

Tc 阳离子的体内无机化学

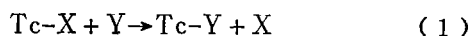
Deutsch E and Hirth W

摘要: 为发展^{99m}Tc标记的心肌灌注显像剂, 对多种Tc阳离子络合物体内化学行为进行了研究, 揭示并解释了Tc阳离子络合物的生物学特性。由于药物中Tc离子的浓度非常低 (10^{-10} mol/L), 这种研究只能利用HPLC技术方可实现。重点介绍四种形式的HPLC技术。

本文以Tc的心肌灌注显像剂为例, 说明“强”Tc阳离子络合物在体内可能的反应和在 10^{-10} M (mol/L) 水平上研究Tc化学的新实验技术。

一、反 应

强络合物(robust)是指络合物对配体取代是惰性的。这一性质对于研究功能的Tc放射性药物极为重要, 因为是配体自身把其生物学特性传递给中心的Tc。所以, 简单的配体取代反应:



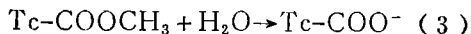
在体内是罕见的。

中心金属的氧化还原反应:



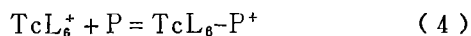
这是一类极重要的体内可能进行的反应, 由于氧化还原反应, 使整个络合物的电荷改变了。若此反应发生在体内, 那么观察到的生物分布将是中性物质的特点, 而不是阳离子的特征。

配位体反应:



是另一类在体内可能发生的重要反应, 这个反应会显著改变络合物的物理和化学性质, 并强烈地改变络合物的生物分布, 但Tc-配体之间的键没有改变, 仅是配体发生了化学变化, 在式(3)的例子中, 配位体脂的水解既减少了Tc络合物的脂溶性, 又改变了它的静电荷。

最后, Tc络合物还可进行外球面缔合反应:



同样, 在此反应中, 配体的内部配位结构没有改变, 没有Tc-L键的破裂, 只是整个络合物与某些其他物质相缔合, 通常在体内是蛋白质。

二、技 术

从⁹⁹Mo-^{99m}Tc发生器淋洗液中得到的Tc的总量(包括⁹⁹Tc和^{99m}Tc)一般在 $10^{-5} \sim 10^{-7}$ mol/L范围内, 在制成放射性药物及注入病人体内后, 浓度至少会降低1000倍。因此, 在生物样品中, 锝的浓度为 $10^{-11} \sim 10^{-10}$ mol/L。样品浓度如此之低, 又是复杂可变的, 要得到这些样品的化学信息, 仅有少数技术是有效的, 其中高效液相色谱(HPLC)技术最有用。HPLC有多种形式, 现已证实四种形式的HPLC对探讨Tc阳离子的体内化学特别有效。

1. 反相色谱是根据脂溶性对Tc络合物进行分离。由于电荷是测量脂溶性的重要因素之一, 从络合物在反相色谱中的行为经常能得到有关它的电荷的信息。

2. 阳离子交换色谱是根据正电荷密度(电荷/体积)来分离络合物。显然它在阳离子络合物的分析中是有用的。

3. 分子大小排阻色谱是根据颗粒的大小和形状的不同来分离大分子。

4. 内表面反相色谱是一种新型的色谱, 它可以快速地将生物样品中的大分子洗出, 然后对小分子进行反相色谱分析。

除HPLC技术外, 也可通过比较两种紧密相关而又有细微差别的Tc络合物的生物分布来获得其体内化学的有关信息。

三、实例

(一) 体内氧化还原反应

$[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 是作为有潜力的心肌灌注显像剂来估价的, 但它在临床试用的结果令人失望。初期阶段的心脏/肝脏的比率很低, 当放射性从心肌不断清除而转到肝脏, 此比率随时间而下降。对此, 一种假说认为: 在体内Tc(Ⅲ)还原成相应的Tc(Ⅱ), 形成中性的 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^0$, 此物首先要在网状内皮组织系统的器官中聚集。

