

# $^{11}\text{C}$ -间羟基麻黄碱的自动化合成及心肌显像研究

何玉林 张国建 白侠 周伟娜 王文睿 王相成

内蒙古医科大学附属医院核医学科、内蒙古自治区分子影像学重点实验室, 呼和浩特 010050

通信作者: 王相成, Email: 38961213@qq.com

**【摘要】** 目的 实现 $^{11}\text{C}$ -间羟基麻黄碱(mHED)的全自动化合成,并对其进行显像研究。方法 采用 $^{11}\text{C}$ -三氟甲基磺酰基甲烷( $^{11}\text{CH}_3$ -triflate)法制备 $^{11}\text{C}$ -mHED,粗产品经半制备高效液相色谱(HPLC)纯化得到终产物,采用放射性 HPLC 测定其放化纯和比活度;取 5 只正常 SD 大鼠行 microPET/CT 显像确定其心肌摄取和排泄过程;行心肌梗死患者(男,42 岁)PET/CT 显像评价其临床显像价值。**结果** 通过商用合成器实现了 $^{11}\text{C}$ -mHED 的自动化合成,总合成时间约 30 min,放化产率为 $(15\pm 2)\%$ (非衰减校正, $n=10$ ),放化纯 $>98\%$ ,比活度约为 65 GBq/mmol;正常 SD 大鼠的 microPET/CT 显像示注射显像剂后 10 min 心肌摄取最高,后逐渐从心肌排泄并经过肝胆排出;心肌梗死患者 PET/CT 显像可见左心室下壁近心尖部显像剂缺损,与超声和心电图检查结果相匹配。**结论** 成功自动化制备 $^{11}\text{C}$ -mHED,产物放化产率和比活度较高,可高度浓聚于心肌,心肌梗死患者显像效果良好。

**【关键词】** 麻黄碱;同位素标记;碳放射性同位素;正电子发射断层显像术;体层摄影术,X 线计算机;心肌;大鼠

基金项目:国家自然科学基金(82060323, 81960318, 81960319)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210512-00161

## Automatic synthesis and myocardial imaging of $^{11}\text{C}$ -meta-hydroxyephedrine

He Yulin, Zhang Guojian, Bai Xia, Zhou Weina, Wang Wenrui, Wang Xiangcheng

Department of Nuclear Medicine of the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Key Laboratory of Molecular Imaging of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010050, China

Corresponding author: Wang Xiangcheng, Email: 38961213@qq.com

**【Abstract】** **Objective** To realize a fully automated synthesis of  $^{11}\text{C}$ -meta-hydroxyephedrine (mHED) and to perform imaging studies with it. **Methods**  $^{11}\text{C}$ -mHED was prepared by the  $^{11}\text{CH}_3$ -triflate method. The crude product was purified by semi-preparative high performance liquid chromatograph (HPLC) to obtain the final product. The radiochemical purity and specific activity were determined by radio-HPLC. The myocardial uptake and excretion process of the agent were monitored by microPET/CT imaging on 5 normal SD rats. The clinical imaging value was evaluated using PET/CT imaging in a patient (male, 42 years old) with myocardial infarction. **Results** The automated synthesis of  $^{11}\text{C}$ -mHED was realized by a commercial synthesizer. The total synthesis time was about 30 min. The radiochemical yield was  $(15\pm 2)\%$  (non-decay corrected,  $n=10$ ) and the radiochemical purity was greater than 98%. The specific activity was about 65 GBq/mmol. MicroPET/CT imaging in normal SD rats showed the myocardial uptake was highest at 10 min after the injection of imaging agent, and then the imaging agent was gradually excreted from the myocardium through the liver and gallbladder. PET/CT imaging of a patient with myocardial infarction showed an imaging agent defect near the apex in the inferior wall of the left ventricle, which was matched with results of ultrasound and electrocardiogram examination. **Conclusions**  $^{11}\text{C}$ -mHED can be successfully prepared automatically, with high radiochemical yield and specific activity. It can also highly concentrate in the myocardium, and the imaging effect with this agent is good in a patient with myocardial infarction.

