Остеотропные радиофармацевтические препараты на основе фосфоновых кислот и ^{68}Ga (обзор)

Тищенко В.К.¹, Петриев В.М.^{1,2}, Завестовская И.Н.², 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

Костные метастазы являются причиной значительных болевых ощущений, нарастающих по мере прогрессирования солидного рака и приводящих к резкому снижению качества жизни пациентов. Своевременная и точная диагностика является основным условием, определяющим возможность радикального лечения онкологических больных. На сегодняшний день наиболее информативным методом радионуклидной диагностики является позитронная эмиссионная томография (ПЭТ). ПЭТ – высокочувствительный неинвазивный метод визуализации биохимических и молекулярных процессов в организме, позволяющий обнаруживать опухолевые поражения в ситуациях, когда структурные изменения не определяются или неспецифичны. В настоящее время для ПЭТ-диагностики метастатического поражения скелета применяются радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП) на основе ^{18}F . Их основным недостатком является циклотронный способ получения ^{18}F , что ограничивает использование ^{18}F -содержащих РФЛП. В течение последних 15-17 лет во всём мире отмечается значительный рост интереса к радионуклиду ^{68}Ga . ^{68}Ga – перспективный генераторный радионуклид с оптимальными ядерно-физическими свойствами ($T_{1/2}=68$ мин, $\beta^+=89\%$, $E^+_{\text{max}}=1,9$ МэВ) для создания широкого спектра РФЛП. В представленной работе приведены ядерно-физические, химические и биологические характеристики ^{68}Ga . Особенно подробно в статье освещены подходы к созданию новых остеотропных соединений на основе фосфоновых кислот и ^{68}Ga , определены их преимущества и недостатки. Кроме того, приведена подробная информация об экспериментальном изучении и клиническом опыте применения наиболее перспективных препаратов.

Ключевые слова: галлий-68, фосфоновые кислоты, бисфосфонаты, остеотропные радиофармпрепараты, костные метастазы, радионуклидная диагностика, позитронная эмиссионная томография, этилендиаминтетра(метиленфосфоновая кислота), 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(метиленфосфоновая кислота), DOTA, NOTA.

Введение

Костные метастазы – наиболее частое осложнение некоторых солидных опухолей, особенно на поздних стадиях. Среди всех локализаций метастазов злокачественных опухолей кости занимают третье место по частоте после печени и лёгких. Подавляющее большинство метастатических изменений в костях происходит из опухолей молочной железы, предстательной железы и лёгких [1, 2]. Более половины пациентов с костными метастазами страдают от болей в костях, существенно ухудшающих качество их жизни. Кроме того, несвоевременная диагностика или неправильное лечение могут привести к таким серьёзным осложнениям, как компрессия спинного мозга, гиперкальциемия и патологические переломы различных костей [3]. Поэтому раннее выявление и адекватная терапия метастазов в костях обеспечивает максимальное повышение качества жизни пациента и его функциональную активность.

Решение этой проблемы связывают, прежде всего, с развитием метода позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), потенциал которого в значительной степени определяется ар-

Тищенко В.К. – вед. научн. сотр., к.б.н.; Петриев В.М.* – зав. лаб., д.б.н., проф. НИЯУ МИФИ; Иванов С.А. – директор, д.м.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Завестовская И.Н. – рук. высшей школы физиков им. Н.Г. Басова, д.ф.-м.н. НИЯУ МИФИ. 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.

сеналом доступных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП). На сегодняшний день в клинической практике для диагностики костных метастазов используются два РФЛП: 2- ^{18}F -фтор-2-дезоксиглюкоза (^{18}F -ФДГ) и фторид натрия (^{18}F -NaF). Их производство требует наличия циклотрона и другого дорогостоящего оборудования для автоматизированного синтеза, что приводит к высокой стоимости клинической дозы РФЛП [4]. Короткий период полураспада ^{18}F , по сравнению с генераторным радионуклидом $^{99\text{m}}\text{Tc}$, также ограничивает широкое распространение ПЭТ, так как оставляет слишком мало времени на доставку и введение пациенту.

Возможность создания новых РФЛП формирует огромный потенциал развития метода ПЭТ. Важным направлением является разработка новых остеотропных РФЛП на основе фосфоновых кислот и генераторного радионуклида ^{68}Ga . Фосфоновые кислоты обладают повышенным сродством к гидроксиапатиту костной ткани и потому являются идеальными соединениями для таргетной доставки радиоактивности в кости. В свою очередь, возможность получения ^{68}Ga в ионной форме из коммерчески доступного генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ непосредственно в лечебных учреждениях в течение 12-18 месяцев делает этот радионуклид весьма привлекательным для создания с ним РФЛП.

Цель данной работы – проанализировать литературные данные по проблеме синтеза новых производных фосфоновых кислот и их комплексообразования с ^{68}Ga , их биораспределение на лабораторных животных, а также оценить перспективность их применения в клинической практике для диагностики костных метастазов.

Базовым методом является остеосцинтиграфия с использованием фосфонатов (метиллендифосфоната (MDP) и гидроксиметиллендифосфоната (HMDP)), меченных $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [5]. Накапливаясь в участках с повышенной остеобластической активностью, меченые фосфонаты связываются с гидроксиапатитом, входящим в состав костной ткани и позволяют визуализировать метастазы как «горячие очаги».

Кроме того, разработка гибридной технологии, совмещающей ПЭТ с анатомо-топографическими методами диагностики, такими как КТ и МРТ, существенно расширяет возможности диагностики злокачественных новообразований.

В настоящее время для ПЭТ-визуализации метастатических поражений костной ткани используются два РФЛП: ^{18}F -ФДГ и ^{18}F -NaF. Возможность применения ^{18}F -ФДГ обусловлена метаболическими различиями между нормальными и опухолевыми клетками, которые при злокачественной трансформации начинают потреблять повышенное количество глюкозы [6, 7]. ^{18}F -ФДГ поступает преимущественно в опухолевые клетки с помощью глюкозных переносчиков GLUT, где накапливается в виде фосфорилированного ^{18}F -ФДГ-6-фосфата, который не подвергается гликолизу из-за наличия атома фтора в молекуле [8].

Использование ^{18}F -NaF обусловлено связыванием с гидроксиапатитом – основным компонентом неорганического матрикса кости – с образованием фторапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. В отличие от $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -МДФ, ^{18}F -NaF практически не связывается с белками плазмы крови, а транспортируется эритроцитами, где концентрация ^{18}F -NaF на 45-50% выше, чем в плазме [5]. Недостатком, как и в случае с ^{18}F -ФДГ, является низкая эффективность визуализации при исследовании остеобластных метастазов [9], а также при дифференцировке доброкачественных и злокачественных новообразований [10].

Для получения радионуклида ^{18}F необходимо наличие специального дорогостоящего высокотехнологичного оборудования – медицинского циклотрона, который должен находиться либо непосредственно в клинике, либо на доступном для быстрой транспортировки расстоянии ввиду короткого времени жизни изотопа ($T_{1/2}=110$ мин). Синтез ^{18}F -ФДГ, а также поддержание в

рабочем состоянии циклотрона и лаборатории радиосинтеза приводят к высокой стоимости исследования и ограничивают применение метода [4]. Поэтому разработка новых высокоспецифичных РФЛП для диагностики патологий костной ткани, позволяющих обойтись без циклотрона, тем самым упростив и удешевив технологию производства РФЛП, является одной из актуальных задач ядерной медицины.

Альтернативным радионуклидом для проведения ПЭТ исследований является галлий-68 (^{68}Ga). Оптимальные ядерно-физические свойства ^{68}Ga ($T_{1/2}=68$ мин, $\beta^+=89\%$, $E_{\beta\text{max}}^+=1,9$ МэВ) и 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 (271 день) (рис. 1) позволяет использовать генератор в течение 12-18 месяцев, а небольшой период полураспада ^{68}Ga (68 мин) позволяет вводить РФП с необходимой активностью, не создавая при этом значительной дозовой нагрузки на пациента и медицинский персонал [11]. При элюировании генератора соляной кислотой происходит выделение галлия в форме катиона $^{68}\text{Ga}^{3+}$, способного образовывать устойчивые комплексные соединения со многими лигандами и в дальнейшем использоваться для синтеза многих комплексов и макромолекул различного функционального назначения [12]. Более того, использование генераторов создаёт возможность организации мобильных ПЭТ-центров (не «привязанных» к циклотрону), что позволит обеспечить удалённые районы современными методами диагностики.

