

行政院原子能委員會

委託研究計畫研究報告

Gd-DTPA-BMEA 之毒性及臨床前藥動學試驗

計劃編號：94 2001 INER 013
受委託機關（構）：高雄醫學大學
計劃主持人：劉金昌
所內共同主持人：黃世琮
報告日期：94 年 11 月 30 日

Toxicity and Pre-clinical Pharmacokinetics of Gd-DTPA-BMEA

Yun-Ming Wang, Kuei-Tang Lin, Reu-Sheng Sheu, Twei-Shiun Jaw,
Gin-Chung Liu, and Shih-Tsorng Huang

Abstract

In this study, a DTPA derivative, DTPA-BMEA, was used as a ligand, and chelated to Gd^{3+} as a MR contrast agent. The number of inner-sphere water value of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was of 1.04, and the ^{17}O -NMR study of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was also investigated. The LD_{50} of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ showed low toxicity ($LD_{50} > 24$ mmol/kg). In biodistribution study, $[^{153}Gd(DTPA-BMEA)]$ can rapidly be excreted from kidney, and the animal metabolinum studies are also shown the similar results. In MR imaging, the images showed significantly contrast between normal tissue and tumor after the injection of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ and the result of signal intensity study is similar to those of biodistribution results.

KEYWORDS: Toxicity, Pharmacokinetics, MR contrast agent,
Gd-DTPA-BMEA.

Gd-DTPA-BMEA 之毒性及臨床前藥動學試驗

王雲銘、林貴堂、許瑞昇、趙垂勳、劉金昌、黃世琮

摘 要

本研究為以 DTPA-BMEA 當作配位子，螯合釷離子作為一個磁共振造影對比劑。[Gd(DTPA-BMEA)]的內層水分子數值 1.04，且其¹⁷O-NMR 所得結果與參考文獻相似，[Gd(DTPA-BMEA)]的半致死劑量實驗表現出低毒性，且實驗後動物的外觀及活動力均不受影響。在生物體分佈實驗中，[¹⁵³Gd(DTPA-BMEA)]快速地從腎臟排出，且代謝實驗也得到類似的結果。在磁共振影像方面，注射[Gd(DTPA-BMEA)]使得影像中，正常組織與腫瘤之間的對比增強，而訊號強度衰減的結果與生物體分佈實驗相符合。

關鍵詞：毒性、藥動學、磁共振造影對比劑、Gd-DTPA-BMEA

目錄

一、	中文摘要	2
二、	英文摘要	3
三、	計劃目的	4
四、	計畫緣起	5
五、	執行方法與進度說明	6
六、	結論與建議	22
七、	參考文獻	23

一、中文摘要：

本研究為以 DTPA-BMEA 當作配位子，螯合釷離子作為一個磁共振造影對比劑。 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 的內層水分子數值 1.04，且其 ^{17}O -NMR 所得結果與參考文獻相似， $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 的半致死劑量實驗表現出低毒性，且實驗後動物的外觀及活動力均不受影響。在生物體分佈實驗中， $[\text{}^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 快速地從腎臟排出，且代謝實驗也得到類似的結果。在磁共振影像方面，注射 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 使得影像中，正常組織與腫瘤之間的對比增強，而訊號強度衰減的結果與生物體分佈實驗相符合。

二、英文摘要：

In this study, a DTPA derivative, DTPA-BMEA, was used as a ligand, and chelated to Gd^{3+} as a MR contrast agent. The number of inner-sphere water value of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was of 1.04, and the ^{17}O -NMR study of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was also investigated. The LD_{50} of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ showed low toxicity ($LD_{50} > 24$ mmol/kg). In biodistribution study, $[^{153}Gd(DTPA-BMEA)]$ can rapidly be excreted from kidney, and the animal metabolinum studies are also shown the similar results. In MR imaging, the images showed significantly contrast between normal tissue and tumor after the injection of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ and the result of signal intensity study is similar to those of biodistribution results.

三、計劃目的：

近年來由於磁共振造影術軟硬體的發展使得影像學的診斷向前邁進了一大步。為了更進一步提高磁共振造影術診斷的敏感性及準確性，發展安全、穩定具有目標化的磁共振造影對比劑即成為目前磁共振造影術研究的重要方向之一。磁共振造影對比劑最大的目的係藉由特殊組織訊號強度的改變，得到較佳的訊號-雜訊比(signal to noise ratio, SNR)與組織對比(tissue contrast)，進而提高對疾病診斷的靈敏度。

磁共振造影對比劑依其物理特性可分為順磁性對比劑(paramagnetic contrast agents)與超順磁性對比劑(superparamagnetic contrast agents)，其中順磁性對比劑是利用未成對電子在 r_1 弛緩率(relaxivity, r_1)的卓越效果，使得標的物的訊號增強。此類磁共振造影對比劑使用之金屬離子有錳(Mn^{2+})、鐵(Fe^{3+})及釷(Gd^{3+})。錳與鐵於 3d 軌域有 5 個未成對電子，而釷於 4f 軌域有 7 個未成對電子。其中以釷使用最多，因為釷之磁矩最大。但此金屬離子若滯留體內其毒性亦最強，故必須利用有機配位子使其形成穩定之螯合物以抑制其毒性。而超順磁性對比劑則是藉由對比劑產生不均勻的磁場來增強 r_2 弛緩率(relaxivity, r_2) 使標的物內的訊號下降，此類磁共振造影對比劑以氧化鐵(iron-oxide particles)為主^[1]。

[Gd(DTPA-BMEA)]是一以釷為主體的對比劑，本研究是在臨床

研究前的動物實驗，主要探討[Gd(DTPA-BMEA)]在生物體內的毒性、生物分佈以及在磁振影像上的特性，與國外現有的資料相比對，以了解[Gd(DTPA-BMEA)]在生物體內的特性。

目錄

八、	中文摘要	2
九、	英文摘要	3
十、	計劃目的	4
十一、	計畫緣起	5
十二、	執行方法與進度說明	6
十三、	結 論 與 建 議	22
十四、	參 考 文 獻	23

