

靶向抗肿瘤药物的 ESI-MS/MS 解析和代谢物鉴定

田倩倩, 钟大放

(中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 靶向抗肿瘤药物是新药研发的热点, 也是我国近年来批准上市的新药中数目最多的一类药物。电喷雾质谱(ESI-MS)在当前新药研发中发挥着重要作用, 质谱碎裂信息是建立药动学生物样品分析方法的基础, 也是鉴定药物代谢产物结构的主要依据。本文总结了我国研发的靶向抗癌药物埃克替尼、阿帕替尼、吡咯替尼、氟马替尼、伏美替尼、法米替尼等及其主要代谢产物的电喷雾质谱碎裂途径, 探讨质谱特征, 并与其结构类似的药物进行比较。该综述对于如何选择合适的离子对进行定量分析, 以及如何通过特征产物离子鉴定代谢产物具有参考意义。

关键词: 靶向抗肿瘤药物; 电喷雾; 质谱裂解; 代谢产物鉴定

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2021)05-0804-15

doi: 10.7538/zpxb.2021.0097

ESI-MS/MS Interpretation and Metabolite Identification of Targeted Anti-tumor Drugs

TIAN Qian-qian, ZHONG Da-fang

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Targeted anti-tumor drugs have been a hot spot in the research and development of new drugs, and are also the largest group of new drugs approved for marketing in China in recent years. Electrospray mass spectrometry (ESI-MS) plays a pivotal role in studies of pharmacokinetics and drug metabolism, which is an integral part of drug discovery and development nowadays. The review provided fragmentation schemes of targeted anticancer drugs including icotinib, apatinib, pyrotinib, flumatinib, furmonetinib, famitinib and their main metabolites, as well as their analogs, and discussed the general features observed in their fragmentation. The review expanded the knowledge on the fragmentation of protonated molecules under ESI-MS/MS conditions. The fragmentation of anti-tumor drugs could aid to choose product ions used in selected-reaction monitoring (SRM) bioanalysis and the m/z -shifts of fragmentation could assist with metabolite identification.

Key words: targeted antitumor drugs; electrospray; fragmentation of mass spectra; metabolite identification

自 2000 年伊马替尼上市以来,靶向抗癌药物成为肿瘤治疗的新方向。依据作用靶点可分为酪氨酸激酶抑制剂、肿瘤血管生成抑制剂、DNA 拓扑异构酶抑制剂等^[1]。我国目前已经有 12 个自主研发的靶向抗癌药物批准上市,包括埃克替尼(2011 年)、阿帕替尼(2014 年)、西达本胺(2014 年)、索凡替尼(2017 年)、呋喹替尼(2018 年)、吡咯替尼(2018 年)、安罗替尼(2018 年)、氟马替尼(2019 年)、泽布替尼(2020 年)、阿美替尼(2020 年)、伏美替尼(2021 年)和多纳非尼(2021 年),尚有 300 余个候选新药处于不同的研发阶段^[2]。

靶向抗癌药物的结构多样。对于该类药物的药动学生物样品分析和治疗药物监测,液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)选择反应监测(SRM)是定量分析的主要方法^[3]。对于代谢物结构鉴定,则主要采用液相色谱-高分辨质谱(LC-HRMS)技术,通过准分子离子和特征产物离子的准确相对分子质量,结合药物代谢反应知识进行结构推测^[4]。

文献[5]已对该类药物母体分子的质谱裂解进行了综述。本文将对 12 种药物及其主要代谢物的质谱裂解途径,并讨论这些裂解的一般性规律以及这些药物结构的特征性质谱裂解。综述该类药物的代谢物的质谱裂解,不仅有助于理解哪些产物离子可用于 SRM,以帮助其他研究项目,如代谢物鉴定和定量,而且有助于扩展电喷雾串联质谱(ESI-MS/MS)条件下质子化分子的裂解知识。

1 埃克替尼/厄洛替尼

埃克替尼与厄洛替尼结构相似,母核结构都是喹唑啉环,且存在乙炔苯基结构。不同之处是厄洛替尼与喹唑啉连接的是 2 个甲氧乙氧基,而埃克替尼则是 1 个冠醚环。埃克替尼与厄洛替尼的代谢及质谱裂解途径分别示于图 1 和图 2。

埃克替尼的准分子离子 $[M+H]^+$ m/z 392.161 经碰撞诱导裂解产生的 3 个产物离子 m/z 348.134、304.108 和 278.093 均与冠醚环 C—O 键裂解相关,可根据这些产物离子进行代谢产物鉴定。埃克替尼在体内被广泛代谢,主要代谢途径为苯环氧化、冠醚环氧化开环、氧

化产物进一步与葡萄糖醛酸结合等。氧化代谢产物 M1 准分子离子及所有的二级碎片的相对分子质量均比母体药物增加 16 u,仅通过质谱信息不能确定氧化位点,需结合核磁信息确证 M1 的最终结构。冠醚环氧化开环的代谢产物 M2 产生了 m/z 366.144 和 322.118 特征产物离子,产物离子 m/z 304.108 是在 m/z 322.118 基础上脱水产生的,结合核磁信息确定 M2 的化学结构。M2 进一步氧化生成羧酸代谢产物 M3,存在 2 种结构可能性, m/z 366.144 和 322.118 与 M2 的特征产物离子相同。埃克替尼氧化脱乙基代谢产物 M4 的主要产物离子 m/z 322.118 与 M2 的产物离子相同。M5 和 M6 为埃克替尼氧化后进一步葡萄糖醛酸结合的代谢产物^[6-12]。

厄洛替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 394.176,主要产物离子是 m/z 336.134、304.108、278.092。 m/z 336.134 是厄洛替尼脱去甲氧基乙基产生的产物离子; m/z 304.108 是在 m/z 336.134 的基础上中性丢失 1 分子甲醇产生的产物离子; m/z 278.092 是厄洛替尼脱去 2 个甲氧基乙基产生的产物离子。厄洛替尼在体内的主要代谢途径包括氧化脱甲基、乙炔氧化生成羧酸、苯环氧化生成苯酚、以及厄洛替尼氧化代谢产物进一步葡萄糖醛酸结合^[13-15]。

厄洛替尼和埃克替尼的质谱裂解发生在两者的结构差异处,其母核结构均未发生断裂。厄洛替尼和埃克替尼在体内均发生广泛代谢,主要代谢途径也发生在两者的结构差异处。

2 阿帕替尼/莫替沙尼

阿帕替尼与莫替沙尼的母核结构相同,不同之处在于阿帕替尼引入氰基,并且环戊烷与苯环通过单个碳原子连接,而莫替沙尼是二甲基四氢吡咯环通过 2 个碳原子与苯环连接。阿帕替尼与莫替沙尼的代谢及质谱裂解途径分别示于图 3 和图 4。

阿帕替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 398.189,主要产物离子为 m/z 212.082,次要产物离子包括 m/z 371.190、184.087、92.049。 m/z 212.082 是阿帕替尼酰胺键断裂产生的产

