

## 酯酶的药物代谢与种属差异研究进展

李鑫, 王文艳\*

(烟台大学新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心 分子药理和药物评价教育部重点实验室, 山东 烟台 264005)

**[摘要]** 羧酸酯酶 (CES)、芳基乙酰胺脱乙酰酶 (AADAC)、丁酰胆碱酯酶 (BCHE) 和对氧磷酶 (PON) 是人体内重要的酯酶, 参与药物在体内的代谢、活化解毒, 在前药的设计中也起到非常重要的作用。围绕人体内广泛参与药物代谢的酯酶, 对其在体内的组织分布、底物和抑制剂的特异性及种属差异研究进展进行综述, 为临床前动物模型选择、新药的设计和开发提供参考。

**[关键词]** 羧酸酯酶; 芳基乙酰胺脱乙酰酶; 丁酰胆碱酯酶; 对氧磷酶; 组织分布; 种属差异

**[中图分类号]** R969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2021) 10-0784-09

## Research Progress of Esterases in Drug Metabolism and Species Difference

LI Xin, WANG Wenyan

(School of Pharmacy, Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Delivery System and Biotech Drugs in Universities of Shandong, Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation of Ministry of Education, Yantai University, Yantai 264005, China)

**[Abstract]** Carboxylesterase, arylacetamide deacetylase, butyrylcholinesterase, paraoxonase are important esterases in the human body, participating in the metabolism, activation and detoxification of drugs in the body, thus with a very important role in the design of prodrugs. This paper focuses on the esterases that are widely involved in drug metabolism in human body, and summarizes their tissue distribution *in vivo*, substrate and inhibitor and species differences, aiming to provide reference for preclinical selection of animal models, drugs design and development of new drugs.

**[Key words]** carboxylesterase; arylacetamide deacetylase; butyrylcholinesterase; paraoxonase; tissue distribution; species difference

酯酶参与药物的活化和解毒过程, 与药物的代谢密切相关, 在体内发挥重要作用, 也是前药设计主要考虑的因素。催化酯类、硫酯类和酰胺类药物水解的酯酶可分为 3 类: A-酯酶、B-酯酶和 C-酯酶。能够有效水解有机磷 [ 如对氧磷、甲氟磷酸异丙酯 (沙林) 和甲氟磷酸频哪酯 (梭曼) ] 的酯酶, 被归类为 A-酯酶, 对氧磷酶 (paraoxonase, PON) 就是典型的 A-酯酶。被有机磷、氨基甲酸酯和有机硫化物抑制的酯酶被归类为 B-酯酶, 羧酸酯酶 (carboxylesterase, CES)、芳基乙酰胺脱乙酰酶 (arylacetamide deacetylase, AADAC)、丁酰胆碱酯酶 (butyrylcholinesterase, BCHE) 等为 B-酯酶<sup>[1]</sup>。不水解有机磷酯类并受其抑制的酯酶被归类为 C-酯酶, 羧甲烯丁烯羟酸内酯酶就是 C-酯酶<sup>[2]</sup>。

2008—2018 年, 美国食品和药品管理局 (FDA) 已批准上市 30 个前药, 占批准上市的小分子化合物的 12% 以上<sup>[3]</sup>。2020 年, FDA 批准 3 个前药, 约占批准上市的小分子药物的 8%, 目前仍然有 10 个以上的前药正处于临床试验阶段, 如 NUC-1031、OBI-3424、BSM-582664 等<sup>[4]</sup>。这些已上市的前药中 50% 以上均是酯类前药, FDA 申报资料中报道约 18 个前药经酯酶水解发挥活性, 包括 CES、BCHE 以及其他的非特异性酯酶。如 2015 年上市药物艾沙康唑硫酸酯 (esaconazole sulfate), 主要通过血液中的 BCHE 水解为艾沙康唑发挥抗真菌作用, 2017 年 FDA 批准上市的 telotristat etiprate 是羧酸酯类前药, 羧基乙酯化目的是增加脂溶性来提高体内的吸收。对于 uridine triacetate、fesoterodine、gabapentin enacarbil 这些经非特异性酯酶水解发挥作用的前药, 目前尚不知具体参与代谢的酶, 更加迫切地需要了解体内参与药物水解的酯酶, 以探究联合用药时发生药物间相互作用的可能性。

接受日期: 2021-04-21

\* 通信作者: 王文艳, 副教授, 硕士生导师;

研究方向: 体内药物分析与药物代谢动力学研究;

Tel: 13863804578; E-mail: ytuwwy163.com

本文主要关注 CES、AADAC、BCHE、PON 在药物代谢中的应用, 对这几种酯酶的组织分布、底物及特异性抑制剂和种属差异进行总结, 以期对相关研究提供参考。

