

# Application of Biomarkers for Common Cancers in Molecular Diagnosis

Jiandong Han, Meiling Wang, Eer Dun, Yanqing Du, Fengying Liang, Gentana Ge\*

Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia  
Email: \*523074081@163.com

Received: May 12<sup>th</sup>, 2019; accepted: May 27<sup>th</sup>, 2019; published: June 3<sup>rd</sup>, 2019

---

## Abstract

Tumor DNA can now be harvested from tumor samples obtained by biopsy or surgery. Complete molecular profiling of tumor DNA can be performed using high throughput genotyping and or sequencing platforms. Identification of predictive biomarkers will allow for individualized treatment with specific targets (kinase inhibitors and MoAbs, monoclonal antibodies) and conventional agents. However, the application of biomarkers to targeted therapies in molecular diagnostics remains the key to molecular diagnostics. This article will outline the key applications of biomarkers for targeted therapies in molecular diagnostics.

## Keywords

Molecular, Diagnosis, Tumor

---

# 生物标记物在分子诊断中对靶向治疗的应用

韩建冬, 王美玲, 额尔敦, 杜艳青, 梁凤英, 格格塔娜\*

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特  
Email: \*523074081@163.com

收稿日期: 2019年5月12日; 录用日期: 2019年5月27日; 发布日期: 2019年6月3日

---

## 摘要

目前可以从通过活组织检查或手术获得的肿瘤样本中收获肿瘤DNA。可以使用高通量基因分型和或测序平台进行肿瘤DNA的完整分子谱分析。预测性生物标志物的鉴定将允许用特异性靶标(激酶抑制剂和MoAb, 单克隆抗体)和常规药剂进行个体化治疗。但生物标记物在分子诊断中对靶向治疗的应用仍是分

\*通讯作者。

文章引用: 韩建冬, 王美玲, 额尔敦, 杜艳青, 梁凤英, 格格塔娜. 生物标记物在分子诊断中对靶向治疗的应用[J]. 医学诊断, 2019, 9(2): 35-41. DOI: 10.12677/md.2019.92007

子诊断学中的关键，本文将概述生物标记物在分子诊断中对靶向治疗的关键应用。

## 关键词

分子, 诊断, 肿瘤

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

对转移性黑素瘤的治疗目前是非常困难的，并且预后非常差，5 年生存率为 5%~14%。几种遗传畸变涉及黑素瘤的发病机制和发展。特别是 RAS, MEK, MAPK 途径的过度活化在黑素瘤中高频发生(高达 90%)，并且它是由该途径的关键基因的体细胞突变引起的，包括 BRAF 和 NRAS 突变。大约 50% 的黑素瘤患者存在 BRAF 突变，BRAF 突变占黑素瘤中发现的 BRAF 突变的 90% 以上[1]。V600E 突变的存在确定了受益于突变 BRAF 抑制剂治疗的患者亚组。Vemurafenib (PLX4032)和 dabrafenib (GSK2118436) 在携带 BRAF 突变的黑素瘤患者中显示出显著的临床反应，vemurafenib 已被批准用于治疗携带此类突变的黑素瘤患者。实际上，FDA 批准 vemurafenib 用于携带 V600E 突变的患者，而 EMA 批准该药用于 BRAF V600 突变患者，因为在导致 vemurafenib 批准的试验中，V600K 和 V600D 突变的患者也表现出对 BRAF 抑制剂的反应。鉴于 MEK 和 ERK 途径在 BRAF 突变黑素瘤中的重要作用，BRAF 突变作为反应的预测标志物的作用也在用 ME 抑制剂进行的临床试验中进行研究。最近，在 V600E 或 V600K BRAF 突变的转移性黑素瘤患者中进行的 III 期临床研究结果显示 MEK1-2 抑制剂 trametinib (GSK1120212)在这种情况下改善了无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)。尽管尚未开发出靶向 NRAS 的治疗策略，但临床研究正在探索携带 NRAS 突变的患者是否可能对 MEK 抑制剂敏感。

