

基于 *N*-羧甲基壳聚糖钆基磁共振造影剂的制备及性能

张长丽^{*,1,2} 顾费晨¹ 陈昌云¹ 陆国飞¹ 蔡雯希¹

(¹ 南京晓庄学院生物化工与环境工程学院, 南京 211171)

(² 南京大学配位化学国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 通过在 DTPA 配体上修饰 *N*-羧甲基壳聚糖 (NCMCS) 增加配体的分子量, 构建配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)。测定了 Gd-(DTPA-NCMCS) 及对照组 Gd-DTPA 与 Gd-(DTPA-CS) 不同浓度的弛豫时间 T_1 , 拟合了配合物的纵向弛豫率 r_1 , 结果表明 Gd-(DTPA-NCMCS) 纵向弛豫能力明显强于 Gd-DTPA, 也高于配合物 Gd-(DTPA-CS), 浓度梯度的体外加权成像图清晰地观察到配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 比 Gd-DTPA、Gd-(DTPA-CS) 对应水溶液的信号更强。MTT 法测定了 Gd-(DTPA-NCMCS) 的 IC_{50} 值为 $568 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 表现出良好的生物相容性。Gd-(DTPA-NCMCS) 可作为潜在的磁共振造影剂。

关键词: 磁共振造影; 钆基造影剂; 羧甲基壳聚糖

中图分类号: O614.33*9

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2014)12-2775-06

DOI: 10.11862/CJIC.2014.394

Preparation and Properties of *N*-Carboxymethyl Chitosan Gadolinium Contrast Agent

ZHANG Chang-Li^{*,1,2} GU Fei-Chen¹ CHEN Chang-Yun¹ LU Guo-Fei¹ CAI Wen-Xi¹

(¹ School of Biochemical and Environmental Engineering, Nanjing Xiaozhuang College, Nanjing 211171, China)

(² State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Complexes Gd-DTPA, Gd-(DTPA-CS) and Gd-(DTPA-NCMCS) were synthesized. The relaxation rate r_1 of Gd-(DTPA-NCMCS), Gd-DTPA and Gd-(DTPA-CS) show that the longitudinal relaxation ability of Gd-(DTPA-NCMCS) is stronger than Gd-DTPA, and it is also higher than that of complex Gd-(DTPA-CS). T_1 -weighted images *in vitro* vs concentrations are consistent with the relaxation rates of the complexes. The IC_{50} value of Gd-(DTPA-NCMCS) is $568 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Complex Gd-(DTPA-NCMCS) shows a good biocompatibility; and it can be used as a potential magnetic resonance imaging contrast agent.

Key words: magnetic resonance imaging; gadolinium contrast agent; carboxymethyl chitosan

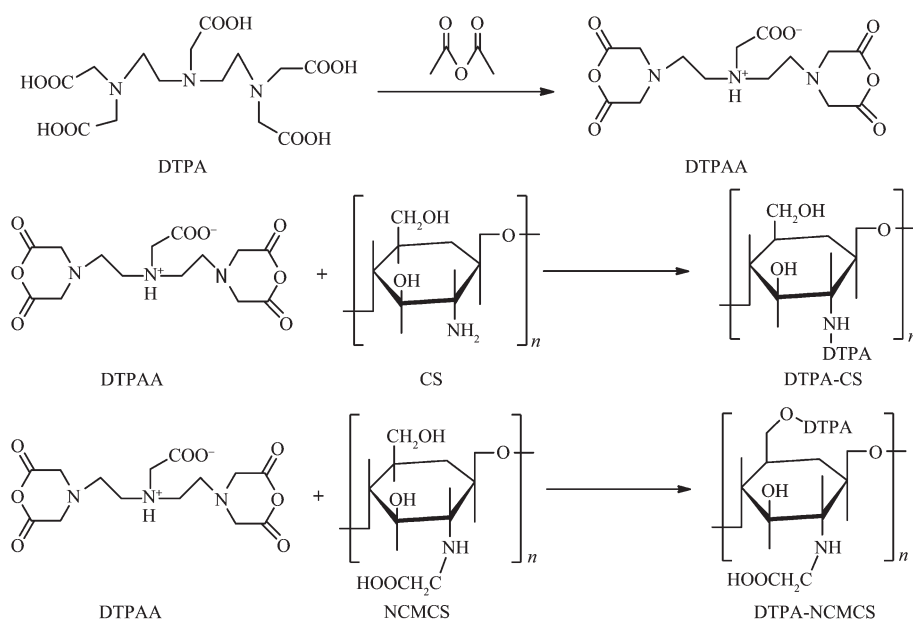
磁共振成像 (Magnetic resonance imaging, MRI) 具有安全、快速及高分辨率显示不同组织的精细对比等特点, 广泛用于医学诊断领域^[1-4]。磁共振造影剂是磁共振成像的重要辅助工具, 可提高成像质量并扩展诊断范围^[5]。目前临床所用造影剂主要为钆基配合物 (如 Gd-DTPA, Gd-DOTA), 这类造影剂具有稳定性高、水溶性好及渗透压低等优点^[6], 但其在体

