

## 药物代谢组学研究进展

黄寅<sup>1</sup>, 许凤国<sup>1,2\*</sup>, 张伟<sup>3</sup>, 王俊南<sup>4</sup>, 张尊建<sup>1,2\*\*</sup>(中国药科大学<sup>1</sup>药物质量与安全预警教育部重点实验室;<sup>2</sup>天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009;<sup>3</sup>澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门;<sup>4</sup>新加坡国立大学公共卫生学院, 新加坡 117597)

**摘要** 药物代谢组学是在系统生物学背景下, 代谢组学与药理学交叉、有机结合催生的一门新兴学科。它依托现代分析技术、化学计量学和生物信息学技术, 通过分析比较给药前后生物体液中中小分子代谢物轮廓的改变来进行药物疗效和毒性的评价、预测。本文对药物代谢组学的研究流程和应用等方面的最新进展进行了系统概括, 并对相关技术要点和存在的问题进行了讨论。

**关键词** 药物代谢组学; 系统生物学; 代谢通路; 生物标记物

**中图分类号** R242 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2013)02-0105-08

## Progress for pharmacometabolomics and its applications

HUANG Yin<sup>1</sup>, XU Fengguo<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Wei<sup>3</sup>, ONG Choonnam<sup>4</sup>, ZHANG Zunjian<sup>1,2\*\*</sup>

<sup>1</sup>MOE Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Natural Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; <sup>3</sup>State Key Laboratory of TCM Quality Research, Macau University of Science and Technology, Macau; <sup>4</sup>School of Public Health, National University of Singapore, Singapore 117597

**Abstract** Pharmacometabolomics, stemming from metabolomics, is one of the most recently emerged “-omics” sciences. It can be applied to monitor drug-related alternation in metabolic pathways and predict the therapeutic outcome by comparing the pre- and post-treatment metabolite profiles under the assistance of modern instrumental analysis, chemometrics and bioinformatics. This review summarized the recent progress in pharmacometabolomics and its applications. The critical technical points and pitfalls involved in pharmacometabolomic pipeline were also discussed.

**Key words** pharmacometabolomics; system biology; metabolic pathway; biomarker

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81274108); Open Project Program of State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University (No. SKLNMKF201220); Jiangsu Specially Appointed Professor Program (2012-2)

代谢组学 (metabolomics/metabonomics) 是 20 世纪 90 年代末期迅速发展起来的一门新兴组学 (-omics) 学科, 是系统生物学 (system biology) 研究的重要组成部分, 它主要通过组群指标分析, 定量研究生物体在内、外因素 (如遗传变异、疾病侵袭、药物干预、环境变化等) 作用下, 所含内源性小分子代谢物 (一般指 MW < 1 000) 种类、数量变化的动态规律及与生理、病理变化的关联<sup>[1-2]</sup>。代谢组学以生物体内参与物质传递、能量代谢和信息传导等代谢调控的全

体小分子物质即代谢组 (metabolome) 为研究对象, 这些内源性小分子代谢物处于生物信息流的末端, 它们的整体轮廓包含着基因组 (genome)、转录组 (transcriptome)、蛋白质组 (proteome) 变化及相互间协调作用的终极信息, 能直接反映生物体的表型 (phenotype) 特征。

代谢组学是在问题导向和应用驱动下, 现代分析技术与化学计量学、生物信息学技术融合促生的产物, 随着主要技术瓶颈被相继攻克, 代谢组学目前正进入快速发展

\* 收稿日期 2013-01-09 通信作者 \* Tel: 025-83271021 E-mail: fengguoxu@gmail.com

\*\* Tel: 025-83271454 E-mail: zzj@cpu.edu.com

**基金项目** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81274108); 天然药物活性组分与药效国家重点实验室开放课题资助项目 (No. SKLNMKF201220); 江苏特聘教授计划资助项目 [苏教师 (2012) 2 号]

期。1999~2012年13年间基于代谢组学研究的论文被SCI收录数和国家自然科学基金资助的科研项目数均呈现指数增长趋势(图1)。代谢组学已成为医学和生命科学领域的一新兴前沿研究热点,并在疾病诊断与预后、环境毒理学、食品营养科学、植物学等研究方向取得了突破性进展,展现出较强的科学潜能<sup>[3-6]</sup>。代谢组学与药学的紧密交叉、有机结合更是促生了药物代谢组学(pharmacometabolomics)这一重要分支<sup>[7-8]</sup>,它通过比较分析给药前后个体的代谢表型(metabolic phenotype)和反应表型(drug-reaction phenotype)来进行药物疗效或毒性评价、预测<sup>[9-11]</sup>。本文在笔者所在课题组多年研究基础上,对药物代谢组学研究的流程、技术要点和应用等方面的最新进展进行介绍。

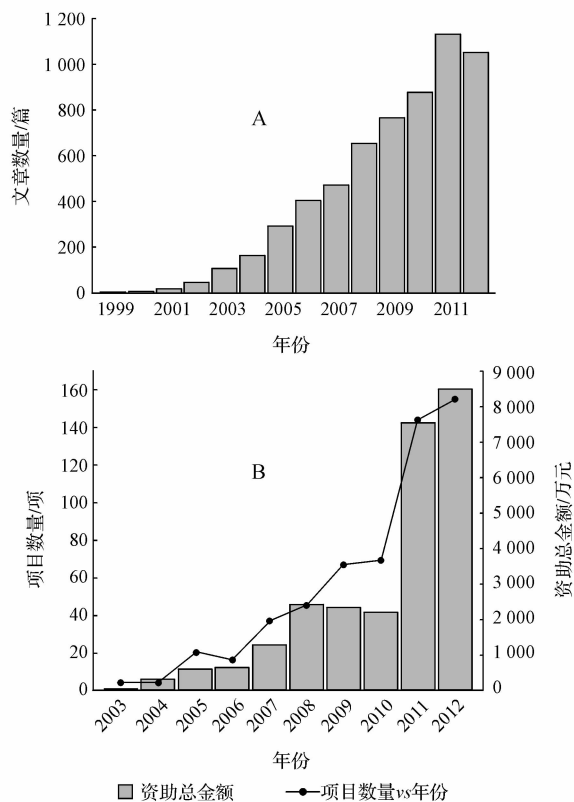


图1 基于代谢组学研究论文被SCI收录数(1999~2012,A)和国家自然科学基金资助的科研项目数(2003~2012,B)(截至2012年11月9日)

