

- ance : from bench to bedside[J]. *Nat Rev Immunol* , 2003 , 3(2) : 123 - 132 .
- [6] Nakamura K , Kitani A , Strober W , et al . Cell contact-dependent immunosuppression by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta[J]. *J Exp Med* , 2001 , 194(5) : 629 - 644 .
- [7] Bommireddy R , Doetschman T . TGF- β , T-cell tolerance and anti-CD3 therapy[J]. *Trends Mol Med* , 2004 , 10(1) : 3 - 9 .
- [8] Chen W , Jin W , Hardegen N , et al . Conversion of peripheral CD4⁺ CD25⁻ naive T cells to CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3[J]. *J Exp Med* , 2003 , 198(12) : 1875 - 1886 .
- [9] Piccirillo CA , Lettrio JJ , Thornton AM . CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells can mediate suppressor function in the absence of transforming growth factor β_1 production and responsiveness[J]. *J Exp Med* , 2002 , 196(2) : 237 - 246 .
- [10] Belghith M , Bluestone JA , Barriot S , et al . TGF- β -dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes [J]. *Nat Med* , 2003 9(9) : 1202 - 1208 .
- [11] Plain KM , Chen J , Merten S , et al . Induction of specific tolerance to allograft in rats by therapy with non-mitogenic , non-depleting anti-CD3 monoclonal antibody : association with TH₂ cytokines not anergy[J]. *Transplantation* , 1999 , 67(4) : 605 - 613 .
- [12] Le Gall F , Reusch U , Moldenhauer G , et al . Immunosuppressive properties of anti-CD3 single-chain Fv and diabody [J]. *J Immunol Methods* , 2004 , 285(1) : 111 - 127 .
- [13] Chatenoud L , Thervet E , Primo T , et al . Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1994 , 91(1) : 123 - 127 .
- [14] Utset TO , Auger JA , Peace D , et al . Modified anti-CD3 therapy in psoriatic arthritis : a phase I / II clinical trial [J]. *J Rheumatol* , 2002 , 29(9) : 1907 - 1913 .
- [15] Makhlof L , Grey ST , Dong V , et al . Depleting anti-CD4 monoclonal antibody cures new-onset diabetes , prevent recurrent autoimmune diabetes , and delays allograft rejection in nonobese diabetic mice[J]. *Transplantation* , 2004 , 77(7) : 990 - 997 .
- [16] Herold KC , Hagopian W , Auger JA , et al . Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus[J]. *N Engl J Med* , 2002 , 346(22) : 1692 - 1698 .

药物作用和治疗新进展 :G 蛋白偶联受体及信号转导相关新概念

王 勃编译 苏瑞斌审校

(军事医学科学院毒物药物研究所 , 北京 100850)

摘要 : 本文以临床上常用的与 G 蛋白偶联受体相关的药物为例 , 阐述了完全和部分激动剂、中性拮抗剂、反向激动剂和变构调节等概念的理论价值 , 以及这些概念在临床合理用药过程中的地位。此外 , 对受体信号转导过程的精细调节机制 , 例如激动剂介导的信号转导、受体转运、受体间相互作用及 G 蛋白调节物质的作用进行了探讨。对上述受体分子和信号转导药理基础理论的理解将有助于临床上合理的药物治疗。

关键词 : 药物作用 ; 治疗学 ; G 蛋白偶联受体 ; 信号转导

中图分类号 : R979.1 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-0971(2005) 01-0049-04

临床医生的理想是选择最佳药物和制定完善的药物治疗方案 , 而要达到合理和最优的药物治疗必须掌握相应的知识和技能。分子受体和信号转导药理的发展非常迅速 , 近年来出现了很多新的概念及药物作用的新模式。本文旨在帮助临床医生了解药

