



论文

靶向淋巴系统造影剂的制备及其动物实验

孙玥^①, 吴晶^②, 万升标^①, 刘世恩^③, 冯元勇^②, 尚伟^{②*}, 江涛^{①*}^① 中国海洋大学医药学院, 青岛 266003^② 青岛大学医学院附属医院口腔颌面外科, 青岛 266003^③ 青岛大学医学院附属医院放射科, 青岛 266003

*通讯作者, E-mail: liweishang2004@yahoo.com.cn; jiangtao@ouc.edu.cn

收稿日期: 2011-04-14; 接受日期: 2011-05-18; 网络版发表日期: 2011-07-22

doi: 10.1360/032011-246

摘要 采用两种方法, 一种方法是以右旋糖酐(Dextran)和 DTPA 的二酐为原料, DMAP 为催化剂, 另一种是以右旋糖酐和 DTPA 为原料, 采用 DMAP 及 EDC·HCl 为联合催化剂, 合成造影剂 Dextran-DTPA-Gd. 通过比较产物的水溶性及 Gd 含量确定了最佳制备条件, 得到了钆含量为 16.1%、水溶性好的高分子造影剂; 通过 FTIR、粒度分析表征了 Dextran-DTPA-Gd 的结构及其分子粒径大小(分布范围为 100~150 nm, 平均值为 130 nm); 动物实验中, 以钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)为阳性对照, 通过对比家兔腿部磁共振成像图, 绘制腿部淋巴系统信号增强率-时间曲线, 证明 Dextran-DTPA-Gd 具有更高的信号增强效果(最高值为 314%)及淋巴系统选择性的特点, 为其进一步应用奠定了基础.

关键词
右旋糖酐
DTPA
钆
造影剂
磁共振成像

1 引言

1973 年美国科学家 Lauterbur 首次发表核磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)技术, 从此这一技术在生物学和医学等领域得到了迅速发展和广泛应用. 近几十年来, 核磁共振成像(MRI)技术已经成为一种极为常见的医疗手段, 越来越多的性能优越且毒副作用小的造影剂也随之诞生^[1~3].

位于元素周期表 64 位的稀土元素钆(Gd), 有 7 个未成对电子, 易形成水溶性顺磁络合物, 是磁共振造影剂常用的金属离子^[4], 如目前上市的钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)、钆贝葡胺注射液(Multihance)及钆双胺注射液(Omniscan)等, 它们均为小分子螯合物, 临床应用广泛; 然而使用时需要反复注射以延长有效时间^[5], 而且它们易迅速扩散到细胞外或组织间隙, 肾脏代谢快, 选择性(靶向性)较低. 为了克服以上缺点, 近十年来, 人们开始尝试将小分子螯合剂连

接到天然或合成的高分子材料上, 如多糖、蛋白质、聚氨基酸和聚乙二醇等, 以延长其旋转相关时间, 增加弛豫效率, 并提高其靶向性和稳定性. 代表性的化合物有阿拉伯半乳聚糖-DTPA-Gd^[6], 沙枣胶多糖-DTPA-Gd^[7], PEG-DTPA-Gd^[8], HMD-DTPA-Gd 及 CHD-DTPA-Gd^[9]. 以上药物分子量从五万到三十万不等, 均不同程度地表现出对组织器官如肝脏、肾脏、肺和脾脏等的选择性, 同时能相对较长时间内在血管中保持一定的浓度, 有利于血管造影. 由此可见, 具有更强的靶向性、溶解性、安全性及体内稳定性这些特点将是未来造影剂的发展趋势^[10].

