DOI: 10.21870/0131-3878-2019-28-4-108-117

УДК 615.849.2.03

Фармакокинетические свойства нового остеотропного соединения на основе N,N,N'-этилендиаминтетраakis (метилеифосфоной кислоты), меченой ^{68}Ga , у интактных крыс и крыс с экспериментальной моделью костной мозоли

Тищенко В.К.¹, Петриев В.М.^{1,2}, Михайловская А.А.¹, Сморязанова О.А.¹, Иванов С.А.¹, Каприн А.Д.³

¹ МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск;

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва;

³ ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

Целью данной работы было изучение фармакокинетических свойств N,N,N'-этилендиаминтетраakis(метилеифосфоной кислоты), меченой ^{68}Ga (^{68}Ga -ЭДТМФ), как потенциального радиотрейсера для визуализации костных метастазов методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ). Исследования проводились как на интактных крысах Wistar, так и крысах с экспериментальной моделью костной мозоли, являющейся простейшей моделью костного метастаза. Было показано, что ^{68}Ga -ЭДТМФ обладал высокой тропностью к костной ткани и пониженным накоплением во внутренних органах и тканях. Пиковое количество активности в кости бедра у интактных крыс достигало 1,61%/г через 1 ч после внутривенного введения. Уже через 1 ч после введения уровень активности в скелете превысил содержание в крови в 2 раза, а в мышечной ткани содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ было примерно в 4-15 раз ниже, чем в костях. Максимальное накопление активности в костной мозоли бедра составило 2,41%/г, что почти в 2 раза превышало содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в интактной бедренной кости. Таким образом, ^{68}Ga -ЭДТМФ может стать новым перспективным радиотрейсером, пригодным для визуализации костных метастазов методом ПЭТ.

Ключевые слова: N,N,N'-этилендиаминтетраakis(метилеифосфоная кислота), ^{68}Ga , фосфонаты, костные метастазы, позитронная эмиссионная томография, радионуклидная диагностика.

Введение

Метастатическое поражение костей – одно из самых распространённых осложнений солидного рака таких локализаций как молочная и предстательная железы, почки, лёгкие и др. По данным публикаций метастазы в костной ткани обнаруживаются примерно у 70% онкологических больных после лечения первичного очага [1]. У значительной части таких больных костные метастазы приводят к развитию ряда осложнений: костных болей, патологических переломов, гиперкальциемии, что снижает качество жизни пациентов. Своевременная и точная диагностика метастатического поражения скелета – основное условие, определяющее дальнейшую тактику лечения таких больных. Поэтому разработка и внедрение в рутинную клиническую практику высокоспецифичных радиофармпрепаратов (РФП) для диагностики костных метастазов является актуальной проблемой ядерной медицины.

На сегодняшний день наиболее информативный метод радионуклидной диагностики костных метастазов – позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) с 2- ^{18}F -фтор-2-дезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ) или ^{18}F -фторидом натрия (^{18}F -NaF). Для получения ^{18}F ($T_{1/2}=110$ мин) необходимо наличие специального дорогостоящего высокотехнологичного оборудования – меди-

Тищенко В.К. – ст. науч. сотр., к.б.н.; Петриев В.М.* – вед. науч. сотр., д.б.н., проф. НИЯУ МИФИ; Михайловская А.А. – ст. науч. сотр., к.б.н.; Сморязанова О.А. – ст. науч. сотр., к.б.н.; Иванов С.А. – директор, д.м.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Каприн А.Д. – ген. директор, акад. РАН, д.м.н., проф. ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

*Контакты: 249035, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: (484) 399-71-00; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru.

цинского циклотрона и оборудования для автоматизированного синтеза, а также радиохимической лаборатории с отделом контроля качества РФП – непосредственно в клинике или поблизости от ПЭТ-центра. Все это приводит к возрастанию стоимости клинической дозы РФП [2]. Кроме того, повышенное накопление ^{18}F -ФДГ отмечено и при таких процессах как артриты, остеомиелит, фиброзная дисплазия и др. [3].

Альтернативным радионуклидом для проведения ПЭТ исследований является галлий-68 (^{68}Ga). Он обладает оптимальными ядерно-физическими свойствами ($T_{1/2}=68$ мин, $\beta^+=89\%$, $E^+_{\beta\text{max}}=1,9$ МэВ) для создания диагностических РФП. Возможность его получения в ионной форме из коммерчески доступного генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ непосредственно в медицинском учреждении даёт огромное экономическое преимущество. Период полураспада материнского радионуклида ^{68}Ge составляет 288 суток, что позволяет использовать генератор в течение 12-18 месяцев, а период полураспада ^{68}Ga ($T_{1/2}=68$ мин) позволит вводить РФП с необходимой активностью, не создавая при этом значительной дозовой нагрузки на пациента и медицинский персонал [4].

