

缙苯那嗪类似物 P109 人肝微粒体中 代谢产物鉴定及酶表型研究

张雨沐¹, 李鑫¹, 于大伟², 孙钰菲¹, 刘兴华¹, 王文艳¹

(1. 烟台大学药学院, 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 264010;

2. 山东绿叶制药有限公司长效和靶向制剂国家重点实验室, 山东 烟台 264010)

摘要: 化合物 P109 是缙苯那嗪结构类似物, 其在 9 位进行了环丙烷甲基取代, 具有与缙苯那嗪相似的药
物活性与药理作用机制。为研究 P109 在人肝微粒体孵育体系中的代谢产物, 采用 Waters Eclipse Plus-
C18 色谱柱(150 mm×2.1 mm×3.5 μm)分离, 以 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B)为流动相进行梯
度洗脱, 利用超高效液相色谱-高性能台式四极杆-轨道阱质谱(UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS)技
术, 在正离子模式下分析样品, 筛选出 9 个化合物(包括 P109 及其 8 个代谢产物), 并进行结构鉴定。结
果表明, P109 经人肝微粒体主要发生氧化、水解、脱环丙烷甲基的 I 相代谢反应。代谢产物酶表型研究
表明, P109 的主要代谢酶亚型为 CYP3A4 和 CYP2C8, 次要代谢酶亚型为 CYP2D6。本研究初步阐明
了 P109 在人肝微粒体中的代谢规律及代谢产物酶表型, 可为新药筛选、毒理学研究提供支持。

关键词: P109; 人肝微粒体; 超高效液相色谱-高性能台式四极杆-轨道阱质谱(UHPLC-Q Exactive™ Or-
bitrap MS); 代谢产物; 代谢酶亚型

中图分类号: O657.63 文献标志码: A 文章编号: 1004-2997(2022)01-0078-09

doi: 10.7538/zpxb.2020.0144

Identification of Metabolites and Study on Enzyme Phenotype of Compound P109, Analogues of Valbenazine in Human Liver Microsomes

ZHANG Yu-mu¹, LI Xin¹, YU Da-wei², SUN Yu-fei¹,
LIU Xing-hua¹, WANG Wen-yan¹

(1. Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation, Ministry of Education,
Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Delivery System and Biotech Drugs
in Universities of Shandong, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264010, China;

2. State Key Laboratory of Long-acting and Targeting Drug Delivery System,
Shandong Luye Pharmaceutical Co. Ltd, Yantai 264010, China)

Abstract: Valbenazine (VBZ) is a selective synaptic vesicle monoamine transporter 2
(VMAT2) inhibitor that counteracts the increased activity of the dopamine system by
inhibiting VMAT2 activity, reducing the uptake and storage of monoamines from the

cytoplasm into presynaptic vesicles, and decreasing the concentration of monoamines released into the synapse. VBZ is the first drug approved by the US FDA for using in adult patients with tardive dyskinesia. Compound P109 is a structural modification product of VBZ, which is substituted by cyclopropane methyl at position 9. It has similar pharmacological activity and pharmacological mechanism as VBZ. In order to study its metabolites in the human liver microsome incubation system, a Waters Eclipse Plus-C18 column (150 mm×2.1 mm×3.5 μm) was used for separation, and 0.1% formic acid water (A)-0.1% formic acid acetonitrile (B) as the mobile phase for gradient elution. The high performance liquid chromatography coupled with four stage electrostatic field Orbitrap mass spectrometry (UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS) was used to analyze samples in positive ion mode. Nine compounds (including P109 and its 8 metabolites) were screened, and retention time, accurate mass measurement results and fragmentation patterns were all characterized. By using the Xcaliber4.2 workstation, the accurate molecular mass was used to infer the possible element composition, and then combined with the mass spectrometry fragment information for data processing. The molecular formula prediction module was used to predict the molecular formula of the parent ion and the fragment ion, and to identify the structure of *in vitro* metabolites of P109. The results showed that P109 undergoes three main metabolic pathways *via* human liver microsomes: 1) Oxidation reaction occurs to produce compounds 2, 4 and 9; 2) Hydrolysis reaction occurs to produce metabolites 1, 3, 7 and 8; 3) Decyclopropanemethyl reaction occurs to produce metabolite 5. The reaction phenotypes of seven cytochrome P450 isoenzymes (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) were studied using specific chemical inhibitor inhibition method. The content of P109 metabolites was determined by HPLC-MS/MS, and the data was analyzed by Excel software. The results showed that oxidative metabolites and dehydrogenation metabolites were mainly metabolized by CYP3A4, and the secondary metabolic subtype was CYP2C8. The decyclopropane-methyl metabolites were mainly metabolized by CYP2C8, and the secondary metabolites were CYP3A4 and CYP2D6. Hydrolysis of metabolites involved multiple subtypes of enzymes. This study can help to clarify the metabolic pathways of drugs *in vivo*, which is of great significance to the research of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and drug safety evaluation. At the same time, it provides theoretical support for extrapolating the results of *in vitro* experiments to *in vivo* experiments.