## 1 酯酶的组织分布

酯酶的独特组织分布为设计用于组织靶向的前药提供了巨大的机会, 因此有必要了解体内酯酶的分布, 下文对体内主要的酯酶进行分述。

### 1.1 羧酸酯酶

CES 是一类重要的丝氨酸水解酶家族, 根据遗传序列哺乳动物 CES 可以分为 6 个家族: CES1、CES2、CES3、CES4、CES5 和 CES6<sup>[5]</sup>。在人体中, CES1、CES2 mRNA 在肝中高度表达; CES1 mRNA 在心、胃、睾丸、肾、脾和结肠中表达量较少; CES2 mRNA 在小肠中高度表达, 在心、结肠中也有表达; CES3 在脑、肝、结肠处表达; 而对 CES4、CES5 在人体内的研究较少。其中 CES1、CES2 在药物代谢中起到重要的作用。CES 存在于胞浆中<sup>[6]</sup>, CES1 由 567 个氨基酸组成, 相对分子质量为 62 521, 以单体、三聚体、六聚体形式存在, 主要在肝中表达, 小肠中几乎不表达。CES2 由 559 个氨基酸组成, 相对分子质量为 61 807, 以单体形式存在, 主要在小肠中表达, 在肝、肾中也有表达<sup>[7]</sup>。

### 1.2 芳基乙酰胺脱乙酰酶

AADAC 是一种微粒体丝氨酸酯酶, 相对分子质量约 45 000, 存在于内质网的腔体侧<sup>[8]</sup>, 在人体内主要在肝和胃肠道表达, 膀胱中也有表达, 在肺和肾微粒体中不表达<sup>[9-10]</sup>。

### 1.3 丁酰胆碱酯酶

BCHE 的 mRNA 在人肝中表达量最高, 其次是肺、脑、心、骨骼肌、胰腺和肾<sup>[11]</sup>; 其蛋白主要位于粗面内质网。BCHE 在肝中以单体或二聚体的形式存在。此外, BCHE 还存在于血浆中, 是由在肝中合成的 BCHE 分泌到血液中, 在血浆中以四聚体的形式存在, 大部分的 BCHE 以单体形式存在<sup>[12]</sup>。

### 1.4 对氧磷酶

PON 家族至少有 3 个成员, 包括 PON1、PON2 和 PON3。PON1 是 PON 家族中发现最早, 研究最

多的成员, PON1 定位于内质网的腔侧, 并在脂质转移中起作用<sup>[13]</sup>, PON1 mRNA 仅分布于成人的肾、肝、结肠以及胎儿的肝, PON2 在人体内表达于除血浆外的组织, PON2 mRNA 更广泛地分布在成人的脑、心、肾、脾、肝、结肠、肺、小肠、肌肉、胃、睾丸、胎盘、唾液、甲状腺、肾上腺、胰腺、皮肤和骨髓, 以及胎儿的大脑和肝中<sup>[14]</sup>。PON1 和 PON3 主要在肝中合成并分泌到血浆中, 与高密度脂蛋白紧密结合<sup>[15]</sup>。PON 基因产物血清 PON 在有机磷神经毒剂解毒中起重要作用, 其基因多态性与脑卒中、动脉粥样硬化、冠心病及 2 型糖尿病发病等有密切关系<sup>[16]</sup>。

## 2 酯酶的底物

了解酯酶的底物, 从底物的化学结构出发, 对不同酯酶底物的结构进行规律总结, 为前药设计提供合理依据。表 1 总结了酯酶的代表性底物及药代动力学参数, 下面对不同酯酶水解的底物进行分述。

### 2.1 羧酸酯酶

CES 主要催化酯键、酰胺键、硫酯键等的水解。CES1 偏向水解含有较小乙醇基和较大酰基的底物如氯吡格雷、哌替啶、奥司他韦及几种血管紧张素转换酶抑制剂如咪达普利、依那普利、特莫卡普利等, 还包括海洛因与可卡因这类毒品<sup>[23]</sup>。同时 CES1 参与生理和病理过程, 例如在脂质代谢、胆固醇稳态和脂肪肝疾病等中负责水解大量内源性酯如胆固醇酯和三酰甘油。CES2 偏向于水解含有较大乙醇基和较小酰基的底物如伊立替康、普拉格雷、卡培他滨、氟他胺、普鲁卡因等<sup>[17]</sup>。CES2 在肝脏中的表达和功能与几种代谢性疾病密切相关, 如肥胖症和非酒精性脂肪性肝炎, 负责水解三酰甘油和二酰甘油。CES 的大部分底物是前药, 因此要考虑参与水解的酶的亚型。

### 2.2 芳基乙酰胺脱乙酰酶

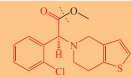
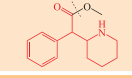
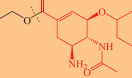
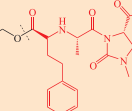
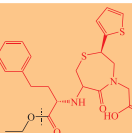
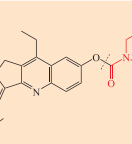
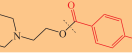
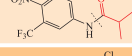
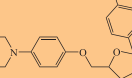
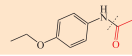
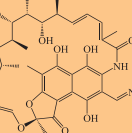
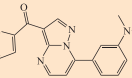
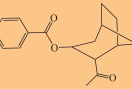
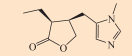

Kurokawa 等<sup>[24]</sup>研究发现, 普拉格雷水解不仅是由人 CES 催化的, 而且还由 AADAC 催化。因为 CES1 和 CES2 在犬肠中不表达, 所以在犬的肠中 AADAC 主要参与水解。因此 AADAC 是药物开发中需要考虑的一种重要酯酶。从 AADAC 底物的

