

2003

2003 药理学进展

药理学进展

主编 苏定冯 缪朝玉 王永铭



人民卫生出版社

2003

药理学进展

名誉主编:金正均 张均田 林志彬

主 编:苏定冯 缪朝玉 王永铭

编 者:(以姓氏笔画为序)

丁 健	山添康	马小超	王海学	王振纲	王本祥	王树歧
王银叶	王京杭	冯长根	李 端	李晓辉	李金恒	李福川
李 玲	李金恒	李 锦	刘耕陶	刘光慧	刘 霞	刘兆平
刘慧青	刘建国	齐若梅	陈建国	陈 冰	陈执中	陈 红
张永祥	张岫美	张 磊	张海港	张毅翔	张海林	苏定冯
苏瑞斌	杨宝峰	杨 胜	沈甫明	杜肖娜	吴葆杰	余凌虹
辛现良	何 冰	芮耀诚	林志彬	林莉萍	金 晶	周文霞
赵洪波	郭晓宁	郭联庆	郭军华	胥 彬	姚 泰	袁文俊
耿美玉	莫正纪	唐希灿	黄伟达	常建杰	屠曾宏	章海燕
福田胜行	缪朝玉	潘家祐	魏尔清			

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

2003 药理学进展/苏定冯等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2003. 5

ISBN 7-117-05517-0

I. 2… II. 苏… III. 药理学-进展-文集
IV. R96-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 042338 号

2003

药 理 学 进 展

主 编: 苏定冯 缪朝玉 王永铭

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京通县永乐印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 22

字 数: 501 千字

版 次: 2003 年 7 月第 1 版 2003 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05517-0/R · 5518

定 价: 38.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

《药理学进展(2003)》在各位作者和出版社编辑的共同努力下,及时地与读者见面了。与前几年一样,本书的内容以最近一年来的一些学术会议的大会邀请报告为主。这些会议包括:中国药理学会第八次全国代表大会暨全国药理学术会议(2002年11月,上海),中国生理学会2002年生理学新进展研讨会(2002年5月,上海),全国防治脑血管病和高血压药物基础与临床学术研讨会(2002年5月,济南)等。

中国药理学会第八次全国代表大会暨全国药理学术会议于2002年11月24~27日在上海召开。近500名药理学工作者和各界人士参加了大会。在林志彬理事长的带领下,有20名国内外著名药理学家作了大会报告。另有专题报告13篇,论文报告43篇。会议交流的部分内容在本书中得到反映。为了迎接2006年第15届国际药理学大会在北京召开,在做好会议筹备工作的同时,要把我国的药理学研究提高一个层次。为此,大会向与会者提出了5点建议:一讲科研意义,不要做“上不着天,下不着地”的工作;二讲科研水平,不能以开发代替科研;三讲长短结合,不能浮躁、不能急功近利,也不能眼高手低,办法只有加倍努力;四讲集中力量,要集中力量,不要全面开花,要持之以恒,不要打一枪换一个地方;五讲源头创新,不要一哄而上,不要低水平重复。我们在本书的前言中引出这段话,意在祝愿我国的药理学研究到2006年有一个大的进展。缩短与欧美国家药理学研究的差距。并希望本书也能为实现这个愿望起一点推波助澜的作用。

今年的《药理学进展》刊有34篇文章,涉及了药理学及其相关学科的方方面面,可谓内容丰富、精彩。除了经典的药理学研究进展之外,有关分

子生物学在药理学中的应用,新技术的介绍等在本书中占有一定的篇幅。对难治疾病(如艾滋病、脂肪性肝炎)的治疗进展作了介绍,对难研究的中药复方的有效成分的研究方法也有介绍。

感谢各位作者的努力和出版社的支持,感谢各位读者对本书的兴趣。

主 编

2003年5月于上海

目 录

阿片功能调节剂	李锦 苏瑞斌	1
细胞色素 P450 与药物安全性评价	王海学 李端	6
抗血栓药的新靶点—因子 Xa 及其抑制剂	刘光慧 王银叶	17
细胞色素 P450 1A2 的研究进展	马小超 屠曾宏	25
抗肿瘤药物药理研究的新进展	胥彬	37
H ⁺ -门控性阳离子通道: 结构与功能	陈建国	44
中枢神经系统创新药物筛选和评价	魏尔清	52
苦药的药理作用及临床应用研究进展	冯长根 刘霞	60
缺血性脑卒中与炎症	芮耀诚	65
一氧化氮 (NO) 的研究进展	齐若梅 王振纲 王树歧	74
淋巴细胞膜钾和钙通道及其功能	杨胜 周文霞 张永祥	78
磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP ₂)对内向整流 性钾离子通道的调节作用	杜肖娜 张海林	89
半胱氨酰白三烯受体分子生物学及药理学 特点	张磊 魏尔清	97
基因芯片技术检测突变及其在合理用药中 的应用前景	李金恒 陈冰	105
中药复方有效成分研究的新方法	王本祥	120
脑内血管紧张素的功能	姚泰	138
左卡尼汀 (L-carnitine) 的药理学研究及其 临床应用新进展	金晶 莫正纪	150
表面等离子共振技术在新药研发中的 应用	常建杰 陈执中 黄伟达 潘家祜	156
抗心律失常药物作用最佳靶点的研究	杨宝峰	164
COX-X? ——环氧酶研究现况与前景展望	张海港 李晓辉	168
急性冠状动脉综合征的药物防治研究进展	吴葆杰 张岫美 刘兆平	176
葡萄柚汁中细胞色素 P450 的 抑制物	郭联庆 李金恒 福田 腾行 山添 康	184
糖尿病心脏损害及其对缺血的耐受性变化	陈红	196
脂肪性肝炎的发病机制和治疗进展	余凌虹 刘耕陶	207