内停留时间短、易解离、弛豫率较低^[7]。配体分子量的增加有助于配合物弛豫率的提高^[8]。壳聚糖 (CS) 是来源广泛的天然大分子, 生物相容性好, 壳聚糖经羧甲基化反应后生成的一类壳聚糖衍生物称为羧甲基壳聚糖 (carboxymethyl chitosan, CMCS)。羧基的引入使羧甲基壳聚糖的水溶性和金属离子结合能力大大提高, 其中 *N*-羧甲基壳聚糖 (NCMCS) 可作为

收稿日期: 2014-07-12。收修改稿日期: 2014-10-21。

国家自然科学基金 (No.21401106), 江苏省自然科学基金 (No.BK20140090), 南京晓庄学院校级科研项目 (No.2013NXY03, 2011NXY64) 资助项目。

*通讯联系人。E-mail: carbon314@163.com



Scheme 1 化合物 DTPAA、DTPA-CS 及 DTPA-NCMCS 的合成路线

Scheme 1 Synthesis of compounds DTPAA, DTPA-CS and DTPA-NCMCS

一种性能优良的造影剂成分^[9]。

本文将 NCMCS 与 DTPA 共价链接形成新配体,不仅 DTPA 对 Gd(III)具有很强配位能力,壳聚糖主链糖环侧面大量的羟基和氨基也可能会对 Gd(III)形成附加配位作用^[10],使该金属配合物在近生理条件下具有良好的稳定性。另外,聚合壳聚糖在水中以缠绕团聚的分子构象存在^[11],这更有利于防止金属离子外泄,从而实现降低毒性的目的。此外,引入较大分子量的 NCMCS 可增加配合物的分子量,从而增加配合物的弛豫性能。

本文用红外光谱对合成的配体及配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)和 Gd-(DTPA-CS)进行了表征,用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 分析了配合物中 Gd(III)的含量。进而研究了配合物的生物相容性和纵向弛豫性能,初步探讨了其作为潜在磁共振成像造影剂的应用价值,为扩展 *N*-羧甲基壳聚糖在磁共振成像领域中的应用提供了实验依据。

1 实验部分

1.1 实验试剂及仪器

壳聚糖(CS,脱乙酰度不低于 95%,粘度 100~200 mPa·s)及羧甲基壳聚糖(NCMCS,10~1 000 mPa·s)均来自阿拉丁公司,合成中常用试剂和溶剂均为国内商业试剂。细胞实验中所用的各类无机盐均为 Aldrich 或 Alfa 的分析纯试剂,水为经 MILIPORE

处理的超纯水。红外光谱表征由 BRUKER-VECTOR22 傅立叶变换红外光谱仪完成,配合物弛豫时间测试在 SIEMENS 公司 Trio 3T 磁共振成像设备上完成的,图像处理软件为 Image J。配合物中 Gd(III)含量与细胞内 Gd(III)浓度的测定在 Thermo 公司的 X Series II 电感耦合等离子体质谱仪上完成。

1.2 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)、Gd-(DTPA-CS) 和 Gd-DTPA 的合成

1.2.1 二乙三胺五乙酸二环酸酐(DTPAA)的合成^[12]

称取 3.93 g (10 mmol,1 equiv.)DTPA 悬浮于 3.78 mL 乙酸酐(40 mmol,4 equiv.)和 5 mL 吡啶(60 mmol,6 equiv.)混合反应液中,搅拌回流 1 h,抽滤,分别用乙酸酐和无水乙醚洗 3~5 次,40 °C 下真空干燥至恒重,得白色粉末 2.81 g,产率为 78.5%。