**【Key words】** Ephedrine; Isotope labeling; Carbon radioisotopes; Positron-emission tomography; Tomography, X-ray computed; Myocardium; Rats

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (82060323, 81960318, 81960319)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210512-00161

去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)转运蛋白(NE transporter, NET)是一种肾上腺素能神经末梢

的跨膜蛋白,负责神经元释放的 NE 的主动再摄取,高度表达于交感神经系统的主要器官(如心脏和大

脑中<sup>[1]</sup>。与 NE 结构密切相关的分子探针可用于评估各种疾病的突触前交感神经末梢的完整性<sup>[2]</sup>, 这有助于心脏疾病的早期诊断和风险评估<sup>[3]</sup>。<sup>11</sup>C-间羟基麻黄碱(meta-hydroxyephedrine, mHED)是目前最主要的用于评估心脏交感神经末梢完整性的正电子示踪剂<sup>[4]</sup>, 其是一种间羟胺类似物, 与位于交感神经末梢轴突外膜的 NE 具有相同的神经元摄取机制, 但能抵抗儿茶酚-O-甲基转移酶(catechol-O-methyltransferase, COMT)和单胺氧化酶(Monoamine oxidase, MAO)的代谢<sup>[5]</sup>。本研究自动化合成了<sup>11</sup>C-mHED, 并利用其进行了正常大鼠的 microPET/CT 心肌显像和心肌梗死患者的 PET/CT 心肌显像研究, 现报道如下。

## 材料与方法

### 一、实验材料与仪器

1. 主要试剂和材料。间羟胺(德国 ABX 公司); 丙酮、乙腈(德国 Merck 公司); 85% 磷酸(优级纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 水合氯醛(优级纯, 北京百灵威科技有限公司); 无菌滤膜(0.22 μm, 美国 Millipore 公司); 昆明小鼠 5 只(清洁级、雌性、4 周龄、体质量 18~22 g), SD 大鼠 5 只(清洁级、雌性、6 周龄、体质量 180~200 g), 均为内蒙古大学动物研究所提供, 实验动物许可证编号: SYXK(蒙)2018-0002。本研究涉及的人体和动物显像经内蒙古医科大学附属医院伦理委员会批准(审批号: YJ2021019)。

2. 主要仪器。HM-20 型回旋加速器(日本住友公司); Tracerlab FX-C 型碳多功能合成器(美国 GE 公司); LC-20AT 型高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪(日本岛津公司); Mini-Scan 型薄层扫描仪(美国 Bioscan 公司); Inveon 型 microPET/CT 仪、Biograph mCT Flow 型 PET/CT 仪(德国 Siemens 公司); CRC-15R 放射性活度计(美国 CAPINTEC 公司)。

### 二、实验方法

1. <sup>11</sup>C-mHED 的合成。合成路线见图 1, 参照文献[6-8]进行:<sup>11</sup>C-三氟甲基磺酰基甲烷(<sup>11</sup>CH<sub>3</sub>-triflate)在氦气流(10 ml/min)的载带下进入置于 0 °C 冷阱的反应瓶[反应瓶内预先加入 1.0 mg 间羟胺, 溶于 240 μl 乙腈和丙酮混合液(V:V=3:1), 超声震荡助溶]中, 混合液 100 °C 反应 3.5 min, 然后冷却至 40 °C, 加入 1.0 ml 体积分数 5% 的乙醇溶液(含体积分数 0.1% 磷酸)混匀。半制备 HPLC 分离纯化(色谱柱为美国 Waters μBondapak™ C18 柱(10 μm, 7.6 mm×

300 mm), 波长为 280 nm, 淋洗液为水、乙醇和磷酸混合液(V:V:V=96.9:3.0:0.1, 流速为 5 ml/min), 收集放射性峰组分(出峰时间在 3~4 min), 经无菌滤膜过滤得到终产物<sup>11</sup>C-mHED。

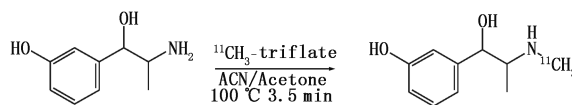


图 1 <sup>11</sup>C-间羟基麻黄碱(mHED)的合成路线图。<sup>11</sup>CH<sub>3</sub>-triflate 为<sup>11</sup>C-三氟甲基磺酰基甲烷, Acetone 为丙酮, ACN 为乙腈

