

喜树碱衍生物 NCP4 在不同种属肝微粒体中代谢稳定性研究

刘琼艳¹, 张美琴^{1,2}, 卿晨^{1*}, 李霖^{1*}¹昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 昆明 650500; ²云南新兴职业学院, 昆明 650501

摘要:探讨喜树碱衍生物 NCP4 在人、SD 大鼠、beagle 犬肝微粒体中的体外代谢稳定性及代谢产物。应用体外肝微粒体孵育体系, 采用 HPLC-UV-MS (Q-TOF) 法, 考察 NCP4 的代谢稳定性, 并推断其代谢产物结构。结果显示, NCP4 在 Beagle 犬和人肝微粒体温孵代谢动力学参数 $T_{1/2}$ (min) 相当, 而在 SD 大鼠肝微粒体温孵的 $T_{1/2}$ (min) 相差较大; 此外, NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体中生成 m/z [M + Na]⁺ 为 502、460、344 的代谢产物, 在 Beagle 犬、人肝微粒体中生成 m/z [M + Na]⁺ 为 388、390、448 的代谢产物。结果表明 Beagle 犬与人肝微粒体温孵体系中 NCP4 底物的代谢稳定性基本一致, 且 NCP4 在 beagle 犬与人的肝微粒体代谢产物相同。可以为 NCP4 临床前安全性评价的实验动物选择提供依据。

关键词: NCP4; 喜树碱衍生物; 肝微粒体; 代谢产物; 代谢稳定性

中图分类号: R284.1; R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)11-1968-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.11.017

Metabolism of camptothecin derivative NCP4 in liver microsomes among different species *in vitro*

LIU Qiong-yan¹, ZHANG Mei-qin^{1,2}, QING Chen^{1*}, LI Ji^{1*}

¹School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming 650500, China;

²Yunnan Xinxing College of Professional Technology, Kunming 650501, China

Abstract: The metabolic stability and metabolites of NCP4 incubated with human, SD rat and dog liver microsomes *in vitro* were studied. NCP4 and its metabolites were separated and tested by HPLC-UV-MS (Q-TOF). The results showed that $T_{1/2}$ (min) of NCP4 obtained from dog and human liver microsomes were comparable; In addition, 4 metabolites generated from NCP4 in rat liver microsome were found, and another 3 metabolites generated from NCP4 in human and dog liver microsomes were detected. All results mentioned above indicated that the metabolites of NCP4 in liver microsome from dogs were consistent with that from human. The results can be used to select laboratory animals for safety evaluation of NCP4 in preclinical study.

Key words: NCP4; camptothecin derivative; liver microsome; metabolite; metabolic stability

喜树碱是从中国珙桐科植物中提取的一种生物碱, 具有显著的体内外抗肿瘤活性。机制研究发现, 细胞 DNA 拓扑异构酶 I (topoisomerase, Top1) 是其主要的靶点。但在临床试验中发现, 喜树碱类化合物对肿瘤患者的疗效与在啮齿类动物模型的效果有很大差异, 同时病人伴随严重的毒副反应, 如膀胱出血、骨髓抑制等, 使其在临床的应用受到很大限

制^[1]。究其原因是因为人体血液与啮齿类动物血液的 pH 值存在较大差异, 后者使得喜树碱化学结构中 E 环的内酯结构保持在闭环, 而此结构状态是其抗肿瘤活性所必需。而人血液的 pH 值却使喜树碱结构中的内酯环 (E 环) 打开, 成为其在临床应用中活性下降、毒性增加的主要原因。

因此, 对喜树碱结构进行改造优化一直是喜树碱类抗肿瘤药的研究热点。目前临床应用的喜树碱类抗癌药有拓扑替康^[2,3]、伊立替康^[4]和 10-羟基喜树碱^[5], 此外尚有若干喜树碱类衍生物处在临床前研究和临床研究的不同阶段, 如 9-硝基喜树碱 (9-NC) 已完成了胰腺癌的 III 期临床研究^[6,8], 但也由于其严重的毒副反应而终止。

收稿日期: 2018-10-08 接受日期: 2019-04-22

基金项目: 科技部重大新药创制专项 (2011ZX09401026); 国家自然科学基金-地区基金 (81960652); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项-青年博士项目 (201801YH00036)

