

· 综述 ·

黄素单氧化酶在药物代谢和新药研发中的作用

杨雅坤, 盛莉, 李燕*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所药物代谢室, 创新药物非临床药代/药效北京市重点实验室, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要: 黄素单氧化酶 (flavin-containing monooxygenases, FMOs) 是仅次于细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 的重要 I 相代谢酶, 可催化含氮、硫、磷、硒等亲核杂原子的外源物及部分内源物的氧化反应。本文将介绍 FMOs 的生物学特征、催化机制、底物特异性、基因多态性, 分析 FMOs 对药物代谢的影响和个体差异以及与 FMOs 代谢相关的疾病, 为寻找新的作用靶点和设计候选药物提供理论参考。

关键词: 黄素单氧化酶; 细胞色素 P450; 基因多态性; 个体差异; 药物代谢; 新药研发

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 10-1485-11

Role of FMOs in drug metabolism and development

YANG Ya-kun, SHENG Li, LI Yan*

(Department of Drug Metabolism, Beijing City Key Laboratory of Non-Clinical Drug Metabolism and PK/PD Study, Beijing City Key Laboratory of Active Substances Discovery and Drug Ability Evaluation, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: The flavin-containing monooxygenase (FMOs) is recognized as an important complimentary enzyme system next to the cytochrome P450 (CYP450), which catalyzes the metabolism of many xenobiotics (nucleophilic heteroatom-containing chemicals) and several endobiotics. This article provides a comprehensive introduction of FMOs including the biological characteristics, catalytic mechanism, substrate specificity, genetic polymorphisms. The effect of FMOs on drug metabolism and individual differences and relation with diseases are also mentioned. It is valuable for the discovery of therapeutic targets and design of new drug candidate.

Key words: flavin-containing monooxygenase; cytochrome P450; gene polymorphism; individual difference; drug metabolism; new drug development

肝脏黄素单加氧酶 (flavin-containing monooxygenases, FMOs, E.C.1.14.13.8) 是机体参与治疗药物或外源物生物转化的 I 相代谢酶, 其重要性仅次于 CYPs。FMOs 属于 B 类黄素蛋白单加氧酶家族, 即依赖黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicoti-

namide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NADPH) 和分子氧、且不含亚铁血红素的单加氧酶^[1]。在新药研发过程中, 设计由 FMOs 参与代谢的候选药物具有以下优势: ① FMOs 可催化的底物广泛: 基于其特殊的蛋白结构和催化机制, FMOs 几乎可以氧化所有软亲核、高极性含氮、硫的杂原子化合物, 也可催化某些碳原子氧化, 如氧化脱氟以及酮或醛的 Baeyer-Villiger 反应生成酯^[2,3]; ② FMOs 能将化合物转变成高极性、低毒且易于排泄的代谢产物, 不易发生代谢产物蓄积; ③ FMOs 不易被诱导或者抑制, 可以降低药物-药物相互作用带来的不良反应; ④ FMOs 与人

收稿日期: 2017-03-30; 修回日期: 2017-06-09.

基金项目: 十二五新药创制重大专项资助项目 (2012ZX09301002-001-007, 2012ZX09301002-006, 2012ZX09103-101-001).

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

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0231

体某些疾病和生命过程有关。因此, FMOs 在药物代谢、新药研发以及新药靶点发现中的作用日益受到重视。

1 FMOs 的发现与命名

以往研究曾认为, CYP450 可催化亲核杂原子化合物的 *N*-氧化或 *S*-氧化。直到 20 世纪 70 年代, Ziegler 等^[4]在猪肝微粒体中纯化出一种可催化胺类药物 *N*-氧化的混合功能氧化酶。分子质量和黄素蛋白含量均高于 CYP450, 催化过程依赖 NADPH 和 O₂, 不受细胞色素的影响, 且对一氧化碳不敏感, 自此确认该酶为黄素单加氧酶 FMOs。80 年代初期, Tynes 等^[5]将大鼠、小鼠和兔子的肝、肺和肾 FMOs 与纯化猪肝微粒体 FMOs 进行比较, 发现上述不同种属组织中的 FMOs 具有相似的催化能力, 但兔肺中 FMOs 的形态和底物特征与肝脏不同, 随后证明其与肝微粒体 FMOs 是不同的亚型。90 年代末, 研究者克隆并纯化出不同组织和不同种属的 FMOs 蛋白。目前已鉴定出 FMO 基因有 11 种 (FMO1p~FMO11p), 其中只有 FMO1p~FMO5p 能编码具有催化功能的蛋白, 其序列相似性为 52%~60%, 分别命名为 FMO1~FMO5^[6]。

2 FMOs 的生物学特征

2.1 FMOs 的蛋白结构

FMOs 蛋白的分子质量约为 60 kDa, 其 532~558 个氨基酸残基中包含高度保守的黄素腺嘌呤二核苷酸-(flavin adenine dinucleotide, FAD) 和 NADPH-结合结构域。FMOs 晶型结构包含一大一小两个结构域。在大结构域的下半部分包含 FMOs 识别序列 FXGXXXHXXXF, 能与 FAD 的异咯嗪环相互作用; NADPH 的腺嘌呤与小结构域结合, 以烟酰胺基团与 FAD 的异咯嗪环重叠形成氢键^[7]。

2.2 FMOs 的含量测定

以往 FMOs 相对含量测定通常应用蛋白免疫印迹法 (Western blots) 或以 FAD 的浓度来预测 FMOs 的绝对含量, 但这种方法测定的是全蛋白, 而非 FMOs 总蛋白含量 (总蛋白=全蛋白+脱辅基蛋白)^[8], 存在一定局限性。目前以 UPLC-MRM 为基础的靶向定量蛋白质组学方法已经广泛应用于人肝微粒体 FMOs 蛋白测定^[9]。

2.3 FMOs 活性测定的影响因素

以 FMOs 特异性底物苄达明的氮氧化为活性检测指标, 考察不同实验条件对人肝微粒体 FMOs 活性影响发现, 45 °C 预温孵 5 min 可使 FMOs 活性降低 70%; DMSO (0.1% 和 0.5%) 可剂量依赖地抑制 FMOs

活性, 而甲醇 (0.5%) 和乙腈 (0.5%) 影响较小; 肝微粒体在缺乏 NADPH 的条件下 37 °C 预温孵 5~10 min, FMOs 活性降低 30%~50%; FMOs 活性在 pH 8.4 时高于 pH 7.4; 竞争性抑制剂甲硫咪唑能显著抑制 FMOs 活性等^[10]。