Рис. 1. Схема распада в генетической системе $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ [12].

В начале 60-х годов прошлого века начались активные работы по созданию генераторов медицинского назначения, в том числе и генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Первый генератор, созданный в 1964 г., позволял получать ^{68}Ga лишь в виде комплекса с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) [13], что затрудняло его использование для синтеза РФЛП. Вдобавок, из-за плохого развития ПЭТ-технологий в те годы интерес к ^{68}Ga резко снизился. Впоследствии был разработан генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, обеспечивающий элюирование ^{68}Ga в ионном состоянии (в форме хлоридных комплексов), а в 2000 г. был начат промышленный выпуск таких генераторов ЗАО «Циклотрон» (Обнинск) [12]. Развитие и усовершенствование ПЭТ, возможность получения ^{68}Ga из коммерчески доступного генератора, его оптимальные ядерно-физические и химические свойства – все это стимулировало в последние 15-20 лет рост интереса к ^{68}Ga [14]. К настоящему времени изучено большое количество разнообразных соединений с ^{68}Ga , позволяющих визуализировать различные физиологические процессы *in vivo* [15].

Для возможности визуализации костных метастазов с использованием ^{68}Ga необходима направленная (таргетная) доставка радиоактивности непосредственно к костным метастазам. Соединениями, обеспечивающими таргетную доставку, являются фосфоновые кислоты, обладающие тропностью к гидроксиапатиту костной ткани и накапливающиеся преимущественно в метастатических и воспалительно-деструктивных очагах [16]. Более того, некоторые фосфоновые кислоты (бисфосфонаты) оказывают прямое противоопухолевое действие, ингибируя адге-

зию, инвазию и пролиферацию опухолевых клеток и индуцируя их апоптоз [17, 18]. Фосфонаты, меченные ^{99m}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].

На сегодняшний день разрабатываемые препараты на основе ^{68}Ga для визуализации заболеваний костной ткани можно разделить на две группы: соединения на основе мультидентатных аминокислот и соединения на основе производных макроциклов, таких как DOTA, NOTA и др., мечение которых осуществляется прямым введением ^{68}Ga .

В ряде работ приведены сведения о возможности синтеза РФЛП для ПЭТ на основе этилендиаминтетраметилфосфоновой кислоты, меченной ^{68}Ga (^{68}Ga -EDTMP) (рис. 2) [19-22]. При внутривенном введении препарата общее содержание радиоактивности в скелете составляло 13,3% у мышей [23], 35% – у собак [20] и 50-60% – у крыс [20, 22], что значительно выше, чем в других органах и тканях. Существенное увеличение концентрации активности в скелете наблюдалось при добавлении носителя стабильного галлия при введении радиоактивной метки [24]. Так, при добавлении 0,8; 1,6 и 2,4 мг/мл стабильного Ga накопление активности в скелете составило 55,65, 76,51 и 72,27% от введённой дозы соответственно. В отсутствие носителя содержание активности в скелете не превышало 21,88% от введённой дозы [24]. Однако, несмотря на сравнительно высокое накопление препарата в скелете, он имеет свои недостатки. К недостаткам препарата следует отнести то, что при его получении необходимо большое количество EDTMP (>1,5 мг/кг массы тела) для того, чтобы избежать высвобождения ^{68}Ga из комплексного соединения с образованием гидроксида галлия или связывания с трансферрином [25]. Избыток лиганда может привести к блокированию биологической мишени и снизить поглощение РФП костной тканью [26]. Кроме того, Mitterhauser et al. [23] не выявили преимуществ в биологическом поведении ^{68}Ga -EDTMP перед ^{18}F -NaF.

В результате исследований биораспределения диэтилентриаминапентакис(метилфосфоновой) кислоты, меченной ^{68}Ga (^{68}Ga -DTPMP), и ^{68}Ga -гидроксиэтилендибисфосфоновой кислоты (^{68}Ga -HEDP) в организме крыс показано, что накопление ^{68}Ga -DTPMP в бедренной кости интактных крыс Wistar составило 1,16-1,45 %/г [27], а у крыс-опухоленосителей – 0,76-1,47 %/г [28], тогда как концентрация (^{68}Ga -HEDP) в костях было менее 1 %/г.

Рис. 2. Химическая структура мультидентатных фосфонатов.

Циклические аминоксифонаты представляют большой интерес благодаря своей способности образовывать стабильные комплексы с радионуклидами в водных растворах [29, 30]. Простейший представитель – DOTMP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(метиленфосфоновая кислота)) – был впервые синтезирован в 1984 г. (рис. 2) [31]. Было показано, что константа образования комплекса Ga^{3+} с полностью депротонированным лигандом DOTMP больше, чем константа комплекса Ga^{3+} с DOTA или трансферрином [30]. В работе [29] были усовершенствованы подходы к синтезу DOTMP и других циклических аминоксифонатов, а также подобраны оптимальные условия для синтеза ^{68}Ga -DOTMP. Концентрация лиганда в реакционной среде, достаточная для проведения реакции мечення, составила 1 мг/мл, а выход реакции более 90% достигался после инкубирования реакционной смеси в течение 15 мин при температуре 25 °C и pH 6±1 [29]. Методом ЯМР на ядрах ^{31}P и ^{13}C была выявлена возможная структура комплекса ^{68}Ga -DOTMP: предположительно, внедряясь в полость циклена, катион $^{68}Ga^{3+}$ фиксируется с двух сторон атомами кислорода фосфорильных фрагментов, попадая в своеобразный «капкан» [29]. При анализе биораспределения ^{68}Ga -DOTMP, оцениваемого с помощью ПЭТ на белых беспородных мышах, было выявлено, что препарат накапливался в костях скелета и костной мозоли, образовавшейся в результате сращения перелома. Значения стандартизованных коэффициентов накопления SUV (standardized uptake value) в здоровой костной ткани и месте перелома через 90 мин после введения препарата составили 0,6 г/мл и 1,3 г/мл соответственно [29]. В тканях печени значение SUV достигало 1 г/мл, в крови накопление также было достаточно высоким, но ниже, чем в костях и крови [29].

Помимо ^{68}Ga -DOTMP, в работе [29] были синтезированы другие цикленсодержащие фосфонаты, меченные ^{68}Ga : DOTEП (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(этиленфосфоновая кислота)), DOTPP (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетракис(пропиленфосфоновая кислота)) и DO3MPMPy (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1-(2-пиридилметил)-4,7,10-трис(метиленфосфоновая кислота)) (рис. 2). К сожалению, выход комплексов ^{68}Ga с DOTEП и DOTPP не превышал 20%, поэтому биологических исследований этих соединений не проводили.

^{68}Ga -DO3MPMPy, напротив, обладал наиболее выраженными остеотропными свойствами, чем ^{68}Ga -DOTMP [29]. Величины SUV в здоровой костной ткани и месте перелома достигали 1,5 г/мл и 4,3 г/мл соответственно уже через 60 мин после введения. Накопление в крови также было сравнительно высоким, а в печени – 0,4 г/мл, что существенно ниже по сравнению с ^{68}Ga -DOTMP [29].

Dho et al. [32] получили ^{68}Ga -DOTMP с использованием набора реагентов. Во флакон, содержащий 400 мкг DOTMP, 19,27 мг ацетата аммония и 17,62 мг аскорбиновой кислоты, добавляли 0,5 мл бисдистиллированной воды и 0,5 мл элюата ^{68}Ga с активностью 555 МБк. Флакон нагревали до 100 °C в течение 7 мин. Радиохимический выход ^{68}Ga -DOTMP составил более 98%, а полученное соединение не нуждалось в дальнейшей очистке [32]. Таким образом, на получение ^{68}Ga -DOTMP с высоким радиохимическим выходом затрачивается не более 20 мин, что делает его перспективным для использования в клинике.

Jaswal et al. [33] предложили использовать транс-1,2-циклогексилдинитрилтетраметиленфосфоновую кислоту (CDTMP) в качестве векторной молекулы для доставки радиоактивности в костную ткань (рис. 2). При внутривенном введении препарата мышам BALB/c максимальное накопление радиоактивности в костной ткани составило 6,12% от введенной дозы на 1 г ткани. Также показана возможность визуализации скелета с помощью данного препарата.

