

# 创新药物研究中的吸收、分布、代谢、排泄/毒性 (ADME/Tox.) 平台建设

杨秀伟<sup>1△</sup>, 杨晓达<sup>1</sup>, 蒲小平<sup>1</sup>, 钱忠明<sup>2</sup>, 王 夔<sup>1</sup>

(1. 北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083; 2. 香港理工大学应用生物及化学科技学系)

[关键词] 药物设计; 药代动力学; 药物毒性

[中图分类号] R914 [文献标识码] A [文章编号] 1671-167X(2004)01-0005-04

21 世纪是有史以来世界高技术研究 and 产业化进程最快速的时期。伴随全球经济一体化进程, 特别是我国作为 WTO 成员国, 传统的医药产业的发展面临前所未有的机遇、挑战和冲击, 也更加突出了科技在调整医药产业结构、提高国家经济实力乃至综合国力中的主导作用。由于新药研究与开发 (R & D) 属于高科技领域, 目前世界各国对其市场的竞争体现在高科技的投入上。回顾近 10 年新药上市情况, 新技术在新药寻找中的应用增加了被筛选化合物、扩大了筛选的靶标、提高了筛选速度、使新药的筛选向微型化、自动化、智能化迈进。尽管新药研究与开发的投入逐年增加, 但上市的一类新药却逐年在减少, 如: 世界范围 1994 年上市 44 个新药, 1998 年上市 27 个新药, 2001 年仅上市 25 个新药。在 2001 年上市的 25 个新药中, 美国有 13 个, 欧洲有 6 个, 日本有 4 个, 其他国家有 2 个。从国际规范的新药研究与开发的周期上看, 从 GLP 开始到 GCP 结束约消耗 9~14.5 年的时间, 对新药上市的要求也更高。这些都说明新药研究与开发与与时俱进, 更加规范, 更加艰难。

从创新药物研究方法上来看, 常规的方法是经药效学筛选确定化合物后, 再对其进行药物代谢动力学和安全性的逐项评价。在这些过程中所产生的各种不定参数又导致反复的结构优化。统计学数据表明, 当前只有不到 5% 的化合物通过初步的药效学筛选进入临床前研究, 其中不到 2% 成为上市药物而用于临床。失败率较高的原因中: 商业性占 5%; 动物实验毒性 (Tox.) 过大占 11%; 药效不够占 30%; 人体副作用过大占 10%; 药物的吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism)、排泄 (excretion) (简称为 ADME) 性质不佳占 39%。也就是说除了疾病的靶标研究尚需进一步完善外, 许多化合物被淘汰于其吸收、分布、代谢、排泄等药物性质 (drug-like properties) 不理想, 以及与之关联的在靶器官达不到药效浓度及其毒性问题。

从实践中人们认识到, 解决失败率较高这一问题的思路之一是把 ADME/Tox. 放在新药筛选和发现阶段进行研究; 对候选物进行 ADME/Tox. 综合评价; 预测和完善化合物的最佳结构。“将毒理学研究和筛选整合到新药发展的早期阶段”的“发现毒理学”已开始形成, 并向成熟化发展。药物毒理学筛选技术已经成为新药发现中的一个非常重要的内容, 在很大程度上可以认为是新药开发成功中的一个瓶颈。因此, 预测毒理学和替代试验 (3Rs) 是目前毒理学的重要方向和热点。一个共识的观点是: 良好的 ADME/Tox. 性质也是具有发展前景的先导化合物所必备的。ADME/Tox. 正逐渐成为当代药物发现策略的最重要的部分之一。

伴随当代化学和基因组以及蛋白质组、糖组科学的发展, 今天药物发现 (筛选、设计和开发) 模式发生了革命性变化。传统的模式已发展为: (1) 基于疾病发生或发展的机制和途径选择干预的方案和药物的作用靶点; (2) 基于药物分子 (或先导化合物) 和靶分子结合或作用的化学机制, 设计/合成/筛选更加高效和高特异性的新药物; (3) 药物的吸收和代谢等药物动力学性质也一并考虑在新药的设计/合成/筛选因素之中; (4) 大规模平行实验 (高通量) 技术的应用; (5) 计算机辅助设计技术应用于药物发现的各步实践之中; (6) 药物趋向个体化设计, 以适应人类基因多态性 (如单核苷酸多态性, SNPs) 引起的药物响应不同等效应。

