

瑞格非尼片在健康志愿者体内的药动学研究

艾 亮¹, 段旺旺¹, 王兴宁²

1. 延安大学附属医院 药剂科, 陕西 延安 716000

2. 延安大学附属医院 检验科, 陕西 延安 716000

摘 要: **目的** 利用固相萃取-高效液相色谱, 建立测定人血浆中瑞格非尼及其代谢产物 *N*-氧化瑞格非尼和去甲-*N*-氧化瑞格非尼的方法, 研究其人体药动力学。**方法** 采用固相萃取-高效液相色谱法进行检测, 以索拉非尼为内标, Oasis HLB 型固相萃取柱 (200 mg×6 mL); 流动相: 0.5%磷酸二氢钾溶液-乙腈 (30:70); 检测波长: 260 nm; 体积流量: 0.5 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 5 μL。健康志愿者空腹条件下用 50 mL 温水送服 40、160 mg/片瑞格非尼片。利用 DAS 2.1.1 软件对药-时数据进行统计学分析, 并得到主要药动学数据。**结果** 瑞格非尼及其代谢产物 *N*-氧化瑞格非尼和去甲-*N*-氧化瑞格非尼在 10~10 000 ng/mL 线性关系良好; 检测限 (LOD) 分别为 0.67、0.72、0.57 ng/mL; 定量限 (LOQ) 分别为 1.98、2.32、1.61 ng/mL; 得到瑞格非尼及其代谢产物 *N*-氧化瑞格非尼和去甲-*N*-氧化瑞格非尼药-时曲线和主要药动学数据。40、160 mg/片规格瑞格非尼片中瑞格非尼的 $C_{\max}$ 、 AUC_{last} 、 AUC_{mf} 、 $t_{1/2}$ 分别为 (2 215.7±216.9)、(5 721.2±672.1) ng/mL, (13 772.9±10 231.1)、(51 182.3±43 219.2) ng·h/mL, (12 858.3±12 510.2)、(66 531.8±51 093.1) ng·h/mL, (6.58±1.31)、(13.12±4.23) h。**结论** 采用固相萃取-高效液相色谱法考察瑞格非尼片在健康志愿者体内的药动学研究具有操作简便、可靠性高等优点, 对该药的应用具有重要意义。

关键词: 瑞格非尼片; 瑞格非尼; *N*-氧化瑞格非尼; 去甲-*N*-氧化瑞格非尼; 药动学; 固相萃取-高效液相色谱

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)10-1522-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.10.003

Pharmacokinetics of Regorafenib Tablets in health volunteer

AI Liang¹, DUAN Wang-wang¹, WANG Xing-ning²

1. Department of Medicament, Affiliated Hospital of Yanan University, Yanan 716000, China

2. Department of Laboratory, Affiliated Hospital of Yanan University, Yanan 716000, China

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of regorafenib and its metabolites *N*-oxidemetabolite and desmethyl *N*-oxide metabolite in human plasma by solid phase extraction - HPLC, and study pharmacokinetics of Regorafenib Tablets in health volunteer. **Methods** After plasma sample was performed, using sorafenib as internal standard, the determination was performed on Oasis HLB column (200 mm × 6 mm), with 0.5% monopotassium phosphate - methanol (30:70) as mobile phase, the UV detection wavelength was 260 nm with flow rate as 0.5 mL/min. The column temperature was set at 40 ℃, and injection volume was 5 μL. Health volunteer were *po* administered with Regorafenib Tablets 40 and 160 mg/tablet under fasting conditions with 50 mL warm water. DAS 2.1.1 software was used to calculate the major pharmacokinetic parameters. **Results** The linear ranges for regorafenib and its metabolites *N*-oxidemetabolite and desmethyl-*N*-oxide metabolite were 10 — 10 000 ng/mL. LOD and LOQ were 0.67, 0.72, 0.57 ng/mL and 1.98, 2.32, and 1.61 ng/mL. Plasma concentration - time curves and major pharmacokinetic parameters of regorafenib and its metabolites *N*-oxidemetabolite and desmethyl *N*-oxide metabolite were obtained. Main pharmacokinetic parameters of regorafenib in Regorafenib Tablets with 40 and 160 mg/tablet were as following: $C_{\max}$ were (2 215.7 ± 216.9) and (5 721.2 ± 672.1) ng/mL; AUC_{las} were (13 772.9 ± 10 231.1) and (51 182.3 ± 43 219.2) ng·h/mL; AUC_{mf} were (12 858.3 ± 12 510.2) and (66 531.8 ± 51 093.1) ng·h/mL; $t_{1/2}$ were (6.58 ± 1.31) and (13.12 ± 4.23) ng·h/mL. **Conclusion** The method is rapid and repeatable, and can be used for the determination of plasma concentration and pharmacokinetic study for Regorafenib Tablets in health volunteer, which is of great significance to the application of the drug.

