

配体 - 受体结合动力学在药物发现中的转化价值

Hongli Liu¹ | Haoran Zhang¹ | Adriaan P. IJzerman² | Dong Guo¹

¹中国徐州医科大学江苏省新药研究与临床药学重点实验室, 徐州, 中国

²荷兰莱顿大学莱顿药物研究中心 (LACDR) 药物发现与安全系, 莱顿, 荷兰

通信; 信件; 对应关系

中国江苏省徐州市铜山路 209 号徐州医科大学江苏省新药研究与临床药学重点实验室董国, 邮编: 221004。

电子邮箱: guo@xzhmu.edu.cn

阿德里安·P·伊泽曼, 荷兰莱顿大学药物发现与安全系, 莱顿药物研究中心 (LACDR), 邮编 2300 RA 莱顿, 荷兰, 莱顿大学邮政信箱 9502 号。

电子邮件: ijzerman@lacdr.leidenuniv.nl

资金信息

国家自然科学基金, 资助/奖励编号: 22077110, 22107090; 江苏省自然科学基金, 资助/奖励编号: BK20200106; 江苏省高校自然科学研究重大项目, 资助/奖励编号: 20KJA350001

摘要

将候选药物的体外效力 (通过传统药理学指标, 如 EC_{50} / IC_{50} 和 K_D / K_i 值来确定) 转化为体内疗效和安全性具有挑战性。驻留时间代表药物与靶点相互作用的持续时间, 它有助于更全面地理解体内药物与靶点相互作用的动态特性, 从而能够更好地预测药物的疗效和安全性。因此, 延长驻留时间有助于实现持续的药理活性, 而与副作用相关的靶点则可能更倾向于短暂的相互作用和较短的驻留时间。因此, 在药物发现和开发的早期阶段将驻留时间纳入考量, 已产生了许多具有良好体内疗效和安全性特征的临床候选药物。驻留时间研究的见解有助于将体外效力转化为体内疗效和安全性。进一步研究和改进驻留时间的测量及优化方法, 将为药物发现过程以及更安全、更有效的药物开发带来急需的助力。在这篇综述中, 我们总结了有关停留时间的最新研究进展, 从转化医学的角度强调了其重要性。

关键词

结合动力学、药物靶点相互作用、 k_{off} 、停留时间、翻译

1 | 引言

药物动力学效应, 无论是期望的治疗效果还是不良的副作用, 都取决于药物与其靶点的结合。传统上, 平衡结合参数, 即结合常数 (亲和力) 和最大结合容量 (饱和度), 是评估药物与靶点结合的关键指标。

达到半数最大效应所需的浓度 (EC_{50} 或 $ECIC_{50}$) 以及抑制常数 (K_i), 常被用于评估药物与靶点的相互作用。然而, 这些指标是在平衡条件下测量的, 并且在整个实验过程中假定药物分子和靶点的浓度保持恒定。由于体内存在诸如吸收、分布、代谢和排泄 (ADME) 等各类药代动力学过程, 这种平衡条件并不适用于体内开放、非平衡的环境 (Copeland, 2016)。因此, 尽管在这一领域投入了大量努力, 但体外到体内的转化成功率却一直令人失望。许多在体外表现出良好活性的候选化合物

Abbreviations: ADME, absorption, distribution, metabolism, and excretion; ADPKD, autosomal dominant polycystic kidney disease; Ang II, angiotensin II; CLL, chronic lymphocytic leukemia; eEF1A, eukaryotic elongation factor - 1 α ; EPS, extrapyramidal symptoms; KW/BW, kidney weight/body weight; MD, molecular dynamics; PAE, post - antibiotic effect; PBPK, physiologically based pharmacokinetic; PK, pharmacokinetics; REM, rapid eye movement; RT, residence time; sEH, soluble epoxide hydrolase; SPR, surface plasmon resonance; V2R, V2 receptor.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

©2023 The Authors. British Journal of Pharmacology published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of British Pharmacological Society.

例如，一些参数，如对预期靶点的高亲和力，在体外表现出色，但在体内却未能展现出预期的疗效（哈里森，2016 年）。因此，在药物研发的早期阶段，如何降低从体外指标到体内疗效的转化损耗，仍然是一个颇具挑战性的问题。

科佩兰及其同事通过回顾性分析已上市药物的动力学曲线发现，药物作用的有效性和持续时间在很大程度上取决于药物与靶点相互作用的持续时间（Knockenbauer & Copeland, 2023）。术语“驻留时间”被定义为药物-靶点二元复合物寿命的实验可测量表示，它是解离速率常数的倒数 (k_{off})（Copeland, 2005; Copeland, 2016; Tummino & Copeland, 2008）。在过去几十年里，驻留时间参数已从萌芽阶段发展成为药物设计和发现早期阶段不可或缺的衡量标准。越来越多的机制验证研究支持这样一个观点，即药物-靶点驻留时间参数能更准确地预测体内疗效和安全性（Berger et al., 2021; Ma et al., 2019; Zhang, Yan, et al., 2022）。药物-靶点复合物的缓慢解离是体内持续药理活性的重要因素（Copeland, 2016），而对于那些可能引发（靶点相关）副作用的靶点来说，短暂的配体-受体相互作用可能更有利。因此，将药物在靶点上的停留时间纳入药物研究的兴趣日益浓厚，这有助于发现具有最佳体内疗效和安全性的临床候选药物。表 1 中给出了几个例子，包括针对 D_2 受体、乙酰胆碱酯酶、 M_3 受体和 H_1 受体的药物。显然，具有长或短停留时间的化合物在体内疗效和安全性方面表现出明显的差异。

在这篇综述中，我们总结了有关药物滞留时间的最新研究进展，从转化医学的角度强调了其重要性。同时还讨论了围绕药物滞留时间存在的挑战以及对未来发展路径的见解。

2 | 从药理学角度看药物的停留时间

尽管诸如亲和力和药物分布等因素已被广泛研究以解释药物疗效和副作用的差异，但这些因素往往不足以说明问题。药物疗效或耐药性的差异有时无法仅通过比较亲和力和其他类似的药理学参数来解释（Karaman 等人，2020 年；Zhang、Yan 等人，2022 年）。将药物驻留时间纳入考量，能够为更好地理解药物作用机制及其副作用提供新的视角。我们从药理学角度总结了药物驻留时间与药物效果之间的关系，如图 1 所示。

2.1 | 药物与靶点相互作用的持续时间

药物只有在与各自的靶点结合后才会表现出活性，只要靶点被药物充分占据，药理作用就会持续存在。此外，药物在靶点上的停留时间越长，靶点附近的局部药物浓度就越高（Copeland, 2016; Vauquelin, 2010）。因此，药物作用的持续时间取决于其在靶点上的停留时间。

表 1 不同受体停留时间的代表性化合物及其各自的临床疗效。还给出了针对每个靶点的具有长或短停留时间的药物示例。

目标	复合物	停留时间	临床指征	具有长或短停留时间的化合物的临床效果	状态	参考：
D_2 受体	JNJ-37822681	9 秒	精神分裂症	JNJ-37822681 出现锥体外系症状的几率相对低于氟哌啶醇。	第二阶段	（朗格卢瓦等人，2012 年）
	氟哌啶醇	104 秒			市场推广的	（卡普尔等人，2000 年；朗格卢瓦等人，2012 年）
乙酰胆碱酯酶	化合物 12	134 秒	阿尔茨海默病	化合物 12 显著改善了认知障碍，且其有效剂量低于多奈哌齐。	第一阶段	（钱等人，2023 年；周等人，2021 年）
	多奈哌齐	34 秒			市场推广的	（周等人，2021 年）
M_3 受体	噻托溴铵	38 小时	慢性阻塞性肺疾病	噻托溴铵能持续舒张支气管，且用药次数少于异丙托溴铵。	市场推广的	（卡萨罗萨等人，2009 年）
	异丙托溴铵	0.32 小时			市场推广的	（卡萨罗萨等人，2009 年）
H_1 受体	比拉斯汀	73 分钟	过敏性鼻炎	比拉斯汀的 H_1 受体拮抗作用持续时间比苯海拉明长。	市场推广的	（博斯马等人，2018 年）
	苯海拉明	0.41 分钟			市场推广的	（博斯马等人，2018 年）

