

## 先导化合物结构优化策略 (八) —— 药物转运体及其相关药物设计策略

宋晓翰<sup>1,2</sup>, 王江<sup>1,2</sup>, 柳红<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国科学院上海药物研究所, 新药研究国家重点实验室, 上海 201203; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 转运体会对药物在人体中的转移和分布产生极大的影响。一方面可溶性载体转运体可以将药物转运进入组织器官, 从而提升药物生物利用度以及改变药物的组织分布; 另一方面, 细胞上的 ATP 结合盒转运体会将某些药物排出细胞, 从而降低细胞内药物浓度, 产生耐药性。本文总结了人体中几种重要的药物转运体的底物特征以及针对药物转运体进行药物设计的策略, 包括前药修饰提高生物利用度、引入酸性基团改善肝脏选择性、改善化合物极性降低外排比等。

**关键词:** 转运体; 药物设计; 先导化合物

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)02-0432-13

## Lead compound optimization strategy (8) – drug transporters and related drug design strategies

SONG Xiao-han<sup>1,2</sup>, WANG Jiang<sup>1,2</sup>, LIU Hong<sup>1,2\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Transporters have a great influence on the transportation and distribution of drugs in the body. On the one hand, solute carrier transporters could transport drugs into tissues and organs, which may improve the oral bioavailability or change the tissue-distribution of the drugs. On the other hand, the ATP-binding cassette could pump some drugs out of the cell, which decreases the intracellular drug concentrations and leads to drug resistance. This paper summarizes the distribution, substrate characteristics and drug design strategies of several important drug transporters, such as improving bioavailability by prodrug design, introducing acid group to improve hepatic selectivity and adjusting the polarity of compounds to decrease efflux ratio.

**Key words:** transporter; drug design; lead compound

在药物研发过程中, 先导化合物的药代动力学性质优化是先导化合物成药性优化的重要部分。药物的药代动力学性质一方面受药物自身理化性质的影响, 另一方面, 人体中的代谢酶以及转运体也极大地影响了药物的药代动力学特性, 代谢酶可将药物代谢生成水溶性更强的代谢产物, 从而加速药物排出体外, 而膜转

运体则通过对部分药物的选择性转运影响药物的体内分布。通常情况下, 脂溶性较强的药物以被动扩散的方式在体内进行跨膜转运, 因此该类药物在各器官组织分布较为均一; 但是亲水性的药物一般透膜性较差, 部分药物需要膜上的转运体参与进行跨膜转运, 由此导致药物的吸收转运受到转运体的类型和组织分布的影响, 进而引起药物在各个器官和组织之间的浓度水平产生较大差异, 同时也会导致血药浓度难以反映药物在靶器官或者靶细胞内的真实浓度水平。另一方面, 当两

收稿日期: 2020-07-27; 修回日期: 2020-09-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21632008).

\*通讯作者 Tel: 86-21-50807042, E-mail: hliu@simmm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1248

种药物竞争同一种转运体或者转运体活性被药物抑制时,药物的药代动力学特性会发生极大改变,导致药物-药物相互作用 (drug-drug interaction, DDI) 的发生。此外,转运体还与肿瘤细胞耐药性的产生相关,部分肿瘤细胞可以通过高表达外排转运体降低细胞内的药物浓度,从而降低药物效能<sup>[1,2]</sup>。因此,了解各类转运体的性质与功能对于药物研发具有重要的指导意义。

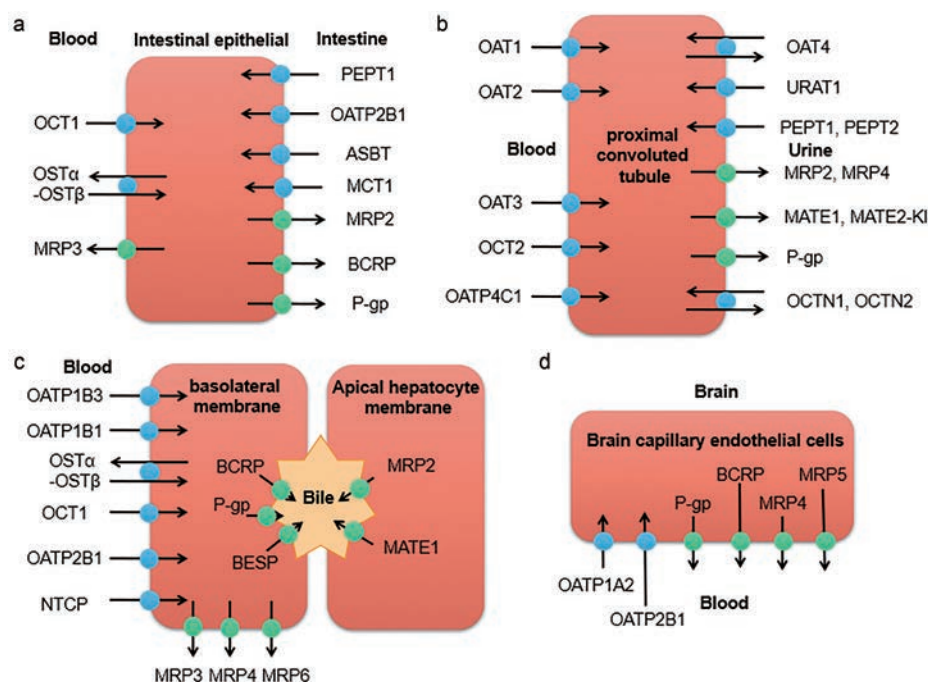
人体中与药物相关的转运体可按照功能分为两大类 (表 1): 一类是介导药物吸收进入细胞的可溶性载体 (solute carrier, SLC) 超家族,其广泛分布于人体各个组织器官,利用细胞膜两侧的离子浓度梯度作为动力进行底物的跨膜运输。大多数 SLC 转运体含有 7~14 个跨膜螺旋,并且有一个胞内或胞外的柔性结构域,它可以协助跨膜螺旋形成跨膜通道<sup>[3]</sup>。目前已发现和鉴定 400 多种 SLC 转运体,分为 65 个亚家族,其中与药物转运相关的 SLC 转运体主要包括:寡肽转运体 (peptide transporters, PEPTs)、有机阴离子转运体 (organic anion transporters, OATs)、有机阴离子多肽转运体 (organic anion transporting polypeptide, OATP)、有机阳离子转运体 (organic cation transporters, OCTs)。另一类转运体是 ATP 结合盒转运体 (ATP-binding cassette, ABC) 超家族,ABC 转运体可以通过水解 ATP 提供能量将药物转运出细胞。人类基因组中一共含有 49 个编码 ABC 转运体的基因,按照进化差异分为 A-G 共 7 个亚家族。在结构上,ATP 结合盒转运体一般由跨膜区 (transmembrane domains, TMDs) 和核苷酸结合区 (nucleotide-binding domains, NBDs) 组成,其中 TMDs 由多个跨膜螺旋组成,它们形成了跨膜通道并且可以识别结合底物,而 NBDs 则可以水解 ATP 提供能量,从而引起构象改变将药物分子排出细胞<sup>[4,5]</sup>。参与药物转运的 ABC 转运体主要包括 P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)、

乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP)、多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance protein, MRP) 等。

小肠、肾脏、肝脏以及血脑屏障中含有多种转运体 (图 1),在药物的体内转运中发挥重要作用。小肠上的转运体主要负责吸收食物中的营养物质,排出药物及其代谢物<sup>[6]</sup>;而肾近曲小管上的转运体可以从尿液中重吸收营养物质,并介导部分药物从尿液排出<sup>[7]</sup>;肝细胞上的转运体负责将药物从血液中转运至肝脏,促进药物分子的代谢和排出<sup>[8]</sup>。血脑屏障是由紧密连接的血管内皮细胞和神经胶质细胞构成的一道屏障,作用于脑内靶标的药物一般需要具有较高的脂溶性以及较小的分子质量 (小于 400 Da)<sup>[9,10]</sup>,从而可以通过被动扩散的方式透过血脑屏障入脑发挥药效。此外,血脑屏障上含有多种转运体,其中 OATP 转运体可以将部分阴离子型化合物转运进入大脑,但其在血脑屏障中表达量较低,转运的通量不高;而表达 P-gp、BCRP 以及 MRP 则具有广泛的底物范围,可以将多种药物泵出血脑屏障<sup>[11-13]</sup>,因此部分药物尽管具有较好的脂溶性却难以入脑,目前可采用针对 P-gp 进行结构改造的策略促进药物透过血脑屏障<sup>[14,15]</sup>。鉴于转运体对于药物的药代动力学特性具有重要影响,研究人员需要考察药物是否是某种转运体的底物或者抑制剂,进而推测其可能产生的不良反应或者相关的药物-药物相互作用;此外,近年来,研究人员也试图通过将药物分子进行结构改造或前药修饰,使其成为摄取转运体的底物或者避免被外排转运体排出,从而增加药物的口服吸收,使药物富集于靶器官增强药物疗效。本文旨在介绍人体中常见的药物相关转运体的研究进展,以及针对转运体进行的药物改造和设计策略,以期为转运体相关的药物设计提供新的研究思路。

