

**ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ  
И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**  
**CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS  
AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-2-107-130>



УДК 547.1

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

**Бифункциональные хелаторы к катиону галлия**

**А.Г. Поливанова**✉, **И.Н. Соловьёва**, **Д.О. Ботев**, **Д.Ю. Юрьев**, **А.Н. Мыльникова**,  
**М.С. Ощепков**

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва,  
125047 Россия

✉ Corresponding author, e-mail: zagchem@mail.ru

**Аннотация**

**Цели.** Химия радионуклидов  $^{67}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ga}$  играет одну из ключевых ролей в ядерной медицине для применения в радиофармпрепаратах, в частности, в неинвазивных методах молекулярной визуализации *in vivo*. Использование радиометаллов для меченя биомолекул обычно требует использования бифункциональных хелаторов, которые, кроме полиидентного фрагмента, координирующего металл, содержат функциональную группу для ковалентного связывания с вектором-мишенью. Цели данного обзора – проанализировать накопленный к настоящему времени экспериментальный материал, касающийся разработки и применения в медицинских исследованиях бифункциональных хелаторов к катиону галлия, а также выявить и проанализировать основные требования, предъявляемые к структуре хелатора и его комплексов с  $^{68}\text{Ga}$ , необходимые для создания эффективных фармакологических препаратов на его основе.

**Результаты.** Рассмотрены макроциклические бифункциональные хелаторы, образующие стабильные *in vivo* комплексы с  $^{68}\text{Ga}$ , а также ациклические хелаторы, преимущество которых заключается в более быстрой кинетике комплексообразования, что является ключевым фактором, учитывающим короткий период полураспада  $^{68}\text{Ga}$ . Проведена оценка достоинств и недостатков обоих типов лигандов. Кроме того, осуществлен критический анализ констант связывания и условий образования комплексов. Рассмотрены примеры влияния природы металлического комплекса (геометрия, липофильность, общий заряд) на биораспределение целевых радиофармацевтических препаратов.

**Выводы.** Несмотря на достигнутые успехи в рассмотренных направлениях создания бифункциональных хелаторов, по-прежнему важной остается проблема корреляции химической структуры радиофармпрепаратов на основе металлов с их поведением *in vivo*. В этом отношении сравнительные исследования препаратов, имеющих идентичный вектор нацеливания, но включающих разные бифункциональные хелатирующие агенты, могут помочь в дальнейшем выявлении влияния металл-хелатного фрагмента на фармакокинетику. В целом можно отметить, что для создания эффективного бифункционального хелатирующего агента нужно принимать во внимание целую совокупность факторов, включающую стабильность и инертность хелатора и его комплексов в физиологических условиях, липофильность, кинетику комплексообразования, селективность хелатирования, комбинаторность базовой структуры, а также экономические аспекты: доступность сырья, сложность схемы синтеза.

**Ключевые слова:** бифункциональный хелатор, лиганд, галлий, радиофармпрепарат

**Для цитирования:** Поливанова А.Г., Соловьёва И.Н., Ботев Д.О., Юрьев Д.Ю., Мьельникова А.Н., Ощепков М.С. Бифункциональные хелаторы к катиону галлия. *Тонкие химические технологии*. 2022;17(2):107–130. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-2-107-130>

## REVIEW ARTICLE

# Bifunctional gallium cation chelators

Anna G. Polivanova , Inna N. Solovieva, Dmitrii O. Botev, Danil Y. Yuriev, Alyona N. Mylnikova, Maxim S. Oshchepkov

D.I. Mendeleev Russian University of Chemical Technology, Moscow, 125047 Russia

 Corresponding author, e-mail: zagchem@mail.ru

### Abstract

**Objectives.** The chemistry of  $^{67}\text{Ga}$  and  $^{68}\text{Ga}$  radionuclides plays a key role in nuclear medicine for applications in radiopharmaceuticals, in particular, in noninvasive *in vivo* molecular imaging techniques. The use of radiometals for labeling biomolecules typically requires the use of bifunctional chelators, which contain a functional group for covalent bonding with the targeting vector in addition to the polydentate fragment coordinating the metal. The aim of the present review article is to analyze the currently accumulated experimental material on the development and application of bifunctional chelators of gallium cations in medical research, as well as to identify the main requirements for the structure of the chelator and its complexes with  $^{68}\text{Ga}$ , which are used to create effective Ga-based pharmaceutical preparations.

**Results.** The review analyzed macrocyclic bifunctional chelators forming stable *in vivo* complexes with  $^{68}\text{Ga}$  and acyclic chelators, whose main advantage is faster complexation kinetics due to the short half-life of  $^{68}\text{Ga}$ . The advantages and disadvantages of both types of ligands were evaluated. In addition, a critical analysis of the binding constants and the conditions for the formation of complexes was presented. Examples of the influence of the geometry, lipophilicity, and total charge of the metal complex on the biodistribution of target radiopharmaceuticals were also given.

**Conclusions.** Despite the progress made in the considered areas of bifunctional chelators, the problem of correlating the chemical structure of a metal-based radiopharmaceutical with its behavior *in vivo* remains important. Comparative studies of drugs having an identical targeting vector but containing different bifunctional chelating agents could help further elucidate the effect

of metal chelate moiety on pharmacokinetics. In order to create effective bifunctional chelating agents, it is necessary to take into account such factors as the stability and inertness of the chelator and its complexes under physiological conditions, lipophilicity, complexation kinetics, chelation selectivity, combinatoriality of the basic structure, along with economic aspects, e.g., the availability of raw materials and the complexity of the synthesis scheme.

**Keywords:** bifunctional chelator, ligand, gallium, radiopharmaceutical

**For citation:** Polivanova A.G., Solovieva I.N., Botev D.O., Yuriev D.Y., Mylnikova A.N., Oshchepkov M.S. Bifunctional gallium cation chelators. *Tonk. Khim. Tekhnol.* = *Fine Chem. Technol.* 2022;17(2):107–130 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-2-107-130>

## ВВЕДЕНИЕ

Неинвазивные методы молекулярной визуализации, реализующие принцип мультидисциплинарного подхода к диагностике живых организмов *in vivo*, представляют большой интерес и практическую значимость в современных биомедицинских исследованиях. В отличие от других диагностических методов, таких как рентгеновские лучи, компьютерная томография (КТ) и ультразвук, которые преимущественно предоставляют анатомическую информацию, молекулярная визуализация позволяет измерять и наглядно отображать химические и биологические процессы непосредственно в живых системах на молекулярном и клеточном уровне.