## 1 药物代谢组学研究流程及技术要点

完整的药物代谢组学研究流程包括生物样品采集、生物样品制备、数据采集、数据处理与分析等步骤(图2)。

### 1.1 生物样品选取与采集

药物代谢组学的研究对象按来源不同,可分为动物样本(尿、血清、血浆、组织、器官、唾液、肺泡冲洗液、脑脊液等)和人体样本(尿、血清、血浆、唾液、眼泪、头发等)。在选取生物样本种类时,既需充分考虑实验的目的、分析仪

器的特点,同时要兼顾实验动物和人体试验伦理学<sup>[12]</sup>。

血样和尿样由于易于采集且蕴含代表生物体整体特征的代谢物信息,是目前最常采用的样本类型。又由于两者所含代谢物在种类上各有偏重,具有互补性,因此多数情况下血液和尿液样本会被同时采集。需要特别提醒的两点是,由于采用了抗凝剂,在选取血浆时需考察所选用的抗凝剂是否会对小分子代谢物有影响;尿样虽然具有非侵袭性(non-invasive)的优点,但却也存在影响因素多、个体差异性大的缺点,一般需要通过加大样本数量的方法来弥补。

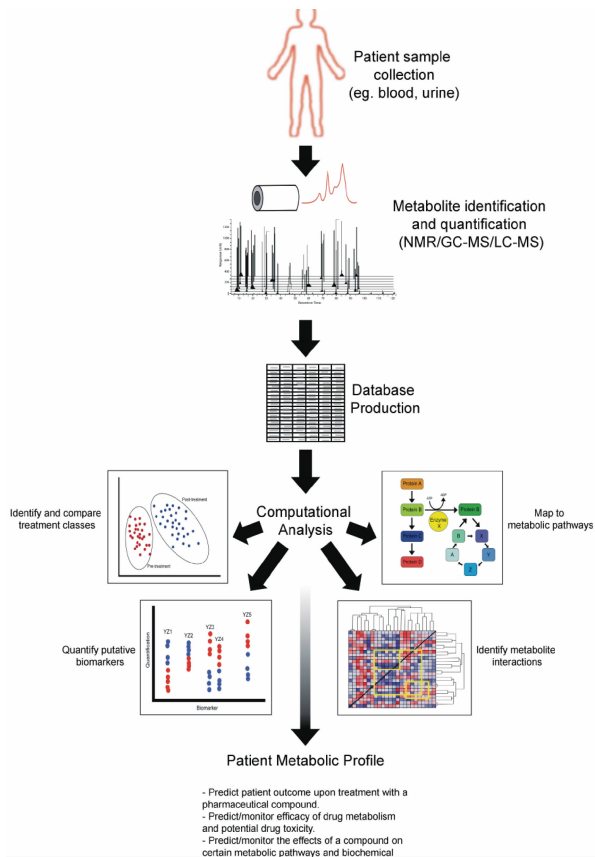


图2 药物代谢组学研究流程图

一般液体生物样本(尿、血样、唾液)的采集量为毫升级,固体生物样本(组织、器官)的采集量为毫克级,细胞培养样品按细胞数计为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 级。为确保样品的代表性,减少生物样本个体差异对结果的影响,需要采集足够数量的样本,同时要注意组间性别、体重、年龄、种族、饮食习惯、采集时间、取样部位的匹配问题。

由于生物样品易受残留酶、氧化还原反应等的影响,生物样品在采集后需立即进行灭活处理即“淬灭”,最常用的方法是冷冻处理(液氮、 $-80^\circ\text{C}$ 冻存)、冷冻干燥、冷甲醇( $-40^\circ\text{C}$ )处理等,应尽量避免采用强酸、强碱、高温等易引起代谢物降解的灭活方法。

### 1.2 生物样品预处理与制备

生物样品预处理与制备的目的是将待测物从复杂生

物质中提取出来,去除干扰杂质,转化为适合测定的物质形式,以提高灵敏度和选择性<sup>[13]</sup>。目前代谢组学研究中生物样品的提取方法主要包括液液萃取、冷冻干燥、加速溶剂萃取、超声波萃取、固相萃取、固相微萃取等,其中以预冷(-20℃或4℃)甲醇、甲醇-氯仿(3:1)液液萃取最为常用。处理组织样本时,冷冻干燥法具有定量可控、操作简便的优点,使用较多。由于尿液中尿素含量很高,其宽大GC/MS色谱峰往往容易掩盖相邻小的代谢物信息,因此多数情况下需采用尿素酶消解的方式处理。