硫酸多糖类化合物抗 HIV 研究进展	耿美玉	李福川	辛现良	213	
尾加压素 II 及其心血管效应的研究进展	李玲	袁文俊	苏定冯	224	
受体酪氨酸激酶介导的信号转导通路	张毅翔	郭晓宁	林莉萍	丁健	235
蛋白酪氨酸激酶抑制剂的研究进展	张毅翔	郭晓宁	林莉萍	丁健	246
脑内胆碱能系统对 β -淀粉样肽前体蛋白					
代谢的调节		章海燕	唐希灿	267	
缺血性脑卒中的抗氧化治疗		赵洪波	林志彬	281	
肾素-血管紧张素系统与脑血管疾病	刘慧青	张岫美	吴葆杰	294	
抗心肌缺血和再灌注损伤药物研究进展	王京杭	刘建国	沈甫明	303	
主动脉是血压不稳定导致器官损伤的					
敏感器官吗?		缪朝玉	苏定冯	310	
蛋白质芯片质谱指纹图谱在生命科学中					
的应用及探索		何冰	郭军华	319	

阿片功能调节剂

李 锦 苏瑞斌

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

阿片类药物到目前为止仍然是在临床上无法用其它药物替代的强效镇痛药。长期以来,人们一直认为在急性给药时,阿片类药物通过激活阿片受体而引起镇痛、呼吸抑制、缩瞳和体温降低等一系列药理作用^[1]。当大剂量慢性给药时,阿片受体被长时间激活,造成中枢和外周阿片作用系统在受体前、受体上和受体后信号转导系统等不同水平上发生代偿性适应,从而引起耐受和依赖^[2]。近年来的研究结果表明,阿片类药物的急性作用如镇痛,和慢性作用如耐受和依赖,不但和阿片作用系统代偿性适应相关,而且还和众多的非阿片作用系统在阿片长时间作用下发生代偿性适应相关^[3]。在这些非阿片作用系统当中,以兴奋性氨基酸作用系统关系最为重要^[4,5]。

在这些有关阿片引起急性和慢性药理作用与非阿片作用系统密切相关认识的基础上,近10年的药理学研究积累表明,许多与阿片受体无直接作用的药物对阿片功能具有明显的调节作用。表现为升高或降低痛阈、增强或抑制阿片类药物镇痛、对抗阿片耐受和躯体依赖。这些药理学实验结果使我们想到在基础研究领域,通过对这些药物作用机制的研究将对进一步明了痛阈的形成、阿片镇痛原理、阿片耐受和依赖的机制,探讨在临床上解决阿片耐受和依赖问题具有非常重要的意义;在应用研究方面,以这些药物为先导化合物有可能研发出无致耐受和依赖潜能的强效镇痛剂,有可能研发出新型海洛因脱毒剂和抗海洛因复吸药。可以预见此方面的研究工作必将在今后的一段时间里成为阿片基础和应用研究工作的热点。因此我们认为有必要从药理学角度对这类药物加以整体探讨和定义。为便于分析和表述,我们暂称这类药物为阿片功能调节剂。

从逻辑上讲,阿片功能调节剂这一命题应该包括一切对阿片功能具有影响的药物,如阿片受体阻断剂、阿片受体反相激动剂等等。但这里所叙及的阿片功能调节剂是特指那些,对阿片受体本身无作用却对阿片功能具有重要影响的药物。根据这个定义和近年来的文献报道,阿片功能调节剂至少应包括咪唑啉受体内源性配体胍丁胺^[6]、NMDA受体阻断剂^[7,8]、NOS抑制剂^[9]、钙通道阻断剂^[10]、某些内源性非阿片肽等等。这些药物的共同特点是:①对阿片功能的调节作用与阿片受体无关;②通过激活或阻断各自受体,进一步在受体前神经递质释放和/或受体后不同信号转导水平上影响阿片功能;③影响基础痛阈;④影响阿片类药物镇痛;⑤对抗阿片类药物耐受和依赖。根据目前所知阿片功能调节剂作用特点的不同可将其分为两大类:抑制性阿片功能调节剂(inhibitory opioid function modulator)和双向阿片功能调节剂(biphasic opioid function modulator)。

抑制性阿片功能调节剂作用特点是在与阿片受体本身无直接相互作用的前提下抑制阿片主要功能。这类药物主要包括一些内源性生物活性肽,如神经肽 FF、Try-MIF-样肽^[11,12]和 CCK^[13,14]等。这类物质对阿片功能的抑制作用主要表现为:①降低基础痛阈;②拮抗外源性阿片类药物镇痛作用;③抑制阿片类药物耐受和躯体依赖。

