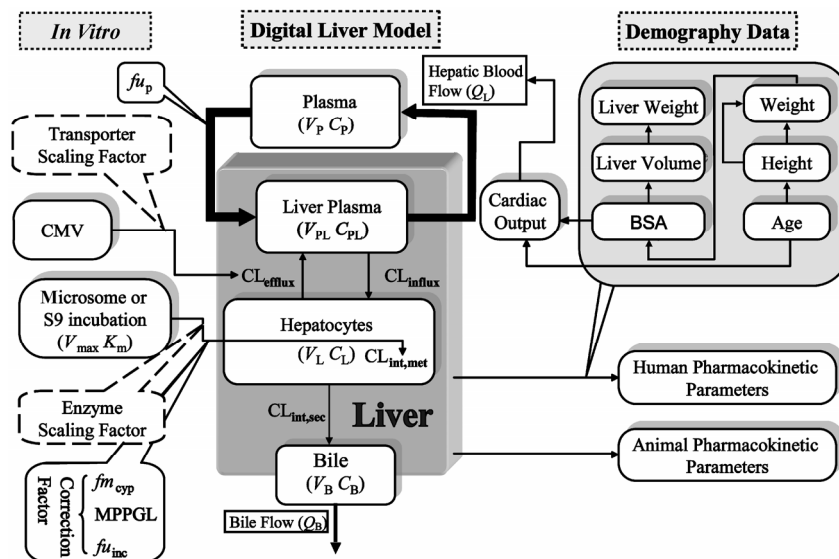


Figure 1 A schematic depiction of the DLM. CL_{influx} : The transport clearance of drug across the sinusoidal membrane from hepatic plasma to hepatocytes; CL_{efflux} : The transport clearance of drug across the sinusoidal membrane from hepatocytes to hepatic plasma; $CL_{int,met}$: Intrinsic clearance for metabolism ($CL_{int,met} \approx V_{max}/K_m$ for first-order conditions). $CL_{int,sec}$: The biliary intrinsic clearance of drug across the canalicular membrane from hepatocytes to bile; $f_{u,p}$: The unbound fractions in the plasma; $f_{u,inc}$: The unbound fractions in the hepatocytes or microsomes; $f_{m,cyp}$: Fraction of the concomitantly administered drug metabolized by P450 enzymes; MPPGL: The amount of microsome protein per gram of liver; CMV: Canalicular membrane vesicle

表观分布容积和浓度, Q 为流量, P 代表血液, L 代表肝脏。

血液中药改变速率:

$$V_P \frac{dC_P}{dt} = Q_L C_{PL} - Q_L C_P \quad (1)$$

肝内血液中药物改变速率:

$$V_{PL} \frac{dC_{PL}}{dt} = Q_L C_P - Q_L C_{PL} - f_{u_P} C_{PL} CL_{influx} + f_{u_L} C_L CL_{efflux} \quad (2)$$

f_{u_P} 为血浆中药物的游离分数, f_{u_L} 为肝细胞中药物的游离分数。

肝细胞中药物改变速率:

$$V_L \frac{dC_L}{dt} = f_{u_P} C_{PL} CL_{influx} - f_{u_L} C_L CL_{efflux} - f_{u_L} C_L \frac{V_{max}}{K_m f_{u_{inc}} + f_{u_L} C_L} - f_{u_L} C_L CL_{int,sec} \quad (3)$$

公式 (3) 是在原有模型方程的基础上进行了一定的改进, 加入了肝微粒体温孵中药物的游离分数 $f_{u_{inc}}$, 从而使预测结果更为准确。

胆汁中药物改变速率 (B 代表胆汁):

$$V_B \frac{dC_B}{dt} = f_{u_L} C_L CL_{int,sec} - Q_B C_B \quad (4)$$

上述速率方程可以建立联立方程组, 并采用四阶 Runge-Kutta 法 (RK4) 拟合求解。多剂量给药时, 给药时间点对应的方程初值等于该时间点的药物浓度值累加上设定的初始浓度值, 并在新获得的给药时间浓度上继续进行肝代谢清除的运算。

DLM 除了可获取药物在各房室的血药浓度时间曲线外, 同时还可获得药物胆汁分泌累积量、肝代谢累积量、肝外排清除率、肝代谢清除率和总清除率, 具体过程见文献^[13]。

人口统计学数据来源 中国人口统计学数据由南京体育学院提供, 该数据库含 62 090 个样本数据, 来自于对整个江苏省成年人 (大于 18 岁) 的抽样, 经统计获得中国人群年龄、身高、体重之间的关系式。DLM 程序依据虚拟人数及年龄范围通过 Monte Carlo 方法获得一系列年龄, 根据年龄进一步预测出每个虚拟中国人的身高、体重、肝重量、肝体积^[14, 15]和肝血流量^[16, 17]等。

生理参数来源 本文模拟预测了药物在大鼠及人中的肝清除过程, 故仅列出大鼠及人的生理学参数^[13, 18], 参数值主要来自于文献, 具体数值见表 1。

Table 1 Physiological parameters for modeling in rat and human^[18]. a: Calibrated with physiological scaling factor; -: Predicted by the Monte Carlo method based on age

