

· 论著 ·

## 不同比活度<sup>11</sup>C-氟马西尼体内代谢的差异分析

张宗鹏<sup>a</sup>, 王治国<sup>a</sup>, 石庆学<sup>a</sup>, 张国旭<sup>a</sup>, 霍花<sup>b</sup> (北部战区总医院: a. 核医学科, b. 药物临床试验机构办公室, 辽宁沈阳 110840)

**[摘要]** 目的 通过测定<sup>11</sup>C-氟马西尼(<sup>11</sup>C-flumazenil, <sup>11</sup>C-FMZ)在体内主要代谢物的百分占比, 分析不同比活度<sup>11</sup>C-FMZ的代谢差异。方法 选取2019年5月至10月10名受试者, 其中, 男性5名, 女性5名, 平均年龄(41.7±4.7)岁, 平均体重(69.3±6.8)kg。先后注射高低两种比活度(268.3±57.2)×10<sup>3</sup>和(57.8±11.4)×10<sup>3</sup>Ci/mol的<sup>11</sup>C-FMZ, 并分别测定注射后1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、60 min时血浆中<sup>11</sup>C-FMZ及其代谢物的百分注射剂量率, 使用配对样本均数 $t$ 检验计算并对比两组代谢物的百分占比。结果 代谢物的百分占比随时间逐步增加, 于15 min后基本趋于稳定, 且低比活度组的百分占比明显高于高比活度组, 在15~60 min的区间存在显著统计学差异( $P<0.05$ )。结论 不同比活度的<sup>11</sup>C-FMZ注射后的代谢率存在明显差异, 临床应用时应尽量避免比活度差异过大。

**[关键词]** <sup>11</sup>C-氟马西尼; 羧酸代谢物; 放射性比活度

**[中图分类号]** TQ421.7

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2020)04-0318-04

**[DOI]** 10.12206/j.issn.1006-0111.202003141

## The metabolic analysis of <sup>11</sup>C-flumazenil in different specific radioactivity

ZHANG Zongpeng<sup>a</sup>, WANG Zhiguo<sup>a</sup>, SHI Qingxue<sup>a</sup>, ZHANG Guoxu<sup>a</sup>, HUO Hua<sup>b</sup> (a. Department of Nuclear Medicine, b. Institute of Drug Clinical Trial, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the metabolic differences of <sup>11</sup>C-flumazenil (<sup>11</sup>C-FMZ) with different specific radioactivity by detecting the percentage proportion of the main metabolites *in vivo*. **Methods** 5 male and 5 female volunteers with average age of (41.7±4.7) years and weight of (69.3±6.8) kg were selected from May to October 2019. <sup>11</sup>C-FMZ with high and low specific radioactivity (268.3±57.2)×10<sup>3</sup> and (57.8±11.4)×10<sup>3</sup> Ci/mol was injected successively. The percentage of injected dose/liter of <sup>11</sup>C-FMZ and its metabolites in the plasma at 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40 and 60 min after the injection was measured. Paired sample mean  $t$  test was used to calculate and compare the percentage of metabolites in the two groups. **Results** The percentage proportion of metabolites increased gradually with time, and reached the stable level after 15 min. The percentage proportion of low specific radioactivity group was higher than that of high specific radioactivity group with a significant statistical difference between 15 min and 60 min ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The metabolic rate of <sup>11</sup>C-FMZ with different specific radioactivity was significantly different after injection and the specific radioactivity difference should be avoided if possible in clinical application.

**[Key words]** <sup>11</sup>C-flumazenil; carboxylic acid metabolites; specific radioactivity

氟马西尼(flumazenil, FMZ)作为中枢苯二氮草受体(CBZR)拮抗剂, 具有高度特异性和选择性, 通过拮抗苯二氮草类药物与其受体的结合, 用于逆转其所致的中枢镇静作用<sup>[1]</sup>。<sup>11</sup>C-氟马西尼(<sup>11</sup>C-flumazenil, <sup>11</sup>C-FMZ)可通过PET/CT显像定量分析CBZR与 $\gamma$ 氨基丁酸(GABA)受体、氯离子通道偶联形成的复合受体GABA/CBZR, 用于癫痫病灶

