

· 专家论坛 ·

2018年中国药物代谢研究进展

余露山¹, 毕惠嫦², 吴宝剑³, 葛广波⁴, 郑江^{5,6}, 乔海灵⁷, 曾苏^{1*}

(1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058; 2. 中山大学药学院, 广东 广州 510006; 3. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632; 4. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203; 5. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016; 6. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550004; 7. 郑州大学基础医学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 本文总结了2018年中国学者在药物代谢领域的研究进展。该年度, 中国学者聚焦药物代谢酶和药物转运体, 开展活性分子药物代谢/转运机制研究、药物代谢酶和转运体的调节机制及其用于药物和疾病的研究、基于药物代谢/转运的药物毒性机制和临床合理用药研究、肠道菌群药物代谢、中药代谢和DMPK新技术和新模型研究等, 取得了一系列国际前沿的创新性成果。近年来, 中国的药物代谢研究正由新药研发和合理用药导向研究为主, 向创新驱动和机制导向深度研究并重转型, 研究方向和水平逐步与国际接轨。

关键词: 药物代谢; 药物代谢酶; 药物转运体; 调节机制

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)06-0963-08

2018 DMPK research progress in China

YU Lu-shan¹, BI Hui-chang², WU Bao-jian³, GE Guang-bo⁴, ZHENG Jiang^{5,6},
QIAO Hai-ling⁷, ZENG Su^{1*}

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 3. School of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 4. Institute of Interdisciplinary Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 5. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 6. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 7. Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: This paper summarizes research progresses of Chinese scholars in the field of drug metabolism and pharmacokinetics (DMPK) in 2018. Chinese scholars focused on drug metabolizing enzymes and transporters, and carried out studies on the mechanisms of drug metabolism and transport of active molecules. Topics of research included regulatory mechanisms of drug metabolizing enzymes or transporters, and their implications in drug development and disease etiology or progression. Here, we summarized studies on drug toxicity based on drug metabolism or transport, rational drug use in the clinic, drug metabolism mediated by intestinal flora, metabolism of traditional Chinese medicines, and new technologies or models in DMPK. In recent years, the research focus of drug metabolism in China has transformed from serving for new drug discovery and rational use, to innovation driven and mechanism oriented research. The domestic research topics and technology utilization are gradually aligning with the international conventions.

Key words: drug metabolism; drug metabolic enzymes; drug transporters; regulation mechanism

一些药物应用后, 需要通过药物转运体 (drug

transporter) 运送到靶器官和靶标部位, 并经过药物代谢酶 (drug metabolizing enzyme) 作用发生生物转化, 通过吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism) 和排泄 (excretion) 过程 (ADME) 使药物激活、失活、解毒或增毒。因此, 在药物研发过程中, 化合物

收稿日期: 2019-02-26; 修回日期: 2019-03-30.

基金项目: 国家重点研发计划精准医学研究重点专项 (2017YFC0908600).

*通讯作者 Tel: 86-571-88208405, E-mail: zengsu@zju.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0138

的体内 ADME 处置过程是其成药性的重要指标之一。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^[1-3]。药物代谢研究不仅贯穿于新药研发的全过程,还与疾病的诊断、疗效、预后和合理用药相关^[4]。生命科学、化学和医学等学科的快速发展,为药物代谢与药代动力学 (DMPK) 的深入研究提供了大量新理论和技术支持。

2018 年中国学者在国际药物代谢研究领域最重要的专业学术期刊《Drug Metabolism and Disposition》上发表了 24 篇论文,占该杂志全年发表论文的 10%。中国学者聚焦药物代谢酶和药物转运体,从药物代谢/转运的角度,开展活性分子药物代谢/转运机制研究、药物代谢酶和转运体的调节机制及其用于药物和疾病的研究、基于药物代谢/转运的药物毒性机制和临床合理用药研究、肠道菌群药物代谢、中药代谢和 DMPK 新技术新模型研究等。本文仅就 2018 年中国学者在 DMPK 领域取得的重要成果做一分析总结,由于水平有限,难免挂一漏万,请大家批评指正。

1 活性分子药物代谢/转运机制研究

在药物设计和结构修饰研究中,药物代谢性质是评估活性分子成药性的重要因素之一。由于含有喹啉的 c-Met 激酶抑制剂是醛氧化酶 (AO) 底物, Zhang 等^[5]采用 LC-MS/MS 分析 3-取代喹啉三唑啉同系物经由 AO 催化生成的喹啉环单氧化代谢物,及其代谢稳定性与给电子和空间位阻效应的关系,并提出了具有高 AO 代谢的共同结构特征,为设计该类药物提供有用的信息。Xie 等^[6]研究表明,用于治疗晚期透明肾细胞癌的 HIF-2 α 选择性小分子抑制剂 PT2385,通过上调肝脏中胆汁酸合成限速酶 CYP7A1 的表达,升高小鼠血清和肝脏中的胆汁酸代谢物牛磺胆酸和牛磺- β -鼠胆酸;在小鼠体内有 12 种代谢物,其主要代谢酶是 CYP2C19、UGT2B17 和 UGT1A1/3。而药物进入临床实验后,会出现体外体内实验结果不一致的情况,陈笑艳和钟大放团队^[7]发现艾瑞昔布在人体内生成大量羧酸代谢物,在体外实验中则很少形成,造成人体内外代谢差异性的机制是:艾瑞昔布生成醛代谢中间体是氧化代谢的限速步骤,后者在肝微粒体和肝胞浆中可发生大量的还原代谢。因此,在体外代谢实验中,应考虑竞争还原对静态氧化代谢的影响。