一、中文摘要：

本研究為以 DTPA-BMEA 當作配位子，螯合釷離子作為一個磁共振造影對比劑。[Gd(DTPA-BMEA)]的內層水分子數值 1.04，且其¹⁷O-NMR 所得結果與參考文獻相似，[Gd(DTPA-BMEA)]的半致死劑量實驗表現出低毒性，且實驗後動物的外觀及活動力均不受影響。在生物體分佈實驗中，[¹⁵³Gd(DTPA-BMEA)]快速地從腎臟排出，且代謝實驗也得到類似的結果。在磁共振影像方面，注射[Gd(DTPA-BMEA)]使得影像中，正常組織與腫瘤之間的對比增強，而訊號強度衰減的結果與生物體分佈實驗相符合。

二、英文摘要：

In this study, a DTPA derivative, DTPA-BMEA, was used as a ligand, and chelated to Gd^{3+} as a MR contrast agent. The number of inner-sphere water value of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was of 1.04, and the ^{17}O -NMR study of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ was also investigated. The LD_{50} of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ showed low toxicity ($LD_{50} > 24$ mmol/kg). In biodistribution study, $[^{153}Gd(DTPA-BMEA)]$ can rapidly be excreted from kidney, and the animal metabolinum studies are also shown the similar results. In MR imaging, the images showed significantly contrast between normal tissue and tumor after the injection of $[Gd(DTPA-BMEA)]$ and the result of signal intensity study is similar to those of biodistribution results.

三、計劃目的：

近年來由於磁共振造影術軟硬體的發展使得影像學的診斷向前邁進了一大步。為了更進一步提高磁共振造影術診斷的敏感性及準確性，發展安全、穩定具有目標化的磁共振造影對比劑即成為目前磁共振造影術研究的重要方向之一。磁共振造影對比劑最大的目的係藉由特殊組織訊號強度的改變，得到較佳的訊號-雜訊比(signal to noise ratio, SNR)與組織對比(tissue contrast)，進而提高對疾病診斷的靈敏度。

磁共振造影對比劑依其物理特性可分為順磁性對比劑(paramagnetic contrast agents)與超順磁性對比劑(superparamagnetic contrast agents)，其中順磁性對比劑是利用未成對電子在 r_1 弛緩率(relaxivity, r_1)的卓越效果，使得標的物的訊號增強。此類磁共振造影對比劑使用之金屬離子有錳(Mn^{2+})、鐵(Fe^{3+})及釷(Gd^{3+})。錳與鐵於 3d 軌域有 5 個未成對電子，而釷於 4f 軌域有 7 個未成對電子。其中以釷使用最多，因為釷之磁矩最大。但此金屬離子若滯留體內其毒性亦最強，故必須利用有機配位子使其形成穩定之螯合物以抑制其毒性。而超順磁性對比劑則是藉由對比劑產生不均勻的磁場來增強 r_2 弛緩率(relaxivity, r_2) 使標的物內的訊號下降，此類磁共振造影對比劑以氧化鐵(iron-oxide particles)為主^[1]。

[Gd(DTPA-BMEA)]是一以釷為主體的對比劑，本研究是在臨床研究前的動物實驗，主要探討[Gd(DTPA-BMEA)]在生物體內的毒性、生物分佈以及在磁共振影像上的特性，與國外現有的資料相比對，以了解[Gd(DTPA-BMEA)]在生物體內的特性。

四、計畫緣起：

目前磁振造影最常使用的商業用藥為 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ ，其為一離子性磁振造影對比劑，在使用上因其離子性，故會產生滲透壓不平衡，其商業用藥上加入 N-methyl glutamine 加以中和。 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 目前已廣泛用於肝膽造影。 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 在國外是一已經過動物及臨床實驗的磁振造影對比劑。此藥物為電中性，不會引起滲透壓不平衡，相較 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 應具有更高的安全性，更適合做為磁振造影對比劑。本研究針對 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 的特性、生物體內的毒性、生物分佈以及在磁振影像上的特性加以探討，以做為未來臨床實驗的依據。

五、執行方法與進度說明：

5.1 實驗方法：

5.1.1 內層水分子數探討

利用 ^{17}O -NMR 測定 Dy(III)金屬離子誘導水 ^{17}O 核種之化學位移變化 (d.i.s.)，並以化學位移變化對[Dy(DTDA-BMEA)]之濃度作圖。

5.1.2 內層水分子存在時間及分子轉動相關時間之研究

利用 400MHz 核磁共振光譜儀，測定釷金屬錯合物的 ^{17}O 弛緩率($1/T_1$, $1/T_2$)和化學位移(ω)及酸水的 ^{17}O 弛緩率($1/T_{1A}$, $1/T_{2A}$)和化學位移(ω_A)。此外，再計算出減少的弛緩率及化學位移($1/T_{1r}$, $1/T_{2r}$, ω_r)。接著將這些數值利用公式(1) – (8)做運算。

$$\frac{1}{T_{1r}} = \frac{1}{P_M} \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{1A}} \right] = \frac{1}{T_{1M} + \tau_M} \quad (1)$$

$$\frac{1}{T_{2r}} = \frac{1}{P_M} \left[\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{2A}} \right] = \frac{1}{\tau_M} \left(\frac{T_{2M}^{-1}(\tau_M^{-1} + T_{2M}^{-1}) + \Delta\omega_M^2}{(T_{2M}^{-1} + \tau_M^{-1})^2 + \Delta\omega_M^2} \right) \quad (2)$$

$$\Delta\omega_r = \frac{1}{P_M} [\omega - \omega_A] = \frac{\Delta a_M}{(1 + T_{2M}^{-1} \tau_M^{-1})^2 + \tau_M^2 \Delta\omega_M^2} + \Delta\omega_{os} \quad (3)$$

其中 P_M 為莫耳分率，而 τ_M 可以以方程式(4)表示之， $\Delta\omega_M$ 可以以方程式(5)表示之：

$$\frac{1}{\tau_M} = k_{ex} = \frac{k_B T}{h} \exp \left[\frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \right] \quad (4)$$

$$\Delta\omega_M = \frac{g_L \mu_B S(S+1) A}{3k_B T} \frac{A}{\hbar}; \Delta\omega_{os} = C_{os} \Delta\omega_M \quad (5)$$