物作用、基础药理科学领域的新发展及其对临床治疗的价值 , 同时指出了未来药物治疗的趋势 , 重点阐述了 G 蛋白偶联受体(GPCR) 及其信号的转导机制。

1 受体的分类

神经递质、激素和药物与细胞表面的膜受体相互作用 , 引发一系列胞内事件(信号转导) , 最后导致

细胞功能变化。药理学受体主要有配体门控离子通道受体、蛋白激酶受体、GPCR 和转录因子受体。GPCR 是当前备受瞩目的受体超家族,它们普遍具有激活 G 蛋白的能力,其信号转导过程由受体(GPCR)、传导体(G-蛋白)、效应器(腺苷酸环化酶、磷脂酶 C、Ca²⁺ 通道、K⁺ 通道)三部分组成。GPCR 介导多种生物学功能,其药理作用和信号转导机制是研究热点。

由于已确认的受体数量极多,同时受体调节具有复杂性,且对其内源性配体和生理学功能仍不清楚,因此,目前对 GPCR 的分类仍存在很多困难。经典药理学对受体分类的主要是依据受体的内源性激动剂。随着分子生物学技术尤其是基因组学的发展,目前也可以通过编码受体的 DNA 和 mRNA(或 cDNA)来确认新受体。

近年来提出了孤儿受体这一概念,指的是尚未发现其内源性配体的受体,并认为内源性肽类可能是孤儿受体的配体。到 2002 年止,已发现 GPCR 中有 160 个孤儿受体,这些孤儿受体已成为治疗心血管疾病、免疫性疾病和癌症的潜在的药物新靶标。但由于对孤儿受体介导的生理及病理生理功能不清楚,加之试验中的种属差异及在体外研究中缺乏选择性配体,造成了新药研发的困难,因此,对孤儿受体的功能分析将是未来的研究目标,有可能提供新的药物靶标和新的治疗策略。

2 GPCR 和药物作用理论

对 GPCR 功能的理论研究有助于理解药物的作用和寻找新药物。GPCR 可能以多种构象存在,其中有些构象处于激活态,另一些处于非激活态,两者形成动态平衡。与药物治疗效应密切相关的受体理论模式是二态模型和三态模型。二态模型是指受体以激活态和非激活态的动态平衡存在。三态模型的平衡状态由一种非活性构象、两种活性构象存在,三者分别与不同的 G 蛋白偶联。在二态模型中,GPCR 在没有与药物结合时主要是以非活性构象状态存在,活性构象只占少量,但有一些 GPCR 的活性构象却占多数,因而受体本身介导了固有的生物效应,这种特性被称为受体组成型活性,受体活性构象的多少决定了其组成型活性的大小。

影响受体功能的药物必须对受体有亲和力,对受体活性构象和非活性构象具有选择性,因此影响受体功能的药物主要可分为三种。

2.1 完全和部分激动剂

一些内源性物质或药物对受体活性构象亲和力高,能使动态平衡由非活性构象向活性构象移动,受体的信号转导和药理作用增强。“效能”在临床上一般指治疗疾病的效果,但分子药理学中则常将激动剂增加受体活性构象的能力称作效能,激活受体活性构象的能力越强其效能越大。有时也用“内在活性”描述激动剂的药理学反应,通常认为效能高的药物其内在活性也强。

2.2 反向激动剂

药物对受体非活性构象的亲和力高于活性构象,受体的动态平衡向非活性构象移动。如果受体本身活性构象比例高,即受体的组成型活性水平高,则这些药物表现出负性效能,降低受体的生物效应。如果受体组成型活性水平低,反向激动剂就会作为中性竞争性拮抗剂发挥效应。很多以往被认为是竞争性拮抗剂的药物,最近被证明属于反向激动剂。