药物代谢/转运机制研究可为活性分子和药物的安全性评价和合理临床应用提供 DMPK 数据。氯吡格雷酰基葡萄糖醛酸苷 (CLP-G) 是肝脏中产生的氯吡格雷的主要 II 相代谢产物,可进一步排泄到尿液中;谢红光课题组^[8]研究显示, *Abcc3* (*Mrp3*) 敲除 (KO) 小

鼠的 CLP-G 的肝脏与血浆比率比 WT 小鼠高 11 倍;并且 CLP-G 与 ATP 共孵育显著高于与 AMP 共孵育时的膜囊泡摄入比例;可见,MRP3 以 ATP 依赖性方式将 CLP-G 从肝细胞转运到血液中。吴宝剑课题组^[9]通过研究肝脏受体同系物-1 (Lrh-1/LRH-1) 调节 Oat2/OAT2 机制,发现 Lrh-1/LRH-1 诱导和激活 Oat2/OAT2 的转录和活性。在 Lrh-1^{hep-/-}小鼠中由于 Oat2/OAT2 底物多西紫杉醇肝摄取减少,导致全身暴露增加。该课题组还以含有叔胺结构的米安色林和苯甲嗪为模型药物,采用稳定过表达 HEK293-UGT2B10 细胞系,首次鉴定 UGT2B10 为其 *N*-葡萄糖醛酸化酶,产物 *N*-葡萄糖醛酸苷主要通过 BCRP 而非 MRP4 排泄^[10]。

2 药物代谢酶和转运体的调节机制及其用于药物和疾病的研究

药物代谢酶和转运体的调节机制是本领域长期的研究方向,洪梅课题组^[11]发现在 OATP1A2 编码基因 *SLCO1A2* 的近端启动子区域-1 845 至-1 836 是 NF κ B 的结合位点。TNF α 的处理显著增加 DNA-蛋白质复合物的形成,并包含 NF κ B 的 p65 和 p50 亚基,发挥抑制 *SLCO1A2* 表达的作用。然而,在生理和病理状态下,药物代谢酶和转运体的调节机制会有不同,因此,需要更加关注病理状态下的 DMPK 研究。

许多生命活动或行为都受到生物钟的调控,包括体温、心跳和睡眠等。药物的毒性和药效也经常因为用药时间的不同而表现出较大差异。为了揭开生物钟在药物解毒过程中的重要作用,吴宝剑课题组^[12-15]鉴定出小鼠肝脏中表达具有显著节律性的药物代谢酶,如 Cyp1a、Cyp2a、Cyp2b、Cyp2c、Cyp4a、Sult1a1 和 Ces2 等。进一步发现,核受体 SHP 可通过与多个时钟因子如 Rev-erba、E4bp4 及 Dec2 相互作用,影响 Cyp 酶的节律表达^[15]。SHP 敲除小鼠由于 Cyp1a 和 Cyp2e1 酶的表达降低,从而对茶碱引起的肝脏毒性的敏感性增加。同时 SHP 敲除可降低 Cyp2e1 表达,减弱了 APAP 引起的肝脏毒性。有意思的是,尽管在野生小鼠中 APAP 具有明显的时辰毒性,但这种差异在 SHP 敲除鼠中不再存在。Bmal1 是生物钟系统的核心组成部分, Sult1a1 的节律受到 Bmal1 的精密调控^[14]。当 Bmal1 敲除后, Sult1a1 节律也随之消失。昼夜节律的扰乱与疾病的发生也有密切关联,例如癌症、代谢性疾病及炎症等。生物钟蛋白 REV-ERBa 是生物钟系统的重要组成部分,对机体的生物节律及生理机能发挥着重要作用。吴宝剑课题组发现 Rev-ERBa 敲除鼠对溃疡性结肠炎的易感性增加,并且和 NLRP3 炎症小体的过度激活有关。Nlrp3 表达具有明显的节律性,而其节律来自于 Rev-ERBa 的反向调控;采用小分子化合物 SR9009 靶

向激活 Rev-ERB α , 对结肠炎的预防和治疗有显著作用, 并提出 REV-ERB α 有潜力成为溃疡性结肠炎治疗的新型药物靶点^[16]。另外, Rev-ERB α 拮抗可上调 Lrh-1 提高 Cyp7a1 酶水平, 从而降低胆固醇。因此, Rev-ERB α /LRH-1 轴可用于胆固醇相关疾病的治疗^[17]。