在肢端和粘膜黑色素瘤中经常显示 III 型跨膜受体酪氨酸激酶 c-KIT 的突变(20%~25%)。预期这些突变在不存在散射因子(SCF)的情况下促进 c-KIT 二聚化，导致其组成型活化，或防止 c-KIT 维持其自身抑制的构象[2]。初步观察表明，含有该受体突变的黑素瘤患者中 c-KIT 的抑制可能导致用伊马替尼治疗后的客观消退和疾病控制，伊马替尼是一种 BCR-ABL 激酶抑制剂，也可阻断 c-KIT 受体酪氨酸激酶。目前正在进行额外的多中心试验，以评估靶向 c-KIT 的黑素瘤患者的药物，包括伊马替尼和尼罗替尼(III 期一线 NCT01028222 和 II 期二线 NCT01099514)。有趣的是，在具有 c-KITL756P 突变的两名转移性黑素瘤患者中也报道了对达沙替尼(一种抑制 c-Src, ABL 和 c-KIT 的 TKI)的显著反应。达沙替尼在黑色素瘤中的临床试验正在进行中。最近，在大约 70%~80% 的葡萄膜黑色素瘤病例中描述了两种高度相关的 G 蛋白偶联受体  $\alpha$  亚基信号分子，鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 Q (GNAQ)和 GNA11 的激活突变。MEK 抑制剂 AZD6244 作为转移性葡萄膜黑色素瘤患者单药的 II 期临床试验，将 PFS, OS 和总反应率(RR)与 GNAQ 和 GNA11 突变状态相关联(NCT01143402) [3] [4] [5]。

用于检测预测性生物标志物的方法取决于作为特定致癌途径活化基础的分子改变的类型。可以通过使用免疫组织化学评估激素或生长因子受体的表达。FISH 分析用于评估导致癌基因激活的基因扩增[6]。

目前已经发布了关于使用不同技术进行生物标记测试的建议。如果样本含有一定百分比的肿瘤细胞，则不应使用 PCR 测序技术。在这方面，已经证明，在肿瘤含量 < 30% 的 CRC 样品中，PCR 测序具有显

着的假阴性结果。分子诊断分析的结果也受到 DNA 的质量和数量的显著影响，特别是当材料来源由福尔马林固定的石蜡包埋(FFPE)组织时。

## 2. 生物标记物在靶向治疗中的应用

预测性生物标志物领域正在迅速扩大。基于靶标的药剂的大多数临床试验包括生物标志物分析。制药公司确实已经意识到有必要确定可能受益于特定药物治疗的患者群体，并且新药物的实验经常与伴随诊断的发展相关联。在这种情况下，我们预计未来几年生物标志物领域将发生巨大变化。尽管目前在临床实践中评估了有限数量的实体瘤预测性生物标志物，但是在相同患者群体中鉴定不同生物标志物的需求正在迅速增加[7] [8] [9] [10]。如上所述，已经鉴定了具有确定的分子改变的 NSCLC 患者的不同亚组。基于靶标的药物已经可用于这些组中的一些(EGFR 突变患者的 EGFR-TKI, ALK 重排患者的克唑替尼)。其他药物，如 BRAF 或 RET 抑制剂，已被批准用于治疗其他疾病，或处于临床开发的晚期阶段。在黑素瘤中，NRAS 和 c-KIT 突变可以鉴定对特定抑制剂敏感的患者，并且这些突变通常与 BRAF 突变相互排斥。在 CRC 患者中抗 EGFR 药物的唯一预测生物标志物由 KRAS 突变代表。然而，许多其他突变可能提供靶向药物治疗干预的可能性。