Key words: Regorafenib Tablets; regorafenib; *N*-regorafenib; desmethyl-*N*-regorafenib; pharmacokinetics; solid phase extraction- HPLC

收稿日期: 2016-05-17

作者简介: 艾 亮 (1969—), 女, 陕西甘泉县人, 主管药师, 研究方向: 医院药学。Tel: 18809119356 E-mail: ailiang9356@163.com

瑞格非尼是一种新型多激酶抑制剂,能够有效阻断促进肿瘤生长的多种酶系,如血管内皮生长因子-1(VEGF-1)、生长因子受体(PDGF)^[1-2]。美国食品药品监督管理局(FDA)2012年批准瑞格非尼用于转移性结直肠癌的治疗。多项研究表明,瑞格非尼具有较好的耐受性,安全性亦较高,同时在抗肿瘤活性方面更具有理想的治疗作用,能够作为中晚期结直肠癌患者有效的二线治疗药物^[3-4]。由于瑞格非尼的临床应用时间较短,目前针对瑞格非尼的血中检测的相关研究较少,对其代谢产物 *N*-氧化瑞格非尼和去甲-*N*-氧化瑞格非尼的含量检测更不多见。因此本实验建立了一种简便、快速且灵敏的固相萃取-高效液相色谱法,同时检测瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼和去甲-*N*-氧化瑞格非尼,此方法操作简单,通用性强,且不需要价格昂贵的 MS/MS 系统,对实验条件的要求较低,可供广泛的临床试验使用。

1 材料

1.1 仪器及试剂

LC-20AD 型高效液相色谱仪、UV-2075 型紫外检测器(日本岛津公司);色谱用甲醇及乙腈(美国天地公司;批号分别为 15310262、15314531);其他试剂均为分析纯。

1.2 药品

瑞格非尼(质量分数 99.5%,批号 98110201)、*N*-氧化瑞格非尼(质量分数 99.0%,批号 98219823)、去甲-*N*-氧化瑞格非尼(质量分数 98.5%,批号 98319783)均由加拿大多伦多医学化工有限公司提供;内标索拉非尼(美国 Sigma 公司,质量分数 99.9%,批号 67093213)。瑞格非尼片购自德国拜耳公司,规格分别为 40、160 mg/片,批号分别为 98020021、98782312。

2 结果与方法

2.1 色谱条件

Oasis HLB 型固相萃取柱(200 mg×6 mL,美国 Waters 公司);Capcell PAK MG II 型预柱(日本资生堂公司);流动相:0.5%磷酸二氢钾溶液-乙腈(30:70);检测波长:260 nm;体积流量:0.5 mL/min;柱温:30℃;进样量:5 μL。

2.2 对照品溶液的配制

用甲醇分别将瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼及内标索拉非尼配成质量浓度均为 1.0 mg/mL 的贮备液,于-80℃冰箱中保存。