双向阿片功能调节剂作用特点是在与阿片受体本身无直接相互作用的前提下双向调节阿片主要功能。主要包括咪唑啉受体内源性配体胍丁胺、NMDA 受体阻断剂、NOS 抑制剂、钙通道阻断剂等等。这类药物对阿片功能的双向调节作用主要表现为:①具有或强或弱的镇痛作用;②增强阿片类药物镇痛;③对抗阿片类药物耐受和躯体依赖;④在不同水平上影响 NMDA 受体的功能。本文将分别以胍丁胺和神经肽 FF 为例较为详细地介绍双向阿片功能调节剂和抑制性阿片功能调节剂的药理学特点及其可能的作用机制。

(一) 阿片功能双向调节剂胍丁胺

胍丁胺是一种内源性生物活性物质,在生物体内是在 L-精氨酸脱羧酶作用下由 L-精氨酸脱羧产生的一种多胺类物质。现认为胍丁胺是咪唑啉受体的内源性配体,是一种神经递质和/或神经调质^[15]。外源性胍丁胺具有明显的生物学活性,包括神经元保护,刺激胰岛素分泌,促进肾脏水钠排泄,抑制血管内皮细胞过度增生,抗抑郁等等^[16]。

在 1996 年,国外实验室首先报道了胍丁胺能增强吗啡镇痛,对抗吗啡耐受。在此基础上,我们花了 7 年的时间对内源性胍丁胺的生理和病理生理作用和外源性胍丁胺的药理作用及其可能的作用机制做了大量的研究工作。我率先发现内、外源性胍丁胺对痛阈的形成、阿片的药理作用具有明显的影响。

1. 外源性胍丁胺对阿片药理作用的影响

(1) 镇痛作用:胍丁胺在 0.1~62.5mg/kg 剂量范围内在热辐射甩尾等强致痛模型上无镇痛作用,然而,在小鼠醋酸扭体和大鼠 4% 盐水等弱的化学和物理刺激致痛模型中胍丁胺表现出明显的镇痛作用,且呈现良好的剂量相关性。ED₅₀ 分别为 10.1 和 14.1mg/kg。

(2) 增强吗啡镇痛:胍丁胺在小鼠和大鼠两种动物,热辐射甩尾、55℃ 热板等多种实验模型上均能表现出显著增强吗啡镇痛。和对照组相比,使等剂量吗啡(2.5~5mg/kg)可能最大镇痛百分率增大 2~3 倍,使等效吗啡的用量(ED₅₀)较对照组减小 2 倍以上。但是,胍丁胺不能显著延长吗啡镇痛有效作用时间^[17]。

(3) 抗阿片耐受:在多种耐受实验模型上,胍丁胺对吗啡或羟考酮小鼠或大鼠耐受具有剂量相关性的预防和/或治疗作用。和单一吗啡或羟考酮处理组相比,胍丁胺和吗啡或胍丁胺和羟考酮共同处理组吗啡或羟考酮镇痛 ED₅₀ 较单一处理组明显减小,和吗啡或羟考酮急性作用无显著差别。

(4) 抗躯体依赖:在多种躯体依赖实验模型上,胍丁胺对吗啡或羟考酮长期处理小鼠或大鼠所引起的躯体依赖具有明显的、剂量相关性的治疗和预防作用。在足够大的剂量下(40mg/kg,口服)能大部分或完全消除吗啡或羟考酮引起的躯体依赖,使小鼠戒断跳跃发生百分率、纳洛酮催促后 15 分钟内跳跃次数较盐水组显著降低;使大鼠戒

断分数较对照组减少 80% 以上^[18]。

(5) 吗啡能浓度依赖性地抑制电场刺激引起的离体豚鼠回肠纵肌收缩。用 100 $\mu\text{mol/L}$ 吗啡预处理离体豚鼠回肠纵肌 8 小时能引起标本对吗啡抑制作用的耐受和依赖。耐受的表现为吗啡抑制电场刺激离体豚鼠回肠纵肌收缩的 IC_{50} 较处理前增大 30 倍；依赖的表现是纳洛酮能引起吗啡处理组离体豚鼠回肠纵肌发生收缩，而等浓度下纳洛酮不能引起对照组标本发生收缩反应。胍丁胺能浓度依赖性地明显抑制此耐受和依赖的发生^[19]。

(6) 作用机制：胍丁胺对阿片药理作用的影响机制主要和下列途径有关。①在受体前抑制纳洛酮催促引起的吗啡依赖大鼠不同脑区脑片单胺类神经递质释放^[20]；②胍丁胺不能直接和阿片受体结合，亦不能影响长期阿片处理所引起的阿片受体下调和对激动剂亲和力下降^[21]；③阻断电压依赖性钙通道^[22]；④直接和间接抑制一氧化氮核酶的活性^[23]；⑤抑制影响阿片受体信号转导通路在长期接触阿片类药物时的代偿性适应过程^[24]；⑥抑制 NMDA 受体的功能^[25]。

2. 内源性胍丁胺对痛阈形成和阿片功能的影响 我们分别以选择性咪唑啉受体阻断剂咪唑克生和左旋精氨酸脱羧酶（胍丁胺合成酶）抗体为工具，研究了内源性胍丁胺在痛阈形成过程中的作用及其对吗啡药理作用的影响。在多种小鼠致痛模型上发现咪唑克生和胍丁胺合成酶抗体均能增加动物对伤害性刺激的敏感性，使痛阈降低；均能对抗吗啡镇痛作用，增强吗啡致耐受和躯体依赖的潜能^[26,27]。这些实验结果提示，内源性胍丁胺参加了痛阈的形成过程；和外源性胍丁胺一样能双向调节吗啡的药理作用。此外，更为令人们感兴趣的是内源性胍丁胺及其受体似乎在中枢神经系统内形成了一个尚不为人们所知的双相阿片功能调节系统。