最大程度的保留和体现代谢物信息,减少干扰信息(降解、干扰物引入)的产生是选取生物样本制备方法的核心原则。依据实验目的、生物样本种类和数据采集所用分析仪器的不同,所采取的样本提取制备步骤也有所差别<sup>[14-15]</sup>。例如,采用核磁共振(NMR)为数据采集手段时,对样本制备要求相对简单,样品一般只需要加入缓冲盐溶液调节pH,以减少酸碱度变化造成的化学位移偏差;若以气质联用(GC-MS)技术采集数据,样本在进样前需要做复杂的衍生化处理,最常用的是甲氧基胺肟化结合MSTFA硅烷化的两步衍生化法,以降低待测物的沸点、提高稳定性、增强质谱响应、调节色谱行为;液质联用(LC-MS)分析前,样本一般会加入有机试剂或过滤膜以除去大分子蛋白。

### 1.3 数据采集

核磁共振(NMR)、气质联用(GC-MS)和液质联用(LC-MS)是目前代谢组学研究中采用最多的用于数据采集的分析技术,自1999年以来,每年发表的基于这3种技术的代谢组学研究的文章数量在不断增加,3种技术各有优缺点,互为补充<sup>[16-19]</sup>。

NMR具有前处理简单、快速、非破坏等优点。根据样本的特性可选择液体高分辨NMR、高分辨魔角旋转(HR-MAS)NMR或活体核磁共振波谱(MRS)等多种检测手段,其中HR-MAS NMR用于组织样本直接测试有独特的优点<sup>[20]</sup>。此外,通过操控脉冲序列可以简化对样品前处理的依赖,如采用预饱和和法压制水峰,采用Carr-Purcell-Meiboom-Gill(CPMG)脉冲序列抑制血样中较宽的蛋白质信号等<sup>[21]</sup>。当然,NMR也面临着灵敏度低、检测动态范围有限的缺陷。

色谱-质谱联用技术具有高效、快速、高灵敏度、检测分离模式多样、结果易于阐释(变量与代谢物直接相关)等特性,但GC/MS和LC/MS亦各有缺陷:GC/MS代谢组学研究中具有“多峰多来源”这一特殊现象,影响后期代谢通路诠释;LC/MS分析面临的主要问题是共流出峰间的离子抑制/诱导作用、基质效应<sup>[22]</sup>。

NMR、GC/MS和LC/MS所得分子特征信息各有侧重,随着高磁场NMR(900 MHz)、液相色谱技术(UPLC、HILIC)和新型质谱技术(Q-TOF、Orbitrap、IT-TOF等)的不断出现,这几种分析技术的代谢物表征性能不断提

高<sup>[23-26]</sup>,综合运用多种分析技术进行代谢组学研究已成为趋势,这样一方面可提供更全面的代谢物轮廓信息,另一方面不同分析技术所得结果也可互为验证<sup>[27-28]</sup>。

### 1.4 数据处理与分析

代谢组学依托NMR、GC/MS或LC/MS所产生的原始谱图复杂、所含信息量大,不可能通过简单的图谱比较的方式来指认差异代谢物,因此需要借助化学计量学和生物信息学方法对原始数据进行信息挖掘和整合。代谢组学数据处理与分析技术是代谢组学研究的一核心技术,其步骤一般包括数据预处理、模式识别与模型评价、生物标记物筛选与鉴定、代谢通路分析与生物学意义阐释等<sup>[29]</sup>。

1.4.1 数据预处理 数据预处理是代谢组学数据分析的第一步,也是极为关键的一步,其主要目的是将原始谱图转变为数据矩阵,同时尽可能消除或减小实验和分析过程中带来的误差,保留与分类有关的大部分信息。数据预处理是后续多元统计分析、生物标志物筛选、代谢通路分析的重要前提<sup>[30-31]</sup>。

由于NMR、GC/MS和LC/MS检测对象和图谱中信息表现形式均不同,决定了基于NMR、GC/MS和LC/MS的代谢组学数据预处理步骤也有所区别:GC/MS和LC/MS这两种色谱质谱技术以气相离子为检测对象,其主要量化信息包括质核比( $m/z$ )、保留时间( $t_R$ )、峰面积,因此基于GC/MS和LC/MS的代谢组学数据预处理过程一般包括去噪音、峰识别、峰排列、对齐、合并、共有峰筛选(80%原则)、缺失值填补(missing value input)、归一化(normalization)、标尺化(scaling)等步骤,这些操作可采用XCMS、MZmine、Metalign、Metaboanalyst、Markerlynx、Mass Profiler Professional MPP、Profiling Solution、AMDIS、ChromaTOF等软件完成;基于NMR的代谢组学数据预处理过程一般包括相位校正(phase correction)、基线校正(baseline correction)、化学位移定标(chemical shift reference)、分段积分(或峰提取)、变量排列、对齐、合并、归一化、标尺化等步骤,目前,专门用于NMR数据预处理的软件主要有MestrelNova、Xwin NMR、MestReC、AMIX、KnowItALL、NMRPipe、Topspin、Hires、Autonics和MDAS等。需要特别强调的是,基于分段切割积分(binching)的NMR图谱分析与信息提取技术易受样品酸碱度的影响,同时造成变量不与代谢物直接相关即分析结果不一定存在实际意义。为解决这一弊端,加拿大Chenomx公司开发了Chenomx NMR Suite软件,可对各种生物样本核磁共振图谱做去卷积操作,结合标准数据库,直接提供各代谢物的定量结果,该软件是目前唯一可进行定量NMR(quantitative NMR,也称目标性NMR)代谢组学数据处理的软件。