Parameter	Rat	Human
V_P /mL	19.6	5 200
V_{PL} /mL	1.28 ^[13]	300 ^a
V_L /mL	10	-
V_B /mL	0.04 ^[13]	0.9 ^a
Q_L /mL·min ⁻¹	6.25	-
Q_B /mL·min ⁻¹	0.015 6	0.243

蛋白结合率比放因子 人们在研究药物与血浆蛋白、肝微粒体和肝细胞结合时发现血浆蛋白游离分数 (f_{u_P}) 与肝微粒体、肝细胞温孵中药物的游离分数 ($f_{u_{inc}}$) 并不相等, 对于大多数药物两者相差很大, 甚至百倍以上。预测清除率时如不引入 $f_{u_{inc}}$ 会导致预测结果偏差较大, 因此 DLM 引入 $f_{u_{inc}}$ 校正固有清除率, 公式如下^[19]:

$$CL_{int,U} = \frac{V_{max}}{K_M} = \frac{CL_{int}}{f_{u_{inc}}} \quad (5)$$

其中, K_M 为基于游离底物浓度的米氏常数, $f_{u_{inc}}$ 可由药物的理化性质进行预测^[20]。

转运蛋白清除率种属间的比放因子 人及动物转运蛋白的定性及绝对定量为目前研究热点, 其中几种重要的转运蛋白绝对量数值已发表^[9-11, 21], 见表 2。

假设 K_m 在不同种属间是相同的, 便可由动物的 CL_{influx} 、 CL_{efflux} 、 $CL_{int,sec}$ 结合不同种属间转运蛋白清除率的比放因子外推出人的相应转运蛋白清除率。具体推算过程如下:

$$\frac{CL_{int,human}}{CL_{int,animal}} = \frac{V_{max,human}}{V_{max,animal}} \quad (6)$$

其中转运蛋白的绝对量决定了 V_{max} 的大小, 则

$$\text{Scaling factor} = \frac{\text{Human protein expression}}{\text{Animal protein expression}} \approx \frac{V_{max,human}}{V_{max,animal}} \quad (7)$$

$$CL_{int,human} = \text{Scaling factor} \times CL_{int,animal} \quad (8)$$

Table 2 Absolute protein amount in liver tissues across species (fmol·mg⁻¹ protein)

Transporter	Human	Rat	Monkey	Dog	Mouse
MRP2/ABCC2	0.63 ± 0.27	5.45 ± 0.59	1.20 ± 0.60	0.76 ± 0.47	ND
BCRP/ABCG2	0.147 ± 0.028	0.280 ± 0.098	0.197 ± 0.113	0.560 ± 0.137	1.213 ± 0.033
BSEP/ABCB11	3.40 ± 1.27	6.56 ± 0.81	7.03 ± 3.03	2.90 ± 0.53	ND

清除率的生理比放因子 采用人离体清除率数据预测药物在体药动学参数时, 为使结果更为准确可靠, 离体数据需通过相应的生理比放因子进行校正, 具体校正方式如下^[22]:

$$\text{Physiological scaling factor} = \frac{\text{CL}_{\text{int, in vivo, animal}}}{\text{CL}_{\text{int, in vitro, animal}}} \quad (9)$$

$$\text{CL}_{\text{int, in vivo, human}} = \text{Physiological scaling factor} \times \text{CL}_{\text{int, in vitro, human}} \quad (10)$$

药物相互作用方法 本程序仅涉及可逆性抑制作用, 主要考虑限速步骤的代谢酶或转运蛋白的 K_m 和 V_{max} 的改变, 即药物代谢或转运的固有清除率的改变。药物清除最常见的体内情况为线性动力学, 当底物浓度远远低于 K_m 值, 竞争性和非竞争性抑制机制之间的差别不大, 故采用竞争性抑制机制在代谢酶及转运蛋白的基础上预测药物的相互作用。

$$\text{CL}_{\text{int, i}} = \frac{\text{CL}_{\text{int}}}{1 + [I]/K_i} \quad (11)$$

[I]为抑制剂游离浓度, K_i 为抑制剂的抑制常数。

预测结果评价方法 DLM 预测结果的评价由两部分组成。

与文献值进行比较: 模型预测是否准确通过比较暴露量指标药物浓度时间曲线下的面积 (AUC) 和药动学参数清除率 (CL) 的预测值和文献值来确定。以文献值 2 倍误差范围作为预测准确与否的判别指标^[7]。

与同类软件比较: Simcyp®为目前国际主流的药理学模拟预测软件, 已经成功地应用于临床研究^[4, 7], 该软件可预测药物人体清除率及相互作用, 本文采用最新版本 (V10, 2010 年)。以 Simcyp®预测结果作为 DLM 预测结果的相对评价指标。