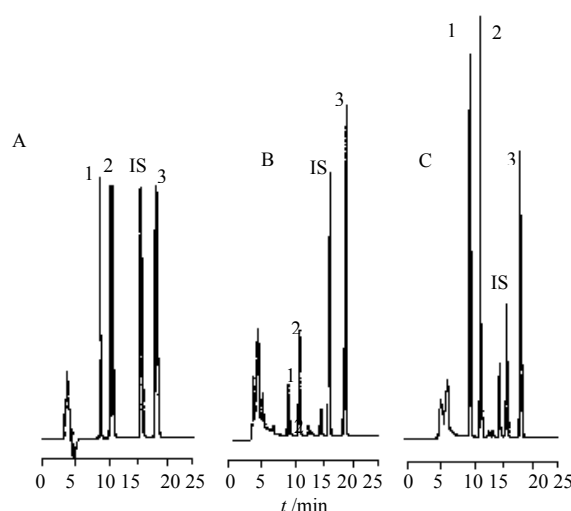
准确移取上述储备液,用甲醇稀释,分别配成 100、1 000、5 000、10 000、50 000、100 000 ng/mL 混合对照品溶液,置于 4℃冰箱中备用。内标索拉非尼溶液的质量浓度则配制为 10 000 ng/mL。

2.3 样品处理

取 100 μL 人体血浆,置于 1.5 mL 离心管中,加入 10 μL 索拉非尼溶液后涡旋混合 30 s。将固相萃取柱依次用 1 mL 甲醇和纯水活化后,将 1 mL 上述血液样品与 1 mL 磷酸盐缓冲液混匀上柱。以 1 mL 纯水淋洗小柱,然后分别以 20%、40%、60%、80%甲醇及纯甲醇对小柱进行洗脱,收集合并洗脱液,于 60℃减压旋转蒸至近干,并用氮气吹干,加入 20 μL 甲醇涡旋 30 s 复溶解,0.2 μm 有机系微孔滤膜滤过,即得。

2.4 专属性试验

按照以上色谱条件,对空白血浆中加入瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼及内标进行分析,见图 1。上述化合物在 20 min 内得到较好的分离,保留时间分别为 18.3、11.7、9.7、15.7 min。



A-空白血浆中加入瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼和内标 B-服用 40 mg/片规格药品后 24 h 血浆 C-服用 160 mg/片规格药品后 24 h 血浆 1-去甲-*N*-氧化瑞格非尼 2-*N*-氧化瑞格非尼 3-瑞格非尼 IS-内标索拉非尼

A- blank plasma added regorafenib, *N*-regorafenib, demeth *N*-regorafenib, and IS sorafenib B-plasma sample collected from patients 24 h after oral Regorafenib Tablets with dosage of 40 mg regorafenib C-plasma sample collected from patients 24 h after oral Regorafenib Tablets with dosage of 160 mg regorafenib 1-desmethoxy-*N*-regorafenib 2-*N*-regorafenib 3-regorafenib IS-sorafenib

图 1 瑞格非尼血浆测定的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of regorafenib in serum

2.5 标准曲线的制备

取空白血浆, 分别加入浓度范围为 10~10 000 ng/mL 瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼及去甲-*N*-氧化瑞格非尼的混合溶液, 进行处理, 记录上述化合物及内标于各质量浓度下的峰面积。化合物质量浓度对化合物与内标峰面积比进行线性回归, 得瑞格非尼回归方程 $Y=0.000\ 8\ X+0.037\ 8$ ($r^2=0.999\ 9$), *N*-氧化瑞格非尼回归方程 $Y=0.001\ 0\ X+0.025\ 6$ ($r^2=0.999\ 8$), 去甲-*N*-氧化瑞格非尼回归方程 $Y=0.001\ 1\ X+0.0151$ ($r^2=0.999\ 2$)。结果表明, 上述化合物在 10~10 000 ng/mL 线性关系良好。

分别通过低浓度的混合对照品溶液, 经过前处理后上样分析, 通过 3、10 倍信噪比计算得到本方法检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) [5]。瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼 LOD 分别为 0.67、0.72、0.57 ng/mL; LOQ 分别为 1.98、2.32、1.61 ng/mL。

