

葡萄糖醛酸结合反应及其在药物代谢转化中的作用

史雪岩

中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100193

摘要 综述了葡萄糖醛酸结合反应在药物代谢转化中的作用研究进展。论述了催化药物葡萄糖醛酸结合反应的葡萄糖醛酸转移酶(UDP-Glucuronosyltransferases, UGTs)的分布、分类及其底物多样性,药物葡萄糖醛酸结合反应的产物类型,药物葡萄糖醛酸结合反应的毒理学效应等;阐述了药物代谢中的去葡萄糖醛酸结合反应的风险和意义,脑部葡萄糖醛酸转移酶的分布活性及功能,葡萄糖醛酸结合产物的分析方法,葡萄糖醛酸结合反应过程的个体差异、种间差异等。研究表明,葡萄糖醛酸结合反应是重要的药物清除与代谢反应,与药物代谢、药效、毒副作用及癌症的发生等关系密切。

关键词 葡萄糖醛酸结合反应;葡萄糖醛酸转移酶;药物代谢

中图分类号 R969.1

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)04-0101-09

The Roles of Glucuronidation in Drug Metabolism

SHI Xueyan

College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract Glucuronidation as a major phase II reaction plays important roles in biotransformation, metabolism and disposition of drugs, such as nicotine, morphine, and Tamoxifen used for curing breast cancer. This paper reviews the recent research development in drug glucuronidation. The tissue distribution, polymorphism, and substrate diversity of UDP-Glucuronosyltransferases (UGTs) for glucuronidation, products of drug glucuronidation, and pharmacology and toxicology of glucuronidation for drug metabolism are discussed, together with the risks of de-glucuronidation, the distribution and significances of UGTs in brain, the individual differences, species differences of drug glucuronidation, the analysis methods for drug glucuronides, and different research results obtained for drug glucuronidation. This review will provide some food for thought in understanding the recent developments of glucuronidation in drug disposition and metabolism, and it will be useful for further researches on the drug glucuronidation and metabolism, efficacy and toxic side effects of drugs, and the relation between drug glucuronidation and the occurrence of cancers. It is important not only to understand the roles of glucuronidation in drug metabolism, but also to develop new drugs with high efficacy, quick metabolism, and small risk of side toxic effects.

Keywords glucuronidation; UDP-Glucuronosyltransferases (UGTs); drug metabolism

生物体内,药物可以通过多种路径和反应发生生物转化和代谢。药物转化和代谢所涉及反应,通常被分为两类:一类是药物分子官能团所发生的氧化、还原、水解等反应,这类反应又称为药物代谢的I相反应。通过I相的官能团反应,药物分子的代谢物有的可以直接被排出体外,有的则具有可继续发生反应的官能团,从而可以发生第二类代谢反应——结合反应。结合反应指药物本身或其代谢物与生物体的内源物

质或其他外源化合物结合,产生新的极性更强的代谢物,从而可以进入胆汁和尿中,被排出体外,达到代谢的目的。这些结合反应,又称为II相反应^[1]。II相的结合反应包括很多种,如化学物质与生物体的内源物质谷胱甘肽结合生成结合物^[2],与硫酸盐结合的反应,以及与生物体内的葡萄糖醛酸结合的葡萄糖醛酸结合反应,都是很重要的结合反应^[3]。

对药物代谢的研究,大都集中于I相反应,研究药物发生

收稿日期:2009-12-24

基金项目:国家自然科学基金项目(30771426);教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(NCET-06-0113)

作者简介:史雪岩,副教授,研究方向为农药毒理学,电子信箱:shixueyan@cau.edu.cn

的氧化、还原、水解等反应及表征在生物体内促使药物进行这些代谢反应的生物酶系统的活性,如细胞色素 P450 酶系等。目前这些研究已经取得了很大进展^[2]。

作为重要的代谢过程,Ⅱ相结合反应在药物代谢中的普遍存在及其重要作用,引起了研究者的重视。其中,Ⅱ相反应中的葡萄糖醛酸结合反应,是在葡萄糖醛酸转移酶(UDP-Glucuronosyltransferases,UGTs)的催化下,生物体内源的葡萄糖醛酸转移到药物分子上,与药物分子结合,产生药物分子的葡萄糖醛酸结合产物,从而具有了比母体药物分子更大的水溶性和极性,可以通过胆汁和尿排出体外^[4]。有研究报道,药物的葡萄糖醛酸结合反应可以解释药物Ⅱ相代谢的33%。葡萄糖醛酸结合反应在药物代谢中具有重要作用^[2]。

通常,药物分子的葡萄糖醛酸结合产物,比其母体药物分子更能解毒和去活化,可达到解毒代谢的目的^[4-5]。但是也有一些药物分子,与葡萄糖醛酸结合产生的代谢物,比母体化合物具有更强的药理、毒理及生物活性,如吗啡分子6位上的葡萄糖醛酸结合产物——吗啡-6-葡萄糖醛酸结合物(M-6-Glu),比吗啡具有更强的止痛作用,是活化了了的葡萄糖醛酸结合产物,而吗啡分子3位上的葡萄糖醛酸结合产物——吗啡-3-葡萄糖醛酸结合物(M-3-Glu),则是去活化了了的葡萄糖醛酸结合产物。有一些羧酸化合物的葡萄糖醛酸结合产物还具有毒副作用^[5]。因此研究药物的葡萄糖醛酸结合反应,对了解药物分子的药理和毒理活性具有重要意义。本文对葡萄糖醛酸结合反应及其在药物代谢中的作用加以综述。

1 葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)

葡萄糖醛酸结合反应,受葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)多基因家族调节。UGTs催化体内尿苷二磷酸葡萄糖醛酸(Uridine Diphosphate Glucuronic Acid,UDPGA)的葡萄糖醛酸部分转移到受体分子中,葡萄糖醛酸通过—OR,—SR,—NR'R"或—CR等基团与底物分子结合,生成 β -D-葡萄糖醛酸苷。许多内源和外源的亲核性化合物,如胆红素(Bilirubin)、雌激素(Estrogen)、类固醇激素(Steroids Hormones)、胆酸(Bile Acids)、生物胺(Biogenic Amines)、脂不溶性维生素(Fat-insoluble Vitamins)、环境毒素、治疗药物等均可被葡萄糖醛酸结合。UGTs参与了酚类、多环芳烃、芳胺等致癌物或潜在致癌物的葡萄糖醛酸结合反应,UGTs基因的变化与胰腺癌、乳腺癌等一些癌症风险相关^[2]。