Ядерная медицинская визуализация включает методы, в которых используются агенты визуализации и зонды, включающие радиоактивный изотоп – радиоактивные индикаторы. В ядерной медицине реализуются два основных метода визуализации: однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

В отличие от ОФЭКТ, ПЭТ имеет определенные преимущества, включающие высокие разрешение и чувствительность, а также возможность количественной оценки благодаря стандартизированному методу коррекции затухания. Однако широкое использование ПЭТ было ограничено из-за коротких периодов полураспада четырех традиционных стандартных изотопов:  $^{11}\text{C}$  ( $t_{1/2} = 20$  мин),  $^{13}\text{N}$  ( $t_{1/2} = 10$  мин),  $^{15}\text{O}$  ( $t_{1/2} = 2$  мин) и  $^{18}\text{F}$  ( $t_{1/2} = 110$  мин), которые требуют, за исключением  $^{18}\text{F}$ , обслуживания циклотрона для производства в непосредственной

близости от устройства формирования изображения. Несмотря на высокие затраты на обслуживание оборудования, рост использования ПЭТ-изображений за последние десятилетия в основном был вызван успехом  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозы (ФДГ), которая стала незаменимым инструментом для диагностики различных типов злокачественных новообразований. Как следствие, ПЭТ превратилась из инструмента исследования в практичный, высокоэффективный метод клинической визуализации, который за последние десятилетия оказал огромное влияние на клиническую медицину и фармацевтические разработки. Этот прогресс также стимулировал развитие других методов визуализации, таких как ПЭТ-КТ и ПЭТ-магнитно-резонансная томография, а также флуоресцентная визуализация.

Однако использование традиционных короткоживущих изотопов ограничивается исследованием быстропротекающих биологических процессов, в то время как исследование более продолжительных процессов затруднено. В связи с этим были произведены и исследованы нестандартные радиоизотопы ПЭТ, которые имеют более широкий диапазон физических периодов полураспада и которые более совместимы с биологическим периодом полураспада определенных векторов-мишеней, использующихся для создания новых радиофармацевтических препаратов. В качестве таких нестандартных изотопов рассматриваются радиоактивные металлы – цирконий, иттрий, индий, галлий и медь [1].

Галлий-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ) имеет период полураспада 1.13 ч и распадается при испускании позитронов и захвате электронов (11%). Повышенный интерес к  $^{68}\text{Ga}$  основан на его доступности из системы

генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , которая позволяет экономически эффективно использовать радиофармпрепараты на его основе в клинических центрах без местного циклотрона, что является основным преимуществом по сравнению с радиоизотопами ПЭТ, производимыми на циклотроне. Хотя генераторы  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  были внедрены более 50 лет назад, наиболее важным фактором недавнего роста числа радиофармпрепаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$  послужил прогресс в их проектировании. Новое поколение генераторов, производящих  $^{68}\text{Ga}$  как  $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$ , решило критические проблемы

с примесями и обеспечила их коммерческую доступность. Изотоп  $^{68}\text{Ge}$  распадается до  $^{68}\text{Ga}$  с периодом полураспада 270.8 дней, что позволяет получать долгоживущие системы генераторов (теоретически на срок 1–2 года) для радиофармацевтических применений.

Использование радиометаллов для мечения биомолекул обычно требует использования бифункциональных хелаторов (БФХ), которые помимо пентидентатного фрагмента, координирующего металл, содержат функциональную группу для ковалентной связи с вектором нацеливания (Таблица).

**Таблица.** Константы стабильности бифункциональных хелатирующих комплексов ( $\log \beta_1$ ) к  $^{67/68}\text{Ga}$  и условия их получения

**Table.** Stability constants ( $\log \beta_1$ ) and synthesis conditions of  $^{67/68}\text{Ga}$  bifunctional chelating complexes

Хелатор* Chelating agent*	$\log \beta_1$	Условия связывания с $^{67/68}\text{Ga}$ $^{67/68}\text{Ga}$ binding conditions	RCY** (%)	Ссылка Reference
DOTA (1)	21.3	pH = 4.8, 5 мин, 95 °C pH = 4.8, 5 min, 95 °C	>90	[2]
NOTA (3)	30.7	pH = 3.5, 10 мин, 95 °C pH = 3.5, 10 min, 95 °C	>95	[3]
NODASA (3a)	—***	0.5 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , 25 мин, 90 °C 0.5 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , 25 min, 90 °C	—	[4]
NODAGA (3b)	—	25 мин, 95 °C 25 min, 95 °C	95	[5]
p-SCN-Bn-NOTA (3c)	—	pH = 6.0, 10 мин, 25 °C pH = 6.0, 10 min, 25 °C	89	[5]
NODAPA-OH (3d)	—	pH = 2.8, 3 мин, 85 °C pH = 2.8, 3 min, 85 °C	85	[5]
NODAPA-NCS (3e)	—	pH = 2.8, 3 мин, 75 °C pH = 2.8, 3 min, 75 °C	85	[5]
NODAPA-(NCS) <sub>2</sub> (3f)	—	pH = 2.8, 3 мин, 75 °C pH = 2.8, 3 min, 75 °C	—	[5]
TRAP (3g)	26.24	pH = 3.0, 3 мин, 40 °C pH = 3.0, 3 min, 40 °C	95	[6]
NOPO (3h)	25.01	2.7 M HEPES, 5 мин, 25 °C 2.7 M HEPES, 5 min, 25 °C	99	[7]
H <sub>5</sub> NOA2P (3i)	34.44	pH = 7.4, 30 мин, 95 °C pH = 7.4, 30 min, 95 °C	—	[8]
H <sub>3</sub> NOKA	—	pH = 6.0, 60 мин, 25 °C pH = 6.0, 60 min, 25 °C	35	[9]
DATA <sup>p</sup> (4a)	—	pH = 4.7, 1–10 мин, 25 °C pH = 4.7, 1–10 min, 25 °C	93	[10]
DATA <sup>m</sup> (4b)	21.7	pH = 4.7, 1 мин, 25 °C pH = 4.7, 1 min, 25 °C	97	[10]
PhDATA <sup>pph</sup> (4c)	—	pH = 4.7, 1–10 мин, 25 °C pH = 4.7, 1–10 min, 25 °C	93	[10]

