

文章编号:0253-9950(2009)02-0090-08

水溶液中新核心 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 和 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}, \text{EDTA}, \text{EHIDA}$)的制备

刘晶莹, 杨 洋, 朱 霖*

教育部放射性药物重点实验室, 北京师范大学 化学学院, 北京 100875

摘要:研究了水溶液中制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}, \text{EDTA}, \text{EHIDA}$)配合物的2种方法:(1)由前体 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$; (2)由 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体制备 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$;并确定了最佳标记条件。TLC和HPLC结果表明,2种方法得到的配合物放射产率均在90%以上。初步建立了1套在水溶液中简单、高效制备新的 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 类配合物的方法。 $[\text{NO}]^+$ 基团取代原三羰基钨配合物得到的 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物具有良好的体外稳定性,取代后的配合物脂溶性和电荷性质都发生了改变,为 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 放射性药物的研制开辟了新思路。

关键词: $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物; $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体;制备方法;标记条件;理化性质
中图分类号:TL923 文献标志码:A

Preparation of New Core $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ and Its Derivatives $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}, \text{EDTA}, \text{EHIDA}$) in Aqueous Solution

LIU Jing-ying, YANG Yang, ZHU Lin*

Key Laboratory of Radiopharmaceuticals (Ministry of Education), College of Chemistry,
Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: In order to develop a new method for the preparation of the $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}, \text{EDTA}, \text{EHIDA}$) complexes in aqueous solution, two different procedures were developed: one is formation of the metal-tricarbonyl-ligand complex and subsequent nitrosylation; another is nitrosylation of the metal-tricarbonyl precursor followed by reaction with the ligand. The optimal labeling conditions were studied. Results of TLC and HPLC indicate that the radiochemical yields derived from the two methods list above are all more than 90%. It's an easier new way to prepare $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ complexes in aqueous solution with high efficiency. The newly developed $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ complexes are stable at room temperature during 1 half-life of the isotope. At the same time, the lipophilicity and net charge of $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ complexes are also changed comparing with that of corresponding $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]^+$ core complexes. It opens a new field for designing radiopharmaceuticals.

收稿日期:2007-12-18;修订日期:2008-05-22

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20040027011)

作者简介:刘晶莹(1983—),女,河南南阳人,硕士研究生,放射性药物专业

* 通讯联系人:朱 霖,女,博士,教授,博士生导师,放射性药物专业, E-mail: zhulin@bnu.edu.cn

Key words: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$ complexes; $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3^{2+}$ intermediate; preparation procedures; labeled conditions; physical-chemical characters

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 核心的研究一直是锝化学研究的热点和重点之一,每一种新核心的研制成功,都为锝放射性药物的研究带来新的希望和机遇。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^{+}$ 核心广泛用于标记生物小分子或各种有效配体,极大地丰富了锝放射性药物研究^[1-6]。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^{+}$ 核心中的 H_2O 分子很容易被其他配位能力较强的配位原子所取代,从而制备新的羰基锝配合物。

用 $[\text{NO}]^{+}$ 取代 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^{+}$ 中的一个 CO , 可形成新的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3^{2+}$ 核心,从而丰富 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 配合物的研究。 NO 是一个简单而稳定的顺磁性分子,其 π^{*} 轨道上的孤电子很容易离去;电子离去后形成的 $[\text{NO}]^{+}$ 具有很高的亲电性,且比它的等电子体 CO 拥有更强的 π 电子接受能力。虽然亚硝酰化反应在金属有机化学中很普遍,但将其应用于羰基锝配合物中还鲜有报道^[7]。Rattat^[8] 制备了 $[\text{NO}]^{+}$ 取代的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}$ 配合物,并与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-DTPA}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}$ 配合物比较,在正常小鼠体内的分布明显不同。新的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}$ 配合物,注射 10 min 后在血液中的摄取量比 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-DTPA}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}$ 高出 3 倍,为 64.4% ID;且清除速率慢,65 min 后血液中残留仍高达 48.4% ID。

目前报道 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$ 配合物的制备方法有 3 种^[7-8]: (1) 室温下有机相(CH_2Cl_2 或乙腈)中, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ 与 NOBF_4 或 NOHSO_4 反应; (2) 70 °C 水中, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ 与 NOHSO_4 反应; (3) 室温下, 水相中 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ 与 CH_2Cl_2 中的 NOHSO_4 发生非均相反应。其中,只有在有机相中制备产率比