* 通信作者 E-mail: qingchenhh@yeah.net, igiliji@163.com

化合物 NCP4 是在 9-NC 分子的 20(S) 羟基位引入碳酸酯结构^[9],旨在降低其开环速度,以达到提高抗肿瘤活性、改善溶解度并降低毒性的目的。我们前期的体内外实验研究表明,NCP4 对肿瘤的生长具有显著的抑制作用,毒性显著低于 9-NC。但对化合物 NCP4 的稳定性和代谢方面的研究尚未进行。

对候选化合物代谢的研究是药物研发的重要内容。肝脏是药物代谢的主要场所,拥有细胞色素 P450 等多种代谢酶。这些代谢酶主要存在于肝微粒体中,决定药物代谢途径、代谢速率,与药物清除率直接相关^[10,11]。采用体外肝微粒体温孵系统进行代谢研究,不仅可排除体内诸多因素的干扰,还具有反应干扰小、操作简单、代谢条件易于控制等优点。同时,体外代谢还能迅速有效地解决药物代谢中的关键问题,例如代谢物结构鉴定、代谢途径推断等,为体内代谢研究提供重要的线索和依据^[12]。

为此,本研究选择人、SD 大鼠、beagle 犬的体外肝微粒体温孵体系,建立 HPLC-UV-MS(Q-TOF)定性分析方法,寻找化合物 NCP4 的代谢产物,探讨 NCP4 体外代谢动力学特征,考察 NCP4 在不同种属间代谢的差异,为 NCP4 相关药理学、毒理学及药动学的研究寻找合适的动物模型,提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

3-18KS 台式低温离心机;YCD-EL259 冰箱(合肥美菱股份有限公司);VCX150 氮气吹干仪(昆明鹏翼达气体产品有限公司);HPLC-UV-MS(Q-TOF)(安捷伦科技有限公司)

1.2 试剂

SD 大鼠肝微粒体、beagle 犬肝微粒体以及人肝微粒体蛋白浓度为 20 mg/mL,购自瑞德肝脏疾病研究有限公司,磷酸缓冲液(PBS)购自 Thermo 公司,NADPH 系统购自 Sigma 公司,叔丁基甲基醚、甲醇(批号 151130)、色谱纯乙腈购自德国 Merck 公司,色谱纯乙酸铵购自美国 Tedia 公司,色谱纯甲酸购自德国 Fluka 公司,大鼠和人血浆由本实验室自采。

2 方法

2.1 孵育混合液的组成

SD 大鼠孵育混合液:100 mM 的 PBS(pH7.4),SD 大鼠肝微粒体蛋白(终浓度为 0.5 mg/mL),化合物 NCP4(终浓度为 5 μ g/mL)。

beagle 犬孵育混合液:100 mM 的 PBS(pH7.4),Beagle 犬肝微粒体蛋白(终浓度为 0.5 mg/

mL),化合物 NCP4(终浓度为 5 μ g/mL)。

人孵育混合液:100 mM 的 PBS(pH7.4),人肝微粒体蛋白(终浓度为 0.5 mg/mL),化合物 NCP4(终浓度为 5 μ g/mL)。

2.2 试验方法

分别取 180 μ L 的孵育液,在 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱中预孵育 5 min,然后加入 20 μ L NADPH(终浓度 1 mM)启动反应,孵育完毕后使用 0.8 mL 的冰乙腈终止反应。

选取 0、2、5、10、15、30、60、90、120 min 的孵育样品作为不同种属肝微粒体孵育反应的研究对象,按照各样品的时间要求进行温孵。

0 min 是在 180 μ L 孵育液中先加入 0.8 mL 冰乙腈终止反应后,再加入 20 μ L 的 NADPH 液。空白基质样品是取不含药的孵育液,加入 20 μ L 的 NADPH 液,再加入 0.8 mL 冰乙腈沉淀蛋白。终止反应后的样品及空白基质加叔丁基甲基醚 1 mL 在 7 155 \times g 离心 10 min,取上清液 0.8 mL,氮气吹干,采用 100 μ L 90% 甲醇复溶,涡旋 3 min 后离心取上清液进行 HPLC-UV(Q-TOF)分析。比较 NCP4 在 SD 大鼠、Beagle 犬、人肝微粒体中的温孵结果,分析其代谢产物。

2.3 色谱及质谱条件

色谱条件:Diamonsil C₁₈(4.6 \times 150 mm,5 μ m);流动相:水:甲醇(30:70)等度洗脱;柱温:25 $^{\circ}$ C,流速:0.5 mL/min;紫外检测波长 370 nm;进样量 20 μ L,分析时间 23 min。