药物表观遗传学是药物代谢和转运机制研究的前沿, 由于 DNA 甲基化和组蛋白修饰是可逆的过程, 可以作为药物干预的靶点, 或者疾病发生、发展和疗效的生物标志物^[18]。浓缩核苷转运蛋白 2 (CNT2) 介导天然核苷和核苷衍生物类药物的摄取。余露山课题组^[19]发现结肠直肠癌 (CRC) 中 CNT2 表达显著抑制, 其机制是组蛋白去乙酰化酶 7 在 CRC 中显著上调, 引起 CNT2 启动子区域的组蛋白低乙酰化, 特别是在 H3K9Ac、H3K18Ac 和 H4Ac 位点。这种低乙酰化使得染色质结构更加紧密并降低了 CNT2 的表达, 使得核苷类化疗药物在 CRC 中的摄取减少, 从而导致耐药。用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 处理后, CRC 细胞中的 CNT2 表达及活性显著增加, 联用其底物核苷抗癌药克拉屈滨后, 克拉屈滨在 CRC 细胞中的摄取显著增加, 进而逆转 CRC 的化疗耐药。Cheng 等^[20]发现白介素 8 (IL-8) 可以通过上调 *ABCB1* (编码 P-gp) 启动子活性来增加 *ABCB1* 的转录, 而对其蛋白质或 mRNA 稳定性没有影响。靶向抑制 p65 可以减弱 IL-8 诱导的骨肉瘤 (OS) 细胞中 *ABCB1* 的转录, HDAC6 介导的 IL-8 上调可以通过转录调节 *ABCB1* 的表达来调节 OS 细胞对多柔比星的敏感性。靶向抑制 IL-8 可能是克服 OS 细胞多柔比星耐药性的有效方法, 有助于 OS 患者的临床治疗。

疾病状态显著影响药物代谢酶和转运体的活性。乔海灵课题组通过对肝癌患者的肝 CYP450 研究发现, 肝硬化组织的 CYP2E1 代谢二乙基亚硝胺 (DEN) 的活性明显增高; 在 DEN 诱发的大鼠原发性肝癌模型中, CYP2E1 先天活性高低与大鼠肝癌发生呈现出因果关系, 而 CYP2E1 非特异性抑制剂氯美噻唑则在一定程度上可预防大鼠肝癌的发生。CYP2E1 活性增高可能与肝癌发生有关^[21,22]。类似的, 高乙醇脱氢酶 (ADH) 活性也被证明与肝纤维化的发生有关^[23]。寡肽/组氨酸转运体 1, 2 (PHT1, PHT2) 是定位于溶酶体膜上的寡肽转运体家族成员, 可介导二/三肽、拟肽类物质和组氨酸的跨膜转运。蒋惠娣课题组发现小鼠结肠中表达 Pht1 和 Pht2, 且在 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠远端结肠和 LPMC 中 Pht2 被显著上调; 采用稳定表达于细胞膜的 MDCK-hPHT1、MDCK-hPHT2 细胞模型, 证明了细菌细胞壁降解产物 MDP、tri-DAP (NOD 配体) 是 hPHT1、hPHT2 底物^[24,25], 提示 PHT1、PHT2 可能参与溃疡性结肠炎的发生, 其机制是 LPS 可诱导 PHT2

表达, 加剧 NODs 介导的固有免疫应答, 同时 PHT2 也可促进 LPS 引起的固有免疫应答^[26]。雌激素在乳腺癌的病理发展中起关键作用, UGT1A8 参与儿茶酚雌激素的代谢。Zhou 等^[27]发现乳腺癌核因子红细胞 2 相关因子 2 (NRF2)-UGT1A8 信号在乳腺癌大鼠中下调, 而白藜芦醇通过上调 NRF2 的转录活性激活 UGT1A8 的表达, 加速代谢消除儿茶酚雌激素, 抑制雌激素诱导的 DNA 损伤并抑制乳腺癌的病理发展。

3 基于药物代谢/转运的药物毒性机制研究

针对肝损伤与药物代谢的关系, 毕惠娣和黄民团队^[28]发现 MRP3 和 CYP2B10 (人 CYP2B6) 是 p53 的新靶基因, 而 p53 通过调控 CYP2B10、SULT2A1 和 MRP2/3/4 等胆汁酸稳态相关代谢酶或转运体, 影响胆汁酸代谢和排泄从而抵抗胆汁淤积性肝损伤; 并且 p53 通过影响 NRF2-ARE 通路, 调控相关代谢酶 UGT1A1、UGT1A6、UGT1A9、SULT2A1、GST α 、GST μ 、GST π 、NQO1 和药物转运体 MRP2/3/4 等, 从而抵抗扑热息痛肝毒性。郑江课题组^[29]鉴定了厄洛替尼生成的乙烯酮代谢中间体可在赖氨酸残基上共价修饰酶蛋白并破坏 CYP3A4 和 3A5 的血红素结构, 引起肝毒性。

4 肠道菌群药物代谢

肠道菌群与人类多种疾病密切相关, 也影响肠道的药物代谢。燕茹课题组^[30]通过硫酸葡聚糖钠 (DSS) 诱导大鼠结肠炎模型结合粪菌移植, 证实肠道菌群通过分泌细菌外膜囊泡 (OMVs), 直接作用于肠上皮细胞或通过激活巨噬细胞, 经 Toll-样受体 4/有丝分裂原激活的蛋白激酶/磷脂酰肌醇 3-激酶途径来部分调节肠道 UGT1A1。

一些中药也是通过肠道菌群发挥药理作用。小檗碱 (BBR) 是具有显著优势的多靶点药物, 但是 BBR 的血浆水平非常低。王琰和蒋建东团队研究了比格犬肠道微生物群调节口服 BBR 的药代动力学, 用 BBR 处理 7 天的比格犬在血浆和粪便中分别增加 1.3 倍和 1.2 倍肠道菌的活性代谢物丁酸盐, 并增加了产生硝酸还原酶的细菌丰度。上述结果为发现吸收差但疗效良好的药物提供了依据^[31]。肠道微生物特别是肠道羧酸酯酶可以将芍药内酯苷转化为苯甲酸, 苯甲酸可以穿过血脑屏障, 抑制脑中 D-氨基酸氧化酶, 改善脑功能并在体内发挥抗抑郁活性^[32]。