1.4.2 模式识别与模型评价 原始谱图经数据预处理后,将得到一复杂的多维数据集即代谢物轮廓的量化表达,如果想将它与时间、病理生理过程及各种扰动因素联系起

来,则需采用多元统计分析的方法对高维复杂数据进行简化和降维,借助可视化的数学模型在低维空间从整体上对样品分组情况进行归纳、总结。模式识别(pattern recognition)是代谢组学研究中最常采用的一种多元分析方法,主要包括有监督分类(supervised classification)和无监督分类(unsupervised classification)两种,它们的本质差别在于各实验样本所属的类别是否预先已知。一般说来,有监督的分类往往需要提供大量已知类别的样本(训练集),常用的方法有偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)、人工神经网络、SIMCA 分类法等;而无监督的分类法则不依赖训练集,即不需要已知类别关系的样本进行指导,而是直接在特征空间中寻找点群或其他可以识别的数据结构,主成分分析(PCA)和聚类分析(clustering analysis)是代谢组学研究中常用非监督分类方法。目前,已有不少商业化软件或程序语言能够运行这些模式识别方法,代谢组学研究中常用的主要有 SIMCA-P、Unscrambler、Matlab、XCMS、Markerview、R 等。

上述这些模式识别的方法各有优缺点,按照它们的适用范围和试验目的不同,在代谢组学数据分析中往往选取 2~3 种方法进行整合运用。PCA 模型能反映数据的原始状态,在代谢组学研究中 PCA 主要用于初步概括各组样本间的总体分布情况、自然聚集状态、发现异常样本和方法学考察(主要根据质控样本聚集程度)等。组间差异与组内样本差异的相对大小影响着 PCA 模型的分类能力,当样本间差异较大而组间差异不明显时,该模型分类效果不好,不利于差异变量筛选。此时,为放大寻找组间差异,PLS-DA 和 OPLS-DA 分析就会被采用,两者都是以偏最小二乘法为核心算法的有监督的分类方法,它们的不同之处在于 OPLS-DA 将正交信号校正技术(orthogonal signal correction, OSC)内嵌入 PLS-DA,去除了与分类无关的变量(正交垂直),只保留与分类相关的变量。因此, OPLS-DA 模型具有更高的分类准确性,特别适合差异变量的筛选。

此外,ROC(receiver operating characteristic)分析是一种把灵敏度(TP)和特异度(1-FP)结合起来综合评价诊断准确度的一种方法,因此对于 PLS-DA 或 OPLS-DA 模型的评价,有时也以 Y 值和预测 Y 值做 ROC 诊断分析,以 ROC 诊断分析曲线下面积(AUC)作为综合评价模型预测能力的指标。

**1.4.3 生物标记物筛选与鉴定** 代谢组学研究的一个重要目的是从海量数据中筛选出差异性变量即潜在生物标记物,并深度挖掘其生化意义以指导相关生理病理机制的阐释。为提高筛选差异变量的准确性和可信度,往往采用多元统计分析和单变量统计分析相结合的策略,利用“多指标”来筛选和验证生物标记物。一般筛选步骤为:

(1)利用变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)对变量进行初筛, VIP 值是 PLS-DA 或 OPLS-DA

多元统计分析中评价变量的重要指标,一般认为  $VIP > 1$  的变量对分组有较大贡献,是潜在的生物标记物;

(2)通过 S-plot 或 SUS-plot 载荷图对上述初筛变量的可靠性进行验证,将和分类相关性低的变量剔除;

(3)剩余的变量进一步运用单变量统计分析的方法如方差分析、非参数检验、t-检验等进一步验证( $P < 0.05$ );

(4)以 ROC 诊断分析曲线下面积(AUC)作为差异变量准确度评价的指标。

对于筛选出的差异代谢物,其结构鉴定一直是代谢组学研究的软肋。无论是 NMR 还是 GC/MS 或 LC/MS,它们所能提供的可用于结构鉴定的参数都十分有限,而仅仅依靠单一的参数进行代谢物鉴定是不充分、不科学的。因此,一般需要 2 个以上的相互独立的数据和方式:如基于 NMR 技术的代谢物鉴定主要以化学位移为参数,利用标准品比对和数据库检索(Chenomx NMR Suite、HMDB)的方法进行,对于无标准品的代谢物,有时也以已发表文献数据作为参考,对结构进行推断;基于 GC/MS 技术的代谢物鉴定主要是利用保留指数和质谱图与通用或定制谱库(如 NIST、Fiehn GC-MS Database)进行匹配;由于缺乏通用的标准数据库,基于 LC/MS 技术的代谢物鉴定一般是以保留时间、准确分子量和多级别质谱裂解规律为参数,利用标准品比对和参考已发表文献数据的方法进行代谢物的鉴定。

**1.4.4 代谢通路分析与组学间数据整合** 代谢组学研究利用多参数标准筛选、鉴定出了差异表达的代谢物,要了解这些差异代谢物所代表的生物学涵义,需要进一步寻找它们所涉及的代谢通路以及与之相关的代谢物、酶、基因等。基于网络的(web-based)代谢组学综合处理软件 Metaboanalyst 所特有的代谢通路分析功能模块可在进行代谢网络富集分析和网络拓扑分析的基础上依据代谢网络得分 $-\log(p)$ 和 impact score 的大小,给出目标代谢通路(图 3)。

