

氘及其标记化合物在生物医药研究中的应用进展

唐金格^{1,2}, 任巍², 蒋晴晴², 于宁^{1*}

1.川北医学院, 四川 南充 637000;

2.解放军总医院第六医学中心耳鼻咽喉头颈外科医学部, 北京 100853

摘要: 稳定同位素因具有无放射性、稳定性好等特点,在医药、食品安全、生态环境等领域应用广泛。氘作为氢元素的一种稳定同位素,氘元素标记法具有简单、快捷、价格低等优点。研究发现,氘同位素标记在机体代谢机制、疾病预防及治疗靶点、药理学等生命科学领域具有巨大的应用潜力。综述从氘标记化合物的合成方法、检测技术、氘及其化合物在生物医药研究中的应用等方面进行总结,并对未来发展进行了展望,以期对相关领域的研究与应用提供参考。

关键词: 氘;同位素;生物医药;临床研究

DOI:10.19586/j.2095-2341.2024.0023

中图分类号:Q819, R318

文献标志码:A

Progress in the Application of Deuterium and its Labeled Compounds in Biomedical Research

TANG Jing^{1,2}, REN Wei², JIANG Qingqing², YU Ning^{1*}

1.North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China;

2.Senior Department of Otolaryngology-head & Neck Surgery, the Sixth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Abstract: Stable isotopes are widely used in fields such as medicine, food safety, and ecological environment due to their characteristics of no radioactivity and good stability. Deuterium is a stable isotope of hydrogen element, and deuterium labeling method has the advantages of simplicity, speed, and low cost. Researches have shown that deuterium isotope labeling has enormous potential for application in the field of life sciences such as metabolic mechanisms, disease prevention and treatment targets, pharmacology, etc. The review summarized the synthesis methods, detection techniques, and applications of deuterium and its compounds in biomedical research, and prospected for the future development, in order to provide reference for researchers and applications in related fields.

Key words: deuterium; isotope; biomedicine; clinical study

自然界中的氢以¹H(氕,H)、²H(氘,D)、³H(氚,T)3种同位素的形式存在,其中氕具有放射性,称为放射性同位素。与¹³C和¹⁴C相比,氢同位素标记具有简单、快捷、价格低等优点^[1]。此外,氢同位素与其他化合物结合时,不会使化合物的化学结构、物理性质和生物特性等方面发生改变^[2]。多年来,氕和氘2种同位素已经在光谱学、生命科学、核科学等多领域的研究中得以应用^[2]。随着高灵敏度检测方法和同位素标记技术等的不

断发展,氢同位素及其化合物在生物医学领域的研究应用也在不断增多。因此,本文对氕及其化合物在生物医药研究中的应用进行综述,以期从事相关领域的研究者提供参考。

1 氘标记化合物的合成方法

由于氘化合物广泛应用于多种领域,其合成方法也备受关注。将氘元素加入到有机分子中

收稿日期:2024-02-20; 接受日期:2024-06-04

基金项目:国家重点研发项目(2020YFC2004001);北京市自然科学基金项目(7222185)。

联系方式:唐金格 E-mail: tangjinge6@163.com; *通信作者 于宁 E-mail: yuning@301hospital.org

可以通过氢同位素交换法、氧化还原法等多种方式实现合成。

1.1 氢同位素交换法

氢同位素交换法(hydrogen isotope exchange, HIE)是通过将同位素掺入到后期物质或最终物质这种途径^[3],直接将氘/氚元素掺入复杂化合物中,是一种非常理想的合成方法。根据HIE反应过程需要的催化剂,将HIE主要分为2种途径。第一种是在碱或酸性催化条件下进行,如图1所示,通常该类反应的条件更严苛^[4]。Liu等^[5]以D₂O作为氧化试剂,在直接氧化N-杂芳基甲烷的甲基的基础上开发了一种由布朗斯特酸(Brønsted)高效催化的氧化反应。研究表明,这种Brønsted酸催化H/D的交换适用于生物活性分子的氧化,可以产生高氧化率的相应物质,从而促进相关药物的代谢研究,如:罂粟碱、托吡卡胺。

另一种方法是通过金属催化发生反应,如在

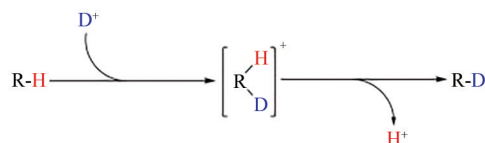


图1 酸性条件下的氢同位素交换反应^[4]

Fig. 1 H/D exchange under acidic conditions^[4]

铱、铂、钯等过渡金属的催化下,选择性地将C-D和C-T键结合在靶向分子上^[6](图2)。2016年,Chatterjee等^[7]研究了一种钌催化的 α 选择性胺氧化,在基本条件下选择D₂O作为同位素源。他们假设HIE反应通过胺的N-H键活化和酰胺连接的钌氧化中间体进行。研究结果显示,钌可以催化伯胺、仲胺、氨基酸和商业药物的选择性 α -氧化,同时揭示了单核Ru(IV)阳离子络合物作为中间体参与反应过程。研究者继而提出了一种新的机制,该机制涉及阳离子钌络合物活化N-H键,随后1,3-氧化物转移到原位形成的亚胺中。