质谱条件:本实验选择 ESI 正离子模式、全扫描方式(m/z 100 ~ 1 000),雾化气压 35 psi,干燥气流速 9 mL/min,离子化电压为 3 500 V,碎片电压 175 V。

2.4 数据分析计算公式及相关参数

实验选用 SD 大鼠、beagle 犬、人等三个种属的肝微粒体生物基质对 NCP4 进行体外温孵,采用高效液相色谱法对 NCP4 的剩余量进行测定,并且计算相关的代谢动力学参数。

肝微粒体代谢稳定性相应的参数估算公式如下:

$$T_{1/2} = 0.693/k \quad (1)$$

$$CH_{int} = 0.693/T_{1/2} \times [Incubation(mL)/Microsomes(mg)] \times [Microsomes(mg)/Liver(g)] \times [Liver(g)/BW(kg)] \quad (2)$$

$$CL_h = (Q_h \times CL_{int}) / (Q_h + CL_{int}) \quad (3)$$

公式(2)和公式(3)中各参数均为经验值,相关数值经参考文献总结见表 1。

表1 肝微粒体生化参数经验值

Table 1 The empirical values of liver microsomes biochemical parameters

参数 Parameter	鼠 Rat	犬 Dog	人 Human
Liver(g)/BW(kg)	44.8	77.9	48.8
Microsomes(mg)/Liver(g)	40	32	25.7
Liver blood flow(Q _h)	55.2	30.9	20.7

3 结果

3.1 NCP4 分别在不同种属肝微粒体中的代谢稳定性及动力学参数

3.1.1 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体样品中的体外代谢

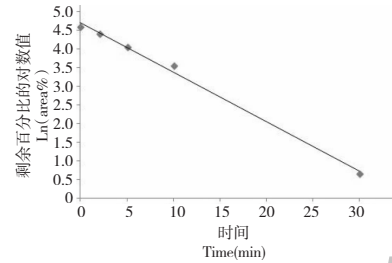
将 NCP4 在 0 min 时的峰面积作为 100%, 其他时间点与 0 min 时间点的峰面积相比得到 NCP4 的剩余百分比 (area%), 结果见表 2, 可以看出 NCP4 在 60 min 内代谢完全。将各时间点 NCP4 的剩余百分比的自然对数与相应的孵育时间进行线性回归, 求得斜率 (-k), 线性关系良好的 $\ln(\text{area}\%)$ 与孵育时间计算结果见图 1。回归方程: $y = -0.1329x + 4.7186$, $R^2 = 0.9948$, 说明 NCP4 在鼠肝微粒体孵育体系中 0 ~ 30 min 时间范围内呈现线性消除。由公式(1)-(3)计算 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体中的半衰期 $T_{1/2}$ (min)、肝固有清除率 CL_{int} (mL/min/kg) 和肝清除率 CL_h (mL/min/kg) 分别为 5.21 min、11.91 mL/min/kg 和 9.80 mL/min/kg。

3.1.2 NCP4 在 beagle 犬肝微粒体样品中的体外代谢稳定性

NCP4 在 0 min 时的峰面积作为 100%, 其他时

表2 NCP4 在鼠肝微粒体孵育体系中
剩余百分比 (area%) 的结果Table 2 The remaining percentage of NCP4 in rat
liver microsome incubation system (area%)

时间 Time (min)	剩余百分比 Area%
0	100
2	83.04
5	58.95
10	35.83
30	1.95
60	0
90	0
120	0

图1 NCP4 在 SD 大鼠微粒体孵育体系中 $\ln(\text{area}\%)$ 值与孵育时间的线性关系图Fig. 1 Linear relationship between $\ln(\text{area}\%)$ and incubation time of NCP4 in SD rat microsome incubation system

间点与 0 min 时间点的峰面积相比得到 NCP4 的剩余百分比 (area%), 结果见表 3, 可以看出 NCP4 在 90 min 内代谢完全。将各时间点 NCP4 的剩余百分比的自然对数与相应的孵育时间进行线性回归, 求得斜率 (-k), 线性关系良好的 $\ln(\text{area}\%)$ 与孵育时间计算结果见图 2。回归方程: $y = -0.0622x + 4.4749$, $R^2 = 0.9943$, 说明 NCP4 在狗肝微粒体孵育体系中 0 ~ 60 min 时间范围内呈现线性消除。由公式(1) ~ (3) 计算 NCP4 在狗肝微粒体中的半衰期 $T_{1/2}$ (min)、肝固有清除率 CL_{int} (mL/min/kg) 和肝清除率 CL_h (mL/min/kg) 分别为 11.1 min、7.78 mL/min/kg 和 6.22 mL/min/kg。