1. 间接方法: 利用Tc与Re在周期表上的相关性来检查这种假设。如所预期, $[\text{Re}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 和 $[\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 有相同的粒子大小、形状、电荷和脂溶性等, 但两种络合物的明显区别在于Tc络合物比Re络合物容易还原(相差190mV)。这样, 如果Tc(Ⅲ)离子在体内被还原, 而Re(Ⅲ)并没有还原, 若同时注射 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 和 $[\text{Re}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$, 相应的生物分布将明显不同。而不能还原的 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMP-E})_3]^+$ 和 $[\text{Re}(\text{DMPE})_3]^+$ 一起注射后, 两种物质表现出相同的生物分布。

把 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 和 $[\text{Re}(\text{DMP-E})_3]^+$ 同时注入大鼠后, 测得脏器的吸收比率 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+ / [\text{Re}(\text{DMPE})_3]^+$ 对所有的脏器样品在所有的时间点都是1.0左右。但同时注射的 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 及 $^{186}\text{Re}(\text{Ⅲ})$ 络合物, 脏器吸收比值的变化可超过60。这与 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 在体内被还原成中性的 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 类似物, $^{186}\text{Re}(\text{Ⅲ})$ 不进行这一体内还原反应的假说完全一致。从心肌灌注显像的观点, 不希望发生 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 的体

内还原反应, 因为生成中性的物质, 从心脏中清除出去并聚集在肝脏中, 导致了很低并且持续下降的心/肝比。 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅰ})$ 及 $^{186}\text{Re}(\text{Ⅲ})$ 不进行体内还原反应, 故不被心肌清除。

2. HPLC法: 上述间接方法得到了明确结果, 但更希望能使用HPLC直接分析动物组织中的 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 和 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^0$, 以证实在体内发生了 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 还原成 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 。由于以 ^{99m}Tc 放射性药物形式出现的 ^{99m}Tc 的浓度很低, 由此产生的相当微妙的原因使HPLC分析在此系统中未获成功。

在 10^{-5}mol/L 时, 用HPLC对 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 和 $[^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^0$ 分析。HPLC仪器配备有快速扫描分光光度计, 这样可以得到洗脱出的物质的可见-紫外光谱。在 10^{-5}mol/L 时, 反相HPLC分析中 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 络合物的保留时间(Rt)为10分钟, 而中性的 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 约为2分钟, 由于两种络合物的可见-紫外光谱从化学研究中已经鉴别, 因此在 10^{-5}mol/L 可直接用HPLC分离和检测 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 和 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 。

当注入 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 的样品浓度很低时, 样品在分析过程中会发生变化。在 $7 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 时, 只观察到Rt约为2分钟的单峰, 即 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 的特征峰, 当此样品稀释5倍后再次进样时, 出现Rt为4分钟和6分钟的两个峰。若原样品稀释10倍后进样, 这两个峰能分辨得更好, 并且Rt都长了一些, 稀释至50倍时, 只出现Rt为12分钟的一个单峰, 虽然注进柱子的是 $1.4 \times 10^{-7}\text{mol/L}$ 的 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$, 而该峰的Rt却是 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 的特征。以上证明了在此反相HPLC分析条件下, $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 在分析过程中被氧化成 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅱ})$ 。体外发生氧化反应的程度依赖于原来进样的 $^{99m}\text{Tc}(\text{Ⅲ})$ 浓度。在 $7 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 时, 没有发生氧化反应, $1.4 \times 10^{-7}\text{mol/L}$ 则完全被氧化。由于 10^{-7}mol/L 较之在体内样品中碰到的 ^{99m}Tc 浓度(10^{-10}mol/L)要高得多。显然组织样品中

的 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 和 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^0$ 无法用HPLC鉴别。在分析开始时, $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 就会发生完全的体外氧化,因而只能检测到 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{II})$ 。