Первый российский остеотропный препарат с ^{68}Ga «Оксабигал, ^{68}Ga » был синтезирован на основе оксабифора – оксабис(этиленнитрило)тетраметилефосфоновой кислоты (рис. 2) [34]. Содержание активности в скелете лабораторных животных через 1 ч после введения достигало 30,3% от введённой дозы. Препарат быстро выводился из организма: через 1 ч в мочевом пузыре определялось более 50% введённой активности. Визуализация очагов экспериментальной костной патологии возможна уже в первый час после введения «Оксабигала, ^{68}Ga » [35].

Механизм связывания фосфонатов с гидроксиапатитом обусловлен комплексобразованием с ионами Ca^{2+} через депротонированные атомы кислорода фосфоновых и гидроксильных групп [34]. При прямом способе мечения фосфоновые группы координируют радиоактивный металл, что может снижать накопление фосфонатов в костной ткани [36]. Это стимулировало разработку соединений, в которых фосфоновые группы не участвуют в связывании радионуклида, а введение радиоактивных металлов осуществляется через макроциклические хелаторы, такие как DOTA, NOTA и др. [25, 26]. Циклические лиганды характеризуются более эффективным связыванием металлов, в том числе и ^{68}Ga , более высокой кинетикой комплексобразования и большей термодинамической стабильностью по сравнению с линейными хелаторами [37].

Идеальный хелатор для ^{68}Ga должен отвечать следующим требованиям: 1) связывать ^{68}Ga в «мягких» условиях без необходимости дополнительной очистки образующегося комплекса; 2) полученный комплекс должен обладать высокой кинетической и/или термодинамической стабильностью и не подвергаться перехелатированию *in vivo*; 3) обеспечивать образование радиоактивного комплекса с высоким радиохимическим выходом [38].

DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота) – наиболее часто используемый макроциклический хелатор для комплексования ^{68}Ga и других металлов благодаря простому синтезу и сравнительно высокой стабильности получаемых комплексов ($\log K_{\text{Ga-DOTA}}=21,3$) [39]. Более высокой стабильностью, по сравнению с $^{68}\text{Ga-DOTA}$, обладает комплекс ^{68}Ga с NOTA (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусной кислотой) ($\log K_{\text{Ga-NOTA}}=31,0$) [39]. Кроме того, процесс связывания ^{68}Ga с NOTA протекает при комнатной температуре, тогда как для получения $^{68}\text{Ga-DOTA}$ необходимо нагревание до 95 °C.

На основе макроциклического хелатора DOTA были синтезированы следующие производные бисфосфонатов: $^{68}\text{Ga-DOTA-BPAMD}$ (4-[[бис(фосфонометил)]карбамоил]метил]-7,10-бис(карбокси-метил)-1,4,7,10-тетраазациклододец-1-ил)-ацетат) [40-42], $^{68}\text{Ga-BPAD}$ (4-[[бис(фосфонопропил)]карбамоил]метил]-7,10-бис(карбокси-метил)-1,4,7,10 – тетраазациклододец-1-ил)-ацетат), $^{68}\text{Ga-BPPED}$ (тетраэтил-10-[[2,2-бис-фосфоноэтил]гидроксифосфорил]метил]-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7-триацетат) [40-42] (рис. 3).

Наиболее изученным и имеющим положительный опыт применения в клинике соединением является $^{68}\text{Ga-BPAMD}$. Радиохимический синтез проводился путём инкубирования BPAMD с $^{68}\text{GaCl}_3$ в течение 10 мин при 100 °C (pH 3-5). Радиохимическая чистота полученного соединения после очистки от несвязанного ^{68}Ga превысила 98%. При инкубации препарата в фосфатном буфере на протяжении 3 ч при температуре 37 °C в отсутствие апотрансферрина происходит перехелатирование лишь 4,2% ^{68}Ga . В присутствии апотрансферрина перелигандирование ^{68}Ga достигает 9,1%, что свидетельствует о высокой стабильности препарата. При проведении микро-ПЭТ-исследований у здоровых крыс через 1 ч после введения $^{68}\text{Ga-BPAMD}$ максимальная концентрация радиоактивности была зарегистрирована в плечевых суставах и некоторых участках позвоночника [43]. У животных с индуцированными костными метастазами накопление активности в метастатических участках было примерно в 4 раза выше по сравнению со здоровой костной тканью [43, 44].

Рис. 3. Химическая структура производных бисфосфонатов на основе макроциклического хелатора DOTA.

При проведении ПЭТ-исследования пациента с раком предстательной железы и распространенными костными метастазами было установлено, что радиоактивность накапливалась в метастатических участках позвоночника, ребер и др. [44]. При применении ^{68}Ga -BPAMD максимальные стандартизованные уровни накопления (SUV – standardized uptake value) в 10-м грудном и 2-м поясничном позвонках составили 77,1 и 62,1 соответственно, тогда как для ^{18}F -NaF эти величины составили 39,1 и 39,2 соответственно [44]. К настоящему времени показана возможность получения ^{68}Ga -BPAMD с использованием набора реагентов [45].

Улучшенную фармакокинетику, по сравнению с ^{68}Ga -BPAMD, продемонстрировал ^{68}Ga -BPPED [42]. Его содержание в скелете интактных крыс Wistar было на 20-50% выше, чем ^{68}Ga -BPAMD и ^{68}Ga -BPAPD, достигая 48,9% от введенной дозы в срок 1 ч после введения. Препарат также характеризовался более быстрым выведением из крови через мочевыделительную систему. Такое поведение авторы объясняют наличием дополнительной фосфинатной группы, также способной связываться с гидроксиапатитом [42].

Meckel et al. [46] синтезировали новый комплекс на основе DOTA-производного бисфосфоната, содержащий альбуминсвязывающую группу, и поместили его ^{68}Ga (^{68}Ga -DOTAGA(428-d-Lys) M^{BP}). Предполагалось, что из-за наличия альбуминсвязывающей группы препарат будет дольше циркулировать в крови и в больших количествах накапливаться в костной ткани. В экспериментах *in vivo* было показано, что ^{68}Ga -DOTAGA(428-d-Lys) M^{BP} действительно дольше задерживается в крови по сравнению с ^{68}Ga -BPAMD. Первоначальное содержание ^{68}Ga -BPAMD в скелете было выше, чем ^{68}Ga -DOTAGA(428-d-Lys) M^{BP} , однако, через 6 ч после введения их концентрации в костной ткани выравниваются. Кроме того, соотношения активностей в эпифизарном хряще и нормальной кости для ^{68}Ga -DOTAGA(428-d-Lys) M^{BP} выше, чем для ^{68}Ga -BPAMD. Авторы полагают, что данный лиганд с пролонгированным клиренсом будет особенно полезен при создании терапевтических РФЛП на его основе, в частности, при мечении ^{177}Lu [46].

Ogawa et al. [47] разработали соединение на основе алендроната, конъюгированного с 2-(4-изотиоцианатбензил)-DOTA (DOTA-Bn-SCN-HBP) (рис. 3). В качестве радиоактивной метки использовался ^{67}Ga из-за более длительного периода полураспада ($T_{1/2}=78,26$ ч) по сравнению с ^{68}Ga . Для получения меченого комплекса 50 мкг DOTA-Bn-SCN-HBP растворяли в 75 мкл

0,2 М буферного раствора ацетата аммония и добавляли 25 мкл раствора $^{67}\text{GaCl}_3$. Полученную смесь нагревали до 95°C в течение 30 мин. Радиохимическая чистота ^{67}Ga -DOTA-Bn-SCN-HBP была более 95% без дополнительной очистки. Препарат имел высокую стабильность в фосфатном буфере и плазме в экспериментах *in vitro*. После внутривенного введения ^{67}Ga -DOTA-Bn-SCN-HBP интактным мышам радиоактивность быстро накапливалась в костной ткани. Так, уже через 10 мин содержание активности в кости бедра составляло 17,44 %/г, достигая 22,28 %/г и 23,53 %/г в сроки 1 ч и 3 ч соответственно [47]. В остальных органах и тканях накопление активности было невелико за счёт быстрой экскреции через почки.

