

口服前药研究: 机遇与挑战

操 锋¹, 平其能^{1*}, 陈 军²

(1. 中国药科大学 药剂学教研室, 江苏 南京 210038; 2. 南京工业大学 理学院, 江苏 南京 210009)

摘要: 前药研究是提高生物药剂学分类系统中第 III 和 IV 类药物口服吸收的有效途径之一。本文综述了近年来口服前药研究的进展, 主要包括经典前药设计和靶向前药设计。经典前药设计重在改善母体药物的油水分配系数或减少药物的代谢。靶向前药设计重在主动利用胃肠道的生理特性靶向组织、酶及肠内转运器, 其中靶向小肠内转运器-肽类转运器的口服前药成为目前研究的热点。前药研究还面临选题, 设计和体内研究等方面的挑战。

关键词: 口服吸收; 靶向前药; 肽类转运器

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2008)04-0343-07

Research of oral prodrugs: opportunities and challenges

CAO Feng¹, PING Qi-neng^{1*}, CHEN Jun²

(1. Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China;
2. School of Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract: Prodrug is an effective way to improve the oral absorption of the drugs which belong to Biopharmaceuticals Classification System (BCS) class III and IV. This review addresses the progress of the oral prodrugs in recent years, mainly including classical prodrug design and targeted prodrug design. Classical prodrug design is focused on modification of oil-water partition coefficient or decrease the metabolism of parent drugs. Targeted prodrug design is actively concerned with the physiological characteristics of the gastrointestinal tract to target tissues, enzymes and influx transporters. Intestinal influx transporter, the peptide transporter-targeted prodrug design is a growing field of the research of oral prodrugs recently. Challenges of prodrug strategy, design and investigation *in vivo* are also discussed.

Key words: oral absorption; targeted prodrug; peptide transporter

1 前言

普通药物在用药时的屏障可以归纳为 3 个方面: 化学稳定性差, 水溶性差, 脂溶性不好, 口味或嗅味差等药剂学性质; 口服吸收差, 首过效应强, 作用时间短和体内分布不理想等药代动力学性质; 毒性问题等药效学性质。前药是母体药物的衍生物, 体外无活性而在体内经过化学或酶降解释放出母体药物发挥药效。由于口服是最常用的给药途径, 前药的设计主要用于克服口服用药中的障碍, 如增加脂

溶性、提高水溶性、增加稳定性、增加生物利用度、延长作用时间、提高靶向性及减少副作用, 还需从市场因素考虑(“me-too”, “me-better”)。其中提高药物的口服生物利用度成为前药研究的重要目的。药物的口服生物利用度依赖于很多因素, 主要有药物的渗透性、水溶性、系统前的代谢和首过效应以及外排转运器的外排等。总之, 目前提高药物口服生物利用度的方法有三大类^[1], 一是剂型设计; 二是药物化学的方法; 三是前药研究。这些方法常联合使用, 如在前药的设计后可能使用制剂手段达到快速起效等。单纯的剂型设计对提高生物药剂学分类系统中第 I 和 II 类药物的口服生物利用度有效(图 1)。由于第 III 和 IV 类药物对生物膜渗透性有

收稿日期: 2007-11-05.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30430790); 中国药科大学引进人才启动基金项目(211063).

* 通讯作者 Tel: 86-25-83271098, Fax: 86-25-83301606,
E-mail: pingqn@cpu.edu.cn

限,单纯的剂型设计很难显著改善其口服吸收,对母体药物进行结构优化可能是更有效的方法^[2]。

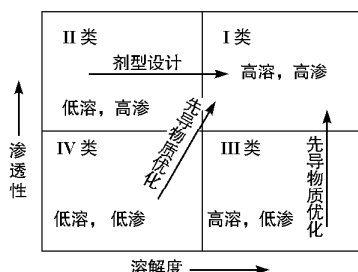


图1 增加生物药剂学分类系统中不同药物的生物利用度方法

利用药物设计的各种理论对药物进行较大的结构改造以达到适当的活性和口服生物利用度的平衡,这方面的研究重点属于药物化学的范畴,但活性和口服生物利用度两者很难兼顾。目前的高通量筛选更注重活性的考察,基于药效和药代动力学的筛选将逐渐应用于新药研发的初始环节。前药的研究属于药物化学、药剂学及材料学等多学科交叉的研究内容,已广泛应用于提高生物药剂学分类系统中第II,III和IV类药物的口服吸收,越来越受到药剂工作者的重视。