3.1.3 NCP4 在人肝微粒体样品中的体外代谢稳定

NCP4 在 0 min 时的峰面积作为 100%, 其他时间点与 0 min 时间点的峰面积相比得到 NCP4 的剩余百分比 (area%), 结果见表 4, 可以看出 NCP4 在 120 min 内代谢完全。将各时间点 NCP4 的剩余百分比的自然对数值与相应的孵育时间进行线性回

表3 NCP4 在 beagle 犬肝微粒体孵育
体系中剩余百分比 (area%) 的结果Table 3 The remaining percentage (area%) of NCP4
in beagle canine liver microsome incubation system

时间 Time (min)	剩余百分比 Area%
0	100
2	85.47
5	58.70
10	40.62
30	13.15
60	2.20
90	0
120	0

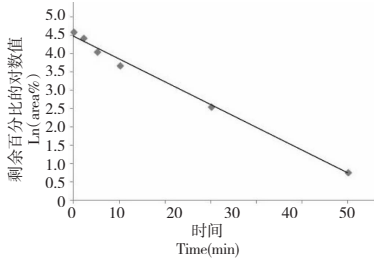


图2 NCP4 在 beagle 犬肝微粒体孵育体系中 ln(area%) 值与孵育时间的线性关系图

Fig. 2 Linear relationship between ln(area%) and incubation time of NCP4 in beagle dog liver microsomes incubation system

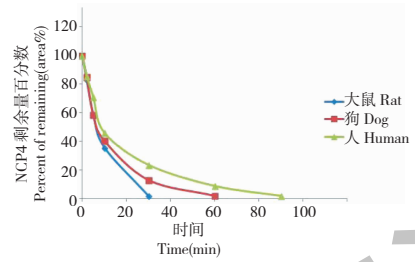


图4 NCP4 在不同种属肝微粒体中孵育结果

Fig. 4 Incubation results of NCP4 in different species liver microsomes incubation system

归,求得斜率(-k),线性关系良好的 ln(area%) 值与孵育时间计算结果见图3。回归方程: $y = -0.0409x + 4.4705$, $R^2 = 0.9903$,说明 NCP4 在人肝微粒体孵育体系中 0 ~ 90 min 时间范围内呈现线性消除。由公式(1) ~ (3) 计算 NCP4 在人肝微粒体中的半衰期 $T_{1/2}$ (min)、肝固有清除率 CL_{int} (mL/min/kg) 和肝清除率 CL_h (mL/min/kg) 分别为 16.9 min、2.54 mL/min/kg 和 2.29 mL/min/kg。

表4 NCP4 在人肝微粒体孵育体系中 剩余百分比 (area%) 的结果

Table 4 The remaining percentage (area%) of NCP4 in human liver microsomes incubation system

时间 Time (min)	剩余百分比 Area%
0	100
2	85.86
5	71.25
10	46.09
30	23.67
60	8.97
90	2.05
120	0

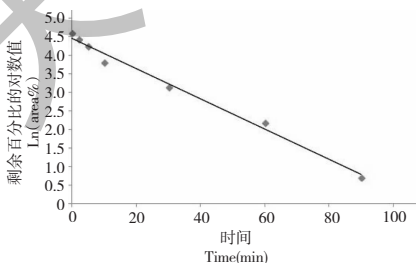


图3 NCP4 在人肝微粒体孵育体系中 ln(area%) 值与孵育时间的线性关系图

Fig. 3 Linear relationship between ln(area%) and incubation time of NCP4 in human liver microsomes incubation system

3.2 NCP4 在不同种属肝微粒体孵育液中代谢产物结构鉴定

3.2.1 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体孵育样品中代谢产物结构鉴定

NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体孵育体系下温孵 60 min(图5c)和 120 min(图5d)后,发现均有 4 个新增的主要色谱峰,见图5,NCP4 及各产物的 m/z [$M + Na$]⁺ 和保留时间数据如表5所示。其中 M1 和 M2 的 m/z [$M + Na$]⁺ 均为 502,比 NCP4 少了 14,推测 M1 和 M2 均是 NCP4 脱去一分子甲基,M1 和 M2 是同分异构体。M3 的 m/z [$M + Na$]⁺ 比 NCP4 (m/z 516) 要少 56,推测 M3 是 NCP4 末端-O-C-断裂脱