化学结构来看 AADAC 倾向于水解较大醇基和较小酰基的底物, 如氟他胺<sup>[17]</sup>、酮康唑、非那西丁<sup>[20]</sup>、利福平<sup>[21]</sup>和茛地普隆等。Fukami 等<sup>[25]</sup>比较了人

AADAC 和 CES 的底物特异性发现, 氟他胺、二乙酸荧光素可以由 AADAC 和 CES2 共同水解, 表明 AADAC 与 CES2 的底物有一定的重叠。

表 1 酯酶代表性底物及药代动力学参数

Table 1 Representative substrates and kinetic parameters of esterase

酶	底物	水解位点*	水解产物	$K_m/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$V_{\max}/\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	参考文献
CES1	氯吡格雷		氯吡格雷羧酸衍生物(非活性)	58	$6.1\pm 0.3$	[17]
CES1	哌醋甲酯		哌醋甲酸(非活性)	L 构型: $40.1\pm 5.4$ D 构型: $126.2\pm 1.20$	$3.2\pm 0.1$	[18]
CES1	奥司他韦		奥司他韦羧酸盐(活性)	$2\ 300\pm 100$	$54.8\pm 2.0$	[17]
CES1	咪达普利		咪达普利拉(活性)	245	$193.3\pm 9.5$	[17]
CES1	替莫普利		替莫普利拉(活性)	$576\pm 33.9$	-	[17]
CES2	伊立替康		SN-38(活性)	$23.3\pm 5.3$	$0.001\ 2\pm 0.000\ 1$	[17]
CES2	普鲁卡因		对氨基苯甲酸	$800\pm 200$	1.8	[17]
AADAC	氟他胺		FLU-1	$778\pm 122$	$0.6\pm 0.1$	[17]
AADAC	酮康唑		-	$6.93\pm 0.105$	$0.035\ 3\pm 0.0008\ 6$	[19]
AADAC	非那西丁		氨基苯乙醚(非活性)	$1\ 820\pm 20$	$6.03\pm 0.14$	[20]
AADAC	利福平		25-去乙酰利福平(活性)	$162.9\pm 19.2$	$0.140\ 7\pm 0.000\ 8$	[20]
AADAC	茛地普隆		-	$45.4\pm 2.3$	$374\pm 7.8$	[20]
BCHE	可卡因		-	4.5	-	[21]
PON1	毛果芸香碱		-	-	$13.4\pm 2.2$	[22]
PON1	乙酸苯酯		苯酚、乙酸	-	$4.43\pm 0.28$	[22]

\*: 红色代表含酰基部分, 黑色代表含醇基部分

### 2.3 丁酰胆碱酯酶

BCHE 以非常快的速率水解丁酰胆碱, 还可水解丙酰胆碱、乙酰胆碱、苯甲酰胆碱、琥珀酰胆碱<sup>[26]</sup>, 米拉贝隆、可卡因也是 BCHE 的底物。有研究者总结了经人血浆酯酶水解的临床相关化合物如伊立替康、间羟舒喘灵酯、氟司洛尔、醋酸甲基强的松龙等均可由 BCHE 水解<sup>[27]</sup>。

### 2.4 对氧磷酶

沙林是最为熟知的 PON 底物, 毛果芸香碱<sup>[22]</sup>也是 PON1 的底物。NM441 是新喹诺酮羧酸抗菌剂 NM394 的前药, Tougou 等<sup>[28]</sup>研究鉴定 NM441 的水解酶为大鼠血清 PON。糖皮质激素  $\gamma$ -内酯和环状碳酸酯也是 PON 的底物。有报道认为, 有机磷酸酯

和乙酸苯酯可用作 PON1 的特异性底物; 二氢香豆素是目前已报道的 PON2 底物, 酰基高丝氨酸内酯可用作 PON2 的相对特异性底物; 洛伐他汀、辛伐他汀和螺内酯可作为 PON3 的底物<sup>[29]</sup>。

## 3 酯酶的抑制剂

在样品收集、存储和分析过程中, 稳定的含酯的前药是成功开发和验证分析物浓度以进行安全性和暴露评估的生物分析检测方法的关键步骤。在方法开发阶段尽早使用酯酶抑制剂, 因此了解不同类型的酯酶抑制剂更有利于酯类前药生物样品分析方法的开发, 表 2 对酯酶的特异性抑制剂进行总结, 以下对不同类别的酯酶抑制剂进行分述。