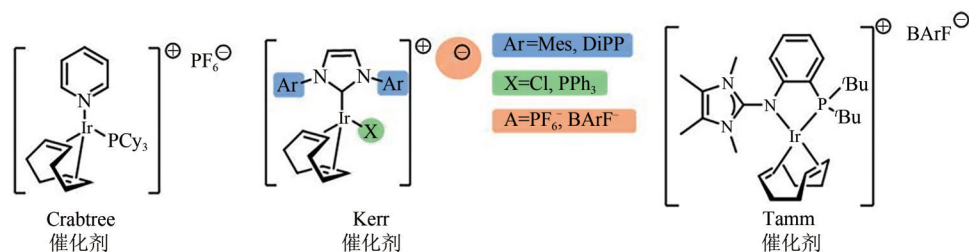


图2 正定向芳香族HIE选用铱(I)作为催化剂^[6]

Fig. 2 Selected iridium (I) catalysts for ortho-directed aromatic HIE^[6]

此外,由于研发的新型药物包含多种模式,包括小分子、肽、抗体、纳米体、凝胶等。因此,迫切需要建立与高灵敏度模式(如大肽)兼容的新型HIE标记方法^[8]。2017年,MacMillan等^[9]使用光介导的光氧化还原剂催化 α -氨基C(SP³)-H键上的直接HIE反应,该研究是在简化和易于使用的HIE方案上的一个重大突破。

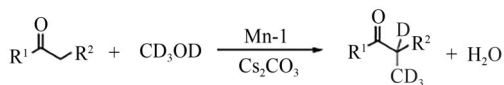
1.2 氧化还原法

氧化还原法是指在一定条件下,将基质或溶剂中的质子氢原子迅速与含氘的同位素源(D₂、D₂O、氧化溶剂)进行还原交换。氘代卤化是其中一种重要的方法,该方法的优点是可以保证预选位置的完全选择性以及通常会有超过99%的可靠氘掺入^[10]。Loh等^[11]以D₂O作为氘源,CdSe作为光催化剂,通过自由基过程选择性地氧化卤化物。该研究方案可以在照射时产生氘自由基或芳基阴离

子(ArX^{•-}),然后通过氘自由基和ArX^{•-}偶联形成氘结合产物。有研究报道了以氘代异丙醇作为溶剂和氘源,在光氧化还原催化下进行芳基溴化物的氘代溴化反应^[12]。此外,氘代还原方法中还利用到羰基、烯烃、炔烃等官能团的化学性质。Espino、Jalon等在钌催化剂的作用下,将氧化氘与甲酸和甲酸钠一起作为氘源,应用于亚胺的氢化^[13]。在镍/NHC催化下,使用氧化硅烷与氧化甲苯组合作为溶剂,Newman等^[14]将芳族酯转化为三氘甲基。

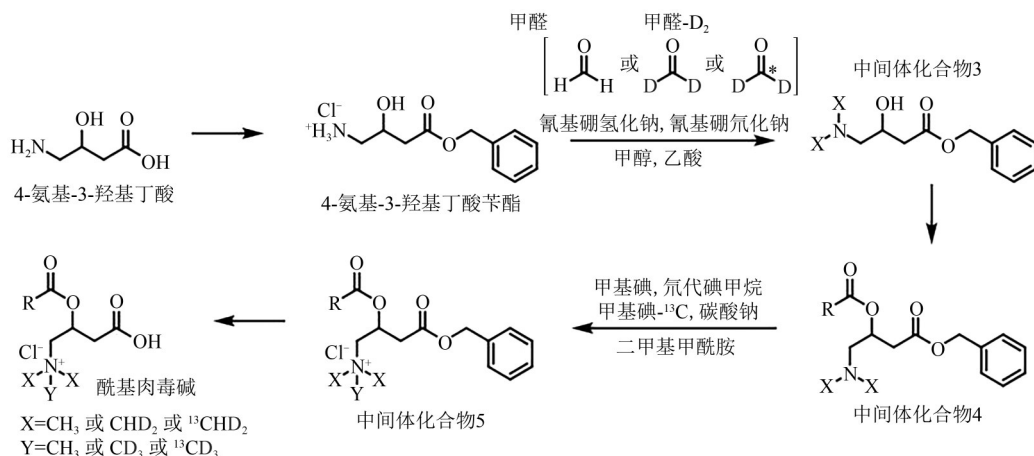
1.3 其他方法

除了氢同位素交换反应法、氘代卤代反应和还原氧化外,还有几种比较特殊的氘标记方法。甲基是生物分子中最常见的片段之一,67%的畅销药物中都含有甲基。因此,如何重新利用甲基成为研究的重点^[15]。如图3所示,Sklyaruk等^[16]开发了一种锰催化酮的三氘甲基化反应,该方法通

图3 锰催化酮的三氘甲基化^[16]Fig. 3 Manganese-catalyzed trideuteromethylation of ketones^[16]