靶向淋巴系统造影具有重要的医疗意义, 在临床实践中, 淋巴结转移是恶性肿瘤复发和致死的主要原因, 靶向淋巴造影技术可以作为淋巴结转移的早期鉴定手段, 对肿瘤的及时治疗起到了关键作用. 现阶段已实验于淋巴系统的磁共振造影剂如 HSA-

DTPA-Gd^[11, 12], 脂质体包裹的钆布醇^[13]等, HSA-DTPA-Gd 是通过赖氨酸上的氨基与 DTPA-Gd 缩合, 但是 HAS(人血清白蛋白)分子量过大不易控制, 且难以保存. 脂质体包裹的钆布醇^[13]可显示三级连续淋巴组织, 但是由于其稳定性较好, 体内不易代谢. 作为顺磁性标记物的常用大分子载体, 右旋糖酐(Dextran)具有较好的生物适应性和溶解性, 而且其分子粒径分布范围窄, 可以很好地控制分子的大小^[14]. 以右旋糖酐为载体, 前人也完成了许多工作, Duarte 等^[15]通过乙二胺将 DTPA 与 Dextran 连接, Rebizak 等^[16]在合成过程中活化了 Dextran, 再用二元胺连接 DTPA, 并研究了不同长度的线型二元胺($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$, $2 \leq n \leq 6$)对于弛豫度、代谢速率及毒性的影响, 以上的合成过程均较为复杂; Wang 等^[17]使用 Dextran-DTPA-Gd 于小鼠尾部静脉注射, 观测小鼠器官如脾脏、肝脏及肾脏的显影信号, 同比 DTPA-Gd 具有更长时间的信号强度; Yan 等^[18]用 DTPA 的活性酯与 Dextran 合成了 Dextran-DTPA-Gd, 对比了不同取代度的 Dextran 衍生物的弛豫性能, 并测定了对于海拉细胞的抑制活性, 证明了 Dextran-DTPA-Gd 对于动物正常淋巴结及反应性增生淋巴结都具有比 DTPA-Gd 更高的信号增强率.

为了简化 Dextran-DTPA-Gd 的合成过程, 本实验采用两种 Dextran-DTPA-Gd 的合成方法, 通过改变反应条件确定了最佳方案, 最终获得具有较高钆含量和良好水溶性的 Dextran-DTPA-Gd 造影剂; 通过粒度分析确定 Dextran-DTPA-Gd 的粒径范围; 动物实验发现, 与钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)相比较, 该显影剂可以选择性的进入家兔下肢淋巴管及膈窝淋巴结, 且信号强度增强明显, 具有较高的潜在应用价值.

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

二乙烯三胺五乙酸酐(cDTPAa)根据文献[19]合成, 1-乙基(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)(阿拉丁试剂公司), 4-二甲氨基吡啶(DMAP)(阿拉丁试剂公司)二乙烯三胺五乙酸(DTPA)(阿拉丁试剂公司), 右旋糖酐 40 (Dextran 40, $M_w = 32000 \sim 42000$ Da, 青岛首和金海制药有限公司)

均为分析纯试剂, 其中 DMSO 使用前经过分子筛干燥处理. 钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)由拜耳医药保健有限公司生产. GdCl_3 溶液(0.347 mol/L)由 Gd_2O_3 加入浓 HCl 加热搅拌至溶液澄清, 稀释定容以备用.

英国 Malvern 公司的 3000HS 型电位粒度分析仪用于测试样品的分子粒径分布范围. 7500a 型电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)(美国 Agilent 公司)测定目标产物 Dextran-DTPA-Gd 中钆含量, 红外图谱由美国 Thermo Nicolet 公司的 Nexus 470 型傅里叶变换红外光谱仪测定, 动物实验过程中采用美国 GE 公司的超导型核磁共振扫描仪(3.0T Signa HDx)扫描完成动物的 MR 图. 实验动物采用健康的成年雌性新西兰家兔(New Zealand white rabbit, 2.7~3.7 kg).

2.2 Dextran-DTPA-Gd 的制备

方法一: 取右旋糖酐(Dextran) (1.01 g, 6.2 mmol), 二乙烯三胺五乙酸酐(cDTPAa) (3.00 g, 8.4 mmol), DMAP (0.15 g, 1.3 mmol)于 250 mL 茄形瓶中, 注入 DMSO (50 mL), 超声助溶至溶液呈无色透明, 50 °C 搅拌反应 48 h. 滴入 GdCl_3 溶液(20.6 mL, 0.35 mol/L), 室温搅拌反应 24 h, 再向反应液中加入去离子水(150 mL), 产生大量淡黄色絮状物, 用 NaOH 溶液(1.0 mol/L)调节溶液 pH 至溶液澄清, 使用 DM27 型透析袋(国药集团化学试剂有限公司)承装样品溶液, 用去离子水透析 3 d, 期间每天换水 4~6 次. 取透析袋内溶液, 旋转蒸发浓缩至 10 mL, 以备动物实验, 并通过 ICP-MS 测定其 Gd 含量.