表 2 酯酶的特异性抑制剂及 IC<sub>50</sub> 值

Table 2 Specific inhibitors of esterase and IC<sub>50</sub> values

抑制剂	酶	底物	IC <sub>50</sub> / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	研究体系	参考文献
辛伐他汀	CES1	氯吡格雷	18.3	重组 CES1	[30]
阿立哌唑	CES1	对硝基苯乙酸酯	5.7	重组 CES1	[31]
辛伐他汀	CES1	对硝基苯乙酸酯	0.76	重组 CES1A1	[32]
曲格列酮	CES1	对硝基苯乙酸酯	3.3	重组 CES1A1	[32]
替米沙坦	CES1	对硝基苯乙酸酯	0.89	重组 CES1A1	[33]
尼群地平	CES1	对硝基苯乙酸酯	3.7	重组 CES1A1	[33]
辛伐他汀	CES2	对硝基苯乙酸酯	0.78	重组 CES2	[32]
非诺贝特	CES2	对硝基苯乙酸酯	0.22	重组 CES2	[32]
地尔硫草	CES2	伊立替康	3.98	重组 CES2	[33]
维拉帕米	CES2	伊立替康	7.94	重组 CES2	[33]
替米沙坦	CES2	伊立替康	0.4±0.1	重组 CES2	[34]
长春碱	CES2	伊立替康	2.0±0.4	重组 CES2	[34]
洋地黄	CES1	利多卡因	25.8±3.7	重组 CES1	[34]
长春碱	AADAC	非那西丁	4.4±0.4	重组 AADAC	[34]
他克林	BCHE	-	0.010 8	-	[35]
新斯的明	BCHE	-	49.2±6.21	-	[36]
多奈哌齐	BCHE	-	6.41±0.34	-	[36]
班布特罗	BCHE	-	0.003 9	-	[37]

注: 以上重组酶由稳定表达 CES1/2 或 AADAC 的细胞制备

### 3.1 羧酸酯酶

CES 是丝氨酸酯酶, 因此它的酶活性可以被有机磷、二异丙基氟磷酸 (DFP)、双 (4-硝基苯基) 磷酸酯 (BNPP) 和苯甲基磺酰氟 (PMSF) 等一般的丝氨酸酯酶抑制剂所抑制。目前已报道: 替米沙坦、尼群地平、辛伐他汀可以抑制 CES1; 非诺贝特、辛伐他汀、卡维地洛、地尔硫草、毒扁豆碱、洛哌丁胺可以抑制 CES2<sup>[23]</sup>。除了以上药物对 CES 有抑

制作用外, 常用的药物赋形剂对 CES 也有抑制作用, 如十二烷基硫酸钠、聚氧乙烯氢化蓖麻油对 CES1 有抑制作用, 而吐温 20 对 CES2 有抑制作用。另外许多天然产物及结构改造物对 CES 也有抑制作用: 一些天然黄酮类化合物对 CES1 和 CES2 都有抑制作用<sup>[38-39]</sup>, 石吊兰素是 CES1 的抑制剂<sup>[40]</sup>, 光甘草定对 CES2 有强烈的抑制作用<sup>[41]</sup>; 齐墩果酸和熊果酸这 2 种五环三萜类化合物对 CES1 具有很强的抑

制作用<sup>[42]</sup>。

### 3.2 芳基乙酰胺脱乙酰酶

DFP 也是 AADAC 的抑制剂<sup>[43]</sup>。目前尚未发现 AADAC 的特异性抑制剂, 但长春碱<sup>[17]</sup>对 CES2 和 AADAC 均有抑制作用, 对 CES1 无明显抑制作用。毒扁豆碱能有效地抑制 CES2 和 AADAC, 可作为 AADAC 的特异性抑制剂。

### 3.3 丁酰胆碱酯酶

BCHE 也是丝氨酸酯酶, 可以被 DFP、PMSF 抑制, 但 BNPP 对 BCHE 的抑制效果不强。BCHE 还可以被奎尼丁、乐果与各种有机氯和氨基甲酸酯农药所抑制<sup>[26]</sup>。金丝梅、连翘叶<sup>[44]</sup>等常用中药提取物对 BCHE 也有一定的抑制作用。BCHE 具有代表性的抑制剂有四异丙基焦磷酸亚胺 (iso-OMPA)<sup>[45]</sup>、他克林<sup>[35]</sup>、溴吡斯的明、新斯的明、多奈哌齐<sup>[46]</sup>、班布特罗<sup>[47]</sup>。

### 3.4 对氧磷酶

PON 受氯化汞和 4-(羟基汞)苯甲酸钠的抑制。因为 PON 需要钙维持其活性和稳定性, 所以乙二胺四乙酸 (EDTA) 可以高度抑制 PON。目前尚没有为每个 PON 特定的抑制剂。

## 4 酯酶的种属差异

在药物开发中, 实验动物经常用于预测代谢途径并评估候选药物的毒性, 但有时药物代谢酶的物种差异导致推测在人体内的药代动力学行为困难。在人、猴、犬、兔、大鼠和小鼠中, 均存在着共同

的 BCHE 和 PON。BCHE 存在于所有物种的血浆中, 尚未报道有 PON 的组织分布中的物种差异, 故本文主要讨论了 CES 和 AADAC 的种属差异, 为临床前研究选择实验动物、预测酯类前药在人体的药代动力学提供依据。