及遗传性舞蹈病的检查<sup>[2]</sup>。但是<sup>11</sup>C的半衰期只有20.38 min, 制备结束后如不及时注射入受检者体内, 每摩尔(mol)药液的放射性活度, 即比活度会很快降低。<sup>11</sup>C-FMZ在体内经肝酶水解, 部分转变为无CBZR拮抗活性的羧酸代谢物<sup>[3]</sup>, 见图1。不同比活度的<sup>11</sup>C-FMZ在体内代谢有无差异, 未见文献报告。本研究通过测定不同比活度的<sup>11</sup>C-FMZ在体内的代谢变化, 拟为<sup>11</sup>C-FMZ的临床合理应用提供一定依据。

**[基金项目]** 辽宁省自然科学基金项目(2019-ZD-1036)

**[作者简介]** 张宗鹏, 硕士, 主管药师, Email: zzp65@hotmail.com

**[通讯作者]** 霍花, 博士, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向: 药物临床试验, Email: hh\_602@sina.com

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器与试剂

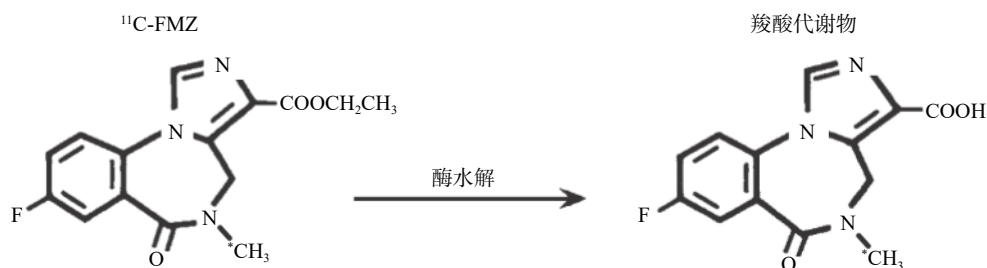


图1  $^{11}\text{C}$ -FMZ 及其水解产物

Minitrace 回旋加速器、TRACELab FXc 放射性药物合成系统(美国 GE 公司); HPLC 半制备分析系统、紫外检测器、Sep-Pak  $\text{C}_{18}$  层析柱(美国 Waters 公司); LB508 型放射性检测器(德国 Berthold 公司); CRC-15R 型活度检测器(美国 Capintec 公司); Millex-GS 无菌滤膜(美国 Capintec 公司); Wallac 1470 WIZARD  $\gamma$  计数器(芬兰 PE 公司), WD-9405B 型水平摇床(北京沃德生物医学仪器公司), 高速低温离心机(美国 Thermo 公司)。

去甲基氟马西尼、标准品氟马西尼(江苏华益科技有限公司); 碘(美国 Sigma-Aldrich 公司); 氢气、氦气、氮气、1% 氧-氮混合气、盐酸、磷酸、无水乙醇、无水乙腈、二甲基甲酰胺(DMF)、氢化钠(NaH)、0.9% 氯化钠(中国医药集团上海化学试剂公司); 三氟磺酸银粉(Ag-Triflate, 自制)。商品化溶剂皆为市售分析纯或化学纯。

### 1.2 研究对象

选择 2019 年 5 月至 10 月北部战区总医院核医学科 10 名健康受试者, 其中, 男性 5 名, 女性

5 名, 平均年龄(41.7 $\pm$ 4.7)岁, 平均体重(69.3 $\pm$ 6.8)kg。所有受试者均进行系统的体格检查, 确认无基础疾病且试验前 1 个月内无药物服用史, 并签署了知情同意书。

### 1.3 研究方法

#### 1.3.1 $^{11}\text{C}$ -FMZ 的合成

首先使用回旋加速器以 1%  $\text{O}_2/\text{N}_2$  为原料, 通过  $^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$  核反应生产  $^{11}\text{C}$ - $\text{CO}_2$ , 传输至药物合成系统, 并以图 2 所示, 合成路线转化为  $^{11}\text{C}$ -三氟甲基磺酰基甲烷( $^{11}\text{C}$ -Triflate- $\text{CH}_3$ )<sup>[4]</sup>。将 0.5 mg 去甲基氟马西尼和 1 mg NaH 溶于 0.4 ml DMF 于反应池中与  $^{11}\text{C}$ -Triflate- $\text{CH}_3$  在 0  $^\circ\text{C}$  反应 5 min, 升至室温并加入 0.5 mol/L HCl 中和。混合物进入 HPLC 进行分离纯化, 分离柱: Nucleosil 100-5  $\text{C}_{18}$ , 250 mm $\times$ 10 mm, 流动相: 含 0.01 mol/L 磷酸的 22% 乙腈溶液, 检测波长 254 nm, 流速 4 ml/min。收集放射性峰组分, 用 Sep-Pak  $\text{C}_{18}$  柱再次分离纯化, 最后通过 0.22  $\mu\text{m}$  的无菌滤膜过滤得到产物  $^{11}\text{C}$ -FMZ<sup>[5]</sup>, 如图 3 所示。产品依据《中国药典》(2015 年版)进行无菌检测和内毒素含量检测。