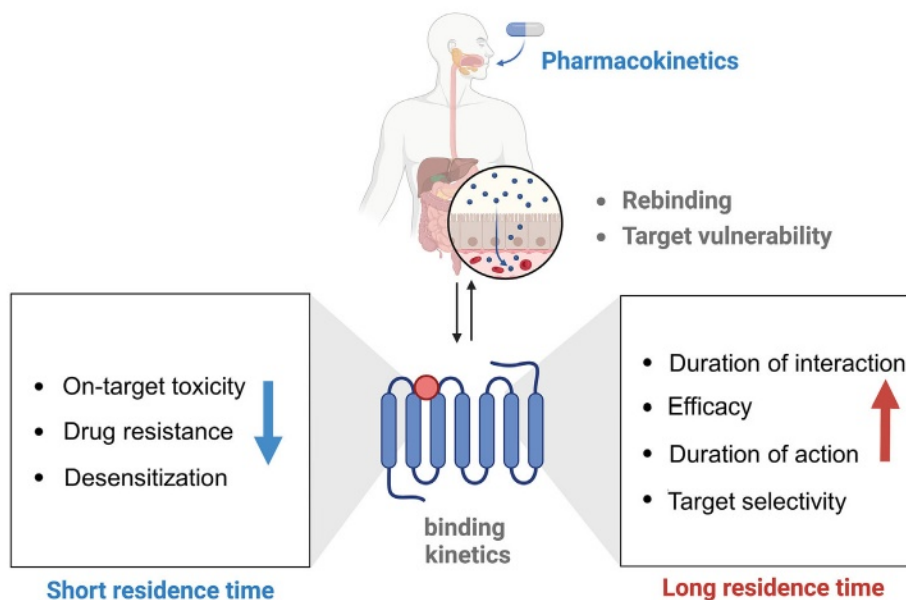


图1 从药理学角度总结的药物作用时间。右侧方框中的内容表明，延长作用时间有利于相应的药理作用（以G蛋白偶联受体作为典型靶点）。左侧方框中的内容表明，缩短作用时间有利于降低靶点毒性及脱敏，并与耐药性的产生有关。在将体外结合动力学转化为体内效应时，还应考虑全身药代动力学以及药物-靶点相互作用发生的“微区室”中的再结合和靶点易损性。该图由 BioRender.com 制作。

目标占有率会影响药物与其靶点相互作用的持续时间，从而影响药物疗效的持续时间和强度。例如，为了研究体外停留时间与体内药物-靶点相互作用持续时间之间的相关性，Lee 等人（2019 年）选择可溶性环氧化物水解酶（sEH）作为模型靶点，并确定了一系列具有相似 K_i 但与 sEH 相互作用停留时间不同的 sEH 抑制剂。他们证明了停留时间会影响体内药物-靶点相互作用的持续时间。

2.2 | 目标漏洞

将目标占有率转化为药物药效学，这依赖于占有率与效应之间的关系，而这种关系又取决于靶点的脆弱性，这是 Tonge 及其同事所定义和阐述的一个概念。靶点脆弱性是药物开发中的一个关键方面，因为它能直接影响实现预期药理学结果所需的药物暴露量。脆弱性低的靶点需要较高的占有率才能产生预期的生理效应，而脆弱性高的靶点则只需较低的占有率就能达到预期效果（Tonge, 2018）。药物与靶点的结合时间与靶点脆弱性相关，可用于评估这种脆弱性。Davoodi 等人发现，结合时间与抗生素后效应（PAE）之间的相关性可用于定义细菌靶点的脆弱性。就大环内酯类药物而言，其在大肠杆菌核糖体上的结合时间与 PAE 之间存在很强的相关性，这表明核糖体是一个高度脆弱的药物靶点。此

外，他们发现，增加药物与靶点的结合时间会延长药物的持久性（Davoodi 等人，2020 年）。然而，人们应当意识到，目标蛋白的周转率可能会削弱高易感性靶点的动态选择性优势。例如，Basu 等人发现，在野生型大肠杆菌中，EcLpxC 酶的快速周转会降低其抑制剂的持久性。然而，当 EcLpxC 的水平稳定下来时，持久性又会增强。这项研究强调了蛋白质周转在将持续的靶点占据转化为药物持久性方面所起的关键作用（Basu 等人，2021 年）。

2.3 | 药代动力学（PK）和停留时间

药物在全身循环中的药代动力学半衰期也会影响靶点占有率。有人认为药代动力学是药物疗效的主要驱动因素。达尔和阿克鲁德研究了一个同时考虑药代动力学和靶点结合动力学的简单模型，并得出结论：只有当解离速度慢于药物的消除过程时，药物在靶点上的停留时间才具有影响力。如果药物与靶点的结合时间短于或与药代动力学半衰期相当，那么药物对受体的占有率随时间的变化将与全身药物浓度的变化一致，药效学作用也不会延长。（达尔和阿克鲁德，2013 年）。然而，有很多药物即使在大部分药物已被清除出体外后仍能显示出持续的药效学作用（科佩兰，2016 年；图米诺和科佩兰，2008 年）。这可能是由于靶点结合动力学的延长，但不幸的是，这种情况并非总是有记录可查。

2.4 | 居留时间对药物疗效的影响

许多研究都提供了令人信服的证据表明，药物在体内的药理活性主要受其与靶点的驻留时间影响，而非结合亲和力（Cusack 等人，2015 年；Martella 等人，2017 年；Zhang, Yan 等人，2022 年；Zhou 等人，2021 年）。例如，Zhang 等人开发了 10 种血管加压素 V_2 受体拮抗剂，这些拮抗剂在该受体上的驻留时间和解离常数各不相同，并研究了它们对常染色体显性多囊肾病（ADPKD）的影响（Zhang, Yan 等人，2022 年）。他们使用选择性敲除 Pkd1 基因的肾脏小鼠来研究这些 V_2 受体拮抗剂的体内活性。结果表明，对肾囊肿发育和生长的抑制作用与化合物的驻留时间相关，而非其亲和力（图 2）。同样，Liu 及其同事发现了一种新一代乙酰胆碱酯酶抑制剂（氟吡斯的明），其与靶点的驻留时间比阿尔茨海默病一线药物多奈哌齐长四倍（Zhou 等人，2021 年）。因此，在不同的认知障碍小鼠模型中，氟苯哌齐的有效剂量远低于多奈哌齐。这些研究表明，减缓药物从其靶点解离的速度可能会提高其疗效。

2.5 | 药物作用持续时间

药物作用持续时间是指药物在体内产生治疗效果的时间长度。药物作用持续时间是一个重要的药理学参数，因为它直接影响体内治疗效果的强度和持久性。例如，在关于组胺受体拮抗剂的研究中（Bosma

等人，2018 年），对比拉司汀和苯海拉明的特性进行了比较和分析。尽管这些化合物对 H_1 受体的结合亲和力相似，但它们的解离速率常数却相差超过 100 倍。比拉司汀在 H_1 受体上的药物靶点驻留时间为 73 ± 5 分钟，远长于苯海拉明（ 0.41 ± 0.1 分钟），这使得即使未结合的 H_1 受体拮抗剂被洗脱，其 H_1 受体拮抗作用仍能持续较长时间。因此，比拉司汀在体外的长驻留时间可以解释其在体内作用时间长的原因。此外，在关于 5-HT₇ 受体的研究中（Penna 等人，2022 年），突出了驻留时间在药效学中的重要性。作者对两种 5-HT₇ 受体激动剂进行了比较分析，这两种激动剂具有相似的受体结合亲和力，但作用时间不同，以刺激 5-HT₇ 受体介导的神经突生长。具有较长作用时间（24 分钟）的 LP-211 的效果在刺激 2 小时后开始显现，并持续 4 小时，之后逐渐减弱。与 LP-211 相比，作用时间较短（8 分钟）的 5-HT₇ 受体激动剂对神经突生长的刺激作用开始得更早（30 分钟），结束得也更快（2 小时）。这些发现表明，在药物开发和转化过程中考虑作用时间具有重要意义，因为它会影响药物作用的效力和持续时间。

2.6 | 重新装订

药物在体内的作用持续时间也会受到药物再结合的影响，即游离的药物分子持续与受体结合。

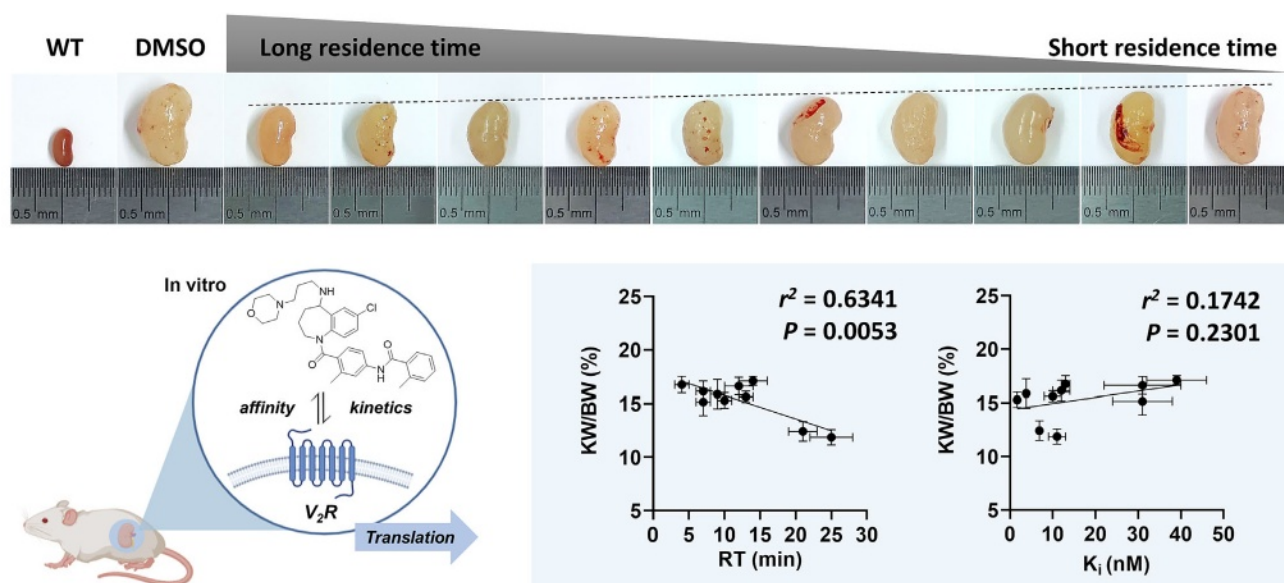


图 2 显示了 10 种 V_2 受体拮抗剂对肾囊肿发育和生长的抑制作用（以肾脏重量/体重；KW/BW 表示）与目标驻留时间（RT）相关，但与亲和力（ K_i ）无关（ V_2 R）。该图改编自 Zhang, Yan 等人（2022 年）。