据统计,在德国上市的药品中6.9%药物是前药^[3]。目前上市的血管紧张素转化酶抑制剂(ACE抑制剂), β -内酰胺类抗生素和抗病毒类药物中多数是前药^[4]。目前原创新药投资大、风险高、日趋困难,前药研究倍受关注。在SciFinder Scholar中以前药和相应年份检索发现,前药的相关文献从2000年的2493篇增加到2006年的3675篇。国内对前药的研究相对较少,本文重点综述近年来口服前药的研究现状,并对前药研究的进展和挑战加以阐述。

2 现状

2.1 经典前药设计

经典前药设计一般通过提高母体药物的水溶性,增强小肠被动转运或减少代谢来提高药物的口服吸收。

2.1.1 增加药物水溶性 水溶性差是限制药物口服吸收的重要原因,也是药剂学者经常面临的挑战。药物经过修饰形成前药后一般具有带电基团(如酯类前药中的磷酸酯、单琥珀酸酯、氨基酸酯及二甲氨基乙酰胺等)或亲水基团(聚乙烯-乙二醇共聚物及PEG等)。左旋多巴是临床应用最广泛而有效的帕

金森病药物,但该药物水溶性差。左旋多巴乙酯的水溶性得到很大提高,临床实验表明口服左旋多巴乙酯的溶液起效快^[5]。HIV蛋白酶抑制剂福沙那韦是安瑞那韦的磷酸酯前药,原药在pH7的溶液中溶解度仅为 $0.036 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,而前药福沙那韦在pH7溶液中的溶解度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,在pH3.3溶液中的溶解度为 $54 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Brouwers等^[6]研究了福沙那韦促进小肠吸收的可能原因,碱性磷酸酶(EC3.1.3.1)存在于肠腔和肠细胞顶端膜,磷酸酯类前药首先脱磷酸化,在肠腔形成母体药物的超饱和溶液,有利于增加小肠黏膜的吸收。环孢素PEG化后所得前药水溶性显著提高,大鼠口服后的AUC和 C_{max} 提高达1.5倍^[7]。利用前药策略提高药物的水溶性和口服生物利用度已有大量报道^[8]。需要注意的是在增加前药水溶性时需要协同考虑前药的脂溶性,脂溶性太差的前药不能提高口服吸收。

2.1.2 增加药物脂溶性 通过增加药物脂溶性而提高小肠的被动吸收是最常用的前药设计策略。很多羧酸型的药物经过修饰后形成酯类前药提高了小肠的吸收^[4]。如依那普利拉(enalaprilat)的口服生物利用度仅有3%,其乙酯前药依那普利(enalapril)为36%~44%^[9]。西拉普利拉(cilazaprilat)的口服生物利用度为19%,其乙酯前药西拉普利(cilazapril)达到57%以上^[10]。MGS0039是代谢型谷氨酸受体的选择性拮抗剂,其大鼠口服生物利用度仅有10.9%,其正丁基酯、正戊基酯、3-甲基丁基酯和4-甲基戊基酯的大鼠口服生物利用度提高2.4~6.3倍^[11]。提高多肽类药物的口服吸收一直是严峻的挑战,自20世纪90年代开始的研究表明肽类前药可能是解决肽类药物口服吸收的方法之一^[12]。开发肽类可生物转化的环状前药是研究热点。环状多肽增加了分子内的氢键,减少了与水分子间的氢键从而增加了肽类药物透过小肠膜的能力。由于环合了碳末端羧基和氮末端氨基从而减少了氨基和羧基肽酶的降解作用,有利于肽类药物的稳定^[13]。在增加脂溶性提高药物的口服吸收时同样需要兼顾药物的水溶性,如灯盏乙素-(N,N-二乙基)-2-羟乙酰胺酯在pH4.2缓冲液中的溶解度比灯盏乙素提高近10倍,前药的油水分配系数为1.48,而原药的仅为-2.56^[14]。

2.1.3 减少小肠和肝脏的代谢 小肠和肝脏的首过作用是药物口服吸收的重要生理屏障,通过改变药物代谢的途径来减缓代谢,显著改善药物的药代动力学特征。其主要方法是将容易被代谢的基团通