式中 ΔS 與 ΔH 分別為活化熵與活化焓， g_L 是 isotropic Landé g factor

($g_L = 2.0$ for Gd^{3+}), S 是電子旋轉量子數($7/2$ for Gd^{3+}), B 是磁場強度, k_B 是 Boltzmann 常數, μ_B 是波爾磁子, A/\hbar 是 $Gd-^{17}O$ 的向量耦合常數

^{17}O 縱向弛緩率可由方程式(6)求得：

$$\frac{1}{T_{1M}} = \frac{6}{15} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right) \frac{\gamma_O^2 g_e^2 \mu_B^2 S(S+1)}{r_{GdO}^6} \tau_R + \frac{3\pi^2}{10} \frac{2I+3}{I^2(2I+1)} \chi^2 (1 + \eta^{2/3}) \tau_R \quad (6)$$

其中 γ_O 是核的迴轉磁比($-3.626 \times 10^7 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$), r 是電子與 ^{17}O 核的有效距離, I 是核旋轉($5/2$ for ^{17}O), χ 是四極耦合常數, η 是不對稱參數

^{17}O 橫向弛緩率可由方程式(7)求得：

$$\frac{1}{T_{2M}} \cong \frac{1}{T_{2sc}} = \frac{S(S+1)}{3} \left(\frac{A}{\hbar} \right)^2 \tau_{sc} \quad (7)$$

由於我們只使用一種磁場來測定 ^{17}O , 因此電子弛緩率($1/T_{1e}$)與溫度呈現指數的相關, 如方程式(8)：

$$\frac{1}{T_{1e}^{HF}} = \frac{1}{T_{1e}^{310}} \exp \left[\frac{E_{T1e}}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{310.15} \right) \right] \quad (8)$$

5.1.3 急性耐受毒性及亞毒性試驗

本實驗以半致死劑量來評估急性耐受毒性。以 20-25 公克 ICR 小白鼠 (國家實驗動物繁殖及研究中心) 為對象, 每組 8 隻。在乙醚 (ether) 輕度麻醉下分別從尾靜脈施予不同劑量的 [Gd(DTPA-BMEA)], 注射速度 0.2 ml/min。觀察 14 天, 以 Reed-Muench 方法求出半致死劑量。安全因子(safety factor)則依下列公式取得：

$$\text{安全因子} = \text{半致死劑量} / \text{有效劑量(effective dose)}$$

5.1.4 生物體分佈與藥物動力學實驗

將對比劑之配位子標幟 ^{153}Gd 放射性同位素^[2]以評估對比劑在生物體分佈的情形。將 18 隻 20-30 克重 ICR 小白鼠分成六組，每組三隻，以乙醚對老鼠進行適當的麻醉下分別從尾部靜脈施打 0.1 mmol / kg 的 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 。然後分別在 5、10、30、60 分鐘及 2、24 小時的時間點將動物解剖後採取各項器官。動物在各時間點到達後，由針筒刺入心臟直接取得血液後，隨即解剖取摘取血液、心、肺、肝、腎、脾、肌肉、骨骼、淋巴腺及尾巴等組織器官，稱重後以伽馬計測器(Packard 5003, Corba (III) Meriden, CT, USA)測定血液和器官之放射活性，以評估 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 於不同時間的分佈，藉以度量(DTPA-BMEA)的生物體分佈。生物體分佈以該時間每公克組織器官所含注射劑量百分比(%ID/gm)及該時間組織器官所含注射劑量百分比(%ID)表示之，以時間對組織器官所含注射劑量百分比(%ID)作圖，研究(DTPA-BMEA)藥物動力學。

另將 4 隻 20-30 克重 ICR 小白鼠以乙醚對老鼠進行適當的麻醉下，分別從尾部靜脈施打 0.1 mmol / kg 的 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$]，每 12 小時收集一次尿液及糞便，藉以了解 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$]由尿液及糞便中排出的狀況。

5.1.5 建立腫瘤細胞株誘發腫瘤

準備接種的細胞株：培養 CHA 細胞(Chang hepatoma ascites, AS 30-D)於含有 5% FCS 及 2 mM 麩胺(L-glutamine)之 DMEM 培養基，並且將培養基置於 37 °C, 5% CO₂ 的培養箱。每週更換兩次新鮮的培養基，等細胞生長佔約 70%的培養皿時，再更換新鮮的培養基。經隔夜培養，抽掉全部上清液，加入 1 c.c. 胰蛋白酶置於 37 °C 加熱平臺，留

置 5-10 min。輕拍培養皿底部，並觀察細胞剝離培養皿底部的情形。然後將所有溶液轉移到離心管中，再以無菌生理食鹽水沖洗培養皿。沖洗液亦轉移入離心管中離心 10 分鐘(800 rpm) 移去上清液。再加入無菌生理食鹽水，輕拍離心管底部，使細胞分散，再度以相同條件離心。如此以生理食鹽水沖洗與離心重覆三次。最後除去上清液後加入 0.5ml 無菌生理食鹽水，輕拍離心管底部，使細胞分散。以 tryphan blue 觀察細胞活性並計算細胞數。活性細胞必須佔 90%以上，再以生理食鹽水調整細胞數達 10^8 /ml，準備接種。

將重約 200-250 公克的 Wistar 大白鼠(國家實驗動物繁殖及研究中心)以 22 號 1ml 空針抽取細胞液 0.3 ml，於目視下接種於大腿皮下組織，大約 7-14 天可長出腫瘤。將腫瘤取出分成適當大小塊狀，分別植入 Wistar 大白鼠(重約 200-250 公克)的肝臟中，大約 7-14 天可長出腫瘤。

5.1.6 磁振造影術

將 8 隻重約 200 公克到 250 公克的 Wistar 大白鼠(國家動物繁殖及研究中心)分成四組。每組 2 隻。每組皆有一隻正常的大白鼠與一隻種有腫瘤的老鼠，分別從尾靜脈注射 0.1 mmol/kg [Gd(DTPA-BMEA)]。

