

文章编号: 0253-9950(2004)03-0179-05

^{153}Sm , $^{113,117}\text{Sn}^m$ 烷基膦酸配合物的 表观脂水分配系数及与 BSA 的结合率

杨玉青, 罗顺忠, 王关全, 何佳恒, 邴文增, 蒲满飞, 魏洪源, 王文进

中国工程物理研究院 核物理与化学研究所, 四川 绵阳 621900

摘要:测定了 NTMP(次氮三亚甲基膦酸), HEDTMP(N-(羟乙基)乙二胺基三亚甲基膦酸), DCTMP(1,2-环己二胺四亚甲基膦酸), EDTMP(乙基二胺基四亚甲基膦酸), DTPMP(二乙基三胺基五亚甲基膦酸)的 ^{153}Sm 配合物以及 HEDTMP, EDTMP, DTPMP 的 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物在正辛醇-水中的表观脂水分配系数和在 0.5% 牛血清白蛋白(BSA)水溶液中与 BSA 的结合率。结果表明,这些配合物在正辛醇-水中的相对表观脂水分配系数和在 BSA 水溶液中与 BSA 的相对结合率呈线性正相关。两者之间的线性关系为这类配合物脂水分配系数的预测提供了一种新方法,同时也表明,在金属配合物与 BSA 的结合过程中,疏水作用力起着重要作用。

关键词: ^{153}Sm 配合物; $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物; 表观脂水分配系数; 牛血清白蛋白

中图分类号: O615.3 **文献标识码:** A

药物的脂水分配系数以及与血浆蛋白的结合率是药物转运代谢研究中的重要组成部分^[1]。脂水分配系数一方面反映了分子的亲脂性,同时也反映了药物分子与靶分子之间疏水作用力的大小。药物与血液中血浆蛋白的结合性能可反映血中药物浓度,当药物与血浆蛋白结合后,分子增大,不能通过生物膜(包括主要的代谢器官肾小球膜)转运到其它部位而保留在血液中,可减缓药物的代谢和排泄。

早在 20 世纪 60 年代,文献[2]在对大量数据的分析总结中发现,药物的脂水分配系数与白蛋白结合常数呈正相关。但某一化合物在复杂体系条件下的表观脂水分配系数、血清蛋白结合性质与该化合物在单一体系条件下的不同^[3~5],人们更关心的是特定体系条件下药物的脂水分配系数和血清蛋白结合性质。余建鑫^[6]等在血淋甲醚与血浆蛋白的结合研究中报道,随着药物浓度的增大,血浆蛋白结合率下降。但陈琼^[7]等在抗生素 89-07 与人血浆蛋白的结合研究中报道,不同药物浓度下的血浆蛋白结合率无显著差异。陆洁等^[8]在报道吐温 80 对 $^{99}\text{Tc}^m$ -替曲膦脂溶性、血浆蛋白结合性能的影响时指出,随着吐温 80 的加入,体系的脂水分配系数稍有下降,而相同条件下

与 BSA 的结合率和与小鼠血清蛋白的结合率均稍有上升。由于放射性金属标记药物是一复杂的多组份体系,由计算方法得到脂水分配系数和与牛血清白蛋白的结合常数很困难,至今也没有这方面的尝试。随着一系列放射性药物的研制、开发与应用及各项参数的测定,探讨和总结 ^{153}Sm , $^{113,117}\text{Sn}^m$ 标记的烷基膦酸配合物在正辛醇-水中的表观分配系数和与 BSA 的结合率之间的关系是非常必要的。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

$^{153}\text{SmCl}_3$, $^{113,117}\text{Sn}^m\text{Cl}_2$, 中国原子能科学研究院提供; ^{153}Smr -NTMP, ^{153}Smr -HEDTMP, ^{153}Smr -DCTMP, ^{153}Smr -EDTMP, ^{153}Smr -DTPMP, 本实验室制备, 放化纯均大于 95%; $^{113,117}\text{Sn}^m$ -EDTMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -HEDTMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -DTPMP, 本实验室制备, 放化纯均大于 90%; 牛血清白蛋白(BSA), 上海伯奥科技有限公司提供; 二次去离子水, 本实验室制备; 其它试剂为分析纯。