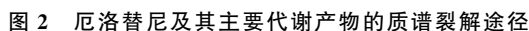


Fig. 2 Structures and fragmentation pathways of erlotinib and its main metabolites

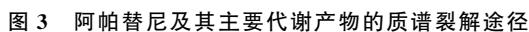


Fig. 3 Structures and fragmentation pathways of apatinib and its main metabolites

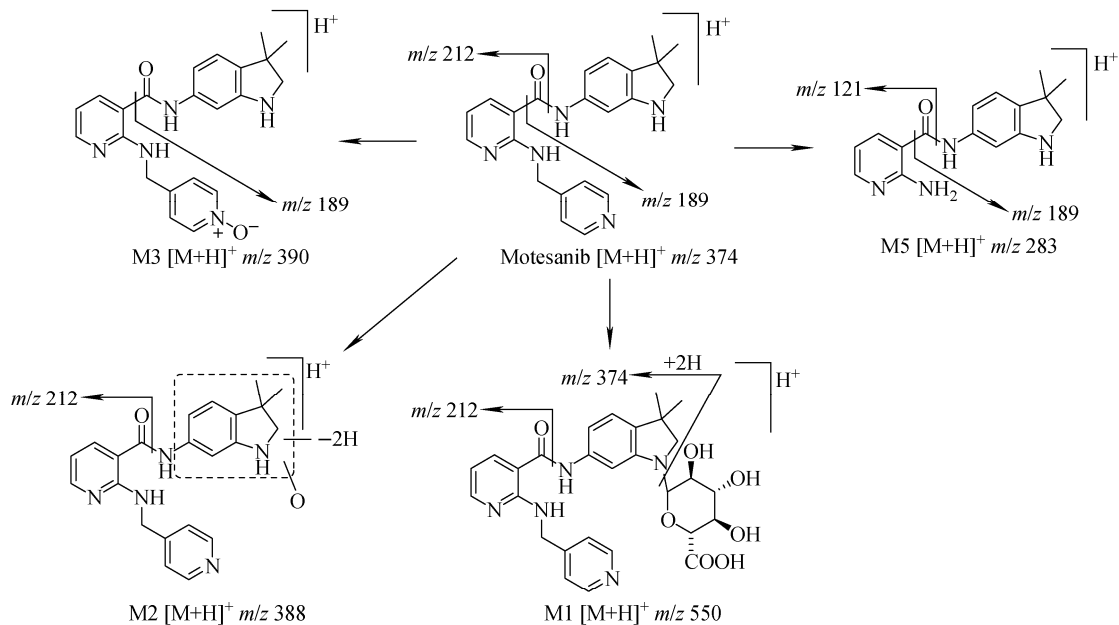


图4 莫替沙尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 4 Structures and fragmentation pathways of motesanib and its main metabolites

莫替沙尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 374.197, 主要产物离子为 m/z 212.082, 次要产物离子为 m/z 189.103。 m/z 212.082 是莫替沙尼酰胺键断裂产生的产物离子, m/z 189.103 是莫替沙尼羰基和吡啶环 C—C 键断裂产生的产物离子。莫替沙尼葡萄糖苷酸代谢产物 M1 的产物离子与莫替沙尼一致。氧化并脱氢代谢产物 M2, 保持 m/z 212.082 产物离子不变。N-氧化代谢产物 M3 的相对分子质量增加 16 u。N-去吡啶甲基代谢产物 M5 的产物离子 m/z 189.103 与莫替沙尼的产物离子一致, 根据 m/z 121.040 可以推测 M5 的结构^[20-23]。

阿帕替尼与莫替沙尼的结构差异较大, 但在结构改造部位并没有发生代谢。因此, 阿帕替尼和莫替沙尼的代谢途径相近, 且主要产物离子 m/z 212.082 相同。

3 吡咯替尼/来那替尼

吡咯替尼和来那替尼的母核结构相同, 不同之处在于吡咯替尼有 1 个四氢吡咯环, 但来那替尼中该氮原子不成环, 为二甲胺。吡咯替尼和来那替尼的代谢及质谱裂解途径分别示于图 5 和图 6。

吡咯替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z

583.221, m/z 547.245 是吡咯替尼中性丢失氯化氢分子后的产物离子, m/z 446.136 和 138.091 是酰胺键断裂产生的产物离子, m/z 110.096 可以作为四氢吡咯环代谢的判断依据。吡咯替尼的特征产物离子多且包含不同的结构信息, 有利于代谢产物的结构鉴定。吡咯替尼在体内被广泛代谢, O-去吡啶甲基代谢产物 M1 酰胺键断裂生成 m/z 355.095 和 138.091 产物离子。M1 进一步氧化生成内酰胺代谢产物 M2, 特征产物离子由 m/z 110.096 变为 m/z 124.075, 表明氧化发生在四氢吡咯环部分, 结合对照品质谱信息, 确定 M2 的结构。N-去甲基代谢产物 M3 中的产物离子 m/z 533.231 和 124.075 比对应的母体药物产物离子的相对分子质量减少 14 u。吡咯环内酰胺代谢产物 M5 的特征产物离子是 m/z 152.070。半胱氨酸结合产物 M11 的特征产物离子是 m/z 259.112 和 617.211^[24-26]。

来那替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 557.206, 产物离子有 m/z 512.149、446.136、521.234、112.076。 m/z 521.234 是来那替尼中性丢失氯化氢后产生的产物离子; m/z 446.136 和 112.076 是来那替尼酰胺键断裂产生的产物离子; m/z 512.149 是来那替尼的二甲胺裂解产生的产物离子。O-去吡啶甲基且与

