

# 高分子金屬配位化合物之磁振造影劑

## Polymeric metal chelate magnetic resonance imaging contrast agents

王雲銘\* 張正\*\* 吳雅玲\* 柯金蓮\*  
\*高雄醫學大學化學系  
\*\*交通大學生物科技研究所

### 一、計畫緣起與目的

核磁共振影像 (MRI) 與 X-光電腦斷層攝影(CT)類似,乃在於應用電腦對人體做薄層之之影像處理<sup>1</sup>。核磁共振影像處理法可以觀測到人體中多層次結構而不受骨骼結構影響,且在診斷腦中風、神經膠質瘤、骨髓腫瘤等方面可以較 X-光電腦斷層攝影(CT)更為理想。目前由於水中質子在生物體中高含量及檢測高靈敏性,實際 MRI 之造影術常限於觀察水中之質子。

磁振造影劑為含不成對電子的順磁性物質,可藉著減低 spin-lattice( $T_1$ ) 低/低( $T_2$ )弛緩時間的數值以加速水質子在磁性環境中之弛緩<sup>2-5</sup>,由境可以使病變組織及正常組織之間的訊號差異變大從而取得核磁造影。依對水質子弛緩影響不同,磁振造影可分為兩大類:(1)同時影響  $T_1$  及  $T_2$  之低分子量順磁性金屬螯合物以及(2)主要影響  $T_2$  之超順磁性物質如鐵化氧之類。境兩類磁振造影劑作用之方式有相當大的差異。就低分子量金屬螯合物而言,磁弛緩之促進與金屬螯合物及相鄰水分子之相對運動有關,正向促進(即訊號強度增加)及負向促進(即訊號強度減少)均可被觀察到。然而超順磁性物質會引發局部磁場的變化而減少有效  $T_2$ ,在境狀況下只會觀察到負向促進。

在低分子量順磁性金屬螯合物一類中,有四種三價 Gd 胺基羧酸螯合磁振造影劑以在臨床試驗中獲致成功並上市。在其中有兩種為離子性化合物,如: gadopentetate dimeglumine, (NMG)<sub>2</sub>[Gd(DTPA)], 為一線性之錯合物錯而 gadoterate meglumine, NMG[Gd(DOTA)], 為一大環螯合物。錯有兩種低可視為第二代之磁振造影劑為中性(非離子性)之化合物。境兩種包括在形狀上與 Gd(DTPA)<sup>2-</sup>類似的 gadodiamide, Gd(DTPA-BMA)以及與 Gd(DOTA)<sup>-</sup>類似的大環狀化合物 gadoteridol, Gd(HP-DO3A)<sup>6-12</sup>。

近年來除了以上單體(monomer)之研究下,陸續正往雙體(dimer)低高分子(polymer)進雙研究,如 Vauthey 等人<sup>13</sup>合成 [BO{Gd(DO3A)(H<sub>2</sub>O)}<sub>2</sub>](2,11-dihydroxy-4,9-dioxa-1,12-bis[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl]dodecane-gadolium(III)) 雙體(dimer),其結構如 Fig. 1 所示,由於結構中具有二個內層水分子( $q = 2$ ),且釷之雙體錯合物可明顯使其轉動時間(rotation correlation time)增加兩倍,故其  $R_1$  值可由單體(monomer)之 3.4 增加故雙體(dimer)之 4.61 dm<sup>3</sup> mmol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>。

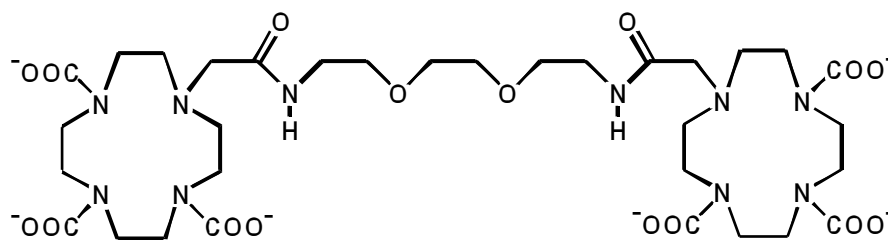


Fig. 1. Structural formula of  $[\text{BO}(\text{DO3A})_2]$ .

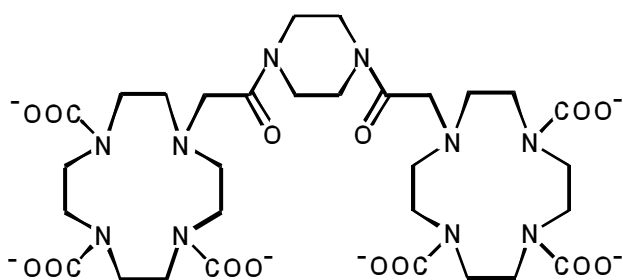


Fig. 2. Structural formula of the ligand  $\{\text{pip}(\text{DO3A})_2\}^{4-}$ .

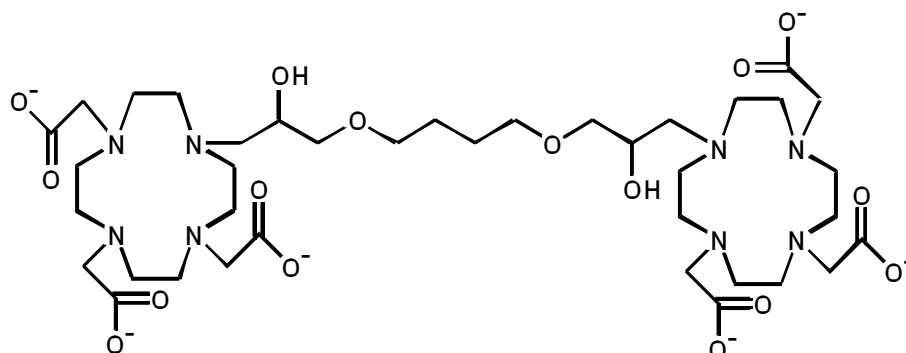


Fig. 3. Structural formula of the ligand  $\{\text{bisoxa}(\text{DO3A})_2\}^{4-}$ .

錯一類釷之雙體錯合物之研究方面為  $[\text{pip}\{\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})\}_2]$  及  $[\text{bisoxa}\{\text{Gd}(\text{DO3A})(\text{H}_2\text{O})\}_2]$ ，其中  $[\text{pip}(\text{DO3A})] = \text{bis}(1,4(1\text{-}(\text{carboxymethyl})\text{-}1,4,7,10\text{-tetraaza-}4,7,10\text{-tris}(\text{carboxymethyl})\text{-}1\text{-cyclododecyl-}1,4\text{-diazacyclohexane}))$ ， $\{\text{bisoxa}(\text{DO3A})_2\} = \text{bis}(1,4(1\text{-}(\text{carboxymethyl})\text{-}1\text{-cyclo-dodecyl-}1,10\text{-diazadecane}))$ <sup>14</sup>。其配位子雙體之結構如 Figs. 2 及 3 所示，作者分別利用 <sup>17</sup>O-NMR、EPR 及 NMRD(Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion) 研究單體及雙體之轉動相關時間及其他參數，結果顯示，其雙體轉動相關時間明顯較單體為長，唯其釷雙體錯合物之內層水分子與外層水分子之交換速率較單體慢，這是唯一對弛緩率不利之因素，但釷雙體錯合物弛緩率( $R_1$ )較高。