Таблица. Окончание  
Table. Continued

Хелатор* Chelating agent*	$\log \beta_1$	Условия связывания с $^{67/68}\text{Ga}$ $^{67/68}\text{Ga}$ binding conditions	RCY** (%)	Ссылка Reference
DATA <sup>ph</sup> (4d)	–	pH = 4.7, 1–10 мин, 25 °C pH = 4.7, 1–10 min, 25 °C	84	[10]
NO <sub>2</sub> Bn-PCТА (5)	19.37	pH = 3–5, 25 °C	96	[10]
Diamsar (6a)	–	0.1 M CH <sub>3</sub> COONa, 35 мин, 85 °C 0.1 M CH <sub>3</sub> COONa, 35 min, 85 °C	98	[11]
DiamsarDGA (6b)	–	30 мин, 85 °C 30 min, 85 °C	98	[11]
H <sub>2</sub> dedpa (8)	28.11	0.1 M CH <sub>3</sub> COONa, 10 мин, 25 °C 0.1 M CH <sub>3</sub> COONa, 10 min, 25 °C	97	[12]
HBED (7)	38.51	pH = 4.2, 4 мин, 95 °C pH = 4.2, 4 min, 95 °C	99	[13]
HBED-CC (7a)	–	pH = 4.2, 4 мин, 25 °C pH = 4.2, 4 min, 25 °C pH = 4.8, 10 мин, 25 °C pH = 4.8, 10 min, 25 °C	99 96	[14,15]
KP46 (11)	36.79	pH < 2.0, 25 °C	–	[16]
ЕНР	27.52	pH = 7.4, 15 мин, 25 °C pH = 7.4, 15 min, 25 °C	–	[17]
ЕНМР	29.55	pH = 7.4, 15 мин, 25 °C pH = 7.4, 15 min, 25 °C	–	[17]
CP256 (14a)	–	pH = 6.5, 5 мин, 25 °C pH = 6.5, 5 min, 25 °C	95	[18]
NTP(PrHP) <sub>3</sub> (14c)	33.34	pH = 7.4, 25 °C	98	[19]
DFO (15)	28.6	pH = 4.5, 5 мин, 25 °C pH = 4.5, 5 min, 25 °C	96	[20]
Df-Bz-NCS (15a)	–	pH = 7.2, 5 мин, 25 °C pH = 7.2, 5 min, 25 °C	>90	[21]

\* Все сокращения описаны ниже в тексте статьи / All abbreviations are described below in the text of the article.

\*\* RCY – радиохимический выход / RCY is a radiochemical yield.

\*\*\* Данные не найдены / No data.

Выбор БФХ определяется природой и степенью окисления металлического радионуклида. Оптимальный БФХ должен удовлетворять следующим основным требованиям:

- Стабильность и инертность в физиологических условиях: БФХ должен образовывать термодинамически стабильные и кинетически инертные комплексы для предотвращения любых реакций обмена лигандов или гидролиза *in vivo*.
- Кинетика быстрого комплексообразования: радиомечение БФХ должно быть эффективным и быстрым при низких температурах и низком pH, подходящем для биологических векторов нацеливания.
- Селективность: БФХ должен избирательно связывать интересующий радиометалл, чтобы избежать низкой специфической активности во время радиоактивного мечения, например, из-за наличия других продуктов распада.

- Универсальная химия конъюгирования: гибкость конъюгирования БФХ с функциональными группами нацеленных векторов позволяет оптимизировать фармакокинетику путем регулирования полярности всего конъюгата.
- Доступность: процесс получения БФХ должен быть относительно простым, быстрым и рентабельным, а также масштабируемым для приготовления в количестве нескольких граммов продукта.

Однако успех БФХ не гарантируется выполнением всех вышеперечисленных требований. Не менее важными факторами, которые влияют на свойства радиофармпрепаратов *in vivo*, являются общий заряд и липофильность соответствующего металлического комплекса БФХ. Эти показатели определяются геометрией и набором доноров БФХ, а также координированным радиометаллом. Так, например, некоторые пептидные нацеливающие векторы, конъюгированные с идентичным БФХ, но меченные разными радиометаллами, различаются по связыванию с рецептором и поведению *in vivo* [22].

В последние годы для использования в области *in vivo* диагностики были предложены различные структурные типы хелатирующих агентов, обладающих высокой стабильностью и селективностью в отношении Ga(III).

### МАКРОЦИКЛИЧЕСКИЕ ХЕЛАТИРУЮЩИЕ АГЕНТЫ К ГАЛЛИЮ

Последние разработки БФХ, а также хелаторов к Ga(III), в основном сосредоточены на лигандах на основе полиаза-макроциклов (рис. 1). Такие системы

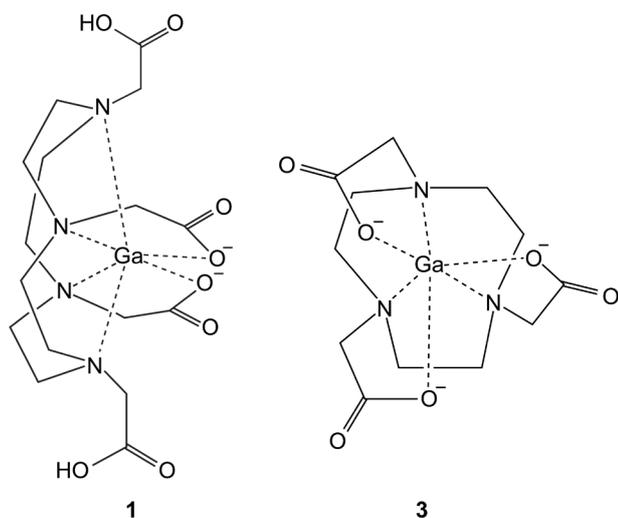


Рис. 1. Комплексы DOTA (1) и NOTA (3) с галлием.  
Fig. 1. DOTA (1) and NOTA (3) complexes with gallium.

сводят к минимуму транسخелирование или потерю металла *in vivo*, что благоприятно для их применения в качестве радиофармацевтических препаратов.

Чтобы насытить все координационные сайты на шестикоординированном катионе Ga(III), были разработаны несколько мультидентатных производных TACN (1,4,7-триазаацетон) и циклена (1,4,7,10-тетраазаацетон) с дополнительными тиол-S, карбоксилат-O и фосфонат-O донорными группами путем введения боковых ответвлений на вторичные амины соответствующего макроцикла [23–29]. Наиболее ярким представителем этой категории является лиганд DOTA (1) (1,4,7,10-тетраазаацетон-1,4,7,10-тетрауксусная кислота) (рис. 1). Термодинамическая константа образования комплекса Ga-DOTA  $\log \beta_1 = 21.3$  несколько выше, чем у комплекса Ga(III)-трансферрин [2].