过适当的修饰加以保护。班布特罗(bambuterol)是特布他林(terbutalin)的前体药物(图2),其结构是将特布他林中两个代谢迅速的酚羟基修饰得到其氨基甲酸酯^[15]。这类前药仍然可以被血液、肝脏、肺及其他组织中的乙酰胆碱酯酶降解,显著延长了药物的作用时间。给药频率由原来特布他林1天3次口服给药变为班布特罗1天1次。如多卡巴胺(docarpamine)是多巴胺的双前药,其碳酸乙酯部分在小肠中被降解,其酰胺部分在肝中被降解后形成原药多巴胺。

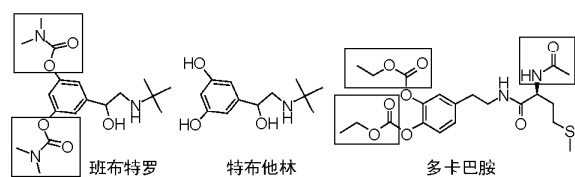


图2 班布特罗,特布他林和多卡巴胺的结构式

2.2 靶向前药设计

靶向给药主要将药物靶向到组织、器官或细胞内部,这也是目前前药设计中引人关注的目标。前药口服后,主要通过被动转运富集于靶组织,靶向肠道特定的内流转运器,靶向到组织或细胞内特异的酶和表面抗体等方法来实现。

2.2.1 靶向组织 在上世纪末,被动靶向中最典型的例子是利用1,4-二氢-N-甲基烟酸酯类前药达到脑靶向^[16]。如图3所示,原药形成1,4-二氢-N-甲基烟酸酯类前药后亲脂性显著提高,渗透进入脑组织的能力加强,前药迅速被氧化酶氧化后形成无活性的但亲水性的季铵代谢产物被锁入脑内,最后经过酯酶的水解释放原药。不过,这类前药靶向脑部的研究近来几无报道,可能原因之一是极性的季铵代谢产物仍然可通过血脑屏障处的转运器转运到脑外。地塞米松和雌二醇的这类前药的临床试验于2001年被中止^[17]。小肠淋巴是脂质、脂质衍生物和其他高亲脂化合物吸收的特定途径,淋巴靶向的优点就是能减少肝脏的首过作用。将天然脂质和药物相连,利用此结合物具有类似脂质的物理化学性质和吸收特性可以实现淋巴靶向而提高药物的口服吸收^[18]。

2.2.2 靶向特定的酶 酶类前药是利用组织中特异的或高表达的酶来活化前药实现靶向的一类前药。在结肠靶向中常用的手段是利用结肠特异的菌群,其中上市的产品如巴柳氮二钠,它是5-氨基水

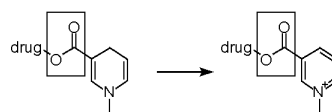


图3 1,4-二氢胡芦巴碱-胡芦巴碱的转换(脑靶向系统)

杨酸的前药,可被结肠特有的偶氮降解酶降解而释放出原药。除偶氮酶以外,结肠另一个特征酶是糖苷酶。将地塞米松、氢化泼尼松、氢化可的松等与葡萄糖、半乳糖、葡聚糖、环糊精等通过 β -糖苷键偶联形成前药后,由于前药极性大,在小肠几乎不吸收,不被降解,到达结肠被糖苷酶降解后释放出原药发挥药效^[19]。卡培他滨(capecitabine)是5-氟尿嘧啶的三级前体药物(图4),口服后经过3步活化于肿瘤组织中释放出原药。首先在肝脏中经过碳酸酯酶水解,其次位于肝脏和肿瘤组织中的胞嘧啶核苷(胞苷)脱氨酶氨解,最后在肿瘤细胞内胸腺嘧啶核苷磷酸酶代谢成5-FU^[20]。

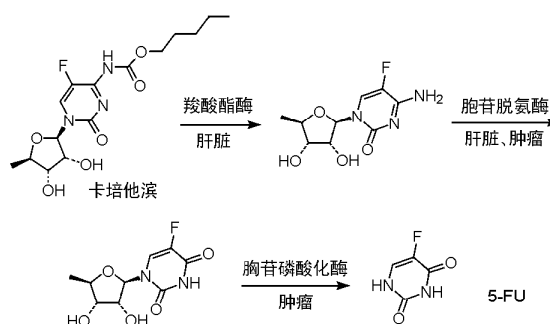


图4 卡培他滨的活化过程

2.2.3 靶向抗体和基因 在酶类前药中,除了上述的靶向特定酶的前药外,新型的有抗体介导的酶前药(antibody-directed enzyme prodrug, ADEP)和基因介导的酶前药(gene-directed enzyme prodrug, GDEP)^[21]。靶向表面抗体的前药主要应用在肿瘤领域中。2000年被FDA批准的mylotarg(gemtuzumab)是奇霉素吉妥组单抗的合成制剂,是以抗体为基质的抗癌药物。该药是首个利用单克隆抗体技术研制的直接靶向癌细胞的化疗药物,目前主要用于治疗急性骨髓性白血病^[22]。