FJ-2012 型 放射免疫计数器, 西安核仪器厂产品; SHA-C 水浴恒温振荡器, 江苏金坛金城国胜实验仪器厂产品; LD4-2 型低速离心机, 北京

收稿日期: 2003-04-02; 修订日期: 2004-02-29

作者简介: 杨玉青(1975—), 女, 甘肃金昌人, 硕士, 材料学专业。

医用离心机厂产品。

1.2 实验方法

1.2.1 配合物表观脂水分配系数的测定 取大量水与正辛醇混合,使两相互饱和后分离贮存备用。往一定量的正辛醇饱和后的水相中加入 ^{153}Sm , $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物水溶液,使配合物混合均匀。然后再加入一定量水饱和后的正辛醇,于 (37 ± 0.5) 的恒温水浴摇床上轻微振荡,放置分层后充分离心,分别测定两相中的放射性计数率,按式(1)计算表观分配系数 k :

$$k = \frac{N_1}{N_2} \quad (1)$$

式中, N_1 为正辛醇相放射性计数率, s^{-1} ; N_2 为水相的放射性计数率, s^{-1} 。

1.2.2 配合物与 BSA 结合率的测定 往 0.5% 的 BSA 水溶液中加入 ^{153}Sm , $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物水溶液,将该体系置于 (37 ± 0.5) 的恒温水浴摇床上振荡 30 min 后,加入 10% 的三氯醋酸,使 BSA 沉淀,高速离心 5 min,取上清液测其放射性计数率,与空白样的放射性总计数率比较,按式(2)计算配合物与 BSA 的结合率:

$$r_{\text{bind}} = \frac{N_T - N}{N_T} \times 100\% \quad (2)$$

式中, r_{bind} 为 BSA 结合率,%; N_T 为空白样的放射性总计数率, s^{-1} ; N 为上清液的放射性计数率, s^{-1} 。

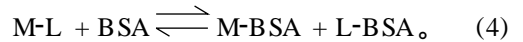
2 结果和讨论

2.1 ^{153}Sm -HEDTMP 在不同配体量条件下的 BSA 结合率及表观脂水分配系数

吴春英等^[9]在关于 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记 CACPPA 的研究中认为,pH 值对脂水分配系数有显著影响。本实验中,将 ^{153}Sm 配合物和 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物的水溶液都调节至 pH = 7 ~ 8。用二次去离子水稀释 ^{153}Sm , $^{113,117}\text{Sn}^m$ 溶液,稀释后的 ^{153}Sm 在水溶液中主要为 $^{153}\text{Sm}^{3+}$, $^{113,117}\text{Sn}^m$ 完全水解为 $\text{Sn}^{4+} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 。

文献[10]给出了 ^{153}Sm -HEDTMP 在不同配体量条件下的 BSA 结合率及表观脂水分配系数。结果表明,随着配体量的增大, ^{153}Sm -HEDTMP 在正辛醇-水中的表观分配系数减小,与牛血清白蛋白的结合率下降。HEDTMP 用量影响 ^{153}Sm -HEDTMP 表观脂水分配系数的原因可能是因为两者相竞争进入正辛醇相,也可能是因为 HEDTMP 的存在影响了水相性质,进而影响脂水

两相分配性能。HEDTMP 用量影响 ^{153}Sm -HEDTMP 与 BSA 结合率的原因可能为:在配体过量的情况下,配合物与血浆蛋白的结合有两个过程:



式中,M 代表金属离子,L 代表配体,M-L 代表金属配合物,L-M-BSA,M-BSA 代表金属配合物与 BSA 结合的两种形式。由式(3),(4)可知,配体量增大不仅使配体竞争 BSA 的位点增加,而且使金属配合物结构更稳定,从而导致金属配合物与 BSA 的结合率下降。

本文根据文献[10]中 ^{153}Sm -HEDTMP 在不同配体量条件下的 BSA 结合率及表观脂水分配系数计算得到了它们的相对值:当 HEDTMP 的相对用量分别为 0.25,1.0,4.0,10 时, ^{153}Sm -HEDTMP 的相对表观脂水分配系数分别为 5.4,3.1,1.8,1.0, ^{153}Sm -HEDTMP 与 BSA 的相对结合率分别为 4.4,3.7,1.6,1.0。这表明,不同条件下, ^{153}Sm -HEDTMP 体系的相对表观脂水分配系数和与 BSA 的相对结合率均基本一致。