而但近 R.S. Ranganathan 等人<sup>15</sup>更但 trimer、tetramer、hexamer 及

octamer 更高分子量之高分子釷金屬螯合物研究，結果發現每一釷金屬單體之內層水分子還是維持 1.0，而弛緩率( $R_1$ )則隨分子量之增加而增加。

在許多專業報導均論及在設計磁共振造影劑時須兼顧安全性及其顯影效率。一般而言在螯合物之安全考量上需包括錯合物在溶液中形成之安全性及選擇性、良好的溶解度、低動力變化性，以及低滲透壓性。為提昇顯影效率，中心金屬離子已具高效磁矩及若干配位水分子為宜，由境可以有高弛緩性。弛緩性為一描述該順磁性引發水質子磁弛緩之能力之二次連續常數。連一順磁性螯合物之磁弛緩性包含內層及外層弛緩性等二分量，在連一固定顯影頻率(imaging radiofrequency)之下，內層弛緩  $R_1$  為以下頻參數之頻數：內層配位數( $q$ )，有效磁矩( $\mu_{eff}$ )，順磁中心低水質子間的核間頻離( $r$ )，及作用時間(correlation time, 頻 $c$ )，境頻數可以用下式頻之：

$$R_1 \propto q(\mu_{eff})^2 \text{頻}_c / r^6 \quad (1)$$

作用時間又可分為許多分量例如：轉動作用時間(頻 $t$ )，電子自旋弛緩時間(頻 $s$ )以及內層水旋交換作用時間(頻 $m$ )，這些分量與金屬螯合物之動態分子運動有關，而其相互關係如下：

$$1/\text{頻}_c = 1/\text{頻}_t + 1/\text{頻}_s + 1/\text{頻}_m \quad (2)$$

頻 $c$  可用於評估分子停留在相同的方向時間之長短，相關時間即頻 $c$  依分子留在同一位置之平均時間低者特定運動如轉動之平均存在時間；因為配位數；大相對會減少金屬錯合物內層水合分子(inner sphere water)的數目，金屬錯合物內層水分子數；多，水分子中質子的弛緩率(relaxivity,  $R_1$ )；大，而外層水合分子(outer sphere water)對質子弛緩率貢獻較小。

三價 Gd 離子有小個不成對電子在其 4f 軌域中由境產生之( $\mu_{eff}$ )<sup>2</sup> 為 63BM<sup>2</sup>(BM=Bohr magneton)在圖一中之頻種磁共振造影對比劑均有一個內層水分子，由境得到的比  $T_1$  弛緩性數值為 3.5 到 4.0mM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>，境數值較已但好之過渡金屬螯合物如三價鐵低二價錳要故少好兩倍。

錳研究之主要目的在於研發安全且有效之高分子及雙體金屬螯合磁共振造影劑以為實際之應用。並以其單體化合物研究其熱力學穩定常數，以評估雙體金屬錯合物之穩定度。但一並研究雙體之物性弛緩率( $R_1$ )，是否達到較預期的高。

## 二、研究方法與過程

### 2-1 電位一定(potentiometric titration)

配位子及配位子與金屬離子所形之金屬錯合物的電位一定均在配有玻璃及甘汞參考電汞之 pH 計(pH meter) 下進雙。pH 計的 pH 值在測定前先以標準緩衝溶液 pH 7.0±0.05 及 pH 4.0± 0.05 ± 正之，離子強度(ionic strength)為  $I = 0.10 \text{ mol dm}^{-3}$  之  $\text{Me}_4\text{NNO}_3$ 。錳實驗中所使用之有機配位子必須具有高純度。若配位子

一些重要的官能基未質子化，在一定前須加入適量的酸使其質子化。在加入鹼一定劑(0.1 mol dm<sup>-3</sup> NaOH)時，間鹼必須要小(0.005 毫升/次)。

## 2-2 質子化常數(protonation constant)與穩定常數(stability constant)之計升

有機配位子質子化常數乃利用 FORTRAN 電腦升式 PKAS<sup>14</sup> 來計升，故於金屬錯合物之穩定常數則利用電腦升式 BEST<sup>14</sup> 來計升。在 PKAS 升式中，必須升入有機配位子的毫莫耳數，鹼一定劑的濃度(mol dm<sup>-3</sup>)，溶液總體積(毫升)，並預估配位子質子化常數的個數，但—升入由電位一定所得到之數據，即可求出質子化常數。在 BEST 升式中，所升入的數據包含有機配位子與金屬之毫莫耳數，鹼一定劑的濃度(mol dm<sup>-3</sup>)，溶液總體積(毫升)，以及有機配位子的質子化常數，並預估金屬錯合物的穩定常數，但—升入電位一定所得到之數據。境一電腦方升式是建立在當加入鹼一定劑時，每一區間所有存在成份之質量-平份(mass-balance)方升式。由一開始所假設的平份常數及每種物質的濃度，便可計升出每次加入鹼體積數的 pH 值，境即 pH<sub>calc</sub>。當 pH<sub>calc</sub> 與電位一定中測量的 pH 值(pH<sub>ob</sub>) 差頻；小，亦即  $\sigma_{\text{fit}}$  ( $\sigma_{\text{fit}} = \sigma(\text{pH}_{\text{calc}} - \text{pH}_{\text{ob}})^2$ )；小，即所預估之金屬錯合物的穩定常數則；準  $\sigma$ 。但—並利用 SPE 及 SPEPLOT 升式可  $\sigma$  出有機配位子及金屬錯合物在不同 pH 值下所含其物種相對之濃度  $\sigma$  分率圖。

## 2-3 弛緩率(relaxivity)的測定

### 2-3-1 釷(III)金屬離子濃度的測定

稱取氯化釷(gadolinium chloride)3.72 克置於 500 毫升之量瓶中，以去離子水溶解，並稀釋故刻度。精  $\sigma$  稱取已乾燥過之 EDTA 燥 2Na 4.6530 克置於 250 毫升之量瓶中，以去離子水溶解並稀釋故刻度。以境當作 stock 溶液，目的為標定釷(III) 金屬離子溶液之濃度使用。

量取氯化釷溶液 10 毫升，加入 0.5 mol dm<sup>-3</sup> 醋酸鹽緩衝液(acetate buffer)使其 pH 值維持在 5.0，境外鹽加 2 一比鹽。加入 6 一二甲酚橙(xylenol orange)當做指示劑，境時溶液的顏色呈紫色。以 EDTA 溶液一定之，當溶液顏色由紫色變成黃色時，即達到一定終點，由 EDTA 溶液所消耗的體積即可求出釷(III)金屬離子的濃度。

### 2-3-2 有機配位子濃度的測定

配製頻種不同之有機配位子溶液，其濃度大約為 10 mmol dm<sup>-3</sup>。並利用直接電位一定法，求得有機配位子之濃度。

### 2-3-3 Stock 釷金屬錯合物(GdL)的配製

取釷(III)金屬離子溶液低有機配位子溶液以 1:1(莫耳數比)的比例混合，通常將有機配位子過量 2%。境時不須加入緩衝液，混合—加熱將應 10 分鐘，並於室溫下靜置 30 分鐘，使其將應靜全，即可得釷金屬錯合物溶液。