3 FMOs 的催化机制

FMOs 需要以 FAD 为辅基、NADPH 为辅助因子、分子氧为共底物完成催化过程。首先, 辅助因子 NADPH 结合 FAD, 并将其迅速还原成 FADH₂。接受了两个电子的还原形 FAD 迅速与分子氧结合, 形成稳定的 C4 位黄素过氧化中间体, 等待与适当的亲核底物 RSH 结合^[11]。通过底物对 FADH-OOH 的亲核攻击, 一个氧原子转移到底物上, 形成氧化产物 (RSOH), 另一个氧原子形成水, 从而使 FADH-OH 还原为 FAD, 并释放出 NADP⁺等待下一轮催化循环 (图 1)^[12]。因 FMOs 在催化过程中并没有形成经典的酶-底物复合物, 因此 *K_m* 主要反映底物与酶活性位点接近的难易程度, 而底物的大小和形状以及化合价是决定其能否与酶活性位点结合的关键因素^[13]。

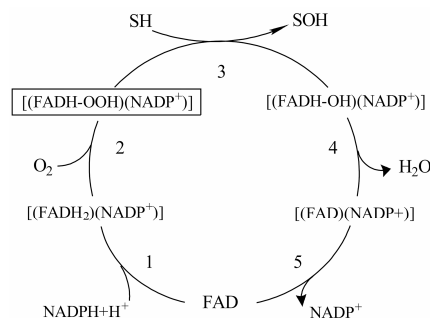


Figure 1 Catalytic mechanism of flavin-containing monooxygenases (FMOs)

与 CYPs 的催化机制不同, FMOs 不需要还原酶就可直接被 NADPH 还原, 并在不结合底物的情况下直接活化氧分子, 形成稳定的中间体, 氧化所有能与活性中间体结合的亲核底物, 这一特性提示 FMOs 底物的广泛性^[14]。

4 FMOs 的特异性与药物代谢

4.1 FMOs 的表达差异性

FMOs 的表达水平存在明显的组织、年龄、性别以及种属差异 (表 1)^[15-19]。如 ① 组织特异性: 以人为例, 成人肝脏中以 FMO3 和 FMO5 为主, 肾和肠中以 FMO1 为主, 肺中以 FMO2 为主; ② 发育因素: 人胎肝中以 FMO1 为主, 出生后 FMO1 表达被抑制, 逐渐以 FMO3 为主; ③ 性别差异: 雄性小鼠肝脏以 FMO1 为主, 而雌性小鼠肝脏以 FMO3 为主, 而人

Table 1 Variability in gene expression levels of FMOs

Species	Type	Tissue	Age	Gender	Reference
Human	FMO1	The main subtype of adult kidney	Fetal liver expression was high, the expression was silent after birth	No significant gender difference	15
	FMO2	The main subtype of adult lung			
	FMO3	The main subtype of adult liver	Fetal liver expression was low and the expression increased gradually after birth		
	FMO4	Pancreas			
	FMO5	Liver, stomach, pancreas, small intestine			
Mouse	FMO1	Lung, kidney	Fetal liver expression gradually increased and reached adult levels after birth	Sex differences occurred 28 days after birth, and the expression of female mice remained unchanged, the expression of male mice was inhibited	16
	FMO2	Lung		No significant gender difference	
	FMO3	The main subtype of adult female mouse liver	Fetal liver expression was low and reached adult levels 14 days after birth	There were obvious gender differences at 42 days after birth, and adult male mouse could hardly be detected	
	FMO4	Low expression		No significant gender difference	
	FMO5	Liver, kidney, intestine	Fetal liver expression was low and reached adult levels two days after birth	In the liver and kidney, the female mouse was higher than the male	
Rat	FMO1	Liver		There were obvious gender differences, and male rat was higher than female	17
	FMO2	Kidney		No significant gender difference	
	FMO3	Liver (low than FMO1)			
	FMO4	Low expression			
	FMO5	Liver			
Monkey	FMO1	Kidney		No significant gender difference	18
	FMO2	Lung, heart			
	FMO3	Liver	Fetal liver expression was low and increased gradually after birth		
	FMO4	Kidney			
	FMO5	Liver, jejunum			
Rabbit	FMO1	Liver, intestinal mucosa		No significant gender difference	19
	FMO2	Lung	The high expression of fetal lung was inhibited immediately after birth and elevated 21 days later		
	FMO3	Liver (low than FMO1)			
	FMO4	Low expression			
	FMO5	Liver			

FMOs 无明显性别差异; ④ 种属差异: 与成人肝脏中 FMO1 低表达不同, 大鼠、小鼠、犬肝中 FMO1 是主要表达形式, 但雌性小鼠肝脏主要表达 FMO3^[20]。有研究表明, 食蟹猴体内 FMO1~FMO5 的表达水平与人的相似性达 94%~98%, 且食蟹猴 FMO1 主要存在于肾脏, FMO3 主要存在于肝脏, 因此在研究 FMOs 介导的药物代谢时, 食蟹猴相对于其他种属而言是较为理想的动物模型^[21]。

4.2 FMOs 的底物特异性

在所有 FMOs 亚型中, FMO1 底物范围最广, FMO3 次之。FMO1 和 FMO3 具有部分底物重叠性, 如共同底物卡达明、伊托必利、脱乙酰基甲酮康唑、

伏立康唑和他莫昔芬等, 但也有各自选择性底物, 如 FMO1 可催化氯丙嗪、丙咪嗪和夸西泮, 而 FMO3 可催化普鲁卡因胺。FMO2 底物范围相对有限, FMO4 的 C-端比其他 FMOs 多出 23~26 个氨基酸, 目前未发现 FMO4 的底物, 且因 FMO4 表达水平较低, 因此其在药物代谢中的作用暂被忽略^[22]。FMO5 对经典 FMOs 底物常表现出较低的催化活性, 目前已经经 FMO5 催化的含氮、硫化合物较少, 通常认为 FMO5 在药物代谢中的作用较小。近期证实人 FMO5 属于 Baeyer-Villiger 加单氧酶 (图 2), 能催化部分碳原子的氧化, 通过在临近羰基 (醛或酮) 的碳-碳键插入氧原子形成酯, 如抗癌化合物 E7016 和抗菌药 MRX-1^[2]。