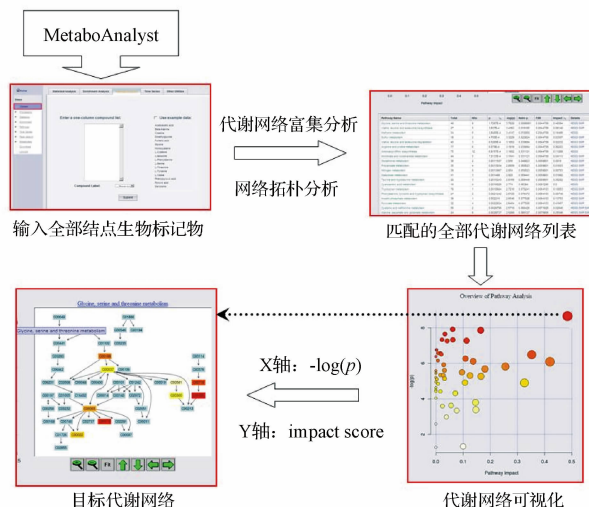


图3 从结点生物标记物到目标代谢网络的分析流程

代谢组学与基因组学、蛋白质组学等相互间的整合数据分析是目前组学研究的趋势,其结果将为从生物网络及蛋白质-基因-代谢物间的关联角度阐释相关生物学机制提供依据。组学数据间的整合一般需借助相关数据库如 HMDB、KEGG、Biocyc、Lipidmaps、PathDB、MMP 等,通过网络支架(scaffold)分析、建模等来实现。统计全相关谱(statistical total correlation spectroscopy, STOCSY)的方法被成功用于不同组学数据间的关联分析<sup>[32-33]</sup>。

## 2 药物代谢组学的应用

代谢组学经过十多年的发展,其方法和技术体系日趋成熟。代谢组学技术在药学研究的应用发展出了药物代谢组学这一分支,目前已被成功渗透到药学研究的各个方面和阶段,尤其在个体化药物治疗、中医药现代化研究、药物毒性评价与安全预警、新药创制与作用机制等多个研究方向展现出良好前景。

### 2.1 个体化药物治疗

基因、环境、生活习惯等多种因素均可影响机体对于药物的处置,从而导致个体间药物反应的差异。这些差异对于治疗窗较窄的药物临床应用造成了一定困难,因此,从千人一药、千人一量的对症下药,到量体裁衣的对人下药,成为未来医学的发展趋势<sup>[34]</sup>。个体化治疗(personalized therapy)涉及个体化的疾病易感性预测、诊断、治疗和治疗评价等多个环节,它强调和关注人体内在因素和个体差异在疾病诊疗上的影响和关联。由于代谢组学研究所揭示的是在基因与环境共同作用下,个体生物体系功能状态的整体特征,这就为以药物反应表型预测为基础的个体化治疗提供了新的技术平台。2006年,Clayton等<sup>[7]</sup>以对乙酰氨基酚所致肝脏毒性模型为研究对象,采用基于<sup>1</sup>H NMR的代谢组学技术,揭示出大鼠给药前代谢轮廓的差异与给药后肝脏损伤程度之间存在关联性。此后,国内外学者就药物代谢组学在个体化治疗中的作用展开了诸多研究<sup>[35-38]</sup>: Al Zweiri等<sup>[35]</sup>将125名癫痫症患者分为3组,分别服用3种抗癫痫药,运用NMR和UPLC-MS相结合的技术分析了患者治疗前后的血液样本,结果表明,药物代谢组学能够很好地预测机体对不同药物的反应,并找到生物预测物(biological predictor);Keun等<sup>[36]</sup>通过分析早期乳腺癌患者血清中代谢物的水平,成功预测了化疗对体重的影响。

上述这些研究表明,给药前生物样品中代谢物的水平可以用于预测机体未来的药物反应表型,这是药物代谢组学用于个体化治疗和指导临床合理用药的前提。由于基因是决定药物代谢和反应的另一重要因素,因此整合药物代谢组学与药物基因组学进行个体化药物治疗研究是一个新趋势<sup>[39-40]</sup>,但尚需要理论和方法学的突破。

### 2.2 整体观指导下的中医药现代化研究

代谢组学研究具有整体性、动态性、精细化的特点,这

与中医用药的基本哲学观点(整体观和辩证观)相符合<sup>[4,41-42]</sup>。因此,代谢组学在中药尤其是中药复方多组分、多靶点整体药效作用机制的研究中具有突出优势,并已成功用于川乌毒性评价<sup>[43]</sup>、人参治疗2型糖尿病<sup>[44]</sup>、银杏提取液治疗高脂血症<sup>[45]</sup>、通心络治疗血管内皮功能障碍<sup>[46]</sup>、六味地黄丸作用机制<sup>[47]</sup>等中药及复方制剂的研究。

此外,利用代谢组学可分析中药成分组成与产地、入药部位、采收期、加工炮制方式、储存时间的关系,(半)定量地进行中药质量评价;基于组学技术的中药方剂配伍机制的“化学物质组-代谢组学”整合研究也被逐步开展。

### 2.3 药物毒性评价与安全预警

药物的不良反应会引起组织、细胞中结构功能的改变,导致整体和局部代谢网络平衡,这种变化的一个直接体现就是内源性小分子物质轮廓图(代谢组)的改变。由于代谢组处于生物信息流的末端,因此与基因组学和蛋白质组学相比,代谢组学在发现毒性物质、揭示毒性规律、确定药物毒性靶组织、阐释毒性机制等方面更具有优势<sup>[48-52]</sup>。

Wei等<sup>[53]</sup>通过研究大鼠灌胃给药雄黄前后尿液和血液代谢表型的变化,发现高剂量的雄黄能扰乱机体的能量代谢、转甲基代谢、肠道菌群代谢、氨基酸代谢等代谢途径从而造成肝、肾等组织不同程度的损伤,他们还找到14种与之相关的潜在生物标志物;在此研究基础上,Huang等<sup>[54]</sup>采用LC-MS技术定量测定了其中7种潜在标志物用于评价雄黄的毒性作用。最近,Klawitter等<sup>[55]</sup>采用NMR和LC-MS结合的技术,分析了13名健康受试者口服环孢素后的尿液和血液样本,结果表明,尿液中代谢物(柠檬酸、马尿酸、乳酸、氧化三甲胺、肌酸酐、苯丙氨酸)的变化规律可以灵敏地反映环孢素对肾的不良反应。Lenz等<sup>[56]</sup>的研究揭示雌鼠尿液中牛磺酸、肌酸和胆汁酸的上调与普伐他汀肝毒性有关。