较高,可达 70% 左右。但此方法反应时间长(4~16 h),且不利于进一步的药物评价研究。

本工作在本小组已经建立的水溶液中新核心配合物 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EHIDA}$ 制备方法^[9]的基础上,探索水溶液中制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$ (L=EDTA, DTPA) 配合物的方法,从而建立快速有效制备新核心的方法,用于标记此类 Tc 核心配合物。采用以下 2 条制备路线: (1) 由 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ 制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$; (2) 由 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^{+} \rightarrow ^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3^{2+} \rightarrow ^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$ 。此外,对所制备的新配合物进行理化性质等评价。

1 实验部分

1.1 试剂与材料

NOBF_4 , 分析纯, 美国 Sigma 公司; $^{99}\text{Mo}-^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 发生器, 北京森科医药有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

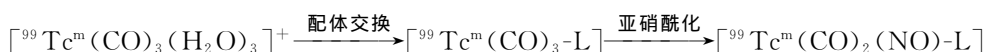
1.2 仪器

F-H-408 自动定标器, 国营二六一厂; FJ-391 同位素活度计, 中国计量科学研究院; AdventurerTM 电子天平, 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司, 天平感量 0.1 mg; SCL-10AVP 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; Alltima C18 柱(10 nm, 250 mm×4.6 mm), 德国 Alltech 公司; Packard Flow Scintillation Analyzer, 美国 Packard Bioscience 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 由 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ 制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}$ (L=DTPA, EDTA, EHIDA^[9])

1.3.1.1 制备原理 制备原理如下:



1.3.1.2 制备方法

(1) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^{+}$ 中间体(a)的制备^[1]: 分别称取 4.0 mg Na_2CO_3 , 20.0 mg 四水合酒石酸钠/钾和 5.6 mg NaBH_4 于 10 mL 西林瓶中, 以蒸馏水溶解; 密封通入 CO 10 min 后, 注

入 1 mL $\text{Na}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4$ 淋洗液, 于 78 °C 下加热 30 min; 冷却至室温, 调节中间体的 $\text{pH}=7$ 。

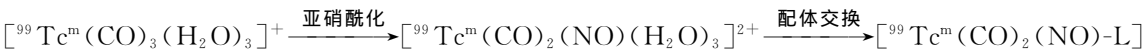
(2) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}$ (L=DTPA, EDTA, EHIDA^[9]) (b) 的制备: 分别取 500 μL 配体 L 溶液(5 g/L), 加入 500 μL (35~350 MBq) 上述 a 溶

液,调节 pH 值后在 80 ℃下加热。具体的反应条件列于表 1。

表 1 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
(L= DTPA, EDTA, EHIDA) 的制备条件

Table 1 Preparation conditions of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
(L= DTPA, EDTA, EHIDA)

$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$	pH	反应时间 (Reaction time)/min
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$	10	30
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$	4	30
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EHIDA}]$	7	30



1.3.2.2 制备方法如下:

(1) $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体(d)的制备:同前 1.3.1.2 节。

(2) $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体(e)的制备:取 1 mL(35~350 MBq)溶液 d 于 10 mL 西林瓶中,加入 500 μL 0.1 mol/L HCl 溶液;再加入 3 mg NOBH₄,摇匀,于 70 ℃反应 30 min 后冷却至室温。

(3) $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)的制备:取 500 μL 溶液 e 于 10 mL 西林瓶中,分别加入 100 μL 配体 L 水溶液(5 g/L),调节 pH(pH 同表 1)于 80 ℃下加热 30 min 后冷却至室温。

1.3.3 配合物标记率和放化纯的测定 用薄层层析(TLC)和高效液相色谱(HPLC)方法分别测定配合物的标记率和放化纯度。TLC 分别采用聚酰胺薄片/乙腈、聚酰胺薄片/生理盐水和新华一号滤纸/甲醇展开体系。HPLC 分析条件采用梯度淋洗,流动相 A 相为含 0.1% TFA 的水溶液,B 相为含 0.1% TFA 的乙腈溶液。梯度条件为 0—20 min,从 100% A 线性变为 100% B; 20—30 min,100% B。流速 1.0 mL/min,进样量 3~5 μL。