Key words: P109; human liver microsomes; high performance liquid chromatography coupled with four stage electrostatic field orbital trap mass spectrometry (UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS); metabolites; enzyme phenotype

缙苯那嗪(VBZ)是突触囊泡单胺转运体 2 (VMAT2)抑制剂,通过阻断 VMAT2 发生作用,抑制其活性,从而减少单胺类物质从细胞质到突触前囊泡中的摄取和储存,使单胺类物质在细胞质中被单胺氧化酶代谢,导致释放到突触中的单胺类物质浓度降低,抵消多巴胺系统

活性增强^[1-2]。VBZ 于 2017 年 4 月 11 日获美国食品药品监督管理局(FDA)批准在美国上市,商品名为 Ingrezza,是首个用于迟发性运动障碍成年患者的药物^[3-4]。VBZ 是丁苯那嗪代谢产物中活性最强的(+)- α -DHTBZ 的缙氨酸酯(前药)^[5-7],其在口服后经水解代谢为

(+)- α -DHTBZ, 是主要的活性物质^[8]。VBZ 在体内主要经氧化代谢为单氧化缬苯那嗪, 活性降低; 另外形成脱甲基代谢产物失去活性^[9-10]。

P109 是 VBZ 结构改造产物, 其在 9 位进行了环丙烷甲基取代, 在体内转化为活性化合物 P105, 结构示于图 1, 其具有与 (+)- α -DHTBZ 相似的药理活性。

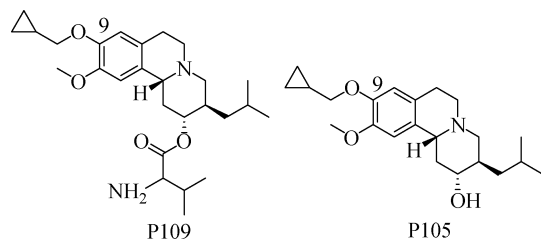


图 1 P109、P105 结构示意图

Fig. 1 Structural diagrams of P109 and P105

在早期的药物-药物相互作用确定中, 体外肝微粒体孵育体系是研究药物代谢的重要模型^[11-12], 虽然与体内样品相比, 体外孵化样品中药物代谢物的谱图通常较简单^[13], 但适宜条件下, 体内外代谢产物具有较好的相关性^[14]。高效液相色谱-高分辨质谱(HPLC-HRMS)联用技术具有灵敏度高、检测速度快和质量准确度高的特点, 是药物代谢产物分析的有力手段^[15-16]。本研究拟采用人肝微粒体体外孵育模型, 利用超高效液相色谱-高性能台式四极杆-轨道阱质谱(UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS)技术, 在正离子模式下研究 P109 在人肝微粒体中的代谢产物, 利用高效液相色谱-三重四极杆质谱(LC-MS/MS)联用技术研究 P109 代谢酶表型, 旨为新药的开发和可能的药物相互作用研究提供科学数据。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

Vanquish Flex 高效液相色谱仪与 Q Exactive™ Orbitrap 质谱仪(配有加热电喷雾离子化源(HESI)和 Xcalibur4.2 工作站)、Ultimate 3000 高效液相色谱仪与 TSQ Quantum Access 质谱仪(配有电喷雾离子化源(ESI), Xcalibur4.1 工作站)、Legend Micro 21R 微量台式离心机: 美国 Thermo Scientific 公司产品; XW-80A 型旋涡混合器:

上海精科实业有限公司产品; HSC-24A 型氮吹仪: 天津市恒奥科技发展有限公司产品; XS105 型电子分析天平(十万分之一): 德国 Mettler-Toledo 公司产品; MDF-U4186S 型医用低温箱: 日本三洋公司产品; DKB-501A 型超级恒温水槽: 上海精宏实验设备有限公司产品。

1.2 材料与试剂

P109、P105: 纯度大于 99%, 由山东绿叶制药有限公司合成; 7-OH 香豆素(批号 BCBZ4431, 纯度 99%)、甲酸(批号 SHBJ0951, 规格 500 mL, 96%): 美国 Sigma-Aldrich 公司产品; 甲醇、乙腈: 色谱级, 德国 Meker 公司产品; 还原型辅酶 II (NADPH)(批号 36554423, 规格 100 mg, 98%): 美国 Rocherocche Diagnostics GmbH 公司产品; 磷酸缓冲盐(批号 SLBX1022): 美国 Sigma 公司产品; 人肝微粒体(批号 JPXY, 规格 20 g/L): 瑞德肝脏疾病研究所(上海)有限公司产品; 娃哈哈纯净水: 杭州娃哈哈集团有限公司产品。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱: Waters Eclipse Plus-C18 柱(150 mm×2.1 mm×3.5 μ m); 流动相: 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B); 梯度洗脱程序: 0~1.0 min(95% A), 1.0~5.0 min(90% A), 5.0~8.0 min(80% A), 8.0~12.0 min(70% A), 12.0~15.0 min(5% A), 15.0~20.0 min(95% A); 流速 0.4 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 5 μ L。