重新结合为延长药物作用时间提供了额外的机会。例如，Wang 等人 (2022 年) 发现了一种潜在的抗癌药物 SR-A3，它作用于真核生物延伸因子 1 α (eEF1A)，表现出增强的驻留时间和重新结合动力学，在细胞短暂暴露后具有持久的抑制作用。SR-A3 单药治疗以剂量依赖的方式显著延长了荷瘤小鼠的生存期，并且耐受性良好。同样，Petrov 等人对 C-547 在大鼠体内的药代动力学进行了研究，使用重症肌无力的啮齿动物模型来考察其作用持续时间 (Petrov 等人, 2018 年)。由于 C-547 在乙酰胆碱酯酶 (AChE) 上的驻留时间延长，它对趾长伸肌的作用持续了超过 96 小时。这使得在神经肌肉接头的受限环境中能够发生微药效学，从而导致 C-547 的后续重新结合并减缓其从肌肉中的清除。与用于重症肌无力姑息治疗的其他胆碱酯酶抑制剂相比，C-547 的高选择性和长效性使其成为一种很有前景的候选药物。综合来看，这些结果表明药物的再结合能够延长其临床疗效。

2.7 | 目标选择性

在临床前药物优化过程中，必须对靶点选择性进行审慎考量。靶点选择性通常通过计算药物对脱靶的 IC_{50} 或 K_D 值与对主要靶点的 IC_{50} 或 K_D 值的比值来评估 (Tummino & Copeland, 2008)。这种选择性的定义指的是热力学选择性，它是从平衡结合试验中得出的。需要注意的是，热力学选择性不一定与动力学选择性相关，即使没有热力学选择性，动力学选择性也可能存在 (Tonge, 2018)。此外，热力学选择性并不能反映开放系统中主要靶点和副靶点占有率随时间的变化。因此，为了更准确地衡量靶点选择性，有必要考虑主要靶点和副靶点受体随时间的变化情况 (Tummino & Copeland, 2008)。换句话说，在给药期间，如果药物在主要靶点上的停留时间较长，而在副靶点上的停留时间较短，则表明其具有较高的靶点选择性。相反，一种药物在旁系受体上的停留时间过长可能会引发更多的安全性担忧 (Copeland, 2016; Tummino & Copeland, 2008)。激酶抑制剂索拉非尼的动态选择性分析就是一个典型的例子 (Neumann 等人, 2011)。Neumann 等人分析了索拉非尼在 15 种潜在激酶靶点上的停留时间。结果发现，索拉非尼对 CDK8/CycC 和 DDR1 的结合活性相似，分别为 30 nM 和 72 nM。尽管从热力学角度来看，索拉非尼对这两个靶点的选择性并不显著，但从动力学角度来看，索拉非尼在 CDK8/CycC (停留时间 = 576 分钟) 和 DDR1 (停留时间 = 24 分钟) 上的停留时间

差异显著。体内抑制效果表明，7 小时后，快速解离的 DDR1 已完全不受索拉非尼抑制，而缓慢解离的 CDK8/CycC 仍有 90% 被索拉非尼抑制，显示出显著的动力学选择性。此外，Berger 等人报道了两种结构高度同源的激酶 FAK 和 PYK2 之间动力学选择性的结构基础 (Berger 等人, 2021 年)。他们发现，通过诱导 FAK 的 DFG 基序形成螺旋结构来延长化合物在 FAK 上的驻留时间，但对 PYK2 无效，从而增强了化合物对 FAK 的选择性，避免了脱靶毒性。同样，用于治疗慢性阻塞性肺疾病的药物噻托溴铵在两种高度同源的受体 (M1 和 M3) 上的解离速率差异很大，对 M1 受体的解离速率较慢 ($t_{1/2}$ = 27 小时)，而对 M3 受体的解离速率较快 ($t_{1/2}$ = 2.6 小时)，尽管它对这两种受体的亲和力相似 ($M1$ = 10.7; $M3$ = 11.0) (Casarosa 等人, 2009 年)。后续研究显示，氨基酸 G198 (在两种亚型之间不保守) 和细胞外环的灵活性是 M1 和 M3 受体之间动力学选择性的主要因素 (Tautermann 等人, 2013 年)。因此，从动力学角度 (如驻留时间) 优化药物对靶点的选择性，能够更有效地提高其疗效和安全性。

2.8 | 目标毒性

具有长停留时间的药物能够延长对预期靶点的占据时间，提高药效，并减少脱靶副作用。然而，过长的停留时间可能会产生不利甚至有害的后果。这种内在不良事件被称为靶向毒性或基于机制的毒性。抗精神病药物作用于多巴胺 D_2 受体所引起的锥体外系症状 (EPS) 就是这种效应的一个明显例子。氯氮平、喹硫平、奥氮平和氟哌啶醇是多巴胺 D_2 受体拮抗剂，它们的停留时间各不相同。许多研究表明，由于氯氮平、喹硫平和奥氮平在多巴胺 D_2 受体上的停留时间较短 (分别为 19.6 秒、43.5 秒和 55.6 秒)，与氟哌啶醇 (停留时间 = 100 秒) 相比，氯氮平类拮抗剂引起 EPS 的发生率显著降低 (Kapur & Seeman, 2000; Langlois 等人, 2012; Sahlholm 等人, 2016)。因此，有人提出，对于靶向毒性药物，快速解离且停留时间较短是更可取的。然而，停留时间可能并非氯氮平引起极少甚至无相关 EPS 的唯一因素。近期，Sykes 等人的一项研究指出，抗精神病药物与多巴胺 D_2 受体的结合率 (而非解离率) 与其引起锥体外系症状 (EPS) 的发生率呈正相关 (Sykes 等人, 2017 年)。此外，除了 D_2 受体外，与其它受体的结合被认为是氯氮平和喹硫平这类药物 EPS 发生率低的另一个原因 (Meltzer, 2000 年)。与 D_2 受体相比，它们对 D_2 受体的占有率较低，这可能是其 EPS 发生率低的又一原因。

(朗格卢瓦等人, 2012 年)。相比之下, 发生锥体外系症状 (EPS) 几率较高的药物, 如氟哌啶醇, 特异性地与 D_2 受体结合, 而不与 $5-HT_{2A}$ 受体结合。

2.9 | 耐药性

药物作用时间缩短与耐药性有关。 Lyczek 等人提出, 靶点突变可通过提高配体解离速率导致耐药性, 从而缩短药物作用时间并降低靶点抑制作用 (Lyczek 等人, 2021 年)。特别是, 他们发现 Abl 受体中的三个突变 (N368S、V299L 和 G251E) 可导致对伊马替尼的耐药性, 对于这些突变, 伊马替尼与野生型和突变型 Abl 的结合亲和力相似, 但与所有三种突变型的解离速度更快。鉴于药物作用时间对药效的重要性, 改变结合动力学的突变可能会导致耐药性。

2.10 | 脱敏

研究表明, 配体 - 受体相互作用动力学是脱敏的决定因素 (Duarte 等人, 2022 年)。血管紧张素 II (Ang II) 是血管紧张素受体的激动剂, 可导致显著的脱敏。反复给予 Ang II 会导致不同平滑肌的反应性大幅降低。Duarte 等人使用生物发光共振能量转移测定法研究了不同配体解离动力学在血管紧张素受体脱敏中的作用 (Duarte 等人, 2022 年)。他们发现 Ang II 在血管紧张素受体上的停留时间延长是导致脱敏的关键因素。Ang II 较长的停留时间 (表现为较低的解离速率) 会导致受体持续激活和长时间内存, 进一步抑制受体反应。因此, 受体再循环到质膜的速度减慢, 重新敏感化的受体减少, 最终导致脱敏和药物疗效不佳。具有短停留时间的 Ang II 类似物可实现更短暂的受体激活和内存。受体随后早期再循环至质膜, 使得受体能够进一步作出反应, 这反过来又降低了脱敏程度。因此, 了解激动剂配体与受体相互作用的动力学特性, 并优化此类配体的停留时间, 对于减轻脱敏现象和提高药物治疗效果具有重要意义。