2.2.4 靶向内流转运器 近年来,随着分子生物学、细胞学、免疫学及高分子材料学等学科的发展,药剂学中产生了一门新兴的研究领域——分子

生物药剂学, 即从分子水平和细胞水平研究剂型因素对药物疗效的影响。分子生物药剂学为合理药物设计、剂型设计以及临床用药提供了坚实的理论依据^[23]。转运器的主体是膜蛋白, 其主要功能是协助分子的细胞内外流动。根据底物转运通过细胞膜的方向, 转运器分为外排转运器和内流转运器。外排转运器主要将食物成分和药物、毒素或异物排出体外, 起到保护机体的作用。P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MRPs)和乳腺癌耐药蛋白(BCRP)最受研究人员关注的外排蛋白, 其原因是它们在体内分布广泛, 而且外排大量结构和功能各异的药物分子。分布于小肠的这三种外排蛋白对药物的口服吸收有着重要的影响^[24]。早期内流转运器被认为是营养物质和内源性物质, 如糖类、氨基酸类、核苷类和维生素类透过小肠的主要吸收途径。后来发现这些内流转运器的底物不仅局限于生理物质, 与以上生理物质结构类似的药物也被这些转运器识别并转运透过肠细胞进而显著提高口服吸收。因此, 转运器在决定药物生物利用度、药代动力学及治疗作用上发挥着重要作用。研究还发现许多内流转运器广泛分布于肠道, 血脑屏障等器官组织, 在前药的设计中利用内流转运器进行药物传递成为被关注的热点^[25]。

目前药物的吸收转运器有肽类转运器(peptide transporters), 氨基酸转运器(amino acid transporters), 单糖转运器(monosaccharide transporters), 单羧酸转运器(monocarboxylic acid transporters), 胆酸转运器(bile acid transporters), 维生素C转运器(sodium-dependent vitamin C transporters)等^[26]。在所有的靶向内流转运器的前药研究中, 肽类转运器由于底物广泛, 结合力强而受到药学工作者的关注^[27]。肽类转运器本身含有很多种, 如肽类转运器-1(peptide transporter-1, PEPT1, SLC15A1), 肽类转运器-2(peptide transporter-2, PEPT2, SLC15A2), 肽类转运器-3(peptide transporter-3, PTR3), 人肽类转运器-1(human peptide transporter-1, hPT-1)等。它们主要分布于小肠和肾脏, 其参与药物吸收的模型如图5^[28]。肽类转运器属于次级转运系统, 其原动力是离子梯度。随着质子的外流、转运器活化开始转运物质, 转运速率主要决定于膜电压。各种肽类或拟肽类药物等在细胞内被酶降解成氨基酸或药物等结构, 氨基酸通过氨基酸转运器透过底膜, 药物通过其他转运载体透膜后进入体内循环。