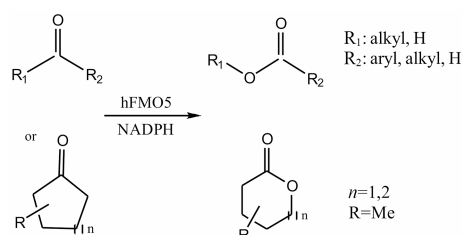


Figure 2 The Baeyer-Villiger reaction of human FMO5

由人 FMO1、FMO2、FMO3 和 FMO5 参与代谢的大部分药物为叔胺类或硫化物，经过氮氧化生成氮氧化物或者经过硫氧化生成亚砷。其次包含伯胺类(如安非他明，经 FMO 催化生成 *N*-羟胺，二次氧化丢掉水生成脞)、仲胺类(如 *N*-脱乙酰甲酮康唑，先生成 *N*-羟胺，二次氧化生成硝酮)、硫脲类(如乙硫异烟胺，经硫氧化生成亚砷)。氮氧化物和硫氧化物是极性较大且易排出体外，因此由 FMOs 参与代谢的反应多为解毒过程。由于电荷限制，内源性化合物很难接近 FMOs 的活性位点，但人 FMO3 能催化酪胺合苯乙胺的氮氧化以及蛋氨酸的硫氧化^[23]。部分由人 FMO1、FMO2、FMO3 和 FMO5 参与代谢的临床治疗药物见表 2^[14, 20, 22–54]。

4.3 FMOs 的基因多态性

通常情况下 FMOs 不易被外来物所诱导或抑制，

FMOs 个体间的数量和活性差异多源自基因变异而非环境因素，因此研究 FMOs 的遗传药理学有助于预测药物代谢的个体间差异。真核细胞的 FMOs 位于内质网膜，已知 FMOs 基因家族存在相似的内含子/外显子结构，说明其来源于同一个祖先基因或一系列基因的复制^[55]。人 FMOs 基因聚集在染色体 1 上，人 FMO1p 到 FMO4p 和假基因 FMO6p 聚集在染色体 1 的 1q24.3 位，FMO5p 在 1q21.1 位，假基因 FMO7p~FMO11p 则出现在 1q24.2 位。在已经鉴定出来的 11 种基因型中，FMO1~5 具有催化功能，FMO1、FMO3 和 FMO5 是公认参与药物代谢的主要酶，FMOs 的基因突变会影响其对药物代谢的作用^[56]。

4.3.1 FMO1 人体内 FMO1 主要存于胎儿肝脏、成人肾、肠黏膜和支气管中。胎儿肝脏中 FMO1 在 8~15 周时含量最高，但分娩后 FMO3 的表达会抑制 FMO1，因此 FMO1 不是成人肝脏代谢的主要酶^[57]。FMO1 的遗传变异不明显，只存在少量编码区的单核苷酸多态性，突变频率低且对催化活性影响不大。

与其他同工酶相比，FMO1 有较大的底物入口通道，可以选择性氧化三环类抗精神病药丙咪嗪、抗组胺药异丙嗪、溴非尼腊明等^[12]。FMO1 主要参与含硫化合物氧化，能将硫酮类底物催化生成次磺酸和磺

Table 2 Clinical therapeutic agents metabolized by human FMOs

Type	Reaction	Substrate	Type of drug	Reference		
FMO1	<i>N</i> -Oxygenation	Benzydamine	Nonsteroidal anti-inflammatory	24		
		Imipramine	Antidepressant	25		
		Itopride	Antiemetics	25		
		Nomifensine	Antidepressant	25		
		Olopatadine	Antiallergic agent	26		
		Strychnine	Hypotensor	27		
		Procainamide	Type I antiarrhythmic agent	22		
		Tamoxifen	Antiestrogen	28		
		Tazarotenic acid	Retinoic acid receptor modulator	29		
		Voriconazole	Antifungal agents	30		
		Xanomeline	M1 receptor agonist	31		
		Deprenyl	Monoamine oxidase type B inhibitor	32		
		Lorcaserin	Selective human 5-hydroxytryptamine 2C agonist	33		
		Methamphetamine	Psychostimulant	34		
		C-1311	Antitumor agent	35		
		GSK5182	Antidiabetic	36		
		MK-0457	Aurora kinase inhibitor	37		
			<i>S</i> -Oxygenation	Methimazole	Thyroperoxidase inhibitor	38
				Sulindac	Nonsteroidal anti-inflammatory	39
				Sulindac sulfide	Nonsteroidal anti-inflammatory	40
Cimetidine	Antiulcerative			14		
Ethionamide	Antituberculosis drugs					
Quazepam	Sedatives and hypnotics					

				Continued
Types	Reaction	Substrate	Type of drug	Reference
		Selenomethionine	Anticancer drug	41
		Thiosemicarbazide	Antituberculosis drugs	
		<i>S</i> -Methyl <i>N,N</i> -diethylthiocarbamate	Antialcoholic	
FMO2	<i>S</i> -Oxygenation	Methimazole	Thyroperoxidase inhibitor	14
		Ethionamide	Antituberculosis drugs	42
		Thiosemicarbazide	Antituberculosis drugs	43
FMO3	<i>N</i> -Oxygenation	Benzylamine	Nonsteroidal anti-inflammatory	38
		Clozapine	Antipsychotic drugs	40
		Olanzapine	Antipsychotic drugs	41
		Olopatadine	Antiallergic agent	44
		Procainamide	Type I antiarrhythmic agent	42
		Itopride	Antiemetics	45
		Amphetamine	Antipsychotic drugs	
		Almotriptan	Antimigraine	46
		Dasatinib	BCR-ABL and SRC family kinase inhibitor	
		Deprenyl	Monoamine oxidase type B inhibitor	47
		Loxapine	Tricyclic antipsychotic	
		Nicotine	Analeptic	
		Nomifensine	Antidepressant	
		Pargyline	Hypotensor	48
		Pyrazoloacridine	Anticancer drug	
		Furosemide	Anti ulcer drug	
		Tamoxifen	Anti estrogen drugs	
		Stelazine	Antipsychotic	20
		Voriconazole	Antifungal agents	
		Xanomeline	M1 receptor agonist	
		<i>N</i> -Deacetyl ketoconazole	Antifungal	
		Methamphetamine	Psychostimulant	
		Moclobemide	Monoamine oxidase type A inhibitor	
		<i>N,N</i> -Diallyltryptamine	Psychostimulant	
		TG100435	Src kinase inhibitor	
		MK-0457	Aurora kinase inhibitor	49
		C-1311	Antitumor agent	50
		GSK5182	Antidiabetic	
		K11777	Peptidomimetic	51
		L-775, 606	5-HT(1D) receptor agonist	
	<i>S</i> -Oxygenation	Methimazole	Thyroperoxidase inhibitor	35
		Sulindac sulfide	Nonsteroidal anti-inflammatory	37
		Thiosemicarbazide	Antituberculosis drugs	
		Ranitidine	Anti-ulcer agent	45
		Ethionamide	Antituberculosis drugs	
		Albendazole	Anthelmintic	51
		Altramet	Histamine H2-receptor antagonis	52
		Esonarimod	Immunomodulator	
		Selenomethionine	Anticancer drug	
		Tazarotene	Retinoic acid receptor modulator	31
FMO5	<i>N</i> -Oxygenation	Nomifensine	Antidepressant	53
	<i>S</i> -Oxygenation	<i>S</i> -Methyl esonarimod	Cytokine production inhibitor	50
		Phospho-sulindac	Nonsteroidal anti-inflammatory	
	Baeyer-Villiger Reaction	E7016	Anticancer drug	23
		MRX-1314	Antibacterials	54