UGTs所具有的基因多态性和表型复杂性,导致药物代谢中葡萄糖醛酸结合反应的个体差异、种间差异、性别差异,甚至对毒物暴露和用药史敏感的差异等,因此,UGTs的多态性与其对毒物和癌症的敏感性的关系,UGTs表达和活性变化所产生的不同效应,均引起了广泛关注^[2],了解UGTs,对于筛选可通过葡萄糖醛酸结合解毒或活化的药物分子具有重要意义。

1.1 葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)的分布

UGTs是膜键合的糖蛋白,位于细胞的内置网膜上^[6-7]。肝

脏是葡萄糖醛酸结合反应发生的主要场所,大多数UGTs也主要在肝上表达。但有研究表明,UGTs广泛分布于各组织,在肝外组织,如肾、肺、胃肠道、前列腺、脾、皮肤及大脑中都有UGTs的表达^[1,5,8-9],并且有些UGTs只在特定的肝外组织表达,如UGT1A7、UGT1A8和UGT1A10^[10]。

UGTs分布和表达的组织差异导致了葡萄糖醛酸结合反应的组织特异性。有研究考察了大白鼠6个不同组织微粒体的UGTs对7种类维生素A(Retinoids)的葡萄糖醛酸结合反应的催化作用,发现鼠肝、肾和睾丸的UGTs活性大于肠、肺;鼠脑微粒体UGTs不具有活性,UGTs的稳定性随组织和底物而变^[11]。抗癫痫药物瑞替加滨(Retigabine)的N-葡萄糖醛酸结合反应,不仅可以在人肝中进行,也能在肝外组织——肾中进行^[12]。

Takashi^[13]用防治骨质疏松的药物雷洛昔芬(Raloxifene)研究了肠道UGTs对口服药物生物利用度的影响,发现主要被UGT1A8和UGT1A10催化的肠内葡萄糖醛酸结合反应在药物的第一步代谢中发挥了主要作用,导致了低的口服生物利用度。肠内的葡萄糖醛酸结合代谢对口服药物生物利用度的影响大于肝内葡萄糖醛酸结合代谢。

1.2 葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)的分类及其底物特异性

UGTs家族的多样性是在其纯化研究中发现的。近年利用分子克隆技术分离了编码UGTs同工酶的cDNA,并且在人工表达体系中分析了它们的底物结构范围^[5],发现UGTs家族的多样性使多种结构不相关的化合物均可被葡萄糖醛酸结合。

根据UGTs的序列相似性,UGTs超家族被分为2个家族,即UGT1和UGT2。家族1的UGTs彼此间基因序列同源性超过50%,而家族2的UGTs基因序列同源性则小于50%^[5-6,8]。

UGT1的底物包括胆红素、1-萘酚、4-甲基-7-羟基香豆素、4-硝基酚等小分子平面酚、卤代酚和大体积烷基取代酚以及雌酮等类固醇。遗传性UGT1家族基因的缺乏,引起了临床症状,如erigler-najjar 1型和2型综合症(CN1,CN2),表现为不可与胆红素结合(Hyper Bilirubinaemia),从而导致幼年的胆红素脑病(Bilirubin Encephalopathy)具有较高的死亡率^[5]。UGT1A1的多态性,与Gilbert's综合症也直接相关,这主要与人体内葡萄糖醛酸结合反应的改变有关^[14]。

哺乳动物的UGT2家族,进一步分为3个亚家族,即UGT2A、UGT2B和UGT2C。UGT2A只包括在鼻黏膜中发现的一种同工酶形式,对平面酚等气味物质有活性;UGT2B中已有多个同工酶被克隆和表征。UGT2B的主要内源性底物是类固醇及其代谢物以及胆酸;UGT2C主要由一个兔肝中的同工酶组成。迄今,尚未观察到UGT2家族基因缺乏所导致的临床综合症^[5]。

UGTs的基因多态性导致了在药物葡萄糖醛酸结合反应过程中UGTs活性的巨大变化。考察UGT1A4基因编码的3个同工酶对乳腺癌治疗药物它莫西芬(Tamoxifen,TAM)及其羟基代谢物的葡萄糖醛酸结合反应的催化作用,发现

UGT1A4 第 48 位氨基酸(Leu>Val)的多态性显著改变了 TAM 及其活性羟基代谢物的葡萄糖醛合速率,因而在对 TAM 治疗的个体响应差异中发挥了重要作用^[15]。同样,UGT2B10 第 64 位氨基酸(Asp>Tyr)的多态性导致了其在尼古丁和其代谢物可替宁的 N-葡萄糖醛合过程中的活性变化,UGT2B10 第 67 位氨基酸(Asp>Tyr)的多态性则导致了其在葡萄糖醛合功能上的缺失^[16]。

UGTs 的基因结构在种间是高度保守的。有研究发现,只有人的 UGT1A4 和 1A3 显示了催化脂肪族三级胺形成 4 级铵连接的葡萄糖醛合物形成的活性。编码 UGT1A4 基因第一个外显子中的一个突变,导致了伪-基因(Pseudo-gene),这可以解释一些物种不能形成 4 级铵连接的 N-葡萄糖醛合合物^[17]。

通过对 UGTs 基因的克隆以及在几个种类的动物中异源表达,已经进行了大量的底物特异性鉴别工作。迄今,有 12 个 UGTs 同工酶在昆虫细胞中被表达,并且已经商品化^[6]。

UGTs 酶的分子调节目前还不完全清楚,但各种转录因子起了调节作用,单个 UGTs 酶的表达与基因多态性有关,并且这些酶可以被外源物质抑制或诱导。

1.3 葡萄糖醛合产物的类型及相关 UGTs

葡萄糖醛合现象存在于大量具有不同官能团的底物中,在 UGTs 的催化下,葡萄糖醛通过是与底物的 O、S、N 或 C 原子连接形成葡萄糖醛的代谢物,可被分成 O-葡萄糖醛(O-Glu)、S-葡萄糖醛(S-Glu)、N-葡萄糖醛(N-Glu)和 C-葡萄糖醛(C-Glu)等几种类型^[7,18]。

其中,O-葡萄糖醛合合物主要是 1-萘酚等酚类化合物产生的。目前与酚和羧酸有关的 O-葡萄糖醛合反应的酶学已经在不同种类的动物、肝以及肝外组织制备液、各种疾病状态下等进行了广泛研究。

N-葡萄糖醛合反应可在各种含氮官能团上发生,如烷基胺、芳基胺、羟基胺、氨基甲酸酯、脲、硫脲、磺胺等。各种含 N 杂环如咪唑、乙内酰胺、嘧啶、吡啶、四氢异喹啉、三嗪等也可被葡萄糖醛^[18]。人体中的甘素(Dulcin)N-葡萄糖醛合合物是迄今已知的唯一一种酰胺 N-葡萄糖醛合合物^[19]。一系列四氮唑以及几种含 N-杂环化合物的 N²-葡萄糖醛合合物也被表征^[18]。

