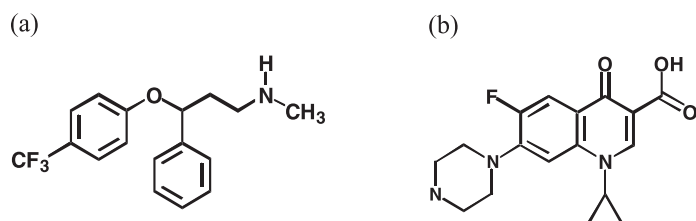


Biomedicinske fluor-NMR-studier på mennesker

Med analytisk fluor-NMR-spektroskopi kan man karakterisere et molekyle, studere *in vivo*-fordelingen, metaboliseringen og farmakokinetikken af molekylet non-invasivt. Her gives udvalgte eksempler på brug af *in vivo* ^{19}F NMR-spektroskopi og imaging af mennesker – eksempler, der illustrerer teknikens anvendelighed og styrke

Af Ian J. Rowland, Danish Research Centre for Magnetic Resonance, Hvidovre Hospital, oversat af Claus Cornett, DFU

Pga. den fortsatte udvikling inden for fluorkemien er det blevet lettere at placere fluoratomer på strategiske steder i et molekyle. Det har ført til et forbavsende stort antal bredt ordnede fluorholdige præparater, der dagligt administreres til millioner af mennesker. Den økonomiske værdi kan måske også overraske, alene af kommercielle årsager indtager fluorholdige lægemidler en signifikant plads i lægevidenskaben.

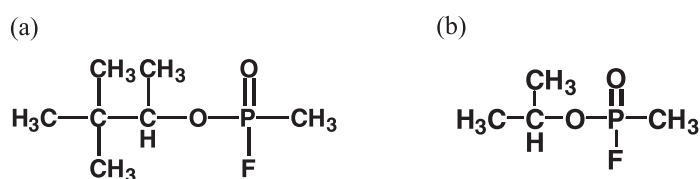


Figur 1. Strukturer af (a) Fontex (fluoxetin) og (b) Ciproxin (ciprofloxacin), to fluorholdige »blockbuster«-lægemidler.

I de 60 år, der er gået siden Gorter og Broer [1] først forsøgte at observere NMR-signaler fra fluor, har NMR udviklet sig fra at være en videnskabelig kuriositet til en analytisk rutineteknik, der kan karakterisere nye fluorholdige kemikalier og en stærk biomedicinsk metode, der muliggør non-invasivt at følge metaboliseringen af fluorholdige lægemidler *in vivo*.

De store landvindinger inden for biomedicinske anvendelser af ^{19}F MR skyldes primært udviklingen inden for proton (^1H) MR. Heldigvis er fluors gyromagnetiske ratio (40 MHz/T) kun ca. 6% mindre end protonens. Det betyder, at kommercielt tilgængelige helkrops-scannere og spektroskopimaskiner med minimale ændringer kan bruges til *in vivo* fluor-MR-studier. Fluors andre magnetiske egenskaber, f.eks. spin=1/2, følsomhed =83% af ^1H , chemical shift område > 200 ppm (protoner: ~10 ppm) bidrager også til at gøre ^{19}F MR til en attraktiv teknik.

Selv om der næsten ikke kan detekteres naturlige baggrunds-signaler for fluor, bortset fra fluorid i knogler, er baggrunds-niveauerne stigende pga. en række produkter i hjemmene. Som før omtalt i dansk presse og tv er materiale afgivet fra produkter som Teflon, Stainmaster, Scotchguard og Gore-Tex ikke nødvendigvis uden biologisk effekt. For yderligere at understrege de potentielt negative sider af fluorholdige stoffer mindes om de to fluorholdige nervegasser Soman og Sarin (figur 2).



Figur 2. Struktur af de fluorholdige nervegasser (a) Soman og (b) Sarin.

Metabolismevejen for anæstetika, antibiotika, anticancerlægemidler og psykoaktive stoffer er undersøgt i et stort antal non-invasive fluor-MR-studier (figur 3). Derudover anvendes fluorimaging (første gang publiceret i 1977 [3]) pga. tilstedeværelsen af magnetsystemer og passende fluorholdige terapeutiske og diagnostiske lægemidler

Fluor indbygges i lægemidler af flere årsager, men generelt for at ændre dets fysisk-kemiske egenskaber – f.eks. polaritet og lipofilitet, hvilket ændrer absorption og transport – eller for at finjustere stoffets biologiske aktivitet. Fluorsubstitution kan gøre stoffet mere stabilt i enzymatisk nedbrydning, hvilket kan give forlænget og større *in vivo*-aktivitet. Disse faktorer sikrer den fortsatte produktion af stadig flere fluorholdige lægemidler.