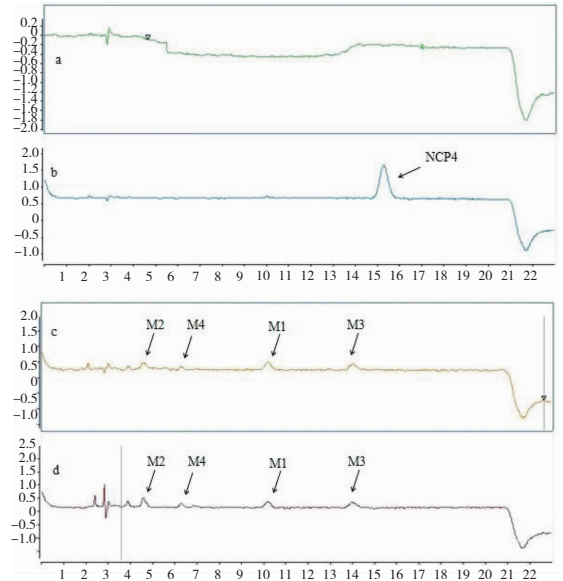


图5 SD 大鼠肝微粒体孵育时间点 LC-UV 分析色谱图

Fig. 5 Typical LC-UV chromatogram of incubation sample 注:空白基质(a)、0 min(b)、60 min(c)、120 min(d); M1, M2, M3, M4 均为 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体中温孵后的代谢产物
Note: blank matrix (a), 0 min (b), 60 min (c), 120 min (d); M1, M2, M3, M4 are metabolites of NCP4 in rat liver microsomes incubation systems

去 C_4H_9 。M4 的分子离子比 NCP4 少 172, 推测 M4 的代谢过程较为复杂。推测各个化合物的代谢途径如图 6(A、B) 所示。

3.2.2 NCP4 在 beagle 犬肝微粒体温孵样品中代谢产物结构推断

NCP4 在 beagle 犬肝微粒体温孵体系下温孵不同时间的样品在确定 HPLC-UV-MS(Q-TOF) 分离鉴别条件下进行分析, 其中与空白基质和 0 min 点温孵样品比较, 代谢产物较明显的是 60 min(图 7c) 和 120 min(图 7d) 温孵样品。NCP4 及各产物的 $m/z [M + Na]^+$ 和保留时间数据如表 6 所示。推测可能的代谢途径如图 8(A、B、C) 所示。

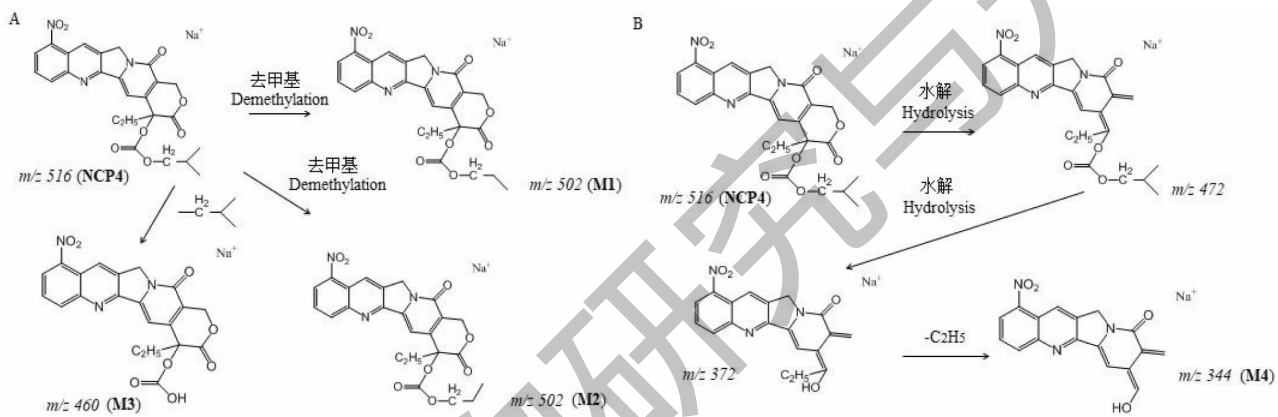


图 6 NCP4 在鼠肝微粒体中代谢途径推测

Fig. 6 Metabolic pathways of NCP4 metabolic product in SD rat liver microsomes

注: A. 代谢产物 M1, M2, M3 代谢途径; B. 代谢产物 M4 代谢途径。Note: A. metabolic pathway of M1, M2 and M3; B. metabolic pathway of M4 metabolic pathway.