药物信息及给药方案

匹伐他汀给药方案^[23, 24]: 口服给药 1 次。人给药

剂量为 1 mg, 大鼠为 1 mg·kg⁻¹, 预测时间段分别为 2 天和 1 天; 普伐他汀给药方案^[25, 26]: 给药 1 次。口服给药, 人给药剂量为 19.2 mg, 大鼠为 20 mg·kg⁻¹; 静脉给药, 人给药剂量为 9.9 mg, 大鼠为 5 mg·kg⁻¹, 预测时间段都为 3 h; 匹伐他汀与环孢素的相互作用给药方案^[27]: 匹伐他汀连续给药 6 天, 每日 1 次, 口服 2 mg; 第 6 天与环孢素同时服用, 环孢素剂量为 2 mg·kg⁻¹。普伐他汀与环孢素的相互作用给药方案^[28]: 分别给药 1 次。环孢素口服 6 mg·kg⁻¹, 同时服用普伐他汀 20 mg, 模拟天数为 1 天。

程序需要输入的药物信息见表 3, 其中环孢素的 K_i 值为 0.242 μmol·L⁻¹^[29], 药物的基本信息来自于文献^[3, 22, 30]。药物信息来源于文献^[23-26, 31-35]。

结果

1 预测结果的评价

普伐他汀、匹伐他汀两药单独给药的预测结果见表 4。本文同时对 AUC 和 CL 的预测结果进行评价, 以文献值 2 倍误差范围作为预测准确与否的评价指标。

由表 4 可知, 同一种属内 ($R_{\text{in vitro}}^a$ - $R_{\text{in vivo}}$ 、 $H_{\text{in vitro}}$ - $H_{\text{in vivo}}$) 和不同种属间 ($R_{\text{in vitro}}^a$ - $H_{\text{in vivo}}$ 、 $R_{\text{in vitro}}^b$ - $H_{\text{in vivo}}$ 、 $R_{\text{in vitro}}^c$ - $H_{\text{in vivo}}$) 的预测结果 83.3% (5/6) 和 71.4% (5/7) 在文献值 2 倍误差范围以内。经转运蛋白清除率种属间的比放因子校正的不同种属间预测结果 ($R_{\text{in vitro}}^c$ - $H_{\text{in vivo}}$) 与同一种属内预测结果 ($H_{\text{in vitro}}$ - $H_{\text{in vivo}}$) 准确度近似, 而未经校正的不同种属间预测结果 ($R_{\text{in vitro}}^a$ - $H_{\text{in vivo}}$ 、 $R_{\text{in vitro}}^b$ - $H_{\text{in vivo}}$) 则预测准确度降低。对于匹伐他汀, 除了 $R_{\text{in vitro}}^a$ - $R_{\text{in vivo}}$ 的预测倍数超出 2 倍, 其余预测结果都在 1.5 倍范围内。普伐他汀同一种属内预测结果都在 1.5 倍范围以内, 不同种属间口服给药预测结果在 2 倍范围内, 静脉给

Table 3 Kinetic parameters for modeling in rats and human. a: Calibrated with physiological scaling factor; b: Designated $\text{CL}_{\text{efflux}}$ value as 0.1 mL·min⁻¹·g⁻¹ liver based on literature^[35], arbitrarily; MID: Multiple indicator dilution method

Parameter	Pravastatin		Pitavastatin		Cyclosporin
	Rat	Human	Rat	Human	-
$\text{CL}_{\text{influx, MID}} / \text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ liver	9.06	1.66 ^a	91.5	31.76 ^a	-
$\text{CL}_{\text{influx}} / \text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ liver	2.47	0.448	53.3	18.5	-
$\text{CL}_{\text{efflux}} / \text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ liver ^b	0.1	0.1	0.1	0.1	-
$\text{CL}_{\text{int, sec}} / \text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ liver	0.906	0.154 ^a	0.865 ^[31]	0.240 ^[32]	-
$V_{\text{max}} / \text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ protein	6.87	0	319.4	77.4	0.000 125
$K_m / \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.846	-	323.3	45.1	0.499
V / L	3.5 ^[26]	61.6 ^[25]	0.335 ^[23]	325 ^[24]	91 ^[33]
f_{up}	0.64	0.47	0.0134	0.005 23	0.037
F		0.34		0.8	0.208 ^[34]

Table 4 Estimated pharmacokinetic parameters of pitavastatin (Pit) and pravastatin (Pra) by the DLM ($n = 10$). Expressed as median/90% CI. $R_{in vitro}^a$: Using transporter clearances from MID of rat, metabolic enzyme parameters from *in vitro* data of rat; $R_{in vitro}^b$: Using transporter clearances from MID of rat, metabolic enzyme parameters from *in vitro* data of human; $R_{in vitro}^c$: The same as $R_{in vitro}^b$, except the transporter clearances were calibrated with scaling factor in different species; $H_{in vitro}$: Using transporter clearances calibrated with physiological scaling factor and metabolic enzyme parameters *in vitro* in human; $R_{in vivo}$: Predicting pharmacokinetic parameters *in vivo* in rat; $H_{in vivo}$: Predicting pharmacokinetic parameters *in vivo* in human; $R = \text{Predicted Median} / \text{Observed Median} \times 100\%$; CI: Confidence interval; d: $n = 4$; e: $n = 8$