过甲醇脱氢、羟醛缩合和氢化反应3个步骤进行。结果显示,该催化系统在氘化甲醇的存在下同样可以运行,从而产生高产率的 d_4 产物,包括含有卤素和杂环的底物。此外,利用市售氘化试剂或构建块的经典合成方法制备特异性标记的化合物仍

然是有价值的,此类方法一般称为多步合成法^[10]。Li等^[17]提出了一种简单的方法来合成同位素标记的酰基肉毒碱(图4),其相对于未标记对应物的质量偏移可以是3~12 Da范围内的任何数字,这种方法可以更方便地为酰基肉毒碱图谱分析提供真实的内标,从而扩大其临床应用。SCH 430765是一种潜在的治疗肥胖的药物,Hesk等^[18]利用 $[^{13}C]$ -甲醛- d_2 在Mannich型反应中的商业可用性,成功地合成了含有 2H 和 ^{13}C 原子的SCH 430765标记变体。



注:NaCNBH₃—氰基硼氢化钠;NaCNBD₃—氰基硼氘化钠;MeOH—甲醇;AcOH—乙酸;DMF—二甲基甲酰胺;CH₃I—甲基碘;CD₃I—氘代碘甲烷; $^{13}CD_3$ I—甲基碘- ^{13}C ;Na₂CO₃—碳酸钠。

图4 酰基肉毒碱的可调谐合成^[17]Fig. 4 Tuneable synthesis of acylcarnitines^[17]

2 氘标记化合物的检测技术

制备得到氘化化合物后,可以通过多种氘同位素检测技术,获得化合物的氘化率以及氘原子在化合物上的取代位点等信息,从而更好地了解氘化化合物的性质和作用。同时,氘标记化合物的检测技术也为我们提供了生物合成、代谢途径、蛋白质行为、药物疗效等宝贵的生物信息,成为生物医药领域发展不可或缺的手段。目前常用的氘标记化合物检测技术有氢-氘交换质谱法、氘代谢成像、氘磁共振波谱。

2.1 氢-氘交换质谱法

重同位素和轻同位素之间的质量差异为检测这些同位素提供了前提条件,质谱法(mass spectrometry, MS)就是根据化合物的不同质量进行分离和测量。传统上,MS与色谱分离技术相结合,

以允许在质谱仪检测之前分离有机化合物中的复杂混合物^[19]。随着技术的不断发展,出现的其他方法与质谱法进行结合产生了更大的功效。例如,氢-氘交换质谱(hydrogen deuterium exchange mass spectrometry, HDX-MS)通过连接结构、构象动力学和功能可以深入了解蛋白质的行为^[20],而由于氢(1H)和氘(D)的质量之间大约有1 Da的质量差,交换速度被减慢,因此氘掺入的水平很容易利用MS被测量^[21]。HDX-MS对于绘制能被单克隆抗体识别的抗原表面上蛋白质的构象表位效果很好,而构象表位目前也是HDX-MS在生物制药行业的主要用途之一^[22]。有研究利用HDX-MS阐明了一种针对严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型的纳米颗粒疫苗中和单克隆抗体的结合表位^[23]。此外,Pantazatos等^[24]发现HDX-MS可以应用于定位蛋白质的无序区域,该作用可以使重新设计的

蛋白质构建体具有增强的晶体学特性。综合来看,HDX-MS可谓是对其他检测技术,如核磁共振波谱、电子显微镜、天然质谱法等补充^[25]。然而,该方法存在一定的局限性,当氘标记的物质暴露于富含氢的溶液或气体中,氘有被还原为氢的可能性,并且HDX不能用于蛋白质结构的确定^[26]。

2.2 氘代谢成像

氘代谢成像(deuterium metabolic imaging, DMI)是一种基于使用氘的稳定同位素标记作为底物,并在三维观察其代谢的稳健方法,用以研究体内多种代谢过程^[27]。Kaggie等^[28]研究证明了在3T下口服D-葡萄糖进行临床DMI的可行性,所获得的光谱可通过光谱成像来解析正常大脑中D-葡萄糖、D-水、D-乳酸和D-谷氨酰胺和谷氨酸的水平,从而证明了DMI在揭示整个大脑代谢区域变化具有一定的潜力。Du等^[29]通过研究葡萄糖-d₇以评估黑色素瘤细胞中脂肪酸的从头生物合成。该研究通过联合拉曼成像和转录组学分析,明确了作为脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN)抑制剂的蓝菌素减少了分化的黑色素细胞中脂肪酸的从头生物合成,而在去分化的黑素细胞中并没有观察到任何影响。

2.3 氘磁共振波谱

氘磁共振波谱(deuterium magnetic resonance spectroscopy, DMRS)是一种非侵入性技术,可以检测体内的氘代化合物,在分析摄取、灌注、冲洗或代谢方面具有很大的潜力^[30]。Benedikt等^[30]对大鼠体内氘化的3-O-甲基葡萄糖(3-O-methylglucose, OMG)进行氘核磁共振检测,结果表明使用DMRS表征体内葡萄糖转运的可行性。Flocke等^[31]通过持续²H-MRS检测到在注射后2~60 min内,具有良好时间分辨率的跟踪炎症诱导的代谢通量变化,表明DMRS可以用于炎症环境中代谢变化的无创监测,为研究体内标记患者中免疫代谢数据奠定了一定基础。