2.3 中性竞争性拮抗剂

药物对受体非活性构象和活性构象有同等亲和力,不产生生物效应,能竞争性拮抗激动剂和反向激动剂的作用。典型的药物是作用于 β-肾上腺素能受体的普萘洛尔。目前,对中性竞争性拮抗剂和反向激动剂在临床上作用的差异性还不清楚。长期使用反向激动剂可能会使受体上调,例如,组胺 H₂ 受体的反向激动剂西咪替丁、雷尼替丁使受体上调,中性拮抗剂布立马胺则无此现象发生。对一些由于 GPCR 组成型活性过高引起的疾病,反向激动剂也比中性拮抗剂有更好的治疗作用,如癌症、甲亢、自身免疫性疾病和某些病毒感染性疾病。

突触前受体能够通过反馈性机制,影响(促进或抑制)自身受体或异源受体的神经递质释放。突触前受体是研究外源性激动剂或拮抗剂类药物的理想靶标,在临床上也有重要意义。例如,新型抗抑郁药米他折平(mitazepine)阻断突触前异源 α₂ 受体调节去甲肾上腺素和 5-羟色胺的释放。神经镇静药氨磺必利(amisulpride)是作用于多巴胺 D₂/D₃ 自身受体的拮抗剂,能调节多巴胺的释放。非典型抗精神病药氯氮平和奥氮平治疗精神分裂症副作用小,也可能与作用于脑纹状体和边缘系统的自身和异源受体有关。

3 G 蛋白和信号转导

G 蛋白处于非活性状态时,α 亚基与 GDP 结合。

受体激活后与 G 蛋白结合, GTP 取代 α 亚基上的 GDP, 形成激活型的 G_{α} -GTP, 并与 $\beta\gamma$ 亚基 ($G_{\beta\gamma}$) 解离。 G_{α} -GTP 和 $G_{\beta\gamma}$ 能分别作用于效应蛋白。 G_{α} -GTP 发挥效应后被 GTP 酶水解成 GDP, 进而再与 $\beta\gamma$ 亚基结合, 重新形成非活性的 G 蛋白三聚体。

3.1 RGS 调节药物

在 GPCR 信号转导系统中, 除受体、G 蛋白和效应器外, 还有其他蛋白与 G 蛋白相互作用影响 GTP 循环, 调节受体信号转导途径。 G 蛋白信号的调节物质 (RGS) 是能够通过 G 蛋白调节信号转导的蛋白家族。 部分 RGS 具有激活 GTP 酶活性的功能, 也称为 GTP 酶激活蛋白 (GAP), 能增强 GTP 酶活性, 减少由于受体激活介导的信号过程, 进而削弱激动剂的作用。 有些 RGS 亦可以直接拮抗 G_{α} 效应分子, 阻断信号向效应蛋白传递; 也可能与 β 亚基结合后拮抗 $G_{\beta\gamma}$ 介导的生物效应, 还可以直接与受体结合或作为 G_{α} 效应分子调节信号转导通路。 目前, 已经确认了 RGS 的几个家族成员, 其中 RGS7, RGS4, RGS9 等亚型与疾病发生密切相关, RGS9 拮抗剂用于治疗帕金森病和 RGS4 用于治疗精神分裂症都可能会有良好的治疗作用, 但目前 RGS 调节剂尚未成药。

3.2 GPCR 信号的精细调节

GPCR 的数量很多, 但效应蛋白数量和信号转导通路非常有限, 因此, 维持多样化的细胞功能必然存在着某些特定的精细信号调节机制。 研究认为, 这种精细调节可能与 GPCR 和 G 蛋白偶联的特异性、膜结构、信号途径的互相调节有关。 一种 GPCR 可能与几种 G 蛋白偶联, 例如, α_2A -肾上腺素能受体分别与 G_i , G_s , G_q 偶联; 相反, 不同的 GPCR 可能与同一个代谢途径、同一类型的 G 蛋白偶联, 如 5-HT_{2A} 和毒蕈碱型乙酰胆碱 M₅ 受体都与 G_q 偶联。 因此, 某种细胞功能可能受到多种物质共同的精细调节。 信号途径互相调节是指信号转导通路之间可能存在的相互作用, 激活或抑制某种受体可以调节其他受体的反应。 临床上, 抑郁症、帕金森病的发病机制都与信号途径的相互作用有关。 膜结构指不同 GPCR 和 G 蛋白定位于特定的细胞膜微结构域, 而不是随机分布。 膜结构解释了不同细胞调节相同的信号转导通路的差异, 同时也能解释与相同 G 蛋白偶联的两种受体的信号并不会出现叠加。