Для селективной доставки ^{68}Ga в костную ткань предлагается использовать фосфоновые кислоты и их производные. Обладая тропностью к гидроксиапатиту костной ткани, они накапливаются преимущественно в метастатических и воспалительно-деструктивных очагах [5]. Фосфонаты, меченные $^{99\text{m}}\text{Tc}$, широко используются в рутинной клинической практике для диагностики различных заболеваний скелета, в том числе и костных метастазов, методами остеосцинтиграфии и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) [5, 6].

Широко используемой аминокислотой является N,N,N'-этилендиаминтетракет- (метилена)дифосфоновая кислота (ЭДТМФ). Наиболее стабильны её комплексы с радиолантаноидами и трёхвалентными металлами [7]. Препараты на её основе – ^{153}Sm -ЭДТМФ (лексидронам) и ^{177}Lu -ЭДТМФ – показали свою эффективность в клинических исследованиях для паллиативной терапии костных метастазов [8]. Таким образом, целью данной работы стало получение и изучение фармакокинетических свойств нового соединения на основе ЭДТМФ и ^{68}Ga .

Материалы и методы

Изучение биораспределения ^{68}Ga -ЭДТМФ проводили на крысах Wistar, самках, с массой тела 140-160 г. Всего было использовано 36 животных.

Животные были поделены на 3 равные группы (по 12 крыс в каждой). Всем животным первой группы внутривенно (в хвостовую вену) однократно вводили ^{68}Ga -ЭДТМФ с активностью 0,37 МБк в объёме 0,1 мл. Вторая группа животных служила контролем: им внутривенно (в хвостовую вену) однократно вводили $^{68}\text{GaCl}_3$ с активностью 0,37 МБк в объёме 0,1 мл на крысу. Третью группу животных составляли крысы Wistar с экспериментальной моделью костной мозоли. Костная патология имитировалась переломом правого бедра. Манипуляции с животными проводили под эфирным наркозом. Через 14 дней после перелома, в течение которых формировалась костная мозоль, животным внутривенно (в хвостовую вену) однократно вводили ^{68}Ga -ЭДТМФ с активностью 0,37 МБк в объёме 0,1 мл.

В различные сроки (через 5 мин, 1 и 3 ч) после внутривенного введения меченых препаратов на каждый срок отбирали 4 животных и подвергали их эвтаназии путём декапитации (под наркозом), выделяли пробы органов и тканей, помещали их в пластиковые пробирки, взвешивали на электронных весах «Sartorius» (Германия) и проводили радиометрию с помощью авто-

матического гамма-счётчика «Wizard» версии 2480 фирмы PerkinElmer/Wallac (Финляндия). На момент введения в отдельные пробирки отбирали пробы ^{68}Ga -ЭДТМФ и $^{68}\text{GaCl}_3$ в объёме 0,1 мл для использования в качестве стандарта введённой дозы. По данным радиометрии на каждый срок наблюдения рассчитывали количество радиоактивности на 1 г органа или ткани в процентах от введённой дозы (%/г).

Результаты радиометрии обрабатывали методом оценки с вычислением средней величины и стандартной ошибки средней величины ($M \pm m$). Сравнение уровней накопления радиоактивности в группах проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При анализе биораспределения активности после однократного внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ установлено, что и у intactных крыс, и у крыс с костной мозолью наибольшая концентрация активности отмечалась в коленном суставе и костной ткани. Как показано на рис. 1 и 2, содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в этих органах характеризовалось достаточно высокими значениями активности уже через 5 мин после введения, достигая пиковых концентраций в срок 1 ч и немного снижаясь через 3 ч. Так, у intactных крыс через 5 мин после введения накопление ^{68}Ga -ЭДТМФ в кости бедра составило 1,05%/г, а через 1 ч – возросло до 1,61%/г, незначительно снижаясь до 1,44%/г в срок 3 ч. Максимальные уровни активности в других костях составили: 1,44%/г – в голени, 1,20%/г – в кости черепа, 1,41%/г – в кости ребра и 1,32%/г – в кости позвоночника (рис. 1). Наибольшее содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ зарегистрировано в коленном суставе – 1,69-2,87%/г.

Рис. 1. Средние величины удельного содержания радиоактивности в органах и тканях intactных крыс Wistar в различные сроки после внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ.