Металлический центр в комплексе Ga-DOTA инкапсулирован донорным набором  $N_4O_2$  цикленового фрагмента и двух карбоксилатных групп цис-псевдооктаэдрическим способом (рис. 1) [30, 31]. Как следствие, комплексы Ga-DOTA имеют отрицательный общий заряд в физиологических условиях. Из-за кинетической инертности макроцикла кинетика комплексообразования DOTA медленная. Радиомечение DOTA (1) требует обычного или микроволнового нагрева для достижения адекватных выходов и специфической активности, что ограничивает его применение только термостойкими нацеленными векторами [32–34].

Были исследованы настраиваемые DO2A-подобные макроциклы, меченные  $^{68}\text{Ga}$ , для визуализации перфузии миокарда (рис. 2). Хелатор DO2A (2) был снабжен двумя триарилфосфониевыми или ароматическими боковыми ответвлениями, тем самым влияя на липофильность и заряд, сохраняя при этом шестикоординационный сайт для  $\text{Ga}^{3+}$  (рис. 2). Радиомечение происходило при 100 °C и pH 4.93 в течение 30 мин в буфере NaOAc [0.2 M, 0.5 мл]. Соединения с наивысшей липофильностью [ $^{68}\text{Ga}$ ]GaDO2A-(xy-TXP)<sub>2</sub> ( $\log D_{7.4} = 0.28 \pm 0.01$ ) и [ $^{68}\text{Ga}$ ]GaDO2A-(xy)<sub>2</sub> ( $\log D_{7.4} = 0.31 \pm 0.01$ ) оценивались *ex vivo* на изолированной перфузированной модели сердца по Лангендорфу. Было обнаружено, что поглощение в пораженном сердце было значительно ниже для обоих комплексов, меченных  $^{68}\text{Ga}$ , чем в здоровом сердце [35].

Лиганд NOTA (3) (1,4,7-триазаацетон-1,4,7-триуксусная кислота) (рис. 1) быстро и эффективно подвергается радиоактивному мечению при комнатной температуре и отличается высокой стабильностью *in vivo* [36–38]. Триазаацетонановые лиганды демонстрируют высокую конформационную и размерную селективность по отношению к Ga(III) из-за меньших размеров соответствующей полости по сравнению с DOTA. Лиганд NOTA (3)

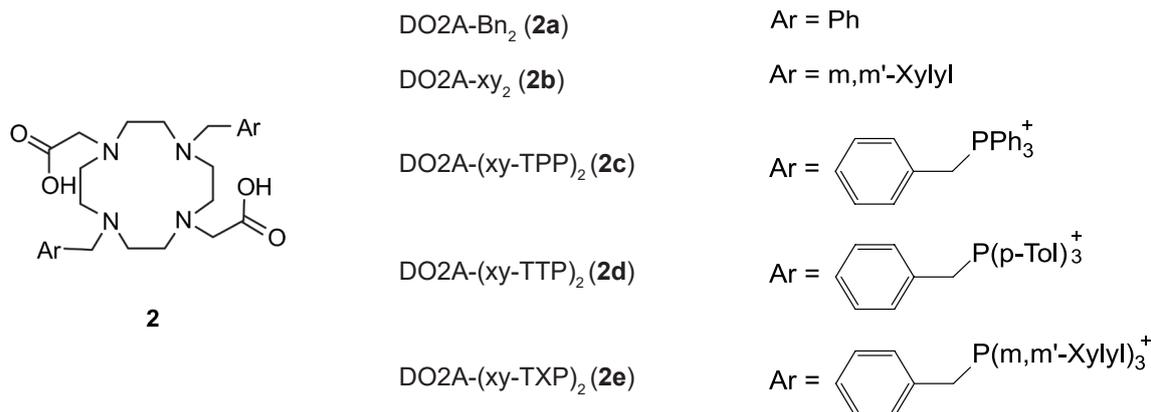


Рис. 2. Структурные аналоги DO2A (2).  
Fig. 2. DO2A (2) structural analogues.

и его производные связывают Ga(III) в псевдооктаэдрической координации –  $N_3O_3$  с низкой деформацией, что приводит к комплексам с нейтральным общим зарядом при физиологическом значении pH (рис. 1) [39, 40].

Термодинамическая стабильность комплекса Ga-NOTA ( $\log \beta_1 = 30.7$ ) примерно на девять порядков выше, чем Ga-DOTA [3]. Это является следствием отличного вписывания небольшого катиона Ga(III) в полость девятичленного триазамакротрицикла NOTA (3). Что касается конъюгации с нацеливающими векторами, использование одной боковой функциональной группы карбоновой кислоты DOTA (1) не влияет на ее способность связывать металл, поскольку только две из четырех доступных групп карбоновой кислоты участвуют в координации металла. В случае NOTA (3) конъюгация может быть достигнута либо с использованием бифункциональных производных NOTA, либо с использованием одной из трех доступных функциональных групп карбоновой кислоты. Однако, если одна из боковых групп карбоновой кислоты используется для конъюгации, координационные свойства NOTA (3) потенциально нарушаются, поскольку предпочтительная стабильная октаэдрическая координация больше не может быть достигнута.



Рис. 3. Структурные аналоги NOTA (3).  
Fig. 3. Structural analogues of NOTA (3).

С целью сохранения гексадентатной координации NOTA при обеспечении возможности ковалентной конъюгации с вектором-мишенью были разработаны производные *p*-SCN-Bn-NOTA (3c) (S-2-(4-изотиоцианатобензил)-1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота), NODASA (3a) (1,4,7-триазациклононан-*N*-янтарная кислота-*N',N''*-диуксусная кислота) и NODAGA (3b) (1,4,7-триазациклононан-*N*-глутаминовая кислота-*N',N''*-диуксусная кислота) (рис. 3), для которых была продемонстрирована высокая эффективность мечения и стабильность *in vivo* [4, 39–42].

Другие лиганды – NODAPA-OH (3d) и NODAPA-(NCS)<sub>n</sub> (3e, 3f) (n = 1–2) – доступны благодаря экономичной и рентабельной схеме синтеза, при этом они демонстрируют сравнимую с NOTA (3) эффективность радиоактивного мечения. При pH 2.8 85% всех исследованных лигандов были помечены радиоактивной меткой в течение 3 мин при 45 °C для NOTA (3) и NODAPA-OH (3d) и при 75 °C для NODAPA-(NCS)<sub>n</sub> (3e, 3f). Стабильность соответствующих <sup>68</sup>Ga-комплексов находилась в том же диапазоне, что и родственный NOTA, с потерей активности менее чем 2% через 3 ч в исследовании на плазме крыс. Возможность использования NODAPA-NCS (3e) была также продемонстрирована путем конъюгации с L-лизином и глюкозамином с выходом 65–73% [5].