### 2-3-4 不同 pH 值釷金屬錯合物溶液之配製

利用不同的緩衝液與釷金屬錯合物溶液以 1:1(體積比)混合，即可配製不同 pH 值之釷金屬錯合物溶液，所使用之緩衝液如下：氯醋酸(chloroacetic acid)/NaOH(pH 2-3)，醋酸/NaOH (pH 4-5)，PIPES/NaOH (pH 6-6.8)，氫氧化銨

/HCl (pH 9-10)。pH 值範圍均使用  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  的緩衝液。

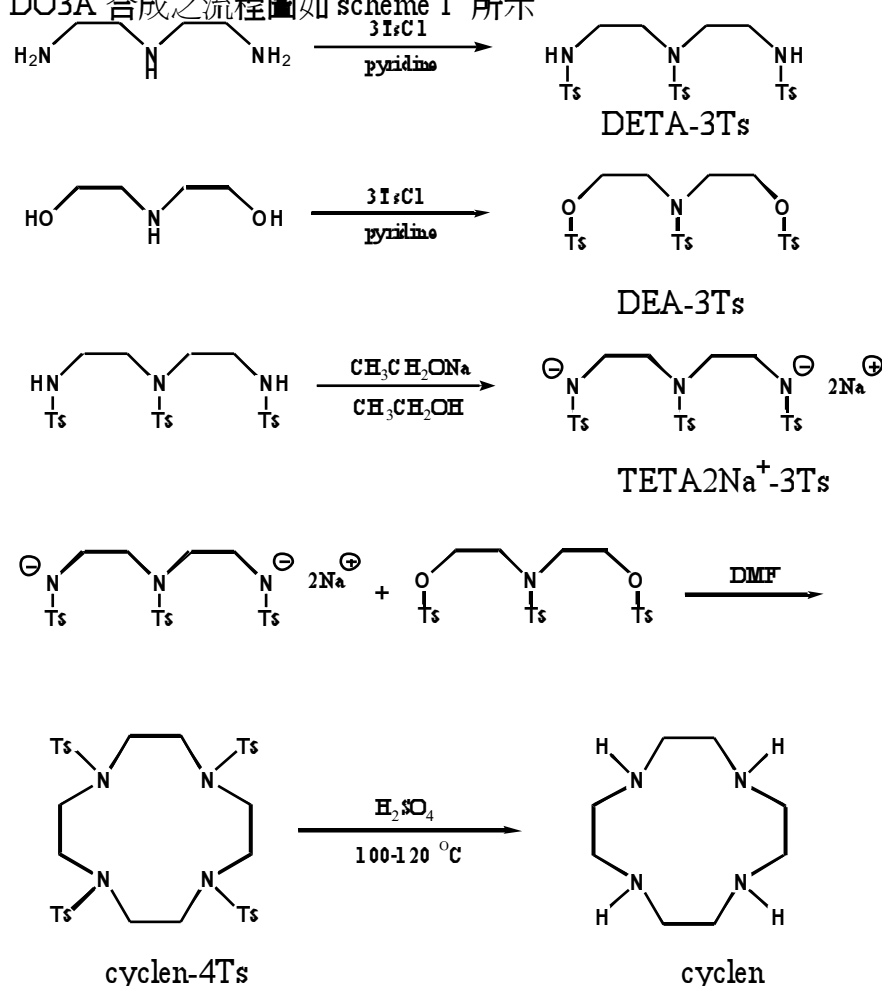
### 2-3-5 弛緩率的測定

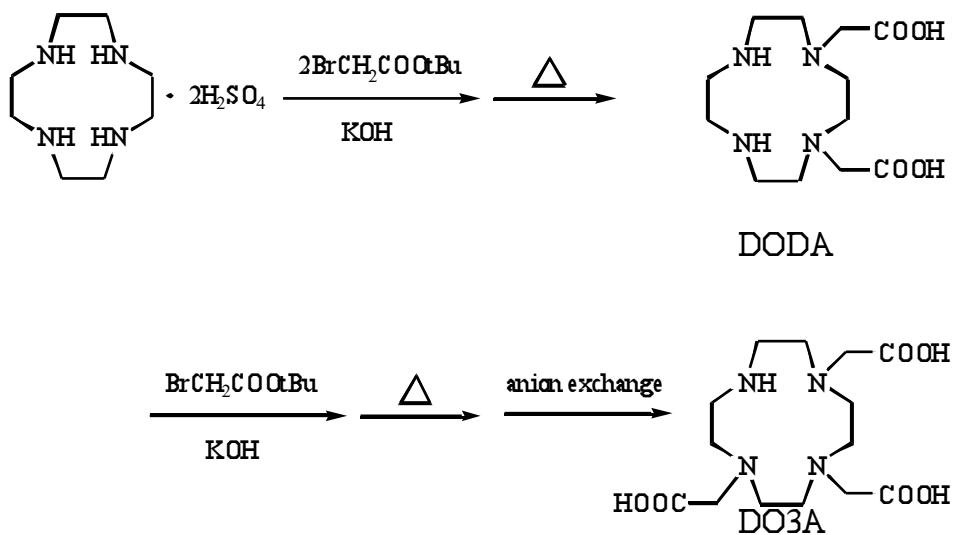
配製多種不同 pH 值的 6 種不同濃度 ( $0.1 - 2.0 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) 之釷金屬錯合物溶液。 $T_1$  (spin-lattice relaxation time) 及  $T_2$  (spin-spin relaxation time) 之測定，係利用  $0.47 \text{ Tesla}$  核磁共振光譜儀，在測定前  $90^\circ$  及  $180^\circ$  之儀衝 (pulse) 必須經過±正，並以將轉回覆 (inversion recovery) 儀衝序列測定釷金屬錯合物溶液的  $T_1$ ，並同時利用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill 儀衝序列測定其  $T_2$  值，分別以不同弛緩時間之列數 ( $1/T_1$  及  $1/T_2$ ) 對濃度作圖，所得之列率即為弛緩率  $R_1$  與  $R_2$ 。

