新型DPP-4抑制剂LGT-6的药代动力学及初步安全性研究

何立虹[1,2], 张 宇[3], 廖伟科[1,2*], 汤 磊[1,2*]

(1. 贵州医科大学, 中药功效成分发掘与利用全国重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学, 贵州省化学合成药物研发利用工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550004; 3. 铜仁市人民医院中心实验室, 贵州 铜仁 554300)

摘要: 为评价二肽基肽酶-4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 抑制剂LGT-6在大鼠体内的排泄途径、药代动力学性质及心脏安全性, 采用超高效液相色谱−串联质谱 (ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 法测定生物样本, 并结合全自动膜片钳技术 (automated patch clamp, APC) 评估人类醚-à-go-go相关基因 (human ether-à-go-go-related gene, *hERG*) 抑制风险。结果显示, LGT-6在大鼠体内主要通过胆道排泄 (累积排泄率约82.4%), 单次大鼠尾静脉注射 (5 mg·kg^{-1}) 与灌胃 (5 mg·kg^{-1}) 给药后, LGT-6的绝对生物利用度为77.2%, LGT-6对hERG钾通道的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 大于30 μmol·L^{-1}。本研究建立的体内外生物样品中各指标成分的分析方法均符合相关技术要求。结果表明, LGT-6具有以胆道排泄为主、口服吸收高效的吸收、分布、代谢和排泄 (absorption, distribution, metabolism, and excretion, ADME) 特性, 且心脏安全风险较低, 为进一步临床前安全性评价及后续开发提供了关键实验依据。本实验获得贵州医科大学动物伦理委员会批准 (批准号: 1900912)。

关键词: 二肽基肽酶-4抑制剂; 排泄途径; 药代动力学; 人类醚-à-go-go相关基因抑制活性

中图分类号: R969 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)07-2675-07

Pharmacokinetics and preliminary safety evaluation of a novel DPP-4 inhibitor LGT-6

HE Li-hong[1,2], ZHANG Yu[3], LIAO Wei-ke[1,2*], TANG Lei[1,2*]

(*1. State Key Laboratory of Discovery and Utilization of Functional Components in Traditional Chinese Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Guizhou Provincial Engineering Technology Research Center for Chemical Drug R & D, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Central Laboratory of Tongren People's Hospital, Tongren 554300, China*)

Abstract: To evaluate the excretion pathway, pharmacokinetic properties, and cardiac safety of the dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor LGT-6 in rats, an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was used to determine drug concentrations in biological samples, in combination with an automated patch-clamp technique (automated patch clamp, APC) to assess the risk of human ether-à-go-go-related gene (*hERG*) potassium channel inhibition. The results showed that LGT-6 is primarily excreted *via* the biliary route in rats, with a cumulative excretion rate of approximately 82.4%. Following single-dose administration *via* tail vein injection (5 mg·kg^{-1}) or oral gavage (5 mg·kg^{-1}), the absolute bioavailability of LGT-6 was 77.2%. The IC_{50} of LGT-6 against the hERG potassium channel was greater than 30 μmol·L^{-1}. The analytical methods established in this project for quantifying various target components in *in vivo* and *in vitro* biological samples all complied with relevant regulatory technical requirements. These data indicate that LGT-6 exhibits absorption, distribution,

收稿日期: 2026-03-04; 修回日期: 2026-05-29.

基金项目: 贵州省高层次创新型人才项目 [(黔科合平台人才)-GCC [2023]002].

*通讯作者 Tel: 86-851-86988318, E-mail: tlei1974@gmc.edu.cn; liaoweike2009@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2026-0236

metabolism, and excretion (ADME) characteristics dominated by biliary excretion and high oral absorption efficiency, along with a low cardiac safety risk, thereby providing key experimental evidence to support its further preclinical safety evaluation and subsequent development. This experiment was approved by the Animal Ethics Committee of Guizhou Medical University (Grant No: 1900912).

Key words: dipeptidyl peptidase-4 inhibitor; excretion pathway; pharmacokinetics; human ether-à-go-go-related gene inhibition activity

利格列汀 (linagliptin) 是临床用于治疗2型糖尿病的常用药物之一, 它是首个以非肾脏途径清除, 主要以胆汁排泄的二肽基肽酶-4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 抑制剂类降糖药物[1]。为克服其口服生物利用度相对不足[2], 并为肾脏损伤的2型糖尿病患者提供不经肾脏代谢的长效DPP-4抑制剂[3], 课题组[4]前期以利格列汀为先导化合物, 对其结构进行修饰, 设计、合成了一系列以黄嘌呤环结构为母核的DPP-4抑制剂, 筛选出体内外活性较为突出的代表性化合物LGT-6, 化学结构如图1所示。在进一步的体外吸收、分布、代谢和排泄 (absorption, distribution, metabolism, and excretion, ADME) 性质的研究中, LGT-6在不同种属肝微粒体中表现出良好的代谢稳定性[5], 同时在相同的浓度下, LGT-6在大鼠、猴、人血浆中的蛋白结合率没有明显的种属差异, 但有明显的浓度依赖趋势[6], 以及在Caco-2细胞模型中的吸收较好[7], 结果表明LGT-6具有良好的代谢稳定性和口服吸收潜力。因此, 具有进一步开发为治疗糖尿病药物的潜力和价值。