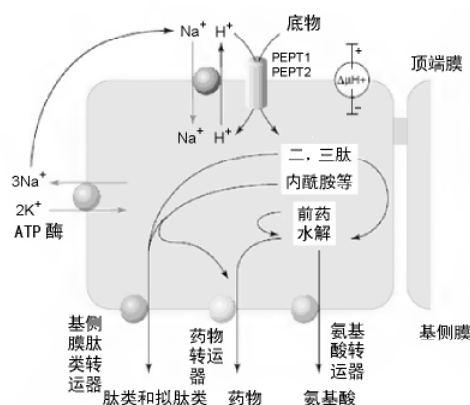


图5 小肠和肾脏上皮细胞肽类转运器的转运模型图

10年来,口服肽类药物体系中PEPT1的研究取得进展。大量文献表明PEPT1对肽类似物的小肠吸收发挥着重要的作用。PEPT1的底物分布广泛,涉及到各种肽类药物。 β -内酰胺类抗生素具有基本的类肽结构,它们的口服生物利用度受到PEPT1的影响^[29]。多数头孢菌素类和氨基青霉素类药物都是PEPT1的底物^[30]。在血管紧张素转化酶抑制剂中卡托普利(captopril)、依那普利(enalapril)、赖诺普利(lisinopril)、喹那普利(quinapril)、贝那普利(benazepril)及福辛普利(fosinopril)都对PEPT1转运蛋白具有强亲和力,还有部分肾素抑制剂、凝血酶抑制剂等也是其底物。PEPT1转运器的底物并不一定需要肽键。很多无肽键的药物也是其底物,如万乃洛韦、4-氨基苯乙酸、奥代美宁(arphamenine-A)及5-氨基-酮戊酸等。将1个氨基酸残基接入1个药物就可能是PEPT1的底物。如核苷类抗病毒药物阿昔洛韦、更昔洛韦和齐多夫定的L-缬氨酸前药均通过此载体转运。这些前药分子结构实际上不是类肽结构而是核苷类结构,但对PEPT1的亲和力强。万乃洛韦(valaciclovir)是阿昔洛韦(acyclovir)的L-缬氨酸酯,口服生物利用度提高5倍^[31],研究表明小肠二肽转运器PEPT1显著提高了阿昔洛韦的吸收^[32]。L-多巴的氨基酸前药帕米磷酸等也是通过PEPT1参与吸收。PEPT1转运蛋白具有立体选择性,其对含有L-氨基酸残基的肽类的亲和力高于含有D-型氨基酸残基的肽类^[33]。

肽类转运器不仅底物丰富,而且表达量较高。Englund等^[34]研究了人类肠道不同肠段的各种内流和外排转运蛋白的mRNA表达量,结果发现PEPT1

在小肠 3 个肠段均有很高表达,在结肠的表达明显减少。这为靶向小肠肽类转运器的前药设计提供了物质条件。Jain 等^[35]研究发现沙奎那韦(saquinavir)是 P-gp 的底物,通过靶向小肠肽类转运器的前药设计后,合成的前药不仅肠道渗透性显著提高,并且不受肠道 P-gp 的外排作用。其结论是 P-gp 底物的肽类转运器靶向前药可以免遭 P-gp 的外排作用。这一研究既利用了内流转运器,又能避免外排转运器,不过结果可能具有一定的偶然性,即设计的利用小肠内流转运器的前体药物有时可能又是外排转运器的底物。因此,在设计靶向特定的内流转运器的前药时,如何利用计算机辅助药物设计手段对前药是否是外排转运器的底物进行筛选,这可能也直接关系到前药研究的成功与否。

随着大量肽类和拟肽类药物的出现,肽类转运器在口服药物传递系统方面的应用必将受到更多的重视。肽类转运器底物丰富,不论分子大小,亲脂性和电荷。靶向肽类转运器的前药研究为提高难吸收药物的小肠吸收提供很好的策略。

2.2.5 靶向受体的前药 药物和营养物质的转运除了上述各种吸收途径外,还有通过膜表面受体参与的细胞内吞途径吸收,如叶酸、维生素 B₁₂ 和转铁蛋白的吸收。将药物和受体的底物偶联后可以形成靶向受体的前药。叶酸受体在癌细胞上高度表达,叶酸靶向前药的肿瘤选择性很高,所以叶酸被认为是理想的肿瘤靶向给药的受体。其他受体还有维生素 B₁₂,转铁蛋白和去唾液酸糖蛋白等,不过这些前药在口服给药方面的临床应用有限。

3 挑战

3.1 前药选题

在前药的研究过程中药学工作者面临很多方面的挑战。首先是否选择前药的挑战。由于前药的研究涉及到诸如合成、药物代谢及毒理等方面,必须慎重选择。在整个新药研发的过程中,从成千上万个新化合物中发现了具有较好药物动力学(PK)和药效(PD)的化合物群(图 6)^[36],如果这两者具有重叠区,那这个重叠区很可能就是未来的新药区域(方式 A),说明可通过传统的合成手段能够兼顾 PK 和 PD 两方面的要求。如果这两者之间没有重叠区,通过传统的合成手段无法同时满足 PK 和 PD 两方面的要求,而且采用一般的药剂学手段很难解决这个问题,此时前药可能是较好的解决 PK 与 PD 之间沟壑的策略(方式 B)。