Другой подход к созданию мультимерных радиофармпрепаратов на основе TACN – это  $N,N',N''$ -тризамещенный БФХ PrP9 (TRAP) (**3g**) (рис. 4) (1,4,7-триазациклононан-1,4,7-трис[метил-(2-карбокситил)фосфиновая кислота] с использованием метил(2-карбокситил)фосфиновой кислоты [6].

В соответствии с кристаллической структурой лиганд PrP9 (**3g**) инкапсулирует катион  $^{68}\text{Ga(III)}$  донором  $\text{N}_3\text{O}_3$ , искаженным антипризматическим образом за счет аминогрупп макроцикла и боковых плеч депротонированной фосфиновой кислоты. Тщательный анализ валентных углов Ga-PrP9, которые близки к идеальному октаэдру, показывает, что комплекс Ga-PrP9 менее ограничен, чем его структурно связанные аналоги Ga-NOTA и Ga-NODASA, в результате чего полость, образованная PrP9 (**3g**), хорошо подходит для координации Ga(III) [32, 39]. Соседние функциональные группы карбоновой кислоты не координируются с металлическим центром и, таким образом, могут служить точками соединения с векторами нацеливания. Константа термодинамической устойчивости ( $\log \beta_1$ ) равная 26.24, достаточно высока для радиофармацевтического применения. Лиганд PrP9 (**3g**), кроме того, проявляет селективность в отношении небольших катионов, аналогичную селективности NOTA (**3**), при этом константы образования комплексов с Cu(II) и Zn(II) на 10 порядков ниже, чем у соответствующего комплекса Ga(III). Выходы радиомечения  $^{68}\text{Ga}$  для PrP9 составляли более 95% и достигались в течение 5 мин при  $60^\circ\text{C}$  в диапазоне pH 1–5. Функционализация боковых цепей карбоновых кислот не оказала значительного влияния на эффективность мечения. Уникальной

особенностью PrP9 является способность давать высокие выходы мечения при очень низком pH.

Другой фосфорилированный аналог NOTA – NOPO (рис. 4а, **3h**) также проявляет исключительную селективность к Ga(III), показывая высокий процент инкорпорирования галлия даже в среде, содержащей большое количество примесей других металлов [7]. Кроме того, этот хелатор отличается эффективным комплексообразованием уже при комнатной температуре и низких концентрациях (1–10  $\mu\text{M}$ ).

Еще одно производное фосфиновой кислоты и относящееся к классу триазациклических лигандов  $\text{H}_5\text{NOA2P}$  (**3i**) (1,4,7-триазациклононан- $N,N'$ -бис-(метиленфосфиновая кислота)- $N''$ -метиленкарбоновая кислота) (рис. 4а) с достаточно высокой константой связывания с  $^{69}\text{Ga}$   $\log \beta_1 = 34.44$  превосходит NOTA (**3**) и DOTA (**1**). Однако радиомечение такой структуры происходит достаточно медленно при  $95^\circ\text{C}$  в течение 30 мин. Стабильность такого комплекса при pH = 7.4 несколько выше, чем у Ga(III) с трансферрином. Относительно биологической активности установлено, что несмотря на довольно высокую стабильность  $\text{H}_5\text{NOA2P}$  (**3i**) *in vivo*, он достаточно быстро выводится из организма почками. Тем не менее отмечено, что для похожих структур, содержащих две метиленфосфиновые группы, возможно более эффективное связывание с пептидами или октреотидом, что дает потенциал к более подробному изучению биоконъюкации таких комплексов в живых системах [8].

Гексадентантные хелаторы на основе триацетата 6-амино-1,4-дiazебина (DATA, **4**) образуют октаэдрические комплексы с Ga(III) (рис. 5).

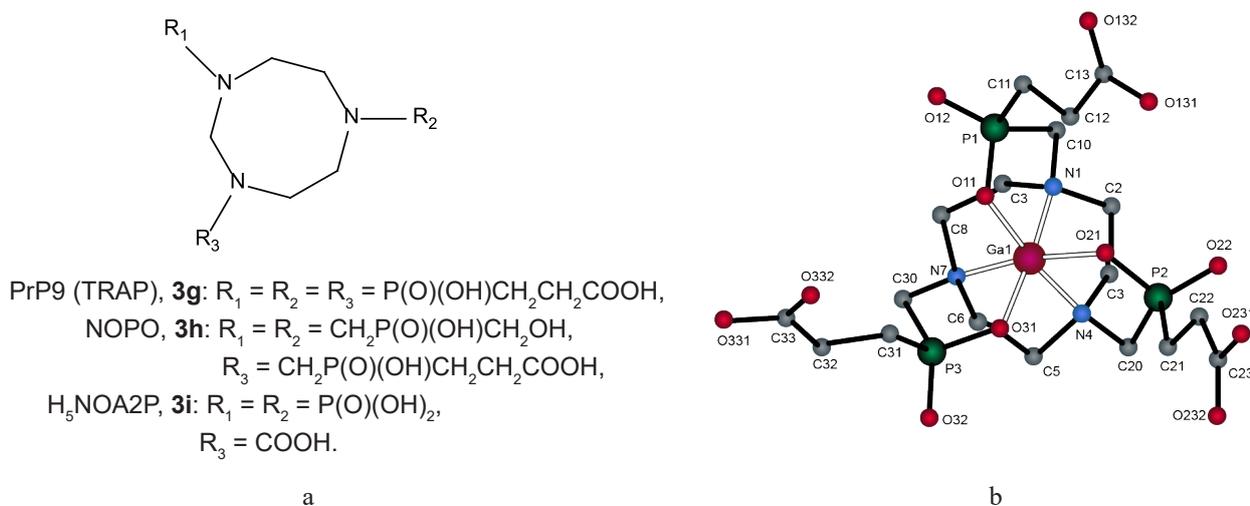
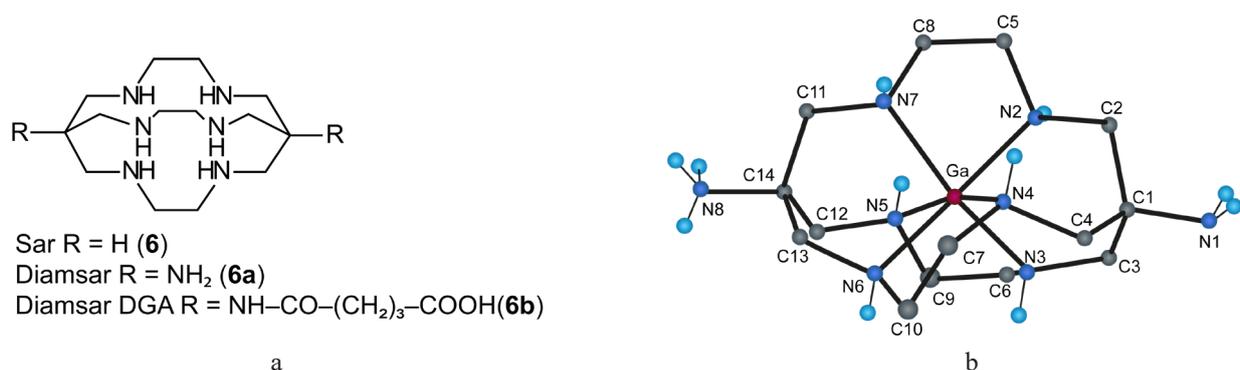