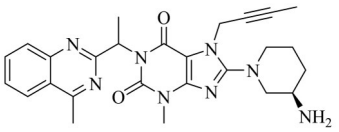


Figure 1 Structural formula of the optimized LGT-6 derived from linagliptin

同时, 基于利格列汀“特殊”的代谢途径, 其大部分以原形药物经胆汁进行排泄[8], 对于肾功能不全的患者无需调整剂量, 在临床应用上具有较大使用价值。在化合物设计改造之初, 以期望得到的优选化合物保留这“特殊”的代谢途径。

研究表明, DPP-4抑制剂之间的药代动力学特征存在显著差异, 这些差异直接影响到药物的给药间隔 (半衰期)、特殊人群 (如肾功能不全患者) 的剂量调整方案 (排泄途径), 是临床选择个体化治疗方案的药理学基础[9]。良好的药代动力学特征是实现长效降糖作用和保证临床用药安全性的重要基础, 系统评价LGT-6的药代动力学特征, 对于指导其临床合理用药和后续开发具有重要意义。

此外, 在药物临床前研究阶段, 大约有24%的药物由于心血管不良反应而终止开发, 约有45%的药物由于引起心脏毒性而被撤市[10]。因此, 在药物研发的早期阶段, 检测化合物对人类醚-à-go-go相关基因 (human ether-à-go-go-related gene, *hERG*) 钾通道的作用是临床前评价化合物心脏安全性的关键一环, 也是FDA要求的新药报批必备资料[11,12]。系统评价新型DPP-4抑制剂的hERG抑制活性, 是其进入临床前安全性评价的必要环节之一。

为了验证经结构修饰得到的LGT-6是否保留先导化合物利格列汀经胆汁排泄这一性质, 并对其进行体内药代动力学、心脏安全性评价。故本研究采用超高效液相色谱−串联质谱 (ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 法验证LGT-6的排泄途径[13], 测定药代动力学参数, 利用全自动膜片钳技术 (automated patch clamp, APC) 来评价LGT-6的心脏安全性[14], 为LGT-6的临床前安全性评价和后续临床开发提供实验依据, 同时为新型DPP-4抑制剂的结构优化和成药风险评估提供参考。

材料与方法

实验仪器 代谢笼 (3700M061, 意大利 Tecniplast 公司); 液相色谱−质谱联用仪 (Agilent 6470 LC/TQ, 美国Agilent公司); 十万分之一分析天平 (CPA225D型, 德国Sartorius公司); 超高效液相色谱仪 (ACQUITY UPLC H-Class) 和三重四极杆质谱仪 (Xevo TQ Absolute), 美国Waters公司; 电热恒温鼓风干燥箱 (DHG-9053A, 上海一恒科学仪器有限公司); 高速离心机 (X1, 香港基因有限公司); 低温高速离心机 (5804R, 德国Eppendorf公司); pH计 (S210-K, 瑞士Mettler Toledo公司); 涡旋混合器 (QL-906, 其林贝尔有限公司); 氮吹仪 (MD200-1, 杭州奥盛仪器有限公司); 超声波清洗机 (KQ-500DE, 昆山市超声仪器有限公司); 超纯水系统 (Advantage A10, 美国Millipore公司); −80 ℃超低温冰箱 (TDE40086FV-ULTS, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 全自动电生理记录系统 (QPatch 16X, 丹麦Sophion公司)。

材料与试剂 聚乙烯毛细管 (PE-50型, 批号: 8120562) 购自美国BD公司; 加热灯 (PAR38型, 150 W) 购自荷兰Philips公司; LGT-6 (贵州省化学合成药物研发利用工程技术研究中心制备, 纯度 > 98%); 内标甲苯磺丁脲 (internal standard, IS, 批号: M26M7L15275, 纯度 > 98%), 甲醇 (批号: M91230EDE0)、乙腈 (批号: A1822EAEC)、乙酸乙酯 (批号: 1201495) 均购自德国默克公司; 甲酸 (批号: X075K15) 购自北京索莱宝科技有限公司; 氯化钠溶液 (货号: S1679-1KG)、氯化钾溶液 (货号: 31248-100G)、氯化钙溶液 (货号: 21114-1L)、$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (货号: M7304-100G)、HEPES (货号: H3375-1KG)、glucose (货号: G8270-1KG)、EGTA (货号: 03777-50G)、Na_2-ATP (货号: A-7699-5G)、氢氧化钠溶液 (货号: 35254-1L)、氢氧化钾溶液 (货号: 232041-50G)、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO, 货号: D2650-100ML) 均购于美国Sigma公司; Ham's F12培养基 (批号: 2056123)、FBS (批号: 2110345)、100 μg·mL^{-1} 潮霉素B (批号: 2089456)、100 μg·mL^{-1} geneticin (批号: 2134567) 均购于美国Invitrogen公司。