Indsættelse af fluor i et molekyle muliggør også dets brug som fysiologisk probe, der kan monitorere vævsparametre som f.eks. pH, temperatur og iltspænding.

***In vivo* ^{19}F studier af terapeutiske stoffer**

Muligheden for at observere lægemidler og metabolitter vha. ^{19}F MR afhænger ikke kun af isenkram, men også af dosis, biodistribution og farmakokinetik. Heldigvis gives mange fluorholdige lægemidler i relativt store mængder. Anticancerlægemidlet 5-fluorouracil gives rutinemæssigt i doser af 500 mg/m², hvilket for et 1.8 m højt individ på 80 kg (2 m²) svarer til en bolus¹ dosis på 1 g (96 μmol [^{19}F]/kg/dag). 5-fluorouracil er det lægemiddel, der oftest studeres vha. ^{19}F MR.

- Stoffer, der påvirker centralnervesystemet

Indbygningen af fluoro- og specielt trifluoromethyl-substituenten i psykofarmaka forøger deres lipofilitet og dermed deres evne til at krydse blod-hjerne-barrieren. For Fluoxetin og Fluphenazin forekommer fluorresonanserne desværre inden for et 1 ppm område pga. strukturelle ligheder.

Desuden sætter de korte T_2^* relaxationsstider (af størrelsesordenen 2.5-3.5 ms som målt for dexfenfluramin [4] og fluoxetin) – og derfor brede resonanser – en begrænsning for ^{19}F MR-studier. På trods af begrænsningerne er der dog stadig tilstrækkelig følsomhed til at kvantitere koncentrationer af stofferne i hjernen. Niveauer mindre end 10 μM er rapporteret for stærkt overvægtige kvinder, der for at nedsætte appetitten indtager 15 mg dexfenfluramin pr. dag. Steady-state-niveauer i hjernen blev opnået efter ca. 10 dage under et 90 dages behandlingsprogram, med en gennemsnitlig koncentration i hjernen på 4 μM . Den non-invasive måling af lægemiddelniveauer i hjernen er en klar fordel, idet måling af koncentrationen i blodomløbet sjældent giver nævneværdig anvendelig information om klinisk effektivitet og bivirkninger. Humane studier af Fluoxetin har vist, at stoffet akkumuleres i hjernen, og niveauet af den langtidsvirkende metabolit norfluoxetin er flere gange større end serumniveauet [5]. Fluphenazin, et lægemiddel der anvendes til behandling af schizofreni (figur 3b), er også observeret i humane studier [6]. Muligheden for at klassificere ^{19}F MR-signaler fra denne klasse af lægemidler er måske overraskende, når man tager de relativt små doser i betragtning. Pga. den

relativt lange *in vivo*-halveringstid hos voksne – anslået til ca. 16 dage eller længere – er niveauerne dog så høje, at observation er mulig [7,8]. Persistente fluorsignaler fra en intramuskulær injektion af haloperidol decanoat (figur 3e) er også observeret på injektionsstedet i flere dage vha. ^{19}F MR [9].

Anticancer-stoffer

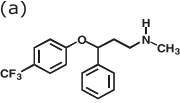
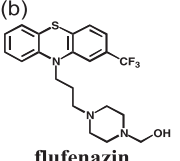
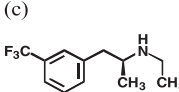
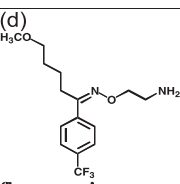
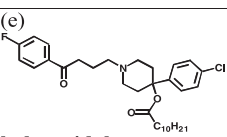
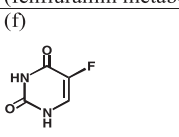
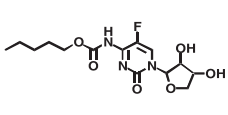
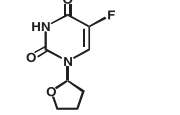
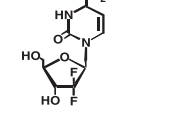
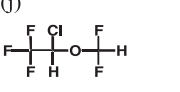
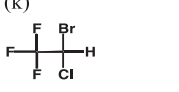
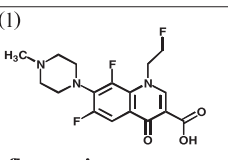
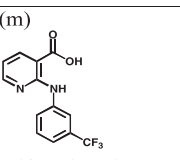
5-fluorouracil (5-FU, figur 3f) er et meget benyttet anticancer-stof og et lægemiddel med signifikant aktivitet ved behandling af kræft i tyktarmen og endetarmen. Stoffet blev første gang syntetiseret i 1950'erne [10], men først i 1987 blev det første humane *in vivo* ^{19}F spektrum publiceret [11]. Virkningsmekanismen er stadig ikke fuldt opklaret. Indbygning af den fluorerede pyrimidin i RNA og DNA menes også at være delvist ansvarlig for stoffets cytotoxiske virkning. I mennesker har 5-FU en halveringstid i leveren på omkring 20 minutter [11]. Her kataboliseres den under dannelse af α -fluoro- β -alanin (FBAL). Adskillige kataboliske og anaboliske produkter, der kan kendes på deres karakteristiske chemical shift, er identificeret *in vivo* [12]. Galdesyrekonjugation² af taurin mimic'en FBAL er observeret hos patienter under

bolus- eller infusionsbehandling med 5-FU.