1.3.2 Q Exactive™ Orbitrap 质谱条件 电喷雾离子源(HESI), 正离子模式检测; 喷雾电压 3.5 kV; 毛细管温度 350 $^{\circ}$ C; 鞘气压力 206.85 kPa, 辅助气压力 68.95 kPa。样品采用高分辨全扫描(Full MS/dd-MS2), 一级扫描分辨率 70 000, 二级扫描分辨率 17 500, 碰撞电压(NCE)分别为 20、40、60 eV, 质量扫描范围 m/z 100~1 000。

1.3.3 TSQ Quantum Access 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 正离子模式检测; 喷雾电压 4.0 kV; 毛细管温度 350 $^{\circ}$ C; 鞘气压力 206.85 kPa, 辅助气压力 34.475 kPa。样品采用全扫描(Full scan)、二级离子全扫描(MS^2 scan)。根据代谢产物鉴定所得的质谱图确定监测离子对, 列于表 1。

表 1 HPLC-MS/MS 监测 P109/P105 代谢产物离子对
Table 1 Ion pairs of P109/P105 metabolites in human liver microsomes detected by HPLC-MS/MS

编号 No.	监测离子对 Ion pairs detected (m/z)	碰撞能量 Collision energy/V
1	306.2, 288.2	35
2	475.3, 358.2	33
3	376.2, 304.2	35
4	475.3, 342.2	33
5	405.3, 288.2	33
7	358.2, 286.2	35
8	360.2, 288.2	35
VBZ(IS)	419.3, 302.1	30

1.4 人肝微粒体温孵体系

实验分为实验组、阳性对照组和阴性对照组 3 组 ($n=3$)。实验组为含 P109 的孵育体系;阳性对照组为含阳性探针底物(非那西丁、安非他酮、阿莫地奎、双氯芬酸、S-美芬妥英、右美沙芬和咪达唑仑)孵育体系,确定孵育体系活性;阴性对照组孵育体系中不含 NADPH,确定 P109 在体系中的稳定性。

1.4.1 代谢产物鉴定温孵体系 温孵管中先加入 P109,氮气吹干,然后加入肝微粒体混合体系,涡旋 30 s,置于 37 °C 水浴预孵育 5 min,加入 NADPH 启动反应,孵育体系中各成分终浓度为:P109 为 10 $\mu\text{mol/L}$,肝微粒体为 1 g/L, NADPH 为 1 mmol/L,总孵育体积为 200 μL 。分别于加入 NADPH 启动反应后 0 和 1 h,加入 400 μL 乙腈溶液终止反应。将终止反应的孵育样品涡旋振荡 2 min,4 °C 下以 13 000 r/min 离心 10 min,将上清液全部移取至 1.5 mL 离心管,氮气吹干,100 μL 流动相复溶,即为待检样品。

1.4.2 代谢产物酶表型研究温孵体系 在温孵管中先加入 P109/P105 和抑制剂(α -萘黄酮、盐酸噻氯匹定、孟鲁斯特纳、磺胺苯吡唑、S-(+)-N-3 苄基苯乙基内酰胺、奎尼丁、酮康唑),氮气吹干,加入肝微粒体混合体系,涡旋 30 s,置于 37 °C 水浴预孵育 5 min,加入 NADPH 启动反应,孵育体系中各成分终浓度为:P109/P105 为 1 $\mu\text{mol/L}$,肝微粒体为 0.2 g/L, NADPH 为 1 mmol/L,总孵育体积为 100 μL 。分别

于加入 NADPH 启动反应后 0 和 20 min,加入 400 μL 乙腈溶液终止反应。后续同 1.4.1 节。

1.5 数据处理

1.5.1 代谢产物鉴定 质谱扫描得到总离子流色谱图(TIC),利用 Xcaliber4.2 工作站,先用精确分子质量推测可能的元素组成,再结合质谱裂解碎片信息进行数据处理,通过分子式预测模块,预测母离子和碎片离子的分子式,鉴定 P109 的体外代谢产物结构,质量精度误差在 5×10^{-6} 以内。

1.5.2 代谢产物酶表型研究 将数据导入 Excel 软件,用以下公式进行计算:代谢产物产量 = 20 min 的代谢产物产量 - 0 min 的代谢产物产量;抑制率 % = $(1 - \text{含有抑制剂的代谢产物产量} / \text{不含抑制剂的代谢产物产量}) \times 100\%$,根据计算结果绘制柱状图。