(二) 阿片功能拮抗剂神经肽 FF

神经肽 FF (neuropeptide FF) 最早是在牛脑和脊髓中发现的。现已构成了一个家族，包括神经肽 FF、神经肽 AF (neuropeptide AF) 和哺乳动物 FMRF 酰胺样肽 (mammalian FMRF amide-like peptide) 等。曾有人把它们称作吗啡调节肽 (morphine regulating peptide)。目前大多数学者认为神经肽 FF 是一类新的神经递质和/或神经调质。

脑室注射神经肽 FF 能短时间降低大鼠和小鼠基础痛阈；在离体和整体实验中均发现神经肽 FF 能对抗吗啡和 DANMGO (μ 受体选择性激动剂) 的镇痛作用，抑制阿片耐受；以神经肽 FF 拮抗剂或特异性抗体为工具观察了内源性神经肽 FF 对痛阈、阿片镇痛和耐受的影响，结果发现神经肽 FF 拮抗剂或特异性抗体能提高痛阈，增强吗啡镇痛，对抗吗啡耐受，提示内源性神经肽 FF 和外源性神经肽 FF 对阿片药理作用有相同的影响。然而，内、外源性神经肽 FF 对阿片依赖的作用不一致。有人发现脑室注射给神经肽 FF 能抑制慢性阿片处理动物所引起的躯体依赖^[28]。

(三) 研究阿片功能调节剂的重要意义

阿片功能调节剂概念的提出具有重要的理论价值和实际意义。①在理论上为阿片耐受和依赖机制研究开辟了新的领域。此类药物对阿片耐受和依赖的重要调节作用提示阿

片类药物耐受和依赖的发生是由于一个极为复杂的网络调节过程共同发生了变化造成的,并非单一的机制。因此在研究阿片耐受和依赖机制时不应该把注意力单纯集中在阿片作用系统上,而应该扩大关注领域和研究范围;②在应用上,阿片功能调节剂概念的提出为研究无耐受和依赖的新型强效镇痛药、研究全新作用机制的阿片脱毒药和防复发药开辟了新的领域。

在此对导师秦伯益教授在本文撰写中所给予的指导谨表衷心的感谢。

本文曾在中国药理学会第十届全国神经药理学术会议上报告

参 考 文 献

1. Li J, Chen C, Huang P, Liu-Chen LY. Inverse agonist up-regulates the constitutively active D3. 49 (164) Q mutant of the rat μ -opioid receptor by stabilizing the structure and blocking constitutive internalization and down-regulation. *Mol Pharmacol* 2001 Nov; 60(5): 1064-75
2. 李锦. 阿片功能调节剂. 中国药理学会通讯 2002; 19(1): 14-15
3. Nestler EJ., Aghajanian GK. Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 1997; 274(3): 58-63
4. Bernalov AY, Zvartau EE, Beardsley PM. Opioid-NMDA receptor interactions may clarify conditioned (associative) components of opioid analgesic tolerance. *Neurosci Biobehav Rev* 2001 Jun; 25(4): 343-53
5. Jianren Mao. NMDA and opioid receptors: their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Res Rev* 1999; 30: 289-304
6. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Analgesic effect of agmatine and its enhancement on morphine analgesia in mice and rats. *Acta Pharmacol Sinica* 1999; 20: 81-5
7. Parsons CG. NMDA receptors as targets for drug action in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2001 Oct 19; 429(1-3): 71-8
8. Bernalov AY, Zvartau EE, Beardsley PM. Opioid-NMDA receptor interactions may clarify conditioned (associative) components of opioid analgesic tolerance. *Neurosci Biobehav Rev* 2001 Jun; 25(4): 343-53
9. Cappendi JK, SLT Vries DR, Dzoljic MR. Inhibitory effect of NOS inhibitor on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine dependent mice. *Neurosci Lett* 1993; 162: 79-100
10. Prado WA. Involvement of calcium in pain and antinociception. *Braz J Med Biol Res* 2001 Apr; 34(4): 449-61
11. Yang HYT, Fratta W, Majane EA, et al. Isolation, sequencing, and pharmacological characterization of two brain neuropeptides that modulate the action of morphine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7757-61
12. Panula P, Aarnisalo AA, Wasowicz K. Neuropeptide FF, a mammalian neuropeptide with multiple functions. *Prog Neurobio* 1996; 48: 461-87
13. Han JS. CCK-8; a negative feedback control mechanism for opioid analgesia. *Pro Brain Res* 1995; 105: 263-71
14. Pu SF, Zhuang HX, Han JS. CCK-8 antagonizes morphine analgesia in nucleus accumbens of the rat via the CCK-B receptor. *Brain Res* 1994; 657: 159-64
15. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine; an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science* 1994; 263(18): 966-69
16. Galea E, Regunathan S, Eliopoulos U, Feinstein DL, Reis DJ. Inhibition of mammalian NOS by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J* 1996; 316: 247-9

17. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Analgesic effect of agmatine and its enhancement on morphine analgesia in mice and rats. *Acta Pharmacol Sinica* 1999; 20: 81-5
18. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Effects of agmatine on tolerance to and substance dependence on morphine in mice and rats. *Acta Pharmacol Sinica* 1999; 20: 232-7
19. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Inhibitory effects of agmatine on tolerance to and substance dependence on morphine in guinea pig ileum in vitro. *Acta Pharmacol Sinica* 1998; 19: 564-9
20. 李锦, 李昕, 裴钢, 秦伯益. 胍丁胺抑制中枢不同脑区单胺递质释放. *解放军药学报* 1999; 15(1): 2-7
21. 李锦, 李昕, 裴钢, 秦伯益. 胍丁胺抗大鼠身体依赖作用与阿片受体的关系. *中国药物依赖性杂志* 1999; 8(3): 178-181
22. Weng Xie-Chuan, Gai Xia-Dan, Zheng Jian-Quan, Li Jin. Agmatine blocks the voltage-gated calcium channel in cultured rat hippocampal neurons. *Acta Pharmacol Sinica* 2002; in press
23. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Correlation between agmatine's inhibition of morphine withdrawal and its inhibition of nitric oxide synthase. *Acta Pharmacol Sinica* 1999; 20: 375-9
24. Li J, Li X, Pei G, Qin BY. Influence of agmatine in adaptation of cAMP message transduction system of opiate receptors. *Acta Pharmacol Sinica* 1999; 20: 592-6
25. Yang XC, Reis DJ. Agmatine selectively blocks the N-methyl-D-aspartate subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *JPET* 1999; 288: 544-49
26. Su RB, Li J, Li X, Qin BY. Influence of idazoxan on analgesia, tolerance, and physical dependence of morphine in mice and rats in *vivo*. *Acta Pharmacol Sinica* 2000; 21: 1011-5
27. 苏瑞斌, 刘茵, 路新强, 李锦. 左旋精氨酸和左旋精氨酸脱羧酶抗体对阿片耐受和依赖的影响. *药物依赖性杂志* 2002
28. 李锦, 秦伯益. 神经肽 FF 及其抗阿片作用的研究进展. *中国药物依赖性杂志* 2000; 9(1): 1-4

细胞色素 P450 与药物安全性评价

王海学 李 端

(复旦大学药学院药理学教研室, 上海 200032)

细胞色素 P450 (cytochrome 450s, CYP450s) 是一组含血红素的蛋白质, 由结构和功能相关的基因超家族 (superfamily) 编码的同工酶组成的超家族酶系。绝大多数药物和外源性化合物在体内需要经过 CYP450 代谢, 产生去毒或解毒的作用, 但有时也会产生毒性作用^[1]。不同种属的动物均表达 CYP450, 如细菌、真菌、植物、鱼和哺乳类动物。在哺乳类动物, CYP450 主要位于滑面内质网上, 具有线粒体电子转移功能。目前, 已发现有上千种 CYP450, 包括在不同种属表达的 CYP450。CYP450 的命名主要是根据其基因序列的相似性, 序列相似性 $\geq 40\%$ 为一大家族, 序列 $\geq 55\%$ 为一亚家族。

CYP450 介导的催化作用过程为: ①药物与 $\text{FeO} (3+)$ 的结合; ②高结合力的铁-氧中间产物生成; ③电子的转移; ④ $\text{Fe} (2+)$ 还原产物的生成。反应类型有氧化、还原、去饱和、酯解、环化、醛解、脱水、偶联、脂肪酸重排和前列腺素羟化等^[2]。CYP450 介导的药物代谢可能会产生:

(1) 活性氧 (reactive oxygen species, ROS): 活性氧是药物经 CYP450 氧化的高反应性活性中间体, 能够对细胞产生毒性作用, 导致组织坏死、器官衰竭、动脉粥样硬化、不孕、发育缺陷、早衰、恶性突变等。ROS 还可引起炎症性疾病如肝炎、肾炎、肌炎、硬皮病、红斑狼疮、多系统器官衰竭等。ROS 可通过与谷胱甘肽、抗氧化剂、维生素 C、维生素 E、维生素 A 等在谷胱甘肽还原酶 (GSH reductase), GSH 过氧化物酶 (GSH peroxidase), 过氧化氢酶和超氧化歧化酶的氧化还原作用下被清除^[3]。

(2) 自由基的形成: CYP450 介导的氧化反应还可以引发自由基的生成, 这是药物代谢引起毒性的另一种机制。药物通过氧化作用产生单电子还原产物, 然后还原分子氧生成过氧化物。过氧化物是有毒性作用的, 超氧化歧化酶可以对抗和防止这种毒性的发生。在有金属离子存在时, 如铁离子, 可通过 Haber-Weiss 反应生成羟自由基。由于铁是蛋白质的重要成分, 如果铁参与了此类反应, 将会导致脂质、蛋白质和核酸等生物大分子氧化, 产生毒性反应。当然, 机体的防御系统如谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶、维生素 E、维生素 C 等可对抗自由基引起的这些毒性反应^[4]。