实验动物 SPF级SD大鼠 [贵州医科大学动物实验中心提供, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2019-0010]。本实验获得贵州医科大学动物伦理委员会批准 (批准号: 1900912)。

细胞 本实验所用的细胞为转染有人类 *hERG* cDNA与稳定表达hERG通道的中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞系 (由丹麦Sophion Bioscience公司提供)。

UPLC-MS/MS条件 色谱柱: Eclipse Plus C_{18} (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: A为H_2O (含0.1% HCOOH), B为CH_3CN (含0.1% HCOOH); 梯度洗脱 (0～0.50 min, 5% B; 0.50～2.50 min, 5%→98% B; 2.50～3.50 min, 98% B; 3.50～3.60 min, 98%→5% B, 3.60～5.00 min, 5% B); 流速: 0.4 mL·min^{-1}; 柱温: 40 ℃; 自动进样器温度4 ℃。电喷雾离子源 (ESI); 离子源电压: 5 500 V; 离子源温度为500 ℃; 正离子模式采集 (positive); 多反应监测模式; LGT-6的监测离子对为 *m*/*z* 487.3→434.2, IS的监测离子对为 *m*/*z* 271.1→154.9。

样品的处理 取不同时间段收集的尿液、粪便、胆汁样品各0.5 mL, 加入IS样品50 μL, 在加入乙酸乙酯800 μL, 涡混10 min, 4 ℃下13 000 r·min^{-1}离心10 min后取上层液, 并将样品再次按上述操作重复一次, 合并上清液, 37 ℃氮气下吹干。再用甲醇100 μL复溶, 13 000 r·min^{-1}离心10 min后取上层液进样分析。灌胃和静脉注射的血浆样品100 μL, 加入IS 10 μL, 加入乙酸乙酯800 μL, 涡混10 min, 4 ℃下13 000 r·min^{-1}离心10 min后取上层液, 37 ℃氮气下吹干, 加入100 μL甲醇复溶, 13 000 r·min^{-1}离心10 min后取上层液, 进样测定血药浓度。GraphPad Prism 7.0软件绘制大鼠静脉注射及灌胃给药后的药时曲线, 采用DAS 2.0药动学软件进行拟合, 计算LGT-6在大鼠体内的药动学参数以及绝对生物利用度。

排泄途径、药代动力学实验方法 精密称取适量的LGT-6与IS样品, 用甲醇溶解并定容, 均配制成质量浓度为1 mg·mL^{-1}的标准溶液及IS溶液, 于4 ℃下保存。再配制LGT-6灌胃溶液, 精密称取LGT-6对照品适量10 mg, 在经0.1 mol·L^{-1}的稀盐酸0.2 mL溶解, 再用在适量的生理盐水稀释成10 mg·mL^{-1}的LGT-6药物浓度。称取乌来糖3 g, 在用10 mL生理盐水溶解, 即得麻醉药物。取SPF级SD大鼠24只, 雌雄各半, 体重200～230 g, 给药前禁食不禁水12 h, 并将动物随机分为4组, 第1组灌胃给予剂量为10 mg·kg^{-1} LGT-6的灌胃溶液, 收集尿液与粪便样品; 第2组灌胃给予剂量为10 mg·kg^{-1} LGT-6的灌胃溶液, 收集胆汁样品, 第3组灌胃给予剂量为5 mg·kg^{-1}的LGT-6灌胃溶液, 收集血浆, 第4组尾静脉注射剂量为5 mg·kg^{-1}的LGT-6灌胃溶液, 收集血浆。