2 结果与讨论

2.1 P109 裂解规律推断

在正离子模式下,P109 的保留时间为 10.4 min,准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 459.320 28,分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_4$,经碰撞裂解,母离子丢失 C2 位上的缬氨酸,形成碎片离子 $[M+H-\text{VAL}]^+$ m/z 342.241 46,后丢失 C9 位上的环丙烷甲基,形成基峰 $[M+H-\text{VAL}-\text{C}_4\text{H}_6]^+$ m/z 288.194 64。此外,还形成碎片离子 m/z 405.273 19(脱环丙烷甲基)、 m/z 360.252 41 (VAL C—O 键断裂)、 m/z 232.132 19(脱 3 位 2-甲基丙基)、 m/z 178.085 51 (环裂解)、 m/z 151.074 83(环裂解),参考异喹啉生物碱裂解途径^[17-19],推断其裂解途径示于图 2。这些碎片离子信息可用于后续代谢产物的鉴定和分析。

2.2 P109 代谢产物分析与鉴定

在 NADPH 存在的体外人肝微粒体孵育体系中共筛选并鉴定出 1 个原型和 8 个代谢产物,离子流图示于图 3,代谢产物信息列于表 2。

代谢产物 1 的保留时间为 7.9 min,准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 306.205 11 (-1.26×10^{-6} , $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$),比 P109 低 153 u,且产生的 m/z 288、178、151 与 P109 二级碎片离子峰相同,推测为酯键水解为羟基(-99 u)且脱环丙烷甲基(-54 u)形成的产物。

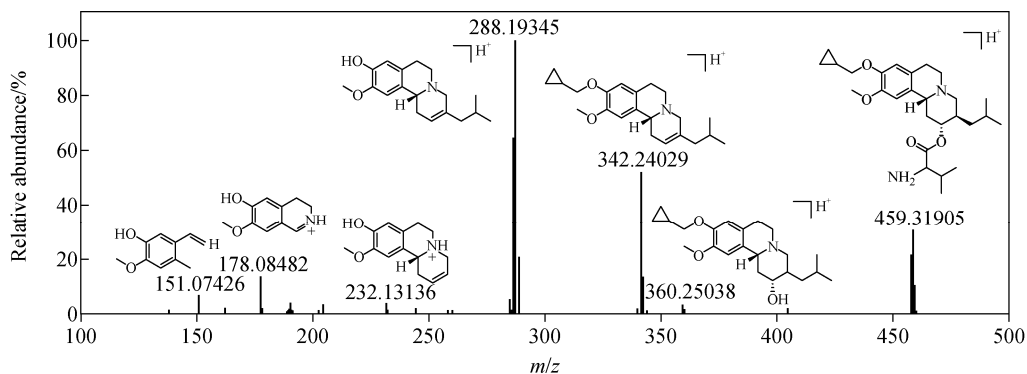
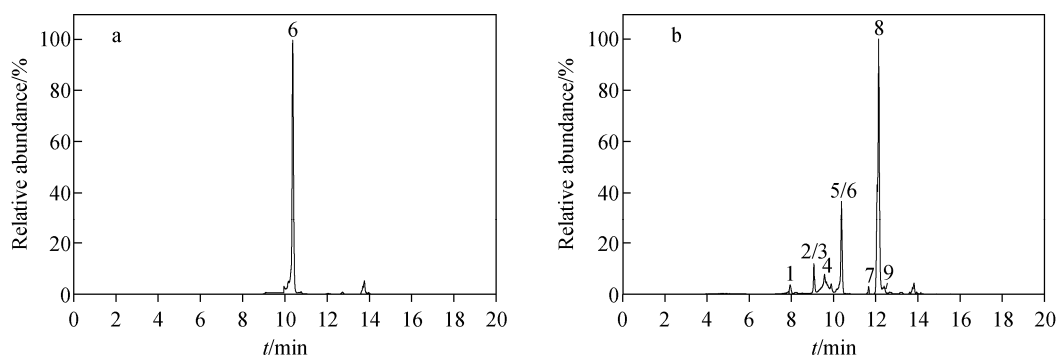


图2 P109可能的裂解规律

Fig. 2 Fragmentation pathways of compound P109



注:a. 孵育 0 h; b. 孵育 1 h

图3 P109经肝微粒体代谢温孵的提取离子流图

Fig. 3 Extracted ion chromatograms of compound P109 in liver microsomal samples

代谢产物 2 和 4 的保留时间分别为 9.1、9.6 min, 准分子离子峰分别为 $[M+H]^+$ m/z 475.315 31 (-1.34×10^{-6} , $C_{27}H_{42}N_2O_5$)、 $[M+H]^+$ m/z 475.315 64 (-1.01×10^{-6} , $C_{27}H_{42}N_2O_5$), 推测代谢产物 2、4 为单氧化 (+16 u) 产物。代谢产物 2 丢失 1 个水分子形成二级碎片离子 m/z 457, 且具有二级碎片离子 m/z 304、286, 推测氧化部位位于 2-甲基丙基, 脱去水分子使该部位质荷比减小 2 u, 脱去该部位后形成的碎片离子 m/z 178、232 与 P109 一致。代谢产物 4 具有二级碎片离子 m/z 288、342、360、178, 与 P109 二级碎片离子相同, 推测氧化部位位于缬氨酸酯, 酯基水解为羟基时随酯基一起脱去。