对不同分子改变的评估也可能提供重要的预后信息，这些信息可能对患者的临床管理大有用处。例如，BRAF 突变预测 CRC 患者的预后较差。在肺癌中，也证实了预后较差与 BRAF V600E 突变之间的关联。已经假设 KRAS 突变代表结肠癌和肺癌患者的阴性预后因子。来自临床试验的数据还表明，与野生型 EGFR 患者相比，患有 EGFR 突变和转移性疾病的 NSCLC 患者有更好的预后效果。最后，几乎所有用基于靶标的药物治疗的患者最终都对这些治疗产生抗性。在这方面，有证据表明，在用这些药物治疗期间肿瘤的突变谱显著改变，因为携带产生药物抗性的分子改变的肿瘤细胞的克隆扩大并且是疾病复发的原因。抗性机制通常由降低药物结合并抑制靶功能的突变或通过激活能够维持肿瘤细胞增殖和存活的替代信号传导途径的突变来表示。对这些抗性突变的评估对于患者变得极其重要，因为许多可能阻断这种机制的信号传导抑制剂正在进行高级临床开发[11] [12]。因此，对抗性机制的鉴定可能提供使用靶向药剂的不同治疗方式的可能性，其对生活质量和存活率具有显著影响。

总之，这些发现清楚地表明，在下一个未来的几种不同的癌症类型中，有必要评估许多不同生物标志物的状态。用于生物标志物分析的新技术使用现有技术难以评估每个患者中不同生物标志物的评估[13]。事实上，使用现有方法进行全基因组鉴定的成本太高，无法在临床实践中使用这种方法。由于大多数驱动突变是相互排斥的，因此可以通过对最不常见的生物标记物进行连续分析来降低筛选成本。例如，可以首先筛选 NSCLC 患者的 EGFR 突变，然后筛选 ALK 等。但是，每种方法需要至少 2~3 天才能获得分析结果。因此，如果顺序进行这些分析，则可能需要数周才能分析不同的生物标志物，而这一时间对于晚期疾病患者是不可接受的。用于生物标志物分析的组织的可用性表示另外的限制因素[14]。对于一小部分患有晚期疾病的患者，仅可获得小活检，并且这经常发生在 NSCLC 患者中。分析不同类别的肿瘤基因组改变(易位，拷贝数改变和点突变)目前需要不同样品的技术，以便分析蛋白质表达(IHC)，基因拷贝数(FISH)，突变(DNA)突变分析甚至基因表达。

因此，在临床实践中引入综合分子表征的可能性依赖于高通量技术的开发，其允许以成本有效且及时的方式检测不同的分子改变[15]。在这方面，正在开发两种不同的方法：高通量基因分型平台，可以检测临床样本中公认的遗传畸变，以及下一代测序(NGS)，可以提供有关所有不同类型癌症的信息改变。高通量基因分型平台通常基于多重分析和微阵列。这些平台可同时分析数百至数百万种选定的种系或体细胞变体。此外，基于阵列的比较基因组杂交(aCGH)可以检测具有高分辨率和高通量的基因拷贝数，从而提供关于基因拷贝数变化的信息，包括缺失，增益和扩增。这些平台的组合使用可以允许检测所有可能

成为预测性生物标志物的最常见的分子改变。实际上, 这些平台已成功用于临床样品的基因分型, 并且是目前用于筛选癌症患者的分子改变的最常用技术[16]。基因分型平台的限制是它们只能提供已知遗传改变的信息。在过去几年中, 人们越来越关注绘制人类基因组以确定与癌症克隆进化相关的突变和遗传事件[17]。对这些改变的更深入理解将导致对肿瘤进化的进一步理解以及对治疗干预的新潜在靶标的鉴定。在这方面, NGS 方法比传统方法具有几个潜在优势, 包括在单次测试中对大量基因进行完全测序并同时检测缺失, 插入, 外显子组单核苷酸多态性(SNP), 易位的机会[18]。在几个癌症相关基因中。NGS 平台, 也称为第二代和第三代测序仪, 通过将扩增的 DNA 片段固定在固体表面上并进行测序反应, 可以产生数百万个有限长度的读数。因此, 它们比 Sanger 测序更经济, 并且具有更高的通量。自首个 NGS 平台推出以来, 已经进行了不同的改进, 例如改进的测序化学和新的信号检测方法, 尽管仍然存在一些挑战。缺点仍然包括读取长度短, 运行时间长, 样品制备和扩增复杂, 以及复杂的数据分析。事实上, 每个实验中产生的大量数据使得开发适当的生物信息学方法来分析获得的数据至关重要。