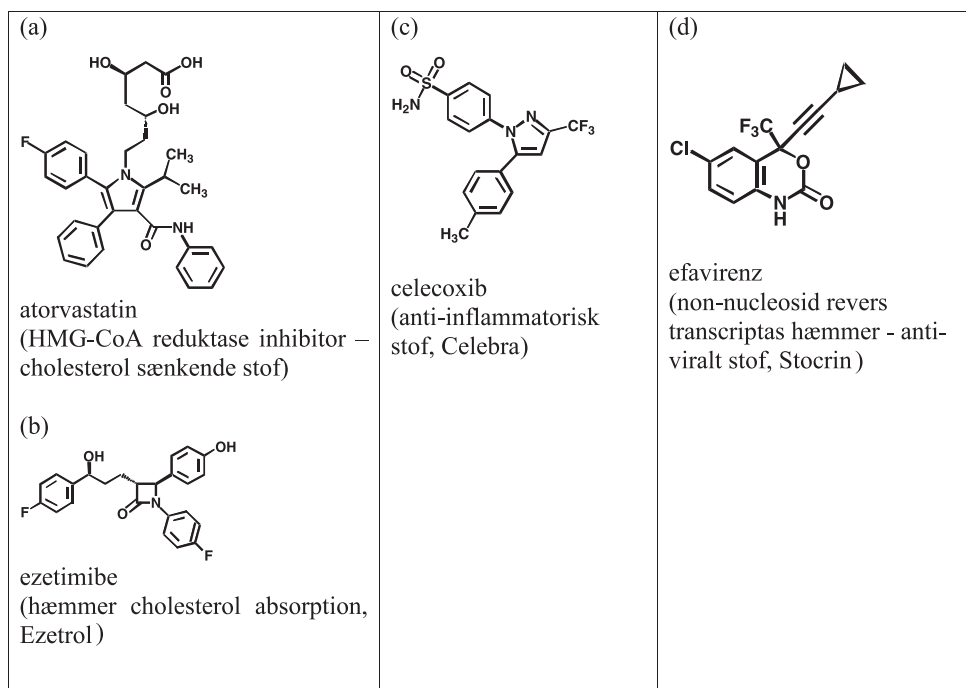
Efter galdesyrekonjugation kan udskilning via galden påvises vha. fluorsignaler lokaliseret til galdeblæren [13]. Ophobning af [14,15] 5-FU i tumorer korrelerer med det terapeutiske respons, så ^{19}F MRS kan måske finde en plads i monitoreringen af behandlingen. De senere år er der udviklet flere oralt administrerede 5-fluorouracil prodrugs, deriblandt capecitin (figur 3g) og UFT, en blanding af uracil og ftorafur (figur 3h), der begge er observeret i mennesker [16]. Gemcitabin (figur 3i) er også detekteret i patienter [16].

- Anæstetika

Halothan er det første »moderne« fluorocarbonanæstetikum i brug, og selv om de fleste rutineoperationer nu involverer brugen af fluorholdige anæstetika, er deres virkningsmekanisme ikke fuldt opklaret. I tidlige studier på forsøgsdyr [17] er det vist, at halothan-clearance fra hjernen er forbausende langsom sammenlignet med opvågningen fra bedøvelse, idet ^{19}F signaler kan måles op til 98 timer efter en 30 minutters udsættelse for halothan. Et postoperativt studie på mennesker afslørede tilbageholdelse af halothan i hjernen i op til 90 minutter efter ophør af bedøvelse [18]. Disse signaler med lang halveringstid har tydeligvis ikke noget at gøre med den anæstetiske effekt. Eksistensen af en kortere levende species, ansvarlig for den anæstetiske effekt, er set i studier på kaniner, hvor signaler med korte T_2 -relaxationsstider (~4 ms, sandsynligvis pga. nedsat bevægelighed af molekylet på et proteinbindingssted) er rapporteret [19]. Isoflurans kinetik er også blevet målt hos frivillige forsøgspersoner og udviser biekspontional elimination [20]. De samme forfattere relaterer også isoflurans kinetik med cerebral funktion [21] og konkluderer, at kinetikken er i overensstemmelse med forudsigelser af klassiske perfusionsbegrænsede modeller for inhaleringsanæstesi. ➤