代谢产物 3 的保留时间为 9.1 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 376.248 24 (-0.90×10^{-6} , $C_{22}H_{33}NO_4$), 且生成二级碎片离子 m/z 358、304、178、151, 与代谢产物 2 相同, 为 2-甲基丙基氧化后脱水形成一系列碎片离子, 推测

代谢产物 3 为酯基水解为羟基 (-99 u) 同时单氧化 (+16 u) 形成的产物。

代谢产物 5 的保留时间为 10.4 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 405.273 90 (-0.88×10^{-6} , $C_{23}H_{36}N_2O_4$), 比 P109 低 54 u, 推测为脱环丙烷甲基 (-54 u) 产物。

代谢产物 6 的保留时间为 10.4 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 459.320 28 (-1.45×10^{-6} , $C_{27}H_{42}N_2O_4$), 保留时间与碎片离子峰均与 P109 对照品一致, 推测为 P109。

代谢产物 7 的保留时间为 11.6 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 358.235 75 (-0.82×10^{-6} , $C_{22}H_{31}NO_3$), 比 P109 低 101 u, 推测为酯基水解 (-99 u) 后脱氢 (-2 u) 产物。

代谢产物 8 的保留时间为 12.1 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 360.252 57 (-0.75×10^{-6} , $C_{22}H_{33}NO_3$), 比 P109 低 99 u, 且保留时间和碎片离子峰均与化合物 P105 对照品一致,

表 2 UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS 检测 P109 的肝微粒体代谢产物表征
 Table 2 Characteristic fragment ions of compound P109 metabolites in human liver microsomes by UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS

编号 No.	保留时间 t_R /min	理论质荷比		实验质荷比		化学式 Formula	串联质谱 MS/MS	鉴定/反应 Identification/ Reaction
		value (m/z)	value (m/z)	误差 Error/ $\times 10^{-6}$	value (m/z)			
1	7.9	306.20637	306.20511	-1.26	$C_{18}H_{27}NO_3$	$MS^2 [306]$ 288(100), 151(21), 178(10)	水解, 脱环丙烷甲基	
2	9.1	475.31665	475.31531	-1.34	$C_{27}H_{42}N_2O_3$	$MS^2 [475]$ 304(100), 358(98), 286(23), 178(22), 457(10), 232(9)	单氧化	
3	9.1	376.24824	376.24734	-0.90	$C_{22}H_{33}NO_4$	$MS^2 [376]$ 358(100), 304(88), 178(17), 151(14)	水解, 单氧化	
4	9.6	475.31665	475.31564	-1.01	$C_{27}H_{42}N_2O_3$	$MS^2 [475]$ 288(100), 342(81), 360(12), 178(8)	单氧化	
5	10.4	405.27478	405.27390	-0.88	$C_{23}H_{36}N_2O_4$	$MS^2 [405]$ 288(100), 178(44), 306(20), 151(14)	脱环丙烷甲基	
6	10.4	459.32173	459.32028	-1.45	$C_{27}H_{42}N_2O_4$	$MS^2 [459]$ 288(100), 342(51), 178(13), 151(7), 360(5), 232(5), 405(2)	P109	
7	11.6	358.23767	358.23575	-0.82	$C_{22}H_{31}NO_3$	$MS^2 [358]$ 304(100), 260(32), 178(32), 151(27)	水解, 脱氢	
8	12.1	360.25332	360.25257	-0.75	$C_{22}H_{33}NO_3$	$MS^2 [360]$ 288(100), 342(73), 151(38), 260(28)	水解 (P105)	
9	12.4	491.31156	491.31070	-0.86	$C_{27}H_{42}N_2O_3$	$MS^2 [491]$ 304(100), 358(65), 286(30), 178(24)	双氧化	

注: [] 表示分子质量; () 表示丰度

推测为酯基水解(-99 u)产物。

代谢产物 9 的保留时间为 12.4 min, 准分子离子峰为 $[M+H]^+$ m/z 491.310 70 (-0.86×10^{-6} , $C_{27}H_{42}N_2O_6$), 比 P109 高 32 u, 推测为双