3 | 从化学角度看待停留时间

随着对药物作用时间的关注日益增加, 在从活性化合物到候选药物的过程中, 人们常常采用基于动力学的结构优化方法 (Basak 等人, 2022 年; Berger 等人, 2021 年; Cao 等人, 2023 年; Liu 等人, 2022 年; Vo

ss 等人, 2021 年)。这些研究共同表明, 在从活性化合物到候选药物的优化过程中, 许多因素可能会影响药物的作用时间。这些因素包括化合物的结构修饰、配体与靶点之间的结合稳定性、能量势垒以及其他相关因素 (Du 和 Wang, 2020 年; Soethoudt 等人, 2018 年; Tian 等人, 2021 年; Veber 等人, 2002 年)。我们将分别讨论其中的一些因素, 同时也要认识到, 例如, 改变“结合稳定性”也会对未结合和结合状态的靶点之间的能量势垒产生影响。

3.1 | 能量屏障对药物-靶点驻留时间的影响

配体从蛋白质上解离需要克服相当大的能量障碍。这种能量障碍主要是焓变, 因为解离需要蛋白质和配体的运动性增强, 从而有利于熵变的贡献。因此, 增加蛋白质 - 配体相互作用的焓变贡献可能会促进解离速度变慢, 从而延长药物与靶点的结合时间 (Tummino & Copeland, 2008)。基于这一原理, 药物与靶点的结合时间可以通过调节结合反应坐标上基态和过渡态之间的能量障碍大小来调节。例如, Tian 等人发现了一种新的 COX-2 抑制剂, 其具有较长的结合时间, 这是通过稳定基态以提高热力学效率或破坏过渡态以增加内部能量障碍实现的 (Tian 等人, 2021)。同样, Spagnuolo 等人发现, 一种含三唑的二苯醚在 InhA (结核分枝杆菌的 FabI 烯酰 - ACP 还原酶) 上的结合时间更长, 这是由于过渡态的不稳定 (Spagnuolo 等人, 2017)。随后, 他们开发了一种基于三唑的抑制剂, 通过添加大体积的侧链来引入空间位阻, 从而提高了能量势垒, 使抑制剂在 InhA 上的停留时间延长。此外, Schuetz 等人发现, 在配体朝向疏水结合口袋的部分引入极性取代基, 可增加配体脱溶剂化势垒。结果表明, 这减缓了化合物进入热休克蛋白 90 疏水口袋的结合速率 (Schuetz 等人, 2018 年)。作为配体结合的逆过程, 引入的脱溶剂化势垒使配体解离过程延长了九倍。综上所述, 这些研究表明能量势垒在药物与靶点的结合时间中起着关键作用。增强配体与受体相互作用的焓变贡献可以促进更慢的解离, 从而延长结合时间。

3.2 | 结合稳定性对药物-靶点驻留时间的影响

除了能量方面, 配体与靶点之间的结合稳定性对于作用时间也很重要 (杜和王, 2020 年;

Suchankova 等人 (2022 年) ; Zhang、Han 等人 (2022 年) 。药物分子与结合口袋结合时所引发的结构变化,若能进一步增强分子间的相互作用,将延长其在靶点上的驻留时间 (Copeland, 2016 年) 。例如, Zhang 等人通过分子动力学模拟确定了苯氧基苯酚衍生物作为 InhA 直接抑制剂的关键结构基序。他们发现, PT119 和 PT506 抑制剂中的氨基与 NADH 中焦磷酸盐部分的羟基形成氢键,使得抑制剂在从靶点解离时需要更长时间来克服该氢键 (Zhang、Han 等人, 2022 年) 。在另一项研究中, Suchankova 等人发现,在吡唑并吡啶并嘧啶支架上引入 3-苯基、7-苄氨基和 1-甲基基团后,腺苷受体拮抗剂具有较长的驻留时间。该化合物与 F171 形成 π - π 相互作用,并与 N254 形成氢键以稳定受体,从而对腺苷 A₁ 受体表现出高亲和力和长驻留时间 (Suchankova 等人, 2022 年) 。总之,药物与靶点之间通过形成有利的相互作用而实现的结合稳定性,是影响药物驻留时间的关键因素,在药物设计和开发过程中可以进行策略性优化。

3.3 | 微小结构变化对停留时间的影响

配体分子结构的细微变化,例如取代基位置和物理化学性质的改变,可能会导致显著的动力学变化。例如,对一组基于芳基哌嗪的 5-HT₇ 受体配体进行的结构-动力学关系研究表明,连接到哌嗪环的芳基部分上极性基团的位置会影响药物与靶点的结合时间和效力 (Penna 等人, 2022 年) 。在另一项研究中, Soethoudt 等人以 CB₂ 受体部分激动剂 (LEI101) 的结构支架合成了 24 种化合物。作者系统地研究了取代基的物理化学性质对 CB₂ 受体激动剂结合动力学的影响。他们发现 CB₂ 受体中存在一个亲脂性结合域,针对该口袋可延长化合物的停留时间 (Soethoudt 等人, 2018 年) 。在另一项研究中, Cao 等人合成了并分析了一系列苯二氮草衍生物作为 V₂ 受体拮抗剂的结构-动力学关系。他们的研究表明,细微的结构修饰能够显著改变化合物的结合动力学,而对其结合亲和力影响不大。例如,在化合物中苯氧基的间位引入吸电子基团可延长其驻留时间。苯甲酰胺基团上优选的较大芳香族取代基也与更长的驻留时间相关 (Cao 等人, 2023 年) 。这些实例揭示了特定取代基的物理化学性质对药物分子结合动力学及其药理学的影响,这有助于设计和开发具有理想结合动力学的药物。

4 | 从体外动力学至体内疗效的转化中存在的差距

4.1 | 将药物-靶点驻留时间纳入药物疗效预测

药物在体内的作用时间是其疗效的一个关键因素。然而,目前缺乏将药物与靶点的作用时间整合到药物疗效预测中的工具,这阻碍了药物靶点动力学在药物研发流程中的应用。为了解决这一难题,德维特及其同事开发了动力学整合模型,用于预测药物在血浆和组织中与靶点结合的持续时间 (德维特等人, 2016 年) 。作者强调,在分析药物靶点结合动力学对靶点占有率的影响时,应将靶点饱和度纳入考量,因为当靶点接近饱和时,靶点占有率的持续时间可能不仅仅由 k_{off} 决定 (德维特等人, 2018 年) 。在另一项研究中,沃克普等人开发了一个包含药物靶点动力学参数的 PK-PD 模型 (沃克普等人, 2015 年) 。他们的研究表明,通过测量一系列化合物的 PAE,该模型能够准确预测全细胞水平上时间依赖性的抗菌活性。有趣的是,人们发现药物效应持续时间 (PAE) 与抑制剂从靶点解离的解离速率相关,而非化合物与靶点的热力学亲和力。近年来,基于生理的药代动力学 (PBPK) 模型作为一种强大的技术应运而生,能够准确地估算药物在血液和组织中的动态浓度-时间曲线。将停留时间与 PBPK 模型相结合是一种有效的方法,正如在对托匹洛昔的回顾性研究中所展示的那样 (Luo 等人, 2020 年) 。通过将 PBPK 模型与药物-靶点停留时间模型相结合,预测了托匹洛昔在人体内的药代动力学和药效学,从而全面了解了口服给药后的药物吸收和分布情况。此外,作者还揭示了托匹洛昔在黄嘌呤氧化还原酶上的长停留时间对其体内持久的药效学作用起着关键作用。

4.2 | 居留时间的检测方法和模型

目前,确定/预测配体-受体驻留时间的方法分为两类。第一类涉及“湿”实验,例如放射性配体结合测定、基于荧光配体的技术以及表面等离子体共振方法 (SPR) 。第二类涉及计算模拟,例如分子动力学模拟和机器学习方法。由于已有综述对动力学测量的方法或模型进行了详尽的阐述 (Guo 等人, 2014 年; Hoffmann 等人, 2015 年; Tautermann, 2016 年) ,在此我们仅提供一些关于计算/预测驻留时间的方法和模型的背景信息。

对于湿实验,检测停留时间的经典方法之一是放射性配体结合测定法。简而言之,过量的放射性配体与受试物质混合,然后通过测定配体与受试物质的结合程度来推算停留时间。

使用未标记的配体来竞争与受体结合的放射性标记配体的结合。然后通过测量随时间变化的复合物中剩余放射性标记配体的浓度变化来确定解离速率常数 (Guo 等人, 2018 年)。同样, 配体也可以用荧光团标记。通过监测复合物中随时间变化的荧光信号, 可以推断出配体从受体上的解离速率 (Hill 和 Kilpatrick, 2023 年)。类似的方法也允许确定未标记配体的动力学行为。此外, 表面等离子体共振 (SPR) 近年来得到了广泛应用 (de Jong 等人, 2005 年), 但它需要有固定的蛋白质, 而对于膜结合蛋白靶点来说, 这并不总是显而易见的, 因为它们比较脆弱。