3 氘及其标记化合物在生物医药研究中的应用

3.1 氘同位素在代谢机制研究中的应用

与大多数器官相比,大脑中以糖原为葡萄糖储存形式的能力非常有限。因此,为了维持大脑

的正常功能,需要持续向大脑提供氧气和葡萄糖^[32]。既往用于评估活性脑代谢的临床成像工具通常是正电子发射断层扫描(positron emission Computed tomography, PET)或磁共振波谱法(magnetic resonance spectroscopy, MRS)。2017年, Lu等^[33]研究了如何应用高磁场强度下的²H-MRS来量化大鼠的全脑葡萄糖代谢率和三羧酸循环流量。该实验通过调节麻醉深度来区分代谢活动,结果表明²H-MRS在检测大脑能量代谢变化方面的高敏感性。2018年, Feyter等^[34]发现了一种基于²H-MRS的新检测方法,称为氘(²H)代谢成像(DMI)。研究利用DMI绘制出大鼠和胶质母细胞瘤患者整个大脑的糖酵解和氧化磷酸化图,结果显示肿瘤组织中乳酸与谷氨酰胺和谷氨酸(glutamine and glutamate, Glx)形成的比例增加,这是Warburg效应的典型特征。清蛋白是血浆中最丰富的蛋白质,临床上常用血浆清蛋白浓度作为评价机体中蛋白质的营养状况指标^[35]。有研究发现,重水标记法能有效测定血浆清蛋白的合成动力学参数,可用于机体代谢相关的生理、病理机制研究^[36]。

3.2 氘同位素在临床疾病治疗与机制研究中的应用

RSK4是p90核糖体蛋白S6激酶(RPS6KAs, 又名RSKs)的四种亚型之一^[37],研究表明RSK4在不同的组织细胞中具有促癌/抑癌作用^[39]。Chrysostomou等^[38]对已知药物进行筛选,以确定可以作为RSK4抑制剂或使RSK4部分结晶化的药物或药物家族,并通过氘交换分析等方法探究其作用机制。粘连蛋白是一种抗体模拟物,其具有的高亲和力和特异性可以与相关靶点结合。如IL-23^[39]与胃炎、银屑病和关节炎等多种自身免疫性炎症疾病有关^[40],是治疗不同炎症性疾病的重要靶点。有研究应用氘/氘交换质谱法和计算方法探讨了IL-23与Ad连接蛋白2结合的相互作用,并确定了2种正交方法之间的相关性^[27]。

目前,已有大量动物和临床试验表明,氢气对糖尿病、脂代谢紊乱、代谢综合征和神经退行性疾病等有一定的预防、保护和治疗作用^[41],但是其治疗机制尚不清楚。2015年一项研究采用氘同位素法,并通过腹腔注射氘气对氢气在体内的代谢进行定量,研究结果表明腹腔注射10 mL氘气,生理条件下大约有10%的氘气会被氧化为水,提示

氢气具有极强的抗氧化能力。此外,体外研究使用猪心脏细胞线粒体呼吸链中复合物 I 产生超氧阴离子评价了氢气的抗氧化效果,这为揭示氢气防治疾病的机制提供了一定启示^[2]。

3.3 氘同位素在药理学研究中的应用

目前,已有多种氘化药物被用于药理学研究。值得注意的是,特定位置的氘化可能会改变药物的吸收、分布、代谢和排泄特性,从而影响药物分子的药代动力学。氘代化合物在药物研究中的主要应用包括:改善药代动力学、减小毒性以及作为正电子发射断层成像示踪剂。

3.3.1 改善药代动力学 2017年4月,美国食品药品监督管理局批准氘丁苯那嗪可以用于治疗与亨廷顿舞蹈症相关的舞蹈病和迟发性运动障碍,氘丁苯那嗪成为全球首个获批的氘代药物(图5)^[43],这是氘代药物在医药化学领域一个里程碑式事件^[44]。

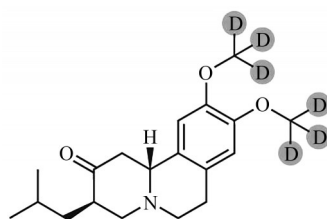


图5 氘丁苯那嗪^[43]

Fig. 5 Deutetrabenazine^[43]

GABA-A 调节剂 L-838417 因其较差的药代动力学特征,目前尚未进入临床阶段^[45]。但有研究表明 L-838417 的氘化类似物,具有相对较好的亲和力和亚单位特异性和药理活性,在啮齿类动物中表现出较好的药代动力学特性,目前该调节剂已启动 I 期临床试验^[46]。伊凡卡福是用于治疗囊性纤维化的一类药物,研究表明其氘代类似物与原药物具有相同的药理效力,但是氘化后的药物在体外表现出更强的稳定性(图6)^[47]。