在 40 - 50 mg/kg 戊基巴比特魯(sodium pentobarbital) 腹膜腔注射麻醉下，將 25 號頭皮針植入大白鼠的尾靜脈以便注射對比劑。以 1.5 T 磁振造影儀(Gyroscan ACS-NT, Philips Medical Systems, Best, the Netherlands) 使用頭部線圈來摘取自旋回訊脈衝 T1-weighted 與 T2-weighted 的冠狀影像，之後再以 T1-weighted TFE (TR/TE/Flip angle: 15 ms/6.1 ms/25°)摘取注射對比劑前與注射對比劑後的矢狀切

面影像。影像參數為切面厚度 4 mm, 影像視野 20 公分, 影像矩陣 256 x 128, 信號平均次數 2, Spin echo, TE=12, TR=100。為了評估動態顯影, 注射對比劑後每隔 14 秒摘取一次影像, 連續 5 次; 接著每隔 5 分鐘摘取一次影像, 連續 4 次; 最後每隔 10 分鐘摘取一次影像, 持續到注射後 2 小時。

5.1.7 影像分析

訊號之測量是使用磁振造影儀附屬的軟體在 T1-weighted 影像上圈選有興趣的部位加以測量。放置游標時儘可能避開血管與假影。測量肝臟與假體的游標面積約 0.02 cm²。每次測量的大小及位置儘可能保持一致。對比劑的顯影效果以訊號雜訊比之顯影百分比來表示。所採取的公式是：

$$SNR = \frac{S_n / P_n}{S_0 / P_0}$$

S_n 是欲測物在注射後第 n 分鐘的訊號。 P_n 是在注射後第 n 分鐘背景的訊號, S_0 是欲測物在注射後第 0 分鐘的訊號。 P_0 是在注射後第 0 分鐘背景的訊號。將每組訊號雜訊比之顯影的數值取平均值與標準誤差對時間做圖。

5.2 結果與討論

5.2.1 內層水分子數探討

如 Figure 1 所示, 線性關係可計算出 [Dy(DTPA-BMEA)] 在 pH 6.2 及溫度 25 °C 下之斜率為 -53.7 ppm ($r^2 = 0.98$), 而 DyCl₃ 誘導 ¹⁷O 之斜率為 -412.2 ppm ($r^2 = 0.99$), 已知 Dy(III) 在水溶液中可鍵結 8 個水分子, 而內層水分子數與斜率成正比關係, 故 Dy(III) 誘導一

個水分子的斜率為-51.5 ppm，利用此一方法可求得[Dy(DTPA-BMEA)]之內層水分子數 (q 值) 為 1.04。一般而言，若與釷金屬形成錯合物之有機配位子為八配位時，釷金屬離子將以九配位存在，此時釷金屬錯合物的第九配位會接上一個內層水分子 ($q = 1$)。由結果得知，[Dy(DTPA-BMEA)]之內層水分子數接近 1，與 [Dy(DTPA)]²⁻ 及 [Dy(TTDA)]²⁻ 相同，顯示 [Dy(DTPA-BMEA)] 利用三個氮原子、三個羧酸基及兩個醯胺基與 Gd(III) 配位，並空出一個位置與一個水分子鍵結

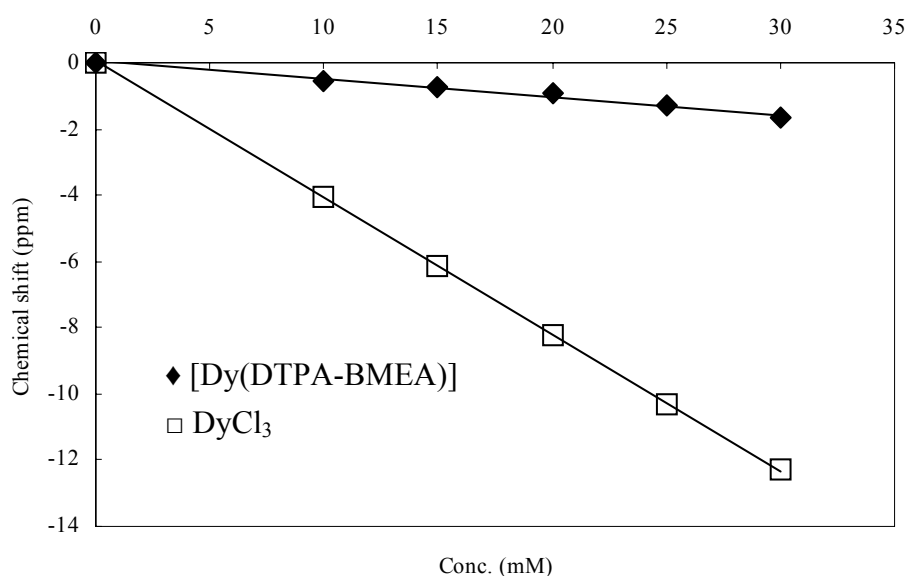


Figure 1 The Dy(III)-induced water ¹⁷O-NMR shift versus Dy(III) chelate concentration in D₂O at 25.0 ± 0.1

Table 1. [Dy(DTPA-BMEA)], [Dy(DTPA)]²⁻, [Dy(TTDA)]²⁻ 及 DyCl₃ 之 q 值偵測結果.