У крыс с костной мозолью бедренной кости концентрация ^{68}Ga -ЭДТМФ во всех органах и тканях (рис. 2) была немного ниже, чем у интактных крыс. В кости бедра уровень активности составил 0,82-1,43%/г, в кости голени – 0,58-1,18%/г, в кости черепа – 0,65-1,09%/г, в кости ребра – 0,75-1,21%/г, в кости позвоночника – 0,70-1,23%/г, в коленном суставе – 1,33-2,68%/г. При этом отмечался высокий уровень активности в бедренной кости с переломом: 1,18%/г, 2,34%/г и 2,41%/г через 5 мин, 1 ч и 3 часа после введения. Таким образом, содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в кости бедра с мозолью в 1,4-1,6 раза превышает активность в контрольном (неповреждённом) бедре, что свидетельствует о возможности визуализации участков костной ткани с более интенсивным минеральным обменом, чем в здоровой костной ткани.

Рис. 2. Средние величины удельного содержания радиоактивности в органах и тканях крыс Wistar с экспериментальной моделью костной мозоли в различные сроки после внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ.

Из представленных на рис. 3 данных видно, что биораспределение ^{68}Ga -ЭДТМФ в костной ткани существенно отличается от $^{68}\text{GaCl}_3$. Несмотря на постепенное накопление $^{68}\text{GaCl}_3$ в костях его содержание оставалось существенно ниже (менее 1%/г), чем ^{68}Ga -ЭДТМФ ($p < 0,05$). Известно, что $^{68}\text{GaCl}_3$ способен связываться с гидроксипатитом и компактным веществом костного матрикса [9], но из-за высокого сродства к белкам плазмы крови $^{68}\text{GaCl}_3$ не может использоваться для визуализации повреждений костной ткани.

Важной характеристикой диагностических РФП являются численные соотношения активности в костной ткани и внутренних органах и тканях, представленные в табл. 1. Соотношения кость/кровь для ^{68}Ga -ЭДТМФ в срок 5 мин были меньше 1, но в последующие сроки эти величины превысили 1. Содержание $^{68}\text{GaCl}_3$ в крови было выше, чем в костях, из-за чего соотношения кость/кровь были меньше 1. Соотношения кость/мышца ^{68}Ga -ЭДТМФ были больше 1 во все сроки эксперимента, существенно превышая эти величины для $^{68}\text{GaCl}_3$ ($p < 0,05$), что предполагает возможность визуализации костной ткани методом ПЭТ.

■ — ^{68}Ga -ЭДТМФ (интактные крысы) ■ — ^{68}Ga -ЭДТМФ (крысы с костной мозолью) ■ — $^{68}\text{GaCl}_3$

Рис. 3. Средние величины удельного содержания радиоактивности в костях крыс Wistar в различные сроки после внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ и $^{68}\text{GaCl}_3$ (в %/г).
* — $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой ($^{68}\text{GaCl}_3$).

Таблица 1

Отношения удельного содержания активности в костях к удельному содержанию в крови и мышце у интактных крыс Wistar в различные сроки после внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ и $^{68}\text{GaCl}_3$

	Время после введения препарата		
	5 мин	1 ч	3 ч
Кость бедра/кровь	0,77±0,13* 0,21±0,02** p<0,01	2,40±,53 0,40±0,02 p<0,01	2,50±0,37 0,61±0,05 p<0,01
Кость бедра/мышца	5,27±0,65 2,37±0,22 p<0,01	13,03±1,09 3,40±0,28 p<0,001	15,32±3,61 6,81±2,95 p>0,1
Кость голени/кровь	0,54±0,08 0,18±0,02 p<0,01	2,15±0,46 0,37±0,08 p<0,01	1,53±0,32 0,43±0,08 p<0,02
Кость голени/мышца	3,67±0,32 2,00±0,12 p<0,01	11,60±1,26 3,13±0,30 p<0,001	8,58±0,83 3,28±0,15 p<0,001
Кость черепа/кровь	0,62±0,04 0,16±0,01 p<0,001	2,34±0,55 0,31±0,04 p<0,02	1,44±0,16 0,39±0,06 p<0,001
Кость черепа/мышца	4,26±0,25 1,81±0,12 p<0,001	9,92±1,27 2,60±0,34 p<0,002	8,81±1,73 4,46±2,19 p>0,1
Кость ребра/кровь	0,65±0,04 0,15±0,01 p<0,001	2,15±0,54 0,23±0,04 p<0,05	1,68±0,21 0,31±0,02 p<0,001
Кость ребра/мышца	4,49±0,20 1,66±0,11 p<0,001	11,36±0,80 1,95±0,35 p<0,001	10,33±2,21 3,30±1,28 p<0,05
Кость позвоночника/кровь	0,68±0,06 0,23±0,02 p<0,001	1,99±0,46 0,38±0,03 p<0,02	1,61±0,21 0,54±0,05 p<0,01
Кость позвоночника/мышца	4,67±0,32 2,65±0,26 p<0,01	10,67±0,89 3,27±0,29 p<0,001	9,60±1,58 5,19±1,38 p>0,05

* — ^{68}Ga -ЭДТМФ; ** — $^{68}\text{GaCl}_3$.