酸, 并很快分解成咪唑和 HCO_3^- , 因此人肠道和肾脏 FMO1 的代谢能力和活性可能会影响硫酮类化合物的生物利用度, 甚至导致肾毒性。同时 FMO1 也参与内源性物质代谢, 起调节体内能量平衡的作用^[58]。虽然 FMO1 在成人的肾脏和肠道中大量存在, 超过了肾脏中 CYPs 的总量甚至与肝脏中的 CYP3A4 相近, 但整体来看人肾脏的代谢能力小于肝脏的 1/14, 因此 FMO1 在化合物代谢中的作用并没有预想的大。

4.3.2 FMO2 FMO2 主要存于大多数哺乳动物的肺组织, 且具有基因多态性。白种人和亚洲人 FMO2 的基因突变最终翻译成无功能的 FMO2 (FMO2*2A), 由于错误折叠或者快速降解使肺组织的 FMO2 不易测定。非洲 (49% 以上) 和西班牙 (2%~7%) 人肺中至少有一种 FMO2 等位基因突变 (FMO2*1), 可以编码全长的多肽链, 翻译出有活性的 FMO2 蛋白^[59]。

FMO2 具有有限的底物通道和严格的底物选择, 相对于含氮化合物, FMO2 更偏向于氧化含硫底物, 如有机磷酸酯杀虫剂甲拌磷。在大多数情况下, 由 FMOs 参与的代谢会产生低毒产物, 但硫脲或者硫酮类除外。FMO2 参与硫脲类在体内的硫氧化, 初始氧化产物是亲电子的次磺酸, 能与亲核物质如谷胱甘肽反应, 并且消耗 NADPH, 导致氧化应激或组织损伤。如果次磺酸在体内停留时间过长, 可被 FMOs 继续氧化, 生成亚磺酸^[60]。亚磺酸的反应活性高于次磺酸, 因此会直接损伤细胞或者转化成其他产物。

4.3.3 FMO3 FMO3 主要存于成人肝脏, 是成人肝脏中发挥主要催化功能的 FMOs。分娩过程或产生的未知信号可抑制 FMO1 表达, 使 FMO3 表达水平高于 FMO1, 在青少年早期达到成人水平^[61]。

人 FMO3 具有明显的基因多态性, 目前已鉴定出多达 15 种 SNPs, 除 N61K (酶活性降低)、L360P (酶活性升高)、R205C (舒林酸氧化被抑制) 外大部分突变型基本不影响 FMOs 的活性, 其中 V257M、E158K 和 E308G 突变型最为常见^[62]。在欧洲和亚洲人中最常见的 SNPs 是 E158K 和 E308G, 两种 SNPs 互为关联, 出现在相同的染色体上。(E158K/E308G) 变异体使酶活性降低, 如减少体内抗溃疡药甲胺咪硫的 *N*-氧化物的生成, 表现出中等或者短暂的三甲胺尿症的症状^[63]。FMO3 活性降低也可能是有利的, 如 FMO3 的突变型影响非甾体抗炎药舒林酸对患有家族性腺瘤性息肉病 (familial adenomatous polyposis, FAP) 的临床治疗效果。舒林酸是一种前体药物, 在体内由肠道菌群代谢成有效形式—硫化舒林酸, FMO3 会将其氧化成非活性产物, 而在 E158K 和

E308G 变异体中, FMO3 活性降低使硫化舒林酸的氧化程度降低, 从而提高了药物治疗效果^[64]。

4.3.4 FMO4 已知人肝脏 mRNA 按照 $\text{FMO}_3 \geq \text{FMO}_5 \geq \text{FMO}_4$ 的顺序编码 FMOs, FMO4 的浓度和活性均很低, 并非肝脏中参与药物代谢的主要酶。人 FMO4 的突变型是所有 FMOs 中最为复杂的同工酶, 目前已鉴定出全长以及突变型的 FMO4, 全长型 FMO4 主要存于肝脏和肾脏, 脑中也有少量存在^[22]。

4.3.5 FMO5 FMO5 在成人肝脏、小肠、肾、肺等组织中表达较高, 占肝脏中总 FMOs 的 50%, 很少发现其突变型。虽然 FMO5 能催化某些短链脂肪胺如 *N*-辛胺的 *N*-氧化以及某些含硫物如杀虫剂倍硫磷、抗风湿药艾那莫德的 *S*-氧化, 但因其具有相对于 FMO1 或 FMO3 更深的底物结合区, FMO5 很少参与 FMOs 特征底物如苄达明、三甲胺的氧化反应^[65], 因此长期以来 FMO5 在药物代谢方面的作用常被忽视。近期研究发现, FMO5 不仅能参与食物来源的脂肪酮 (如庚酮)、环酮类 (如薄荷酮) 以及醛类 (如茴香醛) 等的氧化, 还能催化抗癌药物 ER-879819 和抗菌药 MRX-1314 生成酯^[66], 因此上述化合物可以作为测定 FMO5 活性的探针底物。此外, 通过小鼠 FMO5 基因敲除表明, FMO5 也参与内源性物质的代谢, 通过下调与糖脂代谢相关的催化酶等多重作用促进代谢老化^[67]。