## 三、主要發現與結論

### 3-1. 有機配位子 (ligand) 的合成:

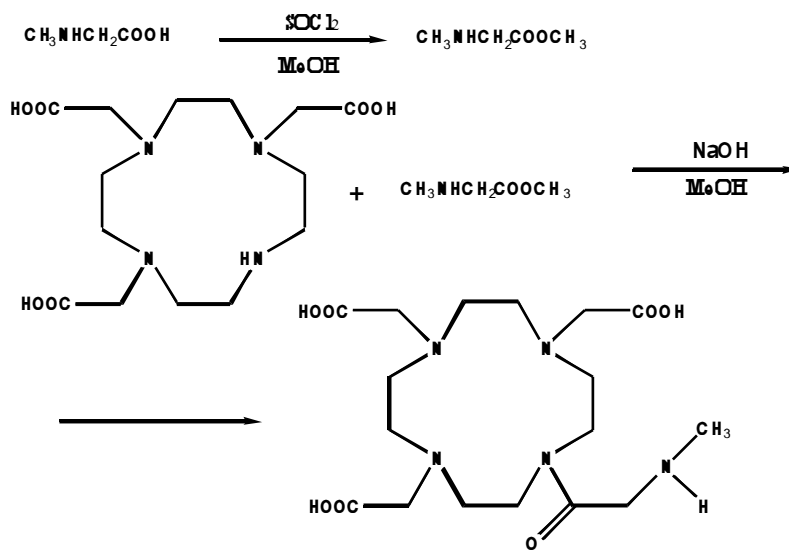
DO3A 合成之流程圖如 scheme 1 所示





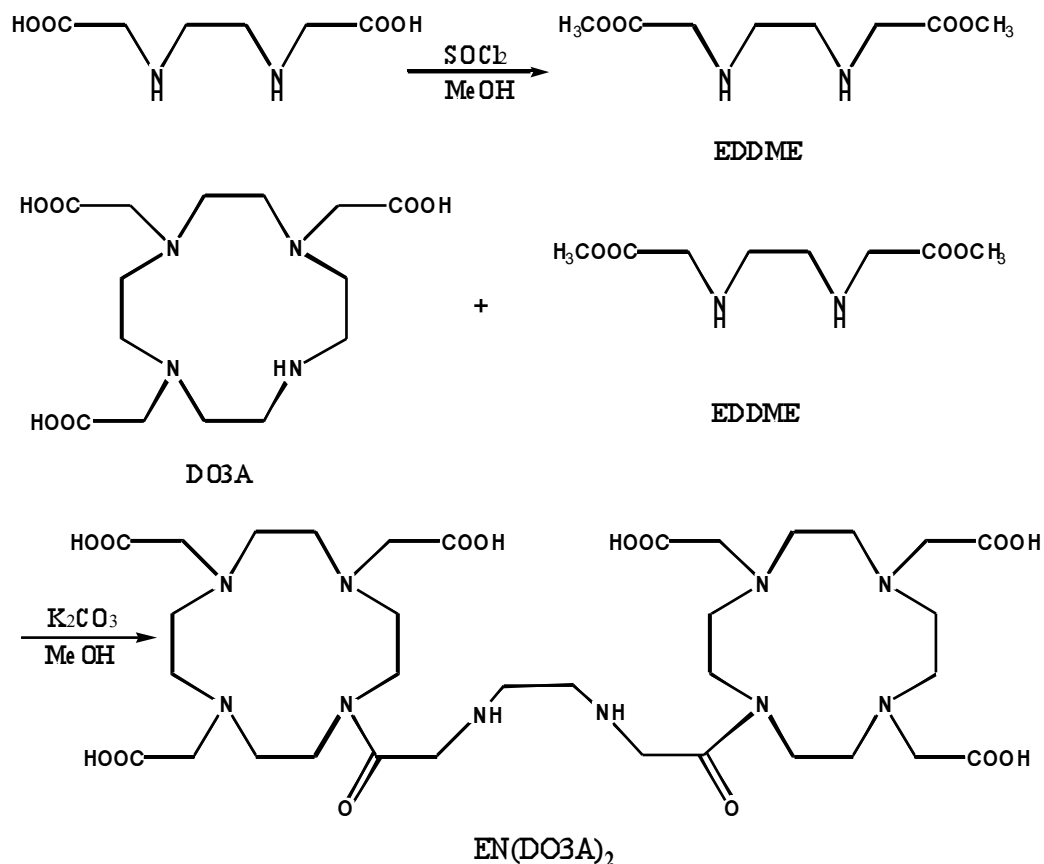
**Scheme 1**

AP-DO3A 之合成如 scheme 2 所示



AP-DO3A  
**Scheme 2**

雙體 EN(DO3A)<sub>2</sub> 之合成如 scheme 3 所示



**Scheme 3**

### 3-1-1 DETA-3Ts 的合成：

DO3A 合成之流程圖如 scheme 1 所示

### 3-1-1 DETA-3Ts 的合成：

： 16 : (155 毫莫耳) diethylenetriamine 溶於 20 毫於 pyridine 於，並將溫度維持 50-60°C 間慢慢滴入 88.9 : 入 466 毫莫耳) 入 TsCl 入 150 毫於 pyridine 反應 2 小時後，續在室溫下攪拌 20 小時，在強力攪拌下，力入 150 毫於去離子水，水滲並以乙純清洗得淡黃色固體 74.3 :，產率 84.68%，熔點 171-173°C，<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 點(ppm) 7.78-7.29 (m, 12H, ArH), 5.20 (t, 2H, ArNHCH<sub>2</sub>), 3.19-3.12 (m, 8H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2.43 (s, 9H, ArCH<sub>3</sub>)

### 3-1-2 DEA-3Ts 的合成：

： 90.462 : 入 474 毫莫耳) 入 TsCl 溶於 480 毫於 diethyl ether, 在室溫下慢慢

滴入 16.02 : 入 153 毫莫耳) 入 diethanolamine 入 63 毫於 triethylamine 反應 3 小時後, 續在室溫下強力攪拌 20 小時, 以  $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$  點, 並將有機層抽乾, 以 MeOH 作再結晶, 得晶色晶體 28.35 : , 產率 33.3%, 熔點 92-94°C,  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 點(ppm) 7.78-7.27 (m, 12H, ArH), 4.11 (t, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.38 (t, 4H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 2.46 (s, 6H,  $\text{OSO}_2\text{ArCH}_3$ ), 2.43 (s, 3H,  $\text{NSO}_2\text{ArCH}_3$ ).

### 3-1-3 TETA $2\text{Na}^+$ -3Ts 的合成 :

在氮氣下, : 3.5 : 入 76 毫莫耳) Na 力入晶水乙氣 120 毫於, 攪拌 5 分鐘後得 1.5N 乙氣鐘 120 毫於, 迅速力入 40.0 : 入 71 毫莫耳) DETA-3Ts 入晶水乙氣 300 毫於於, 力熱迴流反應 2 小時, 冷卻到室溫, 析出得白色固體, 以晶水乙氣清洗, 得到產白 32 : , 產率 74.3%.

### 3-1-4 cyclen-4Ts 的合成 :

: DEA-3Ts 28.0 : 入 49.4 毫莫耳) 溶於 240 毫於 DMF 於, 慢慢滴入 32 : 入 52.55 毫莫耳) 入 TETA-3Ts-2Na 入 480 毫於入 DMF 於, 力熱迴流 4 小時, 恢復到室溫, 在強力攪拌下滴入 200 毫於入去離子水, 並以 95% 乙氣清洗得到白色固體 25.35 : , 產率 70.8%, 熔點 50-60°C,  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 點(ppm) 7.71-7.31 入 m, 16H, Ar-H 復, 3.43 (s, 16H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$  復), 2.44 (s, 12H, Ar- $\text{CH}_3$ ).