(a)  fluoxetin (neurolepticum, f. eks. Fontex)	(b)  flufenazin (neurolepticum)	(c)  fenfluramin (neurolepticum)
(d)  fluvoxamin (neurolepticum, Fevarin)	(e)  haloperidol (neurolepticum, Serenase)	(f)  5-fluorouracil (anti-cancer lægemiddel)
(g)  capecitabin (5-fluorouracil pro-drug – anti-cancer stof)	(h)  ftorafur (5-fluorouracil pro-drug – anti-cancer stof)	(i)  gemcitabin (anti-cancer stof, Gemzor)
	(j)  isofluran (anaestheticum, Farene)	(k)  halothan (anaestheticum)
(l)  floxacin (fluoroquinolon-baseret antibiotikum, Quinodis)	(m)  niflumic acid (non-steroid anti-inflammatorisk, nifluril)	

Figur 3. Strukturer af stoffer studeret og observeret hos mennesker vha. ^{19}F MR.



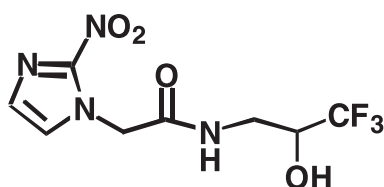
Figur 5.
Yderligere eksempler på
fluorholdige lægemidler.

- Antibiotika og anti-inflammatoriske stoffer

Der findes adskillige fluoroquinolonbaserede antibiotika, og doserne af disse stoffer er forholdsvis store, derfor er det overraskende, at der kun eksisterer et enkelt humant *in vivo*-studie [22], der beskriver fordelingen af fleroxacin i lever og muskler. I et nyt studie udført ved 1.59 T undersøges metabolismen af det trifluoromethylholdige non-steroid anti-inflammatoriske lægemiddelstof nifluril (niflumic acid) hos 6 frivillige forsøgspersoner af hankøn [23]. Ca. 3 timer efter oral administrering af lægemidlet kunne spektre af lægemidlet og en metabolit, sandsynligvis en orthohydroxyleret metabolit, observeres fra leveren.

- Diagnostiske stoffer anvendt ved billeddannelse (imaging)

Manglen på baggrundssignaler gør ^{19}F MR ideelt til diagnosi-



Figur 4. Strukturen af SR 4554, et stof designet til at visualiseres *in vivo* vha. ^{19}F MR. Den fluorerede 2-nitroimidazol reduceres selektivt og tilbageholdes i hypoxiske celler, hvilket giver en mulighed for at måle hypoxi vha. MR.

ske anvendelser. Kapsler fyldt med perfluorononan er blevet brugt til at monitorere transport i tarmen, idet en imaging-

metode blev anvendt til at følge kapslens *in vivo*-passage [24]. Perfluorooctylbromider testes i kliniske test til brug som oralt MRI-kontrastmiddel. De er designede til at eliminere protonsignaler ved standard-imaging-undersøgelser. Stoffet er pga. flere adskilte resonanser ikke ideelt, men

lingen. Det er rapporteret [25], at doser på op til 1400 mg/m² uden problemer kan gives til cancerpatienter. Det er spændende at følge udviklingen af dette stof.

Diskussion

Der er mange lægemiddelklasser, der ikke er repræsenteret i de omtalte eksempler. ^{19}F MR kan sandsynligvis bruges til studiet af nye stoffer, fra de kommer frem og til præklinisk evaluering i kliniske test. Stoffer som f.eks. atorvastatin og ezetimibe, der er designet til at regulere lipider, vil sandsynligvis med fordel kunne studeres vha. ^{19}F MR, men deres anbefalede doser på 10 mg dagligt kan dog være for små. Den nye cyclooxygenase type 2 hæmmer celecoxib, der bruges ved behandlingen af leddegigt og knoglebetændelse i leddet, anbefales givet i doser på 200 mg/dag. Det skulle derfor være muligt at undersøge stoffet vha. ^{19}F MR. Efavirenz gives i doser på 600 mg/dag oralt ved behandlingen af AIDS. Det svarer til 71 μmol [^{19}F]/kg/dag, hvilket indikerer, at stoffet er en lovende kandidat til et ^{19}F MR-studie.