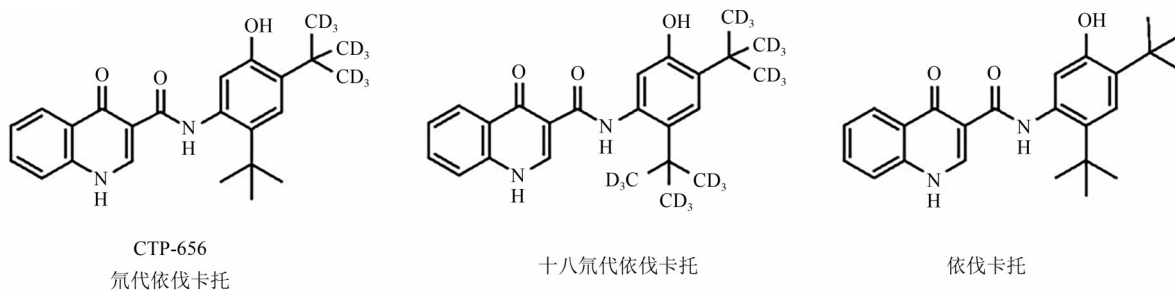


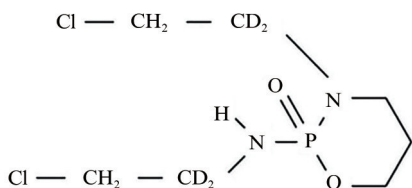
图6 CTP-656 (氘代依伐卡托)、十八氘代依伐卡托和依伐卡托的结构^[47]

Fig. 6 Structures of CTP-656 (d_9 -Ivacaftor), d_{18} -Ivacaftor, and Ivacaftor^[47]

3.3.2 减小毒性 药物氘化后可以减少人体不需要或对人体有害的代谢物的生成,同时增加需要的活性代谢物,这一作用称为代谢分流作用^[48]。研究表明,与未标记氘的药物相比,异环磷酰胺的 α 和 α' 位置上的碳加入氘后,增强了 4' 位的羟基化,同时减少了所有测试 CYP 的 N-脱氯含量,如图 7 所示^[49]。有研究发现,N-脱氯

会导致毒性更强、效果较差的代谢产物生成,如对肾脏造成一定损伤的氯乙醛,这表明氘诱导的代谢分流作用可能提高该化疗药物的治疗效果。

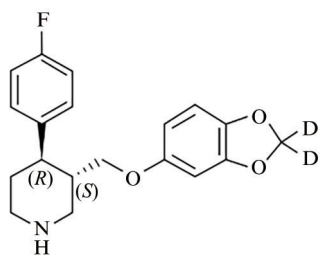
帕罗西汀是一种选择性血清素再摄取抑制剂,目前可用于治疗严重抑郁、强迫、恐慌、社交焦虑、一般焦虑和创伤后应激障碍^[49]。帕罗西汀部分由 CYP2D6 代谢,但在帕罗西汀和其他同样由 CYP2D6 代谢的联合给药药物之间观察到了具有显著临床相关性的药物-药物相互作用^[50]。Vinita 等^[51]研究发现氘代帕罗西汀 CTP-347 消除了使用帕罗西汀引起的机理性抑制现象,并且减少了与其他 CYP2D6 代谢药物的相互作用,证实了氘取代可以作为一种潜在的重要方法来改进治疗剂(图8)。



注:d4IFO 的结构显示为氘位于 α 和 α' 碳上。

图7 d4IFO 的结构

Fig. 7 The structure of d4IFO

图8 CTP-347 的结构^[51]Fig. 8 Structure of CTP-347^[51]

3.3.3 作为正电子发射断层成像示踪剂 氘作为正电子发射断层成像 (positron emission tomography, PET) 示踪剂, 通过 PET 可以发现与疾病相关的生物化学变化, 同时可在潜在药物研发过程中充当生物标志物。此外, 用氘取代氢可以减缓体内代谢, 减少放射性示踪剂的损失, 同时保持对特定酶或受体结合位点的结合能力。¹⁴C-氘-L-二烯基 (¹⁴C-DED) 作为一种 PET 示踪剂已被用于观察阿尔茨海默病患者体内活化的星形胶质细胞^[52]。有研究表明, 将氘掺入 ¹⁴C-DED 中可以减少脑灌注对示踪剂结合的影响^[53]。2001 年, ¹⁸F-FCH 被开发作为一种正电子发射断层扫描肿瘤示踪剂^[54], 然而其很容易被肾脏和肝脏组织中的胆碱氧化酶氧化^[55]。基于氢同位素效应, 开发出了性质更为稳定的 ¹⁸F-FCH 类似物—¹⁸F-氟甲基-[1,2-²H₄]胆碱 (¹⁸F-D₄-FCH), 氘对氢的简单取代和 ¹⁸F 的存在提高了化合物的稳定性, 同时减少了母体示踪剂的降解^[55]。