### 4.1 羧酸酯酶

人类的 CES 主要有 6 个亚型, CES1、CES2 主要参与药物的水解, 人类 CES1 和 CES2 家族均只有一个亚型, 但在啮齿类动物中, ces1 和 ces2 家族均存在多种亚型, 表 3 为不同种属中 CES 的组织分布。在大鼠中, ces1 家族有 5 个亚型 (ces1a、ces1b、ces1c、ces1d 和 ces1f), ces2 家族有 7 个亚型 (ces2a、ces2b、ces2c、ces2d、ces2e、ces2f、ces2g); 在小鼠中, ces1 家族有 8 个亚型 (ces1a、ces1b、ces1c、ces1d、ces1e、ces1f、ces1g、ces1h), ces2 家族有 8 个亚型 (ces2a、ces2b、ces2c、ces2d、ces2e、ces2f、ces2g、ces2h)<sup>[5]</sup>。在食蟹猴中, 有 3 个 ces1 亚型 (ces1a、ces1b 和 ces1c), 3 个 ces2 亚型 (ces2a、ces2b 和 ces2c)。在大鼠肝中 ces1 的表达高于 ces2, 这与人类很相近<sup>[48]</sup>。然而食蟹猴 ces1a mRNA 在肝中的表达水平比 ces1b 高 19 倍, ces2a mRNA 在肝中表达水平比 ces2b 高 56 倍, 但 ces2c 在肝中不表达, 在空肠和肾中表达<sup>[49]</sup>。在大鼠小肠中 ces1 与 ces2 均有表达, 而人小肠不表达 CES1, 犬小肠内无 ces。此外, ces1 在大鼠肾中表达, 在小鼠肾中高表达, CES1 在人肾中不表达。

表 3 不同种属羧酸酯酶组织分布

Table 3 Tissue distribution of carboxylesterase in different species

物种	羧酸酯酶组织分布					
	肝		小肠		肾	
人	CES1	CES2	-	CES2	-	CES2
犬	ces1	ces2	-	-	ces1	ces2
大鼠	ces1c、ces1e、ces1f	ces2a ces2c ces2e	ces1e ces1f	ces2a ces2c ces2h	ces1e ces1f	ces2g
小鼠	ces1c、ces1d、ces1e、ces1f、ces1g	ces2a ces2c ces2e	ces1d、ces1e、ces1f、ces1g	ces2a、cesb、ces2c、ces2e、ces2g	ces1d、ces1e、ces1f、ces1g	ces2c
食蟹猴	ces1a ces1b	ces2a ces2b	ces	ces2	-	ces2c

Rudakova 等<sup>[50]</sup> 研究人、大鼠、小鼠血浆中的酯酶活性发现, 人血浆中胆碱酯酶活性最高, CES 活性可以忽略不计, 但大鼠、小鼠血浆中 ces 活性最高, 且小鼠 ces 活性高于大鼠, 而犬血浆中缺乏 ces<sup>[44]</sup>, 从血浆中酯酶活性与种类来看, 犬的血浆更接近于人<sup>[51]</sup>。在大多数实验动物中, ces2 主要在肠中表达, 猴小肠中表达 ces1 和 ces2; 人、大鼠、小鼠小肠中只表达 ces2, 但酶的表达量有差异, 比格犬小肠中无 ces<sup>[52]</sup>。Igawa 等<sup>[53]</sup> 研究食蟹猴与人肠道水解酶的活性差异发现, 食蟹猴中肠水解对普萘洛尔衍生物显示对映选择性水解, 猴肠道 ces2 具有对映选择性, 选择猴作为实验动物来推测前药在人体肠道内的水解可能是不准确的, 这种情况下可以通过同源性建模和对接模拟来预测底物可被 CES2 水解的程度, 以提升对药物代谢的预测能力。然而采用 Caco-2 细胞评价药物在小肠的吸收能力时, 由于 Caco-2 细胞主要表达 CES1, 与人肠道表达 CES2 相反, 在评价经 CES 代谢的前药时其结果可能是不准确的, 对此早期研究人员采用在 Caco-2 细胞中添加 BNPP 抑制 CES 来评价前药的吸收能力, 但此种方法不适用于高通量筛选。目前研究人员已建立了具有与人小肠相似的低表达 CES1 的新型 Caco-2 来评价前药渗透性<sup>[54-55]</sup>, 这将更加准确反映前药在肠道的渗透性。Nishimuta 等<sup>[56]</sup> 研究几种前药的清除率时发现, 在所研究的物种(猴、犬、大鼠)中, 霉酚酸酯和替莫卡普利在猴肝细胞中的水解与人肝细胞最相似, 大鼠与人的差别最大。对于低清除率的前药, 使用肝细胞来预测水解速率比较准确; 对于高清除率的前药, 使用肝 S9 数据来预测可以减少差异。

抗血小板药物维卡格雷处于临床开发阶段, 经过 CES 水解后再经细胞色素(CYP)酶代谢为活性代谢物, 研究发现其第一步水解主要由肠道酯酶 CES2 介导, Qiu 等<sup>[57]</sup> 研究维卡格雷在犬和大鼠体内的药代动力学发现, 灌胃给药后, 维卡格雷经水解后生成 2-氧代氯吡格雷, 由于人和大鼠在胃肠道具有相似的 CES2, 人肠中活性代谢产物的产生可能与大鼠最相似。BMS-936561( $\alpha$ CD70\_MED-A)是一种抗体-药物结合物, MED-A 是一种氨基甲酸

酯前体药物, 由 CES 激活, 形成 MED-B, 发挥其 DNA 烷基化活性<sup>[58]</sup>。体外血清稳定性研究表明,  $\alpha$ CD70\_MED-A 中氨基甲酸酯保护基团的水解效率遵循顺序为小鼠 > 大鼠 > 猴子 > 犬、人。由于人血浆中没有 CES, 犬与猴血浆与人类类似, 采用猴的药代动力学参数和在犬中水解速率常数预测人体内药代动力学与临床结果相一致。综上所述, 大鼠小肠 ces 特性与人较为相似, 考虑血浆酯酶活性与水解速率则发现比格犬血浆更接近人, 而猴肝中的 ces 酶活性与人较为相似, 故了解酯酶的种属差异后, 可以结合多个种属的数据结果进行预测。