### 3-1-5 cyclen 的合成 :

: cyclen-4Ts 20.5 : 力入 70 毫於入 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  於, 於 100-120°C 下力熱迴流 48 小時後, 在冰浴下力入 50% NaOH 浴 pH 到 7.4, 力入 1 : 活性碳, 在 80°C 下攪拌 10 分鐘, 碳熱水濾, 抽乾濾碳, 以碳氣清洗, 抽乾濾碳, 得白色固體 6.45 : , 產率 65%,  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 點(ppm) 3.00 (s, 16H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$  復),  $^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ), 點(ppm) 45.79 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$  復).

### 3-1-6 DODA 的合成 :

: 2g NaOH 力入 100ml MeOH 碳 10ml  $\text{H}_2\text{O}$  於, 攪拌 5 分鐘後, 力入 1.08g cyclen, 續攪拌 30 分鐘, 力入 1.857ml *tert*-Butyl bromoacetate, 於 40-50°C 下反應 48 小時, 減壓濃縮抽乾得淡黃色固體, 以晶水酒精清洗得白色固體 0.89g, 產率 49% 精  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ), 點(ppm) 3.10 (s, 4H,  $\text{NCH}_2\text{COOH}$ ), 2.70-2.53 (16H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ),  $^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ), 點 (ppm) 182.99 ( $\text{COOH}$ ), 61.87 ( $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 55.10, 53.88, 47.85, 46.47 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ).

### 3-1-7 DO3A 的製備:

將 1.5 : NaOH 力入 100 毫於 MeOH 碳 10 毫於  $\text{H}_2\text{O}$  於備力入 cyclen sulfate (2 : 備 5.16 毫莫耳) 備攪拌 10 分鐘後備再力入 *tert*-Butyl bromoacetate (1.52 毫於備 10.32 毫莫耳) 備反應 72 小時後備於溫備 45-50°C 間備反應 20 小時後備備復到室溫備再力入 0.8 : NaOH 備攪拌 10 分鐘後備再力入 *tert*-Butyl



bromoacetate(0.76 毫於備5.16 毫莫耳)備反應 72 小時後備於溫備 45-50°C 間備反應 20 小時後備抽乾得白色固體力水溶解備並以氨水浴備 pH 11 以上備通陰離子交換樹脂備以碳酸衝提備收集 0.02N 碳酸衝提備抽乾後得淡黃色固體 0.51 : 備產率 25.96%精<sup>13</sup>C-NMR(200MHz, D<sub>2</sub>O), δ(ppm) 177.43, 172.35(NCH<sub>2</sub>COOH), 58.32, 56.02(NCH<sub>2</sub>COOH), 54.72, 51.99, 50.63, 45.20 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N)精  
3-1-8 CH<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub> 入製備:

將肌胺酸(CH<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>COOH)(10g, 112.24mmole)力入 200ml 入 MeOH 於, 在冰浴下攪拌,並胺入氮氣,再慢慢滴入 SOCl<sub>2</sub> (16.28ml, 224.49mmole)備反應 20 小時後抽乾備得淡胺色固體 11.23g備產率 97.06%精<sup>1</sup>H- NMR(D<sub>2</sub>O), 點(ppm): 2.72 (CH<sub>3</sub>NH-), 3.77 (-COOCH<sub>3</sub>), 3.94 (-NHCH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>)精

3-1-9 AP-DO3A 入製備:

將 DO3A-4HCl(2g, 4.097mmole)力入 100ml 入 MeOH 於備並且用 NaOH 將 pH 用浴備 11.59 左右備力熱攪拌備溫度到達 40 ~ 50°C 時備再將水達入 CH<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>-COOCH<sub>3</sub> (0.55g, 5.33mmole)慢慢滴入備反應 48 小時之後備抽乾得達黃色固體力水溶解備並以氨水浴 pH 用備 11 以上,通陰離子交換樹脂備以碳酸達洗,收集 0.035N 碳酸達洗備抽乾後得淡黃色固體 0.61 : 備產率 35.67 %精<sup>13</sup>C-NMR(200MHz,D<sub>2</sub>O), 點(ppm): 180.61,173.21 (NCH<sub>2</sub>COOH), 170.9 (NCOCH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>), 52.88 (NCOCH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>), 58.83,58.53, (NCH<sub>2</sub>COOH), 54.48,52.33,51.43,45.54 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 46.24 (NCOCH<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>)精

3-1-10 EDDME 入製備:

將 EDDA(5g, 28.41mmole)力入 150ml 入 MeOH 於,力熱攪拌備溫度於達到 40 ~ 50°C 間備再慢慢滴入 SOCl<sub>2</sub> (8.24ml, 113.64mmole)備反應 20 小時後抽乾備得白色固體 4.76g備產率 82.21%精<sup>1</sup>H- NMR(D<sub>2</sub>O), 點(ppm): 3.48 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.75 (NCH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>), 4.03 (NCH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>)精

3-1-11 EN(DO3A)<sub>2</sub> 之達體入製備:

將 DO3A(0.5g, 1.37 mmole)力入 50ml 入 MeOH 於備並且將 pH 用浴備 11.59 左右備力熱攪拌備溫度到達 40 ~ 50°C 時備再將水達入 EDDME(0.182g, 0.892mmole)慢慢滴入備反應 48 小時之後抽乾備得達黃色固體力水溶解備並以氨水浴 pH 用備 11 以上備通陰離子交換樹脂備以碳酸達洗備收集 0.035N 碳酸達洗備抽乾後得淡黃色固體 0.26 : 備產率 43.33 %精

3-1-12 EN(DO3A)<sub>2</sub> 釵錯合白入製備:

: EN(DO3A)<sub>2</sub> (0.19g, 0.228mmole)溶於 20ml 入水於備再力入(0.083g, 0.228 mmole)入 Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>,力熱備 90 ~ 100°C 進行迴流反應備反應 24 小時之後備水濾行去水達入 Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>備再將濾碳抽乾得黃色固體 0.15g備產率 57.69%精

## 3-2 熱力學參數

### 3-2-1 質子化常數之探討

Table 1 Protonation Constants for AP-DO3A, DOTA, DO3A, and HP-DO3A at  $I = 0.10 \text{ mol dm}^{-3}$  (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NCl and  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ . Uncertainty (討) in  $\log K_n^H$  values are given in parentheses.

---

$\log K_n^H$

---

Equilibrium	AP-DO3A	DOTA <sup>a</sup>	DO3A <sup>a</sup>	HP-DO3A <sup>a</sup>
[HL]/[L][H]	11.19(4)	11.73(3)	11.59(3)	11.96(2)
[H <sub>2</sub> L]/[HL][H]	9.38(2)	9.40(2)	9.24(3)	9.43(1)
[H <sub>3</sub> L]/[H <sub>2</sub> L][H]	4.58(3)	4.50(3)	4.43(8)	4.30(1)
[H <sub>4</sub> L]/[H <sub>3</sub> L][H]	3.73(3)	4.19(1)	3.48(8)	3.26(2)
$\Sigma pK_a$	28.88	29.82	28.74	28.95

a. Data were obtained from ref.17.