3.2.3 NCP4 在人肝微粒体温孵样品中代谢产物鉴定

NCP4 在人肝微粒体温孵体系下温孵不同时间的样品在确定的 HPLC-UV-MS(Q-TOF) 分离鉴别条件下进行分析, 其中与空白基质和 0 min 点温孵样

表 5 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体孵育 60 min 后的降解产物色谱保留时间和质谱数据

Table 5 Retention time and mass spectrometry data of NCP4 degradation products in SD rat liver microsomes (incubation time: 60 min)

编号 No.	保留时间 t_R (min)	$m/z [M + Na]^+$
NCP4	15.2	516
M1	10.31	502
M2	4.66	502
M3	14.15	460
M4	6.38	344

品比较, 代谢产物较明显的是 60 min(图 9c) 和 120 min(图 9d) 温孵样品。NCP4 及各产物的 $m/z [M + Na]^+$ 和保留时间数据如表 7 所示。我们发现 NCP4 在人和 beagle 犬肝微粒体中的代谢产物一致, 推测代谢途径也一致(见图 8)。

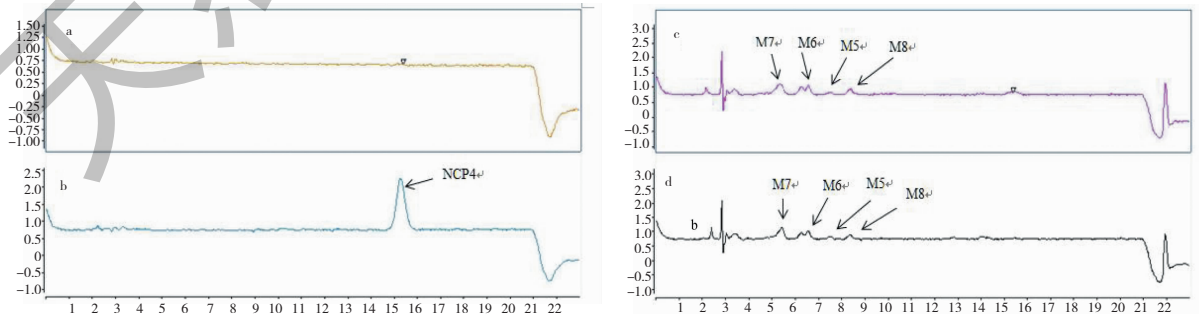


图 7 Beagle 犬肝微粒体温孵样时间点的 LC-UV 图

Fig. 7 Typical LC-UV chromatogram of incubation sample

注: 空白基质 (a), 0 min (b), 60 min (c), 120 min (d); M5, M6, M7, M8 均为 NCP4 在犬肝微粒体中温孵后的代谢产物。Note: blank matrix (a), 0 min (b), 60 min (c), 120 min (d); M1, M2, M3, M4 are metabolites of NCP4 in dog liver microsomes incubation systems.

表 6 NCP4 在 Beagle 犬肝微粒体温孵 60 min 后的降解产物色谱保留时间和质谱数据

Table 6 Retention time and mass spectrometry data of NCP4 degradation products in Beagle dog liver microsomes incubation systems (incubation time:60 min)

编号 No.	保留时间 t_R (min)	m/z [$M + Na$] ⁺
NCP4	15.2	516
M5	7.57	506
M6	6.66	388
M7	5.53	390
M8	8.42	448

4 讨论

实验分别对 NCP4 在不同种属(SD 大鼠、Beagle 犬、人)肝微粒体温孵体系中的底物代谢稳定性进行了研究,不同种属肝微粒体孵育体系中 NCP4 的剩余量百分比与孵育时间的相关图见图 4,可见体外代谢稳定性动态变化趋势基本一致,其中 Beagle 犬与人肝微粒体温孵体系中的底物代谢稳定性更为接近。

根据 NCP4 的剩余量与孵育时间以及肝微粒体生化参数经验值,计算 SD 大鼠、Beagle 犬和人肝微粒体温孵代谢动力学参数 $T_{1/2}$ (min)、 CL_{int} (mL/min/kg) 和 CL_h (mL/min/kg),结果表明:NCP4 在 SD