Route and dose	Model	AUC /ng·h·mL ⁻¹			CL /mL·min ⁻¹		
		Predicted	Observed	R /%	Predicted	Observed	R /%
Pit (1 mg·kg ⁻¹ , po)	$R_{in vitro}^a$ - $R_{in vivo}$	2 509	1 170 ^d	214.5	1.3	3.6 ^d	36.1
		(2 340-2 679)	(819.9-1 520)		(1.2-1.4)	(2.5-4.6)	
Pit (1 mg, po)	$R_{in vitro}^a$ - $H_{in vivo}$	67.1		67.5	204.3		73.8
		(59.2-75.0)			(177.4-231.2)		
	$R_{in vitro}^b$ - $H_{in vivo}$	68.4		68.8	197.9		71.5
		(62.0-74.8)			(178.3-217.4)		
$R_{in vitro}^c$ - $H_{in vivo}$	81.1	99.4	81.6	165.5	276.7	59.8	
	(76.0-86.2)	(67.9-130.9)		(155.0-176.0)	(189.1-364.3)		
$H_{in vitro}$ - $H_{in vivo}$	87.1		87.6	158.4		57.2	
	(75.3-98.9)			(135.6-181.1)			
Pra (20 mg·kg ⁻¹ , po)	$R_{in vitro}^a$ - $R_{in vivo}$	80.1	63.0 ^e	127.0	359.6	449.7 ^e	80.0
		(72.3-87.8)	(34.3-91.7)		(326.2-393.0)	(245.0-654.4)	
Pra (19.2 mg, po)	$R_{in vitro}^a$ - $H_{in vivo}$	40.1		60.6	2 808		170.9
		(34.1-46.2)			(2 394-3 223)		
	$R_{in vitro}^b$ - $H_{in vivo}$	42.9	66.2 ^e	64.8	2 605	1 644 ^e	158.5
(36.8-48.9)		(39.4-93.0)		(2 297-2 914)	(977.3-2 310)		
$H_{in vitro}$ - $H_{in vivo}$	82.1		124.0	1 379		83.9	
	(69.6-94.6)			(1 173-1 584)			
Pra (5 mg·kg ⁻¹ , iv)	$R_{in vitro}^a$ - $R_{in vivo}$	94.0	128.6 ^d	73.1	221.6	163.3 ^d	135.7
		(81.9-106.1)	(107.8-149.4)		(190.0-253.3)	(134.6-192.0)	
Pra (9.9 mg, iv)	$R_{in vitro}^a$ - $H_{in vivo}$	44.3		25.9	3 951		418.1
		(36.0-52.7)			(3 228-4 674)		
	$R_{in vitro}^b$ - $H_{in vivo}$	46.4	171.2 ^e	27.1	3 687	945 ^e	390.1
(39.5-53.2)		(147.2-195.2)		(3 165-4 209)	(746.4-1 144)		
$H_{in vitro}$ - $H_{in vivo}$	139.0		81.2	1 218		128.9	
	(121.6-156.4)			(1 074-1 362)			

药预测结果在 5 倍范围内。

作者用 Simcyp® v10 依据人离体参数模拟预测人在体情况进行软件间的预测比较。Simcyp®预测口服 1 mg 匹伐他汀、口服 19.2 mg 普伐他汀和静脉给药 9.9 mg 普伐他汀的 AUC 值分别为 76.09、74.33 和 419.08 (ng·h·mL⁻¹), 分别为文献值的 76.5%、112.3% 和 244.8%。DLM (87.6%、124.0% 和 81.2%) 预测准确性不低于 Simcyp®。

在考察 DLM 程序预测结果的稳定性时, 设定每次实验分为 10 组, 每组 10 个研究对象, 运行 DLM 程序后, 观察预测结果的变异情况。因表 4 中所有实验的变异情况相似, 本文仅展示普伐他汀静脉给药 $H_{in vitro}$ - $H_{in vivo}$ 模拟的结果, 见图 2。

DLM 通过人的离体参数预测获得的肝代谢累积量、胆汁分泌累积量、肝外排除率、肝代谢清除率和肝总清除率趋势与文献相符。

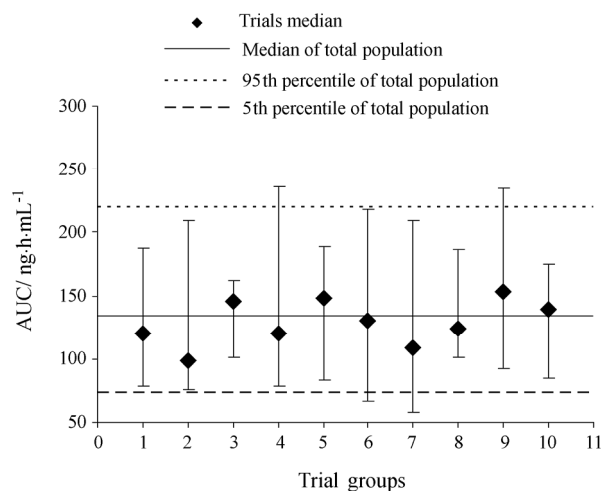


Figure 2 Simulation results using *in vitro* parameters in human to predict *in vivo* pharmacokinetic parameters in human for pravastatin after intravenous administration. Ten groups, each containing ten subjects, were randomly generated to evaluate the robustness of the DLM program