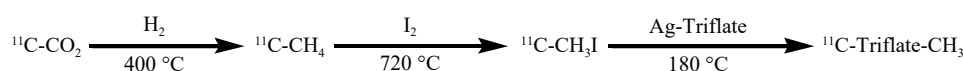


图2  $^{11}\text{C}$ -Triflate- $\text{CH}_3$  合成路线

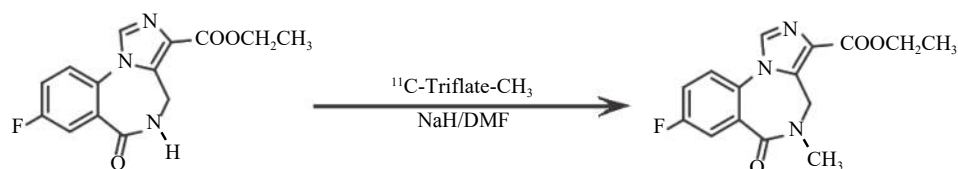


图3  $^{11}\text{C}$ -FMZ 合成路线

#### 1.3.2 药物的注射

首先, 在静息状态下通过肘静脉为 10 名受试者注射  $^{11}\text{C}$ -FMZ 3 ml, 经活度检测器测量, 平均放射性活度为 (10.5 $\pm$ 2.9)mCi (1 Ci=3.7 $\times$ 10<sup>10</sup> Bq), 放射性比活度以单位物质的量所含放射性活度作为定

量依据, 平均比活度为 (268.3 $\pm$ 57.2) $\times$ 10<sup>3</sup>Ci/mol; 2 h 后, 再次注射  $^{11}\text{C}$ -FMZ 3 ml, 平均活度为 (10.6 $\pm$ 2.8)mCi, 此时药液已放置 5~6 个半衰期, 平均比活度降为 (57.8 $\pm$ 11.4) $\times$ 10<sup>3</sup>Ci/mol。两次注射药物后均需静卧 60 min, 分别在 1、2、3、5、10、

15、20、30、40、60 min 时于对侧肘静脉抽取血样。

### 1.3.3 血浆预处理与放射性计数测定

取 500 μl 血样于试管中,加入 500 μl 缓冲溶液(0.1 mol/L 硼酸,0.05 mol/L 氯化钾,0.1 mol/L 氢氧化钠)调节 pH 至 11,再加入 1 ml 氯仿,于水平摇床混匀 5 min,再以 4 000 r/min 离心 5 min。取氯仿相和水相各 200 μl,使用 γ 计数器分别测定两相 1 min 的放射性计数(counts per minute, cpm)。

### 1.4 计算与统计学分析

放射性计数首先需经衰变公式(公式 1)校正以抵消血浆预处理的耗时所致的放射性衰减,再计算各血样的百分注射剂量率(%ID/L,公式 2)及不同比活度下各时间点<sup>11</sup>C-FMZ 羧酸代谢物的占比(公式 3)。使用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用配对样本均数 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

$$I_0 = \frac{I}{e^{-\lambda t}} \quad (1)$$

$I_0$ : 抽血时的 cpm,  $I$ : 测量时的 cpm,  $t$ : 抽血与测量的时间差 (min),  $T$ : <sup>11</sup>C 半衰期 20.38 min。

首先计算  $t/T$  值,从“衰变计算表”<sup>[6]</sup>中查出比值对应的  $e^{-\lambda t}$  值。

$$\text{百分注射剂量率}(\%ID/L) = \frac{\text{血浆的放射性计数}(\text{cpm})}{\text{血浆体积}(L)} \quad (2)$$

$$\text{羧酸代谢物的占比}(\%) = \frac{\text{羧酸代谢物的}\%ID/L}{^{11}\text{C-FMZ的}\%ID/L + \text{羧酸代谢物的}\%ID/L} \quad (3)$$