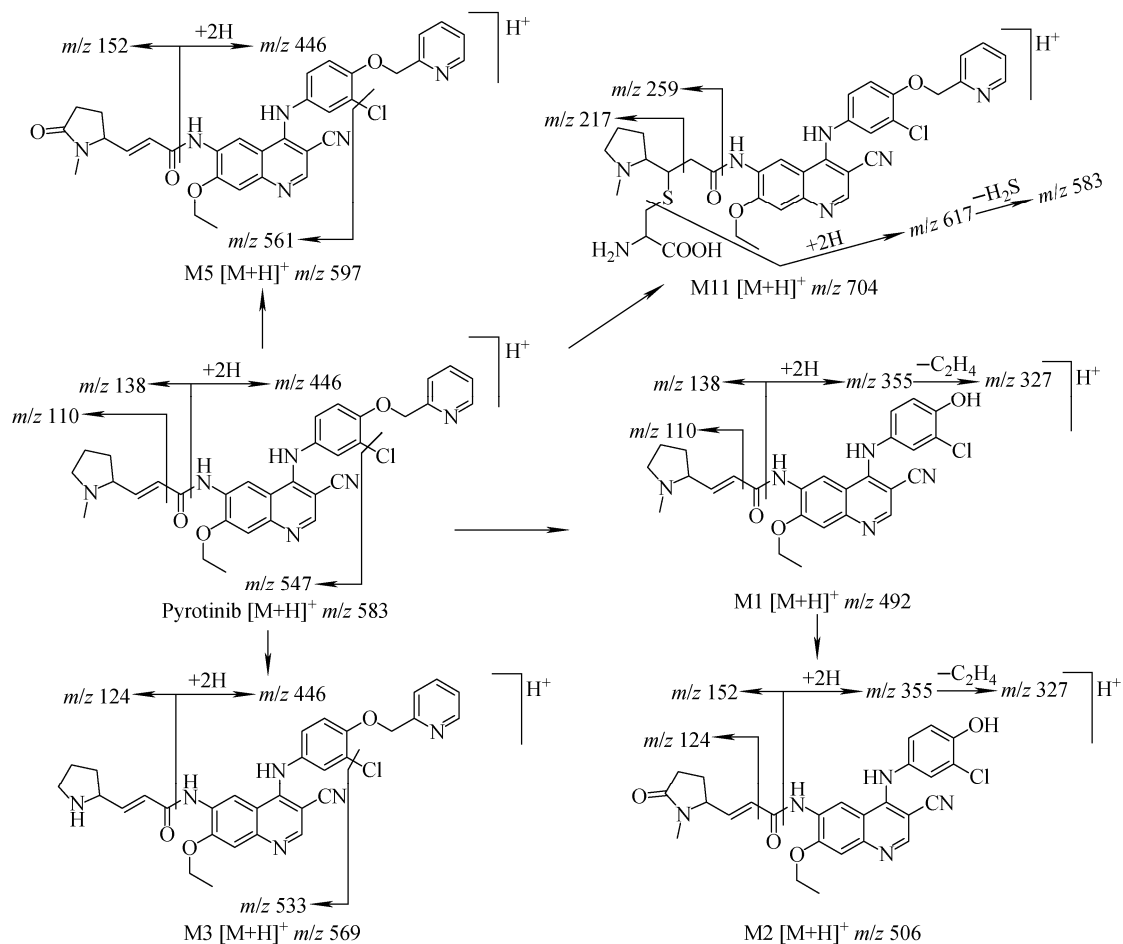


图5 吡咯替尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 5 Structures and fragmentation pathways of pyrotinib and its main metabolites

谷胱甘肽结合的代谢产物 M1 的产物离子是 m/z 466.146。 O -去吡啶甲基代谢产物 M3 的产物离子是 m/z 355.095。吡啶环氧化代谢产物 M8 的相对分子质量增加 16 u, 且产物离子 m/z 421.106 和 112.076 保持不变。 N -去甲基代谢产物 M10 的特征产物离子由 m/z 112.076 变为 m/z 98.060^[27-29]。

来那替尼和吡咯替尼的质谱裂解方式相似, 产物离子 m/z 446.136 相同, 发生代谢的位点基本相同, 但结构差异处的氧化代谢不同。

4 氟马替尼/伊马替尼

氟马替尼是与伊马替尼结构类似的靶向抗肿瘤药物。不同之处在于氟马替尼中引入三氟甲基, 并将伊马替尼中的 1 个苯环改为吡啶环。氟马替尼与伊马替尼的代谢及质谱裂解途径分别示于图 7 和图 8。

氟马替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 563.249 和 $[M+Na]^+$ m/z 585.238, 在质谱中经碰撞诱导裂解产生多个产物离子。 m/z 463.148 是氟马替尼中性丢失 N -甲基哌嗪产生的产物离子。 m/z 563.249 和 463.148 可中性丢失 HF, 产生系列产物离子。氟马替尼酰胺键断裂产生的产物离子为 m/z 277.121 和 285.124。氟马替尼代谢产物的准确相对分子质量提供代谢物的元素组成及代谢类型信息, 通过对比代谢物与原形二级产物离子鉴定代谢产物。氟马替尼在体内被广泛代谢, N -去甲基代谢产物 M1 保留了 m/z 463.148, 但失去了 m/z 99.092 产物离子。氧化代谢产物 M2 比母体药物相对分子质量增加 16 u, 通常存在多个氧化代谢产物, 仅根据产物离子信息难以判断氧化的具体位点。酰胺水解产生的羧酸代谢产物 M3 中出现了中性丢失 N -甲基哌嗪的产