4 展望

本文综述了氘同位素及其标记的化合物在机体代谢机制研究、临床疾病的治疗与机制、药理学等许多领域研究中的应用。随着精准医疗观念的不断发展, 各个临床专业领域朝着各种先进科技手段与传统医学方法整合应用和集成创新的趋势发展。氘标记化合物的检测技术在临床代谢性疾病、肿瘤等的诊断和治疗评估中显示出了巨大的应用前景, 提供了有关代谢变化的宝贵信息, 不仅可以帮助确定免疫治疗的最佳时间窗口, 还能提高临床干预的准确性。此外, 氘在药物研究中也得到越来越多的重视和利用, 一方面氘代化合物保留了氢类似物的药理效力和选择性, 另一方面, 在某些情况下, 氘同位素效应可以显著改变药

物代谢, 对改善药代动力学、减小药物毒性等方面产生积极作用。

然而, 目前氘同位素在临床转化与应用方面仍面临一定的挑战。由于物种间的差异性、体外实验环境可能无法完全模拟体内的生理环境, 氘在体外的有益作用并不能保证在生物系统中同样会取得成功, 许多与氘同位素效应竞争的因素可能会弱化甚至逆转氘化的预期效果。在临床诊断与评估中, 需要进一步探索量化氘化物给药剂量的可靠方法以及制定标准化的诊断评估指标。在设计和研发氘化药物方面, 选择更加合适的底物、提高氘化位置的准确性、评估氘化药物的安全性、可行性和耐受性仍然需要大量的研究。此外, 不同国家地区在氘代药物正式获得临床应用准许程序的规范化及氘化药物专利的授予标准方面仍需努力。

相信随着同位素标记分析方法、临床医学技术的不断发展, 以及相关领域的专家、研究人员的共同努力, 氘同位素标记在生物医药领域的应用范围将不断扩大, 临床转化应用的可行性不断提高, 协助研究人员和临床医生更加全面地了解机体代谢, 为临床疾病的诊断与治疗提供新的方法和思路, 从而推动生物医药领域的发展。

参考文献

- [1] VOGES R, HEYS J, MOENIUS T. Preparation of tritium-labelled compounds by isotope exchange reactions[M]. German: Wiley, 2009, 47-107.
- [2] ATZRODT J, DERDAU V, KERR W J, *et al.*. Deuterium- and tritium-labelled compounds: applications in the life sciences[J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, 57(7): 1758-1784.
- [3] YANG H, HESK D. Base metal-catalyzed hydrogen isotope exchange[J]. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2020, 63(6): 296-307.
- [4] DI GIUSEPPE A, CASTARLENAS R, ORO L A. Mechanistic considerations on catalytic H/D exchange mediated by organometallic transition metal complexes[J]. *C. R. Chim.*, 2015, 18(7): 713-741.
- [5] LIU M, CHEN X, CHEN T, *et al.*. A facile and general acid-catalyzed deuteration at methyl groups of N-heteroaryl-methanes[J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2017, 15(12): 2507-2511.
- [6] SAJIKI H, SAWAMA Y, MONGUCHI Y. Efficient H-D exchange reactions using heterogeneous platinum-group metal on carbon-H₂-D₂O system[J]. *Synlett*, 2012, 23(7): 959-972.
- [7] CHATTERJEE B, KRISHNAKUMAR V, GUNANATHAN C. Selective α -deuteration of amines and amino acids using D₂O[J]. *Org. Lett.*, 2016, 18(22): 5892-5895.
- [8] LEGROS F, FERNANDEZ-RODRIGUEZ P, MISHRA A, *et al.*