2.2 ^{153}Sm 配合物的 BSA 结合率及表观脂水分配系数

不同 ^{153}Sm 配合物的 BSA 结合率和在正辛醇-水中的表观脂水分配系数列入表 1。由于 pH 值和配体量会影响标记配合物的表观脂水分配系数和与 BSA 的结合率,实验保持 ^{153}Sm -NTMP, ^{153}Sm -HEDTMP, ^{153}Sm -DCTMP, ^{153}Sm -EDTMP, ^{153}Sm -DTPMP 5 个 ^{153}Sm 配合物体系的体积、配体量、放射性活度、pH 值相同。从表 1 看出,与 $^{153}\text{Sm}^{3+}$ 比较,5 个 ^{153}Sm 配合物的相对表观脂水分配系数和 BSA 相对结合率在数值上基本一致,且 ^{153}Sm 配合物体系的脂溶性和血清蛋白结合率比 $^{153}\text{Sm}^{3+}$ 的大。

2.3 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物的 BSA 结合率及表观脂水分配系数

不同 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物的 BSA 结合率和在正辛醇-水中的表观脂水分配系数列入表 2。同样使 $^{113,117}\text{Sn}^m$ -EDTMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -DTPMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -HEDTMP 配合物体系的体积、配体量、放射性活度、pH 值保持一致。从表 2 可以看出,这 3 个 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物体系的相对表观脂水分配系数和 BSA 相对结合率基本一致,且 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物体系的表观脂水分配系数和血清蛋白结合率比 $\text{Sn}^{4+} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 的小。

表 1 ¹⁵³Sm 配合物的 BSA 结合率和在正辛醇-水中的表观分配系数

Table 1 Apparent partition coefficient in octanol-water and binding percentage to BSA of several ¹⁵³Sm complexes

配合物 (Complexes)	$r_{\text{bind}}/\%$	r_{bind}	k	k
¹⁵³ Smr HEDTMP	52	13	3.4×10^{-3}	16.1
¹⁵³ Smr EDTMP	47	11.8	2.6×10^{-3}	12.4
¹⁵³ Smr-DTPMP	27	6.8	1.7×10^{-3}	8.1
¹⁵³ Smr-NTMP	25	6.2	1.6×10^{-3}	7.6
¹⁵³ Smr-DCTMP	12	3.0	6.3×10^{-4}	3.0
¹⁵³ Sm ³⁺	4	1.0	2.1×10^{-4}	1.0

注(Notes)： r_{bind} 为 BSA 结合率(r_{bind} is binding ratio to BSA)， r_{bind} 为相对 BSA 结合率(r_{bind} is relative binding ratio to BSA)， k 为表观脂水分配系数(k is the apparent partition coefficient in octanol-water)， k 为相对表观脂水分配系数(k is the relative apparent partition coefficient in octanol-water)

表 2 ^{113,117}Sn^m 配合物的 BSA 结合率和在正辛醇-水中的表观分配系数

Table 2 Apparent partition coefficient in octanol-water and binding percentage to BSA of several ^{113,117}Sn^m complexes

配合物 (Complexes)	$r_{\text{bind}}/\%$	r_{bind}	k	k
^{113,117} Sn ^m O ₂ · x H ₂ O	88	7.3	3.7×10^{-3}	4.6
^{113,117} Sn ^m -EDTMP	24.8	2.1	1.3×10^{-3}	1.6
^{113,117} Sn ^m -DTPMP	21.8	1.8	9.8×10^{-4}	1.2
^{113,117} Sn ^m -HEDTMP	12	1.0	8.1×10^{-4}	1.0

2.4 ¹⁵³Sm, ^{113,117}Sn^m 配合物的相对 BSA 结合率及在正辛醇-水中的相对表观分配系数之间的关系及其意义

¹⁵³Sm、^{113,117}Sn^m 配合物的相对 BSA 结合率与在正辛醇-水中的相对表观分配系数之间的拟合关系示于图 1。从图 1 可以看出,相同条件下,不同¹⁵³Sm、^{113,117}Sn^m 配合物体系的相对 BSA 结合率与在正辛醇-水中的相对表观分配系数之间存在一个斜率大于零的线性关系($R^2 = 0.972$, $n = 12$):

$$y = -0.7185 + 1.1726x \quad (5)$$

式中, y 为在正辛醇-水中的相对表观分配系数, x 为相对 BSA 结合率。

朱秀华^[11]研究了一些氯代苯、醇、酯的气相色谱保留指数与其在正辛醇-水中分配系数的相关性,用一个简单易测的气相色谱保留指数来预测脂水分配系数。在本研究中,BSA 结合率的测定方法简单、数值较大且重复性好,因此根据本文总结的线性关系,可以用放射性金属标记烷基膦