Muligheden for samtidig at kunne kvantitere fordelingen af et lægemiddel, og relatere denne fordeling til ændringer i metabolisme (vha. ^1H eller ^{31}P MR spektroskopiske metoder) eller morfologi (vha. ^1H MRI), gør ^{19}F MR til en potentielt stærk teknik. Der er dog flere faktorer, der begrænser dette potentiale. Deriblandt NMRs relativt lave følsomhed og det, at man i uheldige tilfælde *in vivo* ikke kan skelne mellem lægemidlet og dets metabolitter (f.eks. fluoxetin og norfluoxetin) pga. meget ens kemiske strukturer (figur 3c) og derfor næsten ens chemical shift. For at bøde på den manglende følsomhed fremstiller fabrikanterne af analytiske NMR-spektrometre apparater med stadigt kraftigere magnetfelt, idet følsomheden stiger næsten lineært med stigende magnetfelt. Et par fabrikanter fremstiller derfor analytiske spektrometre med superledende magneter, der opererer ved 21.1 Tesla (T) - jordens magnetfelt er på ca. 0.05 mT. Danske retningslinjer anbefaler, at den maksimale helkropseksponering for mennesker ikke må overskride 4 T. Det begrænser helkrops ^{19}F spektroskopi og imaging-studier af de stoffer, der kan gives ved relativt høje doser uden bivirkninger. Den teknologiske udvikling må så kompensere for begrænsningen på magnetfelt. Her er f.eks. udviklingen af rf-teknologien mhp. hurtig opsamling af data en

4916 3388
CLAUS DAMM
 Udstyr til:
 ★ steril produktion
 ★ bioteknologi
 ★ forskning
www.clausdamm.dk

hjælp. Med dobbeltresonans-teknikker vil man kunne forstærke og skelne signaler, og nye optagelsesmetoder vil kunne fremme udviklingen af denne enestående teknik yderligere.

Opsummering

Den negligerbare baggrundskoncentration af fluor sammenholdt med fluor-NMRs følsomhed (sammenlignelig med protoner) gør ^{19}F MR til en stærk teknik ved studiet af fluorholdige lægemidler *in vivo*. Mens der er mange fluorerede lægemidler i klinisk brug, ser det ud til at human ^{19}F MR er begrænset til forskningsmæssige anvendelser og derfor ikke er til gavn for patienter. Det er derfor nødvendigt for forskere at demonstrere for og overbevise klinikere om teknikkens diagnostiske og prognostiske værdi. Vigtigere er dog, at teknikkens rolle i lægemiddeludviklingsprocessen vokser efterhånden, som de enestående muligheder med denne non-invasive teknik bliver bredere tilgængelig og værdsat.

Tak

Der takkes varmt for støtte fra Alfred Benzon Fonden.

E-mail-adresser:

Ian J. Rowland: ian.Rowland@hh.hosp.dk

Claus Cornett: cc@dfuni.dk

Fodnoter:

1. Bolus (injection): En enkelt dosis af et lægemiddel sædvanligvis injiceret i et blodkar.
2. Galdesyrekonjugation: Ordet konjugation bruges i metabolismestudier til at beskrive at et molekyle tilføjes til en gruppe, hvilket typisk gør det mere polært/vandopløseligt.

Referencer:

1. Gorter, C.J. and L.J.F. Broer, *Negative result of an attempt to observe nuclear magnetic resonance in solids*. Physica (The Hague), 1942. 9: p. 591-596.
2. Code, R.F., J.E. Harrison, and K.G. McNeill, *In vivo measurement of accumulated bone fluorides by nuclear magnetic resonance*. J Bone Miner Res, 1990. 5 Suppl 1: p. S91-4.
3. Holland, G.N., P.A. Bottomley, and W.S. Hinshaw, *^{19}F Magnetic Resonance Imaging*. Journal of Magnetic Resonance, 1977. 28: p. 133-136.
4. Christensen, J.D., et al., *Measurement of human brain dexfenfluramine concentration by ^{19}F magnetic resonance spectroscopy*. Brain Research, 1999. 834(1-2): p. 1-5.
5. Renshaw, P.F., et al., *Accumulation of fluoxetine and norfluoxetine in human brain during therapeutic administration*. Am J Psychiatry, 1992. 149(11): p. 1592-4.
6. Bartels, M., et al., *^{19}F nuclear magnetic resonance spectroscopy of neuroleptics: the first in vivo pharmacokinetics of trifluoperazine in the rat brain and the first in vivo spectrum of fluphenazine in the human brain*. Biol Psychiatry, 1991. 30(7): p. 656-62.
7. Henry, M.E., et al., *Brain kinetics of paroxetine and fluoxetine on the third day of placebo substitution: A fluorine MRS study*. American Journal of Psychiatry, 2000. 157(9): p. 1506-1508.
8. Bolo, N.R., et al., *Brain pharmacokinetics and tissue distribution in vivo of fluvoxamine and fluoxetine by fluorine magnetic resonance spectroscopy*. Neuropsychopharmacology, 2000. 23(4): p. 428-438.
9. Sassa, T., et al., *^{19}F -magnetic resonance spectroscopy and chemical shift imaging for schizophrenic patients using haloperidol decanoate*. Psychiatry Clin Neurosci, 2002. 56(6): p. 637-42.
10. Heidelberger, C., et al., *Fluorinated pyrimidines: A new class of tumor inhibitory compounds*. Nature, 1957. 179: p. 663-666.
11. Wolf, W., et al., *Fluorine-19 NMR spectroscopic studies of the metabolism of 5-fluorouracil in the liver of patients undergoing chemotherapy*. Magn Reson Imaging, 1987. 5(3): p. 165-9.
12. McSheehy, P.M. and J.R. Griffiths, *^{19}F MRS studies of fluoropyrimidine chemotherapy. A review*. NMR Biomed, 1989. 2(4): p. 133-41.
13. Dzik-Jurasz, A.S., et al., *Gallbladder localization of (^{19}F) MRS* ➤