方法二: 将 DTPA (0.37 g, 9.3 mmol) 溶于 25 mL DMSO 中, 加热超声约 1.5 h, 待溶液澄清后, 再加入 DMAP (0.01 g, 0.1 mmol), EDC·HCl (0.20 g, 1.0 mmol), 30 °C 搅拌使其完全溶解, 在 50 °C 条件下, 将以上反应液向溶解右旋糖酐(Dextran) (0.10 g, 0.6 mmol)的 DMSO (6 mL)中逐滴加入, 继续搅拌反应 48 h. 在冰浴条件下, 向以上反应液中加入氯仿与乙醚的混合溶液(v/v 7:8), 直到产生白色絮状沉淀, 并继续搅拌 2 h 直至沉淀不再增加, 抽滤后用氯仿乙醚混合溶液洗涤滤饼, 迅速将滤饼重新溶于 20 mL 蒸馏水, CHCl_3 洗涤 1 次. 在 30 °C 条件下滴入 GdCl_3 溶液 (5 mL, 0.342 mol/L), 搅拌反应 24 h, 之后转移入 DM27 型透析袋, 用去离子水透析 3 d, 期间每天换水 4~6 次. 取透析袋内溶液, 旋转蒸发浓缩至 10 mL, 以备动物实验, 并通过 ICP-MS 测定其 Gd 含量.

2.3 动物体内磁共振成像实验

将用盐酸氯胺酮溶液(50 mg/kg)麻醉后的新西兰家兔仰卧位固定, 进行MRI平扫: 3D Fast TOF-SPGR CE-MRA 序列扫描, Flip Angle 30°, TE 1.6 ms, TR 4.5 ms, 视野 280 × 280 mm, 矩阵 360 × 224, 层厚 1.0 mm, slah70, NEX 2.

平扫后于右脚第一、二、三趾蹼处皮内分别穿刺注射合成的高分子造影剂 Dextran-DTPA-Gd (0.4 mL, 3.96 mmol/L), 按摩 30 s 后进行 3D 增强扫描. 30 min 后同样方法于左脚第一、二、三趾蹼皮内穿刺分别注入对照试剂钆喷酸葡胺注射液(0.4 mL, 0.50 mol/L), 按摩 30 s 后行 3D 增强扫描, 以获得三维图像. 增强扫描从注射后 10 min 开始, 扫描间隔为 10、15、20、25、30、40、50、60 min 以及 24 h, 扫描序列的相关参数与平扫时一致.

3 结果与讨论

3.1 Dextran-DTPA-Gd 的制备

制备 Dextran-DTPA-Gd 的反应式如图 1 所示, 方法一中 DTPA 脱水形成 DTPA 酸酐(cDTPAa), 再与右旋糖酐在 DMAP 的作用下缩合, 生成右旋糖酐的衍生物后, 加入 Gd³⁺形成螯合物; 方法二中, 用 DTPA 代替 DTPA 酸酐(cDTPAa), 使用 DMAP 和

EDC·HCl 为联合缩合剂, 与右旋糖酐反应, 生成右旋糖酐衍生物后, 再与 Gd³⁺形成螯合物. 两种方法均通过透析去除过量的小分子化合物, 包括未接合的 DTPA、过量的催化剂以及 Gd³⁺、Cl⁻等离子, 以纯化产品.

透析结束后, 取透析袋内的溶液, 旋转蒸发浓缩, 并通过 ICP-MS 测定产物中的 Gd%含量, 还可根据此值由公式 $Gd\% = 157.25/(162n + 550.6) \times 100\%$ 初步计算出平均每 n 个糖单元接入一个 DTPA-Gd. 由于动物实验证明, 当合成的样品其 Gd%过小(约小于 10%)时, 淋巴系统显影信号强度过低, 不足以分辨. 所以理想的产物的 Gd%应足够高且水中溶解性良好. 通过不断改变反应条件, 得到了不同 Gd 含量的样品, 如表 1 所示, 当 Dextran 与 DTPA 的反应比例为 1:1.5, 反应温度和时间分别为 50 °C 及 48 h, 得到了 Gd%含量高达 16.1%的产物, 平均每 2.6 个糖单元上接有 DTPA-Gd. 于前人工作相比, 如 Yan 等^[18]用 DTPA 的活性酯与 Dextran 通过 7 d 反应合成了 Dextran-DTPA-Gd, 本实验节省了反应时间和成本.