2 相互作用预测结果比较

本文采用 AUC_i/AUC 的比值进行评价, AUC_i 与 AUC 分别为添加抑制剂后和未添加抑制剂的药物血药浓度时间下的面积。DLM 预测普伐他汀与环孢素相互作用的 AUC_i/AUC 预测值为 4.22, 文献^[28]值为 5, 预测结果准确。对于匹伐他汀 DLM 的 AUC_i/AUC 预测值、文献值分别为 2.54、4.6, 预测结果偏小, 但能预测药物相互作用体内趋势。两种药物的 Simcyp® 的 AUC_i/AUC 预测值均为 1, DLM 预测结果优于 Simcyp®。

由于药动学 DDI 临床研究的样本例数通常为 8~12 人, 因此本文在考察预测结果的稳定性时, 仍然设定每次实验分为 10 组, 每组 10 个研究对象, 其变异情况与图 2 相似。

3 敏感性分析结果

对 DLM 进行转运蛋白活性的敏感性分析, 也就

是改变 DLM 中的输入参数 CL_{influx} 、 CL_{efflux} 和 $CL_{int, sec}$ 的大小, 研究和预测这些参数值的变动对血浆和肝中药物浓度时间曲线的影响。以表 3 中的参数值为初始值, 在初始值 3 到 0.33 倍内变动, 计算参数初始值及参数改变值的血药浓度时间曲线下的面积, 分别以 $AUC_{initial}$ 和 AUC_{change} 表示, 并计算两者比值 P 来衡量药动学参数的变化程度, 具体结果见图 3。

由图 3A 可知, 改变 CL_{influx} 对血浆及肝中药物浓度时间曲线 ($C-T$) 影响大。对于血浆来说 CL_{influx} 增大, 则药物浓度降低、AUC 减小; 而对于肝来说 CL_{influx} 增大, 药物浓度增高、达峰时间减短、AUC 不变。图 3C 中, $CL_{int, sec}$ 的改变对血浆药物 $C-T$ 影响小, 但对肝药物 $C-T$ 影响大。 $CL_{int, sec}$ 越大, 则肝浓度越低, 达峰时间越短, AUC 越小。 CL_{efflux} 相对于 CL_{influx} 和 $CL_{int, sec}$ 来说最为不敏感, 对血浆及肝药物 $C-T$ 几无影响, 见图 3B。