1.3.4 pH 和反应温度对 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)配合物标记的影响 按照 1.3.1 节方法,将制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)在不同 pH 下加入 NOBH₄,研究 pH、反应温度对标记率的影响。

1.3.5 配合物的体外稳定性 将 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2$

(3) $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA, EHIDA)(c)的制备:分别取 1 mL $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 水溶液于 10 mL 西林瓶中,滴加 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH;再加入 3 mg NOBH₄,摇匀,于 60 ℃反应 30 min 后冷却至室温。

1.3.2 由 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体制备 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)

1.3.2.1 制备原理 制备原理如下:

(NO)-L](L= DTPA, EDTA)室温放置 1~6 h,测定标记率的变化,结合放射化学纯度,确定 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)的体外稳定性。

1.3.6 配合物的脂水分配系数 lg P 的测定 将等体积的磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH=7.4)和正辛醇充分振荡数分钟后静置过夜,使两相充分饱和。从标记完成的体系中取 0.1 mL 溶液(放化纯度大于 95%),加入上述充分饱和的 PBS 溶液 0.9 mL,以及上述正辛醇相 1.0 mL,使用漩涡振荡器充分振荡数分钟,静置分层。然后从正辛醇相和水相各取 0.1 mL,分别测其放射性计数。重复上述操作 3 次。脂水分配系数 $\lg P = \lg(\text{正辛醇相放射性计数} / \text{水相放射性计数})$,取平均值。

1.3.7 配合物电荷性质的测定 将 pH=7.4 的磷酸盐缓冲溶液作为溶液介质倒入水平式电泳仪的两个槽中,保持两边液面相平。以新华一号滤纸为支持介质,干点样法将待测标记液点于电泳条的中部,然后将其两端分别浸入两个液槽内,使其中部悬空且样品位于正中位置,盖好密封盖,调节 $U_s=150\text{ V}$, $I_s=18\text{ mA}$,分别于通电一定时间后将电泳条取出晾干,分段测定其上的放射性分布,进而判断配合物的电性。

2 结果和讨论

2.1 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L= DTPA, EDTA)配合物的标记率和放化纯度

采用 1.3.3 节所述纸层析法鉴定标记体系中各组分的 R_f 值,结果列于表 2。

表 2 薄层色谱中标记体系中各组分的 R_f 值
Table 2 R_f values of complexes involved in different TLC systems

标记体系(Systems)	R_f						
	A	B	C	D	E	F	G
乙腈/聚酰胺 (Acetonitrile/ polyamide strip)	0.0~0.1	0.3~0.5	0.0~0.1	-	-	-	-
生理盐水/聚酰胺 (Saline/ polyamide strip)	0.0~0.1	0.0~0.1	0.0~0.1	0.9~1.0	0.9~1.0	-	-
甲醇/新华一号滤纸 (Methanol/ filter paper strip)	0.0~0.1	-	-	0.5~0.7	0.5~0.7	0.9~1.0	0.9~1.0

注(Note): A, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$; B, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$; C, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$; D, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$; E, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EDTA}]$; F, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$; G, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$

HPLC 测定各配合物的放化纯结果及保留时间示于图 1。在此 HPLC 条件下, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 的保留时间为 4.1 min; $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 的保留时间为 15.0 min (88.90%) 和 15.9 min (10.97%) (组分不是单一的)。HPLC 与 TLC 测定结果一致。经计算, 各配合物的标记率和放射化学纯度均大于 90%。

2.2 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}$, EDTA , EHIDA) 制备方法的探讨

利用高效液相色谱(HPLC)进行放化纯度的

测定, 并与 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EHIDA}]^{[9]}$ 进行比较, 结果表明, 分别由 DTPA, EDTA 和 EHIDA 取代 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中的 3 个水分子生成的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EDTA}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EHIDA}]$ 放化产率都很高; 且为单峰, 说明由配体取代后的标记化合物结构单一。水相中利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ ($\text{L}=\text{DTPA}$, EDTA , EHIDA) 制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物, 保留时间发生了明显的变化, 仍为单峰。结果列于表 3。