DanMiljø

27. - 29. april 2004

Hent ny viden på Danmarks største miljømesse

• Vand • Affald / genbrug • NO DIG • Luft • Kemi / procesteknologi
• Arbejdsmiljø • Miljøkompetence • Konferencer • Faglige aktiviteter
• Work site besøg

Åbningstider:

Tirsdag 27. april kl. 9.00 - 17.00
Onsdag 28. april kl. 9.00 - 17.00
Torsdag 29. april kl. 9.00 - 16.00

MESSECENTER HERNING

www.danmiljo.dk



Nyhed!

NMR (kernemagnetisk resonans spektroskopi)

De kerner, der oftest bruges i medicinske MR-studier er ^1H , ^{13}C , ^{19}F og ^{31}P , der besidder et angular moment og har et kernespin (I) på $1/2$. Da kernerne også har en ladning dannes et magnetfelt langs rotationsaksen. Kernemagnetismen er karakteriseret ved et magnetisk moment (μ), der kun kan have værdierne:

$$\mu = \gamma \frac{h}{2\pi} [I(I+1)] \quad (1)$$

hvor γ = den gyromagnetiske ratio
 h = Plancks constant

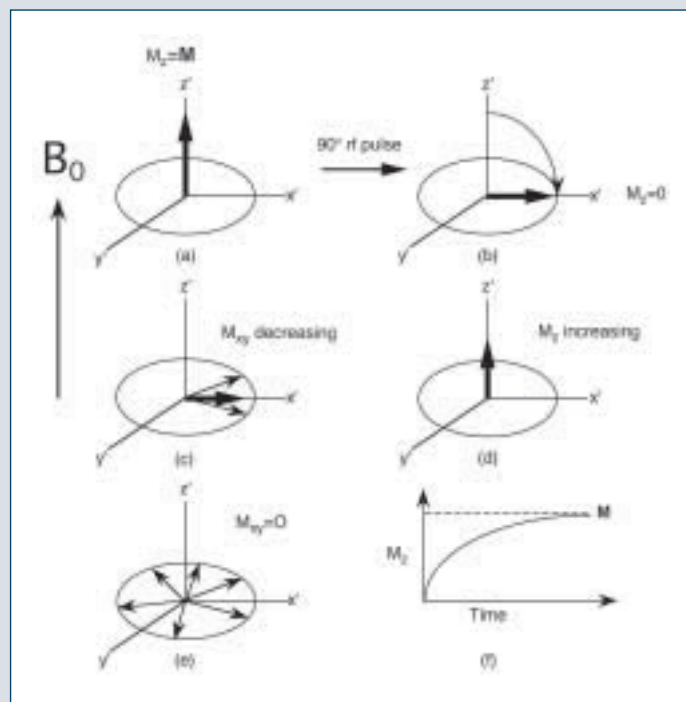
Placeres disse $I=1/2$ i et magnetfelt, tenderer det kernemagnetiske moment til at rette sig parallelt med det påtrykte magnetfelt. Det resulterer i to energiniveauer, der divergerer ved stigende magnetfelt. NMR-eksperimentet består i at sende energi ind i systemet, så den påtrykte radiofrekvens (rf)-puls vipper spinnene fra en orientering til en anden. NMR-resonansfrekvensen (Larmor-frekvensen) afhænger af det påtrykte magnetfelts styrke (ligning 2). Ved *in vivo*-anvendelser findes NMR-frekvenserne i MHz-området. For fluorkerner i et felt på 1.5 Tesla, er resonansfrekvensen (ω) ca. 60 MHz.

$$\omega = \gamma B_0 \quad (2)$$

Bruger man en klassisk model til at beskrive NMR, kan kernespinnene betragtes som en samling af små stangmagneter, der præcesserer med deres Larmor-frekvens med præcessionsaksen langs det påtrykte magnetfelts, B_0 , feltlinjer. Hvis der påtrykkes et andet magnetfelt B_1 , der oscillerer med Larmor-frekvensen, vinkelret på B_0 , vil B_1 dreje kernerne en vinkel Θ . Vinklens eksakte værdi afhænger af den tid (t_p) B_1 -feltet er pålagt og af feltets styrke. Ved at vælge t_p så $\Theta = 90^\circ$ ved pulsens slutning, er spinnene drejet i et plan vinkelret på B_0 -feltet. Her fortsætter de med at præcessere med deres Larmor-frekvens. Det svarer til en oscillerende magnetisk dipol, der kan inducere en spænding i en spole, dvs. et NMR-signal.