氧化(+33 u)产物。

2.3 P109 代谢途径分析

根据原型化合物及代谢产物的质谱裂解信息, 推测 P109 的代谢途径示于图 4。

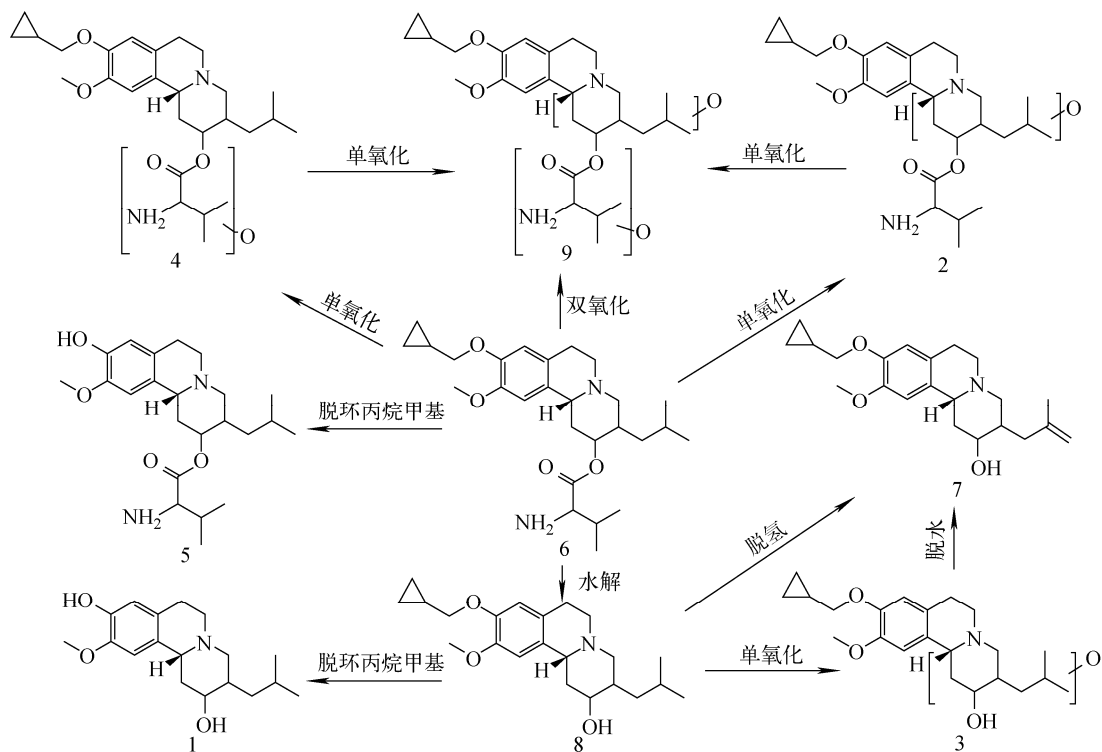


图 4 P109 经人肝微粒体的代谢途径

Fig. 4 Metabolic pathways of P109 in liver microsomal samples

P109 体外主要经历 3 个代谢途径: 1) 发生氧化反应生成化合物 2、4 和 9, P109 在 2-甲基丙基或缬氨酸酯上发生单氧化形成代谢产物 2 和 4, 同时发生双氧化反应或代谢产物 2、4 进一步氧化形成代谢产物 9; 2) 发生水解反应生成代谢产物 1、3、7 和 8, P109 缬氨酸酯水解为羟基生成代谢产物 8, 进一步发生脱环丙烷甲基、单氧化、脱氢反应, 生成代谢产物 1、3 和 7; 3) 发生脱环丙烷甲基反应生成代谢产物 5。经药理研究发现, P109 与 VBZ 相似, 是前药, 其在体内缬氨酸酯键断裂形成的代谢产物 8 (P105) 具有 VMAT2 抑制作用, 且对 VMAT2 的亲和力远高于前药 P109, 是主要的活性物质。

2.4 P109 代谢产物酶表型研究

对 P109 温孵样品监测代谢产物 2、4、5、

8 (P105), P105 温孵样品监测代谢产物 1、3、7, 双氧化代谢产物因生成量过少不予监测, 计算各代谢产物不同亚型 CYP 酶抑制率, 示于图 5。

研究表明, CYP3A4 参与 50% 以上临床用药的 I 相代谢^[20]; CYP2D6 参与代谢的药物占总 P450 代谢药物的 30%^[21]; CYP2C8 负责至少 5% 的临床药物代谢, 主要包括紫杉醇 6- α 羟基化反应和阿莫地喹 N-脱烷基化反应^[22]。结合本实验结果可知, 氧化代谢产物 2、3、4, 脱氢代谢产物 7 主要经 CYP3A4 代谢, CYP2C8 为其次要代谢亚型酶; 脱环丙烷甲基代谢产物 1、5 主要经 CYP2C8 代谢, 次要代谢亚型为 CYP3A4 和 CYP2D6。水解代谢产物 8 涉及多种亚型酶, 且在孵育体系中会发生进一步代谢, 主要代谢亚型暂时无法推断, 需进一步研究。