在上述研究模式中,整体水平的 ADME/Tox·评价是必须的,它是衔接新药开发的桥梁。然而,细胞水平的 ADME/Tox·综合评价是一个必要的方面。它可采用人体或与人体最接近的生物材料,从而消除了动物模型和人体的巨大差异;有利于探讨药物动力学—结构的定量构效关系的特点;有高通量、节省时间、节省资金、有利于对组合代谢产物进行分析的特点。目前,已发展建立了一些公认的体外 (*in vitro*) 实验方法,如著名的小肠吸收模型——Caco-2 细胞单层模型等。此外,计算机技术在 ADME/Tox·研究中的应用飞速发展,进一步提高了对人体内药物生物利用度和代谢过程的预测能力。

药物的 ADME/Tox·研究与学科建设已开始融合。药物的 ADME/Tox·是生物药剂学和药理学的重要内容,并正在成为药物化学(包括天然药物化学)和毒理学学科的组成部分。此外,由于药物的 ADME/Tox·过程涉及复杂的化学现象,尤其是药物小分子与生物大分子的相互作用,因此,药物的 ADME/Tox·研究为化学生物学的发展注入了新的活力和学科发展方向,也给化学学科的发展带来了新的发展机遇。

ADME/Tox·对中药的现代研究有重要的意义。虽然传统中医药的疗效是毋庸置疑的,但由于一些方法学和中草药的复杂性等问题,目前还没有建立评价中药药效的现代医学模型。然而,用 ADME/Tox·方法建立符合现代医学规范的用药方式是可以先行一步的。此外,ADME/Tox·也为中医药的创新发现在方法学上提供了新的思路和工作途径。

在我国,药物的 ADME/Tox·研究工作的开展非常有限。但由于它具备巨大的发展前景和可带来潜在的社会及经济效益,人们对开展这项工作的意义达成了共识:(1)如同在国外一样,ADME/Tox·研究为我国现代新药发现和制药工业的发展提供研究基础和筛选/评价等技术支持。(2)由于药物的 ADME/Tox·研究揭示药物吸收和代谢的化学机制,因此是从天然产物(如中药)中寻找具有发展前景先导化合物工作的重要方面。图 1 简示了基于中药的 ADME/Tox·研究,开发始创性药物的一条思路。(3)复方中药是我国传统医药的瑰宝。化学成分的复杂性和作用环节及作用靶点的多重性是复方中药的特点。应用 ADME/Tox·高通量研究方法或许是实现复方中药解析研究突破的一个方案。(4)无机药物和矿物中药是我国传统医药的特色之一。无机药物具有活性和毒性的两面性。ADME/Tox·研究可能是解决金属化合物的毒性和实现理想的药物生物利用度,从而合理利用无机药物的一个途径。天然药物、中药复方药物和无机药物研究的 ADME/Tox·综合评价系统思路可简示如图 2。

因此,在我国开展“创新药物研究中的 ADME/Tox·平台建设”意义重大,尤其是对于解决“中药复杂体系中的重大科学问题”。为此,在国家高技术研究发展计划(863 计划)之“新药筛选及关键技术研究”课题中,及时列入“与筛选、分离一体化的 ADME/Tox·研究平台”,目标包括:建立药物的人肠内细菌转化模型、人源 Caco-2 细胞单层/MDCK 细胞单层培养和化合物跨膜转运模型、肝微粒体和 7701 肝细胞系代谢模型、跨血脑屏障模型。在此基础上,建立药物的 ADME/Tox·综合评价系统。

近年来,在中药成分结构的人肠内细菌生物转化研究中,我们发现人肠内细菌可转化哈巴苷(harpagoside)为珊瑚碱 B(aucubinine B)和新的化合物哈巴苷代谢素-I(harpagometabolin-I)、哈巴苷代谢素-II(harpagometabolin-II)<sup>[1]</sup>;可转化华蟾毒精(cinobufagin)为去酰基华蟾毒精(deacetylcinobufagin);羟基华蟾毒精可转化为去酰基羟基华蟾毒精(deacetylcinobufotalin)<sup>[2]</sup>;七叶树皂苷-I a(escin-I a)可转化为异七叶树皂苷-I a(isoescin-I a)、去酰基七叶树皂苷-I(desacylescin-I)、21 $\beta$ -O-巴豆酰基原七叶树皂苷元(21 $\beta$ -O-tigloylprotoaescigenin)和原七叶树皂苷元(protoaescigenin)<sup>[3]</sup>;穿心莲内酯(andrographolide)可转化为 14-去氧-11,12-脱氢穿心莲内酯(14-desoxy-11,12-dehydroandrographolide);穿心莲新苷(neo-andrographolide)可转化为 3,14-脱氧穿心莲内酯(3,14-deoxyandrographolide)和 3,14-脱氧-11,12-脱氢穿心莲内酯(3,14-deoxy-11,12-dehydroandrographolide);山奈酚-3,7- $\alpha$ -L-二鼠李糖苷(kaempferol-3,7- $\alpha$ -L-dirhamnoside)可转化为山奈酚-3- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(kaempferol-3- $\alpha$ -L-rhamnoside)、山奈酚-7- $\alpha$ -L-鼠李糖苷(kaempferol-7- $\alpha$ -L-rhamnoside)、山奈酚(kaempferol)和对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid);罗汉果醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷-24-O- $[\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1-6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷](mogrol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside-24-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1-6)- $\beta$ -D-glucopyranoside])可转