由于许多药物均带有含氮的官能团,因此 N-葡萄糖醛合反应在参与代谢转化外源药物方面具有重要的作用。如一级胺药物氨苯砜(Dapsone)、二级胺药物磺胺二甲氧基嘧啶(Sulfadimethoxine)和氯氮平(Clozapine)均可被代谢成 N-葡萄糖醛合合物(N-Glu)。带有三级胺的药物被代谢成四级铵连接的葡萄糖醛合合物(N⁺-Glu),是这些化合物独特而重要的代谢路径,而且这个代谢是高等动物种类依靠的^[17,20]。如尼古丁及其代谢物可替宁(Cotinine)的 N-葡萄糖醛合合物是芳三级胺的糖苷产物^[21]。虽然四级铵连接的葡萄糖醛合合物(N⁺-Glu)的药理重要性还不明确,但抗组胺剂(Antihistamine)和抗抑郁药(Antidepressant)等多种外源化合物的四级铵连接的 N⁺-Glu 均在人尿中被识别。四级铵连接的 N⁺-Glu 在具有脂

肪三级胺基团的药物中,可以解释尿中 10% 的药物代谢物^[22]。

为更好地掌握药物的葡萄糖醛合反应及其产生的药理、毒理等作用,解释药物代谢及药效的个体响应差异等现象,目前,多种催化含氮化合物的 N-葡萄糖醛合反应的 UGTs 同工酶已经被纯化、克隆和表达。

但对于催化 N-葡萄糖醛合反应(N-Glu)的 UGTs 的表征和识别,所报道的很多研究结果差异很大。如有研究报道,催化 N-Glu 的同工酶主要是人的 UGT1A4、UGT1A3 及其同系物,其中,只有人的 UGT1A4 和 UGT1A3 显示了催化三级胺形成四级铵连接的 N⁺-Glu 的活性^[17,23]。也有研究考察了包括 1A3、1A4 在内的 10 种重组 UGTs 酶,发现它们均没有催化尼古丁及可替宁形成 N⁺-Glu 的 UGTs 酶活性^[24]。

有报道在大白鼠和小白鼠中不易形成 N-Glu,尤其是难以形成四级铵连接的 N⁺-Glu,因而研究主要集中在非啮齿动物品种如兔子中 N-Glu 的形成^[25]。但有研究发现大白鼠形成了卡马西平(Carbamazepine,CBZ)中一级胺的 N-Glu,并且其葡萄糖醛合反应被 UGT2B7 所催化,而不是被 UGT1A4 和 UGT1A3 及它们的同系物所催化^[25]。

C-葡萄糖醛合合物是少有的代谢物,催化其形成的 UGTs 也很少被表征。目前仅报道了 3 种类型的 C-Glu。Richter 等^[6]报道苯基丁氮酮(Phenylbutazone,PB)代谢中存在一种 C-Glu,并在人尿中被监测到。并且只有表达有 UGT1A9 的肝、肾显示了催化 PB 的 C-Glu 的活性。另外两种分别是:Δ⁶-四氢大麻酚(Δ⁶-tetrahydrocannabinol)的 Δ⁶-C-芳基被大白鼠肝 UGTs 催化的葡萄糖醛合、氯乙基戊烯炔醇(Ethchlorinol)的乙酰基 C-葡萄糖醛合合物在兔尿中作为主要代谢物被观察到。C-Glu 具有耐受 β-葡萄糖醛苷酶(Glucuronidases)水解的特性^[6]。

2 药物葡萄糖醛合反应的药理和毒理效应

2.1 葡萄糖醛合反应的药理和毒理效应

葡萄糖醛合反应改变了药物在生物体内的药理和毒理效应^[15]。大多数药物的葡萄糖醛合反应是解毒机制^[26],这是由于减少了药物对其靶标的亲和性,增加了它们在胆汁和尿中的排泄。因此,葡萄糖醛合作为主要的解毒路径之一,在医药、农药、致癌物及其他外源化合物的转化、代谢和排除中具有重要作用。

但有些药物的葡萄糖醛合产物的生物活性增强。如吗啡-6-葡萄糖醛合合物比吗啡本身具有更高的止痛生物活性,相反,吗啡的另一种代谢物——吗啡-3-葡萄糖醛合合物却具有比吗啡低的止痛生物活性。这可能是由于不同的 UGTs 同工酶催化了啡的不同葡萄糖醛合过程。个体对啡的敏感性不同,可能与个体所具有的各种 UGTs 的相对表达水平不同有关^[27]。

除了降低或增强药物的生物活性外,葡萄糖醛合反应还引起了其他效应。葡萄糖醛合反应与一些羧酸类药物的副作用有关,引起了毒性免疫响应^[27]。如含羧酸的化合物

托美汀 (Tolmetin)、阿司匹林 (Acetylsalicylic Acid)、佐美酸 (Zomepirac) 等, 可通过羧基的葡萄糖醛酸结合反应而被激活, 形成高反应活性的酰基葡萄糖醛酸结合物, 进一步形成蛋白加合物, 成为潜在的免疫原, 进而引起免疫反应等副的过敏反应^[26]。非类固醇类抗炎药物 (Nonsteroidal Anti-inflammatory) 双氯芬酸 (Diclofenac), 引起了严重的肝中毒, 虽然引起双氯芬酸毒性的机制还不清楚, 但可能是由于多种 UGTs 催化而形成的活性代谢物——双氯芬酸酰基葡萄糖醛酸结合物共价修饰了组织蛋白所导致^[6]。

胆汁淤积或高非结合胆红素血症 (Hyper Bilirubinemia) 还可引起肝损伤, 因而参与胆红素葡萄糖醛酸结合反应的 UGTs 酶可被化学物质误导, 而参与副作用。因此了解 UGTs 特异性及多态性, 可以预测和阻止一些药物副作用。

Dutton 等研究了葡萄糖醛酸结合反应除解毒功能之外的其他功能, 发现了类固醇的葡萄糖醛酸结合物在代谢控制中的作用及毒性葡萄糖醛酸结合产物在致癌中的作用^[26]。

Hu 等研究表明, 个体 UGTs 活性的变化不但与其对癌症诱导物苯并(a)芘 (benz[a]pyrene (BP)) 的抗性有关, 而且个体的葡萄糖醛酸结合能力与毒性 BP 代谢物的共价键含量及产生的细胞毒性负相关。具有低葡萄糖醛酸结合能力的个体, 具有由多环芳烃引起癌症的高风险。葡萄糖醛酸结合反应还可以调节和保护组织免受具有反应活性的 BP 代谢物的伤害^[2]。