多糖和小分子通常共存于中药汤剂中。燕茹课题组^[33]发现人参多糖 (GP) 能够重建菌群平衡, 减轻 DSS 诱导的结肠炎样症状, 同时增强人参皂苷 Rb1 的肠道菌群去糖基化和肠上皮吸收来增加 Rb1 的系统暴露。因此, 肠道菌群介导了传统中药汤剂中大分子和小分子的相互作用, 在中药的整体性作用中扮演重要角色。

梁艳和王广基课题组^[34]研究了三七总皂苷提取物(PNE)对胃肠道微生物群和 γ 氨基丁酸(GABA)受体的调节作用,结果显示PNE预处理对大鼠局灶性脑缺血/再灌注(I/R)损伤具有显著的神经保护作用,无菌大鼠的效率降低。PNE预处理可显著阻止I/R手术引起的长双歧杆菌(B.L)的下调,而B.L的定植也可发挥神经保护作用。更重要的是,PNE和B.L均可上调I/R大鼠海马中GABA受体的表达,并且与GABA-B受体拮抗剂共同给药可显著减弱PNE和B.L的神经保护作用。上述研究表明,PNE的神经保护作用可能主要归因于其对肠道菌群的调节,并且用B.L口服治疗也可通过上调GABA-B受体来治疗缺血/再灌注损伤(I/R)。

5 基于DMPK的临床合理用药

乔海灵教授课题组^[35]近年来建立了具有较大肝样本量的体外人肝药物代谢研究技术平台,对人肝CYP450主要亚型的生理含量、活性及其个体差异等进行了较为系统的研究。研究了10种主要CYP450的生理含量和活性及其个体差异,指出了传统的以微粒体水平表示的酶活性存在明显不足,酶水平活性才是CYP450的真正活性,如采用CYP3A4/5两种探针睾酮(TST)和咪达唑仑(MDZ)得到的酶活性往往有所不同,但两者活性在酶水平的相关性明显优于微粒体水平;提出了CYP450不同水平活性表型的变化过程,即系统表型(systemic phenotype),包括分子表型、亚细胞表型、组织表型、器官表型、整体表型等;探讨了CYP450含量和基因多态性对药物代谢活性的影响,提出CYP450基因多态性对其微粒体水平活性的影响有的是通过影响酶含量而实现的;还提出了CYP450个体内差异(intraindividual variation)的新概念,即同一个体内10种CYP450亚型活性的差异程度,发现CYP2A6*4、2B6 785A>G和2D6 100C>T与CYP450活性的个体内差异有关^[36]。该课题组采用自下而上的体外与体内相关性预测方法,对82例人肝UGT2B7代谢齐多夫定的研究显示,在肝组织水平和整肝水平上,UGT2B7含量与活性呈正相关;转录因子PXR的mRNA含量与UGT2B7含量呈正相关,且UGT -327G>A、-900A>G、-161C>T突变可抑制其表达和活性^[37]。临床使用微管靶向肿瘤化疗药物易产生多药耐药(MDR),周芳和郝海平课题组通过转运实验分析显示,脱氧鬼臼毒素(DPT)不是P-gp、BCRP或MRP2的底物,表明DPT经外排的MDR发生率较低,对多药耐药乳腺癌呈现出比紫杉醇更好的药效^[38]。Zhang等^[39]的实验结果表明,酪氨酸激酶抑制剂Osimertinib通过结合ABCG2的ATP结合位点,增加肿瘤细胞内化疗药物拓扑替康的蓄积,逆转ABCG2介导的MDR。通过采用代谢组

学和药代动力学的综合策略,阿基业和王广基课题组^[40]首次发现并证实了一些内源性分子如戊二酸(GA)和亚油酸(LA)对C57BL/6J小鼠肾脏葡萄糖醛酸化和人UGT1A7、1A8和1A9具有抑制作用。可见,内源性分子影响葡萄糖醛酸化的效率,这可能是导致药物代谢个体差异的因素之一。总之,通过对人肝CYP450含量与活性、UGT代谢活性的个体差异及影响因素、药物代谢和转运机制等研究,可为实现个体化用药提供依据。

6 中药代谢

中药的毒性是中药安全性的重要方面,而基于药物代谢的中药毒性机制研究,可从药物代谢和药物动力学角度为中药安全性评估和合理用药提供参考信息。

吡咯里西啶类生物碱是一类广泛存在于植物中的天然毒性成分。该类生物碱具有严重的肝脏毒性,且儿童对于该类化合物的毒性敏感性显著高于成年人,但是其背后原因却尚不清楚。郑江课题组^[41]发现幼年小鼠对于倒千里光碱(retrorsine, RTS)毒性敏感性较高,原因是RTS在幼鼠体内的内暴露较高;汪晖课题组^[42]进一步揭示RTS可以渗透到大鼠胎盘屏障并进入胎儿循环,而胎儿体内的吡咯代谢物主要由胎儿肝脏产生但不从母体循环中传播。RTS对CYP3A的诱导在胎肝中具有性别依赖性,这可能是RTS诱导的胎儿肝损伤的原因,特别是对于雌性幼仔。林鸽课题组^[43]发现了吡咯里西啶生物碱可形成导致肝毒性的吡咯-蛋白质加成物的机制,ATP合成酶5B(ATP5B)是与吡咯里西啶生物碱的活性吡咯代谢物共价结合的蛋白质,因此导致ATP合成酶活性和细胞内ATP水平显著降低;并且,形成的吡咯-ATP5B加合物,损害线粒体功能,显著促进吡咯里西啶生物碱诱导的肝毒性。上述致毒机制的阐明,为含有吡咯里西啶生物碱的中草药毒性评估打下了理论基础。