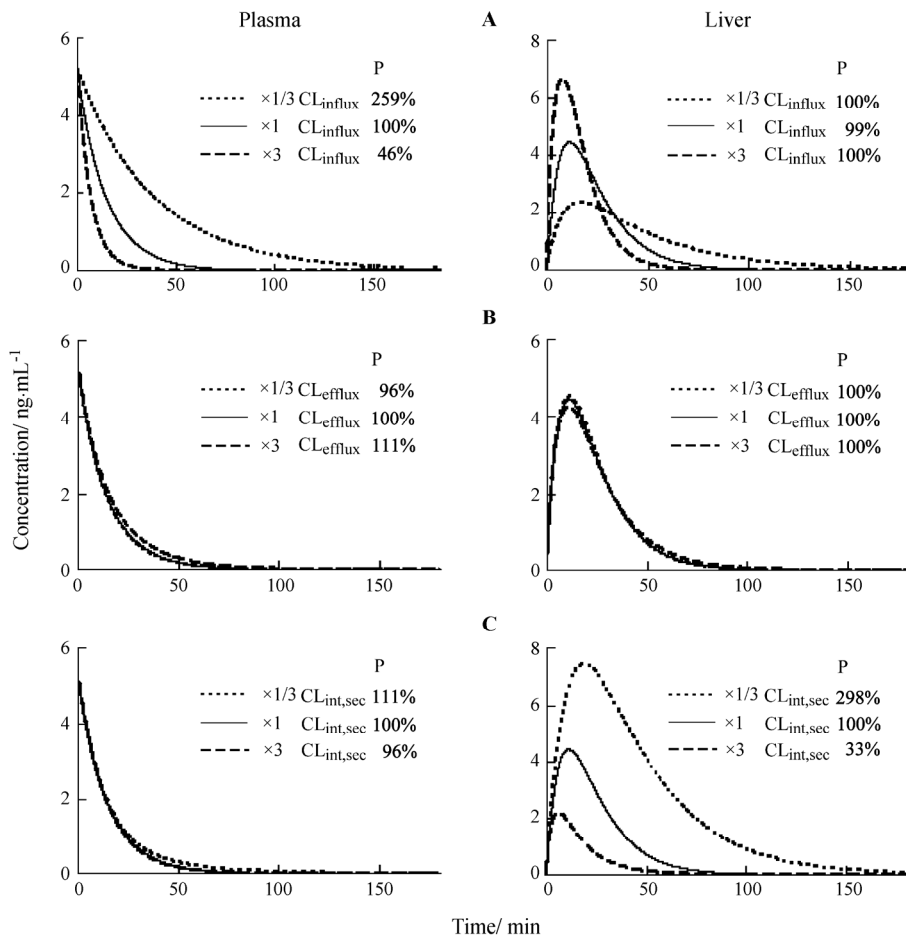


Figure 3 Effects of changes in transporter activity on time profiles (A–C) against plasma or liver concentrations of pravastatin in humans ($n = 10$). The concentration of drug in plasma or liver after intravenous administration (9.9 mg) were simulated using the DLM with varying hepatic transport activities over a 1/3- to 3-fold range of the initial values shown in Table 3; $P = AUC_{change} / AUC_{initial} \times 100\%$; where $AUC_{initial}$ is the area under the concentration-time curve (AUC) of drug simulated by the DLM using the initial values, and AUC_{change} is the AUC simulated using the 1/3- or 3-fold of initial values

讨论

本文介绍的 DLM 成功地用于普伐他汀和匹伐他汀在体药动学参数及相互作用的预测, 预测结果表明: 不同种属间预测值不如同一种属内预测值准确, 预测偏差较大, 但是偏差可通过对转运蛋白清除率进行种属间校正的方式减小。

药物的固有清除率取决于 V_{\max} 和 K_m 的比值。通过不同种属转运蛋白、代谢酶绝对量之间的比值可确定不同种属 V_{\max} 的比值, 即转运蛋白清除率种属间的比放因子。匹伐他汀离体参数经过转运蛋白清除率种属间的比放因子校正后, 预测结果 $R_{in\ vitro}^c-H_{in\ vivo}$ 与 $H_{in\ vitro}-H_{in\ vivo}$ 近似, 优于未经校正的不同种属间预测结果 ($R_{in\ vitro}^a-H_{in\ vivo}$ 、 $R_{in\ vitro}^b-H_{in\ vivo}$)。但是对于普伐他汀, 由于本实验室缺乏 OATP1B1 不同种属的绝对量数值, 而未经校正的 $R_{in\ vitro}^a-H_{in\ vivo}$ 和 $R_{in\ vitro}^b-H_{in\ vivo}$ 预测结果都不如 $H_{in\ vitro}-H_{in\ vivo}$ 预测结果, 其中静脉给药预测值超出 2 倍范围, 说明对转运蛋白清除率进行种属间校正是必要的。

DLM 假设药物与代谢酶和转运蛋白在不同种属之间的亲和力 (K_m) 相同, 这显然与实际不符。尽管由动物预测人的药物代谢过程比较成功, 但这仅具有一定的参考意义, 当不同种属之间进行外推时, 还是应谨慎对待获得的结果。引入种属 K_m 校正因子, 应该可以进一步优化预测结果。 K_m 值可通过相应体外实验获得并计算 K_m 校正因子。DLM 也可结合整体试验数据, 拟合出相应的酶代谢清除率和转运蛋白清除率, 并通过不同种属之间 V_{\max} 的比值, 求出种属 K_m 校正因子。

敏感性分析 (图 3C) 表明, $CL_{int, sec}$ 的改变对血浆药时曲线几乎没有影响, 但对肝药时曲线影响很大。从血浆药物浓度看, 改变 $CL_{int, sec}$ 的工具药对受试药不存在药动性相互作用, 而实际上肝脏中药物浓度差异很大, 存在药物相互作用。单纯进行体内实验测定血药浓度并不能完全判断药物是否存在相互作用。

DLM 与传统预测模型相比可以进行不同种属之间的比放和考察人口分布对结果的影响^[36, 37]。不同人种间药动学行为、临床响应有时差异较大^[38], DLM 整合了中国人口统计学, 其预测结果更适合于亚洲人。在 DDI 预测过程中, DLM 采用了动态抑制剂浓度, 比单纯的应用固定抑制剂浓度的 $[I]/K_i$ 模型更为合理^[39]。DLM 引入转运蛋白信息后, 与 Simcyp®相

比能够更为准确的预测出肝转运蛋白上发生的药物相互作用, 预测结果更接近文献值。

DLM 即使经过反复优化, 预测结果依然会与实际值存在差异, 原因分析可能如下: ① DLM 仅用口服生物利用度 F 来描述药物吸收的动力学过程, 太过简化。当肝的固有清除率达到 $100\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 应考虑肝、肠摄取比^[39], 故 DLM 改进时将考虑整合肠吸收模型。② 体外实验获得的 K_i 值往往大于体内 K_i 值, 差异甚至达百倍以上。单纯的采用体外 K_i 值进行预测会造成假阴性结果, 这可能是 DLM 进行 DDI 预测时结果偏低的原因之一, 故 DLM 需对 K_i 值进一步校正^[39]。③ 各种比放因子并不准确, 还需要通过长期大量的实验来进一步优化。④ 文献中的药动学参数值来自健康志愿者或患者给药后的临床药代动力学数据, 与 DLM 中的人口统计学有所不同。由于实验误差、检测误差、人种差异等都会导致各文献值有差异。如能够用 Meta 分析对文献值进行校正, 结果可能会更加可靠。