以上反应在操作过程中, 水分子含量的多少对反应结果影响较大, 因此需要选用严格干燥的试剂, 并且快速处理反应的中间产物, 防止其吸潮变粘稠. 方法一在透析之前, 需调节溶液 pH 至溶液澄清, 此时溶液 pH 与体液 pH 相同(pH 7.4), 否则在透析过程

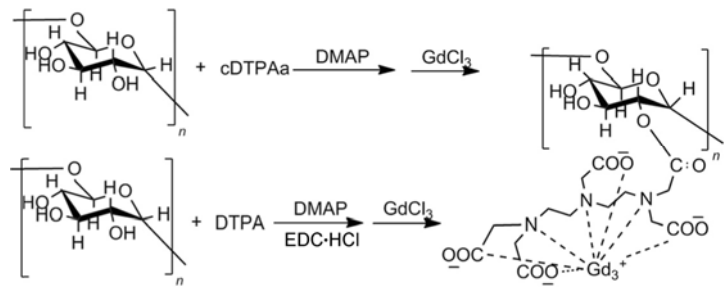


图 1 Dextran-DTPA-Gd 两种合成方法的路线示意图

表 1 不同反应条件下的 Dextran-DTPA-Gd 样品中的 Gd 含量

编号	催化剂	Dextran:DTPA	反应温度	反应时间	Gd (%)	糖单元数
1	DMAP	1:1.5	50 °C	24 h	5.5	14.3
2	DMAP	1:1.5	50 °C	48 h	10.5	5.9
3	DMAP	1:1.5	80 °C	24 h	9.4	7.0
4	DMAP	1:1.5	50 °C	72 h	3.5	24.7
5	DMAP	1:1	50 °C	48 h	6.0	12.7
6	DMAP, EDC·HCl	1:1.5	50 °C	48 h	16.1	2.6

中透析袋内易产生白色沉淀, 无法进行动物实验. 方法二的操作过程中, 是在水溶液中滴加 GdCl_3 溶液螯合, 之后直接透析, 始终为澄清溶液, 且溶液 pH 与体液 pH 相同(pH 7.4).

在实验过程中, 方法一所得样品当其 Gd% 超过 10% 时, 溶液会出现白色絮状沉淀, 调节溶液 pH 始终不退去. 由反应机理推论, DMSO 与 DTPA 酸酐这样的亲电试剂组合, 可使 DMSO 转变为活性铈盐, 这种活性铈盐易氧化右旋糖酐上的部分羟基成醛或酮, DMSO 则最终转化为二甲硫醚. 由此, 右旋糖酐衍生物中不能与水形成氢键的羟基一部分被氧化, 一部分直接与 DTPA 形成酯键, 另一部分又参与同 Gd^{3+} 的直接吸附作用, 其溶解性随着能与水形成氢键的羟基的减少而减少. 方法二的操作过程中使用的是 DTPA, 不易结合 DMSO 使其成为铈盐, 因此该右旋糖酐衍生物上的羟基较前者多, 即使样品中 Gd% 含量高于方法一所得样品, 依然保持良好的溶解性, 溶液始终澄清, 且 pH 适宜(pH 7.4), 是靶向淋巴造影剂的理想产品.