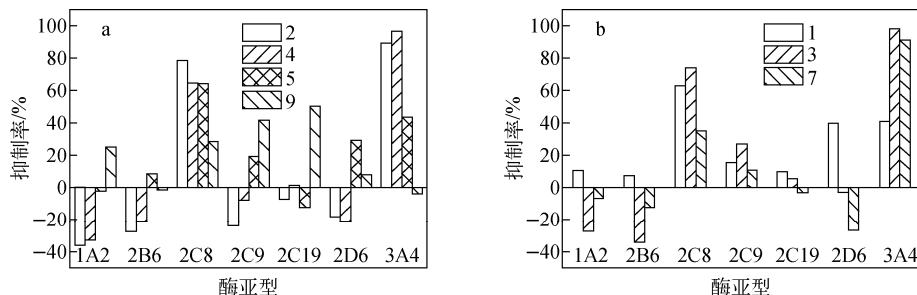


图5 特异性化学抑制剂对人肝微粒体中 P109(a)和 P105(b)代谢产物产生的抑制作用

Fig. 5 Inhibitory effect of specific chemical inhibitors on metabolism of P109 (a) and P105 (b) in human liver microsomes

3 结论

本研究应用 UHPLC-Q Exactive™ Orbitrap MS 技术快速筛选并鉴定了 P109 经人肝微粒体体外代谢的产物,对筛选出的 8 个代谢产物进行初步鉴别,均为无明显毒性结构的 I 相代谢产物,并阐述了 P109 的肝微粒体代谢规律以及各代谢产物的代谢酶表型。P109 为前药型新化合物,本研究有助于阐明药物的体内代谢途径,对于药动学、药效学和药物的安全性评价等研究具有重要意义,同时为体外实验的结果外推至体内实验提供了理论支持。

参考文献:

[1] SARVA H, HENCHCLIFFE C. Valbenazine as the first and only approved treatment for adults with tardive dyskinesia[J]. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 2018, 11(3): 209-217.

[2] 翁加俊,于文娟,李华芳. 单胺类囊泡转运体 2 抑制剂治疗迟发性运动障碍研究进展[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44(2): 125-128.

WENG Jiajun, YU Wenjuan, LI Huafang. The research progresses of monoamine vesicle transporter 2 inhibitors in the treatment of tardive dyskinesia [J]. *Chinese Journal of Nervous and Mental Diseases*, 2018, 44(2): 125-128(in Chinese).

[3] KATE T. Valbenazine approved for treatment of tardive dyskinesia [J]. *American Journal of Health-system Pharmacy*, 2017, 74(10): 628-629.

[4] 杨君义. 治疗迟发性运动障碍新药——囊泡单胺转运体 2 抑制剂 valbenazine[J]. *中国新药与临床杂志*, 2018, 37(8): 465-467.

YANG Junyi. A new drug for treatment of tardive dyskinesia; vesicular monoamine transporter 2 inhibitor valbenazine[J]. *Chinese Journal of New*

Drugs and Clinical Remedies, 2018, 37(8): 465-467(in Chinese).

[5] GRIGORIADIS D E, SMITH E, HOARE S R J, MADAN A, BOZIGIAN H. Pharmacologic characterization of valbenazine (NBI-98854) and its metabolites[J]. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 2017, 361(3): 454-461.

[6] KILBOURN M, LEE L, BORGHT T V, JEWETT D, FREY K. Binding of α -dihydrotrabenazine to the vesicular monoamine transporter is stereospecific[J]. *European Journal of Pharmacology*, 1995, 278(3): 249-252.

[7] YAO Z, WEI X, WU X, KATZ J L, KOPAJTIC T, GREIG N H, SUN H. Preparation and evaluation of tetrabenazine enantiomers and all eight stereoisomers of dihydrotrabenazine as VMAT2 inhibitors[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46(5): 1 841-1 848.

[8] LUO R, BOZIGIAN H, JIMENEZ R, LOEWEN G, O'BRIEN C F. Single dose and repeat once-daily dose safety, tolerability and pharmacokinetics of valbenazine in healthy male subjects[J]. *Psychopharmacology Bulletin*, 2017, 47(3): 44-52.

[9] HARRIOTT N D, WILLIAMS J P, SMITH E B, BOZIGIAN H P, GRIGORIADIS D E. VMAT2 inhibitors and the path to ingreza (Valbenazine)[J]. *Progress in Medicinal Chemistry*, 2018, 57(1): 87-111.

[10] THOMAS M L. Valbenazine granted breakthrough drug status for treating tardive dyskinesia[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, 24(6): 737-742.