(3) 亲电性代谢物: 药物经 CYP450 催化产生的亲电性代谢物可与细胞大分子结合直接导致细胞损伤和器官毒性。代谢物与细胞大分子的结合可形成半抗原, 引起免疫系统与药物的反应, 产生过敏性症状。尤其在病理状态下解毒功能的下降会导致严重的不良反应^[5]。

下面首先介绍能够介导药物或外源性化合物毒性发生的主要 P450 亚型。至于更多

亚型的研究概况可参考其它文献或书籍^[6,7]。

(一) 诱发药物毒性产生的主要 CYP450

随着国外对 CYP450 的研究,目前 CYP450 基因家族有上千种,它们一方面参与多种药物和外源性化合物的代谢,另一方面也会介导药物潜在毒性的发生和前致癌物的激活等。特异性诱导剂或抑制剂可引起酶活性的改变,对药物应用的安全性产生重要影响。CYP450 基因家族中参与药物或外源性化合物毒性反应的酶亚型主要包括: CYP1A、CYP2Cs、CYP2E1、CYP3A 和 CYP4A。

CYP1A

该家族包括两个亚家族, CYP1A1 和 CYP1A2, 被定位在第 15 号染色体上, 分别占 CYP450 的 1% 和 13%。CYP1A 与一些已知的具有致癌性的化学物质、毒素和毒性药物的代谢激活有关。CYP1A1 基因的转录是通过反相作用得以调控, 所以, CYP1A1 的活性只有在某些特异性诱导剂如 TCDD (Tetrachlorodibenzodioxin) 诱导后表达水平较高, 其诱导机制与芳香烃 (Ah) 受体有关。CYP1A1 能代谢多环芳香化合物。转录因子 (NFI/CTF) 可激活 CYP1A1 的增强子, 促进与 DNA 分子的结合, 产生氧化应激反应^[8]。芳香烃 (Ah) 受体可诱导 CYP1A1 的基因活性, 增加 CYP1A1 介导的药物毒性^[9]。CYP1A2 主要在肝中表达, 芳香烃受体 (AhR) 可高度诱导其表达水平。毒性药物经 CYP1A2 代谢可生成致癌代谢物或者引起氧化应激反应。CYP1A2 可被多种底物如环境污染物二恶英, 苯并 α -二萜诱导。多种因素可调控该酶基因的激活及介导的毒性反应。抑制 CYP1A2 活性可以减弱其毒性。CYP1A2 的诱导也可增加对乙酰氨基酚的毒性。吸烟, 饮酒均可导致 CYP1A2 诱导, 因此, 用药时要注意^[10]。

有趣的是, CYP1A1 诱导具有表型多态性。研究发现在读码框、内含子和 5' 端可产生突变。肺癌病人肝代谢酶 CYP1A1 基因是诱导的。这种诱导性在高加索人群中已得到证实, 并且形成的 DNA 加合物与 CYP1A2 基因的诱导水平相关。随着对 CYP1A1 基因多态性位点的识别, 其诱导或抑制的分子机制的理解, 将有可能阐明药物经 CYP1A1 代谢产生毒性的机制^[11]。

CYP2A6

CYP2A6 也是一种能参与药物代谢, 同时又介导药物毒性产生的一种 CYP450^[12]。它参与一些前致癌物的活化, 包括黄曲霉素 B1 (aflatoxin B1)、4-(ψ -甲基亚硝胺)-1-(3-pyridyl)-1-丁酮 (4-(ψ -methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK)^[13]。该酶受苯巴比妥类药物诱导。可卡因在动物和人体证明均易产生肝毒性, 并且毒性与其给药剂量及其代谢产物的生成量有关。可卡因单剂量给药后 24h, 肝中总 P450 含量降低, 但 CYP2A6 活性 (香豆素 7-羟化酶和睾酮 15 α -羟化酶) 增加, 并出现明显的肝细胞坏死。连续给药 5 天导致 CYP1A1/2, 2A4/5, 2C_x 和 2E1 活性降低。给药 5 天后, CYP2A6 活性增加, 但并不增加可卡因的代谢, 却可导致出现急性肝毒性^[14]。

CYP2Cs

CYP2Cs 是人体 P450 的一个重要家族, 参与约 20% 药物的体内代谢。它包括 CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 和 CYP2C18。其中, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 有重要

临床应用价值。CYP2Cs 代谢内源性物质如花生四烯酸 (arachidonic acid)。CYP2Cs 具有遗传多态性。其中最典型的是 CYP2C19。高加索 (Caucasians) 人群中 CYP2C19 的慢代谢者 (poor metabolizers, PMs) 占 3% ~ 5%。非裔美国人群的比例与此相似, 而亚洲人为 12% ~ 100%。CYP2Cs 遗传多态性会影响抗惊厥药美芬妥英 (mephenytoin)、质子泵抑制剂 (proton pump inhibitors) 如奥美拉唑 (omeprazole)、抗焦虑剂地西泮 (diazepam)、抗抑郁药、抗疟药如氯胍 (proguanil) 等的药理作用和安全性。质子泵抑制剂在 PM 中更有效, 但地西泮在 PM 中易引起毒性。CYP2C9 在高加索人群中的遗传多态性只有 1/250, 它可代谢多种药物, 如抗凝血药 (anticoagulant) 华法林 (warfarin)、抗糖尿病药 (antidiabetic agents) 甲苯磺丁脲 (tolbutamide)、抗惊厥药 (anticonvulsants) 苯妥英 (phenytoin) 和非甾体类抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs)。这种罕见的多态性也会引起严重的不良反应。华法林在 PM 中可出现严重出血, 甚至威胁生命。苯妥英在 PM 中可产生严重毒性。有病例报道, 服用苯妥英的病人合用噻氯匹定后出现不愿活动, 食欲不振等不适症状。经测定体内的苯妥英浓度高达 43.6 $\mu\text{g/ml}$ 。减少苯妥英给药剂量, 症状减弱直至消失。当停用噻氯匹定后, 又可以服用正常剂量的美芬妥英而不出现毒性症状^[15]。近年证明 CYP2C8 也存在遗传多态性, 如对紫杉醇 taxol (paclitaxel) 的代谢, 在 PM 人群中易产生毒性^[16]。