3.2 高分子配合物的 FTIR 结构表征

DTPA 酸酐与右旋糖酐的羟基形成酯键, 然后与过量 Gd^{3+} 螯合, 形成以高分子多糖为载体的 DTPA-Gd 配合物. 图 2 为 DTPA (a), Dextran (b), Dextran-DTPA (c) 和 Dextran-DTPA-Gd (d) 的红外光谱图. 由图 2 可见, Dextran-DTPA (c) 及 Dextran-DTPA-Gd (d) 具有 Dextran (b) 的特征峰, 即 1020 cm^{-1} 附近 C-OH 伸缩振动吸收峰, 而且由于 DTPA 与右旋糖酐的羟基

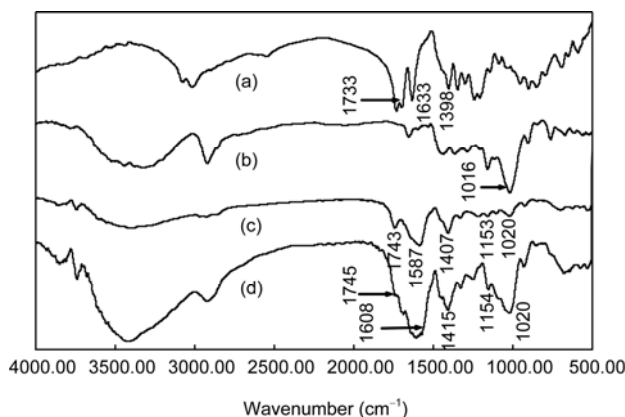


图 2 DTPA (a), Dextran (b), Dextran-DTPA (c) 以及 Dextran-DTPA-Gd (d) 的 FTIR 谱图

形成酯键, Dextran-DTPA (c) 在 1743 及 1153 cm^{-1} 处分别出现了 C=O 及 C-O 伸缩振动吸收峰, Dextran-DTPA-Gd (d) 在 1745 cm^{-1} 及 1154 cm^{-1} 处分别出现了 C=O 及 C-O 伸缩振动吸收峰. DTPA (a), Dextran-DTPA (c) 及 Dextran-DTPA-Gd (d) 均具有 1600 及 1400 cm^{-1} 附近的 COO^- 反对称伸缩振动吸收峰和对称伸缩振动峰, 且由于 Gd^{3+} 的配位作用对 COO^- 的共振产生抑制, Dextran-DTPA-Gd (d) 的 COO^- 对称伸缩振动移到高波数 1415 cm^{-1} 附近. 从以上分析可得出结论, 该高分子配合物已形成.

3.3 高分子配合物的分子粒径表征

图 3 为样品 Dextran-DTPA-Gd 分子粒径分布图, 其分子粒径平均为 130 nm , 分布范围为 $100\sim150\text{ nm}$. 作为载体物质的右旋糖酐 40, 分子量在 $32000\sim42000\text{ Da}$, 通过控制共价结合的小分子螯合物的比例, 可以使其分子量达到 50000 Da 左右, 测定其粒径分布正好与毛细淋巴管内皮细胞的开放裂隙($30\sim120\text{ nm}$)相符, 而远远大于毛细血管孔径($4\sim5\text{ nm}$), 大部分的高分子物质可以通过开放裂隙选择性地进入毛细淋巴管, 并吸收转运至淋巴结, 再被巨噬细胞吞噬及降解^[20]. 由此, 该高分子造影剂选择淋巴系统的趋向性大幅度增强. 最终形成的 Dextran-DTPA-Gd 具有粒径分布范围窄以及亲淋巴性的特性.

3.4 动物体内磁共振成像实验结果

使用合成的 Dextran-DTPA-Gd (3.96 mmol/L) 及对照试剂钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)(0.50 mol/L) 分别注射入同一只家兔的右脚和左脚, 注射时间相隔 30 min , 对比二者对膈窝淋巴系统靶向强化效果, 结果如图 4(a)、(b)和(d)所示. 在另一只家兔的左右