激动剂定向的信号转导 (ADTRS) 理论认为, 激活 GPCR 后, 只能选择性刺激某一种 G 蛋白亚型, 激活一种代谢途径, 这可能是由于不同的受体活性状

态激活不同的 G 蛋白造成的。 只选择性激活一种受体活性状态的激动剂被称作配体选择性激动剂或受体活性状态选择性激动剂。 药物不仅对受体亚型有选择性, 而且对同一受体介导的代谢途径也有选择性, 能激活有利的代谢途径, 阻断不利的代谢途径。 与 ADTRS 有关的另一个新的概念是变构激动作用, 这种特殊的激动作用是指在不同系统中激动剂作用于同一受体, 既可能产生激动作用也可能产生反向激动作用。

受体的功能还可通过受体转运得到调节, 经典的受体转运包括激动剂诱导的 GPCR 激活、受体脱敏、受体内吞和受体再循环。 阿片、致幻剂的药物渴求行为与阿片受体的转运有关, 长期使用抗抑郁药、抗精神病药都与 5-HT_{2A} 受体下调有关, 调节多巴胺受体转运的药物对于帕金森病亦具有治疗作用。 受体脱敏和下调是可分的, 药物可以引起受体失敏, 但不一定诱发受体下调; 受体内吞对失敏受体的去磷酸化和再循环是必要的, 因此, 抑制受体内吞但不影响受体脱敏的药物会使处于失敏状态的受体数量增加, 例如, 吗啡和芬太尼会使脱敏的 μ 阿片受体大量增加。 吗啡和埃托啡处理小鼠 7 d 后导致耐受的产生, 但只有埃托啡能使受体下调, 表明阿片受体激动剂对转运蛋白的调节方式是不同的。 已有结果表明, L 型钙通道参与 μ 阿片受体的转运, 钙通道阻滞剂尼莫地平能阻断激动剂产生的受体下调, 提示受体转运过程也存在着相互作用。 δ 阿片受体表达增加或膜内受体向胞膜的转运加速均能发挥控制慢性炎症性疼痛的作用。 这些现象为开发用于控制炎症性疼痛的内源性脑啡肽类似物提供了启示。

GPCR 的信号转导精细调节的另一个机制是 GPCR 的二聚化和寡聚化。 受体二聚化对激动剂的有效结合和信号转导甚至产生新的药物结合位点都是必需的。 受体间既可形成同源二聚体, 也能形成异源二聚体, 例如腺苷 A₁ 受体可以与多巴胺 D₁ 受体形成二聚体, 因此, 腺苷受体也有可能成为治疗帕金森病的药物新靶点。 人们还意识到药物反应的个体化与群体化可能是由于基因的多型性造成的。 最近发现, 受体也存在基因多型性, 如 β_1 和 β_2 -肾上腺素能受体、5-HT_{2C} 受体。 临床上, 对纯合子 β_2 -肾上腺素能受体遗传密码子 16Arg/Arg 的病人应尽早高强度地进行抗炎治疗。 氟西汀可以引起小鼠 mRNA 的剪接发生变化, 从而对抗抑郁的产生。 此外, 在高血压病人、I 型假性甲状旁腺功能减退的病人都发现

了 G 蛋白的突变。

4 结语

认识 GPCR 发挥治疗作用的复杂药理学特性，

理解受体分子和信号转导药理学，能提高医生对目前及未来的药物治疗的有效实施，理解和预测药物可能的相互作用，改善治疗策略，进而提高病人的生活质量。

固体分散体的释药机制及其稳定性的研究进展

赵巧玲综述 高永良审校

(军事医学科学院毒物药物研究所，北京 100850)