Relaksation, linjebredde, chemical shift og J-kobling

Sammenhængen mellem et signals linjebredde og relaksationen af det spinsystem, der forårsager signalet ses på figur A1 og A2. T_1 -relaksationen beskriver, hvordan systemet vender tilbage til termisk ligevægt (figur A1), T_2 , hvordan magnetiseringen forsvinder fra planet vinkelret på det påtrykte magnetfelt (figur A2). T_1 afhænger af, hvor hurtigt energi tabes til omgivelserne, men T_2 er et mål for henfaldet af



Figur A1. 90° radiofrekvenspuls efterfulgt af relaksation. Ved ligevægt (a) er magnetiseringen (M) rettet langs med det påtrykte magnetfelt B_0 . Som følge af en 90° rf-puls drejes magnetiseringen ned i det plan vinkelret på B_0 det transverse plan (b), hvorved M_{xy} fremkommer. Relaksation begynder umiddelbart med defasning af M_{xy} (c) og genkomst af longitudinal magnetisering M_z (d,f). Efterhånden som systemet relakserer mistes M_{xy} hurtigere (e) end M_z genvindes.

koherens mellem molekylerne. Typiske værdier for perfluorocarbonforbindelser er $T_1=1-3$ og $T_2=10-50$ ms.

Linjebredde: I samme øjeblik den transverse magnetisering er opstået, begynder den at henfalde, mens den inducerer en vekselstrøm i detektionsspolen (free induction decay, FID). Fourier-transformation relaterer FID'ets tidsakse med den spektrale frekvensakse. Under ideelle forhold er linjebredden proportional med T_2 , og bestemmelse af antallet af spin er muligt ved integration af NMR-signaler (figur A2).

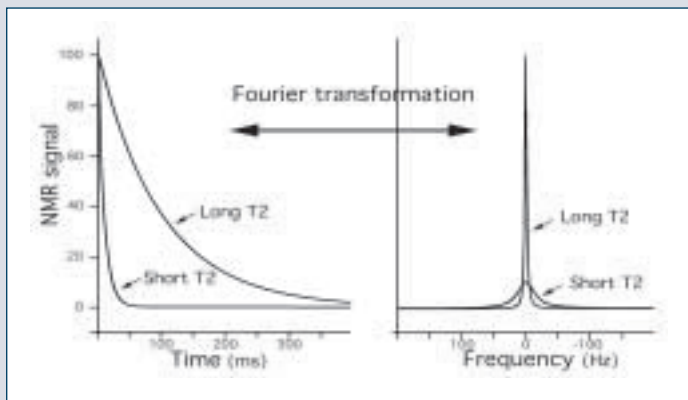
Variationer i B_0 -feltets homogenitet fra magnetfelthomogeniteter giver anledning til T_2^* -relaksation og bidrager dermed til den målte linjebredde med det resultat, at signaler i *in vivo*-spektre ofte er bredere end tilsvarende signaler fra fantomprøver (kunstige prøver med kendt geometri og sammensætning). Specier med lange T_2^* -relaksationstider giver anledning til skarpere toppe i spektret.

catabolite signals in patients receiving bolus and protracted venous infusional 5-fluorouracil. Magn Reson Med, 2000. 44(4): p. 516-20.

14. Wolf, W., et al., *Tumor trapping of 5-fluorouracil: in vivo ^{19}F NMR spectroscopic pharmacokinetics in tumor-bearing humans and rabbits.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. 87(1): p. 492-6.
15. Findlay, M.P., et al., *The non-invasive monitoring of low dose, infusional 5-fluorouracil and its modulation by interferon-alpha using in vivo ^{19}F magnetic resonance spectroscopy in patients with colorectal cancer: a pilot study.* Ann Oncol, 1993. 4(7): p. 597-602.
16. Wolf, W., C.A. Presant, and V. Waluch, *^{19}F -MRS studies of fluorinated drugs in humans.* Adv Drug Deliv Rev, 2000. 41(1): p. 55-74.
17. Wyrwicz, A.M., et al., *Noninvasive observations of fluorinated*

anesthetics in rabbit brain by fluorine-19 nuclear magnetic resonance. Science, 1983. 222(4622): p. 428-30.