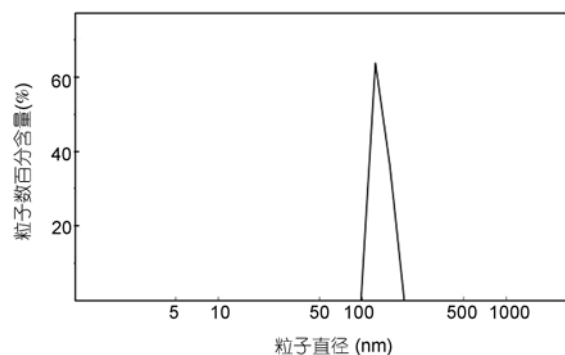


图 3 Dextran-DTPA-Gd 的分子粒径分布图

脚同时注入合成的 Dextran-DTPA-Gd(3.96 mmol/L), 结果如图 4(c)所示。

图 4 中, 通过比较图 4(a)家兔左腿(右侧)与图 4(b)家兔右腿(左侧), 二者均为注射相应的造影剂后 30 min 的显影效果图, 图 4(a)家兔左腿(右侧)血管显影清晰, 大量造影剂进入血管并代谢入膀胱, 膈窝淋巴结显影轻微; 图 4(b)家兔右腿(左侧)中膈窝淋巴结及淋巴管显影清晰, 不存在血管显影. 说明合成的造影剂 Dextran-DTPA-Gd 靶向性地进入了淋巴系统. 通过比较图 4(a)与图 4(c)的家兔双腿显影效果可以看出图 4(c)家兔双侧的膈窝淋巴结及淋巴管走向, 进一步证明 Dextran-DTPA-Gd 具有淋巴系统选择性, 并显示至第一级淋巴结(膈窝淋巴结), 而小分子的对照试剂钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)不仅进入淋巴系统, 而且在血管中持续存在. 最后通过图 4(d)表明, 注射后经过 24 h, 家兔双腿的淋巴系统及血管显影均完全消失, 双侧趾蹼间显影也已消失. 说明钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)及合成的 Dextran-DTPA-Gd 在 24 h 内均代谢完全. 综上所述, 相比于钆喷酸葡胺注射液, 高分子物质 Dextran-DTPA-Gd 不易入血管, 其体内代谢方式还有待进一步研究.

通过不同时间段内测算淋巴信号强度率评价显影效果, 结果如图 5 所示. 采用兴趣区法测量^[12]样品经皮下注射后, 增强前后不同序列图像上双侧膈窝淋巴结的信号强度(Signal Intensity of Lymph Node,

SI)和系统噪声(N). 计算淋巴结的信噪比(SNR)及信号强度率(Enhancing Rate, E%), 公式为:

$$SNR = SI/N, E\% = (SNR_{post} - SNR_{pre}) / SNR_{pre} \times 100\%$$

上述公式中 SNR_{pre} 、 SNR_{post} 分别代表平扫和增强扫描时膈窝淋巴结的信噪比. 用 E%表示膈窝淋巴结的强化程度. 可以看出 Dextran-DTPA-Gd(图 5(a))在浓度低于对照试剂钆喷酸葡胺注射液(图 5(b))的情况下, 注射后 34 min 达到最高值 314%, 钆喷酸葡胺注射液(Magnevist)注射后 20 min 到达最高值 98%, 前者对淋巴系统信号强度的增加明显优于后者.

4 结论

利用两种方法合成了高分子造影剂 Dextran-DTPA-Gd, 得出采用方法二能得到水溶性好、Gd 含量高、pH 适宜的产物. 通过不断优化, 最终确定了最佳反应条件为 Dextran 与 DTPA 的反应比例为 1:1.5, 反应时间和温度分别为 48 h 和 50 °C, 与前人工作相比, 极大地降低了反应成本, 减少了原材料的浪费. 根据粒径测定所得结果, 可见合成的 Dextran-DTPA-Gd 分子粒径分布范围窄(100~150 nm), 粒径大小与毛细淋巴管内皮细胞的开放裂隙(30~120 nm)相符^[20], 绝大部分造影剂进入毛细淋巴管, 并吸收转运至淋巴结, 既不会因为分子体积过大堵塞管道, 造成血液或淋巴液流通不畅, 也不会渗漏入组织液, 可以清晰地观察出淋巴液的引流方向. 动物实验表明, 绝大部分 Dextran-DTPA-Gd 选择性进入淋巴管, 并转运至第一级淋巴结(膈窝淋巴结), 在 Dextran-DTPA-Gd 中的 Gd 浓度(3.96 mmol/L)低于对照试剂钆喷酸葡胺注射液(0.50 mol/L)的情况下, 前者依然保持了较高的