化为罗汉果醇(mogrol)。这些研究结果说明中药成分中的糖苷类化合物是“前药”,非糖苷类化合物也可经人肠内细菌对其结构进行修饰或生物转化。与原形化合物相比,转化产物活性消失,如华蟾毒精的转化产物去酰基华蟾毒精和羟基华蟾毒精的转化产物去酰基羟基华蟾毒精,原形药物有很强的抑制肿瘤细胞生长的作用,转化产物无活性<sup>[2]</sup>;有的转化产物产生生物活性,如七叶树皂苷-Ia的转化产物去酰基七叶树皂苷-I 对小鼠肉瘤 S-180、肝癌、肺癌等肿瘤细胞的生长都显示出抑制活性<sup>[3]</sup>。

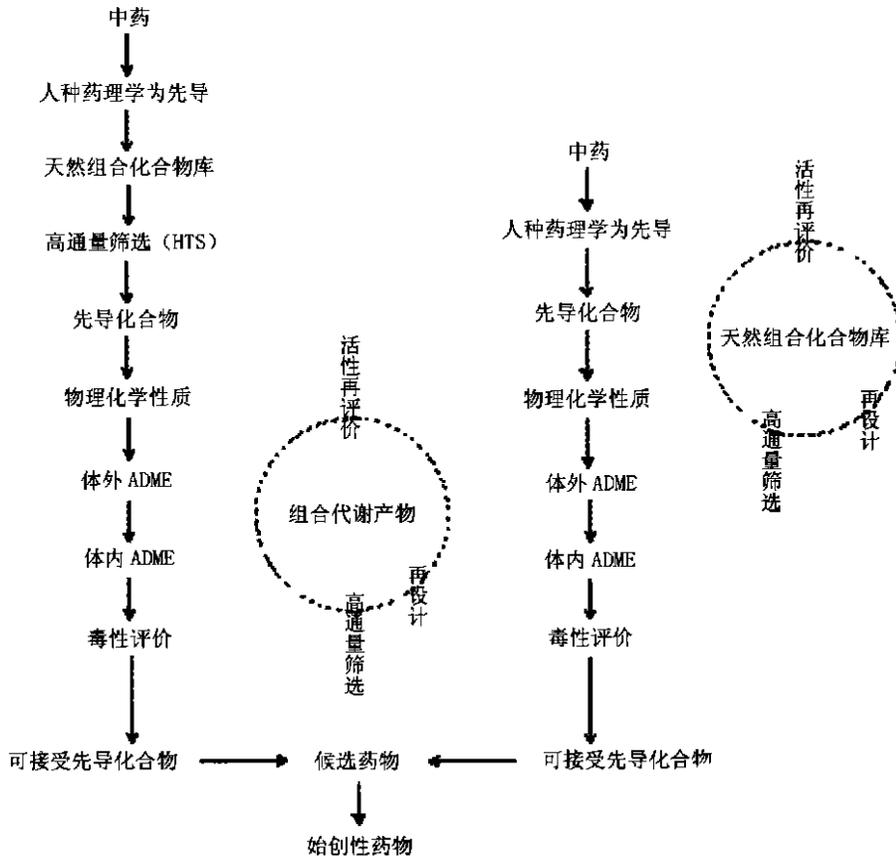


图1 从中药开发始创性药物的思路

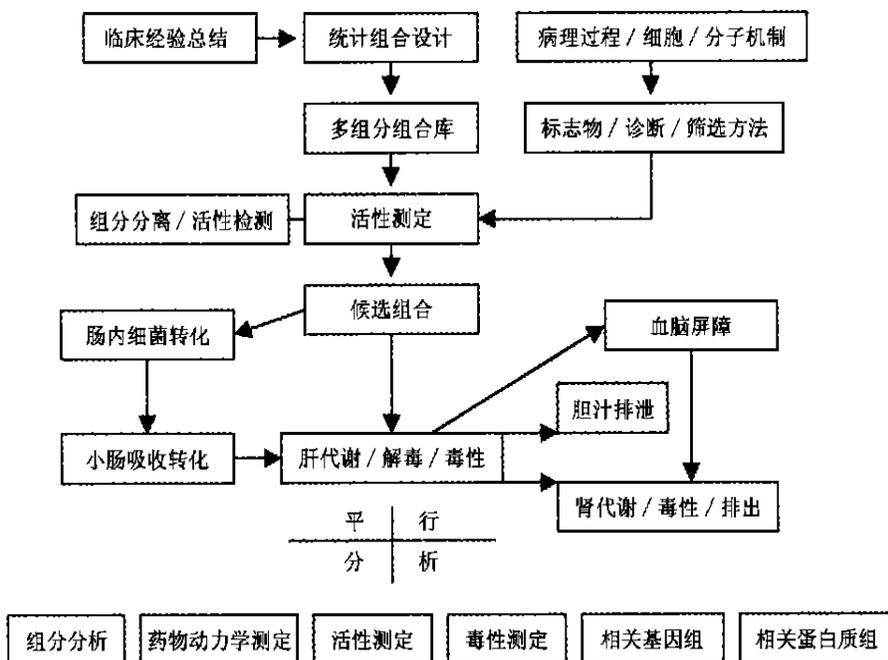


图2 天然药物、中药复方药物和无机药物研究的ADME/Tox.综合评价系统思路

抗糖尿病钒化合物近年来受到了人们的重视,其中麦芽酚氧钒[VO(ma)<sub>2</sub>,bis(maltolato)-oxovanadium(IV)]已经开始了临床研究<sup>[4-7]</sup>。含钒矿泉水被证明可以预防糖尿病的发生。针对钒化合物的积累、毒性和低吸收能力等问题,我们用Caco-2和人红细胞膜等模型系统研究了一类有机和无机钒化合物的吸收和毒性问题<sup>[5-7]</sup>。结果发现钒化合物的吸收通过扩散机制进行,而其转运机制与配体分子的性质有关,分别以细胞之间连接的转运和穿越细胞胞质的转运两种方式吸收。钒化合物的脂溶性决定两种机制在实际药物吸收中作用的比例。