CYP2E1

CYP2E1 主要催化烃类化合物 (多数为卤代烃) 如烷烃、烯烃和炔烃的代谢, 代谢生成物具有毒性或致癌性。CYP2E1 酶活性的稳定表达是一个复杂的调控程序。该酶活性的调控包括转录激活, 转录后 mRNA 水平的增加, mRNA 的稳定性, 蛋白降解的减少等因素的作用。诱导剂的化学特性决定 CYP2E1 的诱导水平。另外, 实验动物的年龄、营养、激素水平和性别也可以影响 CYP2E1 的诱导。乙醇对 2E1 的诱导可增加乙醛的产生, 同时形成蛋白加合物, 产生 ROS, 导致抗体生成, 酶灭活, DNA 修复功能降低, 减少氧的利用, 耗竭谷胱甘肽, 介导自由基生成, 脂质过氧化, 从而导致毒性发生。补充谷胱甘肽可预防这种毒性的发生^[17-19]。

乙醇及其类似物对 CYP2E1 的诱导, 还可增加卤代反应代谢生成物的毒性。饮酒会增加诱导 CYP2E1, 导致对工业试剂、麻醉药及其它处方药的毒性的敏感性增加^[20]。

CYP3A

CYP3A 是一种重要的 CYP450 的酶系, 它在肝脏及肠道中含量丰富。CYP3A 占成人肝脏总 CYP450 的 25%, 也是肠道中重要的 P450 酶。CYP3A 在药物代谢中起重要作用, 临床约 60% 的药物包括尼非地平、环孢菌素、咪哒唑仑等经 CYP3A 代谢。CYP3A 也催化许多内源性物质的代谢如睾酮和可的松的 6 β -羟化代谢。CYP3A 活性的高低影响患者对许多药物的治疗效果及毒性反应和因环境污染物致病的危险性。

CYP3A 的调控位点主要位于 5' 端, 其中某些转录调控因子结合位点与 CYP3A 在组织中的表达有关。5' 端有两个特殊结构 NFSE (P450NF specific element) 与 HFLaSE (P450HFLA specific element) 分别为 CYP3A4 和 CYP3A7 特有, 可能与其在成人及胚胎肝脏中的特异性表达有关。

CYP3A 可激活黄曲霉素 B, 使其生成一种致癌物, 导致 P53 基因突变。CYP3A4 活

性的个体差异可能是导致黄曲霉毒素诱发肝癌的重要因素^[21]。肝癌影响 CYP3A4 活性,通过免疫组化方法发现在原发性肝癌和继发性肝癌中, CYP3A4 产生的印迹减弱,说明 CYP3A4 在肝癌中表达降低。CYP3A 还参与了表鬼臼毒素的代谢,将其代谢生成表鬼臼毒素儿茶酚和表鬼臼毒素醌代谢产物,这些代谢产物可损伤 DNA^[22]。

CYP4A

CYP4 家族包括 11 个亚家族 (CYP4A-CYP4M), 其中对 CYP4A 研究的报道较多。CYP4A 在毒理学中有重要意义。它被多种化合物诱导包括增塑剂 (plasticizer)、除草剂 (herbicide) 等。虽然也知其参与内源性脂肪酸氧化,但目前还不清楚哪些外源物经它进行代谢^[23]。CYP4A 催化花生四烯酸的代谢产物对肾脏、角膜、脑组织的血流有重要影响^[24]。过氧化物酶体增殖受体 (peroxisomal proliferator receptor) 可诱导该酶,与该受体结合的药物包括雌激素、甲状腺激素、糖皮质激素、维甲酸等。过多的暴露这些药物可导致肝细胞癌的发生^[25]。

(二) 应用 CYP450 进行药物安全性评价需要考虑的因素

药物经 CYP450 代谢的潜在毒性与 CYP450 活性的表达水平有关。能够影响 CYP450 活性的因素将对药物安全性评价有重要指导意义。这些因素包括:

遗传多态性

人体 CYP450s 已经证明具有多态性,其中某些亚型确定具有癌症和毒性作用。约有 30% 的药物代谢产生的毒性与 CYP450s 多态性有关。CYP450 的多态性,可影响药物诱发毒性的敏感程度。目前研究与毒性相关的多态性基因有 CYP1A1, CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1^[26]。如 CYP2D6 和 CYP2C19 在人群中存在 CYP450 多态性,代谢药物时可出现两种类型:快代谢和慢代谢 (extensive metabolizer, EM 和 poor metabolizer, PM)。慢代谢者 CYP2D6 基因缺陷可能是因为突变产生的。CYP2D6 和 CYP2C19 缺陷会使服用治疗剂量药物后不能够获得足够的疗效或显示更大的药物作用或发生严重的不良反应^[27]。