Рис. 4. (а) Структурные формулы PrP9 (TRAP) (**3g**), NOPO (**3h**) и  $\text{H}_5\text{NOA2P}$  (**3i**); (б) кристаллическая структура структура PrP9 (TRAP) (**3g**) с галлием [6].

Fig. 4. (a) Structures of PrP9 TRAP (**3g**), NOPO (**3h**), and  $\text{H}_5\text{NOA2P}$  (**3i**); (b) crystal structure of PrP9 (TRAP) (**3g**) with gallium [6].





**Рис. 7.** (а) Структура БФХ саркафагинового типа, (b) результаты РСА комплекса диамсара (**6a**) с галлием [11].

**Fig. 7.** (a) The sarcaphagin-type BFC structure, (b) X-ray diffraction analysis results of diamsar (**6a**) complex with gallium [11].

Комплексы металлов этого типа хелаторов обладают крайне высокой стабильностью в результате жесткости и инкапсулирующей природы основной цепи amino-лиганда клетки. В кристаллической структуре комплекса Ga(III)-(1-NH<sub>3</sub>-8-NH<sub>2</sub>)-sar катион Ga(III) является шестикоординированным с донором N<sub>6</sub>, установленным в тригонально искаженной октаэдрической геометрии [11].

Для конъюгации двух циклических пептидов RGD с целью нацеливания на рецептор интегрин  $\alpha_3\beta_3$  было исследовано производное диамсара с двумя остатками глутаминовой кислоты, конъюгированными с первичными аминогруппами через амидные связи [11]. В отличие от мечения <sup>64</sup>Cu, которое обычно дает высокие выходы при комнатной температуре, для мечения биоконъюгата <sup>68</sup>Ga димерный комплекс диамсар-RGD нагревали при 85 °C в течение 30 мин. Однако таким образом была достигнута количественная маркировка с выходом более 98%. Конъюгат, меченный <sup>68</sup>Ga, не показал переноса на апотрансферрин в течение периода до 2 ч в исследовании *in vitro*, но показал специфическое связывание с рецептором *in vitro* и продемонстрировал высокий избирательный захват опухолью с клиренсом преимущественно через почки в исследованиях биораспределения и визуализации microPET.

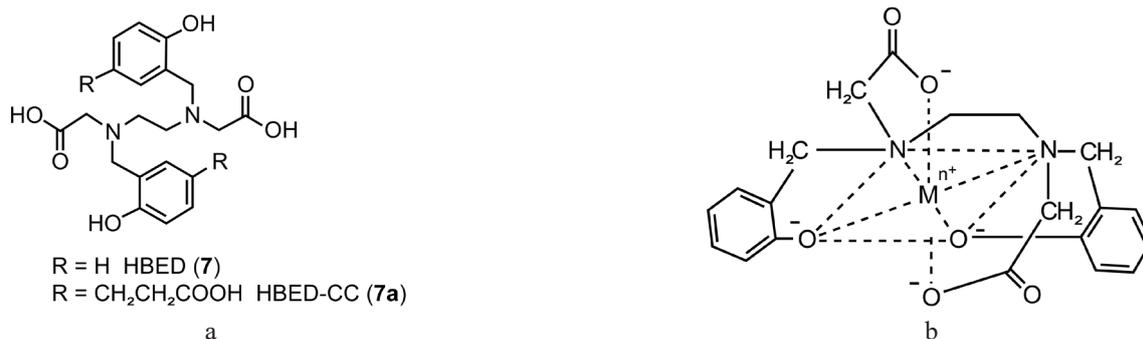
## АЦИКЛИЧЕСКИЕ ХЕЛАТОРЫ

Макроциклический эффект обычно приводит к кинетически более инертным и термодинамически более стабильным комплексам металлов макроциклических хелаторов по сравнению с ациклическими лигандами, что делает БФХ на основе макроциклов более привлекательными для радиофармацевтических применений. Однако существуют ациклические хелаторы, которые довольно успешно действуют *in vivo* и превосходят макроциклические аналоги.

Существенным преимуществом ациклических лигандов, особенно в случае более короткоживущих радиометаллов, таких как <sup>68</sup>Ga, является быстрое связывание металлов, что приводит к более быстрому радиоактивному мечению [47, 48].

Одним из представителей этого класса лигандов является ациклический хелатор HBED (*N,N'*-бис-(2-гидроксибензил)-этилендиамин-*N,N'*-диуксусная кислота) (**7**) на основе каркаса типа EDTA с двумя подвесными фенольными ответвлениями, который недавно привлек повышенное внимание при разработке БФХ для радиофармацевтических применений (рис. 8) [14, 49].

Еще при разработке в 1950-х годах было обнаружено, что данный лиганд образует высокостабильные комплексы с Ga(III) ( $\log \beta_1 = 38.51$ ) [13]. Ациклический бифункциональный лиганд HBED-CC (*N,N'*-бис-[2-гидрокси-5-(карбоксиил)-бензил] этилендиамин-*N,N'*-диуксусная кислота) (**7a**) характеризуется быстрым и эффективным радиоактивным мечением при комнатной температуре и обладает высокой стабильностью *in vivo* и поэтому используется для мечения термочувствительных биомолекул [14, 15, 49]. Интактное моноклональное антитело (mAb) в качестве модельного белка и рекомбинантное диатело последовательно связывали с HBED-CC (**7a**) [49]. Связывание <sup>68</sup>Ga с биоконъюгатом HBED-CC-mAb давало высокие значения радиохимического выхода в мягких условиях. Комплексообразование при pH 4.1 в течение 5 мин при 40 °C давало выход в 89% радиоактивно меченого биоконъюгата. Мечение диатела давало несколько более низкий выход в 85% в буфере HEPES при pH 4.5 и 40 °C. Анализы связывания показали, что меченный <sup>68</sup>Ga-HBED-CC существенно не влияет на рецепторное связывание антитела и диатела. Кроме того, ациклический БФУ HBED-CC был оценен во втором сравнительном исследовании с NOTA (**3**) [14]. HBED-CC (**7a**) конъюгировали с белком через активированный



**Рис. 8.** (а) HBED (7) и HBED-CC (7а), (b) комплекс HBED (7) с галлием.  
**Fig. 8.** (a) HBED (7) and HBED-CC (7a), (b) HBED complex (7) with gallium.