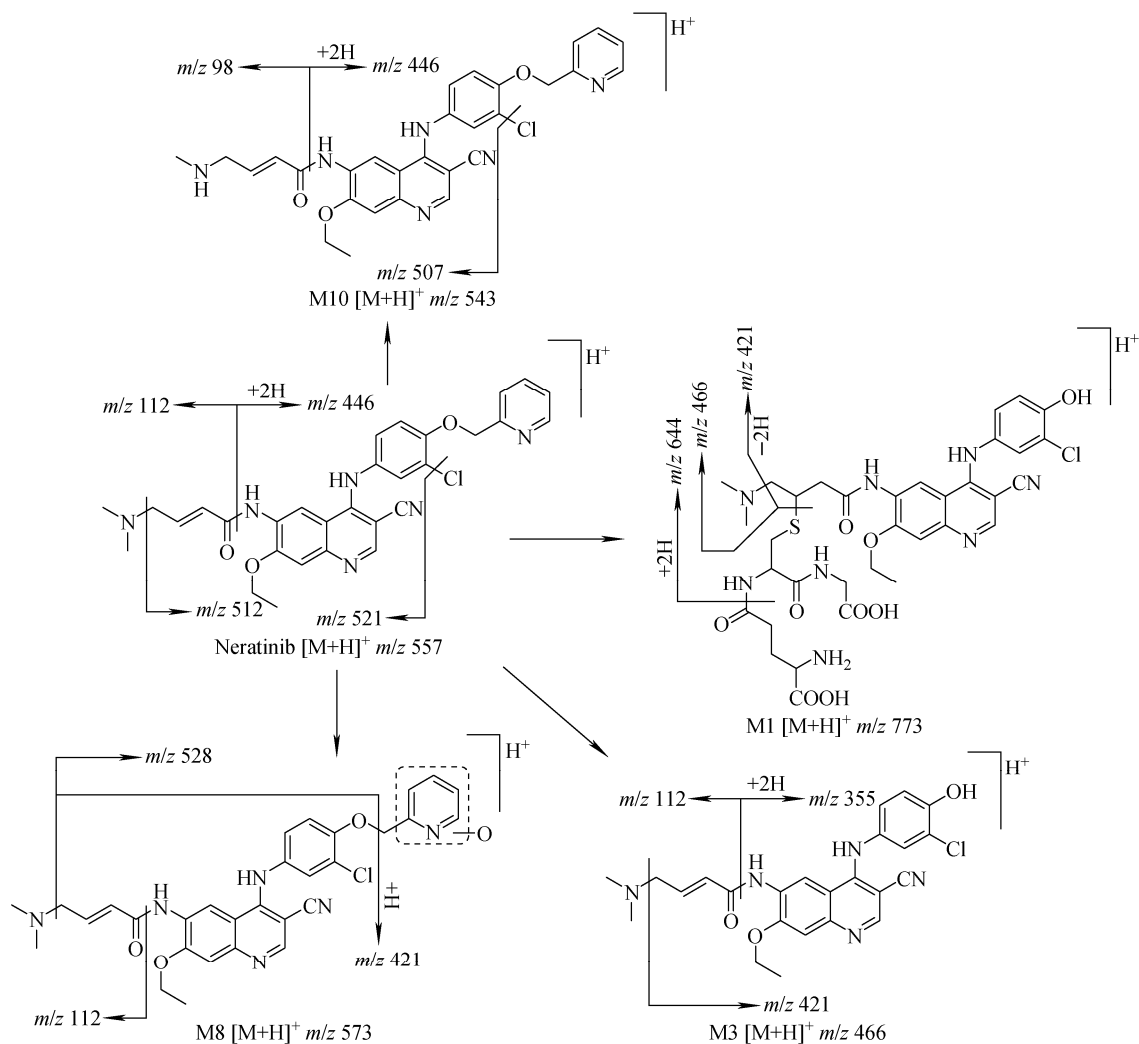


图6 来那替尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 6 Structures and fragmentation pathways of neratinib and its main metabolites

物离子 m/z 203.032。酰胺水解产生的氨基代谢产物 M4 中产生了中性丢失 NH_3 的产物离子 m/z 262.111。M4 进一步氧化代谢产物 M8, 相对分子质量较 M4 增加了 16 u。M4 乙酰化代谢产物 M10 的主要产物离子 m/z 262.109 与氟马替尼的二级碎片相同。氟马替尼的葡萄糖醛酸结合产物 M16 的相对分子质量较母体药物增加了 176 u^[30-32]。

伊马替尼的准分子离子为 $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 494.265 和 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ m/z 516.249, 主要产物离子 m/z 394.166 是伊马替尼中性丢失 N -甲基哌嗪产生的, 与氟马替尼主要碎片的产生方式相同。伊马替尼的主要代谢产物是 N -去甲基代谢产物 M1^[33]。有文献^[34-37]报道, 通过高分辨质谱可以鉴定出伊马替尼的新型含硫代谢

产物, 目前已鉴定出的伊马替尼在人体中的代谢产物可高达 90 种, 临床上通常以伊马替尼和 N -去甲基伊马替尼评价其药动力学。

对比图 7 和 8 可知, 氟马替尼的结构改造并未对其质谱裂解及代谢途径产生太大的影响。

5 伏美替尼/奥西替尼

伏美替尼和奥西替尼的结构相似, 不同之处在于伏美替尼在奥西替尼结构的基础上增加了三氟甲基以及吡啶环代替苯环。伏美替尼和奥西替尼的代谢及质谱裂解途径分别示于图 9 和图 10。

伏美替尼的准分子离子为 $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 569.259, 在碰撞诱导裂解下产生产物离子 m/z

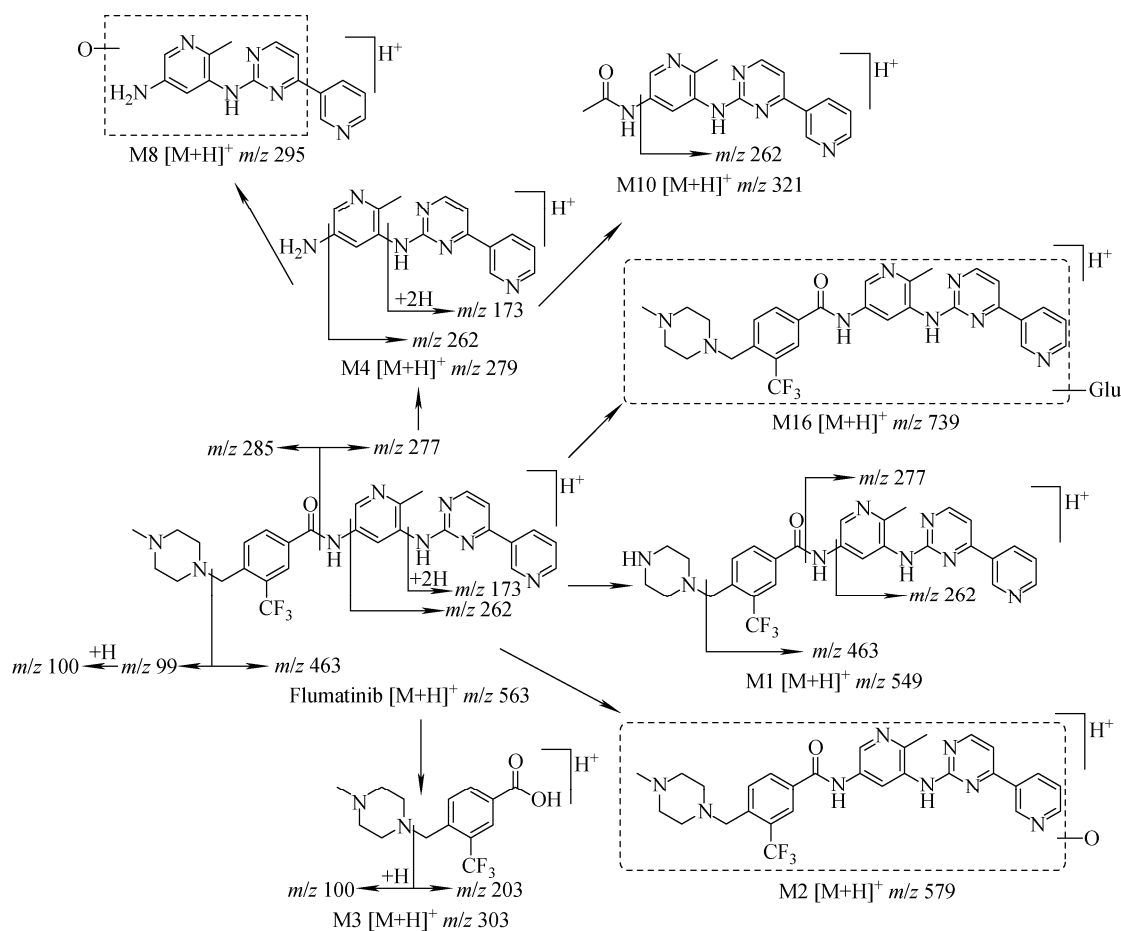


图7 氟马替尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 7 Structures and fragmentation pathways of flumatinib and its main metabolites