2. <sup>11</sup>C-mHED 的质量控制。(1)目测<sup>11</sup>C-mHED 的颜色和澄明度;(2)采用活度计测定放射性活度和半衰期;(3)半衰期法测定放射性核素纯度;(4)采用精密 pH 纸测定 pH 值;(5)采用放射性 HPLC (radio-HPLC)测定产物的放化纯和比活度, 色谱柱为日本岛津 Shim-Peck VP-ODS (5 μm, 4.6 mm×250 mm), 波长为 280 nm, 流动相 A 为甲醇、B 为 20 mmol/L 磷酸二氢钠, V<sub>A</sub>:V<sub>B</sub>=2:98, 流速为 1 ml/min;(6)无菌、细菌内毒素检查和异常毒性试验按照《中华人民共和国药典》中方法进行<sup>[9]</sup>。将 3 个批次的注射液送至本院检验科进行 14 d 细菌培养和鲎试剂浊度法测定内毒素含量;另取 5 只昆明小鼠做异常毒性实验, 每只尾静脉注射<sup>11</sup>C-mHED 37 MBq(0.5 ml), 观察注射后 48 h 内小鼠存活情况。

3. <sup>11</sup>C-mHED 的 microPET/CT 大鼠显像。腹腔注射质量分数为 5% 的水合氯醛常规麻醉 SD 大鼠, 取俯卧位, 四肢固定, 视野包括心脏, 于正常大鼠尾静脉注射显像剂<sup>11</sup>C-mHED 18.5 MBq 后行 CT 定位扫描(约 9 min), CT 扫描结束后开始 PET 图像采集。图像以心肌断层显像专用程序进行全自动分析。

4. <sup>11</sup>C-mHED 的 PET/CT 患者显像。心肌梗死患者(男, 42 岁)签署知情同意后取仰卧位平躺于 PET/CT 检查床上进行 CT 定位扫描(扫描参数:120 kV, 40~100 mA, 扫描层厚 5 mm), CT 定位结束后手背静脉注射 555 MBq <sup>11</sup>C-mHED 同时进行 PET 动态采集 60 min(放大倍数 2.0, 半高宽 8.0 mm, 6 帧×30 s+2 帧×60 s+2 帧×150 s+2 帧×300 s+2 帧×600 s+1 帧×1 200 s), 采用有序子集最大期望值迭代法重建图像, 矩阵 128×128, 以短轴、水平长轴和垂直长轴进行图像融合及显示。

5. 统计学处理。使用 IBM SPSS 20.0 软件分析数据。符合正态分布的定量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 结 果

1. <sup>11</sup>C-mHED 的合成与质量控制。<sup>11</sup>C-mHED 的

总合成时间约 30 min, 未经衰减校正的放化产率为  $(15 \pm 2)\%$  ( $n = 10$ , 活度从  $^{11}\text{C}\text{-CH}_4$  计算); 注射液为无色澄明液体, pH 值为 6.0, 放化纯  $>98\%$ , 比活度约为 65 GBq/mmol, 用时间衰变法测得其半衰期为 20 min, 放射性核素纯度为 99%; 注射液常规培养 14 d 未见细菌生长; 内毒素检测为阴性, 含量为  $(0.52 \pm 0.03)$  内毒素单位 (endotoxin unit, EU)/ml, 符合药典对注射液细菌内毒素含量的要求; 无菌条件下小鼠尾静脉注射 37 MBq (0.5 ml)  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  后观察 48 h, 小鼠活动正常, 无任何不良反应及死亡现象发生。

2. 正常大鼠  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  microPET/CT 显像。注射显像剂后 10 min 心脏左室显影清晰、显像剂分布均匀、室壁未见显像剂缺损, 心脏右室有部分显影, 肝脏显像剂浓聚较明显。注射后 40 min 心脏基本没有显像剂的滞留, 而肝脏和胆管显像剂的浓聚更加明显, 证实该显像剂经肝胆排泄 (图 2)。