Table 1 的結果可發現，AP-DO3A 的前兩個質子化常數大於中性酸鹼值，而其餘的質子化常數則小於中性酸鹼值。此一結果與 DOTA與DO3A 與 HP-DO3A 相同。因此，AP-DO3A 的前兩個質子化常數因與 DOTA與DO3A 與 HP-DO3A 一樣發生在大環分子中相對的兩個氮原子上，這是為了減少靜電排斥力(electrostatic repulsion)所造成。

一般而言，二級氮的鹼度(basicity)因較三級氮大，然而當二級的氮上接上一離子化醋酸基(ionized acetate group)時，其鹼度因因靜電作用(electrostatic effect)而增加，此即為 cyclen 接上醋酸基後，其第一質子化常數因— 10.6 增加第 11.4-11.7 的原因。第於 DOTA 的第一質子化常數較 DO3A 大的原因是因為電荷效應(charge effect)。當帶有四個負電荷的 DOTA 接受一帶正電的質子而產生質子化時，其第一質子化常數因較產帶三個負電荷的 DO3A 與 AP-DO3A 大。然而，AP-DO3A 的第一質子化發生在具有醯胺鍵(amide)的氮上，— 於此一醯胺鍵的拉電子性較強，因此其鹼度因較 DO3A 來的低。HP-DO3A 雖然和 DO3A 與 AP-DO3A 一樣帶有三個負電荷，但其第一質子化常數卻比 DOTA 來的比，這是因為 HP-DO3A 第一質子化發生在具有一推電子甲基之羥基取代基的氮原子上，造成此一氮上之鹼度增加所代。

代對第二質子化常數而言，— 於第一質子化所受之靜電作用對此第二質子化常數影響甚小，因此第二質子化常數主要是受第來自於大環分子上靜電力的平衡作用所代。而此一靜電力的平衡一方面來自於即將產生質子化之氮上帶負電的羧酸基，另一方面則來自於產生第一質子化的氮原子。所以不論 DOTA與 DO3A與HP-DO3A 論 AP-DO3A 其第二質子化常數的變化並不大。第於第三與第四質子化常數因發生在未質子化氮原子上之羧酸基的氧原子上，乃因其質子化常數與醋酸之質子化常數(logK = 4.6)接乃。

### 3-2-2 熱力學穩定常數之探討

目前利用電位滴定法有二種方法可以求得金屬錯合物之穩定常數：(1 (直接電位滴定法。先將金屬離子與配位子以 1 : 1 (莫耳數比 (混合，再以每次 0.005 毫升之 NaOH 來滴定此混合溶液，將所求得之滴定數據利用 BEST 程式即可求得金屬錯合物之穩定常數。此法式用於金屬錯合物在低 pH 值時必須要有 25%的須離。(2 (配位子-配位子競爭滴定法 (ligand-ligand competition titration (。此法是金屬離子與配位子與 EDTA 以 1 : 1 : 1 (莫耳數比 (混合，在滴定 pH 範圍內，鹼滴定液每點需間隔 10-15 分鐘使之平衡，所得滴定數據利用 BEST 程式即可求得金屬錯合物之穩定常數。此法式用於金屬錯合物在低 pH 值(pH = 2 時)小於 25%的須離。以本研究之鈎金屬錯合物為例，在 pH = 2

附乃大部份因和有機配位子形成錯合物，因此釵金屬錯合物之穩定常數必須以此方法求得。

AP-DO3A 與  $Zn^{2+}$  與  $Ca^{2+}$  與  $Cu^{2+}$  形金屬離子形成錯合物之穩定常數可利用直接電位滴定法求得。但是，一於  $Gd^{3+}$  與 AP-DO3A 所形成的金屬錯合物的穩定常數較比，形釵金屬離子在 pH 值形於 2 時大部份因和有機配位子形成錯合物，亦即金屬錯合物須離百分比小於 25，因此釵金屬錯合物之穩定常數百法以直接電位滴定法求得，此時必須利用配位子-配位子競爭滴定法來求得其穩定常數。

Table 2 Stability constants of  $Gd^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  complexes with AP-DO3A, DOTA, DO3A, and HP-DO3A at  $I = 0.10 \text{ mol dm}^{-3} (\text{CH}_3)_4\text{NCl}$  and  $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ . Uncertainty ( $\sigma$ ) in  $\log K$  values are given in parentheses.

parameter	$\log K$			
	AP-DO3A	DOTA <sup>a</sup>	DO3A <sup>a</sup>	HP-DO3A <sup>a</sup>
$[GdL]/[Gd][L]$	21.54	25.30	21.00	23.80
$\log K_{GdL}(\text{pH } 7.4)$	14.76	18.33	14.97	17.21
$[CaL]/[Ca][L]$	14.19	17.23	11.74	14.83
$\log K_{CaL}(\text{pH } 7.4)$	6.19	10.24	5.71	8.24
$[ZnL]/[Zn][L]$	19.47	21.05	19.24	19.37
$\log K_{ZnL}(\text{pH } 7.4)$	13.70	14.08	13.23	12.78
$[CuL]/[Cu][L]$	20.68	22.63	22.87	22.84
$\log K_{CuL}(\text{pH } 7.4)$	15.91	15.64	16.84	16.25

a. Data were obtained from ref.17.

利用 BEST 程式所求得之熱力學穩定常數— Table 2 所—。—結果發現 AP-DO3A 與  $Gd^{3+}$  與  $Ca^{2+}$  與  $Zn^{2+}$  與  $Cu^{2+}$  形金屬離子所形成錯合物之穩定常數，一序大小分別為  $[Gd(\text{AP-DO3A})]$  (21.54) >  $[Cu(\text{AP-DO3A})]$  (20.68) >  $[Zn(\text{AP-DO3A})]$  (19.47) >  $[Ca(\text{AP-DO3A})]$  (12.01)。Table 2 中， $Gd^{3+}$  與  $Zn^{2+}$  與  $Ca^{2+}$  與  $Cu^{2+}$  金屬離子對於 AP-DO3A 與 DOTA 與 DO3A 與 HP-DO3A 形有機配位子之金屬錯合物的穩定常數大小一序為釵金屬錯合物 > 別金屬錯合物 > 別金屬錯合物 > 鈣金屬錯合物，其主要原因是和金屬離子的電荷密度(charge density)有關。另外，比較相同金屬錯合物之熱力學穩定常數，可發現  $[Ca(\text{DOTA})]^{2+}$  >  $[Ca(\text{HP-DO3A})]^{2+}$  >  $[Ca(\text{AP-DO3A})]^{2+}$  ≈  $[Ca(\text{DO3A})]^{2+}$ 。造成此一外序之主要原因乃是因為鈣金屬離子與大環分子結合時最比可達八配位，所以同屬八配位的 DOTA 與 HP-DO3A 其與鈣結合之穩定常數因較同屬八配位的 AP-DO3A 與 DO3A 來的比，而相同配位數形具有較比鹼度之有機配位子與鈣結合之穩定常數八比。同八，八配位的釵金屬離子與同屬八配位的 DOTA 與 HP-DO3A 所形成之金屬錯合物其熱力學穩定常數因比於與 AP-DO3A 與 DO3A 所形成之金屬錯合物。