葡萄糖醛酸结合反应还有可能影响多耐药相关蛋白 (MRP) 的转运活性, 从而影响药物的药理和毒理效应。但也有研究表明, 100 μmol/L 的尼古丁及其代谢物可替宁, 以及反式-3-羟基可替宁的葡萄糖醛酸结合物不具有影响 MRP1、MRP2 及 MRP3 转运有机阴离子的能力, 因此多耐药相关蛋白 MRP1、MRP2、MRP3 的生理功能不可能被人血清中的尼古丁及其代谢物的葡萄糖醛酸结合物的浓度所影响^[28]。

可见, 葡萄糖醛酸结合反应除了具有增加药物分子的极性和水溶性、易于排出体外的解毒功能外, 还具有增加一些药物分子的生物活性、毒性, 甚至与癌症等有关的其他作用。

2.2 去葡萄糖醛酸结合的风险和意义

虽然特定 UGTs 的基因型和表型与抵御化学致癌物的保护有一定关系, 如大多数药物经葡萄糖醛酸的结合作用, 形成了高水溶性的葡萄糖醛酸结合物, 进入胆酸和尿中而被排出体外。由于药物的葡萄糖醛酸结合物通常不是很稳定, 在一定条件下有些药物的葡萄糖醛酸结合物还会经历去葡萄糖醛酸结合作用, 恢复成母体化合物而被重新释放, 如进入胆酸的葡萄糖醛酸结合物可被再吸收进入肝肠循环^[29]。

与葡萄糖醛酸结合是乳腺癌治疗药物它莫西芬 (Tamoxifen, TAM) 代谢的主要形式, 在粪便中发现没有结合物的 TAM 代谢物, 可能是由于肠道微生物中的 β-葡萄糖醛酸苷酶 (β-Glucuronidase) 催化了小肠中的去葡萄糖醛酸结合作用^[30]。内源甲状腺素 (Thyroxine, T4) 和三碘甲状腺原氨酸 (Triiodothyronine, T3) 与葡萄糖醛酸的结合是已知的代谢途径, 其结合产物 T4-Glu 和 T3-Glu 进入胆汁中排出。有生理

研究表明, T4-Glu 在人和大鼠中可被部分去结合^[31]。

葡萄糖醛酸结合是一把双刃剑, 在某些情况下, 如细菌可导致某些药物的活性代谢物在结肠中的去葡萄糖醛酸结合, 增加了其在结肠中的诱癌能力。类似地, 人尿的 pH 环境也导致一些代谢物的去葡萄糖醛酸结合, 增加了患膀胱癌的风险^[2]。

对芳胺的暴露是人患膀胱癌的主要病因, 芳胺只有经过活化后才变成致癌物。研究发现, N-葡萄糖醛酸结合反应是芳胺代谢中的一个重要路径, 如联苯胺 (Benzidine) 和 N-乙酰基联苯胺 (N-Acetylbenzidine) 由于在肝中的葡萄糖醛酸结合作用而被解毒。但是当这些葡萄糖醛酸结合物进入膀胱内腔, 酸性的尿环境使得它们的葡萄糖醛酸结合物分解, 并释放母体化合物联苯胺和 N-乙酰基联苯胺, 在膀胱内进一步活化产生致癌物^[32]。由此可见研究药物的葡萄糖醛酸结合反应的复杂性和重要性。

在肉制品烤制过程中产生的 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), 具有致突变和致癌性的杂环芳胺, 可转化为 N-Glu 而通过尿液排出体外。有研究用水合肼化学水解 PhIP 的 N-Glu, 导致了去葡萄糖醛酸结合, 因此建议将该反应用作生物标记, 以考察对食物烹制产生的致癌物 PhIP 的暴露情况^[33]。

3 葡萄糖醛酸结合物的分析方法

药物葡萄糖醛酸结合物的存在, 主要是通过研究尿、胆汁及粪便中的代谢物, 以及其对 β-葡萄糖醛酸苷酶的敏感性, 并通过鉴定葡萄糖醛酸结合物的结构等一系列实验被证实。然而由于 C-葡萄糖醛酸结合物对 β-葡萄糖醛酸苷酶的耐受性, 不能用此方法证实 C-葡萄糖醛酸结合物的存在^[6]。

药物与葡萄糖醛酸形成的结合物具有极性、热不稳定及非挥发性, 且用化学方法合成药物葡萄糖醛酸结合物很困难, 很难得到分析标准品, 因而成为生物医药分析中的挑战^[24,29,34]。

通常使用间接分析的方法测定药物葡萄糖醛酸结合物的浓度。首先直接测定药物代谢物中母体药物的浓度, 然后经化学或 β-葡萄糖醛酸苷酶水解后, 导致母体化合物的浓度增加。葡萄糖醛酸结合物的浓度可以通过水解后的母体化合物的浓度减去水解前的母体化合物浓度得到^[29]。但这种方法的缺点是如果水解不完全, 可能导致错误的结果。Meger 等^[35]通过间接分析的方法, 用 LC-MS/MS 考察了 β-葡萄糖醛酸苷酶水解前后的糖苷配基含量的变化, 测定了吸烟者的尿、血清和唾液中的尼古丁及其代谢物的葡萄糖醛酸结合产物。

也有使用化学合成标准物, 以及结合 MS 和 NMR 谱用于葡萄糖醛酸结合物识别的报道。如 Caldwell 等^[36]发现, 在尼古丁的代谢物中有一个对 β-葡萄糖醛酸苷酶敏感, 可以水解形成 (S)-(-)-cotinine 的代谢物。通过化学合成制备并表征了 (S)-(-)-cotinine-N-glucuronide 标准品, 并与从吸烟者尿中提取的可在 β-葡萄糖醛酸苷酶水解下释放 (S)-(-)-cotinine 的代谢物进行比较, 证实吸烟者尿中, 尼古丁的一个主要代谢物是

N- β -D-glucopyranuronosyl-(S)-(-)-cotininium 内盐。

Alonen 等^[37]报道用牛、驼鹿、鼠及猪的肝微粒体,以及人的重组 UGTs,催化合成了 3 个血管紧张素 II 受体拮抗剂——氯沙坦 (Losartan)、坎地沙坦 (Candesartan) 及 Zolarsartan 的多种葡萄糖醛酸衍合物,其中包括 1 个 O-Glu、2 个酰基 O-Glu、5 个四唑 N-Glu,用质谱法验证了葡萄糖醛酸衍合物形成,采用核磁共振法识别了衍合物形成的位置。