郑江课题组还研究了其他一些中药的毒性机制。中药黄药子肝脏毒性的物质基础是呋喃萜类成分,该类化合物本身没有毒性,进入体内后被CYP3A代谢成具有丁烯二醛结构的代谢产物,这些代谢产物具有强烈的化学活性(反应性代谢产物),与蛋白质和核酸形成共价结合产生毒性。此外,该课题组成功地制备了具有高灵敏度高选择性的抗体,可以识别被反应性代谢产物共价结合的蛋白质^[44]。这一工作不仅进一步证明了蛋白质共价结合的发生,还为下一步鉴定被结合的蛋白质研究提供技术支撑。何首乌是众所周知具有肝脏毒性的中药,已受到社会的极大关注,但目前其致毒机制尚不清楚。何首乌含有大量的蒽醌类化合物,

该课题组的研究表明大黄酸、大黄酚和大黄素甲醚具有亲电活性,能与细胞内的谷胱甘肽进行结合;这些葱醌类化合物可被CYP1A2羟基化,进一步被氧化成具有亲电性的醌式结构代谢物。因此,大黄酸、大黄酚和大黄素甲醚和它们的醌代谢物可能与何首乌的肝毒性有相关性^[45]。生物碱两面针是CYP2D6的机制性抑制剂,其通过形成卡宾-铁络合物而抑制酶的催化功能^[46]。

中药复方由于组成复杂,其DMPK行为与疗效的关系一直是研究的难点。血必净的苯酞类成分来自其组成中药川芎和当归,据报道这类成分有多种生物活性。李川课题组^[47]研究发现:静脉滴注给药后,血必净所含的10种苯酞类成分中,洋川芎内酯I和G(senkyunolide I, G)是人体血中主要暴露的苯酞类物质,但二者体内差异明显。UGT2B15介导的葡萄糖醛酸化代谢决定洋川芎内酯I的体内消除和暴露,该代谢能进一步导致谷胱甘肽结合物的生成。由于脓毒症能影响患者肝中UGT的表达水平和代谢活性,并影响肝中谷胱甘肽和白蛋白等的合成的减少,因此,这些苯酞类化合物的体内药代特征可能作为药代动力学标志物作为脓毒症传统生物标志物的补充,以反映脓毒症患者病情及其变化。

7 DMPK新方法新模型研究

利用分子影像学、生物信息学等学科的新理论和新技术,发展DMPK新方法和新模型,将大大促进DMPK的研究广度和深度。

马骁驰团队^[48]对十余种蟾蜍甾烯及其衍生物的磺酸化代谢进行了系统研究,成功筛选出SULT2A1特异性探针底物沙蟾毒精(AB)。AB磺酸化反应符合经典的米氏动力学行为,分子对接研究显示AB与SULT2A1底物结合区的关键氨基酸残基Met-137和Tyr-238不发生相互作用,从而不再产生底物抑制的动力学行为。该探针底物可用于检测人和哺乳动物组织中的SULT2A1活性,也为其他药物代谢酶的特异性探针底物研发提供了研究思路。大鼠中CYP2C11参与许多药物的代谢,魏渊等^[49]采用CRISPR/CAS9方法建立了CYP2C11-null大鼠模型并对其进行表征,为评估CYP2C11在生理学和药物代谢中的作用提供了新模型。刘李和刘晓东团队^[50]使用NCI-H460人大细胞肺癌细胞及其荷瘤小鼠,以脱氧鬼臼毒素作为模型化合物,通过基于生理学的药代动力学(PBPK)模型与模拟的肿瘤药代动力学曲线相关联,构建了PBPK-药效学(PBPK-PD)模型,并成功应用于预测SGC-7901荷瘤小鼠的肿瘤生长,为促进和加速药物发现过程中的抗癌候选物筛选和剂量方案设计提供了新模型。构建和验证关键成药性参数的预测模型需要大规模数据作

为基础,侯廷军课题组建立的PKKB数据库(Pharmacokinetics Knowledge Base)包含了1685个药物分子ADMET相关实验数据近2万条,包括分配系数(logP)、溶解度(logS)、肠吸收、Caco-2透过性、人体生物利用度、血浆蛋白结合、分布容积、血液浓度、半衰期、排泄、清除率和毒性等,可为药代动力学研究和计算机模拟ADMET建模提供可用数据(<http://cadd.zju.edu.cn/pkbb>)。

8 展望

国际药物代谢研究主要集中在基于药物代谢的化合物成药性、安全性和个体化用药、疾病发生发展等方面,特别是疾病与DMPK的关系及其药物干预、基于DMPK的个体化用药、肠道菌对药物ADME的调节机制、基于DMPK的药物毒性机制、药物代谢酶和转运体的调节机制、药物与内源性活性分子代谢和处置的相互作用、DMPK新技术和新模型等研究^[51-55]。近年来,中国的药物代谢研究在各个方面都取得了长足的发展^[4],研究正由服务新药研发和合理用药为主,向以创新驱动和机制导向的深度研究并重转型,聚焦国际药物代谢研究前沿,取得了一些创新性成果,并获得了国际同行的认可。