- Photoredox-mediated hydrogen isotope exchange reactions of amino-acids, peptides, and peptide-derived drugs[J]. *Chemistry*, 26(56): 12738-12742.
- [9] LOH Y Y, NAGAO K, HOOVER A J, *et al.* Photoredox-catalyzed deuteration and tritiation of pharmaceutical compounds[J]. *Science*, 2017, 358(6367): 1182-1187.
 - [10] KOPF S, BOURRIQUEN F, LI W, *et al.* Recent developments for the deuterium and tritium labeling of organic molecules[J]. *Chem. Rev.*, 2022, 122(6): 6634-6718.
 - [11] LIU C, CHEN Z, SU C, *et al.* Controllable deuteration of halogenated compounds by photocatalytic D₂O splitting[J/OL]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 80[2024-07-22]. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02551-8>.
 - [12] GOU X Y, LI Y, WANG X G, *et al.* Ruthenium-catalyzed ortho-selective CAr-H amination of heteroaryl arenes with di-tert-butylhydraziridinone[J]. *Chem. Commun.*, 2019, 55(38): 5487-5490.
 - [13] RUIZ-CASTANEDA M, CARRIÓN M C, SANTOS L, *et al.* A biphasic medium slows down the transfer hydrogenation and allows a selective catalytic deuterium labeling of amines from imines mediated by a Ru-H/D⁺ exchange in D₂O[J]. *Chem-CatChem*, 2018, 10(23): 5541-5550.
 - [14] COOK A, PRAKASH S, ZHENG Y L, *et al.* Exhaustive reduction of esters enabled by nickel catalysis[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, 142(18): 8109-8115.
 - [15] FENG K, QUEVEDO R E, KOHRT J T, *et al.* Late-stage oxidative C(sp³)-H methylation[J]. *Nature*, 2020, 580(7805): 621-627.
 - [16] SKLYARUK J, BORGHS J C, EL-SEPELGY O, *et al.* Catalytic C-1 alkylation with methanol and isotope-labeled methanol[J]. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2019, 58(3): 775-779.
 - [17] DAI X, LV C, SUN J, *et al.* A facile synthesis of isotope labeled acylcarnitines[J]. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2021, 64(5): 217-224.
 - [18] HESK D, KOHARSKI D, MCNAMARA P, *et al.* Synthesis of ³H, ¹³C₂, ²H₄¹⁴C-SCH 430765 and ³⁵S-SCH 500946, potent and selective inhibitors of the NPY₅ receptor[J]. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2018, 61(7): 533-539.
 - [19] WILKINSON D J, BROOK M S, SMITH K, *et al.* Stable isotope tracers and exercise physiology: past, present and future[J]. *J. Physiol.*, 2017, 595(9): 2873-2882.
 - [20] WEIS D. Hydrogen exchange mass spectrometry of proteins: fundamentals, methods, and applications[M]. New York: John Wiley&Sons, 2016.
 - [21] JAMES E I, MURPHREE T A, VORAUER C, *et al.* Advances in hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry and the pursuit of challenging biological systems[J]. *Chem. Rev.*, 2022, 122(8): 7562-7623.
 - [22] DENG B, LENTO C, WILSON D J. Hydrogen deuterium exchange mass spectrometry in biopharmaceutical discovery and development-a review[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2016, 940: 8-20.
 - [23] WALLS A C, FIALA B, SCHÄFER A, *et al.* Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2[J]. *Cell*, 2020, 183(5): 1367-1382.
 - [24] PANTAZATOS D, KIM J S, KLOCK H E, *et al.* Rapid refinement of crystallographic protein construct definition employing enhanced hydrogen/deuterium exchange MS[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101(3): 751-756.
 - [25] MASSON G R, BURKE J E, AHN N G, *et al.* Recommendations for performing, interpreting and reporting hydrogen deuterium exchange mass spectrometry (HDX-MS) experiments[J]. *Nat. Meth.*, 2019, 16(7): 595-602.
 - [26] IACOB R E, KRYSTEK S R, HUANG R Y, *et al.* Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry applied to IL-23 interaction characteristics: potential impact for therapeutics[J]. *Expert Rev. Proteom.*, 2015, 12(2): 159-169.
 - [27] POLVOY I, QIN H, FLAVELL R R, *et al.* Deuterium metabolic imaging-rediscovery of a spectroscopic tool[J/OL]. *Metabolites*, 2021, 11(9): 570[2024-07-22]. <https://doi.org/10.3390/metabo11090570>.
 - [28] KAGGIE J D, KHAN A S, MATYS T, *et al.* Deuterium metabolic imaging and hyperpolarized ¹³C-MRI of the normal human brain at clinical field strength reveals differential cerebral metabolism[J/OL]. *NeuroImage*, 2022, 257: 119284[2024-07-22]. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119284>.
 - [29] MAJZNER K, TOTT S, ROUSSILLE L, *et al.* Uptake of fatty acids by a single endothelial cell investigated by Raman spectroscopy supported by AFM[J]. *Analyst*, 2018, 143(4): 970-980.
 - [30] HARTMANN B, MÜLLER M, SEYLER L, *et al.* Feasibility of deuterium magnetic resonance spectroscopy of 3-O-methylglucose at 7 Tesla[J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(6): e0252935[2024-07-22]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252935>.
 - [31] FLOCKE V, TEMME S, BOUVAIN P, *et al.* Noninvasive assessment of metabolic turnover during inflammation by *in vivo* deuterium magnetic resonance spectroscopy[J/OL]. *Front. Immunol.*, 2023, 14: 1258027[2024-07-22]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1258027>.
 - [32] HARRIS J J, JOLIVET R, ATTWELL D. Synaptic energy use and supply[J]. *Neuron*, 2012, 75(5): 762-777.
 - [33] LU M, ZHU X H, ZHANG Y, *et al.* Quantitative assessment of brain glucose metabolic rates using *in vivo* deuterium magnetic resonance spectroscopy[J]. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2017, 37(11): 3518-3530.
 - [34] DE FEYTER H M, BEHAR K L, CORBIN Z A, *et al.* Deuterium metabolic imaging (DMI) for MRI-based 3D mapping of metabolism *in vivo*[J/OL]. *Sci. Adv.*, 2018, 4(8): eaat7314 [2024-07-22]. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat7314>.
 - [35] WADA Y, SATO Y, MIYAZAKI K, *et al.* The reduced/oxidized state of plasma albumin is modulated by dietary protein intake partly via albumin synthesis rate in rats[J]. *Nutr. Res.*, 2017, 37: 46-57.
 - [36] 田颖,孟婵芳,时明慧,等. 重水标记法测定大鼠血浆清蛋白合成动力的研究[J]. 肠外与肠内营养, 2018, 25(1): 52-55+61.
TIAN Y, MENG C F, SHI M H, *et al.* Kinetic parameters of plasma albumin synthesis by deuterated water[J]. *Parenteral & Enteral Nutri.*, 2018, 25(1): 52-55+61.
 - [37] LARA R, SECKL M J, PARDO O E. The p90 RSK family members: common functions and isoform specificity[J]. *Cancer Res.*, 2013, 73(17): 5301-5308.
 - [38] CHRYSOSTOMOU S, ROY R, PRISCHI F, *et al.* Repurposed