### 3. 不同生物标记物的区别

HiSeq (Illumina, San Diego, CA)是最广泛的在该领域使用 NGS 平台, 但其技术仍然展现由于聚合酶错误, 诸如低复用能力和离散百分比的异常核苷酸掺入等不同问题。与传统测序相比, 它也是高度敏感的, 但由于乳液 PCR 步骤存在污染风险, 均聚物重复区域的性能差, 并且产量相对较低。HeliScope 平台(Helicos Biosciences, Cambridge, MA, USA)通过合成单个 DNA 或 RNA 分子提供测序, 无需初步 PCR。Helicos 已被证明提供了较低的偏向序列读数, 尽管它与其他 NGS 技术相比, 错误率相对较高[19]。支持的寡核苷酸连接和检测(SOLiD)测序在乳液 PCR 步骤后通过不同轮次的连接酶介导的寡核苷酸连接进行。该序列通过具有色彩空间的 twobase 编码系统来确定, 该系统能够更准确地对齐短读取并显著降低错误率。尽管如此, SOLiD 系统的运行时间相对较长, 需要进行复杂的分析。PacBio RS (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA)使用一种称为单分子, 实时检测生物过程的过程, 该过程不需要 DNA 扩增并导致更长的读取长度。最后, Ion Torrent, 也称为个人基因组机器(PGM) (Life Technologies), 通过离子传感器检测核苷酸掺入, 所述离子传感器在核苷酸添加期间由氢离子的释放引起的 pH 变化。虽然它的准确性很好并且运行时间很短, 但读取长度目前很短。这些平台中的大多数能够在几天内执行全基因组测序(WGS), 成本也是如此。

然而, WGS 的复杂性和成本仍然太高, 无法使其在临床常规诊断中可行。至少根据我们目前的知识, 与几十个基因相关的信息足以推动最合适的治疗选择[20]。因此, 有针对性的测序, 一种丰富感兴趣的 DNA 区域输入的策略, 可能代表 NGS 技术在未来将应用于癌症诊断的主要方法。在后一种方法中, 通过 PCR 扩增或与特别设计的寡核苷酸阵列杂交来富集靶区域。遗憾的是, 关于在分子诊断中使用 NGS 装置的初步数据很少, 尽管该领域正在迅速扩大。

### 4. 生物标记物的开发

促进肿瘤生长的驱动分子的改变和鉴定能够阻断这种机制的药物的开发, 并将在未来几年内导致肿瘤学中个性化医学的显着改进。然而, 该领域的进展受到检测肿瘤组织中这种靶分子改变的方法的可用性的限制[21] [22] [23] [24] [25]。在这方面, 使用 Sanger 方法测定 DNA 序列是近 30 年来唯一使用的测序方法。然而, 由于有限的测序能力以及多路复用方案的困难和高成本, Sanger 方法仅限于单基因或热点突变分析。最近开发了可以以高灵敏度和特异性检测体细胞突变的不同方法。然而, 癌症体细胞变异不限于单核苷酸突变, 但通常由大的缺失, 插入, 拷贝数变异和重排组成。此外, 越来越多的证据表明, 不同基因的 SNP 可能会影响抗癌药物的活性。在这方面, NGS 装置使这些变异的检测成为可能, 并且在

灵敏度, 功效和时间方面超过了传统的 Sanger 测序。关于基因分型方法, NGS 可以检测基因分型无法获得的新序列变异。重要的是, NGS 应用还可以提供基因表达和基因表达的表观遗传调控的信息, 例如 DNA 甲基化。因此, 可以想象在分子诊断中引入 NGS 技术将使该领域取得重大进展。