3. 心肌梗死患者的 PET/CT 显像。42 岁男性心肌梗死患者, 因持续性胸痛、气短、头痛、睡眠差入院就诊, 既往史: 高血压 4 年、头痛 6 年、脂肪肝 8 年、睡眠呼吸暂停 10 年等。入院心电图检查示 III、aVF 异常 Q 波、T 波改变, 提示为陈旧性下壁心肌梗死; 超声检查示左室舒张功能减低。患者作为典型病例纳入被批准的临床研究。显像可见左室下壁近心尖部显像剂缺损 (图 3), 与超声和心电图检查结果相匹配。

## 讨 论

心脏自主神经系统功能的损伤与急慢性心肌缺血、心力衰竭等常见心脏疾病的早期发病机制及预后密切相关。许多心血管疾病中心脏交感神经的变化发生在临床症状前。放射性核素显像是一种无创检查心脏神经受损的理想方法<sup>[10]</sup>。 $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  是基

于间羟胺研发的模拟 NE 的假递质, 其通过与 NE 相同的转运途径在心脏交感神经元中积累, 但间羟胺不被 COMT 代谢, 间氨基的侧链上的  $\alpha$  甲基使该化合物具有抗 MAO 氧化脱氨的能力<sup>[5]</sup>。离体大鼠心脏的动力学研究表明,  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  通过 NET 转运到神经元的速度比  $^{11}\text{C}\text{-肾上腺素}$  快 4 倍, 且  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  具有足够的亲脂性, 可快速从囊泡和神经元中扩散<sup>[11]</sup>。

本研究合成  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  的产率和比活度较高, 能满足临床需求。在合成时前体间羟胺在乙腈中的溶解性较差, 需超声震荡 1~2 min 使其溶解, 溶解后短时间内不会再团聚, 有利于反应的进行。虽然二甲亚砜和二甲基甲酰胺的混合液能很好地溶解间羟胺<sup>[7]</sup>, 但在后续 HPLC 分离时会出现较多杂峰且产品峰拖尾, 使用乙腈和丙酮混合液可避免这一点。另外, 反应温度设为 100 °C、反应时间为 3.5 min 时的反应产率显著提高 (10% 提高到 15%), 与之前的报道有所不同<sup>[8]</sup>, 而且 HPLC 流动相使用体积分数 0.1% 的磷酸避免了使用生理盐水做流动相时容易析出氯化钠晶体而堵塞管路的弊端, 有利于合成器的使用和维护。

正常 SD 大鼠的 microPET/CT 显像示, 注射显像剂后 10 min 心脏左室显影清晰, 显像剂在室壁均匀分布, 很好地反映了左室的状态, 注射后 40 min 显像剂从心肌清除, 并进入肝脏经肝胆代谢排出, 这与文献报结果道相一致<sup>[12]</sup>。心肌梗死患者的 PET/CT 显像示显像剂在心肌梗死患者梗死区域的摄取明显减低, 与心电图和超声检查结果相符合。

综上,  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  的合成简便易行, 配有回旋加速器的单位均可实现其自动化合成, 产量稳定、质量可靠, 能够满足临床需求。 $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  的显像效果明显, 能够准确反映心肌梗死患者心肌受体的变化, 可作为心脏受体检查的可靠手段。