#### 4.2 芳基乙酰胺脱乙酰酶

在人中, AADAC 的 mRNA 在肝和胃肠道中高表达, 在膀胱中中度表达, 在肾和肺中不表达。在食蟹猴中 AADAC 在肝和肠中表达, 在大鼠和小鼠肝脏中 AADAC mRNA 表达水平最高, 其次是胃肠道和肾, 但大鼠肝中 AADAC 表达水平为小鼠的 1/10<sup>[49]</sup>, 与雄性大鼠相比, 雌性大鼠组织中 AADAC 的 mRNA 表达高约 1.5~3.0 倍<sup>[10]</sup>。AADAC 表达水平的性别差异在小鼠中未检测到<sup>[59]</sup>。AADAC 是导致人非那西丁水解的主要酶<sup>[20]</sup>, 重组人和小鼠 AADAC 对非那西丁水解的催化效率高于大鼠 AADAC<sup>[59]</sup>, 而食蟹猴肝中非那西丁的水解活性显著高于人。姜金方等<sup>[10]</sup> 已报道, 利福平不会被大鼠或小鼠的 AADAC 水解, 也不会被犬 AADAC 水解<sup>[17]</sup>, 也不会被食蟹猴 AADAC 水解, 但利福平会被人的 AADAC 特异性水解<sup>[18]</sup>, 在人血浆中检测到利福平的水解代谢物 25-去乙酰利福平<sup>[60]</sup>, 在大鼠、兔血浆中未检测到。因此, 25-去乙酰利福平很可能是在人体内形成的一种特殊代谢物。普拉格雷由人体肠道 CES2 水解, 但在犬肠道可以水解, 证明 AADAC 是参与犬肠道普拉格雷水解的酶<sup>[24]</sup>。在临床前药物开发研究中, 对于 AADAC 的底物特异性与种属差异要引起注意。

## 5 结语

为了改善药物的一些不良因素如水溶性低、不良味道; 或者改善药代动力学上一些影响药效发挥的因素如易降解、半衰期太长或太短、药物透膜能

力低、缺乏理想的特异性(靶向性)等,可以将药物设计成前药类型。对酯酶研究的深入,可以指导新药的合理设计,特别是酯类前药。本文总结了酯

酶的分布、底物、抑制剂及种属差异,期望对药物设计特别是前药设计方面提供思路,为药物在不同种属中的药代动力学差异给出合理解释。

## [ 参考文献 ]

- [1] Aldridge W N. Serum esterases. I. two types of esterase (A and B) hydrolysing *p*-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination[J]. *Biochem J*, 1953, 53(1): 110-117.
- [2] Bergmann F, Rimón S. Fractionation of C-esterase from the hog's kidney extract[J]. *Biochem J*, 1960, 77(2): 209-214.
- [3] Najjar A, Najjar A, Karaman R. Newly developed prodrugs and prodrugs in development; an insight of the recent years[J]. *Molecules*, 2020, 25(4): 884. DOI: 10.3390/molecules25040884.
- [4] Markovic M, Ben-Shabat S, Dahan A. Prodrugs for improved drug delivery: lessons learned from recently developed and marketed products[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(11): 1031. DOI: 10.3390/pharmaceutics12111031.
- [5] Lian J, Nelson R, Lehner R. Carboxylesterases in lipid metabolism: from mouse to human[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(2): 178-195.
- [6] Tian X, Yan F, Zheng J, et al. Endoplasmic reticulum targeting ratiometric fluorescent probe for carboxylesterase 2 detection in drug-induced acute liver injury[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(24): 15840-15845.
- [7] Di L. The impact of carboxylesterases in drug metabolism and pharmacokinetics[J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(2): 91-102.
- [8] Muta K, Fukami T, Nakajima M, et al. *N*-glycosylation during translation is essential for human arylacetamide deacetylase enzyme activity[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(2): 352-359.
- [9] Uno Y, Hosokawa M, Imai T. Isolation and characterization of arylacetamide deacetylase in cynomolgus macaques[J]. *J Vet Med Sci*, 2015, 77(6): 721-724.
- [10] 姜金方, 李秀立, 陈笑艳, 等. 肝脏和肠道酯酶在药物代谢及新药研发中的作用[J]. *药学报*, 2018, 53(2): 177-185.
- [11] Solé M, Vega S, Varó I. Characterization of type "B" esterases and hepatic CYP450 isoenzymes in Senegalese sole for their further application in monitoring studies[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2012, 78: 72-79.
- [12] Kuzu B, Tan M, Taslimi P, et al. Mono- or di-substituted imidazole derivatives for inhibition of acetylcholine and butyrylcholine esterases[J]. *Bioorg Chem*, 2019, 86: 187-196.
- [13] Moya C, Máñez S. Paraoxonases: metabolic role and pharmacological projection[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2018, 391(4): 349-359.
- [14] Bacchetti T, Ferretti G, Sahebkar A. The role of paraoxonase in cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 56: 72-86.
- [15] 董国锋, 屠荣, 刘云涛. 血清对氧磷酶 3 影响代谢性疾病相关机制研究进展[J]. *生命的化学*, 2018, 38(6): 821-826.
- [16] Furlong C E, Marsillach J, Jarvik G P, et al. Paraoxonases-1, -2 and -3: what are their functions?[J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 259(Pt B): 51-62.
- [17] Yoshida T, Fukami T, Kurokawa T, et al. Difference in substrate specificity of carboxylesterase and arylacetamide deacetylase between dogs and humans[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 111: 167-176.
- [18] Sun Z, Murry D J, Sanghani S P, et al. Methylphenidate is stereoselectively hydrolyzed by human carboxylesterase CES1A1[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 310(2): 469-476.
- [19] Gabriele M, Puccini P, Lucchi M, et al. Arylacetamide deacetylase enzyme: presence and interindividual variability in human lungs[J]. *Drug Metab Dispos*, 2019, 47(9): 961-965.
- [20] Kisui F, Fukami T, Nakano M, et al. Strain and sex differences in drug hydrolase activities in rodent livers[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 142: 105143. DOI: 10.1016/j.ejps.2019.105143.
- [21] Xue L, Hou S, Yang W, et al. Catalytic activities of a cocaine hydrolase engineered from human butyrylcholinesterase against (+)- and (-)-cocaine[J]. *Chem Biol Interact*, 2013, 203(1): 57-62.
- [22] Hioki T, Fukami T, Nakajima M, et al. Human paraoxonase 1 is the enzyme responsible for pilocarpine hydrolysis[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(8): 1345-1352.
- [23] Wang D, Zou L, Jin Q, et al. Human carboxylesterases: a