应当指出的是, FMOs 的个体间差异多由于基因突变, 但 FMO5 的突变多由生理因素或者化学物质诱导, 如合成孕激素 R5020、利福平、管叶金丝桃素分别增加乳腺癌细胞、人肝细胞、和 HepG2 中的 FMO5 基因表达水平^[68]。

5 FMOs 与 CYPs 鉴定的区别

在以往的研究中, 通常认为 CYPs 是参与药物和外源物代谢的主要 I 相代谢酶。因 FMOs 与 CYPs 具有相似的分子质量、底物特异性、组织和细胞分布以及实验条件的影响因素, 微粒体 FMOs 对药物代谢的贡献常被低估。随着越来越多的 FMOs 底物被发现, FMOs 与 CYPs 在药物代谢方面的差异也逐渐得到重视。

首先, FMOs 与 CYPs 的催化机制具有明显区别。其次, 在底物选择性方面, FMOs 倾向于催化亲核化合物的氧化, 而 CYPs 则更易氧化低亲核化合物。虽然 FMOs 与 CYPs 都能催化含氮、硫的杂原子氧化, 但 CYPs 多催化碳原子的羟基化、脱烷基化以及环氧化, 易生成活性及潜在毒性的代谢产物, 部分产物还可抑制 CYPs 的活性。相反, FMOs 是通过双电子机

制催化亲核杂原子化合物氧化, 通常生成极性、易排出体外的低毒产物, 且产物不会抑制 FMOs 的活性。CYPs 通常依靠转录调控表达水平, 但目前并没有通过转录来调控 FMOs 表达的相关报道。同时, 也没有报道证明转录后翻译对 FMO 的表达有明显的作用^[69]。

通常区分这两种酶的方法是热灭活 FMOs 和用抑制剂抑制 CYPs 活性。在不加入 NADPH 的条件下, FMOs 在 55 °C 条件下不稳定, 而相同条件下 CYPs 能保持 80% 以上的活性, 因此可以在不加入 NADPH 时通过 55 °C 预温孵来抑制 FMOs 的活性。另一区分 FMOs 与 CYPs 的方法是加入 CYPs 抑制剂如 *N*-苄基咪唑或去污剂, 可明显抑制 CYPs 活性而基本不影响 FMOs 活性。但一些 CYPs 的抑制剂如 SKF525A 是 FMOs 的底物, 因此可能会通过底物选择性竞争而抑制 FMOs。此外, FMOs 与 CYPs 的最适 pH 值不同, FMOs 为 pH 9~10, CYPs 为 pH 7.4, 因此可在 pH 8.4~9.4 的条件下预温孵肝微粒体以抑制 CYPs 的活性^[70]。目前可通过重组酶准确鉴定 FMOs 是否参与某一化合物的代谢。

6 FMOs 介导的药物相互作用

在新药研发的过程中, 寻找由非 CYP 酶参与代谢的候选化合物来降低由代谢酶介导的药物相互作用是近年来新药筛选的新方向。例如, 西沙必利与伊托必利是用于治疗胃食管反流的促动力药物, 西沙必利在体内由 CYP3A4 代谢脱烷基, 当与其他药物合用时会因为对 CYP3A4 的抑制作用从而使西沙必利的血药浓度升高, 引起 QT 间期延长并伴有室性心律不齐的风险; 而依托比利不经过 CYP3A4 代谢且只由 FMO3 代谢生成 *N*-氧化产物。由于 FMO3 不易被诱导或抑制, 使用伊托必利代替西沙必利可降低药物-药物相互作用的风险^[25]。又如抗精神病药奥氮平由 CYP1A2、CYP2D6 和 FMO3 参与代谢, CYP2D6 和 FMO3 虽然存在个体间基因差异, 但并不能引起奥氮平体内代谢的差异, 因此推测由多酶参与的代谢, 可以通过代偿作用降低药物的相互作用^[71]。

Shimizu 等^[72]鉴定了 41 种含 N/S 的化合物对 FMO3 参与的苯达明 *N*-氧化的抑制作用, 结果表明三甲胺、甲硫咪唑、伊托必利、陶扎色替可抑制约 50% 苯达明 *N*-氧化, 随后证实甲硫咪唑也能抑制硫化舒林酸的 *S*-氧化, 其他含 N/S 化合物对 FMO 活性影响较小, 不仅说明 FMOs 不易被诱导或者抑制, 也提示由 FMOs 参与代谢的 N/S 化合物间的相互作用较小, 可为类似结构的候选药物设计提供依据。苯达明的 *N*-氧化和硫化舒林酸的 *S*-氧化可作为 FMO3 参与的药物相互

作用研究的探针底物。

7 FMOs 与临床疾病

7.1 三甲胺尿症

FMO3 的无功能突变会导致遗传性疾病, 如三甲胺尿症。三甲胺 (trimethylamine, TMA) 是一种有鱼腥味的物质, 通过肠道菌群分解饮食中的胆碱或者肉毒碱而生成三甲胺并吸收进入血液循环, 被 FMO3 氧化成氮氧化物 (TMAO) 排出体外。基因变异可造成 FMO3 功能缺失, 使 TMA 不能氧化成 TMAO, 从而使高浓度三甲胺通过尿液和汗液排除体外, 使患者散发出鱼腥味, 因此也叫做鱼腥综合征^[73]。除基因突变外, 人性激素、FMO3 抑制剂或肝脏、肾脏疾病等因素使 FMO3 活性降低时也会导致 TMAO/TMA 比例上升, 出现三甲胺尿症的症状及对某些药物代谢能力的改变。

7.2 糖脂代谢和动脉粥样硬化

FMO3 在糖尿病中作用的早期研究主要集中在啮齿类动物模型, 发现 FMO3 缺陷可导致循环系统和肝脏中糖脂水平的下降, 相反 FMO3 过表达可提高糖脂水平, 推测体内 FMO3 是通过 PPAR α 和 Kruppel-样因子 15 (KLF15) 途径调节糖脂水平, 而非直接通过 TMA 或者 TMAO 途径^[74]。预测降低 FMOs 活性至正常水平之下可预防糖尿病引发的动脉粥样硬化。