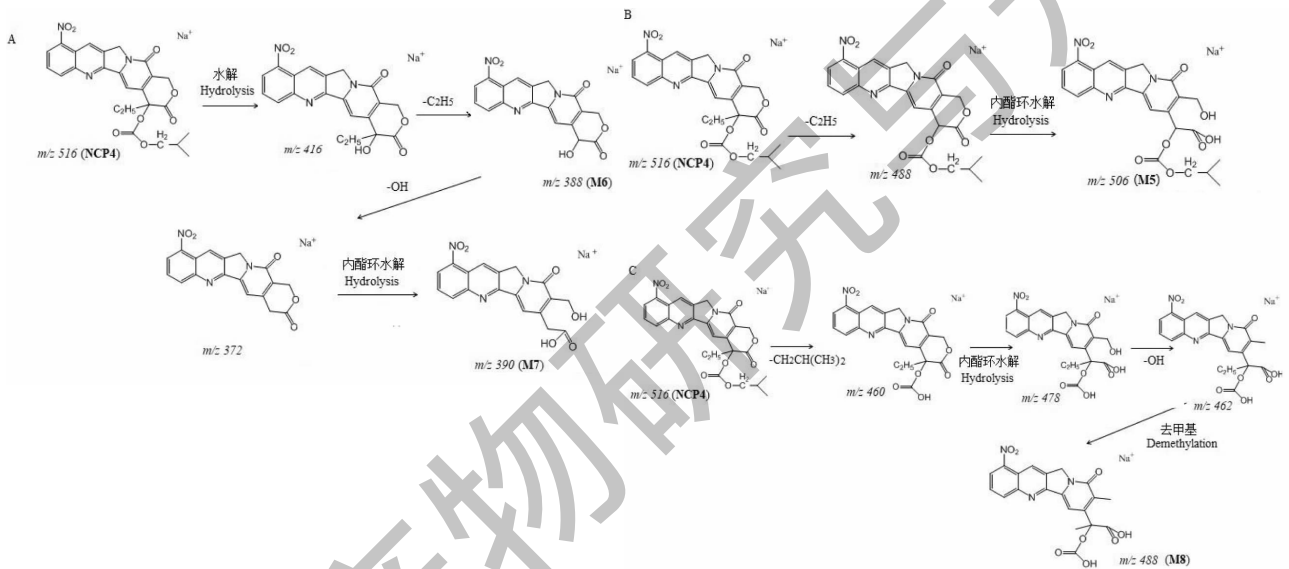


图 8 NCP4 在 beagle 犬及人肝微粒体中代谢途径推测

Fig. 8 Metabolic pathways of NCP4 metabolic product in beagle dogs and human liver microsomes

注:A. 代谢产物 M6, M7 代谢途径;B. 代谢产物 M5 代谢途径;C. 代谢产物 M8 代谢途径。Note:A. metabolic pathway of M6, M7;B. metabolic pathway of M5 metabolic pathway;C. metabolic pathway of M8.

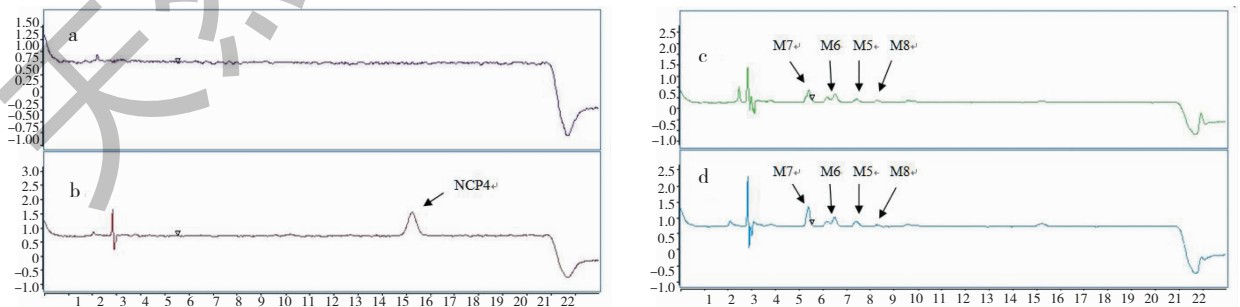


图 9 人肝微粒体温孵样时间点的 LC-UV 图

Fig. 9 Typical LC-UV chromatogram of incubation sample

注:空白基质(a), 0 min(b), 60 min(c), 120 min(d); M5, M6, M7, M8 均为 NCP4 在人肝微粒体中温孵后的代谢产物。Note: blank matrix (a), 0 min (b), 60 min (c), 120 min (d); M1, M2, M3, M4 are metabolites of NCP4 in human liver microsomes incubation systems.