**Table 1** Classification of drug transporters

Superfamily of transporters	Function	Series of drug transporters
Solute carrier transporters (SLC)	Mediates the absorption of drugs into cells, which could be used to improve bioavailability and hepatic selectivity	Peptide transporters Organic anion transporters Organic anion transporting polypeptide Organic cation transporters Organic solute transporter alpha-beta Novel organic cation transporters Sodium-dependent bile salt transporter Monocarboxylic acid transporter Urate transporter
ATP-binding cassette (ABC)	Mediates the expulsion of drugs from cells, which may cause multidrug resistance	P-glycoprotein Breast cancer resistance protein Multidrug resistance protein Multidrug and toxin extrusion transporter Bile salt export pump



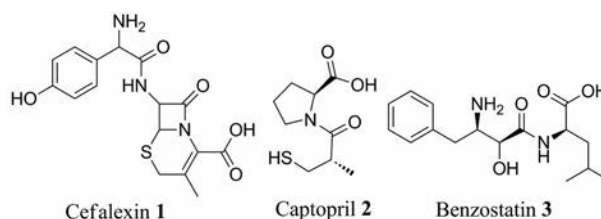
**Figure 1** (a) Transporters in plasma membrane domains of intestinal epithelia; (b) Transporters in plasma membrane domains of kidney proximal tubules; (c) Transporters in plasma membrane domains of hepatocytes; (d) Transporters in plasma membrane domains of brain capillary endothelial cells

## 1 可溶性载体超家族

### 1.1 寡肽转运体 (peptide transporters, PEPTs)

PEPTs 是一种质子耦合的转运蛋白, 人体的 PEPTs 分为两种亚型: PEPT1 和 PEPT2, 二者具有不同的动力学性质以及组织分布。PEPT1 对底物的容量高、底物范围广, 但亲和力低, 主要分布于小肠上皮细胞, 用于转运膳食蛋白分解成的二肽以及三肽; 而 PEPT2 对底物的亲和力高, 但容量低、底物范围相对较窄, 对多肽的侧链具有一定的选择性, 主要在肾脏、脑和肺中表达, 可以从肾小球滤液中重吸收肽, 在生物体中分布较广<sup>[16-19]</sup>。

PEPTs 在药物转运过程中发挥重要作用, 小肠中的 PEPT1 含量丰富, 可以将底物从肠道中转运进入上皮细胞, 促进底物吸收。PEPTs 的底物一般具有以下特点: ① PEPTs 的底物大多含有肽键或者类似肽键的结构片段 (亚甲基酮、硫代羰基等)<sup>[20]</sup>; ② 含有  $\alpha$ -氨基的化合物能够与 PEPTs 中保守的组氨酸残基形成氢键相互作用, 是该类转运体的常见底物<sup>[21,22]</sup>; ③ PEPTs 可以转运二肽以及三肽, 多肽氨基端和羧基端的距离为 500~635 pm, 但 PEPTs 无法转运游离氨基酸以及四肽<sup>[23,24]</sup>。研究表明, 多种类型的上市药物均是 PEPTs 的底物 (图 2), 例如  $\beta$ -内酰胺类抗生素头孢氨苄 (cefalexin 1), 该类物质存在脂溶性低、透膜性差的问题, 但它是 PEPT1 的转运底物, 可在肠道中被转运吸收, 具有较高的口服生物利用度<sup>[25]</sup>。因此, 利用 PEPT1



**Figure 2** Representative marketed drugs as the substrates of PEPT

的底物特点, 可以拓宽药物设计思路, 使某些透膜性较差药物以口服方式给药成为可能。

许多药物并不具有 PEPT 底物的结构特征, 但可以通过设计成前药形式使其被 PEPT 识别和转运, 增强口服生物利用度 (图 3)<sup>[26,27]</sup>。氨基酸酯化是靶向 PEPT1 前药设计的首选方法, 因为药物的  $\alpha$ -氨基酸酯在结构上类似于多肽, 容易被 PEPT1 所识别, 并且在肠道 pH 值范围中展现出良好的化学稳定性; 其次, 引入氨基酸后, 分子中会多出一个游离的氨基, 可以增加化合物的水溶性; 此外, *L*-型氨基酸类前药在被吸收进入人体后, 可在酯酶的催化下水解, 释放出原形药物, 所以一般选用 *L*-型氨基酸制备前药<sup>[27,28]</sup>。

抗病毒药阿昔洛韦 (acyclovir 5) 的口服生物利用度仅为 10%~20%, 研究人员将其结构中的末端羟基与缬氨酸通过酯键连接, 得到前药伐昔洛韦 (valaciclovir 4)。体外实验表明伐昔洛韦主要经 PEPT1 转运吸收, 人体内的口服生物利用度是阿昔洛韦的 3~5 倍, 且其

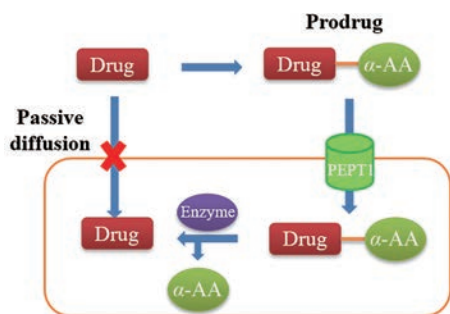


Figure 3 Strategy targeting PEPT for prodrug design

被吸收进入人体后,可以在伐昔洛韦水解酶的催化下,水解生成阿昔洛韦,发挥药效(图4a)<sup>[29]</sup>。此外,也有部分药物以自身氨基通过酰胺键与氨基酸相连设计获得前药,例如抗精神疾病类药物LY354740通过分子上的游离的氨基与丙氨酸形成酰胺键,得到前药LY544344,该前药分子对PEPT展现出了高亲和力<sup>[30]</sup>,在大鼠体内的口服生物利用度达到了85%,且给药30 min后前药全部水解转化为LY354740(图4b)<sup>[31]</sup>。

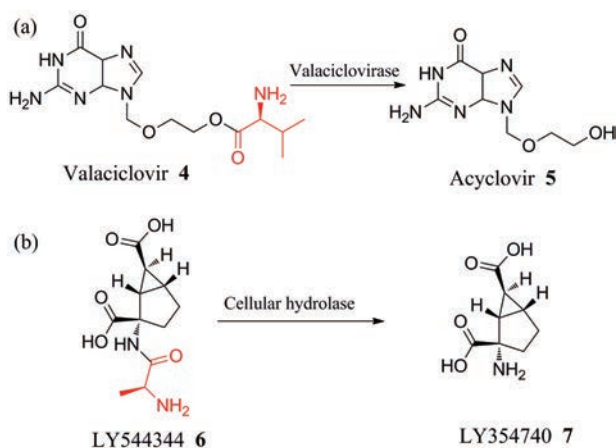


Figure 4 Examples of prodrug design targeting PEPT

最近,He课题组<sup>[32]</sup>同样利用该种前药策略对抗肝炎药物JBP485进行结构改造,JBP485是一种环状二肽分子,它可以被PEPT所识别,但亲和力较低,在大鼠体内的生物利用度仅有21%。研究人员尝试在分子中的游离的羟基上引入多种类型的L-氨基酸,将分子

设计成前药,从而增强化合物对PEPT1的亲和力。结果表明在R<sup>1</sup>位置引入氨基酸酯可以有效提升化合物的口服生物利用度,并且L-缬氨酸酯(J3V)的提升效果最强(表2)。进一步实验结果表明,优选前药J3V在大鼠体内可以迅速水解成原形药物JBP485,其暴露量相比原形药物提升了近10倍(图5)。

Table 2 Prodrug design of JBP485 by introducing L-amino acids

Compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	F/%
8 (JBP485)	H	H	21.0
9 (J3V)		H	50.1
10	H		36.0
11		H	31.6
12		H	8.7
13		H	7.4

## 1.2 有机阴离子转运体(organic anion transporters, OATs)

OATs主要负责转运人体中带负电荷的内源性代谢物,目前已经发现了20多种OAT亚型,其中OAT1、OAT2和OAT3负责将底物从血液转运进入肾小管上皮细胞,在药物分子的清除排泄过程中发挥重要作用<sup>[33,34]</sup>。OAT1、OAT2和OAT3的底物范围均十分广泛,转运底物主要是相对分子质量小于500的亲水性阴离子化合物(图6)<sup>[33]</sup>,例如非甾体抗炎药以及β-内酰胺类抗生素等。此外,当多种药物竞争同一种OAT或者OAT转运活性被药物抑制时会导致DDI的发生,例如苯扎贝特(bezafibrate, 14)和咪唑立滨(mizoribine, 15)都是OAT1/3的底物,当二者同时服用时会导致苯扎贝特的清除率降低,药物暴露量增加,极有可能导致横纹肌