- floxacin targeting RSK4 prevent chemoresistance and metastasis in lung and bladder cancer[J/OL]. *Sci. Transl. Med.*, 2021, 13(602): eaba4627[2024-07-22]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aba4627>.
- [39] WOJCIK J, HANTSCHER O, GREBIEN F, *et al.* A potent and highly specific FN3 monobody inhibitor of the Abl SH2 domain[J]. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010, 17(4): 519-527.
- [40] LANKFORD C S, FRUCHT D M. A unique role for IL-23 in promoting cellular immunity[J]. *J. Leukoc. Biol.*, 2003, 73(1): 49-56.
- [41] 赵鹏翔, 谢飞, 刘梦昱, 等. 氢气生物医学研究进展[J]. *生物技术进展*, 2021, 11(4): 503-517.
ZHAO P X, XIE F, LIU M Y, *et al.* Research progress in hydrogen biomedical science[J]. *Curr. Biotechnol.*, 2021, 11(4): 503-517.
- [42] HYSPLER R, TICHA A, SCHIERBEEK H, *et al.* The evaluation and quantitation of dihydrogen metabolism using deuterium isotope in rats[J/OL]. *PLoS ONE*, 2015, 10(6): e0130687 [2024-07-22]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130687>.
- [43] DI MARTINO R M C, MAXWELL B D, PIRALI T. Deuterium in drug discovery: progress, opportunities and challenges[J]. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2023, 22(7): 562-584.
- [44] SCHMIDT C. First deuterated drug approved[J]. *Nat. Biotechnol.*, 2017, 35(6): 493-494.
- [45] SCOTT-STEVENSON P, ATTACK J R, SOHAL B, *et al.* Rodent pharmacokinetics and receptor occupancy of the GABA_A receptor subtype selective benzodiazepine site ligand L-838417[J]. *Biopharm. Drug Dispos.*, 2005, 26(1): 13-20.
- [46] BRAMAN V, LIU J F, HARBESON S, *et al.* Preliminary clinical outcomes for CTP-354, a novel subtype-selective GABA(A) modulator[J]. *Ann. Neurol.*, 2014, 76(S18): 104-104.
- [47] HARBESON S L, MORGAN A J, LIU J F, *et al.* Altering metabolic profiles of drugs by precision deuteration 2: discovery of a deuterated analog of ivacaftor with differentiated pharmacokinetics for clinical development[J]. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2017, 362(2): 359-367.
- [48] PIRALI T, SERAFINI M, CARGNIN S, *et al.* Applications of deuterium in medicinal chemistry[J]. *J. Med. Chem.*, 2019, 62(11): 5276-5297.
- [49] CALINSKI D M, ZHANG H, LUDEMAN S, *et al.* Hydroxylation and N-dechloroethylation of Ifosfamide and deuterated ifosfamide by the human cytochrome P450s and their commonly occurring polymorphisms[J]. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, 2015, 43(7): 1084-1090.
- [50] FRAM D M, ALMENOFF J S, DUMOUCHEL W. Empirical Bayesian data mining for discovering patterns in post-marketing drug safety[C]//The Ninth ACM SIGKDD International Conference, ACM, 2003.
- [51] UTTAMSINGH V, GALLEGOS R, LIU J F, *et al.* Altering metabolic profiles of drugs by precision deuteration: reducing mechanism-based inhibition of CYP2D6 by paroxetine[J]. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2015, 354(1): 43-54.
- [52] RODRIGUEZ-VIEITEZ E, CARTER S F, CHIOTIS K, *et al.* Comparison of early-phase ¹¹C-deuterium-l-deprenyl and ¹¹C-pittsburgh compound B PET for assessing brain perfusion in alzheimer disease[J]. *J. Nucl. Med.*, 2016, 57(7): 1071-1077.
- [53] FOWLER J S, WANG G J, LOGAN J, *et al.* Selective reduction of radiotracer trapping by deuterium substitution: comparison of carbon-11-L-deprenyl and carbon-11-deprenyl-D2 for MAO B mapping[J]. *J. Nucl. Med.*, 1995, 36(7): 1255-1262.
- [54] DEGRADO T R, COLEMAN R E, WANG S, *et al.* Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled choline as an oncologic tracer for positron emission tomography: initial findings in prostate cancer[J]. *Cancer Res.*, 2001, 61(1): 110-117.
- [55] BANSAL A, WANG S, HARA T, *et al.* Biodisposition and metabolism of [¹⁸F] fluorocholine in 9L glioma cells and 9L glioma-bearing fisher rats[J]. *Eur. J. Nucl. Med. Mol.*, 2008, 35(6): 1192-1203.