7.3 帕金森症

近年来发现脑中 FMOs 也具有一定的功能。在神经毒素鱼藤酮 (rotenone) 诱发的帕金森模型中, 通过 FMOs 抑制剂甲硫咪唑抑制 FMOs 活性, 能直接引起半胱天冬酶 3 (活化的半胱天冬酶 3 可诱发细胞凋亡) 活性增强, 同时引起 Parkin 蛋白 (可维持多巴胺能神经元的正常功能) 表达下降。因此推测, FMOs 功能紊乱是鱼藤酮诱导帕金森模型中多巴胺能细胞凋亡的一个原因, 为病理模型研究提供了一个新的线索^[75]。

8 总结与展望

FMOs 能催化多种药物、饮食成分以及杀虫剂等外源物的氧化, 生成极性大、易排出体外的代谢产物, 该酶的底物广泛性与其独特的催化机制相关。FMOs 不易被诱导或者抑制, 表达水平存在明显组织、年龄、性别以及种属差异, 且存在多种基因突变, 引起酶数量和活性改变, 从而影响药物的疗效。近年发现 FMOs 与多种疾病的发生发展相关, FMO3 的无功能突变不仅可引起三甲胺尿症, 也与体内糖脂水平下降有关。此外, FMOs 功能紊乱者可能有帕金森症和

脑卒中的风险。

虽然以往的观点认为 FMOs 在药物代谢中发挥的作用很小, 但 FMOs 参与药物代谢的优势日益受到重视。未来 FMOs 基因表型研究可作为预测药物代谢的个体差异一种手段, 有助于为新药的临床合理应用提供参考。另一方面, 基于大多数药物不是 FMOs 的底物, 引起对 FMOs 选择性抑制的可能较小, 且 FMOs 不易被诱导或抑制, 设计由 FMOs 参与代谢的新候选药物可能降低药物相互作用的风险。此外, FMOs 功能研究为病理模型研究提供了新线索, 并可考虑以 FMOs 为靶点设计具有新作用机制的药物。

References

- [1] Krueger SK, Williams DE. Mammalian flavin-containing monooxygenases: structure/function, genetic polymorphisms and role in drug metabolism [J]. *Pharmacol Ther*, 2005, 106: 357–387.
- [2] Fiorentini F, Geier M, Binda C, et al. Biocatalytic characterization of human FMO5: unearthing Baeyer-Villiger reactions in humans [J]. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 1039–1048.
- [3] Fan PW, Zhang D, Halladay JS, et al. Going beyond common drug metabolizing enzymes: case studies of biotransformation involving aldehyde oxidase, γ -glutamyl transpeptidase, cathepsin b, flavin-containing monooxygenase, and ADP-ribosyltransferase [J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44: 1253–1261.
- [4] Ziegler DM, Mitchell CH. Microsomal oxidase. IV. Properties of a mixed-function amine oxidase isolated from pig liver microsomes [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1972, 150: 116–125.
- [5] Tynes RE, Sabourin PJ, Hodgson E. Identification of distinct hepatic and pulmonary forms of microsomal flavin-containing monooxygenase in the mouse and rabbit [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1985, 126: 1069–1075.
- [6] Tynes RE, Hodgson E. Catalytic activity and substrate specificity of the flavin-containing monooxygenase in microsomal systems: characterization of the hepatic, pulmonary and renal enzymes of the mouse, rabbit, and rat [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1985, 240: 77–93.
- [7] Atta-Asafo-Adjei E, Lawton MP, Philpot RM. Cloning, sequencing, distribution, and expression in *Escherichia coli* of flavin-containing monooxygenase 1C1. Evidence for a third gene subfamily in rabbits [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268: 9681–9689.
- [8] Lang DH, Yeung CK, Peter RM, et al. Isoform specificity of trimethylamine *N*-oxygenation by human flavin-containing monooxygenase (FMO) and P450 enzymes: selective catalysis by FMO3 [J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, 56: 1005–1012.
- [9] Chen Y, Zane NR, Thakker DR, et al. Quantification of flavin-containing monooxygenases 1, 3, and 5 in human liver microsomes by UPLC-MRM-based targeted quantitative proteomics and its application to the study of ontogeny [J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44: 975–983.
- [10] Taniguchi-Takizawa T, Shimizu M, Kume T, et al. Benzydamine *N*-oxygenation as an index for flavin-containing monooxygenase activity and benzydamine *N*-demethylation by cytochrome P450 enzymes in liver microsomes from rats, dogs, monkeys, and humans [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2015, 30: 64–69.
- [11] Phillips IR, Shephard EA. Flavin-containing monooxygenases: mutations, disease and drug response [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2008, 29: 294–301.
- [12] Kim YM, Ziegler DM. Size limits of thiocarbamides accepted as substrates by human flavin-containing monooxygenase 1 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28: 1003–1006.
- [13] Korsmeyer KK, Guan S, Yang ZC, et al. *N*-Glycosylation of pig flavin-containing monooxygenase form 1: determination of the site of protein modification by mass spectrometry [J]. *Chem Res Toxicol*, 1998, 11: 1145–1153.
- [14] Siddens LK, Henderson MC, Vandyke JE, et al. Characterization of mouse flavin-containing monooxygenase transcript levels in lung and liver, and activity of expressed isoforms [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75: 570–579.
- [15] Hernandez D, Janmohamed A, Chandan P, et al. Organization and evolution of the flavin-containing monooxygenase genes of human and mouse: identification of novel gene and pseudogene clusters [J]. *Pharmacogenetics*, 2004, 14: 117–130.
- [16] Dolphin CT, Cullingford TE, Shephard EA, et al. Differential developmental and tissue-specific regulation of expression of the genes encoding three members of the flavin-containing monooxygenase family of man, FMO1, FMO3 and FM04 [J]. *Eur J Biochem*, 1996, 235: 683–689.
- [17] Cherrington NJ, Cao Y, Cherrington JW, et al. Physiological factors affecting protein expression of flavin-containing monooxygenases 1, 3 and 5 [J]. *Xenobiotica*, 1998, 28: 673–682.
- [18] Uno Y, Shimizu M, Yamazaki H. Molecular and functional characterization of flavin-containing monooxygenases in *Cynomolgus macaque* [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85: 1837–1847.
- [19] Larsen-Su S, Krueger SK, Yueh MF, et al. Flavin-containing monooxygenase isoform 2: developmental expression in fetal and neonatal rabbit lung [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 1999, 13: 187–193.