例如, 在大约 30% 携带 EGFR 活化突变的患者中, 使用高度敏感的技术可以检测到在 NSCLC 中对 EGFR-TKI 产生抗性的 EGFR T790M 突变。在用 EGFR-TKI 治疗期间选择携带 T790M 突变的肿瘤细胞并且导致疾病的复发。在用 EGFR-TKI 治疗之前鉴定该分子改变可以提供关于响应持续时间的信息。此外, 由于能够抑制 T790M 突变体 EGFR 的药剂正在进行高级临床开发, 因此该信息还可以允许用另外的基于靶标的药剂治疗患者。最近在 CRC 中报道了类似的发现, 其中 KRAS 突变细胞的次要克隆似乎参与了对抗 EGFR 剂的获得性抗性。因此, 对肿瘤细胞的次要克隆中所代表的遗传变异体的分析可能允许在可能导致药物抗性的治疗机制开始之前进行鉴定。由于这种现象是由几种不同的分子改变介导的, 因此在单一分析中评估不同基因突变状态的诊断方法对于鉴定这些遗传变异是必要的。此外, 这些方法需要具有高灵敏度, 因为抗性相关突变通常在一小部分肿瘤细胞中表现, 并且通过使用常规分子诊断方法是不可检测的。NGS 技术具有克服这些方法问题的特征。未来分子诊断的另一个重要目标是从定性评估转向定量评估。许多肿瘤显示异质突变模式, 并且驱动突变不存在于所有肿瘤细胞中。由于定性方法已用于临床试验以评估预测性生物标志物。肿瘤块也含有非肿瘤细胞这一事实阻碍了定量评估[26]。然而, 定量分析可能提供有关不同水平的突变 DNA 对基于靶标的药物活性的影响的信息。在这方面, NGS 系统是能够测量任何组织中突变频率的单分子计数仪器。

## 5. 生物标记物的局限性

另外, 如上所述, 由于抗性克隆的选择, 疾病的突变谱可能在治疗期间发生变化。由于细胞内信号传导途径的特异性抑制剂处于临床开发的晚期阶段, 因此鉴定这种抗性机制可能允许为患有癌症的每个个体患者分配个性化治疗。然而, 在大多数患者中, 不可能进行重复活组织检查以跟踪疾病的突变进化。最近, 有人提出体细胞突变可以在携带实体瘤的患者的循环肿瘤细胞(CTC)或循环游离肿瘤 DNA (ctfDNA)中检测到。有趣的是, 已经证明用抗 EGFR MoAb 处理的 KRAS 野生型 CRC 患者血清中 KRAS 突变体 DNA 的检测与对这些药物的抗性的发展相关。在这方面, 基于 NGS 的技术可能能够检测来自患有晚期实体瘤的患者的 CTC 或血清中的多种突变。

总之, 以极高的灵敏度和特异性检测的多种遗传改变技术的显著进步允许分子诊断的显著改进。通过使用这些技术, 最终可以将个性化医疗方法应用于癌症患者中。

## 参考文献

- [1] Prahallad, A., Sun, C., Huang, S., Di Nicolantonio, F., Salazar, R., Zecchin, D., Beijersbergen, R.L., Bardelli, A. and Bernards, R. (2012) Unresponsiveness of Colon Cancer to BRAF (V600E) Inhibition through Feedback Activation of EGFR. *Nature*, **483**, 100-103. <https://doi.org/10.1038/nature10868>
- [2] Ribas, A. and Flaherty, K.T. (2011) BRAF Targeted Therapy Changes the Treatment Paradigm in Melanoma. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **8**, 426-433. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2011.69>
- [3] Sasaki, T., Rodig, S.J., Chirieac, L.R. and Janne, P.A. (2010) The Biology and Treatment of EML4-ALK Non-Small Cell Lung Cancer. *European Journal of Cancer*, **46**, 1773-1780. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.04.002>
- [4] Scagliotti, G., Stahel, R.A., Rosell, R., Thatcher, N. and Soria, J.C. (2012) ALK Translocation and Crizotinib in Non-Small Cell Lung Cancer: An Evolving Paradigm in Oncology Drug Development. *European Journal of Cancer*, **48**, 961-973. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.02.001>
- [5] Sequist, L.V., Waltman, B.A., Dias-Santagata, D., Digumarthy, S., Turke, A.B., Fidias, P., Bergethon, K., Shaw, A.T., Gettinger, S., Cosper, A.K., Akhavanfard, S., Heist, R.S., Temel, J., Christensen, J.G., Wain, J.C., Lynch, T.J., Verovskiy, K., Mark, E.J., Lanuti, M., Iafrate, A.J., Mino-Kenudson, M. and Engelman, J.A. (2011) Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors. *Science Translational Medicine*, **3**,