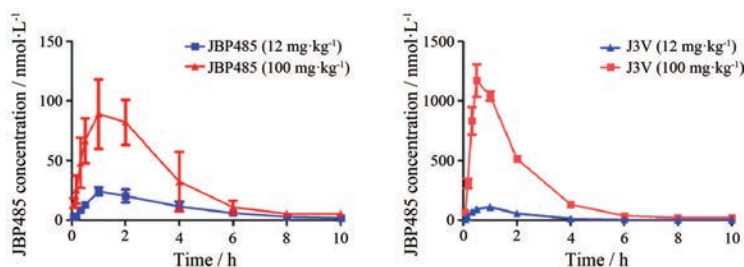


Figure 5 PK profiles of oral administration of JBP485 and J3V in rats

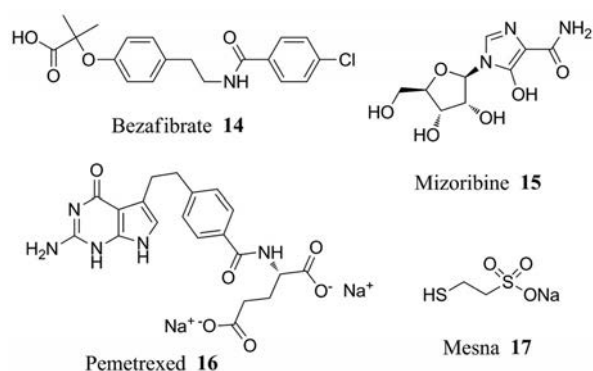


Figure 6 Representative marketed drugs as the substrates of OATs

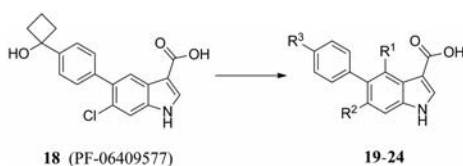
溶解等不良反应的发生<sup>[35,36]</sup>。因此,在药物研发过程中需要明确化合物是否是OATs的底物,避免DDI所介导的不良反应。

OATs可以促进其底物进入肾脏,介导其从尿排出,从而导致底物的肾脏清除率(CL)增加。OATs的底物一般极性较大,因此可以通过对底物中的极性基团进行封闭和替换的策略来改善其清除率。PF-06409577是强效AMPK激动剂,其AMPK激动活性为 $7\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (表3),但该分子是OAT3的底物并且在肾脏的清除率较高(大鼠体内 $\text{CL} = 7.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),限制了其进一步开发<sup>[37]</sup>。OATs的底物通常是极性较大的离子型化合物,因此,辉瑞公司研究人员<sup>[38]</sup>设想通过替换分子中的极性基团来降低化合物对OAT3的亲合力。前期研究结果表明,分子中游离的羟基对于维持激动活性并不是必需的,而羧基和吡啶则会和靶点中

的赖氨酸残基形成关键的氢键相互作用,所以研究人员选择对环丁醇片段进行封闭和替换,尝试在保持化合物激动活性的基础上,改善其肾脏清除率。研究人员首先将环丁醇替换为乙二醇,以便进行后续改造,所得化合物19极性增大且对OAT3的亲合力提升,进一步将末端羟基封闭得到化合物20,其hOAT3的摄取比例显著降低,而在末端引入极性较大的吗啉环则会提升化合物对OAT3的亲合力(表3)。研究人员将 $\text{R}^3$ 基团替换为极性较小且脂溶性强的四氢吡喃环,得到兼有较好AMPK激动活性和较低hOAT3亲和力的化合物22,在此基础上,他们又通过替换 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^2$ 基团进一步提升化合物的渗透性,最终得到化合物24(PF-06679142),其在大鼠体内肾脏清除率仅为 $0.03\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,改善了该类化合物的成药性。

**1.3 有机阴离子多肽转运体 (organic anion transporting polypeptides, OATPs)** OATPs在结构上与OATs相似但转运底物略有不同,OATPs的底物主要是分子量较大的疏水阴离子而OAT则转运分子量较小的亲水阴离子(图7)<sup>[33]</sup>。OATPs有多种亚型,其中OATP1B1和OATP1B3主要分布于肝细胞基侧膜,是肝脏中含量最丰富的转运体,在许多药物肝摄取过程中发挥重要作用,因此OATP1B1/1B3被竞争性或非竞争性抑制时,可能会导致DDI的发生。另一方面,某些药物的靶标存在于肝内,设计肝脏选择性的药物可以降低不良反应以及提高疗效,所以利用OATP1B1/1B3转运药物进入肝细胞也就成为了一种新型的药物设计策略。

Table 3 Optimization of PF-06409577 by replacing polar group to decreasing its affinity to hOAT3. <sup>a</sup>Passive permeability ( $P_{\text{app}}$ ) from the apical to basolateral (AB) direction was measured in Ralph Russ canine kidney (RRCK) cells. <sup>b</sup>Ratio of uptake in hOAT3 transfected HEK293 cells to uptake in vector-treated cells



Compound	$\text{R}^1$	$\text{R}^2$	$\text{R}^3$	$\text{EC}_{50}/\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$P_{\text{app}}^{\text{a}}/10^{-6}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$	hOAT3 uptake <sup>b</sup>
18	H	Cl		5.6	5.8	4.7
19	H	Cl		47	2.9	7.1
20	H	Cl		57	12	1.6
21	H	Cl		43	6.6	6.3
22	H	Cl		24	9.8	1.1
23	F	F		62	ND	ND
24 (PF-06679142)	F	F		22	14	2.3

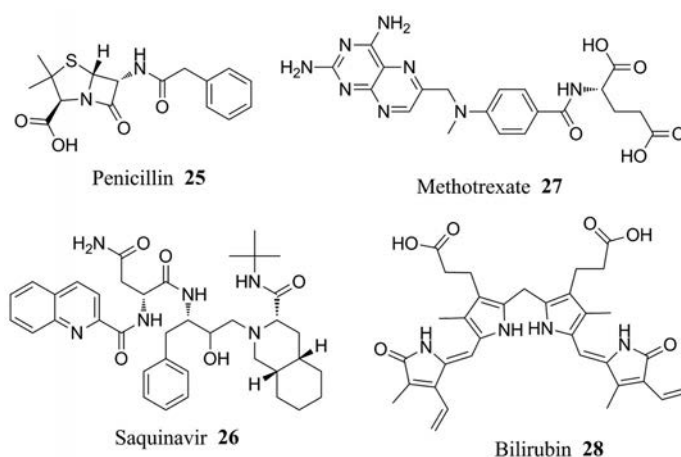


Figure 7 Representative marketed drugs as the substrates of OATPs

葡萄糖激酶 (glucokinase, GK) 激动剂可以增强葡萄糖激酶的催化活性, 促进葡萄糖转化为 6-磷酸葡萄糖, 从而降低血糖, 是一种新型的抗 2 型糖尿病药物。但研究表明该类物质会在较低血糖水平下激活胰腺中的 GK, 从而引起胰岛素释放, 造成低血糖, 因此, 开发肝脏选择性的 GK 激动剂则有望避免低血糖风险<sup>[39]</sup>。化合物 29 是一种葡萄糖激酶激动剂, 辉瑞公司研究人员<sup>[40]</sup>设想通过结构改造将其变为 OATP1B1/1B3 的底物, 使其能够被 OATP1B1/1B3 转运进入肝细胞, 从而选择性的在肝中富集, 以避免不良反应的产生。OATPs 的底物大部分是疏水性阴离子, 而且很多是含有羧基结构的化合物, 因此研究人员设想在化合物 29 的结构中引入羧基, 同时羧基也可以降低分子的渗透性, 避免化合物的被动扩散。通过对晶体复合物结构进行分析 (图 8a), 研究人员发现化合物 29 中的咪唑环和环戊

烷伸向口袋内部, 而吡啶环上的甲基暴露在溶剂区中, 是一个合适的改造位点。由此所得到的化合物 30 既保持了 GK 的激动活性, 同时也成为了 OATP1B1 和 OATP1B3 的底物 (图 8b)。大鼠体内实验结果表明, 化合物 30 经口服进入大鼠体内后主要富集于肝内, 且在胰腺内的含量极低, 对肝脏展现出了良好的选择性 (图 8c)。此外, 研究人员进行了后续的结构改造, 结果表明将羧基替换为磺酸、草胺酸以及四氮唑均可维持其对转运体的亲和力, 但是所得化合物的 GK 激动活性不高<sup>[40]</sup>。