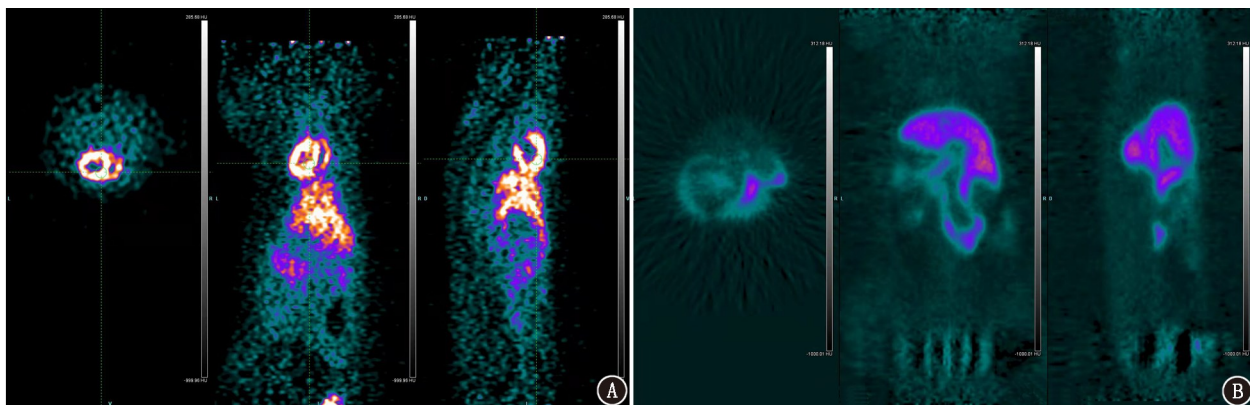


图 2 正常 SD 大鼠  $^{11}\text{C}\text{-mHED}$  microPET/CT 显像图 (从左至右分别为横断面、冠状面、矢状面)。A. 注射显像剂后 10 min 的图像, 可见心脏左室显影清晰、显像剂分布均匀、室壁未见显像剂缺损; B. 注射显像剂后 40 min 的图像, 可见心脏基本没有显像剂滞留



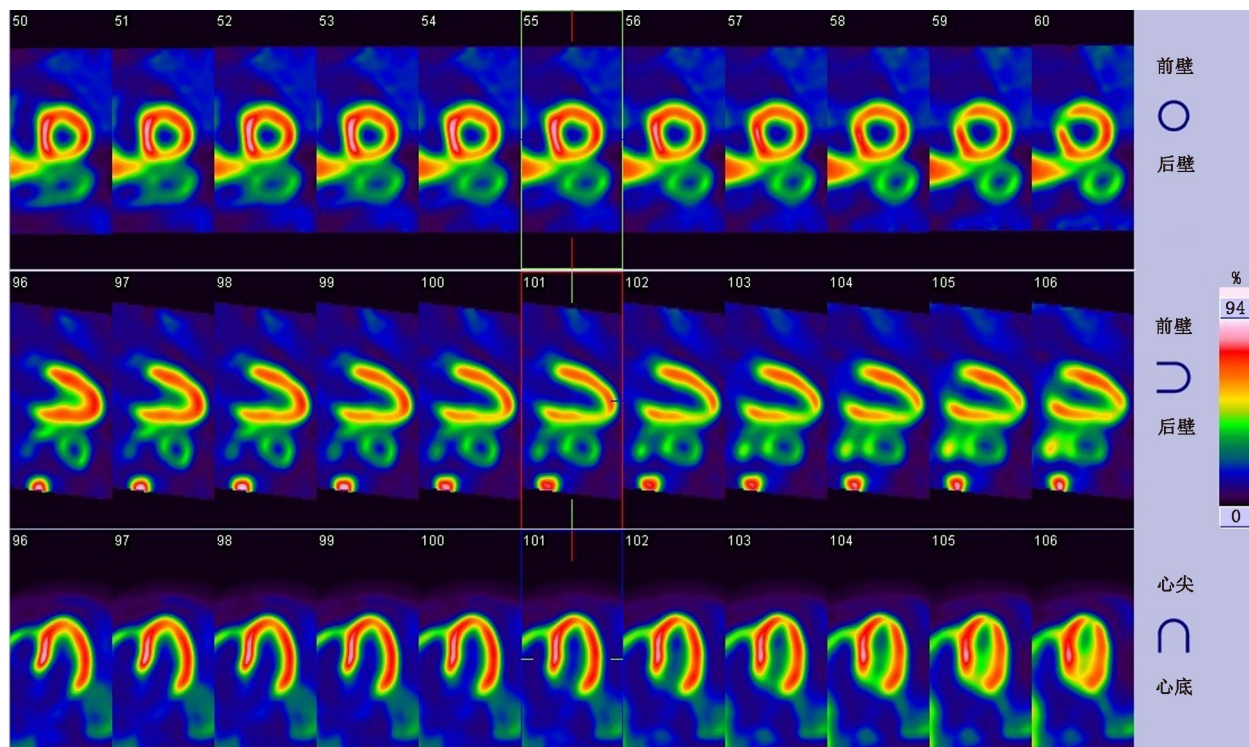


图3 心肌梗死患者(男,42岁) $^{11}\text{C}$ -间羟基麻黄碱(mHED) PET/CT 显像图。可见左室下壁心尖部显像剂缺损,提示此处心肌梗死