$[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^0$ 在HPLC分析过程中之所以发生体外氧化的基本原因之一,是因为它是一个很好的还原剂,因而 $\text{Tc}(\text{I})$ 是相对不稳定的,甚至在流动相中加入抗氧化剂的条件下问题也未减轻,在实验中,总可观察到体外氧化在低浓度下进行。但其他的 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 络合物并不一定如此,事实上这些 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 络合物没有发生体外氧化,可以用HPLC进行分析,而且在生物样品中 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{II})$ 两种形式都可检测到。如 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Br}_2]^0$ [DIARS : 0- 苯撑-双(二甲基砷)]是相对稳定的络合物。在阳离子交换HPLC分析中, $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 络合物在 R_t 为2分钟时被洗脱出来,而 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{II})$ 络合物 R_t 为7分钟。在分析过程中, $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 无任何氧化现象,甚至在 10^{-7}mol/L “无载体加入”的浓度水平也是如此。这种分析可用来检测在相应的生物样品中 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Br}_2]^+$ 向 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Br}_2]^0$ 的还原。 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DIARS})_2\text{Br}_2]^+$ 与人血浆共同温育2小时。经处理后进样分析,结果在此时间内有显著部分的 $\text{Tc}(\text{II})$ 已经还原成 $\text{Tc}(\text{I})$ 。进一步实验显示其在血浆中还原的程度是随时间增加的。

(二)配位体的体内反应

以心肌灌注显像剂六配位(异腈) $\text{Tc}(\text{I})$ 阳离子为研究对象。其通式为 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CN-R})_6]^+$,此处R是一个有机基团,该基团有很大的可变性。当R为特丁基- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 时, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 络合物表现出很高的肝和肺的吸收,因而影响了心肌显像质量。为了促使其从本底器官中清除出去,将R改成一个酯功能基团,如 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOCH}_3$,预期配体酯基在肝和肺里将迅速水解,改变了 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 络合物的电荷和脂溶性,并加速了清除。 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{C-}$

$\text{PI})_6]^+$ 的六个酯基的完全水解将导致生成九个可能的产物(包括异构体)。 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CN-C}(\text{CH}_3)_2\text{COOCH}_3)_6]^+$ 与血浆共同温育,再进行HPLC分析,可以看到有九个峰,相应于起始络合物和九个可能的络合物中的八个,其中 R_t 最长的峰是未水解的起始物。第2个峰相应于中性产物,它只水解了一个酯基。所以配体酯基在人血浆中确实发生了水解,初步临床试验结果支持了这一体内水解的结论。特丁基络合物没有能在体内反应的侧功能基,因此,酯络合物与其前体特丁基络合物相比,从肝和肺中的清除要快得多。

(三)体内外球面缔合反应

心肌灌注显像剂 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 从人血中清除很慢,却可迅速地从狗血中清除。其他几个 $\text{Tc}(\text{I})$ 络合物也观察到同样现象,如 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{POM-POM})_3]^+$ 和 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{TMP})_3]^+$ 。研究表明这三个阳离子与某一血浆成分结合非常牢固,此种成分仅存在于人血中而不存在于狗血中。与此种成分的结合并没有在本质上给络合物带来任何改变,当用有机溶剂(如乙腈)处理时,络合物又被重新释出。因此,这一结合现象与式(4)中描绘的外球面缔合反应相吻合。现以 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 作为与人血浆紧密结合的典型,以 $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 为与人血浆结合不紧密的典型,利用HPLC技术加以说明。

1. 分子大小排阻HPLC: 将人血浆与 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{II})$ 络合物或者 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ 络合物共同温育后,用分子大小排阻HPLC对血浆进行分析,用UV检测器示踪洗脱出的蛋白质,用放射性检测器示踪洗脱出的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

$[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 样品的分析结果: 全部蛋白质在20分钟内被洗脱出, $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 在40分钟内100%洗出,没有 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 与蛋白质同时洗出,因而证明了在此条件下, $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 没有与人血浆中的任何成份结合。

$[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 样品的分析结果: 显

著部分的 ^{99m}Tc 与血浆成分在20分钟被洗脱出,其他的 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 在约40分钟洗脱出。三个 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ 络合物、 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 、 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{POM-POM})_3]^+$ 和 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{TMP})_6]^+$ 与人血浆中同样的成份结合,但对狗血浆的任何成分都没有与之相当的结合。