DLM 在预测领域还需要在实践过程进一步优化、提高, 使其更好地服务于临床和新药研发。

References

- [1] FDA. Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products [EB/OL]. New Hampshire Ave: U.S. FDA, 2004, [2010-12-1]. <http://www.fda.gov/downloads/ScienceRese-arch/SpecialTopics/CriticalPathInitiative/CriticalPathOpportunitiesReports/ucm113411.pdf>.
- [2] FDA. FDA Critical Path [EB/OL]. La Jolla, CA: California Healthcare Institute, [2010-12-1]. http://www.chi.org/uploaded/Files/Industry_at_a_glance/CPwhitepaperfinal.pdf.
- [3] Watanabe T, Kusahara H, Maeda K, et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling to predict transporter-mediated clearance and distribution of pravastatin in humans [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2009, 328: 652-662.
- [4] Rowland YK, Jamei M, Yang J, et al. Physiologically based mechanistic modeling to predict complex drug-drug interactions involving simultaneous competitive and time-dependent enzyme inhibition by parent compound and its metabolite in both liver and gut - the effect of diltiazem on the time-course of exposure to triazolam [J]. Eur J Pharm Sci, 2010, 39: 298-309.
- [5] Perdaems N, Blasco H, Vinson C, et al. Predictions of metabolic drug-drug interactions using physiologically based modeling: two cytochrome P450 3A4 substrates coadministered

- with ketoconazole or verapamil [J]. Clin Pharmacokinet, 2010, 49: 239–258.
- [6] Zhang QH, Li Y. Quantitative prediction of *in vivo* drug-drug interactions based on *in vitro* inhibition or/and induction data for CYP3A4 [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2010, 45: 952–959.
- [7] Jamei M, Marciniak S, Feng K, et al. The Simcyp population-based ADME simulator [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009, 5: 211–223.
- [8] Zhang J, Liu KX. Intestinal absorption and renal excretion mediated by transporters and the relationship with drug-drug interaction [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2010, 45: 1089–1094.
- [9] Lai YR. Identification of interspecies difference in hepatobiliary transporters to improve extrapolation of human biliary secretion [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009, 5: 1175–1187.
- [10] Li N, Joe P, Olga VN, et al. LC-MS/MS mediated absolute quantification and comparison of bile salt export pump and breast cancer resistance protein in livers and hepatocytes across species [J]. Anal Chem, 2009, 81: 2251–2259.
- [11] Li N, Olga VN, Zhang Y, et al. Absolute quantification of multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ABCC2) using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anal Biochem, 2008, 380: 211–222.
- [12] Ito K, Houston JB. Prediction of human drug clearance from *in vitro* and preclinical data using physiologically based and empirical approaches [J]. Pharm Res, 2005, 22: 103–112.
- [13] Liu L, Pang KS. The roles of transporters and enzymes in hepatic drug processing [J]. Drug Metab Dispos, 2005, 33: 1–9.
- [14] Yu CY, Lo YH, Chiou WK. The 3D scanner for measuring body surface area: a simplified calculation in the Chinese adult [J]. Appl Ergon, 2003, 34: 273–278.
- [15] Johnson TN, Tucker GT, Tanner MS, et al. Changes in liver volume from birth to adulthood: a meta-analysis [J]. Liver Transpl, 2005, 11: 1481–1493.
- [16] Katori R. Normal cardiac output in relation to age and body size [J]. Tohoku J Exp Med, 1979, 128: 377–387.
- [17] Lauth WW, Greenway CV. Conceptual review of the hepatic vascular bed [J]. Hepatology, 1987, 7: 952–963.
- [18] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans [J]. Pharm Res, 1993, 10: 1093–1095.
- [19] Gao H, Yao L, Mathieu HW, et al. In silico modeling of nonspecific binding to human liver microsomes [J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36: 2130–2135.
- [20] Austin RP, Barton P, Cockcroft SL, et al. The influence of nonspecific microsomal binding on apparent intrinsic clearance, and its prediction from physicochemical properties [J]. Drug Metab Dispos, 2002, 30: 1497–1503.
- [21] Kamiie J, Ohtsuki S, Iwase R, et al. Quantitative atlas of membrane transporter proteins: development and application of a highly sensitive simultaneous LC/MS/MS method combined with novel in-silico peptide selection criteria [J]. Pharm Res, 2008, 25: 1469–1483.
- [22] Watanabe T, Kusuhara H, Maeda K, et al. Investigation of the rate-determining process in the hepatic elimination of HMG-CoA reductase inhibitors in rats and humans [J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38: 215–222.
- [23] Fujino H, Kojima J, Yamada Y, et al. Studies on the metabolic fate of NK-104, a new inhibitor of HMG-CoA reductase (4): interspecies variation in laboratory animals and humans [J]. Xenobiotic Metab Dispos, 1999, 14: 79–91.
- [24] Di B, Su MX, Yu F, et al. Solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the determination of pitavastatin in human plasma and urine for application to Phase I clinical pharmacokinetic studies [J]. J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci, 2008, 868: 95–101.
- [25] Singhvi SM, Pan HY, Morrison RA, et al. Disposition of pravastatin sodium, a tissue-selective HMG-CoA reductase inhibitor, in healthy subjects [J]. Br J Clin Pharmacol, 1990, 29: 239–243.
- [26] Kivisto KT, Grisk O, Hofmann U, et al. Disposition of oral and intravenous pravastatin in MRP2-deficient TR-rats [J]. Drug Metab Dispos, 2005, 33: 1593–1596.
- [27] Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, et al. Membrane transporters in drug development [J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9: 215–236.
- [28] Olbricht C, Wanner C, Eisenhauer T, et al. Accumulation of lovastatin, but not pravastatin, in the blood of cyclosporine-treated kidney graft patients after multiple doses [J]. Clin Pharmacol Ther, 1997, 62: 311–321.
- [29] Hirano M, Maeda K, Shitara Y, et al. Drug-drug interaction between pitavastatin and various drugs via OATP1B1 [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34: 1229–1236.
- [30] Tanaka C, Kawai R, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetics of cyclosporine A: reevaluation of dose-nonlinear kinetics in rats [J]. J Pharmacokinet Biopharm, 1999, 27: 597–623.
- [31] Abe K, Bridges AS, Yue W, et al. *In vitro* biliary clearance of