Показана возможность успешного синтеза других соединений на основе ^{68}Ga и азотсодержащих фосфоновых кислот памидроната (^{68}Ga -DOTA^{PAM}) и золедроната (^{68}Ga -DOTA^{ZOL}) (рис. 3) [48]. Эти соединения относятся к группе так называемых α -ОН-бисфосфонатов. Считается, что наличие дополнительной –ОН группы (рис. 3) увеличивает их накопление в костной ткани по сравнению с α -Н-бисфосфонатами, в частности, BPAMD [48]. Помимо связывания с гидроксипатитом, азотсодержащие бисфосфонаты обладают мощным антирезорбтивным действием [49]. Оно обусловлено ингибированием фермента фarnезилпирофосфатсинтазы, что, в свою очередь, приводит к блокированию синтеза фarnезилпирофосфата, необходимого для пренилирования (модификации) липидов и нормального функционирования сигнальных белков в остеокластах, что может стимулировать их апоптоз [49-51].

Мечение DOTA^{PAM} и DOTA^{ZOL} ^{68}Ga проводилось при 95°C в течение 15 мин [48]. Выход меченых соединений составил 80-95%, а после очистки – более 98% [48]. Уровни накопления ^{68}Ga -DOTA^{PAM} и ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} в скелете через 1 ч после введения достигали значений $48,4 \pm 4,7\%$ и $42,7 \pm 5,2\%$ от введённой дозы соответственно, что схоже с содержанием ^{18}F -NaF – $43,7 \pm 1,9\%$ от введённой дозы. Аналогичное количество (в пределах погрешности) составляло ^{68}Ga -BPAMD в скелете (около 38,8% от введённой дозы). Качественные ПЭТ-изображения *in vivo* были получены уже через 1 ч после введения ^{68}Ga -DOTA^{PAM} и ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} [48]. Тем не менее, полученные препараты не лишены недостатков, обусловленных повышенным накоплением во внутренних органах и пониженными величинами соотношений кость/кровь по сравнению с ^{18}F -NaF. Кроме того, синтез DOTA-конъюгированных α -ОН-бисфосфонатов более сложен, чем DOTA-конъюгированных α -Н-бисфосфонатов [48].

Успешное клиническое применение ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} было продемонстрировано на пациентах с костными метастазами различной этиологии и не отвечающих на лечение [52]. Высокое накопление ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} отмечалось в скелете, почках и мочевом пузыре, тогда как содержание активности в печени, селезёнке и слюнных железах было крайне мало. В соответствии с данными качественного и количественного анализа ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} быстро выводился из крови, обеспечивая повышенное накопление активности в костях по сравнению с внутренними органами и тканями, а также более высокое содержание активности в метастатических очагах, чем в здоровой костной ткани. У больных раком предстательной железы ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} характеризовался повышенным накоплением в участках метастазирования по сравнению с ^{68}Ga -PSMA-617. При введении ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} критическим органом являлся мочевой пузырь: эффективная доза облучения для этого органа составила 0,368 мЗв/МБк. Дозовые нагрузки на остеогенные клетки, почки и красный костный мозг составили 0,040; 0,031 и 0,027 мЗв/МБк соответственно [52]. Таким образом, ^{68}Ga -DOTA^{ZOL} обладает значительным диагностическим потенциалом, сравнимым с ^{18}F -NaF, и превосходящий $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP и ^{68}Ga -PSMA-617, а возможность метить DOTA^{ZOL} тера-

пептическими радионуклидами, в частности ^{177}Lu , позволяет рассматривать $^{68}\text{Ga}\text{-DOTA}^{\text{ZOL}}$ как препарат для тераностики костных метастазов.

Несмотря на высокую термодинамическую стабильность и кинетическую инертность комплексов трёхвалентного галлия с DOTA-производными лигандами, комплексование ^{68}Ga с ними менее эффективно и более чувствительно к экспериментальным условиям, чем с NOTA. Так, инкорпорирование $^{68}\text{Ga}^{3+}$ в полость 12-членного макроцикла DOTA приводит к существенной деформации скелета лиганда и снижению стабильности комплекса [53, 54]. Кроме того, комплексообразование NOTA-производных лигандов с ^{68}Ga происходит быстрее [32]. Комплекс ^{68}Ga с NOTA стабильнее, чем с DOTA, из-за того, что катион $^{68}\text{Ga}^{3+}$ хорошо проходит в полость 9-членного макроцикла NOTA.

Перспективный остеотропный препарат был синтезирован на основе NOTA и алендроната (рис. 4) [53]. Для связывания ^{68}Ga с NOTA-алендронатом смесь нагревали до $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 мин. Радиохимический выход $^{68}\text{Ga}\text{-NOTA-алендроната}$ составлял более 95%, и полученное соединение не нуждалось в дальнейшей очистке [53]. Накопление $^{68}\text{Ga}\text{-NOTA-алендроната}$ в костной ткани через 2 ч после внутривенного введения крысам Wistar достигало 4,75 %/г, что при перерасчёте на весь скелет составило 58,4% от введённой дозы [53]. Препарат быстрее выводился из крови и характеризовался повышенным соотношением активности кость/кровь (до 1204) по сравнению с $^{99\text{m}}\text{Tc}\text{-МДФ}$ (до 195) и $^{18}\text{F}\text{-NaF}$ (до 657) [53]. Также была продемонстрирована возможность визуализации остеолитических участков метастазирования в костной ткани у мышей с индуцированными костными метастазами с использованием $^{68}\text{Ga}\text{-NOTA-алендроната}$. Чёткие ПЭТ-изображения были получены уже через 1 ч после введения. Кроме того, изображения, полученные методом ПЭТ с $^{68}\text{Ga}\text{-NOTA-алендронатом}$, имели более высокое пространственное разрешение, чем изображения, полученные с помощью планарной сцинтиграфии с $^{99\text{m}}\text{Tc}\text{-МДФ}$ [53].

В работе [54] были синтезированы два соединения на основе NOTA-производных бисфосфонатов – NOTAM^{BP} и NO2AP^{BP} , содержащие ацетамидный или метиленфосфинатный фрагменты соответственно (рис. 4).

Рис. 4. Химическая структура производных бисфосфонатов на основе макроциклического хелатора NOTA.

Биораспределение $^{68}\text{Ga}\text{-NOTAM}^{\text{BP}}$ и $^{68}\text{Ga}\text{-NO2AP}^{\text{BP}}$ оценивали *ex vivo* на крысах Wistar. Через 1 ч после введения накопление $^{68}\text{Ga}\text{-NOTAM}^{\text{BP}}$ и $^{68}\text{Ga}\text{-NO2AP}^{\text{BP}}$ в кости бедра составило 1,12 %/г и 4,37 %/г соответственно. В остальных органах и тканях содержание активности было значительно ниже, чем в костях. При проведении микро-ПЭТ-исследований $^{68}\text{Ga}\text{-NO2AP}^{\text{BP}}$ было выявлено, что исследуемый радиотрейсер быстро выводился из крови и накапливался в скеле-

те в течение нескольких минут после введения, обеспечивая чёткую визуализацию костной ткани [54].

Возможность клинического применения $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$ была продемонстрирована в проспективном исследовании [55]. Пациенткам с гистологически подтвержденным раком молочной железы проводили ПЭТ/КТ с использованием $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$ или $^{18}\text{F-NaF}$, а также ОФЭКТ с $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$. С помощью ПЭТ-радиотрейсеров было обнаружено большее количество метастазов по сравнению с $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$. И $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$, и $^{18}\text{F-NaF}$ обладали сходной эффективностью в обнаружении как литических, так и склеротических участков метастазирования. Величины SUV в метастатических очагах составили 5,2-112 для $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$ и 6,2-46,7 для $^{18}\text{F-NaF}$. Кроме того, рассчитанные эффективные дозы облучения при введении в среднем 159,1 МБк $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$ составили: 0,058 мЗв/МБк – в скелете; 0,0203 мЗв/МБк – в костном мозге; 0,00763 мЗв/МБк – в почках и 0,000113 мЗв/МБк – в мочевом пузыре. Эффективная и эквивалентная дозы облучения всего тела не превышали 0,00583 мЗв/МБк и 0,0086 мЗв/МБк соответственно [55]. Таким образом, $^{68}\text{Ga-NO}_2\text{AP}^{\text{BP}}$ – перспективный и безопасный препарат для визуализации костных метастазов и может стать альтернативой уже имеющимся диагностическим РФЛП.