Compounds	q
DyCl ₃	8.0
[Dy(DTPA-BMEA)]	1.04
[Dy(DTPA)] ^{2-[3]}	1.0
[Dy(TTDA)] ^{2-[4]}	0.9

5.2.2 內層水分子存在時間及分子轉動相關時間之研究

由 400MHz ¹⁷O NMR 所測得的數據如 Figure 2 所示，以上述公式用 SCIENTIST[®] 程式計算而獲得內層水分子存在時間(τ_M)及分子轉動相關時間(τ_R)及相關數據，如 Table 2 所示。我們發現，[Gd(DTPA-BMEA)]的 τ_M 值(2710 ns)遠大於[Gd(DTPA)]²⁻的 τ_M 值(243.9 ns)，顯示將 DTPA 上兩個羧酸基取代為醯胺基明顯提高其水分子存在時間(τ_M)，其原因為醯胺基與 Gd(III)金屬離子之間鍵結較弱，導致 Gd(III)金屬離子周圍之立體空間較不擁擠，因此內層水分子與 Gd(III)金屬離子之間的距離較短，而使內層水分子存在時間(τ_M)變長。而[Gd(DTPA-BMEA)]的分子轉動相關時間為 $\tau_R = 176$ ps，高於[Gd(DTPA)]²⁻($\tau_R = 103$)，其原因為[Gd(DTPA-BMEA)]有較大之分子量，導致其分子轉動相關時間(τ_R)較高。而[Gd(DTPA-BMEA)]之 A/\hbar 值(-3.8×10^6 rad s⁻¹)近似於同樣含有一個內層水分子之[Gd(DTPA)]²⁻(-3.8×10^6 rad s⁻¹)，且與利用 ¹⁷O-NMR 測定 Dy(III)金屬離子誘導水 ¹⁷O 核種之化學位移變化 (d.i.s.) 所得之結果吻合。

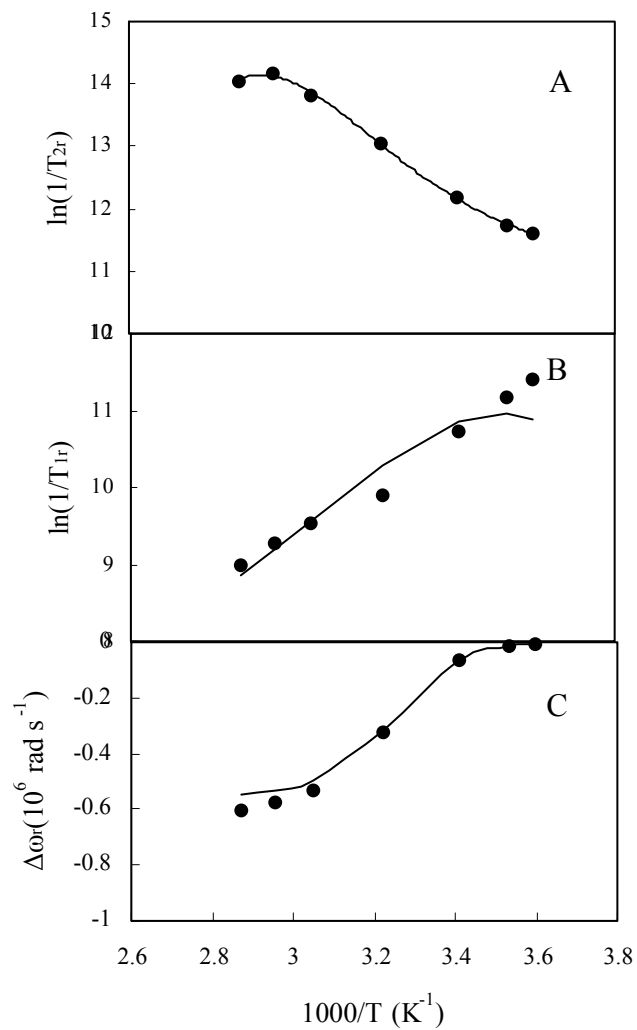


Figure 2 在磁場強度 9.4 T 下，[Gd(DTPA-BMEA)] 之(A) $1/T_1$ 、(B) $1/T_2$ ^{17}O 弛緩率及(C) ^{17}O 化學位移。點為測量所得數值，曲線由公式 fitting 計算得之。

Table 2. 由 ^{17}O NMR 數值計算所得之各個參數值

Parameter	[Gd(DTPA-BMEA)]	[Gd(DTPA-BMEA)] ^[5]	[Gd(DTPA)] ^{2-[6]}	[Gd(TTDA)] ^{2-[7]}
τ_M^{298} (ns)	2710 ± 250	2703 ± 200	243.9 ± 2.2	6.9 ± 0.5
k_{ex}^{298} (10^6 s^{-1})	0.37 ± 0.04	0.37 ± 0.02	4.1 ± 0.3	146 ± 0.8
H (kJ mol^{-1})	48.39 ± 1.8	49.1 ± 2	52.0 ± 1.4	23.1 ± 1.2
S ($\text{J mol}^{-1}\text{k}^{-1}$)	23.9 ± 2.3	26 ± 6	56.2 ± 5.0	-11.1 ± 0.7
A/\hbar (10^6 rad s^{-1})	-3.8 ± 0.3	-4.1 ± 0.4	-3.8 ± 0.2	-3.2 ± 0.2
τ_R^{298} (ps)	176 ± 8	172 ± 12	103 ± 10	104 ± 7
C_{os}	<u>0</u>	<u>0</u>	0.18 ± 0.04	<u>0</u>
E_R (kJ mol^{-1})	34.6 ± 4	23.4 ± 1	18 ± 2	24.8 ± 2

5.2.3 急性耐受毒性及亞毒性試驗

在 [Gd(DTPA-BMEA)]半致死劑量偵測實驗方面,實驗所用的方法是以 8 隻 ICR mice 為一組,注射一特定劑量,逐步增加注射的劑量,目前我們所注射的劑量已達 24 mmol / kg, 尚未有老鼠死亡。因所製之最高濃度溶液濃度只能到達 600 mM, 故在合理的注射量之下,依所得的結果來結論, [Gd(DTPA-BMEA)]之半致死劑量大於 24 mmol / kg。實驗結果如 Table 2 所示。所有接受注射的老鼠觀察飼養 2 週,食慾、外觀及活動力皆表現正常。