硬脂酰-CoA 去饱和酶-1 (stearoyl-CoA desaturase-1, SCD1) 抑制剂是一种新型的糖尿病和血脂异常治疗药物, 但临床前实验表明抑制皮肤和眼组织中的 SCD 会导致严重的不良反应, 因此开发肝脏选择性的 SCD1 抑制剂十分必要。默克公司研究人员<sup>[41]</sup>设想在 SCD1 抑制

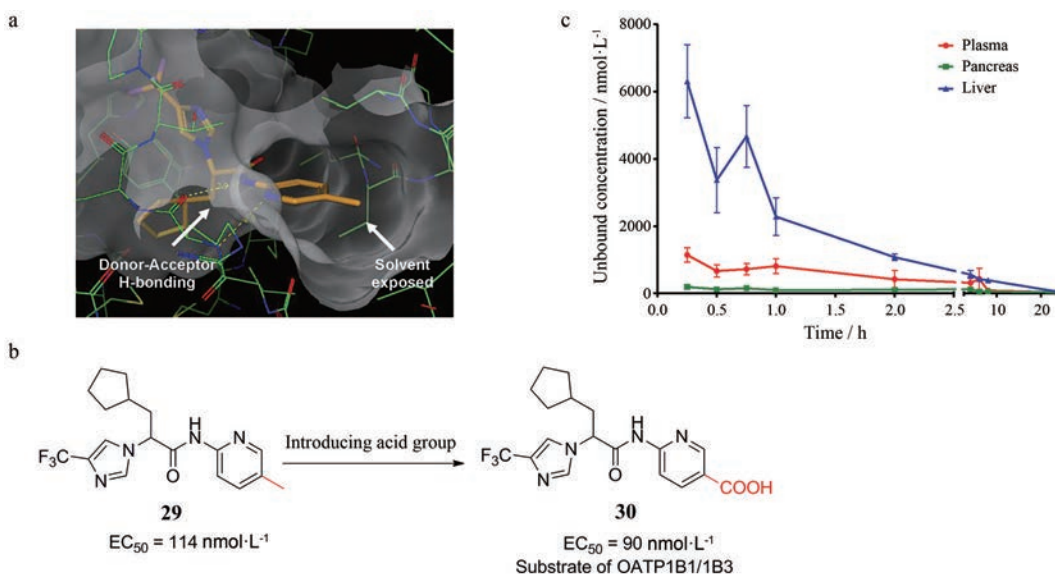


Figure 8 (a) Complex structure of compound 29 with glucokinase. (b) Increasing the affinity of GK activator to OATP1B1/1B3. (c) Acute tissue distribution time course of 22 in rat after oral administration

剂 **31** 上引入酸性基团使其成为 OATPs 的底物 (图 9)。初步研究发现, 在 **31** 的苯环上进行结构改造导致化合物活性丧失 (化合物 **32**), 而在左侧的杂环上引入酸性基团则可以在保持活性的基础上使化合物成为 OATP1B1/1B3 的底物 (化合物 **33**)。随后, 研究人员进一步结构改造, 得到活性较强的化合物 **34**。动物实验结果表明, 化合物 **34** 在恒河猴体内的肝脏/血浆浓度比达到 39:1, 皮肤组织中的药物浓度极低而眼组织中未能检测到药物, 为后续研发奠定基础。

OATPs 对于其底物也可能产生负面的影响, 许多药物的靶标并不仅存在于肝内, 在肝内富集即会导致治疗效果下降, 也会加速药物的代谢和排泄。化合物 **35** 是一种肝脏选择性的 AMPK 激动剂, 对肝中脂代谢具有较好的改善作用, 默克公司研究人员<sup>[42]</sup> 试图对其进行结构改造, 降低其肝脏选择性, 增强其对骨骼肌中 AMPK 的激动活性, 以达到治疗糖尿病的目的。化合物 **35** 具有肝脏选择性的原因是它可以被 OATP1B1/1B2 所转运, 并且其极性较大、透膜性差, 进入肝脏后难以通过被动扩散离开肝脏。研究人员认为分子中的羧基是化合物维持其对 OATP1B1/1B2 亲和力的重要基团, 用极性较小的电子等排体对其进行替换既可避免化合物被 OATP1B1/1B2 转运, 又可以增加化合物的透膜性。替换后所得到的化合物 **36** 的渗透性提高, 肝脏选择性显著降低, 小鼠体内的肝脏骨骼肌浓度比例降为 3, 并展示出了良好的降糖活性 (图 10)<sup>[42]</sup>。

#### 1.4 有机阳离子转运体 (organic cation transporters, OCTs)

OCT 主要分为 OCT1、OCT2 和 OCT3 三个亚

型。其中 OCT1 和 OCT2 分别分布于肝细胞和肾近曲小管细胞, 可以介导药物进入肝脏和肾脏, 促进药物的代谢和排泄; 而 OCT3 分布广泛, 在骨骼肌、小肠、脑、心脏和胎盘等多种组织中均有分布, 主要负责单胺类神经递质、激素以及类固醇在人体内的转运<sup>[43, 44]</sup>。许多药物例如顺铂、二甲双胍、拉米夫定等 (图 11) 是 OCT1/2 的转运底物; 当 OCT1/2 被竞争性或非竞争性抑制时, 可能导致 DDI 的发生。OCT1 和 OCT2 具有较高的同源性, 底物主要是阳离子化合物以及在生理环境下带有正电荷的弱碱以及部分不带电荷的化合物, 而其抑制剂一般是在生理条件下带有正电荷的亲脂性化合物。此外, Hendrickx 等<sup>[45]</sup> 分析了 354 个化合物对 OCT1/2 的亲和力, 总结了 OCT1/2 底物的一般特征。首先, OCT1/2 倾向于转运分子量和体积较小的化合物, 所有 OCT1/2 底物的分子体积均小于 500 Å<sup>3</sup>; 其次, 化合物的极性表面积 (PSA) 越小, LogD 越高, 则越有可能被 OCT2 转运, 但化合物对 OCT1 的亲和力和 PSA 以及 LogD 之间无相关性。

与 OATP1B1/1B3 相类似, OCT1 也可通过增加化合物在肝内的浓度从而加强化合物的治疗作用, 例如二甲双胍 (metformin, **37**) 极性较大, 透膜性差, 但是可以通过 OCT1 在肝细胞内富集, 激活 AMPK, 抑制葡萄糖的产生<sup>[46]</sup>; 某些抗病毒药物如拉米夫定 (lamivudine, **38**) 被证明是 OCTs 的底物, 可以经 OCTs 转运进入肝细胞, 抑制乙肝病毒<sup>[47]</sup>。OCTs 也会导致部分药物在肾脏中富集, 例如顺铂 (*cis*-platinum, **39**) 会被 OCT2 转运进入肾脏, 但肾脏上外排转运体却难以将顺铂转运至

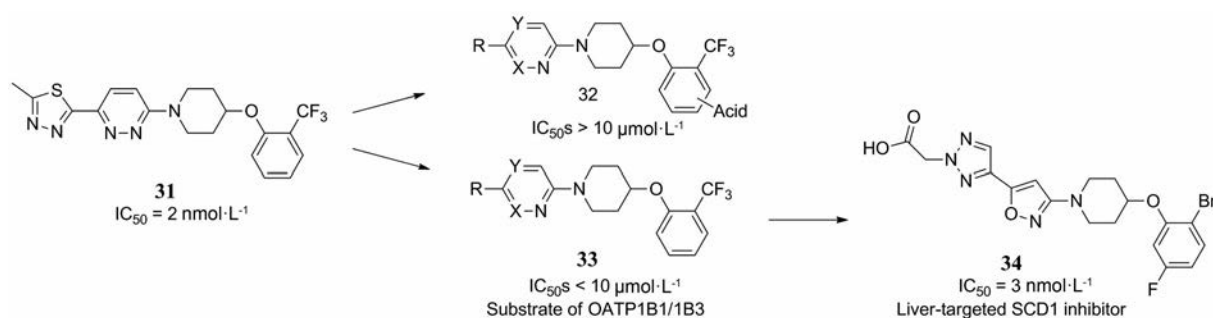


Figure 9 Increasing the affinity of SCD1 inhibitors to OATP1B1/1B3

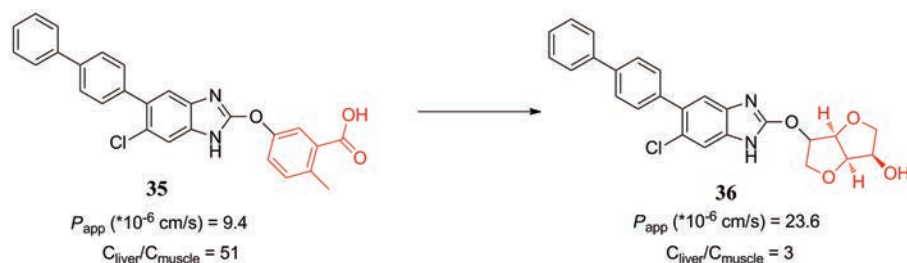


Figure 10 Decreasing the affinity of AMPK activator to OATP1B1/1B2 by replacing acid group