[11] 刘利利,张继瑜. 药物体外肝代谢模型的研究进展[J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(10): 2 015-2 019.

LIU Lili, ZHANG Jiyu. The research progresses of drug liver metabolism models in vitro[J]. *Chi-*

- nese Journal of Veterinary Science, 2018, 38 (10): 2 015-2 019(in Chinese).
- [12] 杨本坤,王素军,莫李立,曾洁. 药物代谢体外模型的研究进展[J]. 广东药学院学报,2011,27 (6):649-652.
YANG Benkun, WANG Sujun, MO Lili, ZENG Jie. The research progresses of drug metabolism models in vitro[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical College, 2011, 27 (6): 649-652 (in Chinese).
- [13] 李亮,陈笑艳,钟大放. 液相色谱-质谱联用技术在药物代谢产物鉴定中的应用[J]. 质谱学报, 2017,38(4):375-387.
LI Liang, CHEN Xiaoyan, ZHONG Dafang. Applications of liquid chromatography-mass spectrometry in drug metabolite identification[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2017, 38(4): 375-387(in Chinese).
- [14] 乔滢,石蕊,刘蔓,王巧. HPLC-QTrap-MS 鉴定欧前胡素体内代谢物及肝微粒体孵化产物[J]. 中国药学杂志,2017,52(15):1 352-1 358.
QIAO Shi, SHI Rui, LIU Man, WANG Qiao. Identification of imperatorin and its metabolites in vitro and *in vivo* by HPLC-QTrap-MS technology [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52 (15): 1 352-1 358(in Chinese).
- [15] 胡凤英,王婷,潘桂湘. 高分辨质谱在药物代谢产物鉴定中的应用进展[J]. 辽宁中医杂志, 2014,447(8):1 764-1 768.
HU Fengying, WANG Ting, PAN Guixiang. Recent advances in metabolite identification by high resolution mass spectrometry[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 447(8): 1 764-1 768(in Chinese).
- [16] 张丹,王彩虹,金滢,王喆,张金兰. 高效液相色谱-高分辨质谱法研究药物代谢产物的数据处理策略[J]. 质谱学报,2017,38(4):410-416.
ZHANG Dan, WANG Caihong, JIN Ying, WANG Zhe, ZHANG Jinlan. Identification of drug metabolites using data post-processing strategies based on high performance chromatography coupled with high resolution mass spectrometer[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2017, 38(4): 410-416(in Chinese).
- [17] 李晓庄,赵慧玲,黄文平,冯育林,李志峰,王琦,杨世林. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴别北豆根中的生物碱类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017,23(15):97-102.
LI Xiaozhuang, ZHAO Huiling, HUANG Wenping, FENG Yulin, LI Zhifeng, WANG Qi, YANG Shilin. Rapid identification of alkaloids in menisperm rhizoma by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23 (15): 97-102 (in Chinese).
- [18] 卿志星,程辟,曾建国. 博落回中生物碱质谱裂解规律研究进展[J]. 中草药,2013,44 (20): 2 929-2 939.
QING Zhixing, CHENG Pi, ZENG Jianguo. Research progress on mass spectral fragmentation behaviour of alkaloids in *Macleaya cordata* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44 (20): 2 929-2 939(in Chinese).
- [19] 余坤,左姿,卿志星,杨鹏,曾建国. 基于异喹啉生物碱质谱裂解规律推断博落回茎中的生物碱[J]. 中国现代中药,2016,18(3):296-302.
YU Kun, ZUO Zi, QING Zhixing, YANG Peng, ZENG Jianguo. Identification of alkaloids in *macleaya cordata* stems based on mass fragmentation rules of isoquinoline alkaloids[J]. Modern Chinese Medicine, 2016, 18 (3): 296-302(in Chinese).
- [20] 陈欣,李玉珍,方翼. CYP3A4 代谢药物的特点及其多态性的研究现状[J]. 中国药房,2010,21 (22):2 097-2 099.
CHEN Xin, LI Yuzhen, FANG Yi. The research status of characteristics of CYP3A4 metabolized drugs and its polymorphism[J]. China Pharmacy, 2010, 21(22): 2 097-2 099(in Chinese).
- [21] 王娜,刘会臣,侯艳宁. 细胞色素 P4502D6 与药物代谢[J]. 中国临床药理学杂志,2001,21(4): 308-312.
WANG Na, LIU Huichen, HOU Yanning. Cytochrome P4502D6 in drug metabolism[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2001, 21(4): 308-312(in Chinese).
- [22] 蒋华麟,谭相石. 人肝细胞色素 P450 2C 金属酶与药物代谢[J]. 化学进展,2009,21(5):911-918.
JIANG Hualin, TAN Xiangshi. Human hepatic cytochrome P450 2C metalloenzymes and drug metabolism[J]. Progress in Chemistry, 2009, 21 (5): 911-918(in Chinese).