- 75ra26. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002003>
- [6] Shaw, A.T. and Solomon, B. (2011) Targeting Anaplastic Lymphoma Kinase in Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*, **17**, 2081-2086. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1591>
- [7] Smalley, K.S. and McArthur, G.A. (2012) The Current State of Targeted Therapy in Melanoma: This Time It's Personal. *Seminars in Oncology*, **39**, 204-214. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2012.01.008>
- [8] Sotiriou, C. and Pusztai, L. (2009) Gene-Expression Signatures in Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **360**, 790-800. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0801289>
- [9] Su, K.Y., Chen, H.Y., Li, K.C., Kuo, M.L., Yang, J.C., Chan, W.K., Ho, B.C., Chang, G.C., Shih, J.Y., Yu, S.L. and Yang, P.C. (2012) Pretreatment Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) T790M Mutation Predicts Shorter EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Response Duration in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 433-440. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.3224>
- [10] Subramanian, J. and Govindan, R. (2008) Molecular Genetics of Lung Cancer in People Who Have Never Smoked. *The Lancet Oncology*, **9**, 676-682. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70174-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70174-8)
- [11] Takeuchi, K., Soda, M., Togashi, Y., Suzuki, R., Sakata, S., Hatano, S., Asaka, R., Hamanaka, W., Ninomiya, H., Uehara, H., Lim Choi, Y., Satoh, Y., Okumura, S., Nakagawa, K., Mano, H. and Ishikawa, Y. (2012) RET, ROS1 and ALK Fusions in Lung Cancer. *Nature Medicine*, **18**, 378-381. <https://doi.org/10.1038/nm.2658>
- [12] Tran, B., Dancey, J.E., Kamel-Reid, S., McPherson, J.D., Bedard, P.L., Brown, A.M., Zhang, T., Shaw, P., Onetto, N., Stein, L., Hudson, T.J., Neel, B.G. and Siu, L.L. (2012) Cancer Genomics: Technology, Discovery, and Translation. *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 647-660. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.39.2316>
- [13] Van Cutsem, E., Kohne, C.H., Lang, I., Folprecht, G., Nowacki, M.P., Cascinu, S., Shchepotin, I., Maurel, J., Cunningham, D., Tejpar, S., Schlichting, M., Zubel, A., Celik, I., Rougier, P. and Ciardiello, F. (2011) Cetuximab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin as First-Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer: Updated Analysis of Overall Survival According to Tumor KRAS and BRAF Mutation Status. *Journal of Clinical Oncology*, **29**, 2011-2019. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.33.5091>
- [14] van Krieken, J.H., Jung, A., Kirchner, T., Carneiro, F., Seruca, R., Bosman, F.T., Quirke, P., Flejou, J.F., Plato Hansen, T., de Hertogh, G., Jares, P., Langner, C., Hoefler, G., Ligtenberg, M., Tiniakos, D., Tejpar, S., Bevilacqua, G. and Ensari, A. (2008) KRAS Mutation Testing for Predicting Response to anti-EGFR Therapy for Colorectal Carcinoma: Proposal for an European Quality Assurance Program. *Virchows Archiv*, **453**, 417-431. <https://doi.org/10.1007/s00428-008-0665-y>