Table 2. [Gd(DTPA-BMEA)]之劑量與老鼠存活狀況。

劑量(mmol / kg)	死亡(隻)	存活(隻)
4	0	8
6	0	8
8	0	8
12	0	8
16	0	8
20	0	8
24	0	8

5.2.4 生物體分佈與藥物動力學實驗

不同組織器官 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 的殘留劑量列於 Figure 3 及 Table 3、4。由 Figure 3 中可得知， $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 在血液中由 5 分鐘的 $8.8 \pm 2.18(\% \text{ID})$ 或 $4.14 \pm 1.43(\% \text{ID/gm})$ 迅速下降，至 60 分鐘的 $0.15 \pm 0.04(\% \text{ID})$ 或 $0.08 \pm 0.03 (\% \text{ID/gm})$ 已下降超過 95%。而腎臟則在 5 分鐘內達到 $7.35 \pm 3.21(\% \text{ID})$ ，至 60 分鐘的 $0.16 \pm 0.04(\% \text{ID})$ 或 $0.65 \pm 0.20 (\% \text{ID/gm})$ 亦已下降超過 95%。肝臟、脾臟與其它組織器官生物體分佈均小於 1 %ID 或 1 %ID/gm。實驗數據顯示 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 可由腎臟過濾快速排出體外，沒有特殊組織器官殘留。

Figure 4 是代謝物中的放射劑量相對時間做圖，由此圖可判斷 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 在 12 小時內就由尿液排出大部分，且排出量隨時間增加而減少。

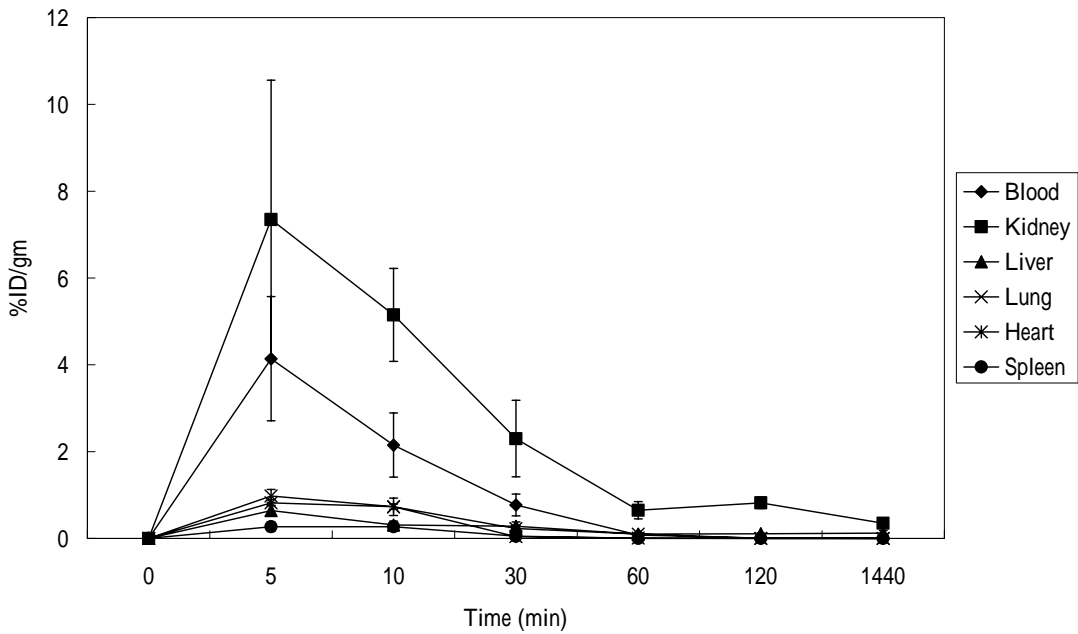
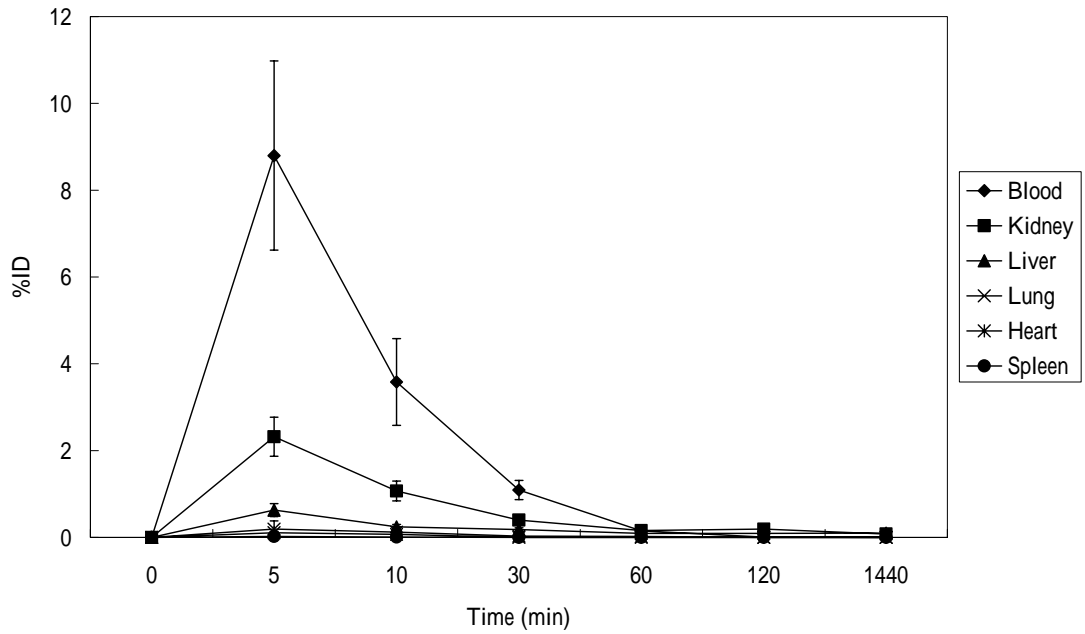


Figure 3 小白鼠注射 $[^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 後之血液、腎臟、肝臟、肺臟、心臟及脾臟之生物分佈。 $[^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 隨著時間增加而由腎臟排出體外，且未滯留在特殊組織器官。

Table 3 注射 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 後 5 分鐘、10 分鐘、30 分鐘、60 分鐘、2 小時及 24 小時組織器官之生物分佈