## 2 结果

<sup>11</sup>C-FMZ 的百分注射剂量率随时间呈指数下降,羧酸代谢物则先升后降并在 10 min 后开始超过<sup>11</sup>C-FMZ,如表 1 所示。羧酸代谢物的百分占比随时间延长而逐步增加,于 15 min 后基本趋于稳定,且低比活度组的百分占比明显高于高比活度组,从统计学结果可以看到,两组数据在 15~60 min 的区间存在显著统计学差异( $P < 0.05$ ),如表 2 所示。

表 1 不同比活度<sup>11</sup>C-FMZ 注射后在不同时间的百分注射剂量率(%ID/L)

测定成分	时间( <i>t</i> /min)											
	1	2	3	4	5	10	15	20	30	40	60	
<sup>11</sup> C-FMZ <sup>①</sup>	9.76±4.80	6.00±1.42	3.30±0.60	2.77±0.39	2.25±0.33	1.95±0.24	1.55±0.15	1.28±0.18	1.09±0.14	0.98±0.15	0.78±0.10	
羧酸代谢物 <sup>①</sup>	0.04±0.04	0.19±0.10	0.44±0.13	0.51±0.14	0.67±0.13	1.88±0.24	2.00±0.33	1.73±0.28	1.50±0.28	1.59±0.20	1.22±0.22	
<sup>11</sup> C-FMZ <sup>②</sup>	13.84±4.67	6.10±1.31	3.27±0.49	3.10±0.36	2.66±0.37	1.97±0.33	1.42±0.13	1.23±0.15	1.11±0.06	0.67±0.13	0.45±0.07	
羧酸代谢物 <sup>②</sup>	0.15±0.11	0.28±0.08	0.50±0.17	0.55±0.29	0.98±0.27	2.22±0.42	2.36±0.44	2.39±0.34	1.90±0.41	1.39±0.25	0.98±0.14	

注:①表示高比活度(268.3±57.2)×10<sup>3</sup> Ci/mol注射后的剂量率;②表示低比活度(57.8±11.4)×10<sup>3</sup> Ci/mol注射后的剂量率。

表 2 不同比活度<sup>11</sup>C-FMZ 的羧酸代谢物在不同时间百分注射剂量率的占比(%)

<sup>11</sup> C-FMZ羧酸代谢物	时间( <i>t</i> /min)											
	1	2	3	4	5	10	15	20	30	40	60	
高比活度	0.54±0.54	3.32±1.89	12.04±3.61	15.58±4.25	23.11±4.92	48.98±4.89	56.11±4.68	57.36±5.63	57.60±3.45	61.92±4.51	60.85±5.39	
低比活度	1.12±0.70	4.53±1.69	13.48±4.94	14.64±6.01	27.04±7.81	52.90±5.81	62.04±4.69*	65.85±5.35*	62.54±5.75*	67.26±4.88*	68.26±4.47*	

\* $P < 0.05$ ,与高比活度组比较。

## 3 讨论

本研究使用氯仿作为<sup>11</sup>C-FMZ 及其羧酸代谢物的分离试剂,对<sup>11</sup>C-FMZ 的提取效率可达 100%,而代谢物可完全保持在水相中。相关研究中,TLC 没有检测到除羧酸代谢产物以外的其他放射性代谢物<sup>[7]</sup>,保证了该方法对放射性比活度测定的准确性。

Debruyne 等<sup>[8]</sup>研究了进食对<sup>11</sup>C-FMZ 体内代谢的影响,并观察到进食后的代谢率更高,并认为是进食导致肝脏血流增加,从而导致肝脏提取量高的药物代谢增加。由于<sup>11</sup>C-FMZ 主要通过肝脏代谢从体内清除,仅 0.2% 的给药剂量在尿中以原形排出<sup>[9]</sup>,因此在 PET 研究中,应控制饮食条件。