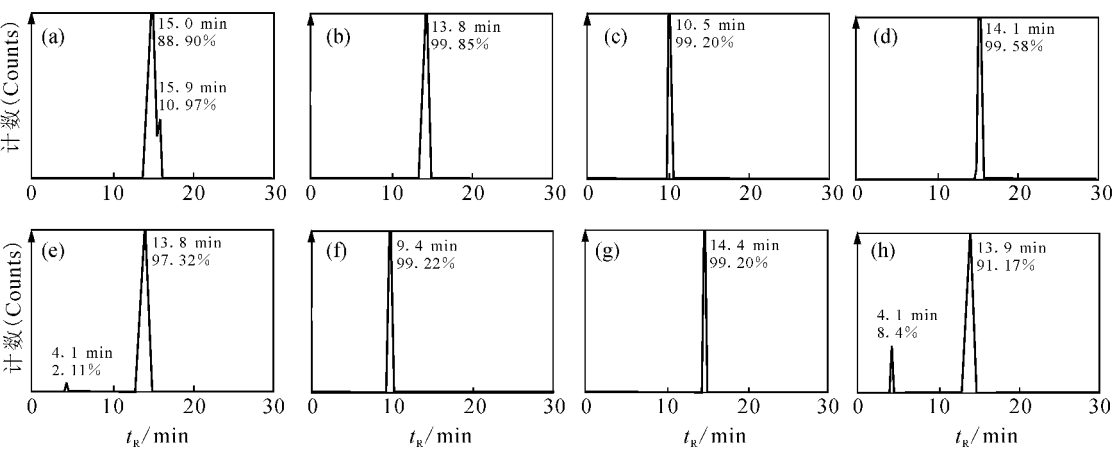


图 1 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]\text{-}$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]\text{-}$ 配合物的 HPLC 分析结果图

Fig. 1 HPLC results of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3]\text{-}$ and $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]\text{-}$ complexes

- (a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ ($t_R=15.0$ min, 88.90%; $t_R=15.9$ min, 10.97%);
(b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ ($t_R=13.8$ min, 99.85%);
(c)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$ ($t_R=10.5$ min, 99.20%);
(d)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ (由(c)制备(Derived from (c)), $t_R=14.1$ min, 99.58%);
(e)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ (由(b)制备(Derived from (b)), $t_R=13.8$ min, 97.32%);
(f)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EDTA}]$ ($t_R=9.4$ min, 99.22%);
(g)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$ (由(f)制备(Derived from (f)), $t_R=14.4$ min, 99.20%);
(h)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$ (由(b)制备(Derived from (b)), $t_R=13.9$ min, 91.17%)

文献[10]报道在同样梯度淋洗条件下,制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$ 的保留时间为11.3 min,其结果列于表 4。其中在有机相中制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 保留时间为14.3 min^[10],产率为50%~70%;在水相中制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$,保留时间为14.4 min^[8],但产率很低,峰型不好。对比二者,不同反应条件下 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 的HPLC保留时间基本一致,说明水相制备方法的可行性。

表 3 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 和在水相中
利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 前体制备的
 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 的 HPLC 保留时间
Table 3 HPLC retention time of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$
and $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
(from $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$) in aqueous media

L	t_{R}/min	
	$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$	$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
DTPA	10.5	14.1
EDTA	9.4	14.4
EHIDA	18.0	15.6

表 4 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$ 和
 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 的 HPLC 保留时间
Table 4 HPLC retention time of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$
and $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$

配合物 (Complexes)	t_{R}/min	
	文献值 (Reference values)	实验值 (Experimental values)
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$	11.3 ^[10]	10.5
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$	14.3(有机相, Organ) ^[10] 14.4(水相, Aqueous) ^[8]	14.1

本实验利用在水相中由 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 前体制备 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 的方法,制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 保留时间为14.1 min,与文献[8, 10]报道接近,且本方法制备的配合物产率在95%以上,说明该改进方法是成功的。本工作实验条件改进之处为:在水中,将 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ (L=DTPA, EDTA, EHIDA)分别与 NOBH_4 在60℃下反应生成NO取代的羰基钼配合物,反应时间仅为30 min;从图1中