预测药物与靶点结合时间的第二类方法是计算方法。分子动力学 (MD) 模拟能够提供解离过程的原子级细节, 这些细节可用于前瞻性地预测结合时间 (Huang 等人, 2020 年; Kokh 等人, 2018 年)。此外, 机器学习方法能够高效处理和分析大量数据集, 也可用于计算结合时间。例如, Lamim Ribeiro 等人利用自动互信息噪声消除和重加权自编码变分贝叶斯增强采样这两种机器学习技术的组合, 对两种具有不同结合时间的经典药物的解离动力学进行了研究 (Lamim Ribeiro 等人, 2020 年)。该研究证明了机器学习在预测结合时间方面的实用性。总体而言, 各种检测方法和计算方法的整合在增进我们对结合时间以及更广泛地说对靶点结合动力学的理解方面具有巨大潜力。

4.3 | k_{on} 对停留时间的影响需要更系统地加以研究

结合速率常数 k_{on} 在以往关于药物作用持续时间的研究中并未受到太多关注, 这主要是由于物理化学和药理学方面的限制 (Copeland, 2016)。然而, k_{on} 与药物作用的起效时间和体内靶点占据时间有关。最近, IJzerman 和 Guo 总结了相关证据, 指出结合动力学参数值得重视, 并强调在药物发现的早期阶段对结合动力学进行全面分析的重要性 (IJzerman & Guo, 2019)。de Witte 等人利用药物与靶点结合的数学模型表明, 较高的结合速率常数能够提高 (局部) 药物浓度, 从而延缓靶点占据率的下降速度 (de Witte 等人, 2016)。在另一项研究中, Vauquelin 等人证明, 当发生再结合时, 药物与其靶点的结合和解离速率常数对靶点占据时间的影响相当 (Vauquelin, 2016)。此外, 较快的 k_{on} 值能够促进药物作用的快速起效。例如, 茚达特罗是一种用于治疗慢性阻塞性肺疾病的支气管扩张剂 (Beier 等人, 2007 年), 其与 β_2 肾上腺素受体的结合速度相对较快 (Sykes 和 Charlton, 2012 年), 在哮喘患者用药后 5

分钟内即可改善肺功能 (Beeh 等人, 2007 年)。此外, 结合速率会影响配体与靶点的亲和力。例如, Guo 等人通过放射性配体置换和竞争结合实验评估了三种腺苷受体亚型 (A_1 、 A_2A 、 A_2B) 与六种拮抗剂之间的活性和结合动力学 (Guo 等人, 2016 年)。结果表明, 结合速率而非解离速率控制亲和力值。同样, Doornbos 等人合成了具有强效正向变构调节剂活性和对 $mGluR$ 受体高亲和力的一系列 7-芳基-1,2,4-三唑并[4,3-a]吡啶。作者发现亲和力与结合速率之间存在很强的相关性, 但与停留时间无关。有趣的是, 在体内, 较长的 $mGluR$ 受体停留时间似乎延长并增强了对快速眼动 (REM) 睡眠的影响 (Doornbos 等人, 2017 年)。此外, 用于推导和评估 k_{on} 值的计算方法正在开发中, 这可能会促使人们进一步关注这一在一定程度上被低估的参数 (Dror 等人, 2011 年)。

5 | 未来展望

5.1 | 体内临床治疗及药物疗效预测

在前几节中, 我们探讨了药物作用时间对药效的相关性, 并总结了近期有关药物作用时间实际应用方面的研究进展。这些发现为药物的发现、设计、评估和应用提供了新的见解, 尤其是在临床治疗方面。药物作用时间的优化不仅有可能发现具有理想疗效且副作用或毒性更小的新药, 还有可能拓宽治疗窗, 这是临床实践中的一大关注点。例如, 传统的阿片受体拮抗剂已知治疗窗狭窄, 并且与耐药性、脱靶副作用和潜在成瘾性有关。通过优化在 μ -阿片受体上的作用时间, 或许能够设计出改良的镇痛药, 以更少的剂量产生足够且持久的效果, 从而降低因过量用药导致的成瘾风险。例如, Yassen 等人对布托啡诺在健康志愿者中的抗痛觉作用进行了基于机制的药代动力学-药效学建模。作者发现, 结合生物相平衡/受体结合-解离模型与线性转导功能, 最能描述丁丙诺啡抗伤害性感受效应的时间进程。该模型能够精确估计出滞后特性的参数以及相对受体占有率与抗伤害性感受效应之间的关系 (Yassen 等人, 2006 年)。

5.2 | 共价药物

具有“无限”作用时间的共价抑制剂是提高药物疗效的下一步举措, 但这一做法并非毫无争议。例如,

氯吡格雷通过与 P2Y₁₂ 受体发生共价且不可逆的相互作用, 其药效可持续长达 7 天, 尽管大部分药物在给药后 6 小时内就已从体内清除。因此, 氯吡格雷通常采用高负荷剂量给药, 随后使用低得多的维持剂量 (Danese 等人, 2016 年)。然而, 值得注意的是, 这种有利效果可能并不适用于所有共价抑制剂, 这可能与靶点的周转率有关 (Barf 等人, 2017 年; Daryaei 和 Tonge, 2019 年; Peletier, 2022 年)。假设靶点的周转率较快, 随着靶点本身的消失, 抑制剂对靶点的占据率会随时间显著下降, 这就需要反复给药。例如, 阿卡拉布替尼是一种用于治疗慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 的共价 BTK 抑制剂。阿卡拉布替尼在 CLL 患者中对 BTK 的占据率差异与 BTK (再) 合成率的变化有关 (Alsadhan 等人, 2018 年)。因此, 相较于每日一次 200 毫克的剂量, 每日两次 100 毫克的给药方案更受青睐, 以确保足够的 BTK 占据率 (Sun 等人, 2020 年)。由于不可逆结合也会使药物结合失去控制并产生毒性, 因此人们越来越关注可逆共价抑制剂的开发 (Reja 等人, 2022 年), 因为它们能够最大程度地减少脱靶反应, 并避免对靶蛋白造成永久性修饰。在一项针对半胱氨酸靶向共价抑制剂的研究中, 研究人员发现了具有从几分钟到几天不等的结合时间的可逆共价抑制剂, 这不仅有利于需要长时间靶点结合的治疗应用, 也有利于需要快速脱离靶点的情况 (Bradshaw 等人, 2015 年)。为了更好地开发和应用共价抑制剂, 仍需进一步开展系统研究, 以了解其在药物开发项目中的特性。

5.3 | 其他方面

在药物转化研究中, 分子机制建模、药代动力学和药效学之间的紧密联系是必不可少的 (Petrov 等人, 2018 年)。然而, 由于临床前研究的简化性质, 预测药物在人体内药效学效应的大小和持续时间的能力受到限制。因此, 临床前药物优化必须始终考虑多种因素, 因为人体生理机能十分复杂 (Copeland, 2021 年)。尽管驻留时间在转化研究中起着重要作用, 但临床疗效的预测和评估是一个多因素问题。需要开发有效且恰当的转化策略, 在此过程中, 药代动力学和药效学的研究能够为药物暴露与临床反应之间的关系提供见解, 这可能是需要考虑的一个重要方面。此外, 为了更好地将驻留时间与其他学科相结合, 填补科学知识的空白, 并为未来的发展铺平道路, 对驻留时间进行系统研究仍然是必要的。

6 | 结论

靶点结合动力学已成为一个有价值的药理学参数, 它能更全面地了解体内药物与靶点相互作用的动态特性, 从而更好地预测药物疗效。在药物发现和开发过程中将停留时间作为参数纳入考量, 有可能显著影响给定化合物的药理学特性, 从而设计出更安全、更有效、更持久的药物。它对化学方面也有重大影响, 有助于优化靶点结合特性。因此, 在临床治疗和药物疗效预测中将停留时间视为关键参数, 为药物发现的推进以及未来更有效、更安全药物的开发提供了宝贵的见解。

6.1 | 目标和配体的命名法

本文中的关键蛋白质靶点和配体已超链接至 <https://www.guidetopharmacology.org> 中的相应条目, 并永久存档于《2021/22 年简明药理学指南》(Alexander、Christopoulos 等人, 2021 年; Alexander、Fabbro 等人, 2021a、2021b; Alexander、Kelly 等人, 2021 年)。

作者贡献

H. 刘: 形式分析 (同等贡献); 可视化 (同等贡献); 撰写初稿 (主要贡献); 撰写审校与编辑 (辅助贡献)。H. 张: 形式分析 (同等贡献); 可视化 (同等贡献); 撰写初稿 (同等贡献)。A. P. 伊泽曼: 概念化 (同等贡献); 指导 (同等贡献); 撰写初稿 (辅助贡献); 撰写审校与编辑 (同等贡献)。D. 郭: 概念化 (同等贡献); 资金获取 (主要贡献); 可视化 (同等贡献); 撰写初稿 (同等贡献); 撰写审校与编辑 (主要贡献)。

致谢

本研究得到了国家自然科学基金 (22077110 和 22107090)、江苏省自然科学基金 (BK20200106) 以及江苏省高校自然科学研究重大项目 (20KJA350001) 的支持。

利益冲突声明

作者无利益冲突需要声明。

ORCID

董国 <https://orcid.org/0000-0001-6142-4825>

REFERENCES

- Alexander, S. P., Christopoulos, A., Davenport, A. P., Kelly, E., Mathie, A., Peters, J. A., Veale, E. L., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Southan, C., Davies, J. A., Abbracchio, M. P., Alexander, W., Al-hosaini, K., Bäck, M., Barnes, N. M., Bathgate, R., ... Ye, R. D. (2021).

THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY

- 2021/22: G protein-coupled receptors. *British Journal of Pharmacology*, 178(S1), S27–S156. <https://doi.org/10.1111/bph.15538>
- Alexander, S. P., Fabbro, D., Kelly, E., Mathie, A., Peters, J. A., Veale, E. L., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Southan, C., Davies, J. A., Beuve, A., Brouckaert, P., Bryant, C., Burnett, J. C., Farndale, R. W., Friebe, A., Garthwaite, J., ... Waldman, S. A. (2021a). THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2021/22: Catalytic receptors. *British Journal of Pharmacology*, 178(S1), S264–S312. <https://doi.org/10.1111/bph.15541>
- Alexander, S. P., Fabbro, D., Kelly, E., Mathie, A., Peters, J. A., Veale, E. L., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Southan, C., Davies, J. A., Boison, D., Burns, K. E., Dessauer, C., Gertsch, J., Helsby, N. A., Izzo, A. A., Koesling, D., ... Wong, S. S. (2021b). THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2021/22: Enzymes. *British Journal of Pharmacology*, 178(S1), S313–S411. <https://doi.org/10.1111/bph.15542>
- Alexander, S. P., Kelly, E., Mathie, A., Peters, J. A., Veale, E. L., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S. D., Pawson, A. J., Southan, C., Buneman, O. P., Cidlowski, J. A., Christopoulos, A., Davenport, A. P., Fabbro, D., Spedding, M., Striessnig, J., Davies, J. A., Ahlers-Dannen, K. E., ... Zolghadri, Y. (2021). THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2021/22: Other Protein Targets. *British Journal of Pharmacology*, 178(S1), S1–S26. <https://doi.org/10.1111/bph.15537>
- Alsadhan, A. A., Cheung, J., Gulrajani, M., Cook, E. M., Pittaluga, S., Izumi, R., Sun, C. C., Covey, T., Wiestner, A., & Herman, S. E. M. (2018). Variable bruton tyrosine kinase (BTK) resynthesis across pathi-ents with chronic lymphocytic leukemic (CLL) on acalabrutinib therapy affect target occupancy and reactivation of B-cell receptor (BCR) sig-naling. *Blood*, 132, 4401. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-110391>
- Barf, T., Covey, T., Izumi, R., van de Kar, B., Gulrajani, M., van Lith, B., van Hoek, M., de Zwart, E., Mittag, D., Demont, D., Verkaik, S., Krantz, F., Pearson, P. G., Ulrich, R., & Kaptein, A. (2017). Acalabrutinib (ACP-196): A covalent bruton tyrosine kinase inhibitor with a differen-tiated selectivity and in vivo potency profile. *The Journal of Pharmacol-ogy and Experimental Therapeutics*, 363, 240–252. <https://doi.org/10.1124/jpet.117.242909>
- Basak, S., Li, Y., Tao, S., Daryae, F., Merino, J., Gu, C., Delker, S. L., Phan, J. N., Edwards, T. E., Walker, S. G., & Tonge, P. J. (2022). Struc-ture-kinetic relationship studies for the development of long residence time LpxC inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65, 11854–11875. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00974>
- Basu, R., Wang, N., Basak, S., Daryae, F., Baber, M., Allen, E. K., Walker, S. G., Haley, J. D., & Tonge, P. J. (2021). Impact of target turn-over on the translation of drug-target residence time to time-dependent antibacterial activity. *ACS Infectious Diseases*, 10, 2755–2763.
- Beeh, K. M., Derom, E., Kanniss, F., Cameron, R., Higgins, M., & van As, A. (2007). Indacaterol, a novel inhaled β_2 -agonist, provides sustained 24-h bronchodilation in asthma. *The European Respiratory Journal*, 29, 871–878. <https://doi.org/10.1183/09031936.00060006>
- Beier, J., Chanez, P., Martinot, J. B., Schreurs, A. J., Tkáčová, R., Bao, W., Jack, D., & Higgins, M. (2007). Safety, tolerability and efficacy of inda-caterol, a novel once-daily β_2 -agonist, in patients with COPD: A 28-day randomised, placebo controlled clinical trial. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 20, 740–749. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2006.09.001>
- Berger, B. T., Amaral, M., Kokh, D. B., Nunes-Alves, A., Musil, D., Heinrich, T., Schröder, M., Neil, R., Wang, J., Navratilova, I., Bomke, J., Elkins, J. M., Müller, S., Frech, M., Wade, R. C., & Knapp, S. (2021). Structure-kinetic relationship reveals the mechanism of selectivity of FAK inhibitors over PYK2. *Cell Chemical Biology*, 28, 686–698.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2021.01.003>
- Bosma, R., van den Bor, J., Vischer, H. F., Labeaga, L., & Leurs, R. (2018). The long duration of action of the second generation antihistamine bilastine coincides with its long residence time at the histamine H_1 receptor. *European Journal of Pharmacology*, 838, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.09.011>
- Bradshaw, J. M., McFarland, J. M., Paavilainen, V. O., Bisconte, A., Tam, D., Phan, V. T., Romanov, S., Finkle, D., Shu, J., Patel, V., Ton, T., Li, X., Loughhead, D. G., Nunn, P. A., Karr, D. E., Gerritsen, M. E., Funk, J. O., Owens, T. D., Verner, E., ... Taunton, J. (2015). Prolonged and tunable residence time using reversible covalent kinase inhibitors. *Nature Chemi-cal Biology*, 11, 525–531. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1817>
- Cao, X., Wang, P., Zhao, W., Yuan, H., Hu, H., Chen, T., Zhang, Y., Ren, Y., Su, L., Fu, K., Liu, H., & Guo, D. (2023). Structure-affinity and structure-kinetic relationship studies of benzodiazepine derivatives for the development of efficacious vasopressin V_2 receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 66, 3621–3634. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00015>
- Casarsa, P., Bouyssou, T., Germeyer, S., Schnapp, A., Gantner, F., & Pieper, M. (2009). Preclinical evaluation of long-acting muscarinic antagonists: Comparison of tiotropium and investigational drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 330, 660–668. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.152470>
- Copeland, R. A. (2005). Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery. A guide for medicinal chemists and pharmacologists. *Methods of Bio-chemical Analysis*, 46, 1–265.
- Copeland, R. A. (2016). The drug-target residence time model: A 10-year retrospective. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 15, 87–95. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.18>
- Copeland, R. A. (2021). Evolution of the drug-target residence time model. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 16, 1441–1451. <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1948997>
- Cusack, K. P., Wang, Y., Hoemann, M. Z., Marjanovic, J., Heym, R. G., & Vasudevan, A. (2015). Design strategies to address kinetics of drug binding and residence time. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 2019–2027. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.02.027>
- Dahl, G., & Akerud, T. (2013). Pharmacokinetics and the drug-target resi-dence time concept. *Drug Discovery Today*, 18, 697–707. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.02.010>
- Danese, E., Fava, C., Beltrame, F., Tavella, D., Calabria, S., Benati, M., Gelati, M., Gottardo, R., Tagliaro, F., Guidi, G. C., Cattaneo, M., & Minuz, P. (2016). Relationship between pharmacokinetics and pharma-codynamics of clopidogrel in patients undergoing percutaneous coro-nary intervention: Comparison between vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay and multiple electrode aggre-gometry. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 14, 282–293. <https://doi.org/10.1111/jth.13197>
- Daryae, F., & Tonge, P. J. (2019). Pharmacokinetic-pharmacodynamic models that incorporate drug-target binding kinetics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 50, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.03.008>
- Davoodi, S., Daryae, F., Chang, A., Walker, S. G., & Tonge, P. J. (2020). Correlating drug-target residence time and post-antibiotic effect: Insight into target vulnerability. *ACS Infectious Diseases*, 6, 629–636. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00484>
- de Jong, L. A. A., Uges, D. R. A., Franke, J. P., & Bischoff, R. (2005). Recep-tor-ligand binding assays: Technologies and applications. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 829, 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.10.002>
- de Witte, W. E. A., Danhof, M., van der Graaf, P. H., & de Lange, E. C. M. (2016). In vivo target residence time and kinetic selectivity: The associ-ation rate constant as determinant. *Trends in Pharmacological Sciences*, 37, 831–842. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.06.008>
- de Witte, W. E. A., Danhof, M., van der Graaf, P. H., & de Lange, E. C. M. (2018). The implications of target saturation for the use of drug-target