Возросший за последние 10-15 лет интерес к радионуклиду ^{68}Ga обусловил разработку новых высокоспецифичных РФП для диагностики метастатического поражения скелета методом ПЭТ. На сегодняшний день разрабатываемые препараты на основе ^{68}Ga для визуализации заболеваний костной ткани можно разделить на 2 группы: соединения на основе мультидентатных аминокислот и соединения на основе производных макроциклов, таких как DOTA, NOTA и др.

Подходящей аминокислотой для создания остеотропных РФП является ЭДТМФ. Возможность синтеза ^{68}Ga -ЭДТМФ показана в работах [9-11]. В экспериментах *pre vivo* препарат эффективно связывался с гидроксиапатитом и компактным веществом костной ткани [12]. Так, уже через 15 мин после инкубации величина связывания ^{68}Ga -ЭДТМФ с гидроксиапатитом составила 3,53%, возрастая до 4,89% через 240 мин [9].

Преимущественное накопление ^{68}Ga -ЭДТМФ в костной ткани при его внутривенном введении отмечалось во многих исследованиях [9-11]. В работе [11] изучали биораспределение ^{68}Ga -ЭДТМФ на крысах дикого типа (wild-type rats) *in vivo*. Накопление активности в костной ткани в период 15-120 мин составляло 1,7-3%/г [11]. У мышей удельная активность ^{68}Ga -ЭДТМФ в кости бедра достигала 4,60%/г в срок 3 ч после введения [9]. Интересно, что высокая активность также была отмечена в хвосте (месте введения препарата) – 4,68%/г [9]. У собак пиковая активность в скелете через 3 ч после внутривенного введения ^{68}Ga -ЭДТМФ составила 21%/г [10].

Среди других перспективных соединений на основе аминокислот и ^{68}Ga следует отметить ^{68}Ga -транс-1,2-циклогексилдинитрилтетраметилфосфоновою кислоту [13]. В экспериментах *in vitro* адсорбция соединения гидроксиапатитом достигала 89%. При внутривенном введении препарата мышам BALB/c максимальное накопление радиоактивности в костной ткани составило 6,12%/г. Также показана возможность визуализации скелета с помощью данного препарата.

Особый интерес представляют меченные ^{68}Ga соединения на основе фосфоновых производных макроциклов, таких как DOTA, NOTA и др. [14]. Показана возможность успешного синтеза ^{68}Ga -DOTA-(4-[[бис(фосфонометил)карбамоил]метил]-7,10-бис(карбокси-метила) (^{68}Ga -BRAMD) [15, 16], ^{68}Ga -NOTA-алендроната [17], ^{68}Ga -DOTA-памидроната и ^{68}Ga -DOTA-золедроната [18]. Их максимальные концентрации в кости бедра у интактных крыс Wistar достигали значений 4,53%/г, 5,40%/г и 4,75%/г для ^{68}Ga -DOTA-памидроната, ^{68}Ga -DOTA-золедроната и ^{68}Ga -NOTA-алендроната соответственно [17, 18].

Тем не менее, данные соединения не лишены недостатков. Процесс введения ^{68}Ga является достаточно длительным и требующим нагревания смеси до 95-100 °C в течение 10-30 мин [16, 17]. Последующее охлаждение готового препарата приводит к снижению его активности почти в 2 раза с момента начала синтеза. Кроме того, стоимость исходных конъюгатов достаточно высока. Таким образом, перспективность применения комплексных соединений аминокислот с ^{68}Ga в качестве препаратов для диагностики метастатического поражения скелета очевидна.

Известно, что $^{68}\text{Ga}^{3+}$ обладает высоким сродством к белкам плазмы крови – трансферрину, ферритину и лактоферрину [19, 20]. Ионы галлия могут связываться с двумя металл-связывающими центрами трансферрина с константами $\log K_1=20,3$ и $\log K_2=19,3$, что крайне близко к константам связывания железа с трансферрином [20]. Ещё эффективнее связывание $^{68}\text{Ga}^{3+}$ с лактоферрином (константы связывания – $\log K_1=21,43$ и $\log K_2=20,57$) [20]. Связываясь с белками, $^{68}\text{Ga}^{3+}$ способен долгое время находиться в кровотоке, тогда как ^{68}Ga в комплексе с ЭДТМФ быстро выводится из крови, накапливаясь в костной ткани. Этим обусловлено пони-

женное, по сравнению с $^{68}\text{GaCl}_3$, содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в крови и у intactных крыс, и у крыс с костной мозолью на протяжении всего исследования. Максимальная концентрация ^{68}Ga -ЭДТМФ у intactных крыс не превышала 1,36%/г, а у крыс с костной мозолью – 1,09%/г. Исходная активность несвязанного ^{68}Ga в крови составила $2,06 \pm 0,15\%$ /г, снижаясь за 3 ч лишь до $1,36 \pm 0,09\%$ /г.