(c)和(d), (f)和(g)对比可以明显看出产率接近100%。同时,由图1中的(d)和(g)可以看出,标记物为单峰,放化纯度较高。

本工作在本实验室已有的基础上进一步改进方法,直接利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体制备 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L=DTPA, EDTA)配合物,即先制出 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 核心,再进行配位。HPLC结果表明,中间体 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体放化纯度单一,保留时间为13.8 min;配体取代后,HPLC结果表明,直接利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物与利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 前体制备的配合物保留时间基本一致(表5),可认为是同种物质。且配合物的标记率均在90%以上,说明新方法直接利用 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体制备 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物正确可行。

2.3 pH 和反应温度对 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
(L=DTPA, EDTA)标记的影响

本工作研究了pH及反应温度对标记反应的影响。

2.3.1 pH 的影响 pH对标记结果的影响示于图2。由图2可知,当 $\text{pH} \leq 6$ 时,标记物的标记率大于90%;而在 $\text{pH} > 6$ 时,标记物的标记率显著下降。可见当溶液呈酸性的时候,可以保持较高的标记率;但中性和碱性条件下,不利于配合物的形成。由于在 H^+ 的存在下可以抑制 NO^+ 的水解,从而保持水中 NO^+ 的存在,因此实验结论和理论是一致的。

2.3.2 反应温度的影响 调节体系为酸性,分别在50, 60, 70, 80, 90℃下反应30 min,温度对标记结果的影响示于图3。由图3可见,反应体系温度在60~70℃时,标记率基本上在90%左右,故反应温度60~70℃为最佳标记条件。

2.4 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物的稳定性

$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L=DTPA, EDTA)在室温下的标记率变化示于图4。由图4可看出,室温放置6 h, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ (L=DTPA, EDTA)的标记率没有明显变化。由于TLC和HPLC结果一致,可证明 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物具有良好的体外稳定性。 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EHIDA}]$ 在室温下放置也有良好的稳定性^[9]。

表 5 2 种方法制备的 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ 配合物的 HPLC 保留时间

Table 5 HPLC retention time of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ complexes prepared from two different methods

配合物 (Complexes)	t_{R}/min	
	由 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 中间体制备	由 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3-\text{L}]$ 前体制备
	(From $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ intermediate)	(From $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3-\text{L}]$ precursor)
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{DTPA}]$	13.8	14.1
$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{EDTA}]$	13.9	14.4

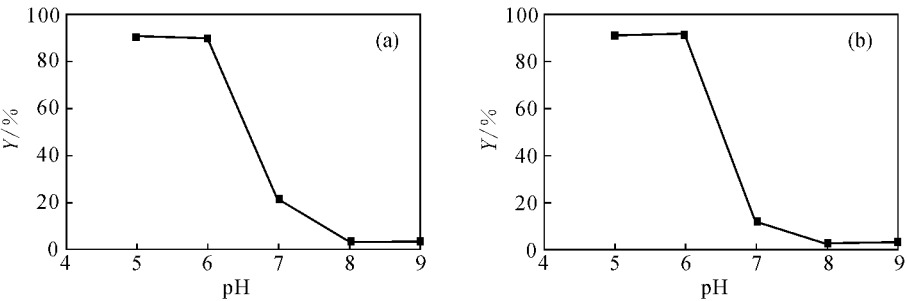


图 2 pH 对 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ 标记率的影响

Fig. 2 pH effect on the yield of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ complexes
(a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{DTPA}]$, (b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{EDTA}]$

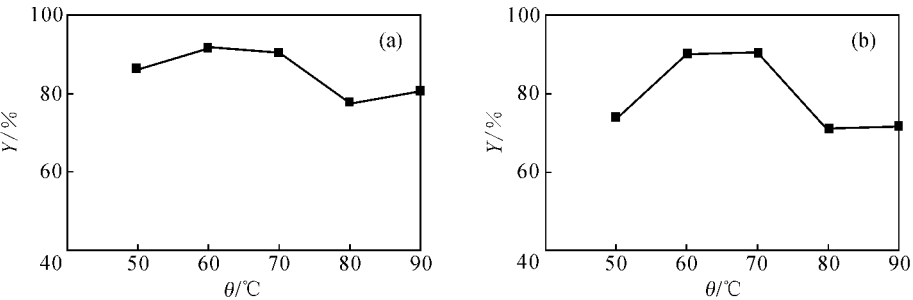


图 3 温度对 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ 标记率的影响

Fig. 3 Temperature effect on the yield of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ complexes
(a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{DTPA}]$, (b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{EDTA}]$