对于药物转运体在肿瘤耐药中的作用研究方面,余露山和曾苏团队发现肾细胞癌(RCC)中药物摄取型转运体OCT2(*SLC22A2*)表达显著下降,机制是DNA高甲基化抑制*SLC22A2*转录。荷瘤小鼠给予DNA甲基化酶抑制剂DAC和OCT2底物奥沙利铂(Oxa)后,肾癌组织中OCT2的表达水平明显升高,Oxa的摄取也大量增加,抑瘤作用显著^[18,56]。Oxa的外排转运体MATE-2K在RCC中的表达也显著降低,但是DAC不能诱导其表达增加^[57],这使得进入肾癌细胞的Oxa不易排出。因此,OCT2是治疗RCC的潜在靶标和生物标志物;增加摄取转运体的表达和活性,可逆转肿瘤耐药。在药物代谢酶与疾病发生的关系研究方面,郝海平和王广基团队^[58]对胆汁酸在炎性肠病(IBD)中的作用机制研究表明,葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎通过激活肠道PPAR α -UGTs途径引起结肠炎症组织中胆汁酸的蓄积,UGT加速回肠部位胆汁酸的代谢消除,而细胞内胆汁酸的减少则抑制FXR-FGF15信号传导,导致肝脏CYP7A1上调,从而促进胆汁酸的从头合成。因此,肠PPAR α -UGTs和下游FXR-FGF15信号传导在控制胆汁酸稳态和结肠炎的病理发展中发挥重要作用。针对服用中草药的中毒案例,林鸽等^[59]发现误服草药景天三七(*Sedum aizoon*)的错误替代品菊三七(*Gynura segetum*)可导致肝窦阻塞综合征(HSOS),其机制是菊三七中的吡咯里西啶生物碱

(PA) 被肝中 P450 活化亲电子吡咯代谢物, 并与蛋白质反应形成加合物, 引起肝毒性。围绕人体重要的药物代谢酶的新型探针研发, 葛广波和杨凌团队^[60-62]基于目标代谢酶的底物偏好性, 结合计算机辅助设计和底物-代谢酶催化选择性规律, 设计研发了 CYP1A1、UGT1A1、羧酸酯酶 1 (CES1)、羧酸酯酶 1 (CES2) 以及儿茶酚-*O*-甲基转移酶 (COMT) 等多种药物代谢酶的特异性荧光底物, 实现了活细胞、血浆及活组织等复杂体系中目标代谢酶活性的实时检测及活细胞/活组织层面的超分辨原位成像。值得一提的是, 中山大学毕惠嫦教授在第六届亚洲太平洋药物和外源物代谢学术会议 (The 6th Asia and Pacific ISSX Meeting) 上, 获得由 ISSX (the International Society for the Study of Xenobiotics) 颁发的亚太研究新人奖 (Asia Pacific New Investigator Award), 这是中国学者首次获得该奖项。但是中国的药物代谢研究与国际先进水平还有差距, 特别需要“创建新方法和新模型, 加强与药物靶标、药效、毒性、临床合理用药的融合研究, 加强药物代谢酶和转运体的调控机制研究; 加强靶组织、靶器官和细胞内的药物分子与药物代谢酶和转运体的相互作用; 关注人肠道菌对药物 ADME 和疗效的影响; 关注药物与内源性活性分子代谢和处置的交互作用”^[63]。鉴于药物在体内处置过程的复杂性, 需要充分利用人体大数据, 加快引入新技术和新模型, 通过研究药物代谢酶和转运体、肠道微生物等与疾病发生、发展及药物干预过程的相互作用及其分子调节机制, 发现基于药物代谢的作用新靶点或者生物标志物, 为研发新药和发展新的治疗方案提供科学依据^[64]。