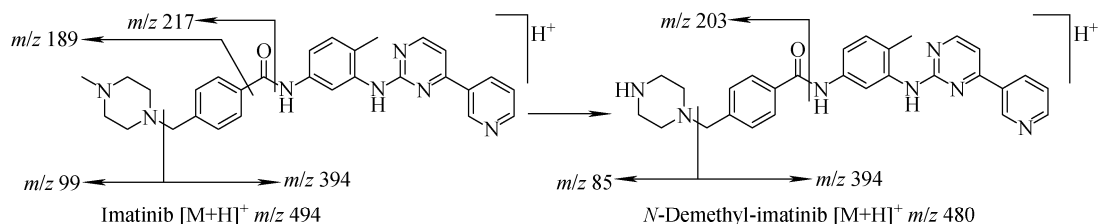


图8 伊马替尼及其主要代谢产物 N-去甲基伊马替尼的质谱裂解途径

Fig. 8 Structures and fragmentation pathways of imatinib and N-demethyl-imatinib

524.201、441.190、225.113、72.080。 m/z 524.201 是 C—N 键断裂,脱去二甲胺产生的产物离子; m/z 441.190 是在 m/z 524.201 对应的结构上进一步发生 C—O 键断裂,脱去三氟乙基后的产物离子; m/z 72.080 对应 N-二甲基乙基的特征产物离子。伏美替尼在体内被广泛代谢, N-去甲基代谢产物 M1 中 m/z 72.080 产物离子消失,判断 M1 为伏美替尼二甲胺中脱去 1 个甲基。氧化代谢产物 M2 中产

生产物离子 m/z 225.113,排除了氧化发生在嘧啶环上的可能性。N-去吡啶侧链代谢产物 M3 中产生特征产物离子 m/z 208.087。O-脱三氟乙基代谢产物 M4,其特征产物离子 m/z 72.080 不变, m/z 524.201 变为 m/z 442.199^[38-40]。

奥西替尼的准分子离子为 [M+H]⁺ m/z 500.276,在碰撞诱导裂解下生成产物离子 m/z 72.081 和 427.188,目前关于奥西替尼的产物离子信息报道比较少。 m/z 72.081 对应的是

奥西替尼乙基二甲胺, m/z 427.188 对应的是奥西替尼除去 m/z 72.081 之后的产物离子。奥西替尼在体内被广泛代谢, 其中主要代谢产物是 *N*-去甲基代谢产物 M1-1、M1-2 及氧化代谢产物 M2-1 和 M2-2。由于奥西替尼结构中的甲基较多, 且可氧化位点较多, 因此仅通过代谢物碎片信息难以判断代谢产物的结构, 需要结合对照品及核磁信息判断代谢产物结构^[41-43]。

三氟甲基的引入对伏美替尼的代谢影响不大, 奥西替尼和伏美替尼的代谢途径相似。

6 法米替尼/舒尼替尼

法米替尼和舒尼替尼的结构相似, 不同之处在于法米替尼的酰胺键形成 1 个六元环, 与吡咯环通过 2 个碳原子连接, 而舒尼替尼的酰胺键以链状形式存在。法米替尼和舒尼替尼的

代谢及质谱裂解途径分别示于图 11 和图 12。

法米替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 411.218, 主要产物离子 m/z 338.129 是法米替尼 C—N 键断裂脱去二乙胺形成的。丰度较低的产物离子 m/z 294.102 和 269.106 是甲基吡咯二氢吡啶酮断裂产生的。法米替尼在体内被广泛代谢, 脱去二乙胺并氧化生成羧酸代谢产物 M1 中性丢失甲酸产生特征产物离子 m/z 324.114。N-去乙基代谢产物 M3 产物离子保持不变, 但是相对分子质量减少 28 u。氟原子被羟基取代的代谢产物 M7 产生的产物离子 m/z 336.133、292.108、267.117 比法米替尼对应的产物离子相对分子质量减少 2 u。单氧化代谢产物 M9 比法米替尼的相对分子质量增加 16 u, 氧化代谢的位点难以判断^[44-45]。

舒尼替尼的准分子离子为 $[M+H]^+$ m/z 399.219, m/z 326.130 是脱去二乙胺的产物离

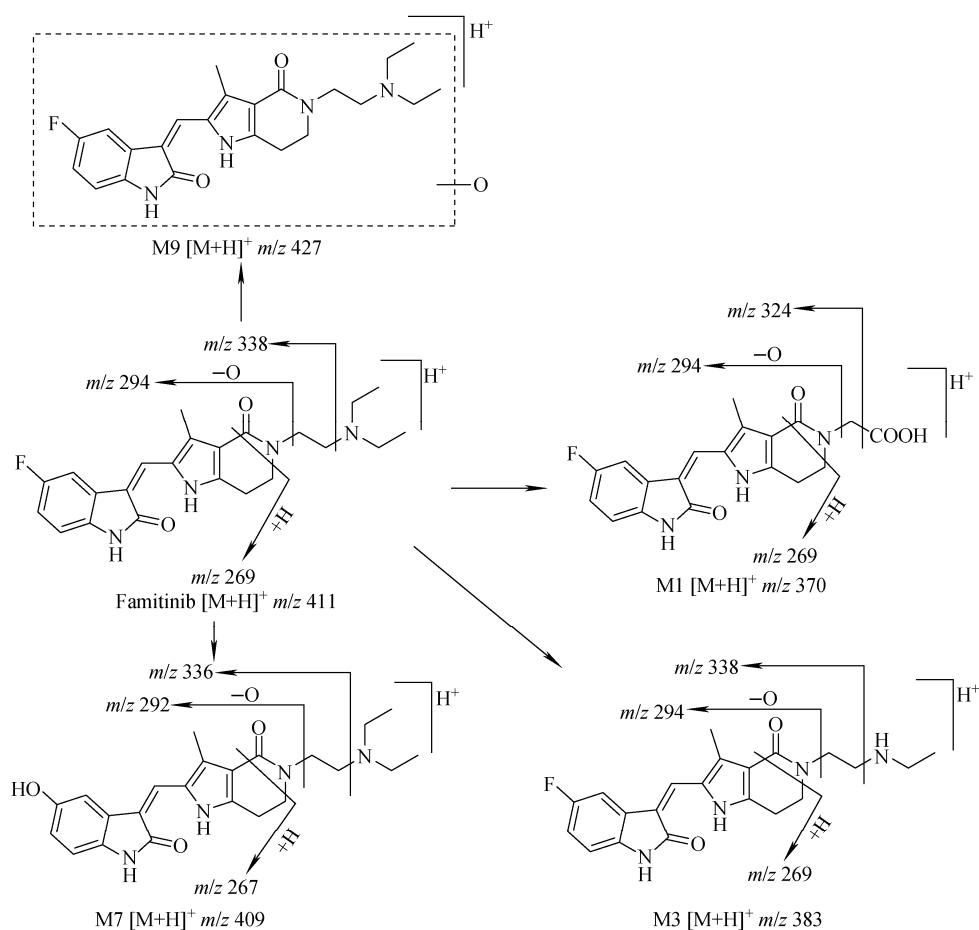


图 11 法米替尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 11 Structures and fragmentation pathways of famitinib and its main metabolites