Фосфонаты на основе феноксипроизводных хелатора AAZTA ($^{68}\text{Ga-PhenA-BPAMD}$ и $^{68}\text{Ga-PhenA-HBP}$) были успешно синтезированы в работе [56]. При этом введение ^{68}Ga осуществлялось при комнатной температуре в течение 5 мин, pH 4,10 и концентрации лиганда 30 мкМ; выход меченых соединений составил более 95%. Уровни радиоактивности в костной ткани нормальных мышей через 1 ч после введения достигали 11,0 %/г и 3,83 %/г для $^{68}\text{Ga-PhenA-BPAMD}$ и $^{68}\text{Ga-PhenA-HBP}$ соответственно, что ниже, чем содержание $^{18}\text{F-NaF}$ (24,6 %/г). Авторы предполагают, что наличие дополнительной гидроксильной (–ОН) группы в структуре $^{68}\text{Ga-PhenA-HBP}$ ускоряет выведение препарата и, тем самым, снижает его накопление в скелете. В свою очередь биораспределение $^{68}\text{Ga-PhenA-BPAMD}$ практически не отличалось от $^{68}\text{Ga-DOTA-BPAMD}$, а простота синтеза делает его перспективным соединением для визуализации костной ткани.

Заключение

Разработка новых остеотропных соединений на основе фосфоновых кислот и генераторного позитронного излучателя ^{68}Ga является актуальной задачей ядерной медицины, поскольку направлена на решение важной проблемы – ранней диагностики костных метастазов.

Получение РФЛП в клинических условиях должно быть простым, быстрым, а синтезированное соединение не должно нуждаться в дальнейшей очистке. Кроме того, РФЛП должен обладать высокой стабильностью *in vitro* и *in vivo* и селективно накапливаться в органе-мишени. Радиохимический синтез остеотропных препаратов на основе фосфоновых кислот и ^{68}Ga может осуществляться либо введением радионуклида в молекулу фосфоновой кислоты, либо в лиганд, присоединённый к молекуле фосфоновой кислоты. В первом случае меченое соединение образуется при непосредственном смешивании фосфоновой кислоты с элюатом ^{68}Ga . Такой способ подходит для мечения ациклических и циклических мультидентатных аминокислот. Тем не менее, несмотря на высокий радиохимический выход (>95%), накопление таких препаратов в костной ткани относительно невелико.

Другим способом введения радиоактивной метки является использование бифункциональных хелаторов, которые одновременно связываются с фосфоновой кислотой и участвуют в комплексообразовании с ^{68}Ga . В этом случае фосфоновые группы остаются свободными и способны связываться с ионами Ca^{2+} , входящими в состав гидроксиапатита костной ткани, что приводит к увеличению содержания активности в костях.

Наиболее часто используемыми для этих целей хелаторами являются DOTA и NOTA. Однако, несмотря на высокую термодинамическую стабильность и кинетическую инертность комплексов ^{68}Ga с DOTA-производными лигандами, комплексование ^{68}Ga с ними менее эффективно и более чувствительно к экспериментальным условиям, чем с NOTA. Так, процесс комплексообразования ^{68}Ga с DOTA-производными фосфонатами протекает в течение 10-30 мин, тогда как для мечения NOTA-производных требуется всего 5-10 мин. Полученные к настоящему времени соединения демонстрируют оптимальные фармакокинетические свойства, накапливаясь преимущественно в костной ткани и обладая высокой специфичностью накопления в метастатических очагах. Тем не менее, несмотря на то, что в ряде клинических исследований была продемонстрирована диагностическая эффективность некоторых препаратов, сравнимая с ^{18}F -NaF и превосходящая $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP, ни один из них не одобрен для применения в клинике.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 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. **Paes F.M., Serafini A.N.** Systemic metabolic radiopharmaceutical therapy in the treatment of metastatic bone pain //Semin. Nucl. Med. 2010. V. 40, N 2. P. 89-104.
3. **Yu H.H.M., Tsai Y.Y., Hoffe S.E.** Overview of diagnosis and management of metastatic disease to bone //Cancer Control. 2012. V. 19, N 2. P. 84-91.
4. **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.
5. **Ogawa K., Saji H.** Advances in drug design of radiometal-based imaging agents for bone disorders //Int. J. Mol. Imaging. 2011. V. 2011. P. 537687.
6. **Куликов В.А., Беляева Л.Е.** Метаболическое перепрограммирование раковых клеток //Вестник ВГМУ. 2013. Т. 12, № 2. С. 6-18.
7. **Pavlova N.N., Thompson C.B.** The emerging hallmarks of cancer metabolism //Cell Metab. 2016. V. 23, N 1. P. 27-47.
8. **Smith T.A.** Mammalian hexokinases and their abnormal expression in cancer //Br. J. Biomed. Sci. 2000. V. 57, N 2. P. 170-178.
9. **Jadvar H., Desai B., Conti P.S.** Sodium ^{18}F -fluoride PET/CT of bone, joint and other disorders //Semin. Nucl. Med. 2015. V. 45, N 1. P. 58-65.
10. **Segall G., Delbeke D., Stabin M.G., Even-Sapir E., Fair J., Sjdak R., Smith G.T.** SNM practice guideline for sodium 18F-fluoride PET/CT bone scans 1.0 //J. Nucl. Med. 2010. V. 51, N 11. P. 1813-1820.
11. **Rösch F.** Past, present and future of $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators //Appl. Radiat. Isot. 2013. V. 76. P. 24-30.
12. **Ларенков А.А., Кодина Г.Е., Брускин А.Б.** Радионуклиды галлия в ядерной медицине: радиофармацевтические препараты на основе изотопа ^{68}Ga //Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2011. Т. 56, № 5. С. 56-73.
13. **Yano Y., Anger H.O.** A gallium-68 positron cow for medical use //J. Nucl. Med. 1964. V. 5. P. 484-487.
14. **Velikyan I.** Prospective of ^{68}Ga -radiopharmaceutical development //Theranostics. 2014. V. 4, N 1. P. 47-80.
15. **Jalilian A.R.** An overview on Ga-68 radiopharmaceuticals for positron emission tomography applications //Iran J. Nucl. Med. 2016. V. 24, N 1. P. 1-10.
16. **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.
17. **Green J.R.** Antitumor effects of bisphosphonates //Cancer 2003. V. 97, N 3 (Suppl.). P. 840-847.
18. **Jiang P., Zhang P., Mukthavaram R., Nomura N., Pingle S.C., Teng D., Chien S., Guo F., Kesari S.** Anti-cancer effects of nitrogen-containing bisphosphonates on human cancer cells //Oncotarget. 2016. V. 7, N 36. P. 57932-57942.
19. **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. P. 506-511.
20. **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.
21. **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)Ga]-EDTMP formulations //Eur. J. Pharm. Biopharm. 2008. V. 68, N 2. P. 406-412.
22. **Петриев В.М., Тищенко В.К., Сморязанова О.А., Скворцов В.Г.** Фармакокинетика N,N,N'-этилендиаминтетра-кис(метиленфосфоно-вой кислоты), меченной галлием-68, в организме интактных крыс //Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51, № 5. С. 3-8.