- angiotensin II receptor blockers and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors in sandwich-cultured rat hepatocytes: comparison with *in vivo* biliary clearance [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 326: 983-990.
- [32] Abe K, Bridges AS, Brouwer KL. Use of sandwich-cultured human hepatocytes to predict biliary clearance of angiotensin II receptor blockers and HMG-CoA reductase inhibitors [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 447-452.
- [33] Ptachcinski RJ, Venkataramanan R, Burckart GJ. Clinical pharmacokinetics of cyclosporine [J]. *Clin Pharmacokinet*, 1986, 11: 107-132.
- [34] Gupta SK, Benet LZ. Absorption kinetics of cyclosporine in healthy volunteers [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1989, 10: 591-596.
- [35] Ishigami M, Tokui T, Komai T, et al. Evaluation of the uptake of pravastatin by perfused rat liver and primary cultured rat hepatocytes [J]. *Pharm Res*, 1995, 12: 1741-1745.
- [36] Edginton AN, Theil FP, Schmitt W, et al. Whole body physiologically-based pharmacokinetic models: their use in clinical drug development [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4: 1143-1152.
- [37] Zhang L, Zhang YD, Zhao P, et al. Predicting drug-drug interactions: an FDA perspective [J]. *AAPS J*, 2009, 11: 300-306.
- [38] Inoue S, Howgate EM, Rowland-Yeo K, et al. Prediction of *in vivo* drug clearance from *in vitro* data. II: potential inter-ethnic differences [J]. *Xenobiotica*, 2006, 36: 499-513.
- [39] Kato M, Shitara Y, Sato H, et al. The quantitative prediction of CYP-mediated drug interaction by physiologically based pharmacokinetic modeling [J]. *Pharm Res*, 2008, 25: 1891-1901.

《药物流行病学杂志》 欢迎订阅 欢迎投稿

《药物流行病学杂志》为科技部中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊，湖北优秀期刊，中国药学会主办，1992年创刊，是此新兴边缘学科在我国乃至亚洲第一本公开发行的专业期刊，为国内各大数据库和《国际药文摘》等收录，2009年被遴选进入WHO西太平洋地区医学索引。设有述评、论著、临床用药与药效评价、药物警戒与安全用药、药物利用与药物经济学、讲座·药物警戒、综述·论坛和病例报道·病案分析等栏目；大16开本，56页，每月15日出版，每期定价9元，全年108元。国内统一刊号：CN42-1333/R，邮发代号38-187。漏订者可向编辑部补订。

编辑部地址：湖北省武汉市兰陵路2号，邮编：430014；电话：027-82778580, 82835077。在线投稿及查询网址：<http://tg.cnjpe.org>；杂志网址：<http://www.cnjpe.org>；投稿备份电邮：cnjpetg@163.com。

该刊早在2003年就开设杂志独立网站，改造工作流程，自行设计开发了远程稿件处理系统，大大加快了稿件审理流转速度，方便了与作者的信息交互，打破专家地域局限，增加了一批国际编委，权威的审稿专家网络和便捷的信息传递系统，保证了杂志对重要基金项目产文等优质稿件的快速审理和优先及时发表；同行评价水平高，审结周期短，编辑部承诺：在作者密切配合下，90天内可获知稿件处理结果；省、部级基金或重要成果的首发论文60天左右内刊登；国家级基金首发论文30天左右刊登。