18. Menon, D.K., et al., *In vivo fluorine-19 magnetic resonance spectroscopy of cerebral halothane in postoperative patients: preliminary results.* Magn Reson Med, 1993. 30(6): p. 680-4.
19. Wyrwicz, A.M., et al., *In vivo ^{19}F -NMR study of halothane distribution in brain.* Biochim Biophys Acta, 1987. 929(3): p. 271-7.
20. Lockwood, G.G., et al., *Magnetic resonance spectroscopy of isoflurane kinetics in humans. Part II: Functional localization.* Br J Anaesth, 1997. 79(5): p. 586-9.
21. Lockwood, G.G., et al., *Magnetic resonance spectroscopy of isoflurane kinetics in humans. Part I: Elimination from the head.* Br J Anaesth, 1997. 79(5): p. 581-5.



Figur A2. Linjebreddens afhængighed af T_2 -relaksation. Fourier-transformation relaterer FID'ets tidsakse (venstre) til den spektrale frekvensakse (højre) og omvendt. Der er her en faktor 10 til forskel på T_2 -relaksationstiderne af de 2 signaler. Efter Fourier-transformation giver resonansen med den lange T_2 -relaksationstid en skarpere top. De to signalers areal er det samme.

$$\frac{1}{T_2^*} = \pi \Delta \nu_{1/2} \quad (3)$$

hvor $\Delta \nu_{1/2}$ er bredden af signalet i halv højde. Chemical Shift: Når de placeres i et magnetfelt, vil elektroner danne deres eget felt, der påvirker størrelsen af det felt kernerne påvirkes af og dermed den kernemagnetiske resonansfrekvens. Se endvidere boks 1 i artiklen om NMR-titrering, Dansk Kemi nr. 11, **84**, 2003. Pga. større polariserbarhed af elektronskyen omkring ^{19}F omfatter fluor chemical shift et større område end ^1H (> 200 ppm for organiske fluorforbindelser) og er ofte mere følsom over for omgivelserne, f.eks. pH, $p\text{O}_2$ og temperatur.

J-kobling: Nabospin vekselvirker med hinanden gennem rummet og gennem kemiske bindinger. Både »ens« spin (homonukleare, f.eks. ^{19}F - ^{19}F) og »forskellige« (heteronukleare, f.eks. ^{19}F - ^1H) interaktioner er uafhængige af feltstyrken og observeres ofte som finstruktur i spektret.

Billedrekonstruering (imaging)

Af ligning 2 ses det, at fluors resonansfrekvens er proportional med det påtrykte magnetfelt. Den egenskab udnyttes ved medicinsk billeddannelse (Magnetic Resonance Imaging, MRI), hvor yderligere magnetfeltgradienter påtrykkes, så feltstyrken varierer som følge af positionen. Disse magnetfeltgradienter anvendes sammen med passende rf-pulser, så frekvens og fase af MR-signaler bliver afhængige af spinnenes rumlige placering. Det gør det muligt at konstruere et billede efter Fourier-transformation af signalerne.

22. Jynge, P., et al., *In vivo tissue pharmacokinetics by fluorine magnetic resonance spectroscopy: a study of liver and muscle disposition of fleroxacin in humans*. Clin Pharmacol Ther, 1990. 48(5): p. 481-9.
23. Bilecen, D., et al., *Detection of the non-steroidal anti-inflammatory drug niflumic acid in humans: a combined ^{19}F -MRS in vivo and in vitro study*. NMR Biomed, 2003. 16(3): p. 144-51.
24. Schwarz, R., et al., *Gastrointestinal transit times in mice and humans measured with ^{27}Al and ^{19}F nuclear magnetic resonance*. Magn Reson Med, 2002. 48(2): p. 255-61.
25. Workman, P., *Challenges of PK/PD measurements in modern drug development*. Eur J Cancer, 2002. 38(16): p. 2189-93.

FOSS

Dedicated Analytical Solutions

Automatiseret Kjeldahl analyse



Kjeltec™ fra FOSS er et uovertruffet instrument til automatisk destillation af protein og nitrogen. Kjeltec forenkler arbejdsgangen i laboratoriet, idet brugeren blot skal placere destruktionsrøret eller prøvestativerne, såfremt sampler er tilkoblet. Herefter forløber analysen automatisk.

Sikkerhed:

- Placer op til 3 stativer à 20 prøver for sikker og nem prøvehåndtering.
- Speciel blandeprocedure reducerer reaktion mellem lud og syre under destillationen. Herved undgås manuel fortynding af prøverne.

Nøjagtighed:

- Officielt godkendt (ISO, EPA samt AOAC) kolorimetrisk on-line titrering giver uovertruffen repeatabilitet
- Vægt og LIMS tilslutning, indbygget beregning, genfindelsestest mv. reducerer risikoen for manuelle fejl.

Værdi:

- Den automatiske destillation foregår uovervåget, og dermed frigøres vigtig arbejdstid for personalet.

Dedicated Analytical Solutions

FOSS i Skandinavien
Slangerupgade 69
3400 Hillerød

Tel 70 20 33 80
Fax 70 20 33 81

www.foss.dk