23. 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}Ga]-EDTMP //Nucl. Med. Biol. 2007. V. 34, N 4. P. 391-397.
24. Петриев В.М., Тищенко В.К., Степченкова Е.Д., Завестовская И.Н., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Влияние носителя галлия в составе препарата ^{68}Ga -этилендиаминтетраakis(метилеифосфоновая кислота) на его поведение в организме лабораторных животных //Краткие сообщения по физике ФИАН. 2019. Т. 46, № 2. С. 31-38.
25. Fellner M., Riss P., Loktionova N., Zhernosekov K., Thews O., Geraldies C.F.G.C., Kovacs Z., Lukeš I., Rösch F. Comparison of different phosphorus-containing ligands complexing ^{68}Ga for PET-imaging of bone metabolism //Radiochim. Acta. 2011. V. 99. P. 43-51.
26. Pfannkuchen N., Meckel M., Bergmann R., Bachmann M., Bal C., Satheke 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.
27. Тищенко В.К., Петриев В.М., Михайловская А.А., Степченкова Е.Д., Тимошенко В.Ю., Постнов А.А., Завестовская И.Н. Экспериментальное изучение биораспределения новых остеотропных соединений на основе фосфоновых кислот и галлия-68 //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. Т. 168, № 12. С. 739-743.
28. Tishchenko V.K., Petriev V.M., Mikhailovskaya A.A., Smoryzanova O.A., Postnov A.A. The biodistribution of a new bone-seeking agent based on pentaphosphonic acid and gallium-68 in tumor-bearing rats //IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series. 2019. V. 1189. P. 012042.
29. Цебрикова Г.С., Баулин В.Е., Калашникова И.П., Рагулин В.В., Завельский В.О., Марук А.Я., Лунев А.С., Клементьева О.Е., Кодина Г.Е., Цивадзе А.Ю. Цикленсодержащие фосфоновые кислоты как компоненты остеотропных радиофармпрепаратов ^{68}Ga //Журнал общей химии. 2015. Т. 85, № 9. С. 1490-1498.
30. Цебрикова Г.С., Барсамян Р.Т., Соловьев В.П., Кудряшова З.А., Баулин В.Е., Ван Ю., Цивадзе А.Ю. Изучение комплексообразования нитрата галлия(III) с 1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1,4,7,10-тетраakis(метилеифосфоновой кислотой) //Известия Академии наук. Серия химическая. 2018. № 12. С. 2184-2187.
31. Кабачник И.М., Медведь Т.Я., Бельский Ф.И., Писарева С.А. Синтез и кислотно-основные и комплексообразующие свойства 1,4,7,10-тетраakis (дигидроксифосфорилметил) -1,4,7,10-тетраазамаклододекана //Вестник Академии наук СССР. Отделение химических наук. 1984. V. 33. P. 777-782.
32. Dho S.H., Choi S., Kim S., Cho E., Lee S., Jung S., Lim J. ^{68}Ga labeling of DOTMP using freeze-dried kit for the imaging of bone metastasis //Proceedings of the KNS 2015 Fall Meeting, (pp. 1CD-ROM). Korea: KNS, 2015.
33. Jaswal A.P., Meena V.K., Prakash S., Pandey A., Singh B., Mishra A.K., Hazari P.P. [^{68}Ga]/[^{188}Re] complexed [CDTMP] trans-1,2-cyclohexyldinitrilotetraphosphonic acid as a theranostic agent for skeletal metastases //Front. Med. 2017. V. 4. P. 72.
34. Кодина Г.Е., Малышева А.О., Клементьева О.Е. Остеотропные радиофармпрепараты в технологиях российской ядерной медицины //Известия Академии наук. Серия Химическая. 2016. Т. 65, № 2. С. 350-362.
35. Лунёв А.С., Клементьева О.Е., Лунёва К.А., Жукова М.В., Малышева А.О. Сравнение качественной и количественной характеристик ПЭТ-визуализации экспериментальной костной патологии с применением ^{68}Ga -оксабифора и Na^{18}F //Саратовский научно-медицинский журнал 2017. Т. 13, № 4. P. 886-891.
36. Ogawa K., Mukai T., Inoue Y., Ono M., Saji H. Development of a novel $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -chelate-conjugated bisphosphonate with high affinity for bone as a bone scintigraphic agent //J. Nucl. Med. 2006. V. 47. P. 2042-2047.
37. Martell A.E., Motekaitis R.J., Clarke E.T., Delgado R., Sun Y., Ma R. Stability constants of metal complexes of macrocyclic ligands with pendant donor groups //Supramol. Chem. 1996. V. 6. P. 353-363.

38. **Imberti C., Chen Y.L., Foley C.A., Ma M.T., Paterson B.M., Wang Y., Young J.D., Hider R.C., Blower P.J.** Tuning the properties of tris(hydroxypyridinone) ligands: efficient ^{68}Ga chelators for PET imaging //Dalton Trans. 2019. V. 48, N 13. P. 42994313.
39. **Spang P., Herrmann C., Roesch F.** Bifunctional gallium-68 chelators: past, present and future //Semin. Nucl. Med. 2016. V. 46, N 5. P. 373-394.
40. **Kubicek V., Rudovsky J., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R.N., Kolar Z.I., Wolterbeek H.T., Peters J.A., Lukes I.** A bisphosphonate monoamide analogue of DOTA: a potential agent for bone targeting //J. Am. Chem. Soc. 2005. V. 127, N 47. P. 16477-16485.
41. **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.
42. **Meckel M., Fellner M., Thieme N., Bergmann R., Kubicek V., Rösch F.** In vivo comparison of DOTA based ^{68}Ga -labelled bisphosphonates for bone imaging in non-tumour models //Nucl. Med. Biol. 2013. V. 4. P. 823-830.
43. **Fellner M., Biesalski B., Bausbacher N., Kubicek V., Hermann P., Rosch F., Thews O.** (68)Ga-BPAMD: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter //Nucl. Med. Biol. 2012. V. 39, N 7. P. 993-999.
44. **Fellner M., Baum R.P., Kubicek V., Hermann P., Lukes I., Prasad V., Rosch F.** PET/CT imaging of osteoblastic bone metastases with (68)Ga-bisphosphonates: first human study //Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2010. V. 37, N 4. P. 834.
45. **Guleria M., Das T., Amirdhanayagam J., Shinto A.S., Kamaleshwaran K.Km., Pandian A., Sarma H.D., Dash A.** Convenient formulation of ^{68}Ga -BPAMD patient dose using lyophilized BPAMD kit and ^{68}Ga sourced from different commercial generators for imaging of skeletal metastases //Cancer Biother. Radiopharm. 2019. V. 34, N 2. P. 67-75.
46. **Meckel M., Kubiček V., Hermann P., Miederer M., Rösch F.** A DOTA based bisphosphonate with an albumin binding moiety for delayed body clearance for bone targeting //Nucl. Med. Biol. 2016. V. 43, N 11. P. 670-678.
47. **Ogawa K., Takai K., Kanbara H., Kiwada T., Kitamura Y., Shiba K., Odani A.** Preparation and evaluation of a radiogallium complex-conjugated bisphosphonate as a bone scintigraphy agent //Nucl. Med. Biol. 2011. V. 38, N 5. P. 631-636.
48. **Meckel M., Bergmann R., Miederer M., Roesch F.** Bone targeting compounds for radiotherapy and imaging: *Me(III)-DOTA conjugates of bisphosphonic acid, pamidronic acid and zoledronic acid //EJNMMI Radiopharm. Chem. 2016. V. 1, N 1. P. 14.
49. **Papapoulos S.E.** Bisphosphonates: how do they work? //Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2008. V. 22. P. 831-847.
50. **Rogers M.J.** From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates //Calcif. Tissue Int. 2004. V. 75, N 6. P. 451-461.
51. **Волознев Л.В.** Механизмы развития метастатического поражения скелета и роль N-бисфосфонатов в терапии //Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2013. Т. 1. С. 73-77.
52. **Khawar A., Eppard E., Roesch F., Ahmadzadehfar H., Kürpig S., Meisenheimer M., Gaertner F.C., Essler M., Bundschuh R.A.** Preliminary results of biodistribution and dosimetric analysis of [^{68}Ga]Ga-DOTA^{ZOL}: a new zoledronate-based bisphosphonate for PET/CT diagnosis of bone diseases //Ann. Nucl. Med. 2019. V. 33. P. 404-413.
53. **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.

54. Holub J., Meckel M., Kubiček V., Rösch F., Hermann P. Gallium(III) complexes of NOTA-bis(phosphonate) conjugates as PET radiotracers for bone imaging //Contrast Media Mol. Imaging. 2015. V. 10. P. 122-134.
55. Passah A., Tripathi M., Ballal S., Yadav M.P., Kumar R., Roesch F., Meckel M., Sarathi Chakraborty P., Bal C. Evaluation of bone-seeking novel radiotracer ^{68}Ga -NO₂AP-Bisphosphonate for the detection of skeletal metastases in carcinoma breast //Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2017. V. 44, N 1. P. 41-49.
56. Wu Z., Zha Z., Choi S.R., Plössl K., Zhu L., Kung H.F. New ^{68}Ga -PhenA bisphosphonates as potential bone imaging agents //Nucl. Med. Biol. 2016. V. 43, N 6. P. 360-371.