1.2.2 DTPA-CS 的合成^[13]

称取 5.0 g 壳聚糖(31 mmol 氨基葡萄糖单元)溶于 100 mL 含 10%醋酸的水溶液中,加入 400 mL 甲醇,再加入 46.0 g(117 mmol)DTPAA,室温搅拌 24 h。抽滤,沉淀和乙醇混合继续搅拌 12 h。再抽滤,沉淀与 pH 值为 11 的 NaOH 溶液混合搅拌 12 h。抽滤,沉淀用超纯水反复洗涤,直到洗液呈中性。用无水乙醇重结晶,真空干燥,得白色固体 6.2 g。

DTPA-NCMCS 的合成方法同 DTPA-CS,DTPA-NCMCS 产物为黄色固体。

1.2.3 Gd-(DTPA-CS)配合物的合成^[13]

称取 0.45 g(1 mmol, 1 equiv.)的 $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于 5 mL 含 1%醋酸的水溶液中, 称取 0.24 g 的 DTPA-CS 溶于另外 5 mL 含 1%醋酸的水溶液中。将两种溶液混合, 60 °C 搅拌 24 h。浓缩反应液, 加入一定量的无水乙醇, 搅拌 10 min 后抽滤, 用无水乙醇洗涤 3 次, 真空干燥, 得 0.26 g 棕色固体。

配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 的合成方法同配合物 Gd-(DTPA-CS), 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 也为棕色固体。

1.2.4 Gd-DTPA 的合成^[14]

称取 4.51 g (10 mmol, 1 equiv.) 的 $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于 10 mL 蒸馏水中。称取 4.13 g(10.5 mmol, 1.05 equiv.)的 DTPA 溶于 25 mL 水中, 滴加 2 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液使其溶解。将 DTPA 溶液滴加到硝酸钆溶液中, 用 2 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液调节反应液的 pH 值至 6.8, 80 °C 反应 12 h。将反应液浓缩, 加入适量的乙醇, 析出固体, 抽滤, 用乙醇洗涤, 真空干燥, 即得白色固体 Gd-DTPA, 产率为 82%。

1.3 配合物中 Gd(Ⅲ)含量的测定

准确称取一定质量的配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)、Gd-(DTPA-CS)和 Gd-DTPA; 加入高纯浓硝酸室温消解 48 h, 再加入质量分数为 30%的 H_2O_2 室温反应 4 h, 定容(硝酸的含量小于 1%), 用 ICP-MS 检测 Gd(Ⅲ)的含量。

1.4 体外配合物稳定性测定^[15]

配制 Gd(Ⅲ)的浓度为 2 mmol·L⁻¹ 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)、Gd-(DTPA-CS)和 Gd-DTPA 溶液(含 1%醋酸, 0.9% NaCl 水溶液); 分别加入 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, 终浓度为 20 mmol·L⁻¹; 混匀, 37 °C 孵育 24 h; 离心, 取上清; 加入高纯浓硝酸室温消解 48 h, 再加入质量分数为 30%的 H_2O_2 室温消解 4 h, 定容; 用 ICP-MS 检测溶液中 Gd(Ⅲ)的含量。

1.5 体外弛豫性能研究

1.5.1 纵向弛豫率(r_1)的测定

分别配制一系列不同浓度的配合物的水溶液, 浓度分别为 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 和 2.0 mmol·L⁻¹。弛豫时间 T_1 通过核磁共振与成像分析仪(imaging & analyzing system) 中的反转恢复系列(inversion-recovery sequence)测得(32 °C, 3 T)。 $r_1(\text{L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$ 根据式: $(1/T_1)_{\text{溶液}} = (1/T_1)_{\text{水}} + r_1 c_M$ 得到, c_M 为溶液中 Gd(Ⅲ)的物质的量浓度(mmol·L⁻¹)。

1.5.2 体外 T_1 加权成像

体外 T_1 加权成像通过成像分析仪(imaging & analyzing system) 中的多层自旋回波序列(Multiple spin echo sequence; MSE)测得, 参数设置如下: 重复时间 $T_R=6000$ ms, 回波时间 $T_E=7.2$ ms, 扫描次数 $N_S=12$, 层厚 Slice thickness=2.5 mm。将 2.0 mmol·L⁻¹ 的配合物和作为对照的 Gd-DTPA 水溶液稀释成浓度分别为 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mmol·L⁻¹ 浓度的溶液。体外 T_1 加权成像信号值通过 Image J 软件进行分析。