摘要：阻碍固体分散技术商业化的主要因素包括贮存期稳定性、释药机制、扩大生产问题。本文介绍了溶出增加的机制和两种释药模型及其应用，讨论了影响贮存期稳定性的因素，并综述了近年来在提高和预测固体分散体稳定性方面的研究进展。

关键词：固体分散；稳定性；释药机制

中图分类号：R944.2 文献标识码：A 文章编号：1001-0971(2005)01-0052-05

1 概述

目前，由高通量药物筛选而得的活性物质约有 40% 是水难溶性的。许多有潜力的药物因为其低溶解度或低渗透性而严重影响了其在胃肠道的有效吸收^[1]。因此，提高难溶性药物的溶解度或溶出速率成为当今药剂学家面前最艰难的挑战之一^[2]。

虽然，制成盐、增溶、粒径减少、多晶型或溶剂化物等被广泛用来增加溶出以至提高口服吸收和生物利用度，但是这些方法本身都存在局限性。对于中性化合物和某些弱酸、弱碱来说，制成盐不切实际。即使可以得到盐，许多情况下，药物在胃肠道的溶出却未必增加，因为这些盐进入胃肠道后又转化成各自相应的酸或碱。通过有机溶剂或添加表面活性剂而制成的溶液剂则降低了患者的顺应性及商业化。较常用的粒径减少法存在粒径减少的限度及后续制剂处理困难、疏水性增加、有可能再聚集使粉末润湿性降低等问题。而多晶型或溶剂化物在溶解时可能会从亚稳态转化为稳定型^[3]。

亲水性载体制备的固体分散体(solid dispersion , SD)不仅解决了上述方法的大部分技术问题，而且能更显著地提高药物的溶解度和溶出度。然而，固体分散技术的商业应用非常有限，国内上市的中西药滴丸共有 20 多种，其中中国药典 2000 年版只有 6 种。目前，已上市的产品有：诺华(Novartis)公司的抗真菌药灰黄霉素(griseofulvin , Gris-PEG)；礼来(Lil-

ly)公司的抗焦虑药大麻隆(nabilone , Cesamet)；罗氏(Roche)公司的抗病毒药沙奎那韦(saquinavir , Invirase)；日本藤泽药业(Fujisawa)的免疫抑制药他克莫司(tacrolimus , Prograf)；西安杨森制药公司的抗真菌药伊曲康唑(itraconazole , Sporanox)^[3,4]。阻碍 SD 广泛商业化的因素，主要包括贮存期稳定性、释药机制、扩大生产问题^[3]。本文就 SD 释药机制及稳定性的研究进展进行综述。

2 释药机制

2.1 溶出增加的机制

SD 制备方法虽简单，但药物制成 SD 后溶出速率为什么会提高的机制至今不甚清楚。长期以来，制备方法和处方的选择仅凭经验，只知道结晶条件(如投料比、投料量、熔融温度、维持熔融的时间、冷却条件、溶剂种类和用量)对溶出的影响很大。已报道的机制包括(1)被包裹药物粒径的减少(2)药物从结晶转变成无定形(3)固态溶液的形成(4)药物与载体间的相互作用(5)减少了药物的再聚集和结块(6)增加了药物的润湿性(7)增加药物在载体扩散层中的溶解度等^[5]。通常是上述机制中的几条共同作用。然而，具体到 SD 的固态溶液构成和药物在 SD 中达到的粒径这两个对溶出影响最大的因素，却少有报道。传统熔融法研究多数未指明所得熔融混合物经冷却而得的是混悬物还是固态溶液。Verheyen 等^[5]通过一种改进的溶出实验表明，地西洋和替马西洋在 SD 和物理混合物(PM)中的粒径相