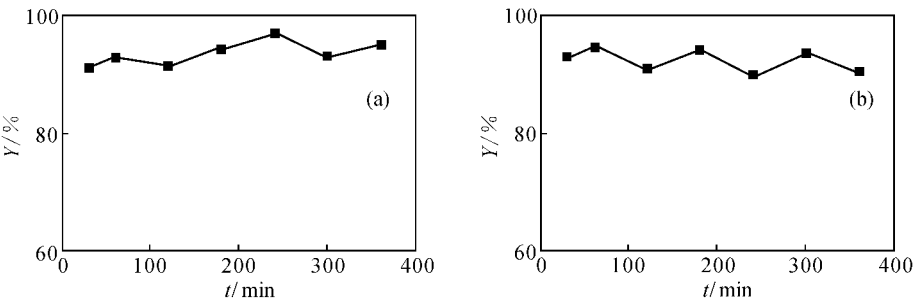


图 4 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ 的体外稳定曲线

Fig. 4 *In vitro* stability of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{L}]$ complexes
(a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{DTPA}]$, (b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})-\text{EDTA}]$

2.5 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 的脂水分配系数

pH=7.4 时,配合物的脂水分配系数(lg P)结果列于表 6。表 6 结果表明,取代后的配合物的脂水分配系数都会发生明显的变化,即 $[\text{NO}]^+$ 的引入可以改变配合物的脂溶性。

2.6 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物的电荷性质

配合物的电泳结果示于图 5, 6。由图 5 可见, $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EDTA}]$ 都带负电荷。而图 6 中 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物放射性计数的最大值仍然位于原点, 可见 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$ 均为零价。而 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EHIDA}]^{[9]}$ 也为零价。

由此,可以初步推断氨基酸类化合物在与羰基锝中间体进行配位时,参与配位的原子应为 2 个氧原子和 1 个氮原子,具体的配位形式还需要进一步研究。

表 6 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ 和
 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 的脂水分配系数 lg P
Table 6 lg P value of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ and
 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ complexes

L	lg P	
	$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$	$[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$
DTPA	$-1.430\ 2\pm0.009\ 8$	$-0.547\ 0\pm0.012\ 0$
EDTA	$-2.370\ 6\pm0.044\ 7$	$-0.694\ 9\pm0.028\ 6$
EHIDA ^[9]	$-0.105\ 0\pm0.004\ 7$	$-1.405\ 6\pm0.013\ 5$

注(Note): n=3

3 结 论

在水相中分别由 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]$ (L=DTPA, EDTA) 前体和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ 中间体, 成功制备了 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$ 和 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$ 配合物, 后者更适用于对热和对酸不稳定的配体的标记, 进一步开阔了新核的应用空间。

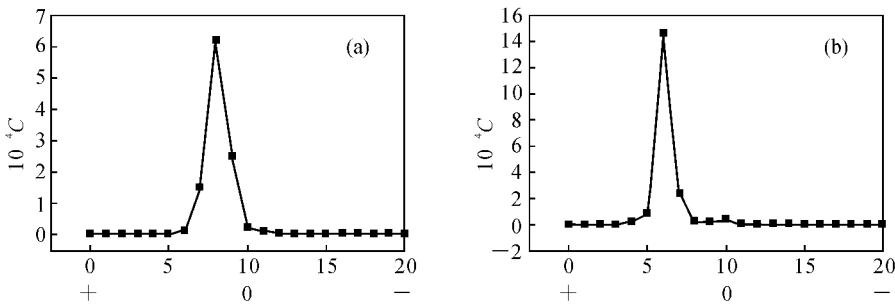


图 5 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]^-$ 配合物的电泳结果
Fig. 5 Electrophoresis pattern of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-L}]^-$ complexes
(a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-DTPA}]^-$, (b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3\text{-EDTA}]^-$
通电 4 h(Electrolyzed 4 h)