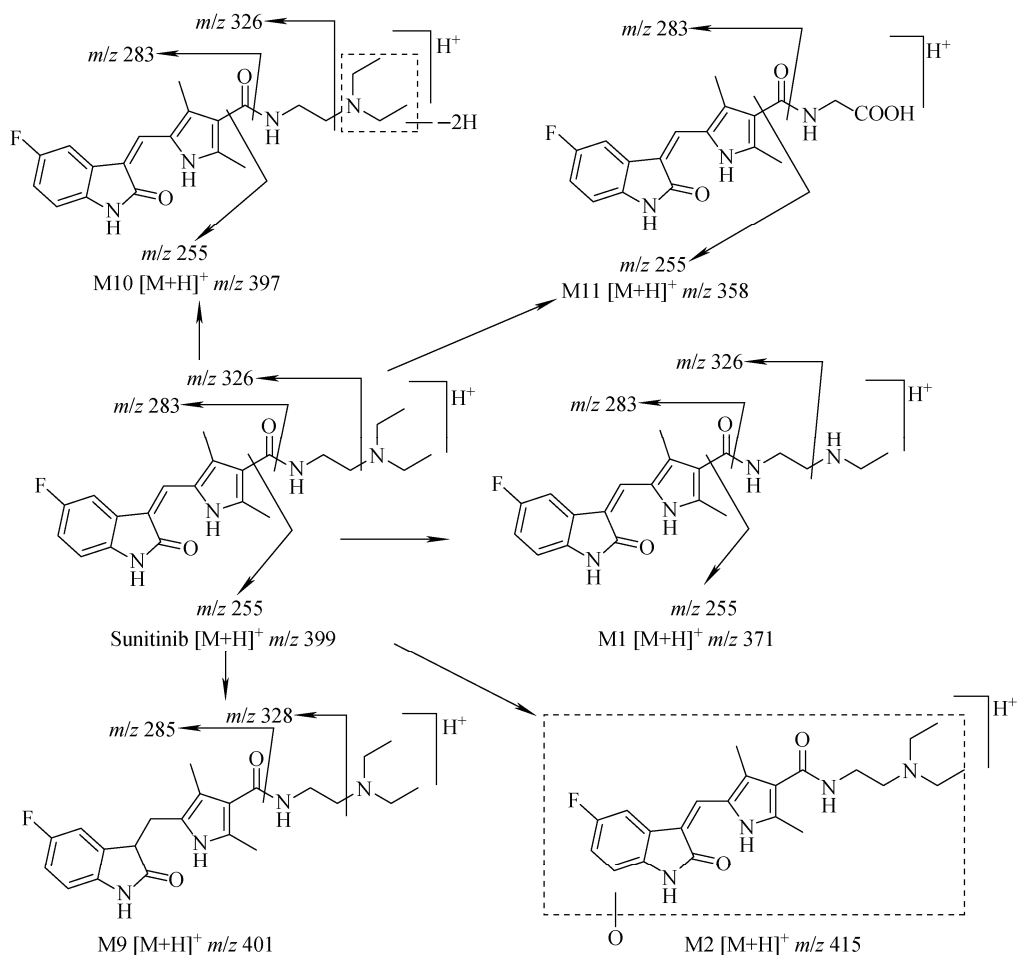


图 12 舒尼替尼及其主要代谢产物的质谱裂解途径

Fig. 12 Structures and fragmentation pathways of sunitinib and its main metabolites

子, m/z 283.088 是酰胺键断裂产生的产物离子, m/z 255.093 是脱去酰胺键侧链产生的产物离子。N-去乙基代谢产物 M1 准分子离子相对质量数减少 28 u, 产物离子不发生变化。单氧化代谢产物 M2 氧化位点多, 代谢产物不唯一, 具体结构应根据对照品及核磁信息进行判断。还原代谢产物 M9 产生的产物离子比母体药物产物离子的相对分子质量增加 2 u, 结合对照品信息判断舒尼替尼还原产物是烯键被还原成单键。脱氢代谢产物 M10 产物离子均与原形保持一致, 由此推断, 脱氢的位置发生二乙胺基团。N-去二乙胺并氧化生成羧酸代谢产物 M11 的产物离子 m/z 326.130 消失, 但存在 m/z 283.088 和 255.093^[46-50]。

法米替尼和舒尼替尼在结构差异处未发生代谢, 因此代谢途径及主要代谢产物的种类未发生明显变化。

7 结语与展望

通过解析以上靶向抗肿瘤药物及其代谢产物质谱裂解产生的产物离子, 可以总结出一些有意义的特点。靶向抗肿瘤药物结构中均含有 3 个及以上氮原子, 容易结合质子, 正离子模式下的质谱响应比负离子模式高得多。通常该类药物均在电喷雾质谱正离子模式下检测, 因此本文关注 $[M+H]^+$ 产物离子, 这些产物离子信息可用于该类药物的定量及代谢产物鉴定。准分子离子 $[M+H]^+$ 质谱裂解普遍发生在脂肪碳原子与杂原子(氮、氧和硫等)连接的共价键处, 本文列举的所有药物及其代谢产物均符合该裂解规律, 但也存在少数 C—C 共价键断裂的情况(图 3 中 m/z 184 和 m/z 371)。理论上, 靶向抗肿瘤药物的质谱裂解产生 2 个互补的产物离子, 即当发生氢重排时, 2 个产物离子的 m/z 之和等于 $[M+H]+1$ (图 5 中 m/z 138

和 m/z 446 之和比 $[M+H]^+$ m/z 583 大 1 u; 当不发生氢重排时, 2 个产物离子的 m/z 之和等于 $[M+H]-1$ (图 7 中 m/z 285 和 m/z 277 之和比 $[M+H]^+$ m/z 563 小 1 u)。由于产物离子的稳定性和质谱响应高低差异, 很多情况下只检测到 1 个产物离子。质谱裂解通常遵循偶电子规则, 即偶电子离子发生质谱裂解时, 优先生成 1 个偶电子离子和 1 个中性分子。但是, 也存在违背该规则的质谱裂解情况 (图 9 中 m/z 255), 这与 C—C 共价键断裂、氢重排、脱卤素等多种因素相关。通过对比母体药物与代谢产物的产物离子信息, 可以发现代谢产物与母体药物的质谱裂解规律相似, 通过相对分子质量以及产物离子的质量差判断代谢产物的结构。例如, 氧化代谢产物和葡萄糖醛酸结合代谢产物比母体分子的相对分子质量增加 16 u 和 176 u。可以通过特征产物离子 (图 3 中 m/z 92、184、212) 以及特征中性丢失 (图 5 中发生中性丢失氯化氢, 相对分子质量减少 36 u) 追踪代谢产物。母体药物的质谱裂解为推测代谢产物结构提供了重要依据。

参考文献:

- [1] DAMELE L, OTTONELLO S, MINGARI M C, PIETRA G, VITALE C. Targeted therapies: friends or foes for patient's NK cell-mediated tumor immune-surveillance? [J]. *Cancers*, 2020, 12(4): 774.
- [2] LI G Q, QIN Y H, XIE C C, WU Y L, CHEN X Y. Trends in oncology drug innovation in China [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(1): 15-16.
- [3] SEGER C, SALZMANN L. After another decade: LC-MS/MS became routine in clinical diagnostics [J]. *Clinical Biochemistry*, 2020, 82: 2-11.
- [4] WEN B, ZHU M S. Applications of mass spectrometry in drug metabolism: 50 years of progress [J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2015, 47(1): 71-87.
- [5] NIESSEN W M A, ROSING H, BEIJNEN J H. Interpretation of MS-MS spectra of small-molecule signal transduction inhibitors using accurate m/z data and m/z -shifts with stable-isotope-labeled analogues and metabolites [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2021: 464.
- [6] CHEN J, LIU D Y, ZHENG X, ZHAO Q, JIANG J, HU P. Relative contributions of the major human CYP450 to the metabolism of icotinib and its implication in prediction of drug-drug interaction between icotinib and CYP3A4 inhibitors/inducers using physiologically based pharmacokinetic modeling [J]. *Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2015, 11(6): 857-868.
- [7] CHENG X, LV X, QU H, LI D D, HU M M, GUO M Z, GE G B, DONG R H. Comparison of the inhibition potentials of icotinib and erlotinib against human UDP-glucuronosyltransferase 1A1 [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2017, 7(6): 657-664.
- [8] GUAN Z M, CHEN X Y, WANG Y X, ZHONG D F. Metabolite identification of a new antitumor agent icotinib in rats using liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 22(14): 2 176-2 184.
- [9] HU P, CHEN J, LIU D Y, ZHENG X, ZHAO Q, JIANG J. Development of population pharmacokinetics model of icotinib with non-linear absorption characters in healthy Chinese volunteers to assess the CYP2C19 polymorphism and food-intake effect [J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2015, 71(7): 843-850.
- [10] RUAN C J, LIU D Y, JIANG J, HU P. Effect of the CYP2C19 genotype on the pharmacokinetics of icotinib in healthy male volunteers [J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2012, 68(12): 1 677-1 680.
- [11] ZHANG T, ZHANG K, MA L, LI Z, WANG J, ZHANG Y X, LU C, ZHU M S, ZHUANG X M. Metabolic pathway of icotinib *in vitro*: the differential roles of CYP3A4, CYP3A5, and CYP1A2 on potential pharmacokinetic drug-drug interaction [J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 107(4): 979-983.
- [12] ZHUANG X M, ZHANG T H, YUE S J, WANG J, LUO H, ZHANG Y X, LI Z, CHE J J, YANG H Y, LI H, ZHU M S, LU C. Allosteric activation of midazolam CYP3A5 hydroxylase activity by icotinib enhancement by ketoconazole [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2016, 121: 67-77.

- [13] LING J, JOHNSON K A, MIAO Z, RAKHIT A, PANTZE M P, HAMILTON M, LUM B L, PRAKASH C. Metabolism and excretion of erlotinib, a small molecule inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in healthy male volunteers[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2006, 34(3): 420-426.
- [14] REDDICK S J, CAMPAGNE O, HUANG J, ONAR-THOMAS A, BRONISCHER A, GAJJAR A, STEWART C F. Correction to: pharmacokinetics and safety of erlotinib and its metabolite OSI-420 in infants and children with primary brain tumors[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2019, 84(4): 829-838.
- [15] ROOD J J M, TORANO J S, SOMOVILLA V J, BEIJNEN J H, SPARIDANS R W. Bioanalysis of erlotinib, its *O*-demethylated metabolites OSI-413 and OSI-420, and other metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with additional ion mobility identification[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2021, 1166: 122-134.
- [16] DING J F, CHEN X Y, DAI X J, ZHONG D F. Simultaneous determination of apatinib and its four major metabolites in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetic study [J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2012, 895: 108-115.
- [17] DING J F, CHEN X Y, GAO Z W, DAI X J, LI L, XIE C, JIANG H Y, ZHANG L J, ZHONG D F. Metabolism and pharmacokinetics of novel selective vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitor apatinib in humans[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2013, 41(6): 1195-1210.
- [18] LIU X Y, ZHANG Y F, CHEN Q, ZHAN Y, WANG Q R, HU Q Y, YU C, GUO Z T, CHEN X Y, ZHONG D F. Pharmacokinetic drug interactions of apatinib with rifampin and itraconazole[J]. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 2018, 58(3): 347-356.
- [19] GUAN S X, SHI W, ZHAO Z R, WANG F, JIANG F L, ZHANG C B, JIN Z M, GUAN Y P, LIU D H, ZHONG G P, HUANG M, LONG H, WANG X D. Determination of apatinib and its three active metabolites by UPLC-MS/MS in a phase IV clinical trial in NSCLC patients[J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(22): 2049-2060.
- [20] GOSSELIN N H, MOUKSASSI M S, LU J F, HSU C P. Population pharmacokinetic modeling of motesanib and its active metabolite, M4, in cancer patients[J]. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 2015, 4(6): 463-472.
- [21] LI C, KUCHIMANCHI M, HICKMAN D, POPPE L, HAYASHI M, ZHOU Y H, SUBRAMANIAN R J, KUMAR G, KUMAR G. *In vitro* metabolism of the novel, highly selective oral angiogenesis inhibitor motesanib diphosphate in preclinical species and in humans[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2009, 37(7): 1378-1394.
- [22] EZZELDIN E, IQBAL M, AL-SALAH R, ELNAHHAS T. Development and validation of a UPLC-MS/MS method for determination of motesanib in plasma; application to metabolic stability and pharmacokinetic studies in rats[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 166: 244-251.
- [23] KUBOTA K, YOSHIOKA H, OSHITA F, HIDA T, YOH K, HAYASHI H, KATO T, KANEDA H, YAMADA K, TANAKA H, ICHINOSE Y, PARK K, CHO E K, LEE K H, LIN C B, YANG J C H, HARA K, ASATO T, NAKAGAWA K. Phase III, randomized, placebo-controlled, double-blind trial of motesanib (AMG-706) in combination with paclitaxel and carboplatin in east asian patients with advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2017, 35(32): 3662-3670.
- [24] MENG J, LIU X Y, MA S, ZHANG H, YU S D, ZHANG Y F, CHEN M X, ZHU X Y, LIU Y, DING X L, CHEN X Y, MIAO L Y, ZHONG D F. Metabolism and disposition of pyrotinib in healthy male volunteers: covalent binding with human plasma protein[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2019, 40(7): 980-988.
- [25] ZHU Y T, LI L, ZHANG G, WAN H, YANG C Y, DIAO X X, CHEN X Y, ZHONG D F. Metabolic characterization of pyrotinib in humans