1.6 细胞毒活性测定

按照 $1 \times 10^6 \text{ cm}^{-2}$ 的密度将 HeLa 细胞悬液接种于 96 孔板中, 然后置 37 °C, 5% CO_2 的培养箱中培养。当细胞处于对数生长期, 加入浓度梯度分别为: 0.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 80.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的化合物。继续培养 48 h, 加入浓度为 5 g·L⁻¹ 的噻唑蓝(3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-*H*-tetrazolium bromide, MTT)20 μL , 37 °C 孵育 4 h, 弃去上清, 加入 150 μL 二甲亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO), 震荡 10 min, 用酶标仪测 570 nm 处溶液的吸光度。

1.7 细胞的摄取

MCF-7 细胞用含 10% 胎牛血清(Fetal Calf Serum, FBS) 的高糖 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)培养基培养, 按照密度 $1 \times 10^6 \text{ cm}^{-2}$ 接种于六孔板中, 细胞处于对数生长期时, 加入浓度为 2 mmol·L⁻¹ 不同配合物溶液 150 μL , 使 Gd(Ⅲ)的浓度为 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。37 °C, 5% CO_2 的条件培养 16 h。

细胞用胰酶消化液(0.25%, 含 0.02% EDTA)消化, 用 1×PBS 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清, 得细胞沉淀, 加入高纯浓硝酸 40 μL 室温消解 48 h, 再加入质量分数为 30%的 H_2O_2 40 μL 室温消解 4 h, 定容至 1.5 mL, 用 ICP-MS 检测 Gd(Ⅲ)的含量。

2 实验结果

2.1 红外光谱分析

NCMCS、DTPA-NCMCS 及 Gd-(DTPA-NCMCS) 的红外光谱图如图 1 所示。对比 NCMCS 与 DTPA-NCMCS 的图谱, 大多数吸收峰基本相似; DTPA-NCMCS 图谱中 1 734 cm^{-1} 出现了羧酸根中羰基的伸缩振动峰, 表明 DTPA 已被键合到 NCMCS 上。Gd-(DTPA-NCMCS)图谱中 1 624 cm^{-1} 及 1 402 cm^{-1} 的吸收峰分别移到 1 601 cm^{-1} 和 1 384 cm^{-1} 处, 说明 DTPA-NCMCS 与 Gd(Ⅲ)形成了配位键。

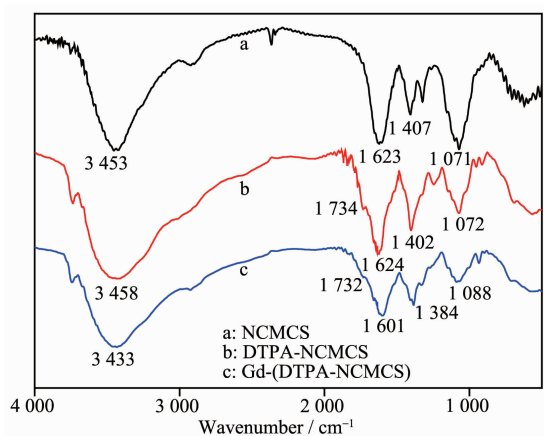


图 1 原料 NCMCS、配体 DTPA-NCMCS 及配合物 Gd(DTPA-NCMCS) 的红外光谱图

Fig.1 FTIR spectra of NCMCS, DTPA-NCMCS and Gd(DTPA-NCMCS)

图 2 为一组与 CS 相关的红外谱图, DTPA-CS 图谱中羧酸根中羰基的伸缩振动峰在 1734 cm^{-1} 处, 形成 Gd(DTPA-CS) 配合物后, 1624 cm^{-1} 及 1402 cm^{-1} 的吸收峰分别移到 1594 cm^{-1} 和 1384 cm^{-1} 处。

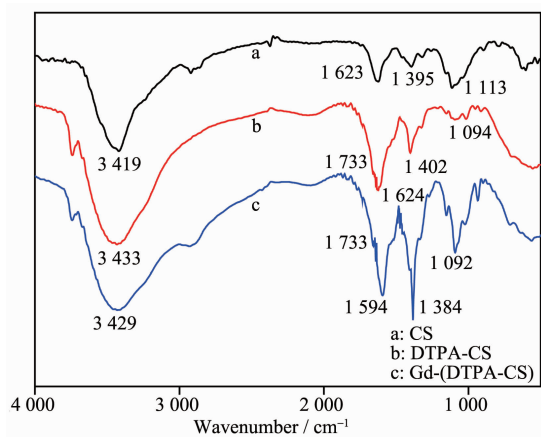


图 2 原料 CS、DTPA-CS 及配合物 Gd(DTPA-CS) 的红外光谱图

Fig.2 FTIR spectra of CS, DTPA-CS and Gd(DTPA-CS)