第1组将6只大鼠置于代谢笼中, 并在给药12 h前收集尿液和粪便空白样品。在给药后0～4、4～8、8～12、12～24、24～36、36～48、48～60、60～72、72～84、84～96 h收集尿液及粪便样品。将收集的粪便样品在37 ℃下烘干, 并粉碎成粉末。称取粉末约1 g, 将粪便粉末用$CH_3COOC_2H_5$/H_2O (7∶3, *v*/*v*) 以1∶10的比例 (*w*/*v*) 匀化, 并以20 000 r·min^{-1}离心10 min, 取上清液, 在−80 ℃冰箱中保存备用。第2组取6只大鼠给予药物后, 立即将配制好的麻醉药物于腹腔注射到6只大鼠中, 待完全麻醉后, 固定大鼠, 打开腹腔, 将聚乙烯毛细管插入在胆总管上, 用于收集胆汁, 然后将切口缝合, 期间用加热等保持大鼠的体温。给药前2 h收集空白胆汁, 于给药后0～2、2～4、4～6、6～8、8～10、10～12、12～24 h收集胆汁样品, 并保存于−80 ℃冰箱中备用。第3组灌胃给药后0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、12、16、20、24、36、48、60、72、96 h断尾取血0.3 mL, 置于肝素化1.5 mL离心管, 4 ℃下4 500 r·min^{-1}离心10 min, 取血浆样品100 μL冻存于−80 ℃冰箱中。第4组尾静脉给药后0.05、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、16、20、24、36、48、60、72、96 h断尾取血0.3 mL, 置于肝素化1.5 mL离心管中, 4 ℃下4 500 r·min^{-1}离心10 min, 取血浆样品100 μL冻存于−80 ℃冰箱中。

分析方法验证

专属性 取空白胆汁、尿液、粪便及血浆样品, 分

别不加IS、加入LGT-6标准样品、大鼠灌胃给药后的样品, 其余按“样品的处理”项操作, 再按“UPLC-MS/MS条件”进样测定, 得到空白血浆样品提取色谱图 (以胆汁、粪便、尿液、血浆为基质的色谱图基本相似, 故本研究以胆汁为基质的色谱图为代表性色谱图), 模拟胆汁样品色谱图、获得实际胆汁样品色谱图。

标准曲线 取LGT-6标准样品, 用甲醇依次稀释成20.0、50.0、250.0、500.0、1 000.0、2 000.0、4 000.0、8 000.0 ng·mL^{-1}的系列标准溶液。取空白胆汁、尿液、粪便及血浆样品180 μL, 置于1.5 mL的EP管中, 依次加入上述系列标准溶液20 μL, 制成2.0、5.0、25.0、50.0、100.0、200.0、400.0、800.0 ng·mL^{-1}按“样品的处理”项操作, 进样分析, 记录LGT-6与IS的峰面积。以质量浓度为横坐标, LGT-6与IS的峰面积比值为纵坐标, 进行线性回归。

定量下限 配制质量浓度为2.0 ng·mL^{-1}的胆汁、尿液、粪便及血浆质控 (quality control, QC) 样品, 每个浓度重复配制6个平行样本, 混匀后按“样品的处理”项方法操作, 与标准曲线同时进样连续测定3天。根据当日所得标准曲线计算QC样品的实际测得浓度, 与理论浓度值对比, 求出其日内及日间精密度 (relative standard deviation, RSD) 和准确度 (relative error, RE)。

精密度和准确度 配制质量浓度为低 (5.0 ng·mL^{-1})、中 (50.0 ng·mL^{-1})、高 (500.0 ng·mL^{-1}) 浓度的胆汁、尿液、粪便及血浆QC样品, 每个浓度重复配制6个平行样本, 混匀后按“样品的处理”项下操作, 测定日内精密度和准确度, 连续进样3天, 考察日间精密度和准确度。

提取回收率及基质效应 取空白胆汁、尿液、粪便及血浆100 μL, 按“样品的处理”项方法操作, 分别用质量浓度为低 (5.0 ng·mL^{-1})、中 (50.0 ng·mL^{-1})、高 (500.0 ng·mL^{-1}) 浓度的LGT-6对照品100 μL复溶, 每个浓度平行6份, 计算LGT-6与IS峰面积的比值 (S_1), 同浓度的LGT-6对照品之间进样所得峰面积的比值为 (S_2)。配制低 (5.0 ng·mL^{-1})、中 (50.0 ng·mL^{-1})、高 (500.0 ng·mL^{-1}) 浓度的样品, 经同一法处理后, 进样分析, 所得LGT-6与IS的峰面积的比值为 (S_3), 其中基质效应 (normalized matrix factor, NMF) = S_1/S_2 × 100%, 提取回收率 (recovery) = S_3/S_1 × 100%。

稳定性 配制质量浓度为低 (5.0 ng·mL^{-1})、中 (50.0 ng·mL^{-1})、高 (500.0 ng·mL^{-1}) 浓度的LGT-6 QC样品, 每个浓度平行6份。分别置于4 ℃条件下冷藏24 h、室温 (约20 ℃) 条件下静置24 h, 以及经历4～37 ℃反复冻融3次后, 按“样品的处理”项方法操作, 进样分析, 记录峰面积。