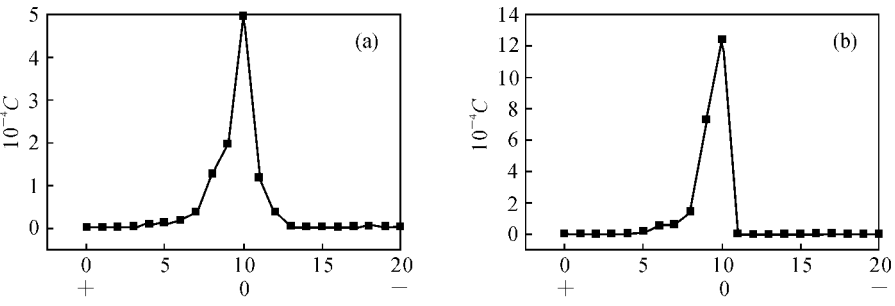


图 6 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ 配合物的电泳结果
Fig. 6 Electrophoresis pattern of $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-L}]$ complexes
(a)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-DTPA}]$, (b)—— $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})\text{-EDTA}]$
通电 2 h(Electrolyzed 2 h)

初步建立了在水相中用 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 新核心标记氨基酸类配合物的方法。与文献[7-8]报道的方法相比,反应时间大大缩短(由4 h减至0.5 h),产率和放射化学纯度均很高(大于90%),为一种简单、高效的制备新 $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 类配合物的方法。

$[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ 核心的引入,无疑将会拓宽 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 放射性药物化学研究的范围,而水溶液中新的核心及其配合物制备方法的建立将有助于这类配合物的放射性新药研究。

参考文献:

- [1] Roger A, Roger S, Andre E, et al. A Novel Organometallic Aqua Complex of Technetium for the Labeling of Biomolecules: Synthesis of $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ From $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4]^-$ in Aqueous Solution and Its Reaction With a Bifunctional Ligand[J]. J Am Chem Soc, 1998, 120: 7 987-7 988.
- [2] Alberto R, Schibli R, Waibel R, et al. Basic Aqueous Chemistry of $[\text{M}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ (M = Re, Tc) Directed Towards Radiopharmaceutical Application [J]. Coord Chem Rev, 1999, 190-192: 901-919.
- [3] 张小波,朱霖,赵学颖,等. $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 标记的新双功能连接剂的研究[J].核化学与放射化学,2004, 26(1): 11-17.
- [4] Chu T W, Zhang Y, Liu X Q, et al. Synthesis and Biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Carbonyltechnetium-Labeled Fatty Acids[J]. Appl Radia Isot, 2004, 60 (6): 845-850.
- [5] Alves S, Paulo A, Correia J D G, et al. Pyrazolyl Derivatives as Bifunctional Chelators for Labeling Tumor-Seeking Peptides With the *fac*- $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$ Moiety (M= $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$, Re): Synthesis, Characterization, and Biological Behavior [J]. Bioconjugate Chem, 2005, 16: 438-449.
- [6] Lazarova N, Babich J, Valliant J, et al. Thiol- and Thioether-Based Bifunctional Chelates for the $\{\text{M}(\text{CO})_3\}^+$ Core (M = Tc, Re)[J]. Inorg Chem, 2005, 44: 6 763-6 770.
- [7] Rattat D, Verbruggen A, Schmalle H, et al. $[\text{M}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$, a New Core in Bioorganometallic Chemistry: Model Complexes of $[\text{Re}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ and $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ [J]. Tetrahedron Lett, 2004, 45: 4 089-4 092.
- [8] Rattat D, Terwinghe C, Verbruggen A. Comparison of "Classic" $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ - DTPA, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_3$ - DTPA and $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})$ - DTPA[J]. Tetrahedron, 2005, 61: 9 563-9 568.
- [9] Yang Y, Zhang J X, Wang J J, et al. Two Novel Procedures of Preparation for $[\text{}^{99}\text{Tc}^{\text{m}}(\text{CO})_2(\text{NO})]^{2+}$ Labeled by EHIDA and Its Biodistribution [J]. J Radioanal Nucl Chem, 2007, 273: 31-36.
- [10] Rattat D, Verbruggen A, Berke H, et al. Exploring the Nitrosyl-Approach: " $\text{Re}(\text{CO})_2(\text{NO})$ "- and " $\text{Tc}(\text{CO})_2(\text{NO})$ "-Complexes Provide New Pathways for Bioorganometallic Chemistry[J]. J Organomet Chem, 2004, 689: 4 833-4 836.