在用于测定 UGTs 酶活性的快速、灵敏的放射性方法中,UGTs 酶催化 ^{14}C 标记的 UDPGA 与未标记的糖苷配基反应,形成 ^{14}C 标记的葡萄糖醛酸衍合物。反应后,通过在酸性条件下用乙酸乙酯简单萃取,将 ^{14}C 标记的葡萄糖醛酸衍合物与未反应的 UDPGA 分离。用 TLC 表征进入乙酸乙酯的葡萄糖醛酸衍合物,并通过考察其对 β -葡萄糖醛酸苷酶水解的敏感性,以及其水解反应可以被 β -葡萄糖醛酸苷酶的抑制剂 D-saccharic acid-1,4-lactone 抑制的性质,可鉴定葡萄糖醛酸衍合物的存在^[38]。

4 脑中 UGTs 的分布、活性及功能

4.1 研究脑中 UGTs 的意义

脑是一些治疗神经失调药物的靶标。一些亲脂性分子可以直接通过脑微血管内皮 (Microvessels Endothelial) 的细胞膜进入脑中;有一些药物,如齐多夫定 (Zidovudine)、非甾体消炎药 (Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs)、吗啡及生物胺前体 L-多巴 (L-dopa),可以通过血脑屏障 (BBB) 进入脑中^[28,39-40]。研究表明,高脂溶性的神经毒物苯环利定 (Phencyclidine, PCP) 在被注射几周后,已被俘获在脑的磷脂中,并诱导了失调。因此,进入脑中的高脂溶性的药物分子,如果没有转化为极性更强的代谢物并在血液中消除,肯定可以积累在脑中,从而可能造成对脑的损害^[41]。

Gheri-egea 等^[42-43]考察了在分离的鼠脑微血管中,与代谢亲脂性外源化合物相关的几种酶的活性,如 P450 单加氧酶、环氧化物水解酶、P450 还原酶及结合 1-萘酚的 UGTs 酶等。发现鼠脑部的这些代谢酶均具有较高的活性,表明脑细胞具有的代谢外来物质的能力,对脑提供了额外的保护。

葡萄糖醛酸衍合反应作为重要的 II 相反应,其葡萄糖醛酸如果进入脑中与积累的脂溶性化合物衍合,进入血液中被消除,这将具有重要的意义。脑中的葡萄糖醛酸衍合反应将对脑部提供保护作用,因此研究脑部 UGTs 在转化代谢脂溶性化合物方面的作用引起了关注。

4.2 脑中 UGTs 的分布、活性及功能

去甲肾上腺素代谢物 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG),在脑、脑脊髓液和血浆中形成了一定浓度比例的硫酸衍合物以及葡萄糖醛酸衍合物^[3]。萘的吸入可以导致神经毒性效应,在脑中,当萘被微粒体细胞色素 P450 依赖的芳烃羟化酶 (Arylhydrocarbon Hydroxylase (AHH)) 氧化为毒性较低的 α -萘酚后,以葡萄糖醛酸衍合物的形式被排出^[41]。

脑部虽具有葡萄糖醛酸转移酶的活性,与肝相比,只有

有限的 UGTs 在脑中表达。如在大白鼠脑中,对硝基酚及 4-甲基伞形酮 (4-methyl-umbelliferone) 可被葡萄糖醛酸衍合。Suleman 等^[39]使用模型底物、免疫反应活性和 RT-PCR 等方法研究和表征了存在于鼠脑神经细胞、脑星形胶质细胞和总脑匀浆液中的 UGTs 同工酶,发现鼠脑中催化平面酚葡萄糖醛酸衍合反应的 UGTs 主要是 UGT1A6。在鼠脑细胞及脑匀浆液中均可发生葡萄糖醛酸衍合反应,但活性程度不同,其中脑星形胶质细胞具有最高的 UGTs 活性。

葡萄糖醛酸衍合反应对外来物质通过血脑屏障 (BBB) 进入大脑也有一定影响,外来物质的葡萄糖醛酸衍合反应是在 BBB 上抵御化学物质进入的主要代谢保护机制之一。如鼠脑中,催化 α -萘酚葡萄糖醛酸衍合反应的 UGTs 活性,在组成 BBB 的脑毛细血管中比总脑匀浆液高 15 倍。嗅球 (Olfactory Bulb) 作为中枢神经系统 (CNS) 的一部分,也是外来分子进入脑的一个路径。研究表明,催化 α -萘酚葡萄糖醛酸衍合的 UGTs 活性,在嗅球中也比小脑 (Cerebellum) 高 5 倍,说明在外来物质进入脑过程中,脑本身存在代谢保护作用^[44]。

葡萄糖醛酸衍合反应对神经药物吗啡及其葡萄糖醛酸衍合物进入脑部也有一定的影响作用,如吗啡在 6-位和 3-位的两种葡萄糖醛酸衍合物 M-6-Glu 和 M-3-Glu,比其他药物的葡萄糖醛酸衍合物的亲脂性强,因此 M-6-Glu 和 M-3-Glu 可以通过血脑屏障进入脑中,但其在脑中的分布,不能解释 M-6-Glu 随着衰老产生的药效变化^[45]。M-3-Glu 在不同脑区引起兴奋行为效应过程也有所不同^[46]。

作为脑部的主要解毒位点,脑脉络丛 (Choroid Plexuses, CPs) 中拥有一个机械装置,不仅可以阻止毒物进入脑脊髓液 (Cerebrospinal Fluid, CSF),还参与药物、毒物以及它们的衍合代谢物从脑中流出,影响 CNS 中药物的生物配置 (Biodisposition),与肝对整个机体的作用类似^[47]。

可见,在血脑的构成、嗅球、脑脊髓液及脑细胞结构中均具有较高的 α -萘酚葡萄糖醛酸衍合活性,表明在脑部,外源化合物通过 BBB、脉络丛或鼻腔进入脑的路径中,存在代谢保护^[48]。

脑部 UGTs 除了在外来物质进入大脑过程中具有代谢保护作用外,在转化代谢脂溶性药物方面的功能也引起了广泛的关注和研究。

通常脑微粒体中 UGTs 的活性很低,可以忽略。然而也有一些关于脑部微粒体中 UGTs 有意义的报道。如人脑微粒体催化了纳洛酮 (Naloxone) 和吗啡的葡萄糖醛酸衍合反应^[49-50]。脑部存在 O-氨基苯甲酸 (O-Aminobenzoate)、4-甲基伞形酮、胆红素、去甲羟安定 (Oxazepam) 等药物的葡萄糖醛酸衍合反应,但活性至少比肝微粒体低 200 倍^[41]。Suleman 等^[44]用一系列通常在体内可以发生葡萄糖醛酸衍合反应的酚类化合物和脂肪酸化合物,研究了鼠脑的葡萄糖醛酸衍合能力,结果表明大多数酚被葡萄糖醛酸衍合了,但硬脂酸、亚麻酸、4-甲基酚、胆红素、吗啡、多巴胺、复合胺不能形成葡萄糖醛酸