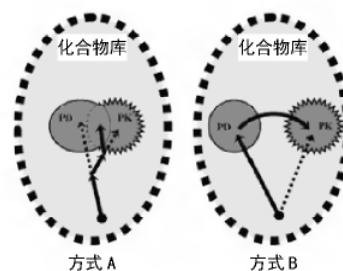


图 6 药物开发过程中的两种模式。PK 表示具有满意的药物动力学特征的化合物库,PD 表示具有满意活性的化合物库

3.2 口服前药的设计

一旦选择前药进行研发后就面临前药的设计等具体问题的挑战。开始需要明确前药的药效部分和前药的代谢位点,随后在选择前药部分时必须考虑结合部分化学键的稳定性,易合成和纯化等因素以免增加药物开发的费用。另外了解口服前药的吸收障碍有利于理性设计前药。酯类前药是最典型的一类口服前药,其吸收障碍如图 7 所示^[4]。

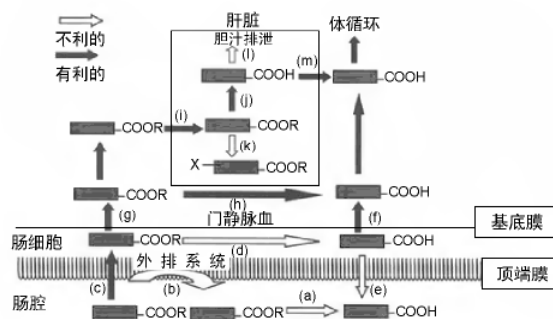


图 7 口服酯类前药面临的障碍

首先是吸收前的障碍,即前药在肠腔内的代谢。前药被吸收,药物必须处于肠液中。一旦在肠液中处于分子状态,前药就面临肠液的化学降解和酶的降解(a),这种降解不利于前药发挥作用。肠黏膜表面存在多种诸如 P-gp, MRP2, BCRP 等外排转运器,这些外排转运器可能将正要被收入肠细胞的前药外排到肠腔(b),这也将削弱前药的作用。其次是吸收中的障碍,即肠细胞的代谢。小肠细胞含有大量的代谢 I 和 II 相代谢酶,如酯酶、细胞色素 P450 异构酶、UDP-葡萄糖醛酸基转换酶、硫酸转换酶等,这些酶都可能参与前药的代谢(d)。如果前药在肠细胞内代谢成原药后能顺利通过小肠底层膜进入循环系统,那么这种前药的降解有益(f)。如果这

种活性代谢物恰好是小肠顶端膜外排转运器的底物,很可能又被排出到肠腔(e)。最后是吸收后的屏障。一个理想的前药吸收后应该较快地定量释放出原药发挥作用。门静脉中的酯酶能降解酯类前药(h),但这种酯酶对底物有特异性要求,并不能降解所有的酯类前药,因此一些酯类前药必须经过肝酯酶的降解(j)。如果活性代谢物是胆微管转运器的底物,将被转运至胆汁(l)。若药物处于肝细胞中,更多的I,II相代谢酶会对前药和活性代谢物进行代谢产生无活性的副产物(k),这些都将严重影响前药的作用。

口服前药的设计应用综合平衡考虑增加原药的渗透性,避免前药作为外排转运器的底物,减少吸收前酶的代谢和吸收后胆汁的消除等作用,才能有效运用前药这一策略。较为理想的酯类前药必须具备以下特征:①前药本身没有或具有很低的药理活性;②在一定的pH范围内化学稳定;③较好的水溶性;④透膜吸收能力较强;⑤在吸收的过程中几无代谢;⑥吸收后较快并定量释放出活性原药。

3.3 前药的体内研究

对于前药的体内研究来说,需要选择合适的模型进行考察。由于单核苷酸的多态性,在选择动物模型时必须注意不同动物和人的代谢酶系,内流转运器和外排转运器等的差别,这些直接关系到前药开发的成功与否。Gelder等^[37]利用对硝基苯基酯酸酯和替诺福韦酯研究了不同种属酯酶的差异发现小肠黏膜匀浆液中酯酶活性顺序为:大鼠>人类>猪。Yoshigae等^[38]还发现大鼠小肠黏膜中酯酶的活性比犬高达50~260倍,所以不同动物普萘洛尔前药的口服生物利用度差异很大。在大鼠全血中酯酶的活性分别是犬和人全血的100和400倍^[39]。最近的研究表明犬和豚鼠可能是阿片肽类环状前药的最好动物模型^[40]。目前有关内流转运器的种属差别还未见报道,外排转运器的种属差异已有报道。研究发现P-gp对药物的作用存在种属差异,人类P-gp蛋白对环孢素A的 V_{max}/K_m 值是猴的3.8倍,此值还因底物而异^[41]。最近的研究发现这种种属差异在人类、猴、犬、大鼠及小鼠中均存在^[42]。