安全性评价方法 精密称取LGT-6对照品, 用细胞外液及少量DMSO溶解, 配制成100 μmol·L^{-1}储备液, 同法配制阳性对照药物西沙必利 (100 μmol·L^{-1}) 储备液, 临用前以细胞外液稀释至实验所需浓度: 30、10、3、1、0.3、0.1 μmol·L^{-1}, 确保DMSO终浓度低于0.1%。

CHO细胞培养于含有Ham's F12培养基、10% (*v*/*v*) 灭活胎牛血清、100 μg·mL^{-1}潮霉素B、100 μg·mL^{-1} geneticin的培养皿中, 置于37 ℃、5% CO_2的培养箱中培养。电生理实验前24～48 h, 将细胞转移至培养皿中的圆形玻片上, 于相同培养条件下生长。控制细胞密度以保证多数细胞呈独立、单个分布。

采用QPatch系统进行全细胞电流记录。将细胞钳制于−80 mV, 去极化至+20 mV (持续2.5 s) 激活hERG钾通道, 再钳制至−50 mV消除失活并产生外向尾电流, 以尾电流峰值表示hERG电流大小。达到全细胞构型后, 稳定记录至少120 s, 随后每15 s施加一次电压刺激。仅将稳定性良好的细胞纳入药物处理。先加入含0.1% DMSO的细胞外液建立基线, 稳定记录3 min; 然后依次加入低至高浓度的LGT-6溶液, 每浓度作用至效应稳定或最长4 min。实验结束后, 用细胞外液清洗至电流恢复稳定。同法测定阳性对照西沙必利, 以验证细胞反应性和细胞质量。

统计学方法 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用GraphPad Prism 7.0软件进行图表绘制和统计学分析。

结果

1 分析方法学验证

1.1 专属性 取空白胆汁、空白胆汁添加LGT-6对照品及IS以及灌胃给药后的胆汁样品, 分别进行色谱分析, 代表性图谱见图2。结果显示, LGT-6的保留时间 (t_R) 为1.875 min, IS的t_R为2.301 min, 二者色谱峰峰形良好。在1.6～2.5 min的检测窗口内未见内源性物质干扰, 表明该方法专属性良好, 可用于胆汁中LGT-6含量的测定。

1.2 标准曲线的绘制 以LGT-6与IS的峰面积比值对LGT-6浓度进行线性回归, 各基质中的回归方程如下: 胆汁, y = 317.79 x − 2 618.30 (r^2 = 0.991 4); 粪便, y = 250.98 x − 76.25 (r^2 = 0.998 8); 尿液, y = 63.09 x + 7 081.10 (r^2 = 0.997 2); 血浆, y = 56.98 x + 725.4 (r^2 = 0.995 7)。结果表明, LGT-6在2.0～800.0 ng·mL^{-1}浓度内线性关系良好。

1.3 定量下限 LGT-6浓度为2.0 ng·mL^{-1}时, 在胆汁、尿液、粪便及血浆的日内和日间RSD值均低于10.5%, 日内和日间RE值均在−5.0%～5.0%, 表明定量下限为