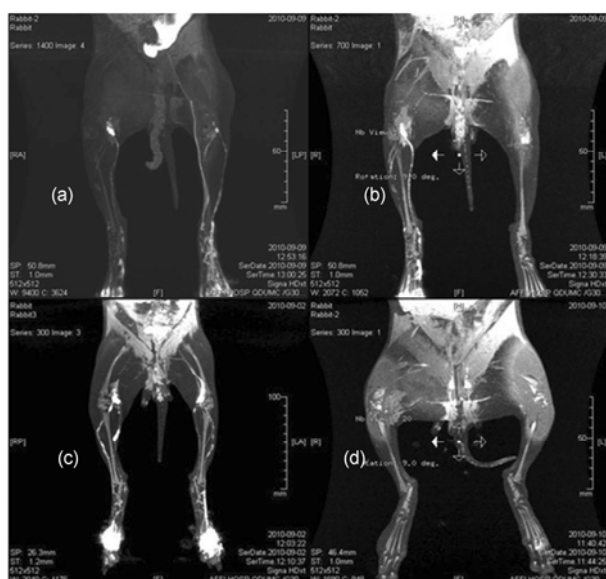


图 4 家兔腿部磁共振成像图(MRI)

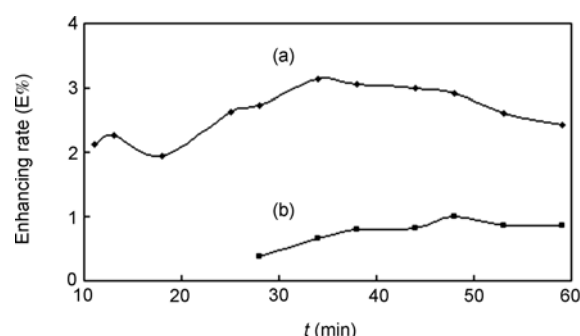


图 5 Dextran-DTPA-Gd(a)以及 Magnevist(b)对于家兔膈窝淋巴结的信号增强率-时间图

信号强度, 然而持续显影时间均未超过 24 h, 认为可以通过加深探索其在淋巴系统的代谢过程, 进一步合成具有更长显影周期和可显影多级淋巴结的造影剂.

致谢 本工作得到科技部国际合作项目(2009DFA32080)和海洋局公益项目支持(201005024), 特此一并致谢.