2.2 配合物中 Gd(III) 含量的测定

用 ICP-MS 法测得配合物 Gd(DTPA-CS) 中钆的含量达到 22.38%, 羧甲基壳聚糖配合物中配合物

Gd(DTPA-NCMCS) 中钆的含量为 12.83%。表明配合物 Gd(DTPA-NCMCS) 中配体所占比例比配合物 Gd(DTPA-CS) 中配体所占比例高, 我们期望配合物分子量的增加会引起配合物纵向弛豫率的增加。

2.3 体外配合物稳定性测定

草酸钆极难溶, 被广泛用于钆元素的萃取^[16]。因此, 我们将 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 与配合物 Gd(DTPA-NCMCS)、Gd(DTPA-CS) 和 Gd-DTPA 在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 24 h 后用 ICP-MS 测定配合物 Gd(DTPA-NCMCS)、Gd(DTPA-CS) 和 Gd-DTPA 中 Gd(III) 的浓度, 发现其比反应前分别降低了 $(6.2\pm 1.2)\%$, $(6.8\pm 1.8)\%$ 和 $(5.4\pm 1.7)\%$ 。表明配合物 Gd(DTPA-NCMCS) 在近生理条件下具有较大的稳定性, 可以进一步用于体内磁共振造影应用。

2.4 体外弛豫性能

2.4.1 纵向弛豫率(r_1)的测定

弛豫率用来评价不同造影剂的信号增强能力, 顺磁性造影剂的质子弛豫性能通常通过纵向弛豫率 r_1 来评价。配合物溶液的弛豫时间的倒数 $T_1^{-1}(\text{s}^{-1})$ 与浓度($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的线性关系如图 3 所示, 相关系数为 0.999, 表明两者有很高的相关性。

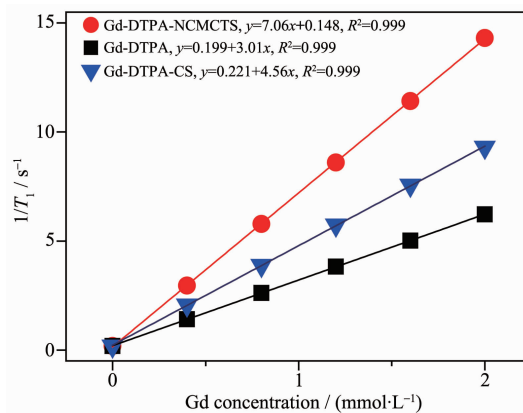


图 3 配合物 Gd(DTPA-NCMCS)、Gd(DTPA-CS) 及 Gd-DTPA 的 T_1^{-1} 与浓度之间的线性关系

Fig.3 T_1^{-1} of Gd(DTPA-NCMCS), Gd(DTPA-CS) and Gd-DTPA vs the concentrations of the complexes

通过 1.5.1 中公式计算得到配合物 Gd(DTPA-NCMCS)、Gd(DTPA-CS) 和 Gd-DTPA 在水溶液中的

表 1 配合物 Gd(DTPA-NCMCS)、Gd(DTPA-CS) 及 Gd-DTPA 在水溶液中的纵向弛豫率 r_1

Table 1 Longitudinal relaxation rate (r_1) of Gd(DTPA-NCMCS), Gd(DTPA-CS) and Gd-DTPA in aqueous solution

	Gd-DTPA	Gd-DTPA-NCMCS	Gd-DTPA-CTS
$r_1 / (\text{L}\cdot\text{mmol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})$	3.01	7.06	4.56