References

- [1] Liu Y, Hong L, Yu LS, et al. The role of ADME evaluation in translation research of innovative drug [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2011, 46: 19-29.
- [2] USFDA. *In vitro* metabolism- and transporter-mediated drug-drug interaction studies guidance for industry [R]. 2017.
- [3] USFDA. Clinical drug interaction studies – Study design, analysis data, and clinical implications guidance for industry [R]. 2017.
- [4] Yu LS, Bi HC, Hao HP, et al. Analysis of the projects in DM/PK funded by NSFC and the development and prospect of the related basic research [J]. Prog Pharm Sci (药学进展), 2016, 40: 358-362.
- [5] Zhang JW, Xiao W, Gao ZT, et al. Metabolism of c-Met kinase inhibitors containing quinoline by aldehyde oxidase, electron donating, and steric hindrance effect [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 1847-1855.
- [6] Xie C, Gao X, Sun D, et al. Metabolic profiling of the novel hypoxia-inducible factor 2 α inhibitor PT2385 *in vivo* and *in vitro* [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 336-345.
- [7] Hou X, Zhou J, Yu S, et al. Differences in the *in vivo* and *in vitro* metabolism of imrecoxib in humans: formation of the rate-limiting aldehyde intermediate [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 1320-1328.
- [8] Ji JZ, Tai T, Huang BB, et al. Mrp3 Transports clopidogrel acyl glucuronide from the hepatocytes into blood [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 151-154.
- [9] Yu F, Zhang T, Guo L, et al. Liver receptor homolog-1 regulates organic anion transporter 2 and docetaxel pharmacokinetics [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 980-988.
- [10] Lu D, Dong D, Xie Q, et al. Disposition of mianserin and cyclizine in UGT2B10-overexpressing human embryonic kidney 293 cells: identification of UGT2B10 as a novel *N*-glucosidation enzyme and breast cancer resistance protein as an *N*-glucoside transporter [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 970-979.
- [11] Xiang Z, Li W, Wang L, et al. Identification of a NF κ B inhibition site on the proximal promoter region of human organic anion transporting polypeptide 1A2 coding gene *SLCO1A2* [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 643-651.
- [12] Deng J, Guo L, Wu B. Circadian regulation of hepatic cytochrome P450 2a5 by peroxisome proliferator-activated receptor γ [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 1538-1545.
- [13] Guo L, Yu F, Zhang T, et al. The clock protein bmal1 regulates circadian expression and activity of sulfotransferase 1a1 in mice [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 1403-1410.
- [14] Zhang T, Yu F, Guo L, et al. Small heterodimer partner regulates circadian cytochromes P450 and drug-induced hepatotoxicity [J]. Theranostics, 2018, 8: 5246-5258.
- [15] Zhao M, Zhang T, Yu F, et al. E4bp4 regulates carboxylesterase 2 enzymes through repression of the nuclear receptor Rev-erba in mice [J]. Biochem Pharmacol, 2018, 152: 293-301.
- [16] Wang S, Lin Y, Yuan X, et al. Rev-ERBa integrates colon clock with experimental colitis through regulation of NF- κ B/NLRP3 axis [J]. Nat Commun, 2018, 9: 4246.
- [17] Zhang T, Zhao M, Lu D, et al. Rev-erba regulates CYP7A1 through repression of liver receptor homolog-1 [J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46: 248-258.
- [18] Zheng X, Liu Y, Yu Q, et al. Response to comment on "Epigenetic activation of the drug transporter OCT2 sensitizes renal cell carcinoma to oxaliplatin" [J]. Sci Transl Med, 2017, 9 pii: eaam6298.
- [19] Ye C, Han K, Lei J, et al. Inhibition of histone deacetylase 7 reverses concentrative nucleoside transporter 2 repression in colorectal cancer by up-regulating histone acetylation state [J]. Br J Pharmacol, 2018, 175: 4209-4217.
- [20] Cheng M, Cai W, Huang W, et al. Histone deacetylase 6 regulated expression of IL-8 is involved in the doxorubicin (Dox) resistance of osteosarcoma cells *via* modulating *ABCB1* transcription

- [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 840: 1-8.
- [21] Gao J, Wang Z, Wang GJ, et al. Higher CYP2E1 activity correlates with hepatocarcinogenesis induced by diethylnitrosamine [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 365: 398-407.
- [22] Gao J, Wang Z, Wang GJ, et al. From hepatofibrosis to hepatocarcinogenesis: higher cytochrome P450 2E1 activity is a potential risk factor [J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57: 1371-1382.
- [23] Gao N, Li J, Li MR, et al. Higher activity of alcohol dehydrogenase is correlated with hepatic fibrogenesis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 367: 473-482.
- [24] Wang Y, Hu Y, Li P, et al. Expression and regulation of proton-coupled oligopeptide transporters in colonic tissue and immune cells of mice [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 148: 163-173.
- [25] Song F, Hu Y, Wang Y, et al. Functional characterization of human peptide / histidine transporter 1 in stably transfected MDCK cells [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15: 385-393.
- [26] Song F, Yi Y, Li C, et al. Regulation and biological role of the peptide/histidine transporter *SLC15A3* in Toll-like receptor-mediated inflammatory responses in macrophage [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 770.
- [27] Zhou X, Zhao Y, Wang J, et al. Resveratrol represses estrogen-induced mammary carcinogenesis through NRF2-UGT1A8-estrogen metabolic axis activation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 155: 252-263.
- [28] Sun J, Wen Y, Zhou Y, et al. P53 attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity by regulating drug-metabolizing enzymes and transporter expression [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 536-547.
- [29] Zhao H, Li S, Yang Z, et al. Identification of ketene-reactive intermediate of erlotinib possibly responsible for inactivation of P450 enzymes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 442-450.
- [30] Gao XJ, Li T, Wei B, et al. Bacterial outer membrane vesicles from dextran sulfate sodium-induced colitis differentially regulate intestinal UDP-Glucuronosyltransferase 1A1 partially through toll-like receptor 4/mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 292-302.
- [31] Feng R, Zhao ZX, Ma SR, et al. Gut microbiota-regulated pharmacokinetics of berberine and active metabolites in beagle dogs after oral administration [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 214.
- [32] Zhao ZX, Fu J, Ma SR, et al. Gut-brain axis metabolic pathway regulates antidepressant efficacy of albiflorin [J]. *Theranostics*, 2018, 8: 5945-5959.
- [33] Shen H, Gao XJ, Li T, et al. Ginseng polysaccharides enhanced ginsenoside Rb1 and microbial metabolites exposure through enhancing intestinal absorption and affecting gut microbial metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 216: 47-56.
- [34] Li H, Xiao J, Li X, et al. Low cerebral exposure cannot hinder the neuroprotective effects of *Panax* notoginsenosides [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 53-65.
- [35] Gao J, Qiao HL. Research progress in the content and activity of cytochrome P450 in human liver [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2018, 42: 611-620.
- [36] Fang Y, Gao J, Wang T, et al. Intra-individual variation and correlation of cytochrome P450 activities in human liver microsomes [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15: 5312-5318.
- [37] Xu C, Gao J, Zhang HF, et al. Content and activities of UGT2B7 in human liver *in vitro* and predicted *in vivo*: a bottom-up approach [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 1351-1359.
- [38] Zang X, Wang G, Cai Q, et al. A promising microtubule inhibitor deoxypodophyllotoxin exhibits better efficacy to multidrug-resistant breast cancer than paclitaxel via avoiding efflux transport [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018; 46: 542-551.
- [39] Zhang Z, Guo X, To KKW, et al. Olmutinib (HM61713) reversed multidrug resistance by inhibiting the activity of ATP-binding cassette subfamily G member 2 *in vitro* and *in vivo* [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 563-574.
- [40] Yang N, Li S, Yan C, et al. Inhibitory effects of endogenous linoleic acid and glutaric acid on the renal glucuronidation of berberrubine in mice and on recombinant human UGT1A7, 1A8, and 1A9 [J]. *Mol Pharmacol*, 2018, 93: 216-227.
- [41] Yang X, Li W, Wang X, et al. Difference in internal exposure made infant mice more susceptible to hepatotoxicity of retrorsine than adult mice [J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31: 1348-1355.
- [42] Li X, Yang X, Xiang E, et al. Maternal-fetal disposition and metabolism of retrorsine in pregnant rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 422-428.
- [43] Lu Y, Ma J, Song Z, et al. The role of formation of pyrrole-ATP synthase subunit beta adduct in pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92: 3403-3414.
- [44] Hu Z, Li W, Lin D, et al. Development of polyclonal antibodies for detection of diosbulbin B derived *cis*-enedial protein adducts [J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31: 231-237.
- [45] Qin X, Peng Y, Zheng J. *In vitro* and *in vivo* studies of the electrophilicity of physcion and its oxidative metabolites [J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31: 340-349.
- [46] Mao X, Hu Z, Wang Q, et al. Nitidine chloride is a mechanism-based inactivator of CYP2D6 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 1137-1145.
- [47] Zhang N, Cheng C, Olaleye OE, et al. Pharmacokinetics-based identification of potential therapeutic phthalides from Xuebijing, a Chinese herbal injection used in sepsis management [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 823-834.
- [48] Tian X, Wang C, Dong P, et al. Arenobufagin is a novel isoform-specific probe for sensing human sulfotransferase 2A1 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 784-794.
- [49] Wei Y, Yang L, Zhang X, et al. Generation and characterization of a CYP2C11-null rat model by using the CRISPR/Cas9 method [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 525-531.
- [50] Chen Y, Zhao K, Liu F, et al. Predicting antitumor effect of