临床前前药的综合评价必须使用不同的动物作参照,选择合适的动物模型进行前药的前期考察非常重要。另外前药毒性方面的考虑也是相对重要的,一是由于结合基团的代谢所带来的毒性,二是来自前药自身代谢可能产生的毒性。

在口服前药研究的过程中,必须充分考虑前药

对母体药物油水分配系数的改善及前药的吸收和代谢特征合成不同类别的前药,综合利用各种体外实验手段对前药进行体外综合评价,优选性质较好的前药。随后进行前药的体内研究,考虑到酶和转运器的种属差异,必须充分利用各种动物模型的优势,才能客观评价口服前药的优劣。总之,口服前药的研究已取得可观进展,面临分子生物药剂学的飞速发展也存在很多机遇,但其研究面临很多挑战,是药学工作者倍加关注的领域。

References

- [1] Gomez-Orellana I. Strategies to improve oral drug bioavailability [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2005, 2: 419-433.
- [2] Fahr A, Liu X. Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2007, 4: 403-416.
- [3] Eittmayer P, Amidon GL, Clement B, et al. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs [J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 2393-2404.
- [4] Beaumont K, Webster R, Gardner I, et al. Design of ester prodrugs to enhance oral absorption of poorly permeable compounds: challenges to the discovery scientist [J]. *Curr Drug Metab*, 2003, 4: 461-485.
- [5] Djaldetti R, Inzelberg R, Giladi N, et al. Oral solution of levodopa ethylester for treatment of response fluctuations in patients with advanced Parkinson's disease [J]. *Mov Disord*, 2002, 17: 297-302.
- [6] Brouwers J, Tack J, Augustijns P. *In vitro* behavior of a phosphate ester prodrug of amprenavir in human intestinal fluids and in the Caco-2 system; illustration of intraluminal supersaturation [J]. *Int J Pharm*, 2007, 336: 302-309.
- [7] Cho H, Chung Y. Water soluble cyclosporine monomethoxy poly(ethyleneglycol) conjugates as potential prodrugs [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27: 662-669.
- [8] Stella VJ, Nti-Addae KW. Prodrug strategies to overcome poor water solubility [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59: 677-694.
- [9] Abrams WB, Davies RO, Gomez HJ. Clinical pharmacology of enalapril [J]. *J Hypertens Suppl*, 1984, 2: S31-36.
- [10] Williams PE, Brown AN, Rajaguru S, et al. The pharmacokinetics and bioavailability of cilazapril in normal man [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1989, 27(Suppl. 2): 181S-188S.
- [11] Nakamura M, Kawakita Y, Yasuhara A, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the metabolism and bioavailability of ester prodrugs of mgs0039 (3-(3,4-dichlorobenzoyloxy)-2-amino-6-fluorobicyclo [3. 1. 0] hexane-2, 6-dicarboxylic acid), a potent metabotropic glutamate receptor antagonist [J]. *Drug Metab Dispos*,