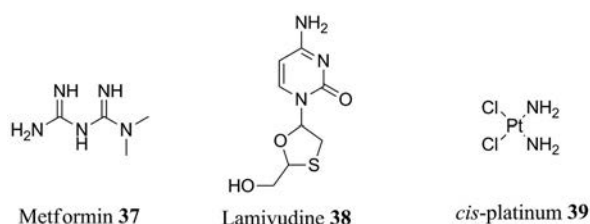


Figure 11 Representative structures of marketed drugs that are the substrates of OCTs

尿液,因此顺铂会在肾脏中蓄积,导致肾毒性的发生。而新一代的化疗药物卡铂则不是OCT2的底物,所以肾毒性较轻,安全性比顺铂更高<sup>[48]</sup>。

## 2 ATP结合盒转运体(ATP-binding cassette, ABC)超家族

### 2.1 P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)

P-gp由MDR1基因所编码,广泛分布于小肠上皮细胞、血-组织屏障、肝胆管上皮细胞以及肾脏近曲小管的上皮细胞。P-gp在限制药物透过血脑屏障、小肠药物吸收以及促进药物的尿排泄和胆汁排泄方面发挥重要作用。P-gp的转运底物一般具有以下特点:① P-gp结合底物的空腔较大且特异性不高,因此相对分子质量较小( $MW < 250$ )的化合物通常情况下不会成为P-gp的底物,而相对分子质量大于400的化合物则很有可能被P-gp转运<sup>[49]</sup>;② 对P-gp的晶体结构分析,其底物结合区域中有一部分谷氨酰胺和丝氨酸等极性氨基酸残基,它们可以和药物分子中的氢键受体形成氢键相互作用,因此分子中含有氢键供体越多,则越易成为P-gp的底物<sup>[49,50]</sup>;③ 药物分子所带的电荷类型也会影响其与P-gp结合的效率,多项研究表明带有阳离子的碱性基团( $pK_a > 4$ 的酸)会增加化合物成为P-gp底物的概率,而带有阴离子的酸性基团( $pK_a < 8$ 的碱)则会降低这种概率<sup>[49]</sup>;④ 化合物的拓扑极性表面积(TPSA)越大,则越有可能成为P-gp底物<sup>[50]</sup>。

P-gp可以将毒性物质或者代谢产物转运出细胞,对于维持细胞的正常生理功能具有重要作用,但是如果药物分子本身是P-gp底物则可能导致一系列的不利影响。首先,在药物-药物相互作用方面,某些药物

比如地高辛是P-gp的底物,当与其他P-gp底物或抑制剂同时服用时,则会引起地高辛的暴露量的升高<sup>[51]</sup>。其次,许多耐药反应与P-gp相关,在NCI-60细胞系中,有超过50%的肿瘤细胞系表达了P-gp,特别是在肾癌和结肠癌中出现了P-gp高表达的情况<sup>[52]</sup>。此外,小肠上皮细胞上表达的P-gp可能会阻碍药物分子的吸收,而肝胆管上皮细胞以及肾近曲小管的上皮细胞上的P-gp会加速药物分子从人体中排出。最后,血脑屏障中的P-gp可能会阻碍药物入脑<sup>[13]</sup>。

鉴于以上特点,研究人员发展了一系列策略来避免P-gp介导的耐药性以及其对药物药代动力学特性的影响。其中,最直接的策略就是研发P-gp小分子抑制剂<sup>[53]</sup>,但是目前尚未开发出P-gp小分子进入临床研究,因此通过对药物分子进行结构改造来避免被P-gp转运可能是更加实用的研究策略。通常可以通过减少分子内氢键供体( $HBD < 2$ )以及引入亲脂基团减小TPSA( $TPSA < 90 \text{ \AA}^2$ )的方法来避免小分子化合物被P-gp转运。化合物40是一种受体相互作用蛋白1(RIP1)抑制剂,用于治疗神经退行性疾病,但它是P-gp的底物,难以穿过血脑屏障发挥药效。武田制药公司的研究人员<sup>[15]</sup>设想通过降低化合物的TPSA和减少HBD的方式避免P-gp对其的外排作用(图12)。前期研究表明化合物结构中的红色部分不与靶点中的残基形成氢键作用,引入亲脂性基团封闭HBD以及替换极性较大的三氮唑对化合物的活性影响较小。由此得到的化合物41的TPSA降低为 $79 \text{ \AA}^2$ 且仅有一个HBD,P-gp介导的外排比(efflux ratio, ER)降低到1.9。在此基础上,研究人员将化合物41中的咪唑环替换为吡啶环来与苯基连接,将分子中的HBD降为0个,同时考察不同取代基对活性的影响,最终得到了兼有较好活性与低外排比的化合物42。

此外,还可以通过降低分子 $pK_a$ 的方式来降低分子对P-gp的亲和力。化合物43是一种 $\beta$ -分泌酶1(BACE1)抑制剂,可以用来治疗阿尔茨海默病,但它受P-gp的外排影响难以入脑。盐野义制药公司的研究人员<sup>[14]</sup>分析后认为分子中游离的氨基是化合物发挥活性

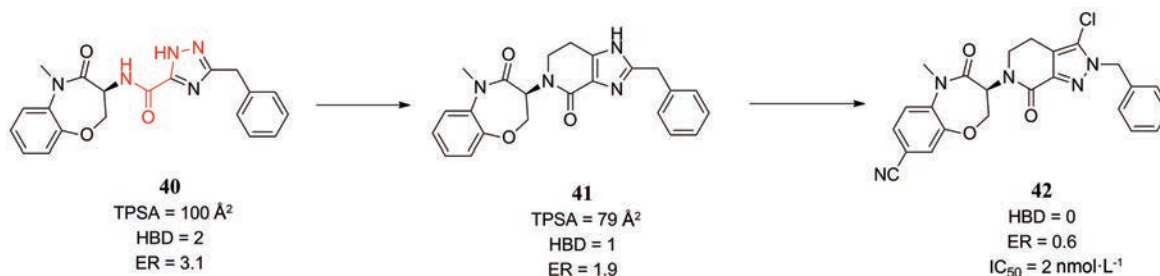


Figure 12 Decreasing TPSA and HBD to avoid the efflux mediated by P-gp

的关键,不能对其进行修饰和替换,但P-gp对在生理条件下(pH 7.4)带电荷的化合物有较高的亲和力,因此将化合物的 $pK_a$ 降低到7.4以下则有可能降低P-gp的外排比(图13)。基于以上策略,他们考虑在氨基相连的环上引入双键,使氨基上的孤对电子离域,达到降低分子 $pK_a$ 的目的,同时在双键上引入取代基,考察构效关系。由此设计改造得到化合物44保持了对BACE1的抑制活性( $IC_{50} = 59 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),并且其 $pK_a$ 降低到6.9,P-gp介导的外排比例显著改善(ER值降低到12),动物实验结果表明化合物在小鼠体内的B/P增加,达到1.2,并且将阿尔茨海默病小鼠脑内的 $A\beta$ 降低了69%,具有良好的治疗效果。

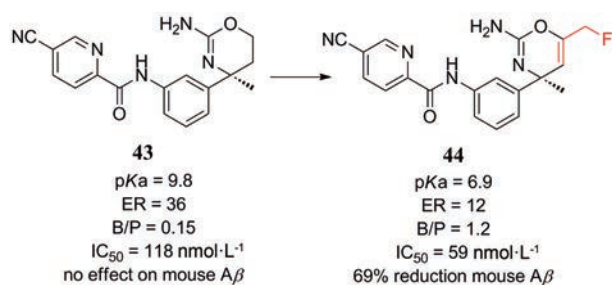


Figure 13 Decreasing  $pK_a$  to reduce the efflux mediated by P-gp

## 2.2 多药耐药相关蛋白-1 (multidrug resistance protein 1, MRP1)

MRP1由ABCC1基因所编码,广泛分布于人体的各个组织,可以将有机阴离子以及药物或药物的II相代谢产物泵出细胞,从而保护组织细胞免受外源性毒素的损伤。Gattass课题组<sup>[54]</sup>发现化合物的TPSA与对MRP1的亲和力之间有着显著的相关性,并建立了底物米氏常数( $K_m$ )和TPSA的相关性曲线(图14)。当化合物的TPSA大于 $150 \text{ \AA}^2$ 时,其极有可能成为MRP1的底物;TPSA较小的化合物不易被MRP1所转运,但是化合物被葡萄糖醛酸化、硫酸化或者与谷胱甘肽结合后,产物的TPSA会极大增加,从而成为MRP1的底物。因此,降低化合物极性、减少II相代谢可能会有助于避免化合物被MRP1转运。目前,已发现有多种化疗药物例如长春新碱、多柔比星、依托泊苷等都是MRP1的底物。研究表明,在非小细胞性肺癌、胃肠癌和黑色素瘤等多种肿瘤细胞中均出现MRP1表达升高的情况,进而导致细胞内化疗药物浓度降低,引起肿瘤多药耐药(MDR)的产生,而MRP1抑制剂则可以逆转MDR,增强化疗药物的疗效<sup>[55,56]</sup>。