遗传多态性主要使治疗指数低的药物产生严重的不良反应,尤其在住院病人中发生较多。美国每年因药物不良反应造成死亡人数达 100 000,因药物不良反应引起的死亡率居第 4 到 6 位。其中多数与药物代谢的个体差异有关。预测基因多态性可以减少 10% ~ 20% 的死亡事件。因此有必要重视 CYP450 基因多态性在药物不良反应中的价值^[28]。

种族的影响

烯烃类 (Olefinic) 化合物因其多聚体性质而被广泛使用。其中的双键经 P450 氧化后生成环氧化物,这种环氧化物能够与 DNA 反应导致生物大分子生物学特性的改变,而环氧化物本身可通过环氧化物水解酶 (epoxide hydrolase enzymes EHs),或通过与谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 与谷胱甘肽作用生成结合物而被灭活。环氧化物的生成和水解处于一种平衡关系。CYP450 的分布和环氧化物的灭活可影响其潜在的毒性。CYP450 和环氧化物水解酶 (epoxide hydrolase enzymes, EHs) 分布在细胞核周围的粗面内质网上。GST 位于细胞浆中。种属差异会影响酶的活性以及潜在的

毒性。小鼠的环氧化物水解酶活性低,因而毒性较大。大鼠体内环氧化物水解酶活性高,环氧化物的水解较快,因而毒性较小。灵长类动物毒性最小的^[29]。

动物实验信息在理论上可外推到人体。事实上,因种属差异造成动物实验仅能获得有关药物代谢和药效的有限信息。近年来分子生物学的发展已经对遗传引起的人体和动物代谢酶的差异进行了定量,并认为猴子是最好的实验动物。含有人体代谢酶的细胞株也是很好的工具,可用于评价药物在人体代谢和毒性。例如用 CYP3A7 细胞株研究药物在肝脏的代谢^[30]。

性别

CYP3A4 活性在女性高于男性。其它 CYP450 (CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1) 男性高于女性。在女性药物代谢又受绝经期、妊娠、月经和吸烟、饮酒等影响。因此常产生性别相关的毒性^[31]。

雌性大鼠是用来进行药物性别代谢和毒性研究的主要实验动物,常观察到药物和化合物在大鼠体内存在性别相关的毒性。如 CYP2C11 主要在雄性大鼠体内存在,而 CYP2C12 和 CYP3A2 主要在雌性大鼠肝脏中表达。生长激素,甲状腺激素,性激素能够调控这些酶的活性,从而影响药物的代谢和毒性发生^[32]。

用大鼠进行性别差异研究的结果外推至哺乳类动物包括人体时可能夸大 CYP450 的代谢差异。经过 8000 万年的进化,大鼠和人体的药物代谢酶明显不同,如 CYP2C 主要存在于人体。动物的研究结果只能是有助于对人体的研究,如有助于对人群中个体对药物敏感性的判断。但经 CYP1A 和 CYP2E 代谢的药物动物实验结果可外推到人体,因为其结果与人体极为相似。另一方面,人体中代谢酶的性别差异并不明显,更说明用动物研究结果外推人体明显有不妥之处。人体中药物代谢的差异及个体差异多由遗传和环境因素引起而非性别差异引起。研究药物对人体的潜在毒性,一方面通过动物实验,如采用离体肝细胞培养技术和肝切片对药物代谢引起的毒性和药物间的不良反应进行评价,另一方面还需阐明性别或个体间的差异,才能保证药物的安全使用^[33]。

年龄因素

CYP450 酶活性还受年龄的影响。假设将年龄分为五个阶段:新生儿 < 4 周,婴儿 < 12 月,儿童 < 19 岁,青年/成年 20 ~ 64 岁,和老年人 > 65 岁。用探针药研究 CYP450 酶活性,包括:咖啡因和茶碱 (CYP1A2)、甲苯磺丁脲、美芬妥英和布洛芬 (CYP2C9)、阿米替林和去甲替林 (CYP2C19)、对乙酰氨基酚 (CYP2E1) 和利多卡因、咪达唑仑、特非那定 (3A3/4)。研究结果证明, CYP450 活性受年龄因素影响,表现为两种模式:①出生时活性很低,然后开始增加,到青年成年时最高,最后在老年时降低。如 CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A3/4;②出生后活性快速增加,在青年和成年期保持在一个稳定水平,然后在老年时降低并有加快趋势。如 CYP2E1。对 P450 活性随年龄改变的了解,将有助于预知和防止药物不良反应^[34]。

特别指出的是,药物和所有外来物均可通过胎盘屏障进入胚胎,从而在胚胎和胎儿体内中导致不良反应的产生,如死胎、发育缺陷、功能障碍等。这些药物的毒性产生均是通过药物代谢酶的催化产生,其中以 CYP450 为主。人体胎儿和胚胎存在大约有 20 种与毒性有关的 CYP450,如 CYP1A1、CYP1B1、CYP2C8、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4、