在药效和毒性的个体差异。不同的葡萄糖醛酸结合能力导致了 TAM 在药效和毒性上的个体差异。种间差异研究表明, UGT1A4 催化了人体内 TAM 形成四级铵连接的 N^+-Glu , 人肝微粒体具有形成 TAM- $N-Glu$ 及其代谢物的 $N-Glu$ 、 $O-Glu$ 的高活性。然而, 大鼠、小鼠、猴、狗及豚鼠的肝微粒体, 没有形成 TAM- $N-Glu$ 的活性^[58]。甲状腺素 T4 的葡萄糖醛酸结合反应也存在个体差异^[59]。

年龄、疾病及对外源毒物的暴露程度均可影响生物体对药物的代谢能力, 因此观察到许多临床药物在人体中的葡萄糖醛酸结合反应及其结合反应速率的个体差异, 个体间的葡萄糖醛酸结合能力差异最大可达 200 倍。

UGTs 调节的葡萄糖醛酸结合反应在食物烹制中所产生的致癌物——杂环胺在生物活化及解毒过程中发挥了关键作用。如 PhIP 是油炸鸡和牛肉中发现的致癌杂环胺, 在人体内和体外均可被葡萄糖醛酸结合。人和动物在 PhIP 的葡萄糖醛酸结合容量上存在根本不同。个体中特定 UGTs 同工酶表达的差异, 导致 PhIP 暴露所致的癌症风险也存在个体差异^[8]。抗癫痫药拉莫三嗪(Lamotrigine)在 UGT1A3 和 UGT1A4 催化下, 主要通过形成四级铵 N^+-Glu 代谢。Argikar 等^[60]用 LC-MS 法考察了拉莫三嗪葡萄糖醛酸结合物的形成与人年龄的相关性, 发现年轻与年老的人肝微粒体没有导致葡萄糖醛酸结合物形成速率的显著差异。

大多数癌症发病率的增加与年龄的增长成指数关系, 如患结肠癌的原因很复杂, 其中随年龄增长而导致对致癌物代谢和清除能力的改变可能起了一定作用。因此, 作为主要代谢途径之一的葡萄糖醛酸结合反应与癌症的关系引起了关注。有研究考察了结肠癌诱发物之一的杂环胺 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline(IQ)在年老和年轻老鼠中葡萄糖醛酸结合反应的改变, 以及 IQ 代谢和清除与年龄增加的关联性, 发现随着年龄和肾脏功能的改变, IQ 代谢可能导致年老动物减少尿排除、增加肾脏中 IQ 及其代谢物的结合^[61]。但有证据表明, 不是一个酶系统而是多个酶系统的表型变化和多态性变化, 是决定个体对癌症敏感性的重要影响因素^[2]。

葡萄糖醛酸结合反应还有可能在药物-药物相互作用中发挥一定的作用。研究葡萄糖醛酸结合反应对药物-药物相互作用的影响, 不仅对了解药物的药效和代谢具有一定参考价值, 还对了解多种药物相互作用引起的药效改变、毒副作用改变等有重要意义。例如, 用几种可以被葡萄糖醛酸结合的抗癫痫药物, 研究它们对抗癫痫药物瑞替加滨(Retigabine)的葡萄糖醛酸结合反应的影响, 在临床药物浓度下, 没有发现药物-药物相互作用^[12]。曾苏课题组^[62]用鼠肝微粒体, 体外研究了 42 种常用药对 β 受体阻断剂——卡维地洛(Carvedilol)的葡萄糖醛酸结合反应的影响, 发现非洛地平、拉西地平、尼群地平、辛伐他汀和洛伐他汀等 5 种药物对卡维地洛葡萄糖醛酸化代谢有较强的体外抑制作用, 在联合用药时应引起注意。人体实验表明, 对乙酰氨基酚和可待因等的葡萄糖醛酸结合反应, 可被特定的作用药物影响, 而二氟尼柳(Diflunisal)

和吗啡等的葡萄糖醛酸结合反应不被迄今所研究的药物影响。目前对 UGTs 调节的人体中的药物相互作用研究很少, 尚不足以给出理论解释^[10]。

葡萄糖醛酸结合反应的种间差异研究发现, 鼠和人的葡萄糖醛酸结合反应过程有所不同, 要更加全面准确地掌握葡萄糖醛酸结合反应在人体内药物代谢和清除中的作用, 有必要加强开展人体葡萄糖醛酸结合反应研究^[53]。

药物葡萄糖醛酸结合研究结果的差异, 可能与葡萄糖醛酸转移酶的多态性、表达水平差异, 葡萄糖醛酸结合物的不稳定性, 葡萄糖醛酸结合反应的组织、个体、种属, 甚至性别差异, 以及对药物等暴露史的差异有关, 但这也是葡萄糖醛酸结合反应作为一个重要且具有挑战性课题存在的原因之一, 尤其需要对葡萄糖醛酸结合能力变化与药物的代谢和药效活性的差异、与癌症发生的关联进行深入研究, 以取得突破性结果。

6 结论

葡萄糖醛酸结合反应作为重要的 II 相反应, 在药物的转化、代谢、清除及药物的药效、毒理中发挥了重要作用。掌握和了解葡萄糖醛酸结合反应在药物的解毒代谢甚至活化中的作用, 对药物开发具有重要意义, 而且个体葡萄糖醛酸结合能力的差异与癌症发生的关系, 也引起了人们研究葡萄糖醛酸结合反应的兴趣。研究葡萄糖醛酸转移酶的多态性及其与个体差异的关系、药物葡萄糖醛酸结合反应的药理及毒理作用, 尤其是脑中葡萄糖醛酸结合反应的生理药理作用等, 对掌握葡萄糖醛酸结合反应的机制和过程, 更好发挥药物的药效, 避免药物的毒性及掌握药物间的相互作用, 开发药效高、代谢快、毒副作用小的新药具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Brandon E F A, Raap C D, Meijerman I, et al. An update on in vitro test methods in human hepatic drug biotransformation research: Pros and cons[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2003, 189: 233-246.
- [2] Wallig M A. Toxicological highlight: Glucuronidation and susceptibility to chemical carcinogenesis[J]. *Toxicological Sciences*, 2004, 78: 1-2.
- [3] Karoum F, Moyer-Schwing J, Potkin S G, et al. Presence of free, sulfate and glucuronide conjugated 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) in human brain, cerebrospinal fluid and plasma[J]. *Brain Research*, 1977, 125: 333-339.
- [4] Tukey R H, Strassburg C P. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease [J]. *Annu Rev Pharmacol and Toxicol*, 2000, 40: 581-616.
- [5] Meech R, Mackenzie P I. Structure and function of uridine diphosphate glucuronosyltransferases[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1997, 24:907-915.
- [6] Nishiyama T, Kobori T, Arai K, et al. Identification of human UDP-glucuronosyltransferase isoforms responsible for the C-glucuronidation of phenylbutazone [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2006, 454: 72-79.
- [7] Knust U, Hull W E, Spiegelhalter B, et al. Analysis of enterolignan