纵向弛豫率 r_1 , 结果列于表 1。从表中可以看出, Gd-(DTPA-NCMCS) 在水溶液中的 r_1 是 $7.06 \text{ L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, Gd-(DTPA-CS) 在水溶液中的 r_1 是 $4.56 \text{ L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 而 Gd-DTPA 在水溶液中的 r_1 只有 $3.01 \text{ L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。从实验结果可以看出, 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 及 Gd-(DTPA-CS) 的 r_1 值均高于商业化的 MRI 造影剂 Gd-DTPA。根据文献报导^[17-18], 引起弛豫率增加的原因一般有如下几种: (a) 其他结构的引入增加了相对分子量, 降低了分子的相关旋转速率; (b) 内层配位水分子的增加; (c) 外层配位水分子的增加。配合物弛豫率的提高主要是由第一种因素引起的, 因为 -COOH 向 -CONH- 或 -COO- 的转变一般不会引起内层和外层水分子数目的变化。且配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 和 Gd-(DTPA-CS) 的结构相似, 分子量大的 Gd-(DTPA-NCMCS) 纵向弛豫率 r_1 更大。

2.4.2 体外 T_1 加权成像

钆基功能配合物的体外 T_1 加权成像效果通过不同浓度的图像来表现。从图中可以看出, 随配合物溶液浓度的增加, 其体外成像的亮度逐渐增强。相同浓度下, Gd-(DTPA-NCMCS) 与 Gd-(DTPA-CS) 成像的亮度均大于 Gd-DTPA, 表明壳聚糖结构的引入大大降低了分子的相关旋转速率, 提高了造影剂的弛豫率和成像信号强度。在浓度为 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 成像亮度最强。换言之, 要达到 Gd-DTPA 同等的成像亮度和对比度, 使用

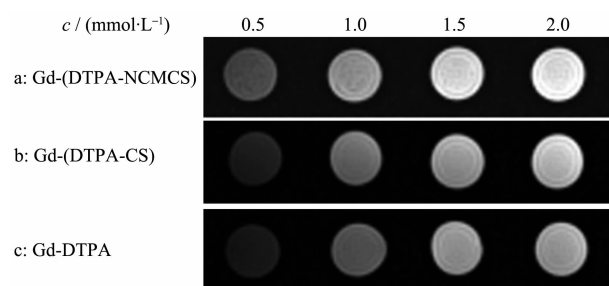


图 4 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)、Gd-(DTPA-CS) 及 Gd-DTPA 在不同浓度条件下体外 T_1 加权成像图

Fig.4 T_1 -weighted images *in vitro* vs concentrations of Gd-(DTPA-NCMCS), Gd-(DTPA-CS) and Gd-DTPA

配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 作为造影剂可以降低配合物用量, 从而可提高其体内安全性。

2.5 配合物的生物相容性

进一步考察配合物的生物相容性, 采用 MTT 法研究配合物对细胞的毒性。以 HeLa 细胞为作用对象。通过不同浓度的配合物作用于细胞, 得到不同浓度下配合物对细胞的抑制率见表 2, 柱状图如图 5, 拟合得到配合物 Gd-(DTPA-CS) 和 Gd-(DTPA-NCMCS) 的 IC_{50} 值(表)分别为 308.6 和 $568.2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。两种配合物的 IC_{50} 值均很大, 表明这两种配合物的毒性很低, 可以作为潜在的磁共振造影剂。

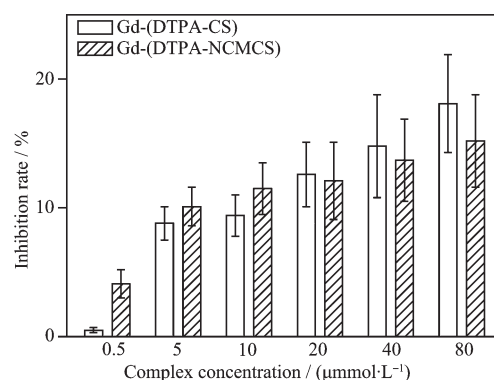


图 5 配合物 Gd-(DTPA-CS) 和 Gd-(DTPA-NCMCS) 对 HeLa 细胞的毒活性(48 h)

Fig.5 Cytotoxicity against HeLa cells of Gd-(DTPA-NCMCS) determined by MTT assay after 48 h

表 2 配合物 Gd-(DTPA-CS) 和 Gd-(DTPA-NCMCS) 对 HeLa 细胞作用的 IC_{50} 值

Table 2 IC_{50} against HeLa cells of Gd-(DTPA-CS) and Gd-(DTPA-NCMCS)

	Gd-(DTPA-CS)	Gd-(DTPA-NCMCS)
$\text{IC}_{50} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	308.6	568.2