Постепенное увеличение концентрации ^{68}Ga -ЭДТМФ отмечалось в ткани печени и селезёнке. В печени intactных крыс удельная активность возрастала с 0,26%/г до 0,62%/г, а в селезёнке – с 0,26%/г до 1,58%/г. У крыс с костной мозолью пиковые значения активностей в печени и селезёнке составили 0,82%/г и 2,76%/г соответственно. Эти органы характеризуются повышенным содержанием трансферрина, рецепторов к трансферрину, лактоферрина и ферритина [21, 22], поэтому несвязанный $^{68}\text{Ga}^{3+}$ обладает повышенной тропностью к этим органам и тканям. Это объясняет высокие уровни активности в печени и селезёнке при введении $^{68}\text{GaCl}_3$. Постепенное накопление активности в печени и селезёнке при введении ^{68}Ga -ЭДТМФ связано, вероятно, с частичным выходом $^{68}\text{Ga}^{3+}$ из комплекса с ЭДТМФ.

В почках высокий уровень ^{68}Ga -ЭДТМФ зарегистрирован лишь в срок 5 мин после инъекции препарата и достигал 1,71%/г и 2,07%/г у intactных крыс и крыс с костной мозолью соответственно. Однако в следующие 3 ч содержание активности у intactных крыс снизилось почти в 8 раз до 0,21%/г, а у крыс с переломом бедра – в 9 раз до 0,24%/г. Концентрация $^{68}\text{GaCl}_3$ в почках изменялась незначительно с 0,54%/г в срок 5 мин до 0,42%/г и 0,49%/г через 1 ч и 3 ч соответственно.

В лёгких, сердце, желудке, кишечнике и мышечной ткани удельная активность ^{68}Ga -ЭДТМФ не превышала содержания $^{68}\text{GaCl}_3$. При этом выведение ^{68}Ga -ЭДТМФ из этих органов осуществлялось быстрее, чем $^{68}\text{GaCl}_3$. Так, содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в лёгких, сердце и мышечной ткани за 3 ч снизилось почти в 2 раза, в то время как активность $^{68}\text{GaCl}_3$ в лёгких и сердце уменьшилась лишь в 1,5 раза, а в мышечной ткани – сохранялась практически на одном уровне (0,16-0,19%/г). В тканях желудка и тонкого кишечника концентрация активности при внутривенном введении $^{68}\text{GaCl}_3$ постепенно возрастала до 0,47%/г в желудке и 0,28%/г в кишечнике. Содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в желудке и тонком кишечнике в течение эксперимента, напротив, снижалось как у intactных крыс, так и крыс с костной мозолью.

Заключение

Исследования биораспределения ^{68}Ga -ЭДТМФ у intactных крыс и крыс с экспериментальной моделью костной мозоли показали быстрое и селективное накопление активности в костной ткани и низкое поглощение другими органами и тканями. Уже через 1 ч после введения уровень активности в скелете превысил содержание в крови в 2 раза, а в мышечной ткани содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ было примерно в 4-15 раз ниже, чем в костях. В костной мозоли бедра накопление ^{68}Ga -ЭДТМФ почти в 2 раза превысило активность в intactной бедренной кости. Отмечено пониженное, по сравнению с $^{68}\text{GaCl}_3$, содержание ^{68}Ga -ЭДТМФ в крови на протяжении всего исследования.

Таким образом, ^{68}Ga -ЭДТМФ может стать новым перспективным радиотрейсером, пригодным для визуализации костных метастазов методом ПЭТ.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение от 26 ноября 2018 г. № 075-02-2018-097). Уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0174.