参考文献

- 1 Lauterbur PC. Image formation by induced local interactions: Examples employing nuclear magnetic resonance. *Nat*, 1973, 242: 190–191
- 2 Lauffer RB. Magnetic resonance contrast media. Principles and progress. *Magn Reson Q*, 1990, 6: 65–84
- 3 Caravan P, Ellison JJ, McMurry TJ, Lauffer RB. Gadolinium(III) chelates as MRI contrast agents: Structure, dynamics, and applications. *Chem Rev*, 1999, 99: 2293–2352
- 4 任镜清. 镧系元素有机化合物的电子结构和化学键. 硕士学位论文, 北京大学物理化学专业: 北京大学 1985, 2–7
- 5 俞开潮, 万福贤, 杨献, 张焱. 靶向性磁共振成像造影剂的研究进展. *化学试剂*, 2004, 26: 329–332
- 6 孙国英, 冯江华, 景凤英, 裴奉奎. 以阿拉伯半乳糖为载体的磁共振成像造影剂的研究. *高等学校化学学报*, 2002, 23: 1837–1841
- 7 裴奉奎, 孙国英, 李中峰, 李晓晶, 苏为平, 李伟生. 沙枣胶多糖修饰的顺磁性金属配合物磁共振成像造影剂. CN:1895677, 2007-01-17
- 8 Desser TS, Rubin DL, Muller HH, Qing F, Khodor S, Zanazzi G, Young SW, Ladd DL, Wellons JA, Kellar KE, Toner JL, Snow RA. Dynamics of tumor imaging with Gd-DTPA-polyethylene glycol polymers: Dependence on molecular weight. *J Magn Reson Imaging*, 1994, 4: 467–472
- 9 Duarte MG, Gil MH, Peters JA, Colet JM, Elst LV, Muller RN, Geraldes CF. Synthesis, characterization, and relaxivity of two linear Gd(DTPA)-polymer conjugates. *Bioconjugate Chem*, 2001, 12: 170–177
- 10 鄢国平, 卓仁禧. 磁共振成像造影剂的研究进展. *科学通报*, 2001, 46: 531–538
- 11 吴元魁. HSA-(Gd-DTPA)18-19 的合成及其在 MR 淋巴造影的应用研究. 博士学位论文, 中国广州第一军医大学南方医院影像中心: 第一军医大学, 2004, 64–82
- 12 吴元魁, 陈斌, 马著彬, 彭旭红, 许乙凯, 黄其鏊. 钆喷替酸葡甲胺-白蛋白制备及其在 MR 淋巴造影中的应用. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13: 7547–7550
- 13 Misselwitz B, Sachse A. Interstitial MR lymphography using Gd-carrying liposomes. *Acta Radiol Suppl*, 1997, 412: 51–55
- 14 Matthews SE, Pouton CW, Threadgill MD. Macromolecular systems for chemotherapy and magnetic resonance imaging. *Adv Drug Delivery Rev*, 1996, 18: 219–267
- 15 Emo C, Helena G, Gerhart B, Burchert J, Gatenholm P, Zee M. *BIORELATED POLYMERS: Sustainable Polymer Science and Technology*. New York: Springer, 2011
- 16 Rebizak R, Schaefer M, Dellacherie E. Polymeric conjugates of Gd³⁺-diethylenetriaminepentaacetic acid and dextran. 2. Influence of spacer arm length and conjugate molecular mass on the paramagnetic properties and some biological parameters. *Bioconjugate Chem*, 1998, 9: 94–99
- 17 Wang SC, Wikström MG, White DL, Kiavens J, Holtz E, Rongved P, Moseley ME, Brasch RC. Evaluation of Gd-DTPA-labeled dextran as an intravascular MR contrast agent. Imaging characteristics in normal rat tissues. *Radiology*, 1990, 175: 483–488
- 18 Yan GP, Xu W, Yang L, Li L, Liu F, Guo QZ. Dextran gadolinium complexes as contrast agents for magnetic resonance imaging to sentinel lymph nodes. *Pharm Res*, 2010, 27: 1884–1892
- 19 Lee TM, Cheng TH, Ou MH, Chang CA, Liu GC, Wang YM. Physicochemical characterization of the dimeric lanthanide complexes [en{Ln(DO3A)(H₂O)}₂] and [pi{Ln(DTTA)(H₂O)}₂]²⁻: A variable-temperature ¹⁷O NMR study. *Magn Reson Chem*, 2004, 42: 329–336
- 20 刘执玉. 淋巴的基础与临床. 北京: 科学出版社, 2003, 13–14

Preparation and animal experiment of lymphatic system-targeted contrast agent in magnetic resonance imaging

SUN Yue¹, WU Jing², WAN ShengBiao¹, LIU ShiEn³, FENG YuanYong², SHANG Wei² & JIANG Tao¹

1 Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education; School of Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2 Department of Oral and Maxillofacial Surgery, The Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, China

3 Department of Radiology, The Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, China

Abstract: Macromolecular conjugates of Dextran-DTPA-Gd were synthesized in two ways. One is that Dextran reacted with DTPA anhydride using DMAP as catalytic agent, the other is that Dextran reacted with DTPA using DMAP-EDC·HCl as catalytic agents. The best reaction conditions were obtained by comparing the weight content of Gd and water-solubility of the products. The product with higher content by weight of Gd (16.1%) and good water-solubility was obtained and characterized by FTIR and particle size analysis (Size distribution ranged from 100 to 150 nm, 130 nm in average). In animal experiments, the MRI of Dextran-DTPA-Gd was evaluated in comparison with the MRI of Magnevist as positive control. The signal intensities of the regional lymphatic system were qualitatively assessed by the Time-Enhancing Rate curve. The results indicated that Dextran-DTPA-Gd obviously had higher signal enhancement (maximum enhancing rate to 314%) than that of Magnevist, and can be taken up selectively by lymphatic system and showed the potential as MRI contrast agents in lymphatic system as well.

Keywords: Dextran, DTPA, Gd, macromolecular contrast agent, magnetic resonance imaging