- comprehensive review[J]. *Acta pharm Sin B*, 2018, 8(5): 699–712.
- [24] Kurokawa T, Fukami T, Yoshida T, *et al.* Arylacetylamide deacetylase is responsible for activation of prasugrel in human and dog[J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44(3): 409–416.
- [25] Fukami T, Kariya M, Kurokawa T, *et al.* Comparison of substrate specificity among human arylacetamide deacetylase and carboxylesterases[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, 78: 47–53.
- [26] Ramsay R R, Tipton K F. Assessment of enzyme inhibition: a review with examples from the development of monoamine oxidase and cholinesterase inhibitory drugs[J]. *Molecules*, 2017, 22(7): 1192. DOI: 10.3390/molecules22071192.
- [27] Li B, Sedlacek M, Manoharan I, *et al.* Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma[J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(11): 1673–1684.
- [28] Tougou K, Nakamura A, Watanabe S, *et al.* Paraoxonase has a major role in the hydrolysis of prulifloxacin (NM441), a prodrug of a new antibacterial agent[J]. *Drug Metab Dispos*, 1998, 26(4): 355–359.
- [29] Taler-Verčič A, Goličnik M, Bavec A. The structure and function of paraoxonase-1 and its comparison to paraoxonase-2 and -3[J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5980. DOI: 10.3390/molecules25245980.
- [30] Wang X W, Zhu H J, Markowitz J S. Carboxylesterase 1-mediated drug-drug interactions between clopidogrel and simvastatin[J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(2): 292–297.
- [31] Xu Y J, Zhang C L, Li X P, *et al.* Evaluation of the inhibitory effects of antihypertensive drugs on human carboxylesterase *in vitro*[J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2013, 28(6): 468–474.
- [32] Zhu H J, Appel D I, Peterson Y K, *et al.* Identification of selected therapeutic agents as inhibitors of carboxylesterase 1: potential sources of metabolic drug interactions[J]. *Toxicology*, 2010, 270(2/3): 59–65.
- [33] Shimizu M, Fukami T, Nakajima M, *et al.* Screening of specific inhibitors for human carboxylesterases or arylacetamide deacetylase[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42(7): 1103–1109.
- [34] Fukami T, Takahashi S, Nakagawa N, *et al.* *In vitro* evaluation of inhibitory effects of antidiabetic and antihyperlipidemic drugs on human carboxylesterase activities[J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38(12): 2173–2178.
- [35] Xu A, He F, Zhang X N, *et al.* Tacrine-hydroxamate derivatives as multitarget-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease: design, synthesis, and biological evaluation[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 98: 103721. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.103721.
- [36] Iqbal J, al-Rashida M, Babar A, *et al.* Cholinesterase inhibitory activities of *N*-phenylthiazol-2-amine derivatives and their molecular docking studies[J]. *Med Chem*, 2015, 11(5): 489–496.
- [37] Pistolozzi M, Du H, Wei H, *et al.* Stereoselective inhibition of human butyrylcholinesterase by the enantiomers of bambuterol and their intermediates[J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(3): 344–352.
- [38] Song S S, Sun C P, Zhou J J, *et al.* Flavonoids as human carboxylesterase 2 inhibitors: inhibition potentials and molecular docking simulations[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 131: 201–208.
- [39] Weng Z M, Ge G B, Dou T Y, *et al.* Characterization and structure-activity relationship studies of flavonoids as inhibitors against human carboxylesterase 2[J]. *Bioorg Chem*, 2018, 77: 320–329.
- [40] Wang Y Q, Weng Z M, Dou T Y, *et al.* Nevadensin is a naturally occurring selective inhibitor of human carboxylesterase 1[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt B): 1944–1954.
- [41] Song Y Q, Guan X Q, Weng Z M, *et al.* Discovery of a highly specific and efficacious inhibitor of human carboxylesterase 2 by large-scale screening[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 261–269.
- [42] Zou L W, Jin Q, Wang D D, *et al.* Carboxylesterase inhibitors: an update[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(14): 1627–1649.
- [43] Kobayashi Y, Fukami T, Higuchi R, *et al.* Metabolic activation by human arylacetamide deacetylase, CYP2E1, and CYP1A2 causes phenacetin-induced methemoglobinemia[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(9): 1196–1206.
- [44] 马红, 社会枝. 连翘叶水提物对乙酰胆碱酯酶和丁酰胆碱酯酶活性的抑制作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(9): 715.
- [45] 赵晟宇, 王汝冰, 白洁, 等. 新型抗脑瘤化合物 CAT3 的体外代谢研究[J]. *药学报*, 2019, 54(6): 1108–1114.
- [46] Prasad S, Kumar B, Kumar S, *et al.* Acetamide derivatives of chromen-2-ones as potent cholinesterase inhibitors[J]. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2017, 350(8): 1700076. DOI: 10.1002/