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 何玉林、周伟娜:研究实施、论文撰写;白侠、王文睿:统计分析;王相成、张国建:论文修改、经费支持

### 参 考 文 献

- [1] Zumhagen S, Vrachimis A, Stegger L, et al. Impact of presynaptic sympathetic imbalance in long-QT syndrome by positron emission tomography[J]. *Heart*, 2018, 104(4): 332-339. DOI:10.1136/heartjnl-2017-311667.
- [2] Wu KY, Zelt J, Wang T, et al. Reliable quantification of myocardial sympathetic innervation and regional denervation using [ $^{11}\text{C}$ ] meta-hydroxyephedrine PET[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2020, 47(7): 1722-1735. DOI:10.1007/s00259-019-04629-5.
- [3] Boutagy NE, Sinusas AJ. Recent advances and clinical applications of PET cardiac autonomic nervous system imaging[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2017, 19(4): 33. DOI:10.1007/s11886-017-0843-0.
- [4] Bonfiglioli R, Nanni C, Martignani C, et al.  $^{11}\text{C}$ -mHED for PET/CT: principles of synthesis, methodology and first clinical applications[J]. *Curr Radiopharm*, 2014, 7(2): 79-83. DOI:10.2174/1874471007666140714111304.
- [5] Boschi S, Lodi F, Boschi L, et al.  $^{11}\text{C}$ -meta-hydroxyephedrine: a promising PET radiopharmaceutical for imaging the sympathetic nervous system[J]. *Clin Nucl Med*, 2015, 40(2): e96-e103. DOI:10.1097/RLU.0000000000000512.
- [6] Vraica C, Pichler V, Berroterán-Infante N, et al. Optimization of the automated synthesis of [ $^{11}\text{C}$ ]mHED-administered and apparent molar activities[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2019, 12(1): 12. DOI:10.3390/ph12010012.
- [7] 尹大一,刘健,张晓军,等.  $^{11}\text{C}$ -(-)间羟基麻黄素的合成及 Micro-PET 显像[J]. *同位素*, 2012, 25(1): 21-26. Yin DY, Liu J, Zhang XJ, et al. Radiosynthesis of  $^{11}\text{C}$ -meta-(-)

hydroxyephedrine and Micro PET imaging[J]. *Journal of Isotopes*, 2012, 25(1): 21-26.

- [8] 刘磊,李彦生,俞浩楠,等.  $^{11}\text{C}$  左旋间羟基麻黄素制备方法的优化及改进[J]. *天津医科大学学报*, 2015, 21(5): 441-445. Liu L, Li YS, Yu HN, et al. Optimization and improvement of production of (-)-[ $^{11}\text{C}$ ] meta-hydroxyephedrine[J]. *J Tianjin Med Univ*, 2015, 21(5): 441-445.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 520, 537-538. Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 520, 537-538.
- [10] 何玉林,张锦明. 心脏交感神经正电子显像剂的研究进展[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37(4): 237-239. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.04.012. He YL, Zhang JM. Development of PET agent for cardiac sympathetic nervous system[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 37(4): 237-239. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.04.012.
- [11] 周伟娜,何玉林,王相成,等. 急性心肌梗死模型的 $^{11}\text{C}$ -甲基多巴胺心脏受体显像[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37(5): 265-268. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.05.003. Zhou WN, He YL, Wang XC, et al. Cardiac neuroreceptor imaging on acute myocardial ischemia model using  $^{11}\text{C}$ -methyl dopamine [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 37(5): 265-268. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.05.003.
- [12] Mu L, Krämer SD, Warnock GI, et al. [ $^{11}\text{C}$ ]mHED PET follows a two-tissue compartment model in mouse myocardium with norepinephrine transporter (NET)-dependent uptake, while [ $^{18}\text{F}$ ] LMI1195 uptake is NET-independent[J]. *EJNMMI Res*, 2020, 10(1): 114. DOI:10.1186/s13550-020-00700-7.

(收稿日期:2021-05-12)