化合物的稳定性和有机配体的代谢能力不同使钒化合物的生物利用度和毒性表现出较大的差异。钒化合物对肠道的刺激和毒性与其对细胞骨架蛋白F-actin的作用有关,而钒化合物的吸收和细胞积累能力分别与其药效和毒性十分符合,这些为新的钒化合物的设计提供了依据。此外,我们发现钒化合物刺激细胞线粒体的呼吸功能,并在低剂量时对线粒体有保护作用,为揭示钒化合物的作用机制提供了新的线索。

在金属离子生物活性和毒理研究<sup>[8-23]</sup>上,我们应用人红细胞为模型研究了稀土离子及络合物的跨膜细胞吸收机制和对细胞的作用。结果表明稀土离子可能通过多种途径进入细胞:稀土溶胶通过胞饮和吞噬作用进入细胞;中性稀土络合物通过被动扩散机制进入细胞;稀土柠檬酸络合物则通过细胞膜的阴离子通道进入细胞;稀土阳离子则可通过自助扩散和一定条件下Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交换途径。此外,稀土离子可以与转铁蛋白结合,通过Tf-TfR系统跨膜转运。研究也发现镧系离子在一些条件下可以诱导细胞膜形成可逆性的孔洞结构或特定Domain结构,形成对不同大小分子的细胞膜通透性,产生一些新的效应,包括:(1)生物大分子Hb分子的细胞膜通透;(2)一些阴离子内流和红细胞对染料分子的装载;(3)质粒对大肠杆菌和K562细胞的高效转染;(4)胰岛素经大鼠肺黏膜层的药物吸收增加等。我们正据此发展新的、方法简单、条件温和和可逆性好的质粒转化技术。此技术可望应用于:(1)蛋白质/多肽/DNA向细菌和哺乳动物细胞的转染;(2)靶基因向干细胞的转染;(3)基因治疗法;(4)药物吸收促进剂。