Bone-seeking radiopharmaceuticals based on phosphonic acids and ^{68}Ga (review)

Tishchenko V.K.¹, Petriev V.M.^{1,2}, Zavestovskaya I.N.², Ivanov S.A.¹, Kaprin A.D.³

¹ A. Tsyb MRRC, Obninsk;

² National Research Nuclear University MEPhI, Moscow;

³ NMRRС Russian Ministry of Health, Moscow

Bone metastases cause severe bone pain, growing with solid tumor progression, and lead to significant decreasing patients quality of life. Nowadays positron emission tomography (PET) is the most informative method of radionuclide imaging. PET is highly sensitive non-invasive method of visualization of biochemical and molecular processes in the body. It enables to detect tumor lesions when structure changes are not determined or are not specific. Now radiopharmaceuticals based on ^{18}F are available for bone metastases detection by PET. Their major disadvantage is cyclotron-based synthesis of ^{18}F that limits the application of ^{18}F -containing radiopharmaceuticals. During the last 15-17 years the interest in ^{68}Ga has increased drastically around the world. ^{68}Ga is the promising generator-based radionuclide with appropriate nuclear properties ($T_{1/2}=68$ min, $\beta^+=89\%$, $E_{\beta\text{max}}^+=1,9$ MeV) for radiosynthesis of a broad spectrum of radiopharmaceuticals. In this work nuclear-physical, chemical and biological properties of gallium-68 (^{68}Ga) are presented. The approaches to synthesis of new bone-seeking compounds based on phosphonic acids and ^{68}Ga are highlighted in detail. Thorough data about experimental studies and clinical application of the most promising compounds are also shown in this article.

Key words: gallium-68, phosphonic acids, bisphosphonates, bone-seeking radiopharmaceuticals, bone metastases, radionuclide diagnosis, positron emission tomography, ethylenediamine tetra(methylene phosphonic acid), 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetrakis(methylene phosphonic acid), DOTA, NOTA.

References

1. Coleman R.E. Skeletal complications of malignancy. *Cancer*, 1997, vol. 80, no. 8 (Suppl.), pp. 1588-1594.
2. Paes F.M., Serafini A.N. Systemic metabolic radiopharmaceutical therapy in the treatment of metastatic bone pain. *Semin. Nucl. Med.*, 2010, vol. 40, no. 2, pp. 89-104.
3. Yu H.H.M., Tsai Y.Y., Hoffe S.E. Overview of diagnosis and management of metastatic disease to bone. *Cancer Control*, 2012, vol. 19, no. 2, pp. 84-91.
4. 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). *Pharm. Chem. J.*, 2016, vol. 50, no. 4, pp. 209-220.
5. Ogawa K., Saji H. Advances in drug design of radiometal-based imaging agents for bone disorders. *Int. J. Mol. Imaging*, 2011, vol. 2011, pp. 537687.
6. Kulikov V.A., Belyaeva L.E. Metabolic reprogramming of tumor cells. *Vestnik VGMU – Bulletin of VSMU*, 2013, vol. 12, no. 2, pp. 6-18. (In Russian).

Tishchenko V.K. – Lead. Researcher, C. Sc., Biol.; Petriev V.M.* – Head of Lab., D. Sc., Biol., Prof. of MEPhI; Ivanov S.A. – Director, MD, Prof. A. Tsyb MRRC. Zavestovskaya I.N. – Head of N.G. Basov Physic High School, D. Sc., Phys.-Math. MEPhI. Kaprin A.D. – General Director, Academician of RAS, MD, Prof. NMRRС.

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

7. **Pavlova N.N., Thompson C.B.** The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab.*, 2016, vol. 23, no. 1, pp. 27-47.
8. **Smith T.A.** Mammalian hexokinases and their abnormal expression in cancer. *Br. J. Biomed. Sci.*, 2000, vol. 57, no. 2, pp. 170-178.
9. **Jadvar H., Desai B., Conti P.S.** Sodium ^{18}F -fluoride PET/CT of bone, joint and other disorders. *Semin. Nucl. Med.*, 2015, vol. 45, no. 1, pp. 58-65.
10. **Segall G., Delbeke D., Stabin M.G., Even-Sapir E., Fair J., Sjdak R., Smith G.T.** SNM practice guideline for sodium 18F-fluoride PET/CT bone scans 1.0. *J. Nucl. Med.*, 2010, vol. 51, no. 11, pp. 1813-1820.
11. **Rösch F.** Past, present and future of $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators. *Appl. Radiat. Isot.*, 2013, vol. 76, pp. 24-30.
12. **Larenkov A.A., Kodina G.E., Bruskin A.B.** Gallium radionuclides in nuclear medicine: radiopharmaceuticals based on ^{68}Ga . *Meditinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost' – Medical Radiology and Radiation Safety*, 2011, vol. 56, no. 5, pp. 56-73. (In Russian).
13. **Yano Y., Anger H.O.** A gallium-68 positron cow for medical use. *J. Nucl. Med.*, 1964, vol. 5, pp. 484-487.
14. **Velikyan I.** Prospective of ^{68}Ga -radiopharmaceutical development. *Theranostics*, 2014, vol. 4, no. 1, pp. 47-80.
15. **Jalilian A.R.** An overview on Ga-68 radiopharmaceuticals for positron emission tomography applications. *Iran J. Nucl. Med.*, 2016, vol. 24, no. 1, pp. 1-10.
16. **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.
17. **Green J.R.** Antitumor effects of bisphosphonates. *Cancer*, 2003, vol. 97, no. 3 (Suppl. 3), pp. 840-847.
18. **Jiang P., Zhang P., Mukthavaram R., Nomura N., Pingle S.C., Teng D., Chien S., Guo F., Kesari S.** Anti-cancer effects of nitrogen-containing bisphosphonates on human cancer cells. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, no. 36, pp. 57932-57942.
19. **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, pp. 506-511.
20. **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.
21. **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)Ga]-EDTMP formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008, vol. 68, no. 2, pp. 406-412.
22. **Petrev V.M., Tishchenko V.K., Smoryzanova O.A., Skvortsov V.G.** Pharmacokinetics in intact rats of N,N,N',N'-ethylenediaminetetrakis-(methylenephosphonic acid) labeled with gallium-68. *Pharm. Chem. J.*, 2017, vol. 51, no. 5, pp. 331-336.
23. **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}Ga]-EDTMP. *Nucl. Med. Biol.*, 2007, vol. 34, no. 4, pp. 391-397.
24. **Petrev V.M., Tishchenko V.K., Stepchenkova E.D., Zavestovskaya I.N., Shegai P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D.** Effect of gallium carrier in ^{68}Ga -ethylenediaminetetrakis (methylene phosphonic acid) on its behavior in laboratory animals. *Bulletin of the Lebedev Physics Institute*, 2019, vol. 46, no. 10, pp. 319-323.
25. **Fellner M., Riss P., Loktionova N., Zhernosekov K., Thews O., Gerald C.F.G.C., Kovacs Z., Lukeš I., Rösch F.** Comparison of different phosphorus-containing ligands complexing ^{68}Ga for PET-imaging of bone metabolism. *Radiochim. Acta*, 2011, vol. 99, pp. 43-51.
26. **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, vol. 10, no. 2, pp. E45.
27. **Tishchenko V.K., Petrev V.M., Mikhailovskaya A.A., Stepchenkova E.D., Timoshenko V.Yu., Postnov A.A., Zavestovskaya I.N.** Experimental investigation of biodistribution of new bone-seeking compounds