2.6 精密度和准确度试验

取 200 μ L 空白血浆, 配制质量浓度分别为 100、10 000、1 000 000 ng/mL 瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼的 QC 样品, 各质量浓度分别进行 3 个样本分析, 并均连续 3 d 进行测定。按照当日所检测得到的标准曲线计算血浆中瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化

瑞格非尼的日内精密度, 并依据此方法, 在不同日期重复操作另外样本, 计算日间精密度。见表 1。3 种不同浓度下, 瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼日内、日间精密度均 $\leq 5.7\%$, 所有待测样本的日内、日间精密度和准确度均符合相关生物样品分析的要求, 且 RSD 值小于 10% [6]。

2.7 稳定性试验

在室温放置 4 h、4 $^{\circ}$ C 下放置 24 h、3 次冷冻-解冻循环及 -80 $^{\circ}$ C 保存 3 个月条件下对质量浓度分别为 100、10 000、1 000 000 ng/mL 瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼、去甲-*N*-氧化瑞格非尼的 QC 样品进行考察, 平行进行 5 次, 并取平均值, 见表 2。

2.8 回收率试验 [7]

取血浆样品, 分别加入 10、10 000、1 000 000 ng/mL 瑞格非尼、*N*-氧化瑞格非尼以及去甲-*N*-氧化瑞格非尼对照品溶液, 进行处理, 按照回收率 = (对照品溶液中理论值 - 试剂测定值) / 加标量计算回收率, 各化合物质量浓度分别平行检测 3 次, 取平均值, 结果见表 3。

2.9 药动学研究

中国籍汉族健康志愿者 20 名, 年龄 18~23 岁。本研究得到我院伦理委员会批准, 且各受试者均同意, 并签署知情同意书。

表 1 精密度和准确度试验结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)
Table 1 Results of precision and accuracy ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

加入质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内精密度			日间精密度		
	测得质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	RE/%	测得质量浓度/(ng/mL)	RSD/%	RE/%
瑞格非尼						
100	104.7 $\pm$ 1.9	3.1	95.2	106.1 $\pm$ 2.1	4.2	96.2
10 000	10 343.0 $\pm$ 114.2	2.7	98.5	10 412.3 $\pm$ 121.3	2.9	97.7
1 000 000	1 004 671.7 $\pm$ 1 290.3	2.2	101.1	1 005 892.8 $\pm$ 1213.2	2.6	102.3
<i>N</i> -氧化瑞格非尼						
100	106.2 $\pm$ 2.1	4.0	101.1	106.1 $\pm$ 2.1	4.1	94.6
10 000	10 548.4 $\pm$ 121.3	2.9	94.1	10 412.3 $\pm$ 121.3	3.9	102.1
1 000 000	1 006 117.6 $\pm$ 1462.1	2.8	103.6	1 005 892.8 $\pm$ 1213.2	3.4	105.3
去甲- <i>N</i> -氧化瑞格非尼						
100	107.1 $\pm$ 1.8	5.1	93.1	108.7 $\pm$ 2.5	5.7	96.1
10 000	10 712.3 $\pm$ 132.6	3.5	97.2	10 823.1 $\pm$ 127.6	4.1	97.4
1 000 000	1 008 151.9 $\pm$ 1631.2	3.8	97.9	1 009 123.0 $\pm$ 1821.2	3.9	100.7

表 2 稳定性试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=5$)
Table 2 Results of stability test ($\bar{x} \pm s, n=5$)