- [20] Cashman JR. Human flavin-containing monooxygenase: substrate specificity and role in drug metabolism [J]. *Curr Drug Metab*, 2000, 1: 181–191.
- [21] Ziegler DM. An overview of the mechanism, substrate specificities, and structure of FMOs [J]. *Drug Metab Rev*, 2002, 34: 503–511.
- [22] Phillips IR, Dolphin CT, Clair P, et al. The molecular biology of the flavin-containing monooxygenases of man [J]. *Chem Biol Interact*, 1995, 96: 17–32.
- [23] Lin J, Cashman JR. Detoxication of tyramine by the flavin-containing monooxygenase: stereoselective formation of the trans oxime [J]. *Chem Res Toxicol*, 1997, 10: 842–852.
- [24] Lang DH, Rettie AE. *In vitro* evaluation of potential *in vivo* probes for human flavin-containing monooxygenase (FMO): metabolism of benzydamine and caffeine by FMO and P450 isoforms [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2000, 50: 311–314.
- [25] Furnes B, Schlenk D. Evaluation of xenobiotic *N*- and *S*-oxidation by variant flavin-containing monooxygenase 1 (FMO1) enzymes [J]. *Toxicol Sci*, 2004, 78: 196–203.
- [26] Yu J, Brown DG, Burdette D. *In vitro* metabolism studies of nomifensine monooxygenation pathways: metabolite identification, reaction phenotyping, and bioactivation mechanism [J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38: 1767–1778.
- [27] Kajita J, Inano K, Fuse E, et al. Effects of olopatadine, a new antiallergic agent, on human liver microsomal cytochrome P450 activities [J]. *Drug Metab Dispos*, 2002, 30: 1504–1511.
- [28] Li F, Patterson AD, Krausz KW, et al. Metabolomics reveals the metabolic map of procainamide in humans and mice [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83: 1435–1444.
- [29] Parte P, Kupfer D. Oxidation of tamoxifen by human flavin-containing monooxygenase (FMO) 1 and FMO3 to tamoxifen-*N*-oxide and its novel reduction back to tamoxifen by human cytochromes P450 and hemoglobin [J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33: 1446–1452.
- [30] Attar M, Dong D, Ling KH, et al. Cytochrome P450 2C8 and flavin containing monooxygenases are involved in the metabolism of tazarotenic acid in humans [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 476–481.
- [31] Yanni SB, Annaert PP, Augustijns P, et al. Role of flavin-containing monooxygenase in oxidative metabolism of voriconazole by human liver microsomes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 1119–1125.
- [32] Ring BJ, Wrighton SA, Aldridge SL, et al. Flavin-containing monooxygenase-mediated *N*-oxidation of the M1-muscarinic agonist xanomeline [J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27: 1099–1103.
- [33] Szökő É, Tábi T, Borbás T, et al. Assessment of the *N*-oxidation of deprenyl, methamphetamine, and amphetamine enantiomers by chiral capillary electrophoresis: an *in vitro* metabolism study [J]. *Electrophoresis*, 2004, 25: 2866–2875.
- [34] Usmani KA, Chen WG, Sadeque AJM. Identification of human cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase enzymes involved in the metabolism of lorcaserin, a novel selective human 5-hydroxytryptamine 2C agonist [J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40: 761–771.
- [35] Potega A, Dabrowska E, Niemira M, et al. The imidazoacridinone antitumor drug, C-1311, is metabolized by flavin monooxygenases but not by cytochrome P450s [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39: 1423–1432.
- [36] Joo J, Wu Z, Lee B, et al. *In vitro* metabolism of an estrogen-related receptor γ modulator, GSK5182, by human liver microsomes and recombinant cytochrome P450s [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2015, 36: 163–173.
- [37] Ballard JE, Prueksaritanont T, Tang C. Hepatic metabolism of MK-0457, a potent aurora kinase inhibitor: interspecies comparison and role of human cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 1447–1451.
- [38] Xie G, Wong CC, Cheng KW, et al. Regioselective oxidation of phospho-NSAIDs by human cytochrome P450 and flavin monooxygenase isoforms: implications for their pharmacokinetic properties and safety [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 167: 222–232.
- [39] Hamman MA, Haehner-Daniels BD, Wrighton SA, et al. Stereoselective sulfoxidation of sulindac sulfide by flavin-containing monooxygenases. Comparison of human liver and kidney microsomes and mammalian enzymes [J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60: 7–17.
- [40] Hai X, Adams E, Hoogmartens J, et al. Enantioselective in-line and off-line CE methods for the kinetic study on cimetidine and its chiral metabolites with reference to flavin-containing monooxygenase genetic isoforms [J]. *Electrophoresis*, 2009, 30: 1248–1257.
- [41] Francois AA, Nishida CR, Ortiz De Montellano PR, et al. Human flavin-containing monooxygenase 2.1 catalyzes oxygenation of the antitubercular drugs thiacetazone and ethionamide [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 178–186.
- [42] Ring BJ, Catlow J, Lindsay TJ, et al. Identification of the human cytochromes P450 responsible for the *in vitro* formation of the major oxidative metabolites of the antipsychotic agent olanzapine [J]. *J Pharmacol Exper Ther*, 1996, 276: 658–666.
- [43] Mayatepek E, Flock B, Zschocke J. Benzydamine metabo-