- ardp.201700076.
- [47] Pistolozzi M, Du H, Wei H, *et al.* Stereoselective inhibition of human butyrylcholinesterase by the enantiomers of bambuterol and their intermediates[J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(3): 344-352.
- [48] Oda S, Fukami T, Yokoi T, *et al.* A comprehensive review of UDP-glucuronosyltransferase and esterases for drug development[J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2015, 30(1): 30-51.
- [49] Honda S, Fukami T, Tsujiguchi T, *et al.* Hydrolase activities of cynomolgus monkey liver microsomes and recombinant CES1, CES2, and AADAC[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2021, 161: 105807. DOI: 10.1016/j.ejps.2021.105807.
- [50] Rudakova E V, Boltneva N P, Makhaeva G F. Comparative analysis of esterase activities of human, mouse, and rat blood[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2011, 152(1): 73-75.
- [51] 邹小文, 盛莉, 李燕. 羧酸酯酶的种属差异对药物代谢的影响[J]. *国际药学研究杂志*, 2020, 47(2): 91-96.
- [52] Di L. The impact of carboxylesterases in drug metabolism and pharmacokinetics[J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(2): 91-102.
- [53] Igawa Y, Fujiwara S, Ohura K, *et al.* Differences in intestinal hydrolytic activities between cynomolgus monkeys and humans: evaluation of substrate specificities using recombinant carboxylesterase 2 isozymes[J]. *Mol Pharm*, 2016, 13(9): 3176-3186.
- [54] Ohura K, Nishiyama H, Saco S, *et al.* Establishment and characterization of a novel caco-2 subclone with a similar low expression level of human carboxylesterase 1 to human small intestine[J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44(12): 1890-1898.
- [55] Ohura K. Evaluation of the oral absorption of ester-type prodrugs[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2020, 140(3): 369-376.
- [56] Nishimuta H, Houston J B, Galetin A. Hepatic, intestinal, renal, and plasma hydrolysis of prodrugs in human, cynomolgus monkey, dog, and rat: implications for *in vitro-in vivo* extrapolation of clearance of prodrugs[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42(9): 1522-1531.
- [57] Qiu Z X, Gao W C, Dai Y, *et al.* Species comparison of pre-systemic bioactivation of vicagrel, a new acetate derivative of clopidogrel[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 366. DOI: 10.3389/fphar.2016.00366.
- [58] Wang H Q, Rangan VS, Sung M C, *et al.* Pharmacokinetic characterization of BMS-936561, an anti-CD70 antibody-drug conjugate, in preclinical animal species and prediction of its pharmacokinetics in humans[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2016, 37(2): 93-106.
- [59] Toyoda Y, Tamai M, Kashikura K, *et al.* Acetaminophen-induced hepatotoxicity in a liver tissue model consisting of primary hepatocytes assembling around an endothelial cell network[J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40(1): 169. DOI: 10.1124/dmd.111.041137.
- [60] Seng K Y, Hee K H, Soon G H, *et al.* Population pharmacokinetics of rifampicin and 25-deacetyl-rifampicin in healthy Asian adults[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(12): 3298-3306.



**【专家介绍】**王文艳: 药学博士, 副教授、硕士生导师, 现就职于烟台大学药学院。博士毕业于中国药科大学(研究方向药代及毒代动力学), 硕士毕业于内蒙古大学生命科学学院。主要研究方向: 体内药物分析与药代动力学, 采用现代仪器分析技术研究药物的体内过程, 采用体内外研究手段研究药物/候选药物的吸收、代谢、分布、排泄特性, 以及药物-药物相互作用研究。

近5年主要承担仪器分析(分析化学)、体内药物分析的教学工作; 近5年主持药代动力学研究评价横向课题项目累计17项, 累计科研经费达350余万元, 目前主持评价药动学的2类新药注射用利培酮缓释微球已在中国获批上市。申请发明专利1项。在 *Journal of chromatography B*、*Journal of Pharmaceutical and*

*Biomedical Analysis*、*Bioanalysis*、*Toxicology and Applied Pharmacology*、*Chirality*、*Xenobiotica*、《质谱学报》等杂志累计发表论文20余篇。