- glucuronides in serum and urine by HPLC-ESI-MS[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2006, 44: 1038-1049.
- [8] Malfatti M A, Felton J S. N-glucuronidation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine (PhIP) and N-hydroxy-PhIP by specific human UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22 (7): 1087-1093.
 - [9] Chowdhury J R, Novikof F P M, Chowdhury N R, *et al.* Distribution of UDP-glucuronosyltransferase in rat tissue [J]. *PNAS*, 1985, 82: 2990-2994.
 - [10] Kiang T K L, Ensom M H H, Chang T K H. UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interaction[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2005, 106: 97-132.
 - [11] Genchi G, Barua A B, Wang W, *et al.* The effects of pH on the enzymatic formation of β -glucuronides of various retinoids by induced and noninduced microsomal UDPGA-glucuronosyltransferases of several rat tissues in vitro[J]. *J Nutr Biochem*, 1998, 9: 676-681.
 - [12] Borlak J, Gasparic A, Locher M, *et al.* N-glucuronidation of the antiepileptic drug retigabine: Results from studies with human volunteers, heterologously expressed human UGTs, human liver, kidney, and liver microsomal membranes of Crigler-Najjar type II [J]. *Metabolism*, 2006, 55(6): 711-721.
 - [13] Takashi M. Intestinal glucuronidation metabolism may have a greater impact on oral bioavailability than hepatic glucuronidation metabolism in humans: A study with raloxifene, substrate for UGT1A1, 1A8, 1A9, and 1A10 [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, 378 (1-2): 140-141.
 - [14] Shipkora M, Wieland E. Glucuronidation in therapeutic drug monitoring [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2005, 358: 2-23.
 - [15] Sun D X, Chen G, Dellinger R W, *et al.* Characterization of tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen glucuronidation by human UGT 1A4 variants [J]. *Breast Cancer Research*, 2006, 8(4): R50.
 - [16] Chen G, Blevins-Primeau A S, Dellinger R W, *et al.* Glucuronidation of nicotine and cotinine by UGT 2B10: Loss of function by the UGT2B10 codon 64 (ASP>Tyr) polymorphism[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(19): 9024-9029.
 - [17] Green M D, Tephly T R. 1996 ASPET-N-glucuronidation of xenobiotics symposium, Glucuronidation of amine substrates by purified and expressed UDP-glucuronosyltransferases proteins [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 1998, 26(9): 860-867.
 - [18] Huskey S W, Miller R R, Chiu S L. N-glucuronidation reaction. I. Tetrazole N-glucuronidation of selected angiotensin II receptor antagonists in hepatic microsomes from rats, dogs, monkeys, and humans [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 1993, 21(5): 792-799.
 - [19] Uesawa Y, Stains A G, Lockley D, *et al.* Identification of the human liver UDP-glucuronosyltransferase involved in the metabolism of *p*-ethoxyphenylurea(dulcin)[J]. *Arch Toxicol*, 2007, 81: 163-168.
 - [20] Vashishtha S C, Haws E M, McCann D J, *et al.* Quaternary ammonium-linked glucuronidation of 1-substituted imidazoles by liver microsomes: interspecies differences and structure-metabolism relationships[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30: 1070-1076.
 - [21] Ghoshen O, Vashishtha S C, Haws E M. Formation of the quaternary ammonium-linked glucuronide of nicotine in human liver microsomes: Identification and stereoselectivity in the kinetics [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2001, 29: 1525-1528.
 - [22] Haws E M. N⁺-glucuronidation, a common pathway in human metabolism of drugs with a tertiary amine group [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 1998, 26(9): 830-837.
 - [23] Kuehl G E, Murphy S E. N-glucuronidation of nicotine and cotinine by human liver microsomes and heterologously expressed UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2003, 31: 1361-1368.
 - [24] Ghoshen O, Haws E M. N-glucuronidation of nicotine and cotinine in human: Formation of cotinine glucuronide in liver microsomes and lack of catalysis by 10 examined UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30: 991-996.
 - [25] Stains A G, Coughtrie M W H, Burchell B. N-glucuronidation of carbamazepine in human tissues is mediated by UGT 2B7 [J]. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2004, 311 (3): 1131-1137.
 - [26] Burchell B, Coughtrie M W H. UDP-glucuronosyltransferases[J]. *Pharmacol Therapeut*, 1989, 43: 261-289.
 - [27] Minn A, Ghersi-Egea J F, Perrin R, *et al.* Drug metabolizing enzymes in the brain and cerebral microvessels[J]. *Brain Research Review*, 1991, 16: 65-82.
 - [28] Letourneau I J, Bowers R J, Deeley R G, *et al.* Limited modulation of the transport activity of the human multidrug resistance protein MRP1, MRP2 and MRP3 by nicotine glucuronide metabolites [J]. *Toxicology Letters*, 2005, 157: 9-19.
 - [29] Leon J. Glucuronidation enzymes, genes and psychiatry[J]. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2003, 6: 57-72.
 - [30] Sun D X, Sharma A K, Dellinger R W, *et al.* Glucuronidation of active tamoxifen metabolites by the human UDP glucuronosyltransferases [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2007, 35(11): 2006-2014.
 - [31] Hays M T, Caralieri R R. Deiodination and deconjugation of the glucuronide conjugates of the thyroid hormones by rats liver and brain microsomes[J]. *Metabolism*, 1992, 41(5): 494-497.
 - [32] Babu S R, Lakshmi V M, Zenser T V, *et al.* Glucuronidation of N-acetylbenzidine by human liver [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 1994, 22(6): 922-927.
 - [33] Frandsen H. Deconjugation of N-glucuronide conjugated metabolites with hydrazine hydrate-biomarkers for exposure to the food-borne carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine(PhIP) [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45: 863-870.
 - [34] Kohl C, Oelschlager H, Rothley D. Identification of drug glucuronides in human urine by RP-HPLC after derivatization[J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 1994, 12(2): 249-254.
 - [35] Meger M, Meger-Kossien I, Schuler-Metz A, *et al.* Simultaneous determination of nicotine and eight nicotine metabolites in urine of smoker using LC-tandem Mass spectrometry [J]. *J Chromatography B*, 2002, 778: 251-261.
 - [36] Caldwell W S, Crooks P A, Bhatti B S, *et al.* Characterization of the glucuronide conjugate of cotinine: A previously unidentified major metabolite of nicotine in smoker urine [J]. *Chem Res Toxicol*, 1992, 5: 280-285.
 - [37] Alonen A, Jansson J, Kallonen S, *et al.* Enzyme-assisted synthesis and structure characterization of glucuronic acid conjugates of losartan, candesartan, and zolansartan [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2008, 36: 148-155.
 - [38] Matern H, Heinemann H, Matern S. Radioassay of UDP-glucuronosyltransferase activities towards endogenous substrates using labeled UDP-glucuronic acid and an organic solvent extraction procedure[J]. *Analytical Biochemistry*, 1994, 219: 182-188.
 - [39] Suleman F G, Abid A, Gradinaru D, *et al.* Identification of the Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase isoform UGT1A6 in rat brain and

in primary cultures of neurons and astrocytes[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1998, 358: 63–67.