- residence time. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 18, 82–84. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.234>
- Doornbos, M. L. J., Cid, J. M., Haubrich, J., Nunes, A., van de Sande, J. W., Vermond, S. C., Mulder-Krieger, T., Trabanco, A. A., Ahnaou, A., Drinkenburg, W. H., Lavreysen, H., Heitman, L. H., IJzerman, A. P., & Tresadern, G. (2017). Discovery and kinetic profiling of 7-Aryl-1-,2,4-triazolo[4,3-a]pyridines: Positive allosteric modulators of the meta-botropic glutamate receptor 2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 6704–6720. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00669>
- Dror, R. O., Pan, A. C., Arlow, D. H., Borhani, D. W., Maragakis, P., Shan, Y., Xu, H., & Shaw, D. E. (2011). Pathway and mechanism of drug binding to G-protein-coupled receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 13118–13123. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104614108>
- Du, Y., & Wang, R. (2020). Revealing the unbinding kinetics and mechanism of type I and type II protein kinase inhibitors by local-scaled molecular dynamics simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 16, 6620–6632. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c00342>
- Duarte, D. A., Parreiras-e-Silva, L. T., Oliveira, E. B., Bouvier, M., & Costa-Neto, C. M. (2022). Angiotensin II type 1 receptor tachyphylaxis is defined by agonist residence time. *Hypertension*, 79, 115–125. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17977>
- Guo, D., Dijksteelt, G. S., van Duijl, T., Heezen, M., Heitman, L. H., & IJzerman, A. P. (2016). Equilibrium and kinetic selectivity profiling on the human adenosine receptors. *Biochemical Pharmacology*, 105, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.02.018>
- Guo, D., Hillger, J. M., IJzerman, A. P., & Heitman, L. H. (2014). Drug-target residence time –A case for G protein-coupled receptors. *Medicinal Research Reviews*, 34, 856–892. <https://doi.org/10.1002/med.21307>
- Guo, D., Peletier, L. A., Bridge, L., Keur, W., de Vries, H., Zweemer, A., & IJzerman, A. P. (2018). A two-state model for the kinetics of competitive radioligand binding. *British Journal of Pharmacology*, 175, 1719–1730. <https://doi.org/10.1111/bph.14184>
- Harrison, R. K. (2016). Phase II and phase III failures: 2013–2015. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 15, 817–818. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.184>
- Hill, S. J., & Kilpatrick, L. E. (2023). Kinetic analysis of fluorescent ligand binding to cell surface receptors: Insights into conformational changes and allostery in living cells. *British Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.16185>
- Hoffmann, C., Castro, M., Rinken, A., Leurs, R., Hill, S. J., & Vischer, H. F. (2015). Ligand residence time at G-protein-coupled-receptor why we should take our time to study it. *Molecular Pharmacology*, 88, 552–560. <https://doi.org/10.1124/mol.115.099671>
- Huang, S. H., Chen, L. X., Mei, H., Zhang, D., Shi, T. T., Kuang, Z. Y., Heng, Y., Xu, L., & Pan, X. (2020). In silico prediction of the dissociation rate constants of small chemical ligands by 3D-grid-based volSurf method. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 2456. <https://doi.org/10.3390/ijms21072456>
- IJzerman, A. P., & Guo, D. (2019). Drug-target association kinetics in drug discovery. *Trends in Biochemical Sciences*, 44, 861–871. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.04.004>
- Kapur, S., & Seeman, P. (2000). Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 25, 161–166.
- Kapur, S., Zipursky, R., Jones, C., Remington, G., & Houle, S. (2000). Relationship between dopamine D₂ occupancy, clinical response, and side effects: A double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 157, 514–520. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.4.514>
- Karaman, R., Jubeh, B., & Breijyeh, Z. (2020). Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules*, 25, 2888.
- Knockenbauer, K. E., & Copeland, R. A. (2023). The importance of binding kinetics and drug-target residence time in pharmacology. *British Journal of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1111/bph.16104>
- Kokh, D. B., Amaral, M., Bomke, J., Grädler, U., Musil, D., Buchstaller, H. P., Dreyer, M. K., Frech, M., Lowinski, M., Vallee, F., Bianciotto, M., Rak, A., & Wade, R. C. (2018). Estimation of drug-target residence times by tau-random acceleration molecular dynamics simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 14, 3859–3869. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00230>
- Lamim Ribeiro, J. M., Provasi, D., & Filizola, M. (2020). A combination of machine learning and infrequent metadynamics to efficiently predict kinetic rates, transition states, and molecular determinants of drug dissociation from G protein-coupled receptors. *The Journal of Chemical Physics*, 153, 124105. <https://doi.org/10.1063/5.0019100>
- Langlois, X., Megens, A., Lavreysen, H., Atack, J., Cik, M., te Riele, P., Peeters, L., Wouters, R., Vermeire, J., Hendrickx, H., Macdonald, G., & de Bruyn, M. (2012). Pharmacology of JNJ-37822681, a specific and fast-dissociating D2 antagonist for the treatment of schizophrenia. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 342, 91–105. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.190702>
- Lee, K. S. S., Yang, J., Niu, J., Ng, C. J., Wagner, K. M., Dong, H., Kodani, S. D., Wan, D., Morisseau, C., & Hammock, B. D. (2019). Drug-target residence time affects in vivo target occupancy through multiple pathways. *ACS Central Science*, 5, 1614–1624. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00770>
- Liu, W., Jiang, J., Lin, Y., You, Q., & Wang, L. (2022). Insight into thermodynamic and kinetic profiles in small-molecule optimization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65, 10809–10847. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00682>
- Luo, Z., Yu, G., Han, X., Yang, T., Ji, Y., Huang, H., Wang, G., Liu, Y., & Sun, W. (2020). Prediction of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of topiroxostat in humans by integrating the physiologically based pharmacokinetic model with the drug-target residence time model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 121, 109660. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109660>
- Lyczek, A., Berger, B. T., Rangwala, A. M., Paung, Y., Tom, J., Philipose, H., Guo, J., Albanese, S. K., Robers, M. B., Knapp, S., Chodera, J. D., & Seeliger, M. A. (2021). Mutation in Abl kinase with altered drug-binding kinetics indicates a novel mechanism of imatinib resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118, e2111451118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2111451118>
- Ma, Y., Li, L., He, S., Shang, C., Sun, Y., Liu, N., Meek, T. D., Wang, Y., & Shang, L. (2019). Application of dually activated Michael acceptor to the rational design of reversible covalent inhibitor for enterovirus 71 3C protease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62, 6146–6162. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00387>
- Martella, A., Sijben, H., Rufer, A. C., Grether, U., Fingerle, J., Ullmer, C., Hartung, T., IJzerman, A. P., van der Stelt, M., & Heitman, L. H. (2017). A novel selective inverse agonist of the CB(2) receptor as a radiolabeled tool compound for kinetic binding studies. *Molecular Pharmacology*, 92, 389–400. <https://doi.org/10.1124/mol.117.108605>
- Meltzer, H. Y. (2000). Multireceptor atypical antipsychotic drugs. In B. A. Ellenbroek & A. R. Cool (Eds.), *Atypical antipsychotics* (pp. 191–213). Birkhauser Verlag Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8448-8_10
- Neumann, L., von Konig, K., & Ullmann, D. (2011). HTS reporter displacement assay for fragment screening and fragment evolution toward leads with optimized binding kinetics, binding selectivity, and thermodynamic signature. *Methods in Enzymology*, 493, 299–320. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381274-2.00012-1>
- Peletier, L. A. (2022). An extended model including target turnover, ligand-target complex kinetics, and binding properties to describe drug-