- lism *in vivo* is impaired in patients with deficiency of flavin-containing monooxygenase 3 [J]. *Pharmacogenetics*, 2004, 14: 775–777.
- [44] Tugnait M, Hawes EM, McKay G, et al. *N*-oxygenation of clozapine by flavin-containing monooxygenase [J]. *Drug Metab Dispos*, 1997, 25: 524–527.
- [45] Cashman JR, Xiong YN, Xu L, et al. *N*-Oxygenation of amphetamine and methamphetamine by the human flavin-containing monooxygenase (form 3): role in bioactivation and detoxication [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 288: 1251–1260.
- [46] Wang L, Christopher LJ, Cui D, et al. Identification of the human enzymes involved in the oxidative metabolism of dasatinib: an effective approach for determining metabolite formation kinetics [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 1828–1839.
- [47] Luo JP, Vashishtha SC, Hawes EM, et al. *In vitro* identification of the human cytochrome p450 enzymes involved in the oxidative metabolism of loxapine [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2011, 32: 398–407.
- [48] Lomri N, Yang Z, Cashman JR. Expression in *Escherichia coli* of the flavin-containing monooxygenase D (form II) from adult human liver: determination of a distinct tertiary amine substrate specificity [J]. *Chem Res Toxicol*, 1993, 6: 425–429.
- [49] Kousba A, Soll R, Yee S, et al. Cyclic conversion of the novel Src kinase inhibitor [7-(2,6-dichloro-phenyl)-5-methylbenzo[1,2,4]triazin-3-yl]-[4-(2-pyrrolidin-1-yl-ethoxy)-phenyl]-amine (TG100435) and its *N*-oxide metabolite by flavin-containing monooxygenases and cytochrome P450 reductase [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 2242–2251.
- [50] Jacobsen W, Christians U, Benet LZ. *In vitro* evaluation of the disposition of a novel cysteine protease inhibitor [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28: 1343–1351.
- [51] Prueksaritanont T, Lu P, Gorham L, et al. Interspecies comparison and role of human cytochrome P450 and flavin-containing monooxygenase in hepatic metabolism of L-775, 606, a potent 5-HT (1D) receptor agonist [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 30: 47–59.
- [52] Rawden HC, Kokwaro GO, Ward SA, et al. Relative contribution of cytochromes P-450 and flavin-containing monooxygenases to the metabolism of albendazole by human liver microsomes [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2000, 49: 313–322.
- [53] Ohmi N, Yoshida H, Endo H, et al. *S*-Oxidation of *S*-methyl-esonarimod by flavin-containing monooxygenases in human liver microsomes [J]. *Xenobiotica*, 2003, 33: 1221–1231.
- [54] Meng J, Zhong D, Li L, et al. Metabolism of MRX-I, a novel antibacterial oxazolidinone, in humans: the oxidative ring opening of 2,3-dihydropyridin-4-one catalyzed by non-P450 enzymes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43: 646–659.
- [55] Yamazaki M, Shimizu M, Uno Y, et al. Drug oxygenation activities mediated by liver microsomal flavin-containing monooxygenases 1 and 3 in humans, monkeys, rats, and minipigs [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 90: 159–165.
- [56] Burnett VL, Lawton MP, Philpot RM. Cloning and sequencing of flavin-containing monooxygenases FMO3 and FMO4 from rabbit and characterization of FMO3 [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 14314–14322.
- [57] Koukouritaki SB, Simpson P, Yeung CK, et al. Human hepatic flavin-containing monooxygenases 1 (FMO1) and 3 (FMO3) developmental expression [J]. *Pediatr Res*, 2002, 51: 236–243.
- [58] Ruffatti A, Del Ross T, Ciprian M, et al. Risk factors for a first thrombotic event in antiphospholipid antibody carriers: a prospective multicentre follow-up study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70: 1083–1086.
- [59] Dolphin CT, Beckett DJ, Janmohamed A, et al. The flavin-containing monooxygenase 2 gene (FMO2) of humans, but not of other primates, encodes a truncated, nonfunctional protein [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 30599–30607.
- [60] Krieter PA, Ziegler DM, Hill KE, et al. Increased biliary GSSG efflux from rat livers perfused with thiocarbamide substrates for the flavin-containing monooxygenase [J]. *Mol Pharmacol*, 1984, 26: 122–127.
- [61] Park CS, Kang JH, Chung WG, et al. Ethnic differences in allelic frequency of two flavin-containing monooxygenase 3 (FMO3) polymorphisms: linkage and effects on *in vivo* and *in vitro* FMO activities [J]. *Pharmacogenetics*, 2002, 12: 77–80.
- [62] Catucci G, Occhipinti A, Maffei M, et al. Effect of human flavin-containing monooxygenase 3 polymorphism on the metabolism of aurora kinase inhibitors [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 2707–2716.
- [63] Kang JH, Chung WG, Lee KH, et al. Phenotypes of flavin-containing monooxygenase activity determined by ranitidine *N*-oxidation are positively correlated with genotypes of linked FMO3 gene mutations in a Korean population [J]. *Pharmacogenetics*, 2000, 10: 67–78.
- [64] Cashman JR, Zhang J. Human flavin-containing monooxygenases [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2006, 46: 65–100.
- [65] Cashman JR. Role of flavin-containing monooxygenase in drug development [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4: 1507–1521.

- [66] Lai WG, Farah N, Moniz GA, et al. A Baeyer-Villiger oxidation specifically catalyzed by human flavin-containing monooxygenase 5 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39: 61–70.
- [67] Gonzalez Malagon SG, Melidoni AN, Hernandez D, et al. The phenotype of a knockout mouse identifies flavin-containing monooxygenase 5 (FMO5) as a regulator of metabolic ageing [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 96: 267–277.
- [68] Miller MM, James RA, Richer JK, et al. Progesterone regulated expression of flavin-containing monooxygenase 5 by the B-isoform of progesterone receptors: implications for tamoxifen carcinogenicity [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 2956–2961.
- [69] Cashman JR. Some distinctions between flavin-containing and cytochrome P450 monooxygenases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338: 599–604.
- [70] Grothusen A, Hardt J, Bräutigam L, et al. Convenient method to discriminate between cytochrome P450 enzymes and flavin-containing monooxygenases in human liver microsomes [J]. *Arch Toxicol*, 1996, 6: 64–71.
- [71] Okubo M, Narita M, Murayama N, et al. Individual differences in *in vitro* and *in vivo* metabolic clearances of the antipsychotic drug olanzapine from non-smoking and smoking Japanese subjects genotyped for cytochrome P4502D6 and flavin containing monooxygenase 3 [J]. *Hum Psychopharmacol*, 2016, 31: 83–92.
- [72] Shimizu M, Shiraishi A, Sato A, et al. Potential for drug interactions mediated by polymorphic flavin-containing monooxygenase 3 in human livers [J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2015, 30: 70–74.
- [73] Dolphin CT, Riley JH, Smith RL, et al. Structural organization of the human flavin-containing monooxygenase 3 gene (FMO3), the favored candidate for fish-odor syndrome, determined directly from genomic DNA [J]. *Genomics*, 1997, 46: 260–267.
- [74] Shih DM, Wang Z, Lee R, et al. Flavin containing monooxygenase 3 exerts broad effects on glucose and lipid metabolism and atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*, 2015, 56: 22–37.
- [75] Li B, Yuan Y, Zhang W, et al. Flavin-containing monooxygenase, a new clue of pathological proteins in the rotenone model of parkinsonism [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 566: 11–16.