- based on phosphonic acids and gallium-68]. *Bulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019, vol. 168, no. 12, pp. 739-743. (In Russian).
28. **Tishchenko V.K., Petriev V.M., Mikhailovskaya A.A., Smoryzanova O.A., Postnov A.A.** The biodistribution of a new bone-seeking agent based on pentaphosphonic acid and gallium-68 in tumor-bearing rats. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series*, 2019, vol. 1189, pp. 012042.
 29. **Tsebrikova G.S., Baulin V.E., Kalashnikova I.P., Ragulin V.V., Zavel'skii V.O., Maruk A.Ya., Lunev A.S., Klement'eva O.E., Kodina G.E., Tsivadze A.Yu.** Cyclen-containing phosphonic acids as components of osteotropic ^{68}Ga radiopharmaceuticals. *Zhurnal obshchey khimii – Journal of General Chemistry*, 2015, vol. 85, no. 9, pp. 2071-2079. (In Russian).
 30. **Tsebrikova G.S., Barsamian R.T., Solov'ev V.P., Kudryashova Z.A., Baulin V.E., Wang Y.J., Tsivadze A.Yu.** Complexation of gallium (III) nitrate with 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetrakis(methylenephosphonic acid). *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya – News of the Academy of Sciences. Chemical series*, 2018, vol. 67, no. 12, pp. 2184-2187. (In Russian).
 31. **Kabachnik I.M., Medved' T.Ya., Bel'skii F.I., Pisareva S.A.** Synthesis and acid-base and complex-forming properties of 1,4,7,10-tetrakis(dihydroxyphosphorylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane. *Vestnik Akademii nauk SSSR. Otdeleniye khimicheskikh nauk – Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science*, 1984, vol. 33, pp. 777-782. (In Russian).
 32. **Dho S.H., Choi S., Kim S., Cho E., Lee S., Jung S., Lim J.** ^{68}Ga labeling of DOTMP using freeze-dried kit for the imaging of bone metastasis. *Proceedings of the KNS 2015 Fall Meeting*, (pp. 1CD-ROM). Korea: KNS, 2015.
 33. **Jaswal A.P., Meena V.K., Prakash S., Pandey A., Singh B., Mishra A.K., Hazari P.P.** [^{68}Ga]/[^{188}Re] complexed [CDTMP] trans-1,2-cyclohexyldinitrilotetraphosphonic acid as a theranostic agent for skeletal metastases. *Front. Med.*, 2017, vol. 4, pp. 72.
 34. **Kodina G.E., Malysheva A.O., Klement'eva O.E.** Osteotropic radiopharmaceuticals in Russian nuclear medicine techniques. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya Khimicheskaya – Russian Chemical Bulletin, International Edition*, 2016, vol. 65, no. 2, pp. 350-362. (In Russian).
 35. **Lunyov A.S., Clement'eva O.E., Lunyova K.A., Zhukova M.V., Malysheva A.O.** Qualitative and quantitative comparisons of bone PET-Imaging using ^{68}Ga -oxabiphor and Na^{18}F . *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal – Saratov Journal of Medical Scientific Research*, 2017, vol. 13, no. 4, pp. 886-891. (In Russian).
 36. **Ogawa K., Mukai T., Inoue Y., Ono M., Saji H.** Development of a novel $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -chelate-conjugated bisphosphonate with high affinity for bone as a bone scintigraphic agent. *J. Nucl. Med.*, 2006, vol. 47, pp. 2042-2047.
 37. **Martell A.E., Motekaitis R.J., Clarke E.T., Delgado R., Sun Y., Ma R.** Stability constants of metal complexes of macrocyclic ligands with pendant donor groups. *Supramol. Chem.*, 1996, vol. 6, pp. 353-363.
 38. **Imberti C., Chen Y.L., Foley C.A., Ma M.T., Paterson B.M., Wang Y., Young J.D., Hider R.C., Blower P.J.** Tuning the properties of tris(hydroxypyridinone) ligands: efficient ^{68}Ga chelators for PET imaging. *Dalton Trans.*, 2019, vol. 48, no. 13, pp. 4299-4313.
 39. **Spang P., Herrmann C., Roesch F.** Bifunctional gallium-68 chelators: past, present and future. *Semin. Nucl. Med.*, 2016, vol. 46, pp. 373-394.
 40. **Kubicek V., Rudovsky J., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R.N., Kolar Z.I., Wolterbeek H.T., Peters J.A., Lukes I.** A bisphosphonate monoamide analogue of DOTA: a potential agent for bone targeting. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, vol. 127, no. 47, pp. 16477-16485.
 41. **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.
 42. **Meckel M., Fellner M., Thieme N., Bergmann R., Kubicek V., Rösch F.** In vivo comparison of DOTA based ^{68}Ga -labelled bisphosphonates for bone imaging in non-tumour models. *Nucl. Med. Biol.*, 2013, vol. 4, pp. 823-830.

43. **Fellner M., Biesalski B., Bausbacher N., Kubicek V., Hermann P., Rosch F., Thews O.** (68)Ga-BPAMD: PET-imaging of bone metastases with a generator based positron emitter. *Nucl. Med. Biol.*, 2012, vol. 39, no. 7, pp. 993-999.
44. **Fellner M., Baum R.P., Kubicek V., Hermann P., Lukes I., Prasad V., Rosch F.** PET/CT imaging of osteoblastic bone metastases with (68)Ga-bisphosphonates: first human study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2010, vol. 37, no. 4, pp. 834.
45. **Guleria M., Das T., Amirdhanayagam J., Shinto A.S., Kamaleshwaran K.Km., Pandian A., Sarma H.D., Dash A.** Convenient formulation of ⁶⁸Ga-BPAMD patient dose using lyophilized BPAMD kit and ⁶⁸Ga sourced from different commercial generators for imaging of skeletal metastases. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2019, vol. 34, no. 2, pp. 67-75.
46. **Meckel M., Kubiček V., Hermann P., Miederer M., Rösch F.** A DOTA based bisphosphonate with an albumin binding moiety for delayed body clearance for bone targeting. *Nucl. Med. Biol.*, 2016, vol. 43, no. 11, pp. 670-678.
47. **Ogawa K., Takai K., Kanbara H., Kiwada T., Kitamura Y., Shiba K., Odani A.** Preparation and evaluation of a radiogallium complex-conjugated bisphosphonate as a bone scintigraphy agent. *Nucl. Med. Biol.*, 2011, vol. 38, no. 5, pp. 631-636.
48. **Meckel M., Bergmann R., Miederer M., Roesch F.** Bone targeting compounds for radiotherapy and imaging: *Me(III)-DOTA conjugates of bisphosphonic acid, pamidronic acid and zoledronic acid. *EJNMMI Radiopharm. Chem.*, 2016, vol. 1, no. 1, pp. 14.
49. **Papapoulos S.E.** Bisphosphonates: how do they work? *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008, vol. 22, pp. 831-847.
50. **Rogers M.J.** From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif. Tissue Int.*, 2004, vol. 75, no. 6, pp. 451-461.
51. **Voloznev L.V.** The mechanisms for the development of metastatic skeletal lesion and the role of N-bisphosphonates in its therapy. *Oncologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena – Oncology. P.A. Hertsen Journal*, 2013, vol. 1, pp. 73-77. (In Russian).
52. **Khawar A., Eppard E., Roesch F., Ahmadzadehfar H., Kürpig S., Meisenheimer M., Gaertner F.C., Essler M., Bundschuh R.A.** Preliminary results of biodistribution and dosimetric analysis of [⁶⁸Ga]Ga-DOTA^{ZOL}: a new zoledronate-based bisphosphonate for PET/CT diagnosis of bone diseases. *Ann. Nucl. Med.*, 2019, vol. 33, pp. 404-413.
53. **Suzuki K., Satake M., Suwada J., Oshikiri S., Shino H., Dozono H., Ino A., Kasahara H., Minamizawa T.** Synthesis and evaluation of a novel ⁶⁸Ga-chelate-conjugated bisphosphonate as a bone-seeking agent for PET imaging. *Nucl. Med. Biol.*, 2011, vol. 38, no. 7, pp. 1011-1018.
54. **Holub J., Meckel M., Kubiček V., Rösch F., Hermann P.** Gallium(III) complexes of NOTA-bis(phosphonate) conjugates as PET radiotracers for bone imaging. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2015, vol. 10, pp. 122-134.
55. **Passah A., Tripathi M., Ballal S., Yadav M.P., Kumar R., Roesch F., Meckel M., Sarathi Chakraborty P., Bal C.** Evaluation of bone-seeking novel radiotracer ⁶⁸Ga-NO2AP-Bisphosphonate for the detection of skeletal metastases in carcinoma breast. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2017, vol. 44, no. 1, pp. 41-49.
56. **Wu Z., Zha Z., Choi S.R., Plössl K., Zhu L., Kung H.F.** New ⁶⁸Ga-PhenA bisphosphonates as potential bone imaging agents. *Nucl. Med. Biol.*, 2016, vol. 43, no. 6, pp. 360-371.