## 参考文献

- 1 Yang XW, Zou CT, Hattori M. Harpagometabolins I and II, two new metabolites from harpagoside by human intestinal bacteria [J]. *Chin Chem Lett*, 2000, 11:779-782
- 2 杨秀伟,邢增涛,崔景荣,等. 华蟾毒精和羟基华蟾毒精的人肠内细菌代谢研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2001, 33:199-204
- 3 杨秀伟,赵静,崔景荣,等. 七叶树皂苷-1a的人肠内细菌生物转化产物及其抗肿瘤活性研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2004, 36:31-35
- 4 杨晓改,袁兰,王夔,等. 用Caco-2细胞单层模型比较两种具类胰岛素效应的氧钒配合物的小肠吸收能力[J]. *科学通报*, 2002, 47:1550-1555
- 5 杨晓改,杨晓达,王夔. 钒化合物生物效应的化学基础和药用前景[J]. *化学进展*, 2002, 14:279-286
- 6 杨晓达,杨晓改. 无机物的ADME/Tox研究[J]. *化学进展*, 2002, 14:273-278
- 7 杨晓改,杨晓达,王夔,等. 钒化合物与胰岛素的结合扰动胰岛素的构象和聚集状态[J]. *自然科学进展*, 2002, 12:1031-1036
- 8 Wang K, Cheng Y, Yang X, et al. Cell responses to lanthanides and potential pharmacological actions of lanthanides [J]. *Metal Ions in Biological Systems*, 2003, 40:707-751
- 9 吴刚,李荣昌,乔秀云,等. 人红细胞摄入Cd<sup>2+</sup>离子的动力学和机理[J]. *无机化学学报*, 2001, 16:279-286
- 10 Cheng Y, Liu M, Li Y, et al. Formation of domain structure of erythrocyte membrane in Wistar rat fed with CeCl<sub>3</sub>[J]. *Chinese Sci Bull*, 2000, 45:426-429
- 11 Cheng Y, Shen Z, Zhang Q, et al. Lanthanides' enhancing absorption of insulin and reduction of blood glucose of rat by pulmonary administration [J]. *Chinese Sci Bull*, 2000, 45:604-608
- 12 Cheng Y, Huo QH, Lu JF, et al. The transport kinetics of lanthanide species in a single erythrocyte probed by confocal laser scanning microscopy [J]. *JBIC*, 1999, 4:447-456
- 13 Cheng Y, Liu MZ, Li RC, et al. Gadolinium induces domain and pore formation of human erythrocyte membrane: an atomic force microscopic study [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1421:249-260
- 14 程驿,刘崑子,李友,等. 经消化道吸收的氯化钾诱导Wistar大鼠红细胞膜“畴”结构的形成[J]. *科学通报*, 1999, 44:1520-1523
- 15 程驿,李友,姚惠英,等. Gd络阴离子进入人红细胞并影响Cl<sup>-</sup>内流的机制[J]. *中国稀土学报*, 1999, 17:54-59
- 16 程驿,沈赞聪,张强,等. 稀土离子促进胰岛素经大鼠肺部吸收及降血糖效应[J]. *科学通报*, 1999, 44:2393-2397
- 17 Wang K, Li RC, Cheng Y, et al. Lanthanide the future drugs [J]. *Coord Chem Rev*, 1999, 190-192:297-308
- 18 Cheng Y, Lin HK, Lu JF, et al. The events relating to lanthanide ions enhanced permeability of human erythrocyte membrane: binding, conformational change, phase transition, perforation and ion transport [J]. *Chem-Biol Interact*, 1999, 121:267-289
- 19 程驿,刘崑子,李友,等. CeCl<sub>3</sub>灌胃时大鼠红细胞对Ce的摄入和红细胞膜通透性的改变[J]. *自然科学进展*, 1999, 9:512-518
- 20 Cheng Y, Chen BW, Lu JF, et al. The reaction of lanthanide ions with n-doxyl stearic acids and its utilization for the ESR study on the permeability of lipid bilayer of erythrocyte membrane to gadolinium ions [J]. *J Inorg Biochem*, 1998, 69:1-7
- 21 程驿,李荣昌,王夔. 长期LaCl<sub>3</sub>饲养后大鼠红细胞对La的摄入以及胞内Ca, K, Na水平的变化[J]. *中国稀土学报*, 1999, 17:37-40
- 22 Cheng Y, Yang XD, Chen BW, et al. Cellular uptake and response to lanthanides, proceeding of the 2<sup>nd</sup> Sino-Dutch Workshop on environmental behaviour and ecotoxicology of REEs and heavy metals. Delft [C]. Netherlands: The Netherlands Organization of Applied Science, Institute of Environmental Sciences, Ene Research and Process Innovation (TND-MEP), 1997. 1-13
- 23 孙洪业,杨姿萍,王小燕,等. 人红细胞摄入稀土柠檬酸化合物的研究[J]. *北京医科大学学报*, 1995, 27:317-318

(2003-09-09 收稿)

(本文编辑:任英慧)