- by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2016, 1 033: 117-127.
- [26] BLAIR HA. Pyrotinib: first global approval[J]. *Drugs*, 2018, 78(16): 1 751-1 755.
- [27] ALJAKOUCH K, LECHTONEN T, YOSEF H K, HAMMOUD M K, ALSAIDI W, KÖTTING C, MÜGGE C, KOURIST R, EL-MASHTOLY S F, GERWERT K. Raman microspectroscopic evidence for the metabolism of a tyrosine kinase inhibitor, neratinib, in cancer cells[J]. *Angewandte Chemie. International Ed in English*, 2018, 57(24): 7 250-7 254.
- [28] LIU W, LI S, WU Y, YAN X, ZHU Y M, HUANG J H, CHEN Z. Metabolic profiles of neratinib in rat by using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector and Q-Exactive orbitrap tandem mass spectrometry[J]. *Biomedical Chromatography*, 2018, 32 (9): e4272.
- [29] SHIBATA Y, CHIBA M. The role of extrahepatic metabolism in the pharmacokinetics of the targeted covalent inhibitors afatinib, ibrutinib, and neratinib[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2015, 43(3): 375-384.
- [30] YANG Y, LIU K, ZHONG D F, CHEN X Y. Simultaneous determination of flumatinib and its two major metabolites in plasma of chronic myelogenous leukemia patients by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2012, 895: 25-30.
- [31] CHEN J F, GUO S, YU X Z, LEI J X, XU T, ZHU S Y, CHEN L, XU P, ZHOU X, YU L S. Metabolic interactions between flumatinib and the CYP3A4 inhibitors erythromycin, cyclosporine, and voriconazole[J]. *Pharmazie*, 2020, 75 (9): 424-429.
- [32] GONG A S, CHEN X Y, DENG P, ZHONG D F. Metabolism of flumatinib, a novel antineoplastic tyrosine kinase inhibitor, in chronic myelogenous leukemia patients[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2010, 38 (8): 1 328-1 340.
- [33] ZHAO T, WANG L, CHEN D Y. Quantification of imatinib and related compounds using capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry with field-amplified sample stacking[J]. *Electrophoresis* 2020, 41(21/22): 1 843-1 850.
- [34] VROBEL I, FRIEDECKÝ D, FABER E, NAJDEKR L, MIČOVÁ K, KARLÍKOVÁ P, ADAM T. Novel sulphur-containing imatinib metabolites found by untargeted LC-HRMS analysis[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 104: 335-343.
- [35] FRIEDECKÝ D, MIČOVÁ K, FABER E, HRDÁ M, ŠIROKÁ J, ADAM T. Detailed study of imatinib metabolization using high-resolution mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1 409: 173-181.
- [36] ONMAZ D E, ABUSOGLU S, UNLU A, BAS-TURK A, DAGLI M, BAGCI M, TOK O, ABUSOGLU G. Determination of serum imatinib and its metabolite in patients chronic myeloid leukemia[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 497: 120-124.
- [37] ADEAGBO B A, OLUGBADE T A, DUROS-INMI M A, BOLARINWA R A, OGUNGBENRO K, BOLAJI O O. Population pharmacokinetics of imatinib in nigerians with chronic myeloid leukemia: clinical implications for dosing and resistance[J]. *Journal of Clinical Pharmacology*, 2017, 57(12): 1 554-1 563.
- [38] LIU X Y, GUO Z T, CHEN Z D, ZHANG Y F, ZHOU J L, JIANG Y, ZHAO Q Y, DIAO X X, ZHONG D F. Alflutinib (AST2818), primarily metabolized by CYP3A4, is a potent CYP3A4 inducer[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2020, 41(10): 1 366-1 376.
- [39] SHI Y K, ZHANG S C, HU X S, FENG J F, MA Z Y, ZHOU J Y, YANG N, WU L, LIAO W J, ZHONG D F, HAN X H, WANG Z P, ZHANG X D, QIN S K, YING K J, FENG J, FANG J, LIU L, JIANG Y. Safety, clinical activity, and pharmacokinetics of alflutinib (AST2818) in patients with advanced NSCLC with EGFR T790M mutation[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2020, 15(6): 1 015-1 026.
- [40] HENG J F, TANG Q, CHEN X, BAO J J, DENG J, CHEN Y, ZHAO J, ZHU S L, LIU X B, JIANG Y, YANG N, LI K Y. Evaluation of

- the pharmacokinetic effects of itraconazole on alflutinin (AST2818): an open-label, single-center, single-sequence, two-period randomized study in healthy volunteers[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 162: 105 815.
- [41] DICKINSON P A, CANTARINI M V, COLLI-ER J, FREWER P, MARTIN S, PICKUP K, BALLARD P. Metabolic disposition of osimertinib in rats, dogs, and humans: insights into a drug designed to bind covalently to a cysteine residue of epidermal growth factor receptor[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2016, 44(8): 1 201-1 212.
- [42] MACLEOD A K, LI N, HUANG J T, MCLAUGHLIN L A, HENDERSON C J, WOLF C R. Identification of novel pathways of osimertinib disposition and potential implications for the outcome of lung cancer therapy[J]. *Clinical Cancer Research*, 2018, 24(9): 2 138-2 147.
- [43] ROOD J J M, van HAREN M J, BEIJNEN J H, SPARIDANS R W. Bioanalysis of EGFRm inhibitor osimertinib, and its glutathione cycle- and desmethyl metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2020, 177: 112 871.
- [44] XIE C, ZHOU J L, GUO Z T, DIAO X X, GAO Z W, ZHONG D F, JIANG H Y, ZHANG L J, CHEN X Y. Metabolism and bio-activation of famitinib, a novel inhibitor of receptor tyrosine kinase, in cancer patients[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2013, 168(7): 1 687-1 706.
- [45] LIU S Y, WEI H, GONG X B, XIA T Y, ZHAI J X, CHEN W S, TAO X. LC-MS/MS method for simultaneous determination of famitinib and its major metabolites in human plasma[J]. *Bioanalysis*, 2018, 10(11): 791-801.
- [46] MARANGON E, BUZZO M, POSOCCO B, GAGNO S, ZANCHETTA M, IACUZZI V, POETTO A S, GUARDASCIONE M, GIODINI L, TOFFOLI G. A new high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of sunitinib and N-desethyl sunitinib in human plasma: light-induced isomerism overtaking towards therapeutic drug monitoring in clinical routine[J]. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2020, 179: 112 949.
- [47] SPEED B, BU H Z, POOL W F, PENG G W, WU E Y, PATYNA S, BELLO C, KANG P. Pharmacokinetics, distribution, and metabolism of [^{14}C]sunitinib in rats, monkeys, and humans [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2012, 40 (3): 539-555.
- [48] ABOULMAGD A M, ABDELWAHAB N S. Analysis of sunitinib malate, a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor: a critical review[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 163: 105 926.
- [49] JOLIBOIS J, SCHMITT A, ROYER B. A simple and fast LC-MS/MS method for the routine measurement of cabozantinib, olaparib, palbociclib, pazopanib, sorafenib, sunitinib and its main active metabolite in human plasma[J]. *Journal of Chromatography B*, 2019, 1 132: 121 844.
- [50] CHATZIATHANASIADOU M V, STYLOS E K, GIANNOPOULOU E, SPYRIDAKI M H, BRIASOULIS E, KALOFONOS H P, CROOK T, SYED N, SIVOLAPENKO G B, TZAKOS A G. Development of a validated LC-MS/MS method for the in vitro and in vivo quantitation of sunitinib in glioblastoma cells and cancer patients-science direct[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 164: 690-697.

(投稿日期:2021-06-11;修回日期:2021-06-22)