传统的MRP1抑制剂主要包括非甾体抗炎药(吲哚美辛)<sup>[57]</sup>、白三烯受体拮抗剂(MK571)<sup>[58]</sup>、P-gp抑制剂(维拉帕米)<sup>[59]</sup>、天然黄酮类化合物<sup>[60]</sup>等,但它们的选择性低而且抑制活性不高,因此难以进行实际应用。

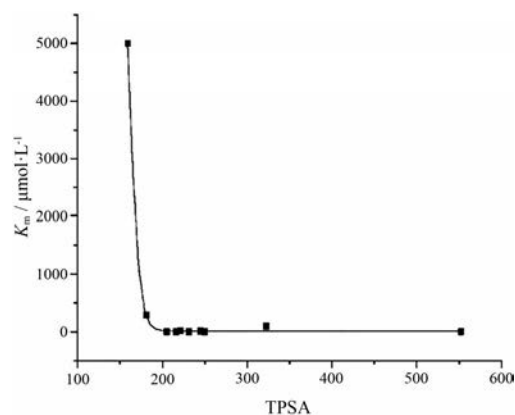


Figure 14 Relationship between TPSA and the  $K_m$  of MRP1 substrates

许多研究人员试图通过对现有的MRP1抑制剂进行结构改造,以期得到选择性较好且具有较高MRP1抑制活性的抑制剂(图15)。MRP1具有假二聚体结构,Chan课题组<sup>[60]</sup>设想将两分子的黄酮类抑制剂连接在一起后使其同时结合在一个MRP1蛋白上,从而增强抑制剂分子的结合活性和选择性,所得到的化合物45对MRP1展现了高的抑制活性( $EC_{50} = 73 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),并且在体外试验中化合物能够逆转肿瘤耐药株对多柔比星的耐药性。Colabufo课题组<sup>[61]</sup>则是分析了传统的MRP1抑制剂结构,发现大多数分子中均含有苯甲酰胺苯胺的核心结构,他们将这一结构提取出来,对苯环上的取代基进行逐步替换和考察,得到了具有微摩尔级抑制活性的化合物46( $IC_{50} = 9.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。最近,Wiese课题组<sup>[62]</sup>利用虚拟筛选研发MRP1抑制剂,他们首先对现有的MRP1抑制剂进行分析,建立了药效团模型,然后对ZINC数据库中的16 403 865个化合物进行相似度搜索和药效团建模,筛选得到了1 510个化合物;在此基础上,研究人员继续进行了类药性筛选和人工挑选,得到了17个潜在的抑制剂进行实验测定,结果表明,噻吩并嘧啶类化合物47具有较好的抑制活性,对MRP1的 $IC_{50}$ 达到了 $5.04 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,适合作为苗头化合物进行后续开发。

## 2.3 乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP)

BCRP是一种外排转运体,主要分布在胃肠道、肝脏、肾脏以及大脑内皮,它的底物类型范围十分广泛,可转运有机阳离子、中性分子以及疏水性化合物<sup>[63]</sup>。BCRP对于底物药物在人体中的转运具有重要影响,它会限制药物口服生物利用度以及阻止药物透过大脑皮层,同时它可以促进药物的胆汁排泄和尿排泄,而BCRP被抑制则有可能导致DDI的发生<sup>[64]</sup>。此外,BCRP由ABCG2基因所编码,ABCG2上有多个单核苷酸突变位点,其中最为常见的是c.421C>A,这些

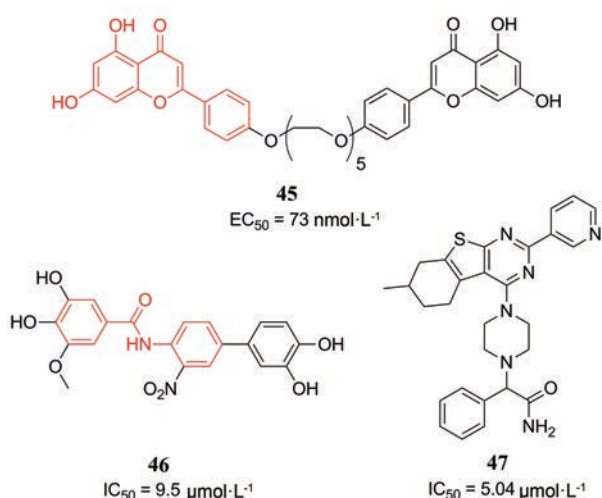


Figure 15 Representative structures of inhibitors of MRP1

基因突变会导致BCRP的表达量减少或者转运效能下降,从而引起用药的个体差异<sup>[65]</sup>,例如瑞舒伐他汀是BCRP的底物,它在BCRP c.421A/A纯合子患者体内的暴露量是c.421C/C纯合子患者的2.4倍<sup>[66]</sup>。

BCRP是介导肿瘤细胞产生耐药性的重要机制之一,目前已发现BCRP在多种实体瘤和血液瘤细胞中高表达,许多重要的抗肿瘤药物例如米托蒽醌、甲氨蝶呤、拓扑替康等均是BCRP的底物,而BCRP则会外排抗肿瘤药物,导致肿瘤细胞内的药物浓度较低,药物治疗效果下降<sup>[63]</sup>,因此,开发药物设计新策略,避免BCRP对药物治疗的不利影响十分重要。但是BCRP的底物范围十分广泛,目前尚无针对BCRP进行药物结构改

造的具体策略,所以研究人员主要通过开发BCRP抑制剂来抑制其转运活性,达到加强药物治疗疗效的目的<sup>[67]</sup>。

烟曲霉素C是最早被发现的BCRP特异性抑制剂,具有良好的抑制活性,但是它的神经毒性较高。Allen等<sup>[68]</sup>提取得到FTC类似物Ko143, Ko143的抑制活性更强(EC<sub>90</sub> = 26 nmol·L<sup>-1</sup>),且对其他的ABC转运体的抑制剂活性较低,显示出较好的选择性,作为工具分子广泛使用。其后,研究人员发现许多含有喹啉结构的酪氨酸激酶抑制剂(例如吉非替尼和埃罗替尼)均有BCRP抑制活性,Wiese课题组<sup>[69]</sup>将这一片段提取出来,对芳环上的取代基进行构效关系考察(表4),结果表明X为氮原子时化合物活性较强,将R<sup>2</sup>基团从苯环变成缺电子或者富电子芳环会导致活性丧失或下降,在R<sup>1</sup>上引入吸电子基会导致活性下降,而引入给电子基则可以维持活性。化合物54对BCRP展现出了最强的抑制活性(IC<sub>50</sub> = 149 nmol·L<sup>-1</sup>),适合作为先导化合物进行后续研究。

此外,有研究表明P-gp抑制剂tariquidar也具有BCRP抑制剂活性。Wiese课题组<sup>[70]</sup>对其进行初步的结构改造,研究结果表明,去除tariquidar结构中的四氢异喹啉环可以使化合物失去对P-gp的抑制作用,而对BCRP抑制活性的影响较小,这可能是由于四氢异喹啉环中的氮质子化后与P-gp形成较强的相互作用。但是所得到的化合物56的BCRP抑制活性仅有微摩尔水平(IC<sub>50</sub> = 1.96 μmol·L<sup>-1</sup>),因此研究人员对其进一