Литература

1. **Coleman R.E.** Skeletal complications of malignancy //Cancer. 1997. V. 80, N 8 (Suppl.). P. 1588-1594.
2. **Петриев В.М., Тищенко В.К., Красикова Р.Н.** ^{18}F -ФДГ и другие меченые производные глюкозы для использования в радионуклидной диагностике онкологических заболеваний (обзор) //Химико-фармацевтический журнал. 2016. Т. 50, № 4. С. 3-14.
3. **Broski S.M., Young J.R., Kendi A.T., Subramaniam R.M.** Skeletal metastases evaluation: value and impact of PET/computed tomography on diagnosis, management and prognosis //PET Clin. 2019. V. 14, N 1. P. 103-120.
4. **Rösch F.** Past, present and future of $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators //Appl. Radiat. Isot. 2013. V. 76. P. 24-30.
5. **Wong K.K., Piert M.** Dynamic bone imaging with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled diphosphonates and ^{18}F -NaF: mechanisms and applications //J. Nucl. Med. 2013. V. 54, N 4. P. 590-599.
6. **Brenner A.I., Koshy J., Morey J., Lin C., DiPoce J.** The bone scan //Semin. Nucl. Med. 2012. V. 42, N 1. P. 11-26.
7. **Bahrami-Samani A., Ghannadi-Maragheh M., Jalilian A.R., Meftahi M., Shirvani-Arani S., Moradkhani S.** Production, quality control and biological evaluation of ^{153}Sm -EDTMP in wild-type rodents //Iran J. Nucl. Med. 2009. V. 17, N 2. P. 12-19.
8. **Lange R., ter Heine R., Knapp R., de Klerk J.M.H., Bloemendal H.J., Hendrikse N.H.** Pharmaceutical and clinical development of phosphonate-based radiopharmaceuticals for the targeted treatment of bone metastases //Bone. 2016. V. 91. P. 159-179.
9. **Toegel S., Wadsak W., Mien L.K., Viernstein H., Kluger R., Eidherr H., Haeusler D., Kletter K., Dudczak R., Mitterhauser M.** Preparation and pre-vivo evaluation of no-carrier-added, carrier-added and cross-complexed $[(^{68}\text{Ga})\text{-EDTMP}]$ formulations //Eur. J. Pharm. Biopharm. 2008. V. 68, N 2. P. 406-412.
10. **Dewanjee M.K., Hnatowich D.J., Beh R.** New ^{68}Ga -labeled skeletal-imaging agents for positron scintigraphy //J. Nucl. Med. 1976. V. 17, N 11. P. 1003-1007.
11. **Mirzaei A., Jalilian A.R., Badbarin A., Mazidi M., Mirshojaei F., Geramifar P., Beiki D.** Optimized production and quality control of ^{68}Ga -EDTMP for small clinical trials //Ann. Nucl. Med. 2015. V. 29, N 6. P. 506-511.
12. **Mitterhauser M., Toegel S., Wadsak W., Lanzenberger R.R., Mien L.K., Kuntner C., Wanek T., Eidherr H., Ettlinger D.E., Viernstein H., Kluger R., Dudczak R., Kletter K.** Pre vivo, ex vivo and in vivo evaluations of $[(^{68}\text{Ga})\text{-EDTMP}]$ //Nucl. Med. Biol. 2007. V. 34, N 4. P. 391-397.
13. **Jaswal A.P., Meena V.K., Prakash S., Pandey A., Singh B., Mishra A.K., Hazari P.P.** $[(^{68}\text{Ga})/^{188}\text{Re}]$ complexed [CDTMP] trans-1,2-cyclohexyldinitrilotetraphosphonic acid as a theranostic agent for skeletal metastases //Front. Med. 2017. V. 4. P. 72.
14. **Pfannkuchen N., Meckel M., Bergmann R., Bachmann M., Bal C., Sathekge M., Mohnike W., Baum R.P., Rösch F.** Novel radiolabeled bisphosphonates for PET diagnosis and endoradiotherapy of bone metastases //Pharmaceuticals (Basel). 2017. V. 10, N 2. P. E45.
15. **Vitha T., Kubicek V., Hermann P., Elst L.V., Muller R.N., Kolar Z.I., Wolterbeek H.T., Breeman W.A., Lukes I., Peters J.A.** Lanthanide (III) complexes of bis(phosphonate) monoamide analogues of DOTA: bone-seeking agents for imaging and therapy //J. Med. Chem. 2008. V. 51, N 3. P. 677-683.
16. **Fellner M., Biesalski B., Bausbacher N., Kubicek V., Hermann P., Rosch F., Thews O.** $(^{68}\text{Ga})\text{-BPAMD}$: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter //Nucl. Med. Biol. 2012. V. 3, N 7. P. 993-999.
17. **Suzuki K., Satake M., Suwada J., Oshikiri S., Shino H., Dozono H., Ino A., Kasahara H., Minamizawa T.** Synthesis and evaluation of a novel ^{68}Ga -chelate-conjugated bisphosphonate as a bone-seeking agent for PET imaging //Nucl. Med. Biol. 2011. V. 38, N 7. P. 1011-1018.
18. **Meckel M., Bergmann R., Miederer M., Roesch F.** Bone targeting compounds for radiotherapy and imaging: $^*\text{Me(III)}$ -DOTA conjugates of bisphosphonic acid, pamidronic acid and zoledronic acid //EJNMMI Radiopharm. Chem. 2016. V. 1, N 1. P. 14.