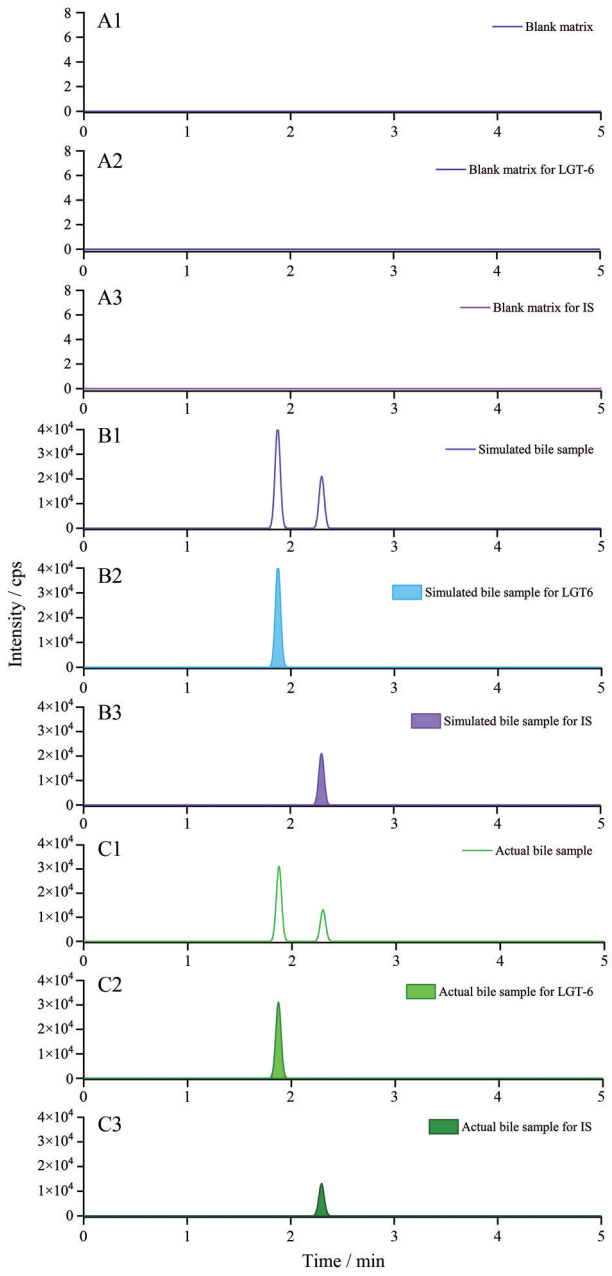


Figure 2 Representative chromatograms of LGT-6 and tolbutamide using bile as a matrix. A1−A3: Blank bile sample; B1−B3: Simulated bile sample chromatogram; C1−C3: Actual bile sample after inhalation administration of 5 mg·kg^{-1} LGT-6. IS: Internal standard

2.0 ng·mL^{-1}的精密度和准确度均符合要求。

1.4 精密度和准确度 结果表明, LGT-6在胆汁、尿液、粪便及血浆中的日内RSD为2.1%～5.9%, 日间RSD为1.2%～7.4%, 日内RE为−3.0%～2.0%, 日间RE为−2.4%～3.0%, 提示该方法在四种生物基质中的精密度和准确度良好。

1.5 提取回收率及基质效应 结果显示, 基质效应为92.1%～103.1%, 提取回收率为90.8%～101.2%。表明样品处理方法可靠, 胆汁、尿液、粪便及血浆中的基质效应对LGT-6检测的影响可忽略。

1.6 稳定性 在设定的稳定性考察条件下, 各条件下RSD为2.0%～7.6%, 表明LGT-6在上述处理条件下于24 h内稳定性良好。

2 LGT-6在大鼠体内的排泄

为研究LGT-6的代谢途径, 大鼠经口服给予10 mg·kg^{-1}的LGT-6后, 分别测定96 h内粪便与尿液中的药物累积排泄量, 以及24 h内胆汁中的药物累积排泄量, 结果如图3所示。LGT-6在粪便、尿液及胆汁中的累积排泄率分别为2.5%、1.9%和82.4%。上述结果表明, LGT-6在大鼠体内的主要排泄途径为胆汁排泄。

大鼠胆汁、粪便及尿液中LGT-6的排泄量和累积排泄率的测定结果表明, LGT-6从胆道排泄的累积排泄率约为82.4%, 由粪便及尿液排泄率约为4.4%, 先导化合物利格列汀约有90%是经胆汁进行排泄, 约5%是以尿液及粪便的形式排出体外, 剩余约5%转化为无活性的代谢产物或残留在体内。研究结果表明, LGT-6主要的排泄途径是以通过胆道排泄, 证明经改造得到的化合物LGT-6并没有改变先导化合物主要的排泄途径这一特性, 同时也为LGT-6开发成不经肾脏排泄的长效DPP-4抑制剂提供了可能。但本次检测结果约有13.2%的LGT-6未检测到, 这可能是在样品处理及检测方面存在一定的误差, 一部分可能转化为无活性的代谢产物以及少量残存在体内。此外, 进行胆道插管24 h后, 大鼠出现死亡, 导致部分的LGT-6来不及排泄出体内。本研究结果同时也证实了前期在设计不经肾脏代谢的DPP-4抑制剂方案的合理性, 同时也为后续开发不经肾脏排泄的DPP-4抑制剂奠定基础。

3 LGT-6在大鼠体内的药代动力学

本研究采用灌胃、尾静脉注射的给药方式研究LGT-6在大鼠体内的药物动力学性质。以GraphPad Prism 7.0软件绘制药时曲线, 各时间点对应的平均血药浓度曲线见图4。并用DAS2.0软件进行动力学参数拟合, 通过非房室模型计算主要的药动学参数以及绝对(口服)生物利用度, 结果如表1所示。LGT-6在大鼠体内的药时曲线呈现明显的双峰现象(图4A), 提示LGT-6可能存在肝肠循环。静脉注射与灌胃给药后半衰期相近, 进一步说明药物的消除主要依赖于胆汁排泄。这一结果与胆汁累积排泄率高达82.4%的结果一致, 证实LGT-6在大鼠体内主要通过胆汁排泄。LGT-6的口服生物利用度达到77.2%。该化合物在大鼠中展现出长半衰期、优异的口服生物利用度的理想药代动力学特征, 符合长效DPP-4抑制剂的开发目标, 为其后续临床转化提供了关键实验依据。