- 2006,34:369-374.
- [12] Borchardt RT. Optimizing oral absorption of peptides using prodrug strategies [J]. *J Control Release*, 1999, 62:231-238.
- [13] Pauletti GM, Gangwar S, Siahaan TJ. Improvement of oral peptide bioavailability: peptidomimetics and prodrug strategies [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 27:235-256.
- [14] Cao F, Guo JX, Ping QN, et al. Ester prodrug of scutellarin: synthesis, physicochemical property and degradation [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41:595-602.
- [15] Tunek A, Levin E, Svensson LA. Hydrolysis of 3H bambuterol, a carbamate prodrug of terbutaline, in blood from humans and laboratory animals *in vitro* [J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37:3867-3876.
- [16] Bodor N, Buchwald P. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 36:229-254.
- [17] Eitmayer P, Amidon GL, Clement B, et al. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs [J]. *J Med Chem*, 2004, 47:2393-2404.
- [18] Lambert DM. Rationale and applications of lipids as prodrug carriers [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2000, 11(Suppl 2):S15-27.
- [19] Van den Mooter G. Colon drug delivery [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2006, 3:111-125.
- [20] Hwang JJ, Marshall JL. Capecitabine: fulfilling the promise of oral chemotherapy [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2002, 3:733-743.
- [21] Han HK, Amidon GL. Targeted prodrug design to optimize drug delivery [J]. *AAPS Pharm Sci*, 2000, 2:E6.
- [22] Giles F, Estey E, O'Brien S. Gemtuzumab ozogamicin in the treatment of acute myeloid leukemia [J]. *Cancer*, 2003, 98:2095-2104.
- [23] Ware JA. Membrane transporters in drug discovery and development: a new mechanistic ADME era [J]. *Mol Pharm*, 2006, 3:1-2.
- [24] Dietrich CG, Geier A, Oude Elferink RP. ABC of oral bioavailability: transporters as gatekeepers in the gut [J]. *Gut*, 2003, 52:1788-1795.
- [25] Anand BS, Dey S, Mitra AK. Current prodrug strategies *via* membrane transporters/receptors [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2002, 2:607-620.
- [26] Steffansen B, Nielsen CU, Brodin B, et al. Intestinal solute carriers: an overview of trends and strategies for improving oral drug absorption [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2004, 21:3-16.
- [27] Jain R, Duvvuri S, Kansara V, et al. Intestinal absorption of novel-dipeptide prodrugs of saquinavir in rats [J]. *Int J Pharm*, 2007, 336:233-240.
- [28] Rubio-Aliaga I, Daniel H. Mammalian peptide transporters as targets for drug delivery [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23:434-440.
- [29] Ganapathy ME, Brandsch M, Prasad PD, et al. Differential recognition of beta-lactam antibiotics by intestinal and renal peptide transporters, PEPT 1 and PEPT 2 [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270:25672-25677.
- [30] Terada T, Sawada K, Irie M, et al. Structural requirements for determining the substrate affinity of peptide transporters PEPT1 and PEPT2 [J]. *Pflugers Arch*, 2000, 440:679-684.
- [31] Beauchamp LM, Drr GF, de Miranda P, et al. Amino acid ester prodrugs of acyclovir [J]. *Antiviral Chem Chemother*, 1992, 3:157-164.
- [32] Han H, de Vreeh RL, Rhie JK, et al. 5'-Amino acid esters of antiviral nucleosides, acyclovir, and AZT are absorbed by the intestinal PEPT1 peptide transporter [J]. *Pharm Res*, 1998, 15:1154-1159.
- [33] Sawada K, Terada T, Saito H, et al. Recognition of L-amino acid ester compounds by rat peptide transporters PEPT1 and PEPT2 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 291:705-709.
- [34] Englund G, Rorsman F, Ronnblom A, et al. Regional levels of drug transporters along the human intestinal tract: co-expression of ABC and SLC transporters and comparison with Caco-2 cells [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 29:269-277.
- [35] Jain R, Duvvuri S, Kansara V, et al. Intestinal absorption of novel-dipeptide prodrugs of saquinavir in rats [J]. *Int J Pharm*, 2007, 336:233-240.
- [36] Testa B. Prodrug research: futile or fertile? [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68:2097-2106.
- [37] Van Gelder J, Shafiee M, De Clercq E, et al. Species-dependent and site-specific intestinal metabolism of ester prodrugs [J]. *Int J Pharm*, 2000, 205:93-100.
- [38] Yoshigae Y, Imai T, Aso T, et al. Species differences in the disposition of propranolol prodrugs derived from hydrolase activity in intestinal mucosa [J]. *Life Sci*, 1998, 62:1231-1241.
- [39] Minagawa T, Kohno Y, Suwa T, et al. Species differences in hydrolysis of isocarbacyclin methyl ester (TEI-9090) by blood esterases [J]. *Biochem Pharmacol*, 1995, 49:1361-1365.
- [40] Liederer BM, Borchardt RT. Stability of oxymethyl-modified coumarinic acid cyclic prodrugs of diastereomeric opioid peptides in biological media from various animal species including human [J]. *J Pharm Sci*, 2005, 94:2198-2206.
- [41] Katoh M, Suzuyama N, Takeuchi T, et al. Kinetic analyses for species differences in P-glycoprotein-mediated drug transport [J]. *J Pharm Sci*, 2006, 95:2673-2683.
- [42] Suzuyama N, Katoh M, Takeuchi T, et al. Species differences of inhibitory effects on P-glycoprotein-mediated drug transport [J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96:1609-1618.