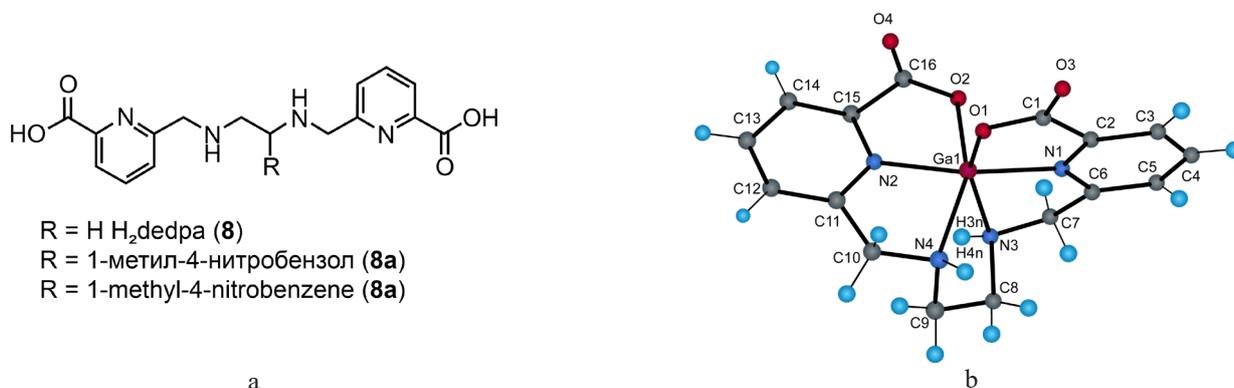
*N*-гидроксисукцинимид. Белок, использованный в этом исследовании, представлял собой одноцепочечный фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), экспрессируемый с цистеин-содержащей меткой слияния (Cystag) для сайт-специфической конъюгации ПЭГилированных бифункциональных хелатообразующих агентов. Мечение соответствующих био-конъюгатов HBED-CC (7а) и NOTA (3) проводили при pH 4.2 и комнатной температуре. В этих условиях конъюгат HBED-CC (7а) связывался количественно (98.7%) в течение 4 мин, тогда как связывание с NOTA (3) составило 50%. Для достижения сопоставимого результата мечения для NOTA (3) была необходима инкубация более 10 мин.

Конъюгаты HBED-CC (7а) и NOTA (3) обладали высокой стабильностью, что было продемонстрировано долгосрочным радиохимическим исследованием сыворотки крови человека, при котором декомплексирование не наблюдалось через 72 ч. В исследованиях связывания клеток с клетками 293/KDR оба радиоактивно меченных био-конъюгата продемонстрировали сопоставимое связывание с почти идентичными значениями  $K_D$  (0.67 для HBED-CC (7а) против 0.59 для NOTA (3)), которые превосходно согласуются с другими радиоактивно мечеными индикаторами scVEGF. Исследования биораспределения обоих индикаторов с помощью

изображений *ex vivo* и ПЭТ на мышах с опухолью показали схожий характер распределения для обоих индикаторов, однако поглощение печенью конъюгата HBED-CC (7а) было заметно ниже, чем для аналога NOTA (3). С другой стороны, поглощение NOTA (3) почками было ниже, чем HBED-CC (7а).

Возможная модификация HBED-CC (7а) по остаткам пропионовой кислоты привела к созданию продуктов моно- и бисконденсации с 4-амино-*N*-(4-((3-бромфенил)амино)хиназолин-6-ил)бутанамидом. МТТ-анализ моно- и бисконденсированных продуктов и их соответствующих комплексов показал в линии раковых клеток A431 значение  $IC_{50}$  ниже 70 мкМ, что сделало их первыми в литературе комплексами Ga(III) с производными хиназолина, демонстрирующими антипролиферативную активность в микромолярном диапазоне. Предыдущие исследования аналогов хиназолина, связанных с хелатором DOTA (1) и мечеными  $^{67}Ga$ , не показали какой-либо цитотоксичности даже при более высоких концентрациях [15].

Активно ведется разработка ациклических пиридиновых хелаторов, одним из ярких представителей которых является  $H_2dedpa$  (8) (6,6'-(этан-1,2-диилбис-(азандил)-бис(метилен) дипиколиновая кислота) (R = H) и его соответствующий предшественник (R = 1-метил-4-нитробензол) (8а) (рис. 9) также относятся к ациклическим хелаторам [12].



**Рис. 9.** (а) Химическая структура  $H_2dedpa$  (8), (b) кристаллическая структура  $H_2dedpa$  с галлием [12].  
**Fig. 9.** (a)  $H_2dedpa$  structure (8), (b) a crystal structure of  $H_2dedpa$  with gallium [12].

Лиганд  $H_2dedpa$  (**8**) связывает  $Ga(III)$  искаженным октаэдрическим образом двумя донорными атомами карбоксилата, двумя азотами пиридиновых колец и двумя вторичными аминными  $N$ -донорными атомами как в растворе, так и в твердом состоянии, и образует комплексы  $Ga(III)$  с высокой термодинамической стабильностью ( $\log \beta_1 = 28.11$ ). Связывание  $H_2dedpa$  (**8**) и его предшественника биоконъюгата с  $^{68}Ga$  дает количественные выходы в течение 10 мин при комнатной температуре. После образования комплекс остается интактным до 97% в течение 2 ч в эксперименте с заражением трансферрином *in vitro*.

Увеличение степени преорганизации путем добавления 1,2-транс-циклогександиаминовой основной цепи, как, например, в  $H_2hox$  (**9**) и  $H_2CHXhox$  (**10**), приводит к увеличению кинетической инертности комплекса (рис. 10). Данная модификация привела также к более высокой термодинамической стабильности [ $^{nat}Ga$ ] $H_2CHXhox$ , чем у [ $^{nat}Ga$ ] $H_2hox$ , и превосходной стабильности [ $^{nat}Ga$ ] $H_2CHXhox$  при pH 1. Радиомечение как  $H_2hox$  (**9**) (5 мин, RT,  $1.0 \cdot 10^{-7}$  M, pH 8.5), так и  $H_2CHXhox$  (**10**) (~1 мин,  $\Delta$ ,  $2.1 \cdot 10^{-5}$  M, pH 5) хлоридом галлия-68 протекало за короткий промежуток времени и показало хорошую стабильность *in vivo* наряду с ограниченной токсичностью *in vitro*. Благодаря более мягким условиям радиомечения эти хелаторы являются перспективными в качестве БФХ для биологических векторов [35].