表7 NCP4 在人肝微粒体温孵 60 min 后的降解产物色谱保留时间和质谱数据

Table 7 Retention time and mass spectrometry data of NCP4 degradation products in human liver microsome incubation systems (incubation time:60 min)

编号 No.	保留时间 t_R (min)	m/z [M + Na] ⁺
NCP4	15.2	516
M5	7.45	506
M6	6.58	388
M7	5.47	390
M8	8.4	448

大鼠、Beagle 犬和人三种不同种属肝微粒体中代谢半衰期 $T_{1/2}$ (min)、 CL_{int} (mL/min/kg) 和 CL_h (mL/min/kg) 范围分别为 5.21 ± 277.2 min、 2.54 ± 11.91 mL/min/kg、 2.29 ± 9.80 mL/min/kg, 其中 Beagle 犬和人肝微粒体温孵代谢动力学参数 $T_{1/2}$ (min) 相当, 说明 Beagle 犬与人肝微粒体温孵体系中 NCP4 底物的代谢稳定性基本一致。

同时, 本实验还分别对 NCP4 在不同种属 (SD 大鼠、beagle 犬、人) 肝微粒体温孵体系中的代谢产物进行了研究, 结果表明 NCP4 在 SD 大鼠肝微粒体中生成 m/z [M + Na]⁺ 为 502、460、344 的代谢产物, 在 Beagle 犬、人肝微粒体中生成 m/z [M + Na]⁺ 为 388、390、448 的代谢产物。表明 NCP4 在犬及人肝微粒体中代谢产物相同。

综上所述, 我们可以选择 beagle 犬作为 NCP4 临床前研究的动物模型, 用于 NCP4 的临床前药理学、毒理学及药代动力学等相关研究。

参考文献

- Zhang L, Zhang ZG, Wang J. Review on development of new camptothecin derivatives as antitumor agents [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1830-1837.
- Carol H, Houghton PJ, Morton CL, et al. Initial testing of to-

- potecan by the pediatric preclinical testing program [J]. Pediatr Blood Cancer, 2010, 54: 707-715.
- Hashimoto K, Shan M, Xu P, et al. Potent preclinical impact of metronomic low-dose oral topotecan combined with the antiangiogenic drug pazopanib for the treatment of ovarian cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9: 996-1006.
- Weekes J, Lam KY, Sebesan S, et al. Irinotecan therapy and molecular targets in colorectal cancer: a systemic review [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15: 3597-3602.
- Pu X, Sun J, Wang Y, et al. Development of a chemically stable 10-hydroxycamptothecin nanosuspensions [J]. Int J Pharm, 2009, 379: 167-173.
- Trent JC, Beach J, Burgess MA, et al. A two-arm phase II study of temozolomide in patients with advanced gastrointestinal stromal tumors and other soft tissue sarcomas [J]. Cancer, 2010, 98: 2693-2699.
- Miller KD, Soule SE, Haney LTG, et al. A phase II study of 9-nitro-camptothecin in patients with previously treated metastatic breast cancer [J]. Invest New Drugs, 2004, 22(1): 69-73.
- Mou FX, Luo M, Fu YJ, et al. Synthesis and characterization of 9-nitrocamptothecin C-10 esters [J]. J Northeast Forestry Univ (东北林业大学学报), 2010, 38(1): 74-75.
- Li WX, He JY, Cao D, et al. Study on the mass fragmentation pathway of NCP4, 9-nitrocamptothecin and 10-hydroxycamptothecin [J]. J Guangdong Pharm Univ (广东药科大学学报), 2013, 29: 240-245.
- Chen Y, Li XX, Li LL, et al. Metabolism of coreopsis tinctoria in people liver microsomes [J]. J Xinjiang Med Univ (新疆医科大学学报), 2017, 40: 425-427.
- Haaz MC, Rivory L, Riche C, et al. Metabolism of irinotecan (CPT-11) by human hepatic microsomes: participation of cytochrome P-450 3A and drug interactions [J]. Cancer Res, 1998, 58: 468-472.
- Zhou H, Fu J, Cai ZW, Research of aristolochic acid I, aristolochic acid II and their metabolites in rat liver microsomes using HPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2017, 38(1): 30-36.