19. **Autio A., Virtanen H., Tolvanen T., Liljenbäck H., Oikonen V., Saanijoki T., Siitonen R., Käkälä M., Schüssele A., Teräs M., Roivainen A.** Absorption, distribution and excretion of intravenously injected $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator eluate in healthy rats, and estimation of human radiation dosimetry // *EJNMMI Res.* 2015. V. 5, N 1. P. 117.
20. **Bernstein L.R.** Mechanisms of therapeutic activity for gallium // *Pharmacol. Rev.* 1998. V. 50, N 4. P. 665-682.
21. **Kawabata H.** Transferrin and transferrin receptors update // *Free. Radic. Biol. Med.* 2019. V. 133. P. 46-54.
22. **Ponka P., Lok C.N.** The transferrin receptor: role in health and disease // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1999. V. 31, N 1. P. 1111-1137.

Pharmacokinetic properties of a new bone-seeking compound based on N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis(methylene phosphonic acid) labeled with ^{68}Ga in intact rats and rats with experimental model of bone callus

**Tishchenko V.K.¹, Petriev V.M.^{1,2}, Mikhailovskaya A.A.¹, Smoryzanova O.A.¹,
Ivanov S.A.¹, Kaprin A.D.³**

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

² National Research Nuclear University MEPhI, Moscow;

³ NMRRRC Russian Ministry of Health, Moscow

The objective of this work was the study of pharmacokinetic properties of N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis(methylene phosphonic acid) labeled with gallium-68 (^{68}Ga -EDTMP) as a potential radiotracer for bone metastases imaging by positron emission tomography (PET). The investigation was carried out in both intact Wistar rats and rats with experimental model of bone callus. It was shown, that ^{68}Ga -EDTMP had high bone affinity and reduced uptake in soft organs and tissues. The peak amount of activity in femur of intact rats reached 1,61%/g at 1 h after intravenous administration. The levels of activity in skeleton have been twice as high as those in blood already at 1 h after injection, and in muscle the amount of ^{68}Ga -EDTMP was about 4-15 times lower as compared with bones. The highest uptake of activity in bone callus was 2,41%/g, and was almost twice the amount of ^{68}Ga -EDTMP in intact femur. In conclusion, ^{68}Ga -EDTMP can be a new promising PET radiotracer for bone metastases imaging.

Key words: N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis(methylene phosphonic acid), gallium-68, phosphonates, bone metastases, positron emission tomography, radionuclide diagnosis.

References

1. **Coleman R.E.** Skeletal complications of malignancy. *Cancer*, 1997, vol. 80, no. 8 (Suppl.), pp. 1588-1594.
2. **Petriev V.M., Tishchenko V.K., Krasikova R.N.** ^{18}F -FDG and other labeled glucose derivatives for use in radionuclide diagnosis of oncological diseases (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal – Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2016, vol. 50, no. 4, pp. 209-220. (In Russian).
3. **Broski S.M., Young J.R., Kendi A.T., Subramaniam R.M.** Skeletal metastases evaluation: value and impact of PET/computed tomography on diagnosis, management and prognosis. *PET Clin.*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 103-120.
4. **Rösch F.** Past, present and future of $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators. *Appl. Radiat. Isot.*, 2013, vol. 76, pp. 24-30.
5. **Wong K.K., Piert M.** Dynamic bone imaging with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled diphosphonates and ^{18}F -NaF: mechanisms and applications. *J. Nucl. Med.*, 2013, vol. 54, no. 4, pp. 590-599.
6. **Brenner A.I., Koshy J., Morey J., Lin C., DiPoce J.** The bone scan. *Semin. Nucl. Med.*, 2012, vol. 42, no. 1, pp. 11-26.

Tishchenko V.K. – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Petriev V.M.*** – Lead. Researcher, D. Sc., Biol., Prof. of MEPhI; **Mikhailovskaya A.A.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Smoryzanova O.A.** – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; **Ivanov S.A.** – Director, MD, Prof. A. Tsyb MRRC. **Kaprin A.D.** – General Director, Academician of RAS, MD, Prof. NMRRRC.

*Contacts: 4 Korolyov str, Obninsk, Kaluga region, 249035, Russia. Tel.: (484) 399-71-00; e-mail: petriev@mrcc.obninsk.ru.