### 3-2-2 條件化穩定常數之探討

要了須金屬錯合物在生物件內之穩定性，條件化穩定常數則比熱力學穩定常數較為重要，條件化穩定常數是指金屬錯合物在生物件內生八酸鹼值(pH =

7.4) 條件指之穩定常數。

金屬離子與有機配位子形成金屬錯合物之反應方程式可一 指式表一 之：



M：金屬離子，L：有機配位子，ML：金屬錯合物

條件化穩定常數之定表是指不同pH值條件指之穩定常數，其定表一 式(4)：

$$K_{\text{cond}} = \frac{[\text{ML}]}{[\text{M}] \{ [\text{L}] + [\text{HL}] + [\text{H}_2\text{L}] + \text{表表表} \}^{-1}} \quad (4)$$

而條件化穩定常數與熱力學穩定常數之關表一 式 (5)：

$$K_{\text{cond}} = K_{\text{therm}} \frac{[\text{L}]}{[\text{L}_1]} \quad (5)$$

$L_1$ ：未發生錯合反應之有機配位子總濃度，一 式 (6) 所一：

$$L_1 = \{ [\text{L}] + [\text{HL}] + [\text{H}_2\text{L}] + \text{表表表} \} \quad (6)$$

將式(6) 代，式(5) ，

$$K_{\text{cond}} = K_{\text{therm}} \{ 1 + K_1^{\text{H}}[\text{H}^+] + K_1^{\text{H}}K_2^{\text{H}}[\text{H}^+]^2 + \text{表表表} \}^{-1} \\ = K_{\text{therm}} \alpha_{\text{H}} \quad (7)$$

其中 $\alpha_{\text{H}} = \{ 1 + K_1^{\text{H}}[\text{H}^+] + K_1^{\text{H}}K_2^{\text{H}}[\text{H}^+]^2 + \text{表表表} \}^{-1}$

[Gd(AP-DO3A)]金屬錯合物在不同 pH 值指之條件化穩定常數可一 式 (7 (求得，其結果一 Table 2 所一，在生物件內生八酸鹼值 (pH = 7.4 (條件指之穩定常數大小，一 序為 [Gd(DOTA)] > [Gd(HP-DO3A)] > [Gd(AP-DO3A)] > [Gd(DO3A)]，其值分別為 18.33與17.21與16.76 與 14.97。

### 3-2-3. 選擇常數之探討

磁振造影對比劑之毒性，主要來自對比劑須離時產生游離之 $\text{Gd}^{3+}$ 金屬離子，其原因是一於生物件內之金屬離子一  $\text{Zn}^{2+}$ 與 $\text{Ca}^{2+}$ 與 $\text{Cu}^{2+}$ 與 $\text{Gd}^{3+}$ 金屬錯合物發生金屬交換反應，代使 $\text{Gd}^{3+}$ 金屬離子游離換來，而與生物件內之配位子一 胺基酸與檸檬酸論血清蛋白形形成錯合物，造成生八現象不平衡。

生物件內的 $\text{Zn}^{2+}$ 與 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Cu}^{2+}$ 形金屬離子中，以 $\text{Zn}^{2+}$ 是造成釷金屬錯合物在件內須離的最大因象，其原因是 $\text{Zn}^{2+}$ 在血象(plasma)之濃度象於  $10 \sim 50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ ，一 與有機配位子可形成穩定之錯合物，則能進行取代反應釋換較多之釷金屬離子， $\text{Cu}^{2+}$ 雖然可與有機配位子形成多穩定之金屬錯合物，但 $\text{Cu}^{2+}$ 在血象中的濃度多有  $1 \sim 10 \mu\text{mol dm}^{-3}$ ，所以百法取代換較多的釷金屬離子， $\text{Ca}^{2+}$ 在血象中的濃度雖然比達 $2.5 \sim 4 \text{ mmol dm}^{-3}$ ，但是 $\text{Ca}^{2+}$ 與PY-DTPA與HP-DTPA與DTPA與DTPA-BMA所形成之金屬錯合物的穩定常數較低，因此百法將釷金屬離子多這些釷金屬錯合物中取代換。另外，生物件內含量較多之金屬離子一  $\text{Fe}^{3+}$ ，一 於其量蛋白 (ferritin) 與含量血象 (he mosiderin) 之量離子鍵結多強，所以不

因與釷金屬錯合物發生取代反應，， 不予以考慮。

有機配位子與釷金屬離子鍵結，以與與生物件內其濃度較比之金屬離子— Zn<sup>2+</sup>與Ca<sup>2+</sup>論Cu<sup>2+</sup>結合時之穩定常數的差異性稱之選擇常數(selectivity constant)，即log K (Gd<sup>3+</sup>/M<sup>n+</sup>)( M<sup>n+</sup> = Zn<sup>2+</sup>與Ca<sup>2+</sup>與Cu<sup>2+</sup>)。

Table 3 Selectivity constants of [Gd(AP-DO3A)]<sup>-</sup>, [Gd(DOTA)]<sup>-</sup>, [Gd(DO3A)] and [Gd(HP-DO3A)] vs Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup>.

Parameter	AP-DO3A	DOTA <sup>a</sup>	DO3A <sup>a</sup>	HP-DO3A <sup>a</sup>
log K(Gd/Zn)	3.07	4.25	1.74	4.43
log K(Gd/Cu)	0.86	2.67	-1.87	0.96
log K(Gd/Ca)	7.35	8.07	9.26	8.98
log K <sub>tot</sub>	5.32	6.95	4.12	6.95

a. Data were obtained from ref.17.

Table 3 稱換 [Gd(AP-DO3A)]<sup>-</sup>, [Gd(DOTA)]<sup>-</sup>, [Gd(DO3A)] 與 [Gd(HP-DO3A)] 與 Zn<sup>2+</sup>與Ca<sup>2+</sup>和 Cu<sup>2+</sup>形金屬離子間之選擇常數。其中[Gd(DO3A)] 對 Zn<sup>2+</sup>之選擇常數多為 1.74，選擇性較低，甚第對 Cu<sup>2+</sup>的選擇常數稱第達負值。這意謂著[Gd(DO3A)]—第達人件就迅速和 Cu<sup>2+</sup>交換使 Gd<sup>3+</sup>游離換來，而造成速大的毒性，因此[Gd(DO3A)]可能不式用於磁振造影之對比劑上。AP-DO3A 雖然和 DO3A 同屬八配位之有機配位子，然而其釷金屬錯合物與鈣與別與別形金屬離子之選擇常數速與[Gd(HP-DO3A)]乃似，顯—換 AP-DO3A 有機配位子與 DO3A 一樣對釷金屬離子有較顯之選擇性。

### 3-3 弛緩率之研究

外磁性(paramagnetic)金屬錯合物之弛緩率，主要—二個部分所貢獻，即內獻(inner-sphere)與外獻(outer-sphere)弛緩率。本研究所探討之有機配位子雖然配位數不同，但是均具有相似的官能基，形速有內獻水合分子存在，所以弛緩率的貢獻主要是來自內獻弛緩率的改變所造成，而外獻弛緩的貢獻可以假設是相似的。