加入质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	室温放置 4 h		4 °C 下放置 24 h		3 次冷冻 - 解冻循环		-80 °C 保存 3 个月	
	测得质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%	测得质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	RSD/%
瑞格非尼								
100	100.7 $\pm$ 1.9	3.4	101.9 $\pm$ 1.6	3.6	103.1 $\pm$ 1.7	4.4	104.1 $\pm$ 1.8	3.6
10 000	10321 $\pm$ 121.3	2.9	10 361 $\pm$ 136.7	3.1	10 423 $\pm$ 172.1	4.9	10 672 $\pm$ 127.2	3.9
1 000 000	1 005 628 $\pm$ 2 911.2	3.1	1 006 826 $\pm$ 2 821.2	3.8	1 006 732 $\pm$ 3 111.7	4.1	1 008 921 $\pm$ 3 221.1	5.1
N-氧化瑞格非尼								
100	100.8 $\pm$ 2.1	3.5	100.9 $\pm$ 1.8	3.7	101.2 $\pm$ 1.9	4.5	100.3 $\pm$ 1.7	3.6
10 000	10 531 $\pm$ 132.5	2.9	10 782 $\pm$ 167.2	3.9	10 672 $\pm$ 171.4	3.9	10 762 $\pm$ 167.2	3.2
1 000 000	1 007 621 $\pm$ 2 872.1	3.1	1 009 023 $\pm$ 2 991.2	3.8	1 004 123 $\pm$ 2 928.3	4.1	1 008 791 $\pm$ 2 782.3	3.3
去甲-N-氧化瑞格非尼								
100	101.4 $\pm$ 2.0	3.4	101.7 $\pm$ 2.2	3.7	102.1 $\pm$ 2.3	4.3	101.3 $\pm$ 2.4	3.5
10 000	10 761 $\pm$ 141.6	2.9	10 980 $\pm$ 154.2	4.2	10 782 $\pm$ 133.1	3.9	10 898 $\pm$ 162.2	3.9
1 000 000	1 009 701 $\pm$ 3 162.3	3.1	1 001 021 $\pm$ 3 213.2	4.1	1 006 812 $\pm$ 3 312.8	4.1	1 008 731 $\pm$ 3 812.4	3.3

表 3 回收率试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 3 Results of recovery test ($\bar{x} \pm s, n=3$)

质量浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	回收率/%	RSD/%
瑞格非尼		
10	97.6 $\pm$ 1.9	1.9
10 000	104.1 $\pm$ 2.4	2.3
1 000 000	99.6 $\pm$ 2.0	2.0
N-氧化瑞格非尼		
10	98.1 $\pm$ 1.8	1.8
10 000	100.7 $\pm$ 2.1	2.1
1 000 000	98.5 $\pm$ 2.1	2.1
去甲-N-氧化瑞格非尼		
10	97.9 $\pm$ 1.6	1.6
10 000	102.7 $\pm$ 2.3	2.2
1 000 000	103.1 $\pm$ 2.6	1.6

志愿者随机分为两组, 分别于试验日早晨在空腹条件下用 50 mL 温水送服 40、160 mg/片瑞格非尼片; 于给药后 0、2、4、6、8、10、12 h 时分别采集静脉血 1 mL, 处理后得到各个血浆样本, 利用 LC-UV 法检测给药后不同时间的瑞格非尼、N-氧化瑞格非尼、去甲-N-氧化瑞格非尼的血药浓度, 利用 DAS 2.1.1 软件对药-时数据进行统计学分析, 并得到主要药动学数据。瑞格非

尼及其代谢产物的药-时曲线见图 2, 根据 40、160 mg/片瑞格非尼片组数据计算主要药动学数据见表 4。

3 讨论

瑞格非尼是一种新型抗肿瘤药物, 临床试验显示, 其对中晚期结肠癌具有较好的疗效, 不良反应亦较少。由于其上市时间较晚, 且未在我国进行大规模使用, 因此临床对于瑞格非尼的药物分析学研究较为匮乏, 对于同时检测该药物及其代谢产物的研究亦极为少见^[8]。但可以预见的是, 由于瑞格非尼具有的良好治疗效果, 其最终将可能被临床广泛应用, 并带来巨大的经济效应。因此, 建立简便、快捷且准确的瑞格非尼血药浓度测定方法具有重要的意义^[9-10]。Luethi 等^[11]利用临床药理学研究中常用的 LC-MS/MS 对瑞格非尼在人体血浆中含量进行了检测, 并对其人体药动学展开了研究, 但由于 LC-MS/MS 价格昂贵, 尤其是 MS/MS 系统价格不菲, 限制了大部分医院展开相关检测与研究, 且其仅对瑞格非尼进行了检测, 而并未同时检测其代谢产物, 亦可能导致研究不足, 且不够深入。Mross 等^[12]则利用 LC-MS/MS 对瑞格非尼及其代谢产物