- [15] Weinstein, I.B. (2002) Cancer. Addiction to Oncogenes—The Achilles Heal of Cancer. *Science*, **297**, 63-64. <https://doi.org/10.1126/science.1073096>
- [16] Engel, N., Gossauer, A., Gruber, K. and Kratky, C. (1993) X-Ray Molecular Structure of a Red Bilin Derivative from *Chlorella Protothecoides*. 4th Communication on Chlorophyll Catabolism. *Helvetica Chimica Acta*, **76**, 2236-2238. <https://doi.org/10.1002/hlca.19930760607>
- [17] Boiadjiev, S.E. and Lightner, D.A. (2000) Chirality Inversion in a Molecular Exciton. *Journal of the American Chemical Society*, **122**, 378-383. <https://doi.org/10.1021/ja993242b>
- [18] Dan Pantos, G., Salome Rodriguez-Morgade, M., Torres, T., Lynch, V.M. and Sessler, J.L. (2006) 2-Amino-3, 4-Diethylpyrrole Derivatives: New Building Blocks for Coiled Structures. *Chemical Communications*, No. 20, 2132-2134. <https://doi.org/10.1039/B602956F>
- [19] Haketa, Y. and Maeda, H. (2011) From Helix to Macrocycle: Anion-Driven Conformation Control of  $\pi$ -Conjugated Acyclic Oligopyrroles. *Chemistry: A European Journal*, **17**, 1485-1492. <https://doi.org/10.1002/chem.201002748>
- [20] Haketa, Y., Bando, Y., Takaishi, K., Uchiyama, M., Muranaka, A., Naito, M., Shibaguchi, H., Kawai, T. and Maeda, H. (2012) Asymmetric Induction in the Preparation of Helical Receptor-Anion Complexes: Ion-Pair Formation with Chiral Cations. *Angewandte Chemie*, **124**, 8091-8095. <https://doi.org/10.1002/ange.201202196>
- [21] Juwarker, H. and Jeong, K.-S. (2010) Anion-Controlled Foldamers. *Chemical Society Reviews*, **39**, 3664-3674. <https://doi.org/10.1039/b926162c>
- [22] Dolphin, D., Harris, R.L.N., Huppertz, J.L., Johnson, A.W., Kay, I.T. and Leng, J. (1966) The Synthesis of 5,5-Bi-(Dipyrromethenyls) and Related Compounds. *Journal of the Chemical Society C*, 98-106. <https://doi.org/10.1039/j39660000098>
- [23] Murakami, Y., Matsuda, H. and Kanaoka, Y. (1971) Transition-Metal Complexes of Pyrrole Pigments. III. Copper(II) and Zinc(II) Complexes of 1,19-Dideoxy-8,12-Dicarbethoxy-1,3,7,13,17,19-Hexamethylbiladiene-ac. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **44**, 409-415.
- [24] Struckmeier, G., Thewalt, U. and Fuhrhop, J.-H. (1976) Structures of Zinc Octaethyl Formylbiliverdinate Hydrate and Its Dehydrated Bis-Helical Dimer. *Journal of the American Chemical Society*, **98**, 278-279.

<https://doi.org/10.1021/ja00417a067>

- [25] Sheldrick, W.S. and Engel, J. (1980) X-Ray Crystal Structure of the Zinc Complex of 1,2,3,7,8,12,13,17,18,19-Decamethylbiladiene-a,c. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **23**, 5-6.
- [26] Thompson, A. and Dolphin, D. (2000) Double-Helical Dinuclear Bis(dipyrromethene) Complexes Formed by Self-Assembly. *The Journal of Organic Chemistry*, **65**, 7870-7877. <https://doi.org/10.1021/jo000886p>

**Hans 汉斯**

**知网检索的两种方式:**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-540X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [md@hanspub.org](mailto:md@hanspub.org)