- receptor interactions. *Methods in Molecular Biology*, 2385, 19–46. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1767-0_2
- Penna, E., Niso, M., Podlewska, S., Volpicelli, F., Crispino, M., Perrone-Capano, C., Bojarski, A. J., Lacivita, E., & Leopoldo, M. (2022). In vitro and in silico analysis of the residence time of serotonin 5-HT₇ receptor ligands with arylpiperazine structure: A structure–kinetics relationship study. *ACS Chemical Neuroscience*, 13, 497–509. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.1c00710>
- Petrov, K., Zueva, I., Kovyazina, I., Sedov, I., Lushchekina, S., Kharlamova, A., Lenina, O., Koshkin, S., Shtyrin, Y., Nikolsky, E., & Masson, P. (2018). C-547, a 6-methyluracil derivative with long-lasting binding and rebinding on acetylcholinesterase: Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies. *Neuropharmacology*, 131, 304–315. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.034>
- Qian, H., Yu, C., Zhu, H., Ding, Q., Cai, Y., Jing, J., Xu, X., Guo, R., Zhang, H., Liu, H., Chen, X., & Liu, Y. (2023). Safety, tolerability, and pharmacokinetics of fluoropezil (DC20), a novel acetylcholinesterase inhibitor: A phase I study in healthy young and elderly Chinese subjects. *Clinical and Translational Science*, 16, 810–822. <https://doi.org/10.1111/cts.13490>
- Reja, R. M., Wang, W., Lyu, Y., Haeffner, F., & Gao, J. (2022). Lysine-targeting reversible covalent inhibitors with long residence time. *Journal of the American Chemical Society*, 144, 1152–1157. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c12702>
- Sahlholm, K., Zeberg, H., Nilsson, J., Ögren, S. O., Fuxe, K., & rhem, P. (2016). The fast-off hypothesis revisited: A functional kinetic study of anipsychotic antagonism of the dopamine D₂ receptor. *European Neuropsychopharmacology*, 26, 467–476. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.01.001>
- Schuetz, D. A., Richter, L., Amaral, M., Grandits, M., Grädler, U., Musil, D., Buchstaller, H. P., Eggenweiler, H. M., Frech, M., & Ecker, G. F. (2018). Ligand desolvation steers on-rate and impacts drug residence time of heat shock protein 90 (Hsp90) inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61, 4397–4411. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00080>
- Soethoudt, M., Hoorens, M. W. H., Doelman, W., Martella, A., van der Stelt, M., & Heitman, L. H. (2018). Structure-kinetic relationship studies of cannabinoid CB₂ receptor agonists reveal substituent-specific lipophilic effects on residence time. *Biochemical Pharmacology*, 152, 129–142. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.03.018>
- Spagnuolo, L. A., Eltschkner, S., Yu, W., Daryae, F., Davoodi, S., Knudson, S. E., Allen, E. K. H., Merino, J., Pschibul, A., Moree, B., Thivalapill, N., Truglio, J. J., Salafsky, J., Slayden, R. A., Kisker, C., & Tonge, P. J. (2017). Evaluating the contribution of transition-state destabilization to changes in the residence time of triazole-based InhA inhibitors. *Journal of the American Chemical Society*, 139, 3417–3429. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11148>
- Suchankova, A., Stampelou, M., Koutsouki, K., Pousias, A., Dhingra, L., Barkan, K., Marakos, P., Tenta, R., Kolocouris, A., Lougiakis, N., & Ladds, G. (2022). Discovery of a high affinity adenosine A₁/A₃ receptor antagonist with a novel 7-amino-pyrazolo[3,4-d]pyridazine scaffold. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 13, 923–934. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.2c00052>
- Sun, C., Nierman, P., Kendall, E. K., Cheung, J., Gulrajani, M., Herman, S. E. M., Pleyer, C., Ahn, I. E., Stetler-Stevenson, M., Yuan, C. M., Maric, I., Gaglione, E. M., Harris, H. M., Pittaluga, S., Wang, M. H., Patel, P., Farooqui, M. Z. H., Izumi, R., Hamdy, A., ... Wiestner, A. (2020). Clinical and biological implications of target occupancy in CLL treated with the BTK inhibitor acalabrutinib. *Blood*, 136, 93–105.
- Sykes, D. A., & Charlton, S. J. (2012). Slow receptor dissociation is not a key factor in the duration of action of inhaled long-acting β_2 -adrenoceptor agonists. *British Journal of Pharmacology*, 165, 2672–2683. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01639.x>
- Sykes, D. A., Moore, H., Stott, L., Holliday, N., Javitch, J. A., Lane, J. R., & Charlton, S. J. (2017). Extrapyramidal side effects of antipsychotics are linked to their association kinetics at dopamine D₂ receptors. *Nature Communications*, 8, 763. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00716-z>
- Tautermann, C. S. (2016). Impact, determination and prediction of drug-receptor residence time for GPCRs. *Current Opinion in Pharmacology*, 30, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.07.004>
- Tautermann, C. S., Kiechle, T., Seeliger, D., Diehl, S., Wex, E., Banholzer, R., Gantner, F., Pieper, M. P., & Casarosa, P. (2013). Molecular basis for the long duration of action and kinetic selectivity of tiotropium for the muscarinic M3 receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56, 8746–8756. <https://doi.org/10.1021/jm401219y>
- Tian, G., Suarez, J., Zhang, Z., Connolly, P., & Ahn, K. (2021). Potent phenylpyridine and oxodihydrofuran inhibitors of cyclooxygenase-2: Optimization toward a long residence time with balanced internal energetics. *Biochemistry*, 60, 2407–2418. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00294>
- Tonge, P. J. (2018). Drug-target kinetics in drug discovery. *ACS Chemical Neuroscience*, 9, 29–39. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00185>
- Tummino, P. J., & Copeland, R. A. (2008). Residence time of receptor-ligand complexes and its effect on biological function. *Biochemistry*, 47, 5481–5492. <https://doi.org/10.1021/bi8002023>
- Vauquelin, G. (2010). Rebinding: Or why drugs may act longer in vivo than expected from their in vitro target residence time. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 5, 927–941. <https://doi.org/10.1517/17460441.2010.512037>
- Vauquelin, G. (2016). Effects of target binding kinetics on in vivo drug efficacy: K_{off} , k_{on} and rebinding. *British Journal of Pharmacology*, 173, 2319–2334. <https://doi.org/10.1111/bph.13504>
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bio-availability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
- Voss, J. H., Nagel, J., Rafehi, M., Guixà-González, R., Malfacini, D., Patt, J., Kehraus, S., Inoue, A., König, G. M., Kostenis, E., Deupi, X., Namasivayam, V., & Müller, C. E. (2021). Unraveling binding mechanism and kinetics of macrocyclic Gq protein inhibitors. *Pharmacological Research*, 173, 105880. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105880>
- Walkup, G. K., You, Z., Ross, P. L., Allen, E. K., Daryae, F., Hale, M. R., O'Donnell, J., Ehmann, D. E., Schuck, V. J. A., Buurman, E. T., Choy, A. L., Hajec, L., Murphy-Benenato, K., Marone, V., Patey, S. A., Grosser, L. A., Johnstone, M., Walker, S. G., Tonge, P. J., & Fisher, S. L. (2015). Translating slow-binding inhibition kinetics into cellular and in vivo effects. *Nature Chemical Biology*, 11, 416–423. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1796>
- Wang, H. Y., Yang, H., Holm, M., Tom, H., Olton, K., al-Khdhairawi, A. A. Q., Weber, J. F. F., Blanchard, S. C., Ruggero, D., & Taunton, J. (2022). Synthesis and single-molecule imaging reveal site-specific enhancement of binding kinetics by the antitumour eEF1A antagonist SR-A3. *Nature Chemistry*, 14, 1443–1450. <https://doi.org/10.1038/s41557-022-01039-3>
- Yassen, A., Olofson, E., Romberg, R., Sartori, E., Danhof, M., & Dahan, A. (2006). Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of buprenorphine in healthy volunteers. *Anesthesiology*, 104, 1232–1242. <https://doi.org/10.1097/0000542-200606000-00019>
- Zhang, H., Yan, W., Sun, Y., Yuan, H., Su, L., Cao, X., Wang, P., Xu, Z., Hu, Y., Wang, Z., Wang, Y., Fu, K., Sun, Y., Chen, Y., Cheng, J., & Guo, D. (2022). Long residence time at the vasopressin V₂ receptor translates into superior inhibitory effects in ex vivo and in vivo models of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Journal of Medicinal*

Chemistry, 65, 7717–7728. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00011>

Zhang, Q., Han, J., Zhu, Y., Tan, S., & Liu, H. (2022). Binding thermodynamics and dissociation kinetics analysis uncover the key structural motifs of phenoxyphenol derivatives as the direct InhA inhibitors and the hotspot residues of InhA. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 10102. <https://doi.org/10.3390/ijms231710102>

Zhou, Y., Fu, Y., Yin, W., Li, J., Wang, W., Bai, F., Xu, S., Gong, Q., Peng, T., Hong, Y., Zhang, D., Zhang, D., Liu, Q., Xu, Y., Xu, H. E., Zhang, H., Jiang, H., & Liu, H. (2021). Kinetics-driven drug design strategy for next-generation acetylcholinesterase inhibitors to

临床候选药物。《药物化学杂志》，64 卷，1844 - 1855 页。<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01863>

如何引用本文：刘 H., 张 H., 伊泽曼 A. P., 及郭 D. (2024)。配体-受体结合动力学在药物发现中的转化价值。《英国药理学杂志》，181 (21)，4117 - 4129。 <https://doi.org/10.1111/bph.16241>