在大鼠血浆中的含量进行了检测, 探讨了该药物代谢产物的检测方法, 但其不足之处除 MS/MS 检测不易开展之外, 仅讨论了动物实验结果, 而未

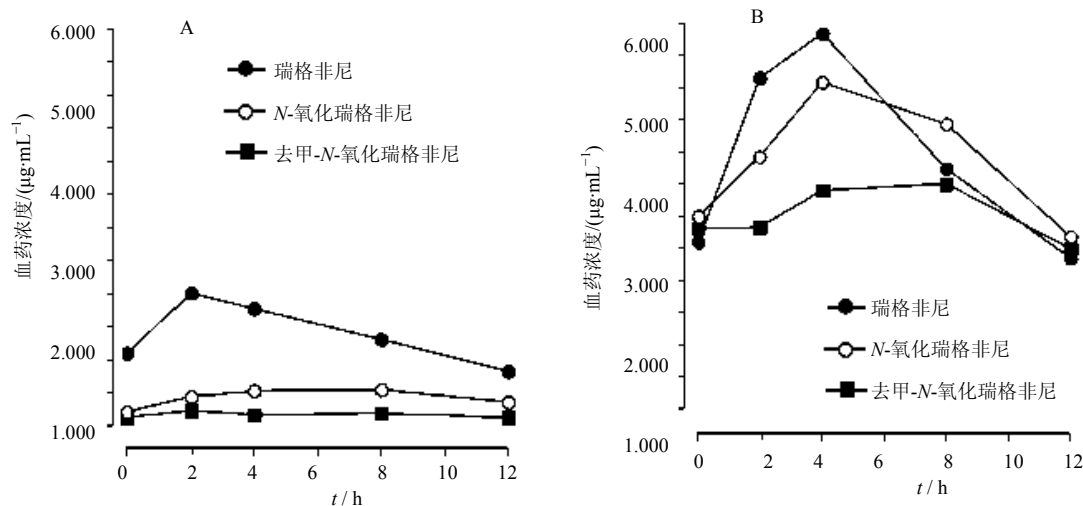


图2 服用40 mg/片(A)和160 mg/片(B)瑞格非尼片志愿者瑞格非尼及其代谢产物的血浆药-时曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Plasma concentration - time curves of regorafenib after po administration with Regorafenib Tablets with dosage of 40 mg (A) and 160 mg (B) ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

表4 瑞格非尼片的主要药动力学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 Major pharmacokinetic parameters of Regorafenib Tablets ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

参数	单位	瑞格非尼	N-氧化瑞格非尼	去甲-N-氧化瑞格非尼
40 mg/片				
C_{max}	$ng \cdot mL^{-1}$	$2\,215.7 \pm 216.9$	$2\,163.6 \pm 212.4$	$2\,343.7 \pm 232.4$
AUC_{last}	$ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$13\,772.9 \pm 10\,231.1$	$8\,234.8 \pm 1\,132.4$	$7\,805.3 \pm 892.3$
AUC_{mf}	$ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$12\,858.3 \pm 12\,510.2$	$8\,886.9 \pm 1\,233.0$	$7\,985.5 \pm 1\,232.2$
$t_{1/2}$	h	6.58 ± 1.31	5.20 ± 1.21	5.49 ± 0.98
160 mg/片				
C_{max}	$ng \cdot mL^{-1}$	$5\,721.2 \pm 672.1$	$11\,234.2 \pm 2\,512.3$	$11\,031.3 \pm 1\,412.7$
AUC_{last}	$ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$51\,182.3 \pm 43\,219.2$	$45\,628.3 \pm 27\,112.3$	$29\,354.1 \pm 813.9$
AUC_{mf}	$ng \cdot h \cdot mL^{-1}$	$66\,531.8 \pm 51\,093.1$	$55\,612.3 \pm 11\,281.2$	$67\,212.2 \pm 11\,093.8$
$t_{1/2}$	h	13.12 ± 4.23	17.33 ± 5.13	19.21 ± 6.13