2. 内表面反相HPLC: 用反相HPLC进行复杂的小分子生物样品分析,柱内填充多孔硅珠,其内表面复盖以疏水基团,外表面则复盖以无吸附性的亲水基团。大分子物质不能进入珠的内部,在通过珠的外表面时,不会被吸附或保留。小分子物质可以渗入珠的内部,并与疏水表面结合,在大分子物质洗脱出以后,小分子物质就可用标准的反相HPLC进行分离和鉴定。

用人血浆与 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 或 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 一起温育后,再进行分析,在温育的 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ 阳离子所做的色谱图中,没有 ^{99m}Tc 与蛋白质同时洗脱出,证明 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$ 没有与血浆中的成分结

合。而在温育的 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ 阳离子的色谱图中,很大部分的 ^{99m}Tc 与蛋白质共同洗脱出,证明 $[\text{C}^{99m}\text{Tc}(\text{DMPE})_3]^+$ 紧密地与人血浆中的某一(或某些)成分结合。

这种HPLC不能象分子大小排阻HPLC那样得到很多蛋白质的信息,但处理是容易和快速的。因而,它提供了一种依据试剂与人血浆成分的结合倾向来筛选新的 ^{99m}Tc 试剂有用的技术。

四、结 语

虽然“体内”和“无机的”两个词汇本质上是矛盾的,但 ^{99m}Tc 阳离子的无机化学的确影响着这些物质的体内行为。HPLC对描述此种体内的化学变化是很有用的技术。但也是复杂的,在体内 ^{99m}Tc 的浓度只有 10^{-10} mol/L时可能导致假象,若设计和进行必要的控制试验,可避免落入这些假象造成的陷阱。

[J Nucl Med 1987, 28(9): 4141~1500 (英文)
国毓智 方 平 节译 唐 谨校]

(上接第254页)

所有患者根据冠状动脉造影结果分为四级: 0级为无明显冠状动脉狭窄; 1级为1支冠状动脉狭窄; 2级为2支冠状动脉狭窄; 3级为3支冠状动脉狭窄。应用对数回归处理诊断LVEF及HR·BP与冠状动脉狭窄数目的关系。

结果: 运动时HR·BP与LVEF随冠状动脉狭窄数目的增加而下降。20%的患者运动时LVEF ≥ 0.55 , HR·BP ≥ 21000 搏·mmHg/分, 这些病人中70%无主要冠状动脉明显狭窄,或1支冠状动脉狭窄,仅9例(占7%)有3支冠状动脉狭窄。另外200例(占全部病人32%)运动时LVEF < 0.55 , HR·BP < 21000 搏·mmHg/分, 其中144例(72%)有多支冠状动脉狭窄, 仅16例(占8%)无明显冠状动脉狭窄。

讨论: 核素心脏血池显像中, LVEF在运动时可较准确地鉴别冠状动脉狭窄的数目, 并与冠心病的严重程度密切相关, 而HR·BP对冠状动脉狭窄的鉴别也有重要价值。因此, 理论上, 心脏收缩功能指标

(运动LVEF)与心肌耗氧量指标(运动HR·BP)的结合在预测主要冠状动脉狭窄的数目上应提供更有意义的结果。

本文研究结果表明: 冠状动脉狭窄数目的预测可能性在不同的LVEF及HR·BP时有不同结果。当患者HR·BP为26000搏·mmHg/分和LVEF 0.6时, 预测无明显冠状动脉狭窄的可能性为0.39, 有1支或更多支狭窄的可能性为0.61, 有2支或更多支狭窄的可能性为0.32, 有3支狭窄者的可能性仅为0.12。而当患者在运动时HR·BP为15000搏·mmHg/分, LVEF为0.40时, 有0、1、2及3支冠状动脉狭窄的可能性分别为0.08、0.92、0.77、0.48。然而HR·BP和LVEF并不仅仅取决于冠状动脉狭窄的影响, 同时也受其他因素的影响, 如患者对运动的耐受能力及 β -受体阻滞剂的作用等。总之, 运动时的HR·BP与LVEF是判断冠状动脉狭窄数目的良好指标。

(黄 钢 编 赵惠扬校)