[40] Bourasset F, Scherrmann J. Carrier-mediated processes at several rat brain interfaces determine the neuropharmacokinetics of morphine and morphine-6-glucuronide[J]. *Life Sciences*, 2006, 78: 2302–2314.

[41] Ghersi-Egea J F, Walther B, Decolin D, *et al.* The activity of 1-naphthol-UDP-glucuronosyltransferases in the brain [J]. *Neuropharmacology*, 1987, 26(4): 367–372.

[42] Ghersi-Egea J F, Minn A, Siest G. A new aspect of the protective functions of the blood-brain barrier: Activities of four drug-metabolizing enzymes in isolated rat brain microvessels[J]. *Life Sciences*, 1988, 42: 2515–2523.

[43] Ghersi-Egea J F, Perrin R, Leininger-Muller B, *et al.* Subcellular localization of cytochrome P450 and activities of several enzymes responsible for drug metabolism in the human brain [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1993, 45(3): 647–658.

[44] Suleman F G, Ghersi-Egea J F, Leininger-Muller B, *et al.* Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase activities in rat brain microsomes [J]. *Neuroscience Letters*, 1993, 161: 219–222.

[45] Murphey L J, Olsen G D. Distribution of morphine-6- β -D-glucuronide across the blood brain barrier of neonatal guinea pigs [J]. *Regulatory Peptides*, 1994, 54(1): 207–208.

[46] Halliday A J, Bartlett S E, Colditz P, *et al.* Brain region-specific studies of the excitatory behavioral effects of morphine-3-glucuronide [J]. *Life Science*, 1999, 65(2): 225–236.

[47] Ghersi-Egea J F, Strazielle N. Brain drug delivery, drug metabolism, and multidrug resistance at the choroid plexus[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2001, 52: 83–88.

[48] Gradinaru D, Suleman F G, Leclerc S, *et al.* UDP-glucuronosyltransferase in the rat olfactory Bulb: Identification of the UGT1A6 isoform and aged-related changes in 1-naphthol glucuronidation[J]. *Neurochemical Research*, 1999, 24(8): 995–1000.

[49] Wahlstrom A, Winblad B, Biox M, *et al.* Human brain metabolism of morphine and naloxone[J]. *Pain*, 1988, 35: 121–127.

[50] King C D, Rios G R, Assouline J A, *et al.* Expression of UDP-Glucuronosyltransferases (UGTs) 2B7 and 1A6 in the human Brain and identification of 5-hydroxytryptamine as a substrate [J]. *Achieves of Biochemistry and Biophysics*, 1999, 365(1): 156–162.

[51] Nagano E, Yamada H, Oguri K. Characteristic glucuronidation pattern of physiologic concentration of morphine in rat brain [J]. *Life Sciences*,

2000, 67: 2453–2464.

[52] El-Bacha R S, Leclerc S, Netter P, *et al.* Glucuronidation of apomorphine [J]. *Life Sciences*, 2000, 67(14): 1735–1745.

[53] Peng H W, Cheng F C, Huang Y T, *et al.* Determination of naringenin and its glucuronide conjugate in rat plasma and brain tissue by HPLC [J]. *Journal of chromatography B*, 1998, 714: 369–374.

[54] Tricker A R. Nicotine metabolism, human drug metabolism polymorphisms and smoking behaviour[J]. *Toxicology*, 2003, 183: 151–173.

[55] Ghoshen O, Haws E M. Microsomal N-glucuronidation of nicotine and cotinine: Human hepatic interindividual, human intertissue, and interspecies hepatic variation [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30: 1478–1483.

[56] Wiener D, Doerge D R, Fang J, *et al.* Characterization of N-glucuronidation of the lung carcinogen 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) in human liver: importance of UDP-glucuronosyl transferases 1A4 [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2004, 32: 72–79.

[57] Huskey S W, Doss G A, Miller R R, *et al.* N-glucuronidation reactions: II. relative N-glucuronidation reactivity of methylbiphenyl tetrazole, methylbiphenyl triazole, and methylbiphenyl imidazole in rat, monkey, human hepatic microsomes [J]. *Drug metabolism and disposition*, 1994, 22(4): 651–658.

[58] Kaku T, Ogura K, Nishiyama T, *et al.* Quaternary ammonium-linked glucuronidation of tamoxifen by human liver microsomes and UDP-glucuronosyltransferases 1A4 [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2004, 67(11): 2093–2102.

[59] Kato Y, Ikushiro S, Emi Y, *et al.* Hepatic UDP-glucuronosyltransferases responsible for glucuronidation of thyroxine in human [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2008, 36(1): 51–55.

[60] Argikar U A, Remmel R P. Variation in glucuronidation of lamotrigine in human liver microsomes[J]. *Xenobiotica*, 2009, 39(5): 355–363.

[61] Ambrecht H J, Lakshmi V M, Wickstra J, *et al.* Metabolism of a heterocyclic amine colon carcinogen in young and old rats [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2007, 35: 633–639.

[62] 尤雅琳, 曾苏. 卡维地洛与一些常用化学药的体外葡萄糖酸化代谢性相互作用[J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(20): 1550–1554.

You Yalin, Zeng Su. *Chin Pharm J*, 2008, 43(20): 1550–1554.

(责任编辑 吴晓丽)

·学术动态·

“第十五届冶金及材料分析测试学术报告会及展览会”征文

第十五届冶金及材料分析测试学术报告会及展览会将于 2010 年 9 月在北京举行。会议由中国金属学会(CSM)与中国机械工程学会(CMES)主办,国际钢铁工业分析委员会(ICASI)支持。

会议现面向相关科技工作者征文,征文范围包括(但不局限于):材料分析和测试技术的进展;材料的分析和测试方法研究;产品过程控制的检测和监控技术;取样和样品制备技术;在线分析和控制技术;表面和涂层分析;健康和环境分析;质量控制和实验室管理。

全文截稿日期为 2010 年 6 月 30 日。

联系方式:北京海淀区学院南路 76 号 14 信箱(100081),中国金属学会分析测试分会秘书处

电话:010-62182398,传真:010-62181163,电子信箱:csm@analysis.org.cn