对人体实验展开阐述,限制了该方法的应用与推广。因此,本研究尝试采用固相萃取-液相色谱-紫外检测法对瑞格非尼及其代谢产物进行同时检测,检测成本低,检测更易于开展。

在本研究的液相条件选择中,为了同时检测瑞格非尼及其代谢产物的人体血浆含量,在初始选择中应用了甲醇作为流动相,但其分离效果不佳,峰形亦不理想,故选择了乙腈作为洗脱剂,分离效果得到了极大的加强。尽管本研究得到较为理想的检测结果,但仍存在一些问题,主要由于LC-UV检测灵敏度差于LC-MS/MS,导致其应用仍存在一定的局限性;此外,本研究药动力学研究较为基础,仅对其药时曲线进行了描述,而未对曲线下面积等一

般药动力学数据进行统计与分析,后期还需对上述研究展开深入讨论。

综上所述,本法可应用于瑞格非尼片在健康志愿者体内的药动力学研究,进行瑞格非尼及其代谢产物N-氧化瑞格非尼、去甲-N-氧化瑞格非尼的人体药动力学研究,对该药的应用具有重要意义。

参考文献

- [1] Wilhelm S M, Dumas J, Adnane L, *et al.* Regorafenib (BAY 73-4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(1): 245-255.
- [2] Van Erp N P, de Wit D, Guchelaar H J, *et al.* A validated

- assay for the simultaneous quantification of six tyrosine kinase inhibitors and two active metabolites in human serum using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013, 937: 33-43.
- [3] Sunakawa Y, Furuse J, Okusaka T, *et al.* Regorafenib in Japanese patients with solid tumors: phase I study of safety, efficacy, and pharmacokinetics [J]. *Investi New Drugs*, 2014, 32(1): 104-112.
- [4] Strumberg D, Scheulen M E, Schultheis B, *et al.* Regorafenib (BAY 73-4506) in advanced colorectal cancer: a phase I study [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(11): 1722-1727.
- [5] Hafner F T, Werner D, Kaiser M. Determination of regorafenib (BAY 73-4506) and its major human metabolites BAY 75-7495 (M-2) and BAY 81-8752 (M-5) in human plasma by stable-isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Bioanalysis*, 2014, 6(14): 1923-1937.
- [6] Schultheis B, Folprecht G, Kuhlmann J, *et al.* Regorafenib in combination with FOLFOX or FOLFIRI as first-or second-line treatment of colorectal cancer: results of a multicenter, phase Ib study [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(6): 1560-1567.
- [7] Luethi D, Durmus S, Schinkel A H, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the multikinase inhibitor regorafenib in plasma [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(10): 1366-1370.
- [8] Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, *et al.* Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9863): 303-312.
- [9] George S, Wang Q, Heinrich M C, *et al.* Efficacy and safety of regorafenib in patients with metastatic and/or resectable GI stromal tumor after failure of imatinib and sunitinib: a multicenter phase II trial [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(19): 2401-2407.
- [10] Chong C R, Jänne P A. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1389-1400.
- [11] Luethi D, Durmus S, Schinkel A H, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the multikinase inhibitor regorafenib in plasma [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(10): 1366-1370.
- [12] Mross K, Frost A, Steinbild S, *et al.* A phase I doseescalation study of regorafenib (BAY 73-4506), an inhibitor of oncogenic, angiogenic, and stromal kinases, in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2012; 18(9): 2658-2667.