組織器官	小白鼠組織器官所含注射劑量百分比(%ID)					
	5 分鐘	10 分鐘	30 分鐘	60 分鐘	2 小時	24 小時
血液	8.80±2.18	3.58±1.00	1.09±0.22	0.15±0.04	0.01±0.01	0
腎臟	2.32±0.45	1.07±0.23	0.40±0.11	0.16±0.04	0.19±0.03	0.08±0.05
肝臟	0.63±0.15	0.24±0.06	0.18±0.04	0.09±0.03	0.09±0.02	0.10±0.04
肺臟	0.29±0.05	0.12±0.04	0.03±0.01	0.02±0.01	0	0
心臟	0.11±0.01	0.07±0.01	0	0	0	0
脾臟	0.02±0.01	0.01±0.01	0	0	0	0
腦	0.04±0.01	0	0	0	0	0

Table 4 注射 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 後 5 分鐘、10 分鐘、30 分鐘、60 分鐘、2 小時及 24 小時每公克組織器官之生物分佈

組織器官	小白鼠每公克組織器官所含注射劑量百分比						
	(%ID)	5 分鐘	10 分鐘	30 分鐘	60 分鐘	2 小時	24 小時
血液		4.14±1.43	2.15±0.74	0.77±0.25	0.08±0.03	0.01±0.01	0
腎臟		7.35±3.21	5.15±1.07	2.30±0.88	0.65±0.20	0.82±0.13	0.35±0.03
肝臟		0.64±0.12	0.31±0.09	0.28±0.10	0.10±0.01	0.11±0.01	0.12±0.06
肺臟		0.98±0.15	0.73±0.06	0.23±0.07	0.10±0.03	0	0
心臟		0.82±0.07	0.73±0.20	0.04±0.03	0.01±0.02	0	0
脾臟		0.27±0.11	0.27±0.09	0.05±0.05	0	0	0
腦		0.11±0.02	0	0	0	0	0

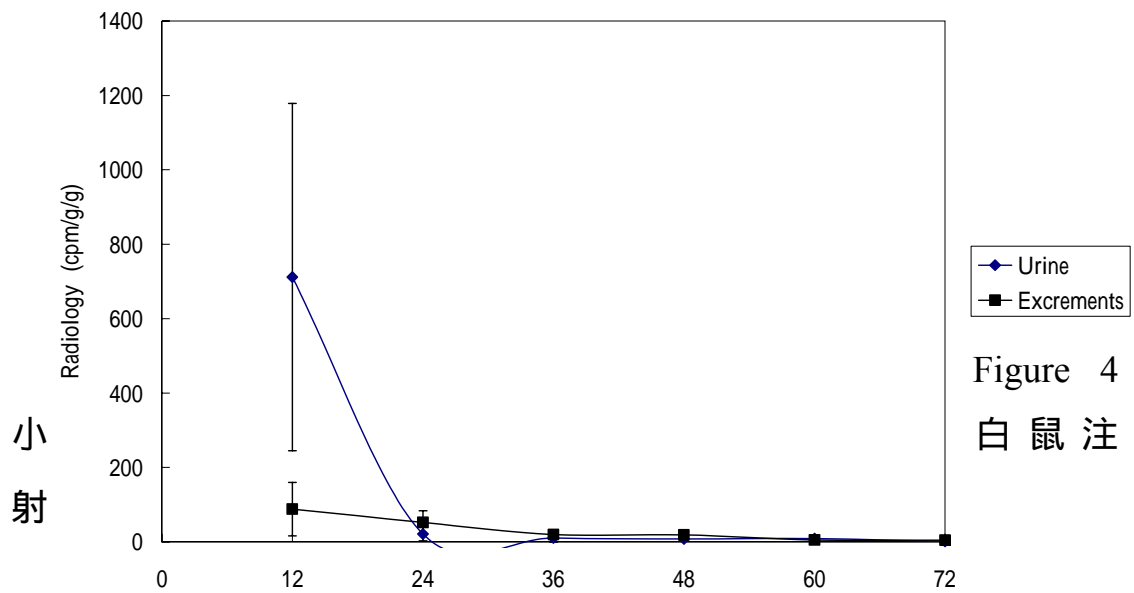


Figure 4
白鼠注

小射
[¹⁵³Gd(DTPA-BMEA)] 之 Time (hr) 後，由尿液及糞便中隨時間的排出量。排出量的單位為每一公克老鼠體重所排出單位重量(g)之放射劑量。

5.2.7 磁振造影實驗及其影像分析

注射 0.1 mmol/kg [Gd(DTPA-BMEA)]到 Wistar 大白鼠可得到 Figure 5。由圖中可得知注射 $^{153}\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})$ 前後影像的差異，注射後之影像可更明顯顯現出腫瘤位置。