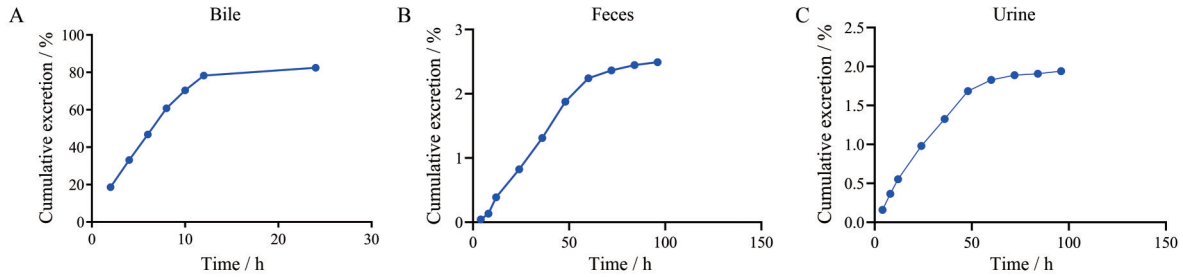


Figure 3 Cumulative excretion rate of LGT-6. A: Bile; B: Feces; C: Urine

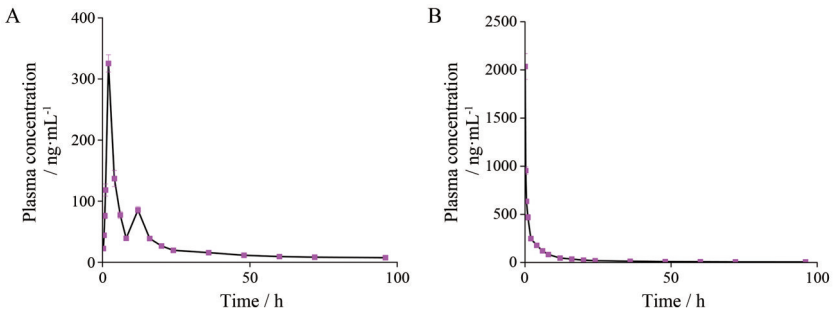


Figure 4 Concentration-time curve of LGT-6. A: After intragastric administration; B: After tail vein injection

Table 1 Pharmacokinetic parameters of LGT-6 administered *via* two different routes of administration (iv or ig, 5 mg·kg^{-1}). Ig: Intragastric administration; Iv: Intravenous injection. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$

Parameter	Iv	Ig
$AUC_{0\text{-}96\,h}$/ μg·L^{-1}·h	3 502.9 ± 198.9	2 575.4 ± 178.6
$AUC_{0\text{-}\infty}$/ μg·L^{-1}·h	3 825.0 ± 192.2	2 954.5 ± 233.0
$MRT_{0\text{-}96\,h}$/ h	14.4 ± 0.9	21.8 ± 1.6
$MRT_{0\text{-}\infty}$/ h	30.0 ± 3.2	46.4 ± 7.5
C_{max}/ μg·L^{-1}	2 035.6 ± 299.3	325.5 ± 31.7
t_{max}/ h	−	2.0
$t_{1/2}$/ h	44.9 ± 3.7	46.2 ± 2.7
F/ %	−	77.2

4 安全性评价

为研究化合物LGT-6的心脏毒性, 本研究采用hERG QPatch assay对hERG抑制活性进行了测定。根据文献[15]报道, 阳性对照药物西沙必利对于hERG的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值分布在0.015～0.08 μmol·L^{-1}, 如果测定结果在此范围内, 表明实验条件符合要求。本次实验西沙必利的IC_{50}值为0.03 μmol·L^{-1}, 符合IC_{50}值范围, 验证了该模型的可靠性。因此, APC能够用于化合物LGT-6的IC_{50}值测定, 由于LGT-6在本次实验最大测试浓度30 μmol·L^{-1}下对hERG的抑制率小于50%, 因此LGT-6对hERG的IC_{50}值大于30 μmol·L^{-1}, 表明化合物对心脏的安全性良好[16,17], 诱发心律失常的几率较低, 也证实了前期的结构修饰策略未改变化合物的安全性。

讨论

本研究旨在评估新型DPP-4抑制剂LGT-6的排泄特性、药代动力学及心脏安全性。本研究成功建立了UPLC-MS/MS方法, 用于测定大鼠胆汁、粪便、尿液及血浆中的LGT-6含量。结果显示, LGT-6在粪便、尿液及胆汁中的累积排泄率分别为2.5%、1.9%和82.4%。上述结果表明, 结构修饰后的LGT-6仍以胆汁排泄为主要消除途径, 未改变先导化合物的核心排泄特征, 粪便(2.5%) 和尿液 (1.9%) 中直接检测到的原型药极少, 可能LGT-6大部分以代谢产物形式通过粪便排出体外。