每升血浆中所含的标记药物的百分比与之前的某些定量研究结果基本一致。Samson 等<sup>[10]</sup>和

Shinotoh 等<sup>[11]</sup>对高放射性比活度研究的结果分别为 10 min 时(2.4±0.9)和(3.7±1.6)%ID/L, 20 min 时(2.1±0.4)和(3.5±1.4)% ID/L。但二者均缺少低放射性比活度及羧酸代谢物的进一步研究。本研究中血浆的百分注射剂量率在注射后 10 min 左右出现上升,与之前相关研究结果相似<sup>[11-13]</sup>,这可能与标记的羧酸代谢物的产生有关。Klumpers 等认为原因是药物在分布阶段暴露于酯酶的某种首过效应,这种酯酶在肝脏、肾脏和大脑中大量存在且具有非常广泛的底物特异性<sup>[14]</sup>。在狒狒身上进行的相关研究没有观察到该现象<sup>[8]</sup>,这种差异是由于在该物种中羧酸代谢物的标记分数较低。本研究中的高、低比活度对应代谢物的占比分别为 61% 和 68%,而狒狒仅为 45%。

综上所述,放射性比活度不同的<sup>11</sup>C-FMZ 注射后的代谢率存在明显差异,在 PET 相关研究中应尽量避免对比活度差异过大的同一批受试者进行试验,临床应用时同一患者在复查时所采用的比活度也需尽量与初诊时一致,以获得最佳的图像对比价值。

#### 【参考文献】

- [1] 侯成, 卢光照, 张翮, 等. 氟马西尼不同给药途径的催醒作用评价[J]. *药学实践杂志*, 2018, 36(1): 30-33, 54.
- [2] 李奇明, 金榕兵, 王方洋, 等. PET示踪剂<sup>11</sup>C-氟马西尼的合成及质量控制[J]. *同位素*, 2017, 30(1): 16-22.
- [3] PARENTE A, VÁLLEZ GARCÍA D, SHOJI A, et al. Contribution of neuroinflammation to changes in [<sup>11</sup>C]flumazenil binding in the rat brain: Evaluation of the inflamed *Pons* as reference tissue[J]. *Nucl Med Biol*, 2017, 49: 50-56.
- [4] 张锦明, 田嘉禾, 王武尚, 等. 在线制备<sup>11</sup>C-Triflate-CH<sub>3</sub>[J]. *同位素*, 2006, 19(2): 124-128.
- [5] 石庆学, 左峰, 郭佳, 等. GABA<sub>A</sub>/BZ受体示踪药物碳-11-氟马西尼的全自动合成[J]. *中国药师*, 2018, 21(12): 2232-2234.
- [6] 赵惠扬. 核医学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1981.
- [7] ISHIWATA K, ITOU T, OHYAMA M, et al. Metabolite analysis of [<sup>11</sup>C] flumazenil in human plasma: assessment as the standardized value for quantitative PET studies[J]. *Ann Nucl Med*, 1998, 12(1): 55-59.
- [8] DEBRUYNE D, ABADIE P, BARRE L, et al. Plasma pharmacokinetics and metabolism of the benzodiazepine antagonist [<sup>11</sup>C] Ro 15-1788(flumazenil) in baboon and human during positron emission tomography studies[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokin*, 1991, 16(2): 141-152.
- [9] KLOTZ U, ZIEGLER G, REIMANN I W. Pharmacokinetics of the selective benzodiazepine antagonist Ro 15-1788 in man[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 1984, 27(1): 115-117.
- [10] SAMSON Y, PAPPATA S, HANTRAYE P, et al. Récepteurs centraux aux benzodiazépines: études chez l'homme en tomographie d'émission de positons[J]. *Circul Metabol Cerv*, 1987, 4: 155-166.
- [11] SHINOTOH H, YAMASAKI T, INOUE O, et al. Visualization of specific binding sites of benzodiazepine in human brain[J]. *J Nucl Med*, 1986, 27(10): 1593-1599.
- [12] PAPPATA S, SAMSON Y, CHAVOIX C, et al. Regional specific binding of [<sup>11</sup>C] RO 151788 to central type benzodiazepine receptors in human brain: quantitative evaluation by PET[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1988, 8(3): 304-313.
- [13] PERSSON A, PAULI S, HALLDIN C, et al. Saturation analysis of specific <sup>11</sup>C Ro 15-1788 binding to the human neocortex using positron emission tomography[J]. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*, 1989, 4(1): 21-31.
- [14] KLUMPERS U M, VELTMAN D J, BOELLAARD R, et al. Comparison of plasma input and reference tissue models for analysing [<sup>11</sup>C] flumazenil studies[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(3): 579-587.

[收稿日期] 2020-03-21 [修回日期] 2020-05-05  
[本文编辑] 李春德