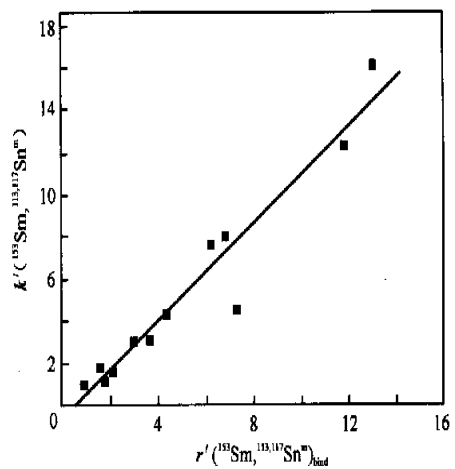


图 1 Sm 和 Sn 配合物的相对 BSA 结合率与在正辛醇-水中的相对表观分配系数的关系

Fig. 1 Relationship between relative magnitude of apparent partition coefficient in octanol-water and relative magnitude of binding percentage of ¹⁵³Sm complexes and ^{113,117}Sn^m complexes

酸类配合物与 BSA 结合率的相对大小代替脂水分分配系数的相对大小,为这类放射性金属标记配合物的脂水分分配系数的预测提供一种新方法。

同时,根据脂水分分配系数与 BSA 结合率的关系,在已报道 BSA 结合率对 ^{153}Sm 配合物骨摄取的影响中^[12],若一并考虑脂水分分配系数的影响,将进一步支持已得结论。对骨亲和力较大的 ^{153}Sm 配合物,若其与 BSA 的结合率越高,相同条件下在血液中游离的 ^{153}Sm 配合物越少,能自由到达骨的 ^{153}Sm 配合物越少,因而在骨上摄取量越少^[12]。同时根据本文总结的线性关系,与 BSA 的结合率越高的配合物其表观脂水分分配系数越大,则脂溶性的增加使配合物被神经、脂肪和肝摄取的倾向增大,进一步减小在骨上的摄取。对骨亲和力较小的 ^{153}Sm 配合物,若其与 BSA 的结合率越高,相同条件下从血液中清除的速度越慢,为长时间的骨吸附提供了条件,因而可获得较高的骨摄取量^[12]。同时根据本文总结的线性关系,与 BSA 的结合率越高的配合物其表观脂水分分配系数越大,则脂溶性的增加使未被代谢的配合物经肾小管膜再吸收入血的倾向增大,进一步保持了配合物在血液中的浓度,有利于提高骨摄取率。

水-正辛醇体系在混合后迅速分层,两相界面清晰。BSA 水溶液-正辛醇体系混合后有较稳定的水包油型和油包水型乳液存在,静置后水包油型乳液消失,而油包水型乳液仍部分存在,长时间放置后,在 BSA 水溶液-正辛醇之间出现了第三层,并在数天内稳定存在。该现象与 BSA 有关,虽然 BSA 为亲水性蛋白质,但它也具有一定的疏水性。因为蛋白质由亲水性氨基酸和疏水性氨基酸组成,在水溶液中蛋白分子的肽链扭曲成一定的空间构像,形成疏水区域和亲水区域,在结构和性能上与离子型高分子表面活性剂类似。中性分子通过范德华力、疏水相互作用和氢键等与 BSA 的非极性基团结合。离子型分子与 BSA 的结合以静电结合为主,但其疏水性结构部分仍起重要作用。 ^{153}Sm 、 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 烷基膦酸配合物与 BSA 的结合率与其在正辛醇-水中的表观分配系数存在正相关性,表明在金属配合物与 BSA 的结合过程中,疏水作用力起着重要的作用。这两个参数之间存在联系的机理值得进一步的研究。

3 结 论

^{153}Sm 、 $^{113,117}\text{Sn}^m$ 配合物的相对 BSA 结合率与

其在正辛醇-水中的相对表观分配系数之间存在线性正相关,为这类配合物脂水分分配系数的预测提供了一种新方法。同时,这个线性关系表明金属配合物与 BSA 的结合过程中,疏水作用力起着重要作用。

参考文献:

- [1] 李正化. 药物化学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993. 6~64.
- [2] Harsh Corwin, Leo Albert. Exploring QSAR, Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology [M]. [s.l]: American Chemical Society, 1995. 223.
- [3] Al-Janabi I I, Anber S A, Fikrat H T, et al. *In vitro* Detection of Possible *in vivo* Drug Interactions. Part 2: A Study of the Effect of Hydrochlorothiazide and Frusemide on the Partition Coefficient and Solubility Characteristics of Propranolol Hydrochloride[J]. *Pharmazie*, 1981, 36(7): 485~488.
- [4] 李峰, 慕慧, 张立伟. 聚二甲基二烯丙基氯化铵合成及与牛血清蛋白络合表征研究[J]. *高分子材料科学与工程*, 2002, 18(1): 55~58.
- [5] 王映芬, 林桂椿, 李正香, 等. 2,4-二氨基-5-甲基-6-(取代苯氨基)甲基-吡啶[2,3-*d*]并嘧啶脂水系数的测定[J]. *中国药物化学杂志*, 1997, 7(2): 149~151.
- [6] 余建鑫, 陈文晖, 许德余. 血淋甲醚与血浆蛋白的结合[J]. *中国激光医学杂志*, 1998, 7(3): 152~155.
- [7] 陈琼, 郭东文, 孙曼琴, 等. 抗生素 89-07 在大鼠体内组织分布与正常人血浆蛋白率的研究[J]. *中国抗生素杂志*, 1995, 20(6): 439~443.
- [8] 陆洁, 王学斌. 吐温 80 对 $^{99}\text{Tc}^m$ -替曲膦脂溶性、血浆蛋白结合及生物分布的影响[J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2002, 38(3): 386~389.
- [9] 吴春英, 纪书仁, 方平, 等. CACPPA 的 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记及其动物实验研究[J]. *同位素*, 1999, 12(2): 100~104.
- [10] 杨玉青, 罗顺忠, 王关全, 等. 配体量对 ^{153}Sm -HEDTMP 生化性能的影响[J]. *核化学与放射化学*, 2002, 24(4): 246~248.
- [11] 朱秀华, 王炜. 氟代苯-醇-酯气相色谱保留指数与其正辛醇-水分分配系数的相关性[J]. *分析测试学报*, 2002, 21(4): 65~67.
- [12] 杨玉青, 罗顺忠, 王关全, 等. ^{153}Sm 配合物与牛血清白蛋白的结合性对其骨摄取的影响[J]. *核化学与放射化学*, 2003, 25(1): 45~48.

Apparent Partition Coefficient in Octanol-Water and Binding Percentage to BSA of ^{153}Sm ($^{113,117}\text{Sn}^m$) Complexes

YANG Yu-qing, LUO Shun-zhong, WANG Guan-quan, HE Jia-heng,
BING Wen-zeng, PU Man-fei, WEI Hong-yuan, WANG Wen-jin

Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Mianyang 621900, China

Abstract: Apparent partition coefficient in octanol-water and binding percentage to BSA of ^{153}Sm -N-TMP, ^{153}Sm -HEDTMP, ^{153}Sm -DCTMP, ^{153}Sm -EDTMP, ^{153}Sm -DTPMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -EDTMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -HEDTMP, $^{113,117}\text{Sn}^m$ -DTPMP are measured. The results show that there is a linear relationship between the relative magnitude of the apparent partition coefficient in octanol-water and the relative magnitude of the binding percentage to BSA of these ^{153}Sm ($^{113,117}\text{Sn}^m$) complexes. This linear relationship provides a new method for determination of the apparent partition coefficient in octanol-water of ^{153}Sm ($^{113,117}\text{Sn}^m$) complexes of this kind. This linear relationship also implicates that hydrophobic force plays an important role in the binding of ^{153}Sm ($^{113,117}\text{Sn}^m$) complexes to BSA.

Key words: ^{153}Sm complexes; $^{113,117}\text{Sn}^m$ complexes; apparent partition coefficient in octanol-water; BSA

(上接第 174 页, Continued from page 174)

Abstract: A novel chelating extractant, 1-(2-pyridyl)-1-pyrrolidyl-1-methanone, is synthesized from picolinic acid and pyrrolidine and identified by IR, ^1H MNR and GC-MS. The influence of various factors on the extraction of U() from aqueous nitric acid solutions with this picolinamide (L) is studied, including diluent, extractant concentration, acidity of aqueous phase, ionic strength of salting-out agent and temperature. The extracted species is deduced to be $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{L}$ from the experimental results. No emulsification or third-phase formation is observed.

Key words: picolinamide; solvent extraction; U()