单次给药后的大鼠体内药代动力学研究表明, 该化合物具有良好的体内药代动力学特性。排泄实验发现, 约13.2%的LGT-6未被回收检测到, 提示其可能存在肝肠循环过程。这部分未被排泄的药物或处于肝肠循环的动态平衡中, 或在肠道及肝脏组织中发生分布滞留。

此外, hERG抑制活性研究结果显示, LGT-6对hERG钾通道的抑制作用较弱, IC_{50}远高于其潜在的治疗浓度, 表明其诱发QT间期延长及心律失常的风险较低, 心脏安全性良好。

综上所述, LGT-6具备良好的成药性, 本研究为LGT-6的体内药效学评价提供了关键药代动力学数据,并系统阐明了其排泄特性与心脏安全性, 为后续相关研究奠定了坚实基础。后续研究可进一步开展长期毒性实验、降糖药效学评价以及特殊人群 (如肝、肾功能不全) 药代动力学研究, 以全面评估其临床转化潜

力, 并为开发新型不经肾脏排泄的长效DPP-4抑制剂提供重要参考路径。

作者贡献: 廖伟科负责确定选题、对稿件进行修改和基金获得; 汤磊负责对稿件进行修改; 何立虹负责实验研究、数据整理和文章撰写; 张宇负责协助部分实验、内容框架指导和数据核对; 所有作者均阅读并同意最终稿件。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在任何利益冲突。

References

[1] Scheen AJ. Pharmacokinetics of dipeptidylpeptidase-4 inhibitors [J]. Diabetes Obes Metab, 2010, 12: 648-658.

[2] Graefe-Mody U, Retlich S, Friedrich C. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of linagliptin [J]. Clin Pharmacokinet, 2012, 51: 411-427.

[3] Blech S, Ludwig-Schwellinger E, Gräfe-Mody EU, et al. The metabolism and disposition of the oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, linagliptin, in humans [J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38: 667-678.

[4] Liao WK, Tang L, Zheng P, et al. Xanthine compounds and pharmaceutical compositions and applications thereof: CN, 108299436B [P]. 2020-01-17.

[5] Zhang Y, Chen R, Zhang L, et al. Metabolic characteristics of DPP-4 inhibitor LGT-6 in liver microsomes of different species [J]. Chem Reagents (化学试剂), 2020, 42: 1345-1350.

[6] Liao WK, Yang HL, Wang ZY, et al. Comparison of plasma protein binding rates of DPP-4 inhibitor LGT-6 in different species [J]. China Pharm (中国药房), 2021, 32: 1728-1733.

[7] Zhang Y, Ban YJ, Wang ZY, et al. Transport characteristics of novel DPP-4 inhibitor LGT-6 in Caco-2 cell monolayer model [J]. Chem Reagents (化学试剂), 2021, 43: 434-440.

[8] Peng Y, Zhou Y, Feng J, et al. Mining and evaluation of adverse drug signals of linagliptin in skin and subcutaneous tissue after marketing [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2020, 29: 595-600.

[9] Chen XW, He ZX, Zhou ZW, et al. Clinical pharmacology of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors indicated for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2015, 42: 999-1024.

[10] Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Aronson JK. Post-marketing withdrawal of 462 medicinal products because of adverse drug reactions: A systematic review of the world literature [J]. BMC Med, 2016, 14: 10.

[11] Zhang YH, Yan CC, Wang F, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine affecting hERG potassium channel and causing long QT syndrome [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 1880-1887.

[12] Leishman DJ, Brimecombe J, Crumb W, et al. Supporting an integrated QTc risk assessment using the hERG margin distributions for three positive control agents derived from multiple laboratories and on multiple occasions [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2024, 128: 107524.

[13] Chen Z, Chang Z, Yao P, et al. A systematic study of the hepatic-intestinal first-pass effect and excretion pathways of punicalagin based on UPLC-MS/MS [J]. Molecules, 2026, 31:393.

[14] Sun HY. Study on the Effects of Different Assay Conditions on Drug Action on hERG Potassium Channel (不同实验条件对药物作用于hERG钾通道的影响研究) [D]. Shanghai: China State Institute of Pharmaceutical Industry, 2018.

[15] Zhang XM. Study on Small Molecule Probes Targeting hERG Potassium Channel (靶向hERG钾通道的小分子探针研究) [D]. Jinan: Shandong University, 2018.

[16] Zhou SB, Wang J, Liu H. Lead optimization strategy (V): Reducing hERG-related cardiotoxicity of drugs [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2016, 51: 1530-1539.

[17] Zhang GC, Feng PF, Zhan G, et al. Cardiac safety evaluation of berberine combination therapy [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 1895-1902.