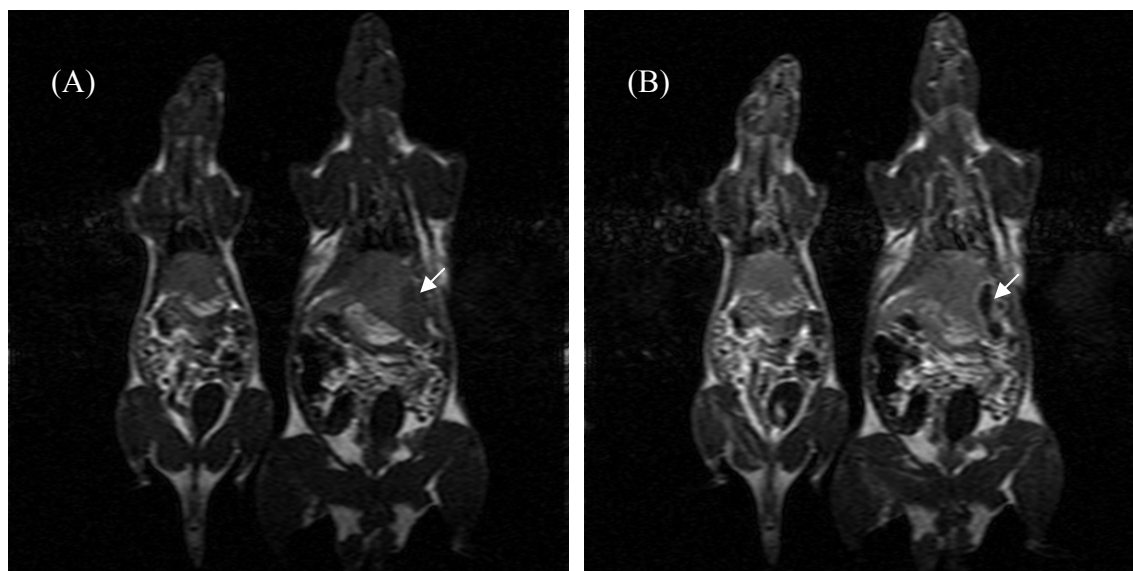


Figure 5 大白鼠注射[Gd(DTPA-BMEA)]之磁振影像。(A)注射前；(B)注射 5 分鐘後。箭頭指的是腫瘤位置。

另外，對肝臟腫瘤大白鼠注射對比劑 0.1 mmol/kg [Gd(DTPA-BMEA)]後 2 分鐘內，肝臟有顯著顯影，但腫瘤部份則並未有明顯訊號上升的跡象，相對之下可將腫瘤表現得更明顯。肌肉部分只有小幅訊號上升。對比劑注射後迅速由腎臟排出，其結果與生物體分布實驗結果相符。其結果顯示在 Figure 6。

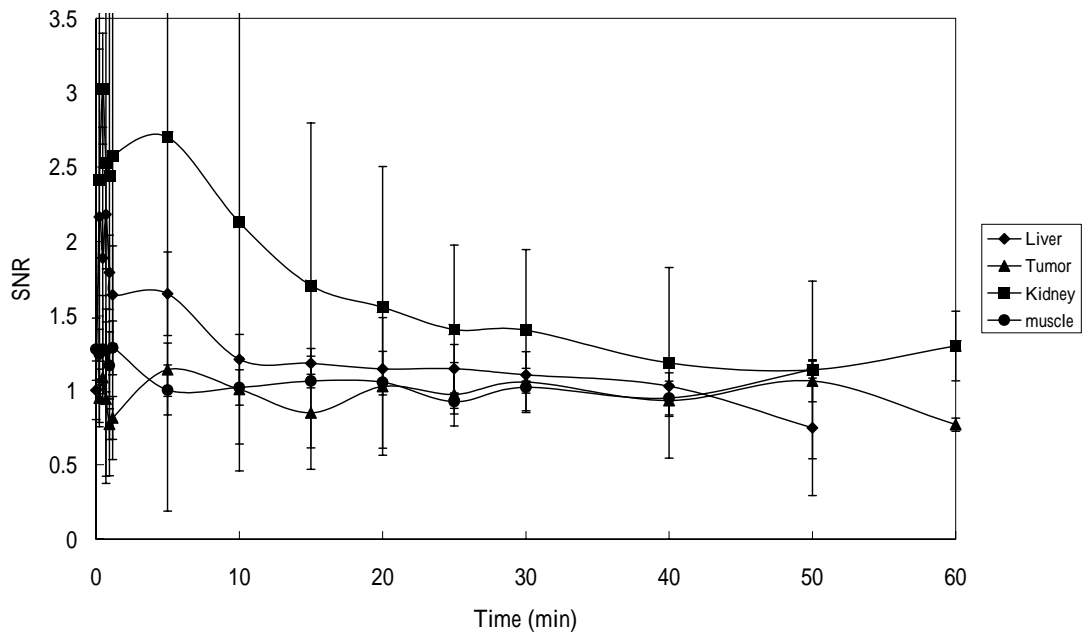


Figure 6 具肝臟腫瘤的大白鼠注射 0.01 mmol/kg [Gd(DTPA-BMEA)] 後之肝臟、腎臟肌肉及腫瘤訊號雜訊比之顯影動力曲線。注射對比劑後，5 分鐘後訊號隨時間逐步下降。腫瘤與肌肉輕微顯影。

六、結論與建議：

在本研究中，藉由與 DyCl_3 比較而得到 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 擁有 1.04 個內層水分子，此結果顯示 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 與水配位的情況與 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 相似。另以 $^{17}\text{O-NMR}$ 測定 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 之 $1/T_1$ 、 $1/T_2$ 及化學位移，由公式 fitting 計算所得結果顯示，其轉動相關時間因其分子量較大而較 $[\text{Gd}(\text{DTPA})]^{2-}$ 大。在急性毒性試驗中，使用到 24 mmol/kg 的劑量亦未造成老鼠死亡，此代表 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 具有相當低的毒性 ($\text{LD}_{50} > 24 \text{ mmol/kg}$)。

在生物分佈實驗的結果中可知， $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 可由腎臟過濾快速排出體外，沒有特殊組織器官殘留。且由代謝實驗中可知，尿液為 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 主要的代謝途徑。在動物模組方面，注射 $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 後可增加肝腫瘤與正常肝臟間顯影的差異，進而減低辨識的難度。

由以上各項結果可知， $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})]$ 是一非離子性低滲透度的磁振造影對比劑，具有低毒性、細胞外分佈及可由腎臟迅速排出體外等特性。由動物顯影顯示，以 0.1 mmol / kg 劑量即可得到明顯的對比，未來可作為非特異性對比劑的另一種選擇，值得進一步做臨床試驗。

七、參考文獻：

1. Wood, M. L.; Hardy, P. A. *J Magn Reson Imaging* **1993**, 3,149-156.
2. Kumar, K.; SuKumaran, K.; Chang, C. A.; Tweedle, M. F.; Eckelman, W.C.; *J. Labelled Comp. Rad.* **1993**, 33, 473.
3. Wang, Y. M.; Lee, C. H.; Liu, G. C.; Sheu, R. S. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, 4113
4. Alpoim, M. C.; Urbano, A. M.; Geraldes, C. F. G. C.; Peters, J. A. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1992**, 463.
5. Toth, E.; Connac, F.; Helm, L.; Adzamli, K.; Merbach, A. E. ; *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, 2017.
6. Powell, D. H.; Ni Dhubhghaill, O. M.; Pubanz, D.; Helm, L.; Lebedev, Y. S.; Schlaepfer, W.; Merbach, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9333.
7. Wang, Y. M.; Li, C. R.; Huang, Y. C.; Ou, M. H.; Liu, G. C. *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 382.