除上述基于代谢组学的药物毒性机制研究外<sup>[57]</sup>,利用代谢组学的预测能力也可进行药物安全预警研究,但这一方面的研究目前还非常缺乏。

### 2.4 新药创制与作用机制研究

药物治疗的最终目的是使代谢网络中缺陷的部分正常化,同时又不引起其他维系健康的代谢调控通路的改变。因此,给药前后生物体代谢物轮廓图的改变能反映出机体对药物作用的反应,通过探索这些变化的原因,就可在代谢网络调控角度阐释药物作用的靶点和过程、揭示药物的作用机制<sup>[58]</sup>。

在药物研发过程中,药物对整体动物模型疗效的评价是必不可少的环节。然而,具有相似遗传背景的实验动物,接受相同化学或饮食干预后,能够表现出不同的效应或毒性反应<sup>[59-60]</sup>。这使得整体动物实验的数据难以统计或重现,在一定程度上加大了新药评价的难度,甚至会掩



盖药物的实际疗效或毒性反应,为临床应用带来风险。因此,实验动物和模型筛选和验证也成为代谢组学新药临床前研究的一个重要方面。

### 3 展望

从2006年英国帝国理工学院 Nicholson 教授提出“药物代谢组学”这一概念,经过近年的发展,在借鉴代谢组学技术体系和方法的基础上,药物代谢组学也逐步形成自身的研究策略、理论和应用范围。现代分析技术的不断进步、各种生物信息学新算法的不断涌现都将进一步推动药物代谢组学的发展。实验操作的标准化和数据处理软件的集成化、开放化是当前药物代谢组学方法学领域研究的一大热点。基于药物与机体间相互作用的,以揭示“药物相关”物质基础为目的的化学物质组学、药物代谢产物组学、药物代谢组学、药物基因组学、药物转录组学和药物蛋白质组学的“药物系统生物学”整合策略(图4)必将成为后基因组时代药学研究的前沿,并在个体化药物治疗、新药创制、药物毒性评价与安全预警研究中发挥越来越大的作用。

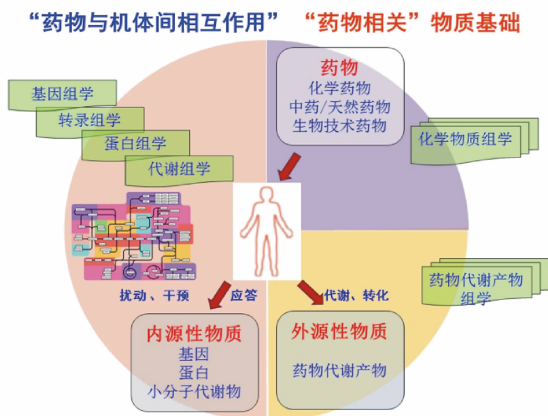


图4 基于药物与机体间相互作用,以揭示“药物相关”物质基础为目的的化学物质组学、药物代谢产物组学、药物代谢组学、药物基因组学、药物转录组学和药物蛋白质组学的“药物系统生物学”整合策略

### 参考文献

- [1] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. “Metabonomics”: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. *Xenobiotica*, 1999, **29**(11): 1 181 – 1 189.
- [2] Nicholson JK, Connelly J, Lindon JC, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, **1**(2): 153 – 161.
- [3] Lindon JC, Holmes E, Nicholson JK. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development[J]. *Pharm Res*, 2006, **23**(6): 1 075 – 1 088.

- [4] Zhang AH, Sun H, Wang ZG, et al. Metabolomics: towards understanding traditional Chinese medicine[J]. *Plantamedica*, 2010, **76**(17): 2 026 – 2 035.
- [5] Powers R. NMR metabolomics and drug discovery[J]. *Magn Reson Chem*, 2009, **47**(2): 2 – 11.
- [6] Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinshilboum RM. Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2008, **48**(5): 653 – 683.
- [7] Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, et al. Pharmacometabonomic phenotyping and personalized drug treatment[J]. *Nature*, 2006, **440**(7 087): 1 073 – 1 077.
- [8] Holmes E, Wilson ID, Nicholson JK. Metabolic phenotyping in health and disease[J]. *Cell*, 2008, **134**(5): 714 – 717.
- [9] Wilson ID. Drugs, bugs, and personalized medicine: pharmacometabonomics enters the ring[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, **106**(34): 14 187 – 14 188.
- [10] Bayet-Robert M, Morvan D, Chollet P, et al. Pharmacometabolomics of docetaxel-treated human MCF7 breast cancer cells provides evidence of varying cellular responses at high and low doses[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, **120**(3): 613 – 626.
- [11] Ji Y, Hebringer S, Zhu H, et al. Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011, **89**(1): 97 – 104.
- [12] Álvarez-Sánchez B, Priego-Capote F, Castro MDLD. Metabolomics analysis I. Selection of biological samples and practical aspects preceding sample preparation[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2010, **29**(2): 111 – 119.
- [13] Álvarez-Sánchez B, Priego-Capote F, Castro MDLD. Metabolomics analysis II. Preparation of biological samples prior to detection[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2010, **29**(2): 120 – 127.
- [14] Bruce SJ, Tavazzi I, Parisod V, et al. Investigation of human blood plasma sample preparation for performing metabolomics using ultrahigh performance liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2009, **81**(9): 3 285 – 3 296.
- [15] Römisch-Margl W, Prehn C, Bogumil R, et al. Procedure for tissue sample preparation and metabolite extraction for high-throughput targeted metabolomics[J]. *Metabolomics*, 2011, **8**(1): 133 – 142.
- [16] Theodoridis G, Gika H, Wilson I. LC-MS-based methodology for global metabolite profiling in metabonomics/metabolomics[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2008, **27**(3): 251 – 260.
- [17] Xu FG, Zou L, Ong CN, et al. Multiorigin of chromatographic peaks in derivatized GC/MS metabolomics: a confounder that influences metabolic pathway interpretation[J]. *J Proteome Res*, 2009, **8**(12): 5 657 – 5 665.
- [18] Xu FG, Zou L, Liu Y, et al. Enhancement of the capabilities of liquid chromatography-mass spectrometry with derivatization:

- General principles and applications [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2011, **30**(6):1 143 – 1 172.
- [19] Zhang S, Nagana Gowda GA, Ye T, *et al.* Advances in NMR-based biofluid analysis and metabolite profiling[J]. *The Analyst*, 2010, **135**(7):1 490 – 1 498.
- [20] Chan EC, Koh PK, Mal M, *et al.* Metabolic profiling of human colorectal cancer using high-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance (HR-MAS NMR) spectroscopy and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) [J]. *J Proteome Res*, 2009, **8**(1):352 – 361.
- [21] Wang Y, Bollard ME, Keun H, *et al.* Spectral editing and pattern recognition methods applied to high-resolution magic-angle spinning 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy of liver tissues [J]. *Anal Biochem*, 2003, **323**(1):26 – 32.
- [22] Xu FG, Zou L, Ong CN. Experiment-originated variations, and multi-peak and multi-origination phenomena in derivatization-based GC-MS metabolomics[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2010, **29**(3):269 – 280.
- [23] Li F, Lu X, Liu H, *et al.* A pharmaco-metabonomic study on the therapeutic basis and metabolic effects of Epimediumbrevicornum Maxim. on hydrocortisone-induced rat using UPLC-MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, **21**:397 – 405.
- [24] Manna SK, Patterson AD, Yang Q, *et al.* UPLC-MS-based urine metabolomics reveals indole-3-lactic acid and phenyllactic acid as conserved biomarkers for alcohol-induced liver disease in the Ppara-null mouse model [J]. *J Proteome Res*, 2011, **10**(9):4 120 – 4 133.
- [25] Guy PA, Tavazzi I, Bruce SJ, *et al.* Global metabolic profiling analysis on human urine by UPLC-TOFMS; issues and method validation in nutritional metabolomics [J]. *J Chromatogr B*, 2008, **871**(2):253 – 260.
- [26] Masson P, Spagou K, Nicholson JK, *et al.* Technical and biological variation in UPLC-MS-based untargeted metabolic profiling of liver extracts; application in an experimental toxicity study on galactosamine[J]. *Anal Chem*, 2011, **83**(1):1 116 – 1 123.
- [27] Jankevics A, Liepinsh E, *et al.* Metabolomic studies of experimental diabetic urine samples by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and LC/MS method[J]. *Chemometr Intell Lab Syst*, 2009, **97**(1):11 – 17.
- [28] Pan Z, Gu H, Talaty N, *et al.* Principal component analysis of urine metabolites detected by NMR and DESI-MS in patients with inborn errors of metabolism[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, **387**(2):539 – 549.
- [29] Wiklund S, Johansson E, Sjö L, *et al.* Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models[J]. *Anal Chem*, 2008, **80**(1):115 – 122.
- [30] Psihogios NG, Gazi IF, Elisaf MS, *et al.* Gender-related and age-related urinalysis of healthy subjects by NMR-based metabonomics[J]. *NMR Biomed*, 2008, **21**(3):195 – 207.
- [31] Kohl SM, Klein MS, Hochrein J, *et al.* State-of-the art data normalization methods improve NMR-based metabolomic analysis [J]. *Metabolomics*, 2012, **8**(Suppl 1):146 – 160.
- [32] Crockford DJ, Holmes E, Lindon JC, *et al.* Statistical heterospectroscopy, an approach to the integrated analysis of NMR and UPLC-MS data sets; application in metabonomic toxicology studies[J]. *Anal Chem*, 2006, **78**(2):363 – 371.
- [33] Mendrick DL, Schnackenberg L. Genomic and metabolomic advances in the identification of disease and adverse event biomarkers[J]. *Biomarkers Med*, 2009, **3**(5):605 – 615.
- [34] Siest G, Marteau JB, Visvikis-Siest S. Personalized therapy and pharmacogenomics: future perspective [J]. *Pharmacogenomics*, 2009, **10**(6):927 – 930.
- [35] Al Zweiri M, Sills GJ, Leach JP, *et al.* Response to drug treatment in newly diagnosed epilepsy: a pilot study of (1)H NMR- and MS-based metabonomic analysis[J]. *Epilepsy Res*, 2010, **88**(2/3):189 – 195.
- [36] Keun HC, Sidhu J, Pchejetski D, *et al.* Serum molecular signatures of weight change during early breast cancer chemotherapy [J]. *Clin Canc Res*, 2009, **15**(21):6 716 – 6 723.
- [37] Nicholson J, Wilson I, Lindon J. Pharmacometabonomics as an effector for personalized medicine[J]. *Pharmacogenomics*, 2011, **12**(1):103 – 111.
- [38] Sumner SJ, Burgess JP, Snyder RW, *et al.* Metabolomics of urine for the assessment of microvesicular lipid accumulation in the liver following isoniazid exposure[J]. *Metabolomics*, 2010, **6**(2):238 – 249.
- [39] Guțiu I, Andrieș A, Mircioiu C, *et al.* Pharmacometabonomics, pharmacogenomics and personalized medicine[J]. *Rom J Intern Med*, 2010, **48**(2):187 – 191.
- [40] Rosenfeld RG. Pharmacogenomics and pharmacoproteomics in the evaluation and management of short stature[J]. *Eur J Endocrinol*, 2007, **157**(Suppl 1):27 – 31.
- [41] Lao YM, Jiang JG, Yan L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, **157**(7):1 128 – 1 141.
- [42] Yuliana, ND, Khatib A, Choi YH, *et al.* Metabolomics for bioactivity assessment of natural products[J]. *Phytother Res*, 2010, **25**(2):157 – 169.
- [43] Dong H, Zhang A, Sun H, *et al.* Ingenuity pathways analysis of urine metabolomics phenotypes toxicity of *Chuanwu* in Wistar rats by UPLC-Q-TOF-HDMS coupled with pattern recognition methods[J]. *Mol Biosyst*, 2012, **8**(4):1 206 – 1 221.
- [44] Hu C, Wei H, Kong H, *et al.* Linking biological activity with herbal constituents by systems biology-based approaches: effects of Panax ginseng in type 2 diabetic Goto-Kakizakirats [J]. *Mol Biosyst*, 2011, **7**(11):3 094 – 3 103.
- [45] Zhang Q, Wang GJ, A JY, *et al.* Application of GC/MS-based metabonomic profiling in studying the lipid-regulating effects of Ginkgo biloba extract on diet-induced hyperlipidemia in rats[J].