本实验用 ICP-MS 测定了 HeLa 细胞中 Gd 的含量(表 3), 结果说明修饰了壳聚糖和 *N*-羧甲基壳聚糖的 Gd-DTPA 配合物进入细胞的量均比 Gd-DTPA 进入细胞的量多, 尤其是 Gd-(DTPA-NCMCS) 进入细胞的量最多, 达到 $17.8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结果表明, 达到相同的造影效果, 配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 的使用量最低, 从而可减少造影剂的毒性。

表 3 用 ICP-MS 测定的 HeLa 细胞中的 Gd 含量

Table 3 Cellular uptake of Gd-(DTPA-NCMCS), Gd-(DTPA-CS) and Gd-DTPA by HeLa cells in terms of Gd content determined by ICP-MS

	Control	Gd-DTPA	Gd-(DTPA-NCMCS)	Gd-(DTPA-CS)
Gd content / ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	2.68 ± 0.9	9.63 ± 0.7	17.8 ± 0.5	12.28 ± 0.4

3 结 论

综上所述,本研究选择具有优良性能的 *N*-羧甲基壳聚糖修饰 DTPA, 合成了配合物 Gd-(DTPA-NCMCS)。该化合物具有以下优良性能:(1) 在生理条件下具有良好的稳定性;(2) 高弛豫性能, Gd-(DTPA-NCMCS) 在水溶液中的 r_1 高于临床造影剂 Gd-DTPA, 且高于 Gd-(DTPA-CS)。较高的弛豫率表明在较低的钆量下可以达到同等的 MRI 对比增强效果, 从而可降低金属离子在体内引发的毒性;(3) Gd-(DTPA-NCMCS) 的低毒性和较高的细胞摄取率表明配合物 Gd-(DTPA-NCMCS) 有望成为性能优良的新型 MRI 造影剂。

参考文献:

- [1] Shellock F G, Kanal E. *J. Magn. Reson. Imaging*, **1999**, **10**: 477-84
- [2] Mathur-de Vr'e R, Lemort M. *Br. J. Radiol.*, **1995**, **68**:225-247
- [3] He W J, Guo Z J. *Comprehensive Inorganic Chemistry II: From Elements to Applications*. Amsterdam: Elsevier, **2013**:733-780
- [4] Terreno E, Castelli D D, Viale A, et al. *Chem. Rev.*, **2010**, **110**:3019-3042
- [5] Viswanathan S, Kovacs Z, Green K N, et al. *Chem. Rev.*, **2010**, **110**:2960-3018
- [6] Bellin M F. *Eur. J. Radiol.*, **2006**, **60**:314-323
- [7] Wiener E, Brechbiel M W, Brothers H, et al. *Magn. Reson. Med.*, **1994**, **31**:1-8
- [8] Tang J B, Sheng Y Q, Hu H J, et al. *Prog. Polym. Sci.*, **2013**, **38**(3/4):462-502
- [9] LIU Ai-Yan(刘爱燕), DING Chen(丁晨), ZHANG Xiao-Yan(张小燕), et al. *Fine Chemicals(精细化工)*, **2012**, **29**(5):429-433
- [10] Sherry A D, Brown R D, Geraldes C F, et al. *Inorg. Chem.*, **1989**, **28**:620-622
- [11] Ortona O, Errico G D, Mangiapia G, et al. *Carbohydr. Polym.*, **2008**, **74**:16-22
- [12] Eckelman W C, Karesh S M, Reba R C, et al. *J. Pharm. Sci.*, **1975**, **64**:704-706
- [13] Nagib S, Inoue K, Yamaguchi T, et al. *Hydrometallurgy*, **1999**, **51**:73-85
- [14] Weinmann H J, Brasch R C, Press W R, et al. *Am. J. Roentgenol.*, **1984**, **142**:619-624
- [15] Cacher W P, Nickle S K, Sherry A D. *Inorg. Chem.*, **1987**, **26**:958-960
- [16] JIAO Cheng-Min(焦程敏), LU Wen-Qing(卢文庆), CHENG Qing(程青), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2006**, **22**(1):166-170
- [17] Lebduskova P, Kotek J, Hermann P, et al. *Bioconjugate Chem.*, **2004**, **15**(4): 881-889
- [18] YU Kai-Chao(俞开潮), WAN Fu-Xian(万福贤), ZHANG Yan(张焱), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2004**, **20**(4):389-393