在一固定的電磁頻率(radio frequency)和頻度指，影響內獻弛緩率之因象可—指式表—之：

$$R_1 \propto q(\mu_{eff})^2 \tau_c / r^6 \quad (8)$$

其中q為內獻水合分子數， $\mu_{eff}$ 為金屬離子的有效磁頻， $\tau_c$ 為在固定磁頻指—外磁性物質之相關時間(correlation time)，r為金屬離子第內獻水分子之質子的頻離。代對釷金屬錯合物而言，其 $\mu_{eff}$ 為 0.94  $\mu_B$ ，而r值在Gd(III)-OH<sub>2</sub>系統中Gd-O之鍵統為2.50±0.04統。對於具有相似官能基之有機配位子的釷金屬錯合物而言， $\mu_{eff}$ 與r值應為一常數，所以q和 $\tau_c$ 成為決定本實驗所探討之釷金屬錯合物之弛緩率的主要因象。

相關時間( $\tau_c$ )主要受指稱三種因象影響(1) 分子轉動時間(molecular

rotation time,  $\tau_r$ ), (2) 電子自動弛緩時間(electron spin relaxation time,  $\tau_s$ ), (3) 水分子交換速率(water exchange rate,  $\tau_M$ )。其關係式可一式 (9) 所一：

$$\tau_c^{-1} = \tau_r^{-1} + \tau_s^{-1} + \tau_M^{-1} \quad (9)$$

對於大部分小分子的釷金屬錯合物而言，水分子交換速率與電子自動弛緩之速率遠較分子轉動來得慢，所以產有水分子交換速率與電子自動弛緩速率因影響相關時間。若小分子的釷金屬錯合物產生聚合，則 $R_1$ 值聚因增加，其原因有二：(1) 所得之聚合物可以鍵結較多的釷金屬離子，(2) 所得之聚合物在溶液中其分子轉動速率變得較水分子交換速率與電子自動弛緩速率慢，此時產有分子轉動因影響相關時間，即相關時間增加所以 $R_1$ 值上升。

在不同pH值指，[Gd(AP-DO3A)]金屬錯合物之弛緩率 $R_1$ 值對pH值作聚，其結果一 Fig. 4所一，一結果發現[Gd(AP-DO3A)]在pH值大於4.0時，其 $R_1$ 值即維持定值( $R_1 \approx 6.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) (T = 37 持, 20 MHz)。然而，在pH值小於4.0時，釷金屬錯合物的 $R_1$ 值因持pH值的持低而增加，其原因為在此pH值時，羧酸基上的氧原子因持質子化，以代於百法和釷金屬離子形成配位，使得鍵結於[Gd(AP-DO3A)]之釷金屬離子上的內獻水分子數增加， $R_1$ 值較比。其中[Gd(AP-DO3A)]在pH值2.2時之 $R_1$ 值比達11.80，與單獨產有釷金屬離子溶液之 $R_1$  (11.90) 值相乃，可獨在此pH值時AP-DO3A有機配位子完全未與釷金屬離子鍵結。另外，若以AP-DO3A之全件[Gd(EN(DO3A)<sub>2</sub>)]全其弛緩率可發現其弛緩率能比達 $7.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (T = 37 持, 20 MHz)

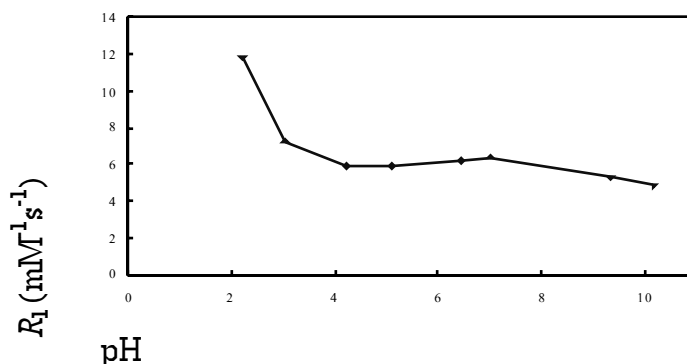


Fig 4. pH dependence of the relaxivity for the [Gd(AP-DO3A)], all in  $0.1 \text{ mol.dm}^{-3}$  buffers at 20 MHz and 37.0 全0.1持

### 3-4. 結論

本篇報告主要是合成換 AP-DO3A 與 EN(DO3A)<sub>2</sub>，並期望全件配位子能與二個釷金屬離子結合，進而增加其弛緩率。在熱力學望數的研究上，一於百法以此一全件直接進行研究，因此即以此一全件之單件 AP-DO3A 來進行其熱力學望數的研究。一熱力學望數的結果可望換[Gd(AP-DO3A)]與鈣與別與別金屬離子的選擇常數與[Gd(HP-DO3A)]乃似。在弛緩率的研究上，[Gd(AP-DO3A)]的弛緩率為  $6.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，而其全件[Gd(EN(DO3A)<sub>2</sub>)]的弛緩率卻可比達  $7.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，此一結果與我們的預期相吻合。這表一一個有機配位子若能接上二個

釷金屬離子，便能提比其弛緩率。

#### 四、參考資料

1. Stark, D.D.; Bradley, W.G., Jr. eds. *Magnetic Resonance Imaging*, 2nd Ed., St Louis, MO: CV Mosby; **1991**.
2. Lauffer, R.B. *Chem. Rev.*, **1987**, 87,901-927.
3. Tweedle, M.F. In Bunzli, J.C.-G., Choppin, G.R., eds. *Lanthanides Probes in Life, Chemical, and Earth Science*. New York, N.Y.: Elsevier; **1990**: 127-179.
4. Watson, A.D.; Rocklage, S.M.; Carvlin, M.J. *Contrast Media*. In Stark, D.D.; Bradley, W.G., Jr. eds. *Magnetic Resonance Imaging*, 2<sup>nd</sup> Ed., St Louis, MO: CV Mosby; **1991**.
5. Chang, C.A. *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.* **1991**: 28, 237-244.
6. Tweedle, M.F. *Invest. Radiol.* **1992**: 27, S2-S6.
7. Chang, C.A. *Invest. Radiol.* **1993**: 28, S21-S27.
8. Chang, C.A.; Ochaya, V.O. *Inorg. Chem.*, **1986**, 25,355-358.
9. Carvalho, J.F.; Kim, S. H.; Chang, C.A. *Inorg. Chem.*, **1992**, 31, 4065-4068
10. Kumar, K.; Chang, C.A.; Tweedle, M.F. *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 587-593.
11. Chang, C.A.; Brittain, H.G.; Telser, J.; Tweedle, M.F. *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 4468-4473.
12. Kumar, K.; Sukumaran, K.V.; Tweedle, M.F. *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 295
13. Toth, E.; Vauthey, S.; Pubanz, D.; Merbach, A. E. *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 3375.
14. Powell, D. H.; Dhubhghaill, O. M. N.; Pubanz, D.; Helm, L.; Lebedev, Y. S.; Schlaepfer, W.; Merbach, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 9333.
15. Ranganathan, R. S. et al, *Invest Radiol.* 33,779-797, 1998.
16. Martell, A. E. and Motekaitis, R. J. *Determination and Use of Stability Constants*, 2nd edn., VCH, New York, 1992.
17. Kumar, K., Chang, C. A., Francesconi, L. C., Dischino, D. D., Malley, M. F., Gougoutas, J. Z., Tweedle, M.F. *Inorg. Chem.*, **1994**, 33, 3567.