*Acta Pharmacol Sin*, 2009, **30**(12): 1 674 – 1 687.

- [46] Dai W, Wei C, Kong H, *et al.* Effect of the traditional Chinese medicine tongxinluo on endothelial dysfunction rats studied by using urinary metabolomics based on liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, **56**(1): 86 – 92.
- [47] Wang P, Sun H, Lv H, *et al.* Thyroxine and reserpine-induced changes in metabolic profiles of rat urine and the therapeutic effect of *Liu Wei Di Huang Wan* detected by UPLC-HDMS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, **53**(3): 631 – 645.
- [48] Tang W, Lu AY. Metabolic bioactivation and drug-related adverse effects: current status and future directions from a pharmaceutical research perspective[J]. *Drug Metab Rev*, 2010, **42**(2): 225 – 249.
- [49] Beger RD, Sun J, Schnackenberg LK. Metabolomics approaches for discovering biomarkers of drug-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, **243**(2): 154 – 166.
- [50] Schnackenberg LK, Beger RD. The role of metabolic biomarkers in drug toxicity studies[J]. *Toxicol Mech Meth*, 2008, **18**(2): 301 – 311.
- [51] Amacher DE. The discovery and development of proteomic safety biomarkers for the detection of drug-induced liver toxicity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, **245**(4): 134 – 142.
- [52] Zira A, Mikros E, Giannioti K, *et al.* Acute liver acetaminophen toxicity in rabbits and the use of antidotes: a metabolomic approach in serum[J]. *J Appl Toxicol*, 2009, **29**(5): 395 – 402.
- [53] Wei L, Liao P, Wu H, *et al.* Metabolic profiling studies on the toxicological effects of realgar in rats by (1)H NMR spectroscopy[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, **234**(3): 314 – 325.
- [54] Huang Y, Tian Y, Zhang Z, *et al.* A HILIC-MS/MS method for the simultaneous determination of seven organic acids in rat urine as biomarkers of exposure to realgar[J]. *J Chromatogr B*, 2012, **905**: 37 – 42.
- [55] Klawitter J, Haschke M, Kahle C, *et al.* Toxicodynamic effects of ciclosporin are reflected by metabolite profiles in the urine of healthy individuals after a single dose[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2010, **70**(2): 241 – 251.
- [56] Lenz EM, Williams RE, Sidaway J, *et al.* The application of microbore UPLC/oa-TOF-MS and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy to the metabolomic analysis of rat urine following the intravenous administration of pravastatin[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, **44**(4): 845 – 852.
- [57] Watkins P. Biomarkers for the diagnosis and management of drug-induced liver injury[J]. *Semin Liver Dis*, 2009, **29**(4): 393 – 399.
- [58] Kouskoumvekaki I, Panagiotou G. Navigating the human metabolome for biomarker identification and design of pharmaceutical molecules[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 525497. doi: 10.1155/2011/525497.
- [59] Howells DW, Sena ES, O'Collins V, *et al.* Improving the efficiency of the development of drugs for stroke[J]. *Int J Stroke*, 2012, **7**(2): 371 – 377.
- [60] Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs[J]. *Seizure*, 2011, **20**(5): 359 – 368.

## · 本刊讯 ·

### 《中国药科大学学报》刊登“重大新药创制” 科技重大专项研究论文位居全国前列

为加快实现从“医药大国”向“医药强国”的转变,我国从2008年“十一五”期间全面启动了“重大新药创制”科技重大专项,以促进我国医药研究水平和医药产业的发展,作为中国药学会核心期刊的《中国药科大学学报》,瞄准国家科技发展战略目标,配合国家医药产业创新发展,注重刊登反映我国医药科技创新的各种基金资助的最新研究成果,经过中国知网(CNKI)2009-2012年的统计,《中国药科大学学报》位居中国“重大新药创制”标注论文的前10名,2009-2012年间,刊登各种基金论文的总量达2541次,位居全国第8位,充分反映了《中国药科大学学报》的学术水平和学术地位。

(本刊编辑部)