7. **Bahrami-Samani A., Ghannadi-Maragheh M., Jalilian A.R., Meftahi M., Shirvani-Arani S., Moradkhani S.** Production, quality control and biological evaluation of ^{153}Sm -EDTMP in wild-type rodents. *Iran J. Nucl. Med.*, 2009, vol. 17, no. 2, pp. 12-19.
8. **Lange R., ter Heine R., Knapp R., de Klerk J.M.H., Bloemendal H.J., Hendrikse N.H.** Pharmaceutical and clinical development of phosphonate-based radiopharmaceuticals for the targeted treatment of bone metastases. *Bone*, 2016, vol. 91, pp. 159-179.
9. **Toegel S., Wadsak W., Mien L.K., Viernstein H., Kluger R., Eidherr H., Haeusler D., Kletter K., Dudczak R., Mitterhauser M.** Preparation and pre-vivo evaluation of no-carrier-added, carrier-added and cross-complexed $[(^{68}\text{Ga})\text{-EDTMP}]$ formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008, vol. 68, no. 2, pp. 406-412.
10. **Dewanjee M.K., Hnatowich D.J., Beh R.** New ^{68}Ga -labeled skeletal-imaging agents for positron scintigraphy. *J. Nucl. Med.*, 1976, vol. 17, no. 11, pp. 1003-1007.
11. **Mirzaei A., Jalilian A.R., Badbarin A., Mazidi M., Mirshojaei F., Geramifar P., Beiki D.** Optimized production and quality control of ^{68}Ga -EDTMP for small clinical trials. *Ann. Nucl. Med.*, 2015, vol. 29, no. 6, pp. 506-511.
12. **Mitterhauser M., Toegel S., Wadsak W., Lanzenberger R.R., Mien L.K., Kuntner C., Wanek T., Eidherr H., Ettlinger D.E., Viernstein H., Kluger R., Dudczak R., Kletter K.** Pre vivo, ex vivo and in vivo evaluations of $[(^{68}\text{Ga})\text{-EDTMP}]$. *Nucl. Med. Biol.*, 2007, vol. 34, no. 4, pp. 391-397.
13. **Jaswal A.P., Meena V.K., Prakash S., Pandey A., Singh B., Mishra A.K., Hazari P.P.** $[(^{68}\text{Ga})/^{188}\text{Re}]$ complexed [CDTMP] trans-1,2-cyclohexyldinitrilotetraphosphonic acid as a theranostic agent for skeletal metastases. *Front. Med.*, 2017, vol. 4, p. 72.
14. **Pfannkuchen N., Meckel M., Bergmann R., Bachmann M., Bal C., Sathekege M., Mohnike W., Baum R.P., Rösch F.** Novel radiolabeled bisphosphonates for PET diagnosis and endoradiotherapy of bone metastases. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2017, vol. 10, no. 2, p. E45.
15. **Vitha T., Kubicek V., Hermann P., Elst L.V., Muller R.N., Kolar Z.I., Wolterbeek H.T., Breeman W.A., Lukes I., Peters J.A.** Lanthanide (III) complexes of bis(phosphonate) monoamide analogues of DOTA: bone-seeking agents for imaging and therapy. *J. Med. Chem.*, 2008, vol. 51, no. 3, pp. 677-683.
16. **Fellner M., Biesalski B., Bausbacher N., Kubicek V., Hermann P., Rosch F., Thews O.** $(^{68}\text{Ga})\text{-BPAMD}$: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter. *Nucl. Med. Biol.*, 2012, vol. 39, no. 7, pp. 993-999.
17. **Suzuki K., Satake M., Suwada J., Oshikiri S., Shino H., Dozono H., Ino A., Kasahara H., Minamizawa T.** Synthesis and evaluation of a novel ^{68}Ga -chelate-conjugated bisphosphonate as a bone-seeking agent for PET imaging. *Nucl. Med. Biol.*, 2011, vol. 38, no. 7, pp. 1011-1018.
18. **Meckel M., Bergmann R., Miederer M., Roesch F.** Bone targeting compounds for radiotherapy and imaging: $^{99}\text{Tc}(\text{III})\text{-DOTA}$ conjugates of bisphosphonic acid, pamidronic acid and zoledronic acid. *EJNMMI Radiopharm. Chem.*, 2016, vol. 1, no. 1, p. 14.
19. **Autio A., Virtanen H., Tolvanen T., Liljenbäck H., Oikonen V., Saanijoki T., Siitonen R., Käkälä M., Schüssele A., Teräs M., Roivainen A.** Absorption, distribution and excretion of intravenously injected $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator eluate in healthy rats, and estimation of human radiation dosimetry. *EJNMMI Res.*, 2015, vol. 5, no. 1, p. 117.
20. **Bernstein L.R.** Mechanisms of therapeutic activity for gallium. *Pharmacol. Rev.*, 1998, vol. 50, no. 4, pp. 665-682.
21. **Kawabata H.** Transferrin and transferrin receptors update. *Free Radic. Biol. Med.*, 2019, vol. 133, pp. 46-54.
22. **Ponka P., Lok C.N.** The transferrin receptor: role in health and disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1999, vol. 31, no. 10, pp. 1111-1137.