- deoxypodophyllotoxin in nci-h460 tumor-bearing mice on the basis of *in vitro* pharmacodynamics and a physiologically based pharmacokinetic-pharmacodynamic model [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 897-907.
- [51] Nakano M, Nakajima M. Current knowledge of microRNA-mediated regulation of drug metabolism in humans [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2018, 14: 493-504.
- [52] Karlgren M, Simoff I, Keiser M, et al. CRISPR-Cas9: A new addition to the drug metabolism and disposition tool box [J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 1776-1786.
- [53] Naritomi Y, Sanoh S, Ohta S. Chimeric mice with humanized liver: application in drug metabolism and pharmacokinetics studies for drug discovery [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 33: 31-39.
- [54] Meseguer-Ripolles J, Khetani SR, Blanco JG, et al. Pluripotent stem cell-derived human tissue: platforms to evaluate drug metabolism and safety [J]. *AAPS J*, 2017, 20: 20.
- [55] Gu X, Xiao Q, Ruan Q, et al. Comparative untargeted proteomic analysis of ADME proteins and tumor antigens for tumor cell lines [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 252-260.
- [56] Liu Y, Zheng X, Yu Q, et al. Epigenetic activation of the drug transporter OCT2 sensitizes renal cell carcinoma to oxaliplatin [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 348ra97.
- [57] Yu Q, Liu Y, Zheng X, et al. Histone H3 lysine 4 trimethylation, lysine 27 trimethylation, and lysine 27 acetylation contribute to the transcriptional repression of solute carrier family 47 member 2 in renal cell carcinoma [J]. *Drug Metab Dispos*, 2017, 45: 109-117.
- [58] Zhou X, Cao L, Jiang C, et al. PPAR α -UGT axis activation represses intestinal FXR-FGF15 feedback signalling and exacerbates experimental colitis [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4573.
- [59] Lin G, Wang JY, Li N, et al. Hepatic sinusoidal obstruction syndrome associated with consumption of *Gynura segetum* [J]. *J Hepatol*, 2011, 54: 666-673.
- [60] Dai ZR, Ge GB, Feng L, et al. A highly selective ratiometric two-photon fluorescent probe for human cytochrome P450 1A [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 14488-14495.
- [61] Lv X, Feng L, Ai CZ, et al. A practical and high-affinity fluorescent probe for uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1: a good surrogate for bilirubin [J]. *J Med Chem*, 2017, 60: 9664-9675.
- [62] Wang D, Zou L, Jin Q, et al. Human carboxylesterases: a comprehensive review [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 699-712.
- [63] National Natural Science Foundation of China. 2019 NSFC Project Guide (2019年国家自然科学基金指南) [R]. Beijing: Science Press, 2019: 73.
- [64] National Natural Science Foundation of China. 2018 NSFC Project Guide (2018年国家自然科学基金指南) [R]. Beijing: Science Press, 2018: 114-115.