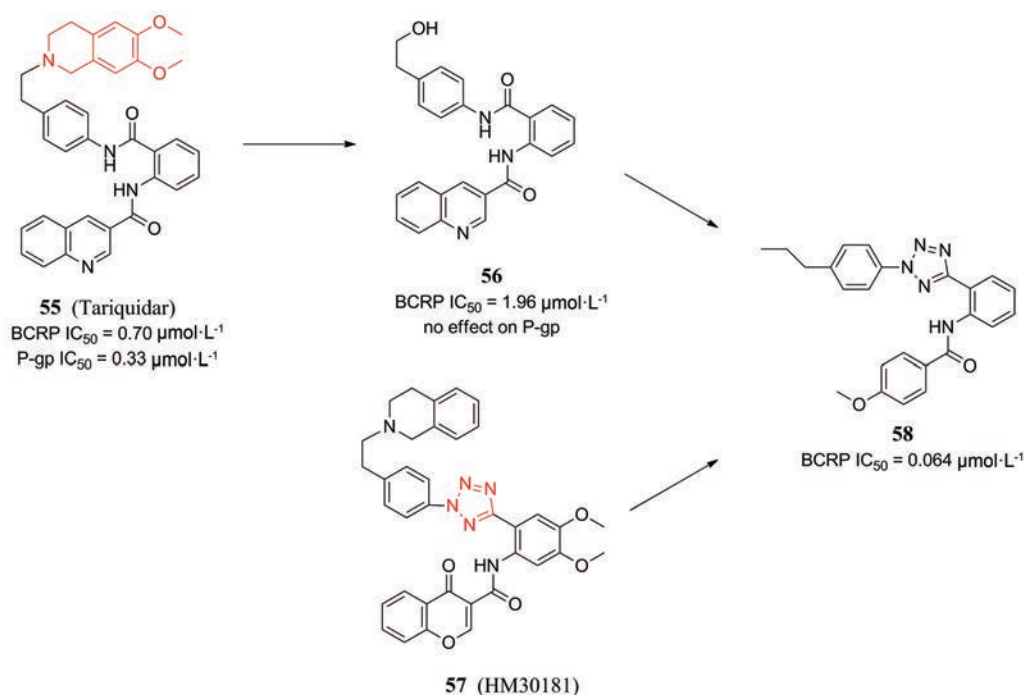
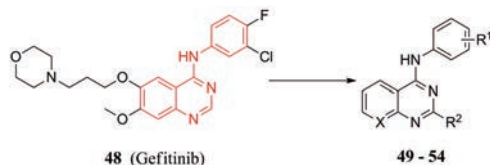


Figure 16 Structures modification of MRP1 selective inhibitors

**Table 4** Structures modification of quinazoline as inhibitors of BCRP

Compound	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> / nmol·L <sup>-1</sup>
49	C	H	Ph	882
50	N	H	Ph	149
51	N	3-NO <sub>2</sub>	Ph	519
52	N	3-NO <sub>2</sub>	3-Pyr	Not active
53	N	3-NO <sub>2</sub>	3-OMe-Ph	747
54	N	3-OMe	Ph	150

步进行结构改造,以期提升化合物的BCRP抑制活性,他们参考了新一代P-gp抑制剂HM30181的结构,将其中的四氮唑片段引入到分子中,同时对化合物中的苯环和喹啉环进行替代和考察,最终得到了具有纳摩尔级抑制活性的化合物58 (IC<sub>50</sub> = 64 nmol·L<sup>-1</sup>) (图16)<sup>[71]</sup>。

### 3 总结与展望

转运体对于药物在人体中的转运和分布具有重要影响,是一把双刃剑<sup>[72]</sup>。一方面它可以促进人体对药物的吸收,改善药物的组织分布;另一方面,转运体也会介导肿瘤细胞的多药耐药,导致DDI的产生,促进药物的代谢与排泄。因此,如何合理利用和针对转运体进行药物设计已经引起药物研发人员的高度重视,并且已经有许多实用性的策略开发出来,拓宽了药物设计的新思路和新方法。但是,目前针对转运体设计报道的研发实例仍然较少,应用范围也比较局限,还需要研究人员开展更多的工作来对探索和拓展针对转运体研究的药物化学结构优化策略。目前,利用转运体进行药物设计已经显现出巨大的潜力,随着未来药物设计策略的不断完善,它也将成为药物研发的重要方法之一。

**作者贡献:** 宋晓翰负责调研文献,整理撰写文章;王江负责审阅、修改文章;柳红负责审阅、修改文章。

**利益冲突:** 本文不存在任何与本稿件相关的利益冲突。

### References

- Li W, Zhang H, Assaraf YG, et al. Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies [J]. *Drug Resist Updat*, 2016, 27: 14-29.
- Mohammad IS, He W, Yin L. Understanding of human ATP binding cassette superfamily and novel multidrug resistance modulators to overcome MDR [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 100: 335-348.
- Anderson CM, Thwaites DT. Hijacking solute carriers for proton-coupled drug transport [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2010, 25: 364-377.
- Ford RC, Beis K. Learning the ABCs one at a time: structure and mechanism of ABC transporters [J]. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47: 23-36.
- Lewinson O, Livnat-Levanon N. Mechanism of action of ABC importers: conservation, divergence, and physiological adaptations [J]. *J Mol Biol*, 2017, 429: 606-619.
- Muller J, Keiser M, Drozdik M, et al. Expression, regulation and function of intestinal drug transporters: an update [J]. *Biol Chem*, 2017, 398: 175-192.
- Ivanyuk A, Livio F, Biollaz J, et al. Renal drug transporters and drug interactions [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2017, 56: 825-892.
- Pan G. Roles of hepatic drug transporters in drug disposition and liver toxicity [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1141: 293-340.
- Morris ME, Rodriguez-Cruz V, Felmler MA. SLC and ABC transporters: expression, localization, and species differences at the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers [J]. *AAPS J*, 2017, 19: 1317-1331.
- Hong Y, Zhou Y, Wang J, et al. Lead compound optimization strategy (4) — improving blood-brain barrier permeability through structural modification [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2014, 49: 789-799.
- Hillgren KM, Keppler D, Zur AA, et al. Emerging transporters of clinical importance: an update from the International Transporter Consortium [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94: 52-63.
- International Transporter Consortium. Membrane transporters in drug development [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 215-236.
- Miller DS. Regulation of ABC transporters at the blood-brain barrier [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2015, 97: 395-403.
- Fuchino K, Mitsuoka Y, Masui M, et al. Rational design of novel 1,3-oxazine based beta-secretase (BACE1) inhibitors: incorporation of a double bond to reduce P-gp efflux leading to robust a beta reduction in the brain [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 5122-5137.
- Yoshikawa M, Saitoh M, Katoh T, et al. Discovery of 7-oxo-2, 4, 5, 7-tetrahydro-6H-pyrazolo[3, 4-c]pyridine derivatives as potent, orally available, and brain-penetrating receptor interacting protein 1 (RIP1) kinase inhibitors: analysis of structure-kinetic relationships [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 2384-2409.
- Brandsch M. Transport of drugs by proton-coupled peptide transporters: pearls and pitfalls [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2009, 5: 887-905.
- Rubio-Aliaga I, Daniel H. Mammalian peptide transporters as targets for drug delivery [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23: 434-440.
- Terada T, Inui K. Peptide transporters: structure, function, regulation and application for drug delivery [J]. *Curr Drug Metab*, 2004, 5: 85-94.

- [19] Brandsch M, Knutter I, Bosse-Doenecke E. Pharmaceutical and pharmacological importance of peptide transporters [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2008, 60: 543-585.
- [20] Brandsch M, Thuncke F, Kullertz G, et al. Evidence for the absolute conformational specificity of the intestinal H<sup>+</sup>/peptide symporter, PEPT1 [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 3861-3864.
- [21] Terada T, Saito H, Inui K. Interaction of beta-lactam antibiotics with histidine residue of rat H<sup>+</sup>/peptide cotransporters, PEPT1 and PEPT2 [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 5582-5585.
- [22] Zhao D, Lu K. Substrates of the human oligopeptide transporter hPEPT2 [J]. *Biosci Trends*, 2015, 9: 207-213.
- [23] Rubio-Aliaga I, Daniel H. Peptide transporters and their roles in physiological processes and drug disposition [J]. *Xenobiotica*, 2008, 38: 1022-1042.
- [24] Doring F, Will J, Amasheh S, et al. Minimal molecular determinants of substrates for recognition by the intestinal peptide transporter [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 23211-23218.
- [25] Tamai I, Nakanishi T, Hayashi K, et al. The predominant contribution of oligopeptide transporter PepT1 to intestinal absorption of beta-lactam antibiotics in the rat small intestine [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1997, 49: 796-801.
- [26] Subbaiah MAM, Meanwell NA, Kadow JF. Design strategies in the prodrugs of HIV-1 protease inhibitors to improve the pharmaceutical properties [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 139: 865-883.
- [27] Vig BS, Huttunen KM, Laine K, et al. Amino acids as promoiety in prodrug design and development [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 1370-1385.
- [28] Sun J, Dahan A, Amidon GL. Enhancing the intestinal absorption of molecules containing the polar guanidino functionality: a double-targeted prodrug approach [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 624-632.
- [29] Ganapathy ME, Huang W, Wang H, et al. Valacyclovir: a substrate for the intestinal and renal peptide transporters PEPT1 and PEPT2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246: 470-475.
- [30] Varma MVS, Eriksson AH, Sawada G, et al. Transepithelial transport of the group II metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist (1*S*, 2*S*, 5*R*, 6*S*)-2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2, 6-dicarboxylate (LY354740) and its prodrug (1*S*, 2*S*, 5*R*, 6*S*)-2[(2'*S*)-(2'-amino)propionyl]aminobicyclo[3.1.0]hexane-2, 6-dicarboxylate (LY544344) [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37: 211-220.
- [31] Rorick-Kehn LM, Perkins EJ, Knitowski KM, et al. Improved bioavailability of the mGlu2/3 receptor agonist LY354740 using a prodrug strategy: *in vivo* pharmacology of LY544344 [J]. *J Pharm Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316: 905-913.
- [32] Jiang Q, Zhang J, Tong P, et al. Bioactivatable pseudotripeptidization of cyclic dipeptides to increase the affinity toward oligopeptide transporter 1 for enhanced oral absorption: an application to cyclo(l-Hyp-l-Ser) (JBP485) [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 7708-7721.
- [33] Li TT, An JX, Xu JY, et al. Overview of organic anion transporters and organic anion transporter polypeptides and their roles in the liver [J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7: 3915-3933.
- [34] Otani N, Ouchi M, Hayashi K, et al. Roles of organic anion transporters (OATs) in renal proximal tubules and their localization [J]. *Anat Sci Int*, 2017, 92: 200-206.
- [35] Feng Y, Wang C, Liu Q, et al. Bezafibrate-mizoribine interaction: involvement of organic anion transporters OAT1 and OAT3 in rats [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 81: 119-128.
- [36] Morimoto S, Fujioka Y, Tsutsumi C, et al. Mizoribine-induced rhabdomyolysis in a rheumatoid arthritis patient receiving bezafibrate treatment [J]. *Am J Med Sci*, 2005, 329: 211-213.
- [37] Cameron KO, Kung DW, Kalgutkar AS, et al. Discovery and pre-clinical characterization of 6-chloro-5-[4-(1-hydroxycyclobutyl)phenyl]-1*H*-indole-3-carboxylic acid (PF-06409577), a direct activator of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), for the potential treatment of diabetic nephropathy [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 8068-8081.
- [38] Edmonds DJ, Kung DW, Kalgutkar AS, et al. Optimization of metabolic and renal clearance in a series of indole acid direct activators of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 2372-2383.
- [39] Beberitz GR, Beaulieu V, Dale BA, et al. Investigation of functionally liver selective glucokinase activators for the treatment of type 2 diabetes [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 6142-6152.
- [40] Pfefferkorn JA, Guzman-Perez A, Litchfield J, et al. Discovery of (*S*)-6-(3-cyclopentyl-2-(4-(trifluoromethyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propanamido)nicotinic acid as a hepatoselective glucokinase activator clinical candidate for treating type 2 diabetes mellitus [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 1318-1333.
- [41] Oballa RM, Belair L, Black WC, et al. Development of a liver-targeted stearoyl-CoA desaturase (SCD) inhibitor (MK-8245) to establish a therapeutic window for the treatment of diabetes and dyslipidemia [J]. *J Med Chem*, 2011, 54: 5082-5096.
- [42] Feng D, Biftu T, Romero FA, et al. Discovery of MK-8722: a systemic, direct pan-activator of AMP-activated protein kinase [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9: 39-44.
- [43] Koepsell H. Multiple binding sites in organic cation transporters require sophisticated procedures to identify interactions of novel drugs [J]. *Biol Chem*, 2019, 400: 195-207.
- [44] Koepsell H, Lips K, Volk C. Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications [J]. *Pharm Res*, 2007, 24: 1227-1251.
- [45] Hendrickx R, Johansson JG, Lohmann C, et al. Identification of novel substrates and structure-activity relationship of cellular uptake mediated by human organic cation transporters 1 and 2 [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 7232-7242.
- [46] Kimura N, Okuda M, Inui K. Metformin transport by renal basolateral organic cation transporter hOCT2 [J]. *Pharm Res*, 2005, 22: 255-259.

- [47] Jung N, Lehmann C, Rubbert A, et al. Relevance of the organic cation transporters 1 and 2 for antiretroviral drug therapy in human immunodeficiency virus infection [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36: 1616-1623.
- [48] Burger H, Zoumaro-Djayoon A, Boersma AW, et al. Differential transport of platinum compounds by the human organic cation transporter hOCT2 (hSLC22A2) [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159: 898-908.
- [49] Didziapetris R, Japertas P, Avdeef A, et al. Classification analysis of P-glycoprotein substrate specificity [J]. *J Drug Target*, 2003, 11: 391-406.
- [50] Hitchcock SA. Structural modifications that alter the P-glycoprotein efflux properties of compounds [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 4877-4895.
- [51] Mealey KL. Therapeutic implications of the MDR-1 gene [J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 2004, 27: 257-264.
- [52] Alvarez M, Paull K, Monks A, et al. Generation of a drug resistance profile by quantitation of mdr-1/P-glycoprotein in the cell lines of the National Cancer Institute Anticancer Drug Screen [J]. *J Clin Invest*, 1995, 95: 2205-2214.
- [53] Stefan SM, Wiese M. Small-molecule inhibitors of multidrug resistance-associated protein 1 and related processes: a historic approach and recent advances [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39: 176-264.
- [54] Fernandes J, Gattass CR. Topological polar surface area defines substrate transport by multidrug resistance associated protein 1 (MRP1/ABCC1) [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 1214-1218.
- [55] Cole SP. Targeting multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1): past, present, and future [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014, 54: 95-117.
- [56] Lu JF, Pokharel D, Bebawy M. MRP1 and its role in anticancer drug resistance [J]. *Drug Metab Rev*, 2015, 47: 406-419.
- [57] Rosenbaum C, Rohrs S, Muller O, et al. Modulation of MRP-1-mediated multidrug resistance by indomethacin analogues [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 1179-1187.
- [58] Nakano R, Oka M, Nakamura T, et al. A leukotriene receptor antagonist, ONO-1078, modulates drug sensitivity and leukotriene C4 efflux in lung cancer cells expressing multidrug resistance protein [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 251: 307-312.
- [59] Barrand MA, Rhodes T, Center MS, et al. Chemosensitisation and drug accumulation effects of cyclosporin A, PSC-833 and verapamil in human MDR large cell lung cancer cells expressing a 190k membrane protein distinct from P-glycoprotein [J]. *Eur J Cancer*, 1993, 29A: 408-415.
- [60] Wong IL, Chan KF, Tsang KH, et al. Modulation of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1)-mediated multidrug resistance by bivalent apigenin homodimers and their derivatives [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 5311-5322.
- [61] Pellicani RZ, Stefanachi A, Niso M, et al. Potent galloyl-based selective modulators targeting multidrug resistance associated protein 1 and P-glycoprotein [J]. *J Med Chem*, 2011, 55: 424-436.
- [62] Silbermann K, Stefan SM, Elshawadfy R, et al. Identification of thienopyrimidine scaffold as an inhibitor of the ABC transport protein ABCC1 (MRP1) and related transporters using a combined virtual screening approach [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 4383-4400.
- [63] Ni Z, Bikadi Z, Rosenberg MF, et al. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) [J]. *Curr Drug Metab*, 2010, 11: 603-617.
- [64] Lee CA, O'Connor MA, Ritchie TK, et al. Breast cancer resistance protein (ABCG2) in clinical pharmacokinetics and drug interactions: practical recommendations for clinical victim and perpetrator drug-drug interaction study design [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43: 490-509.
- [65] Hira D, Terada T. BCRP/ABCG2 and high-alert medications: Biochemical, pharmacokinetic, pharmacogenetic, and clinical implications [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 147: 201-210.
- [66] Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, et al. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2009, 86: 197-203.
- [67] Westover D, Li F. New trends for overcoming ABCG2/BCRP-mediated resistance to cancer therapies [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 159.
- [68] Allen JD, van Loevezijn A, Lakhai JM, et al. Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter *in vitro* and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C [J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1: 417-425.
- [69] Krapf MK, Gallus J, Vahdati S, et al. New inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2) containing a 2,4-disubstituted pyridopyrimidine scaffold [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 3389-3408.
- [70] Pick A, Klinkhammer W, Wiese M. Specific inhibitors of the breast cancer resistance protein (BCRP) [J]. *ChemMedChem*, 2010, 5: 1498-1505.
- [71] Kohler SC, Wiese M. HM30181 derivatives as novel potent and selective inhibitors of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 3910-3921.
- [72] Li D, Sheng L, Li Y. Methods for the study of drug transporters [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 963-970.