Трис(8-хинолиolato)галлий(III) (КР46) (**11**) был разработан для обеспечения высокой пероральной биодоступности галлия при лечении рака. В отличие от хлорида галлия(III), КР46 (**11**) демонстрирует более высокое клеточное поглощение на клетках глиобластомы крысы, вызывая значительное снижение внутриклеточных уровней дезоксирибонуклеозид-трифосфата [16].

КР46 (**11**) в 10 раз более активен против клеток злокачественной аденокарциномы легких человека A549, чем хлорид галлия, который проявлял цитотоксичность, зависящую от дозы и времени, в то время как цитотоксическая активность КР46 (**11**) оказалась только дозозависимой. Эти результаты позволили

предположить, что механизмы действия хлорида галлия и КР46 (**11**) различны [50]. Чтобы оценить безопасность, профиль токсичности и фармакокинетику препарата, в 2004 г. была проведена I фаза испытаний КР46 (**11**). Семь пациентов с запущенными злокачественными солидными опухолями, локализованными в почках, яичниках, желудке и околоушной железе, лечились КР46 (**11**). Наблюдаемый пероральный прием КР46 (**11**) оказался эффективным у трех из четырех пациентов с почечно-клеточной карциномой. Исследования показали, что фармакокинетика галлия характеризуется длительным конечным периодом полувыведения, высоким общим клиренсом и большим кажущимся объемом распределения [16, 51].

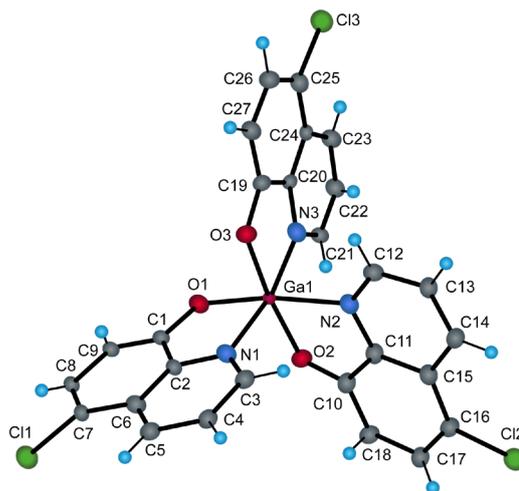
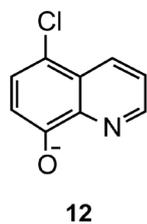
Его аналог 5-хлор-8-хинолинол (**12**) способен также образовывать трискоординированную структуру, где атом галлия скоординирован за счет атомов азота и кислорода (рис. 11).

Этот комплекс был исследован на цитотоксичность в отношении клеток рака яичников A2780, карциномы молочной железы MDA-MB-231 (полученной из места метастазирования), линии клеток эпителиального колоректального рака HCT116, а также незлокачественных клеток легочной ткани человека MRC5pd30. Комплекс показал хорошую активность против всей панели линий раковых клеток со значениями  $IC_{50}$  в диапазоне низких микромолярных концентраций. Он проявлял эффективность, сравнимую с клинически используемым цисплатином в чувствительных к цисплатину клетках A2780, однако он был значительно более активен в клетках рака толстой кишки и молочной железы, изначально устойчивых к цисплатину, включая трудно поддающуюся лечению высоко метастатическую линию клеток MDA-MB-231. Кроме того, он показал отчетливую селективность в отношении малигнизированных опухолевых клеток по сравнению с доброкачественной фибробластомой легких (MRC5pd30) [52].

Диметоксипиридин-3-карбоновая кислота также способна образовывать комплекс с  $Ga^+Bu_3$  — [ $Ga^+Bu_2(\mu-DMP-kO:kO')$ ] $_2$  (**13**), образуя



Рис. 10. Структурные формулы  $H_2hox$  (**9**) и  $H_2CHXhox$  (**10**).  
 Fig. 10. Structural formulas of  $H_2hox$  (**9**) and  $H_2CHXhox$  (**10**).



**Рис. 11.** (a) 5-Хлор-8-хинолинон (**12**), (b) его кристаллическая структура с галлием [52].  
**Fig. 11.** (a) 5-Chloro-8-quinolinone (**12**), (b) its crystal structure with gallium [52].

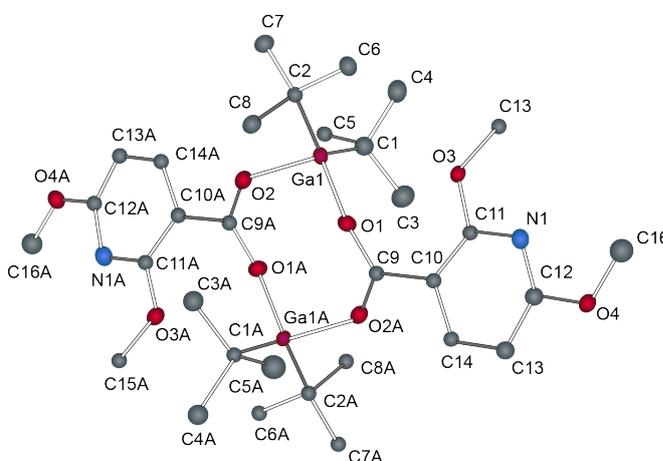
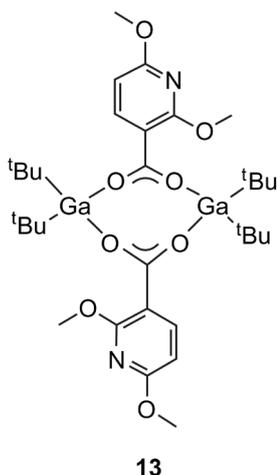
тетракоординированную структуру с искаженной тетраэдрической конфигурацией, с двумя *tert*-бутильными группами и двумя разными атомами кислорода двух разных карбоксилатных лигандов, связанных с металлом (рис. 12).

Цитотоксичность  $[Ga^I Bu_2(\mu-DMP-kO:kO')]_2$  (**13**) *in vitro* против аденокарциномы человека HeLa, злокачественной меланомы человека Fem-x, миелогенного лейкоза человека K562 и карциномы молочной железы человека MDA-MB-361 проявила дозозависимый антипролиферативный эффект. Комплекс обладает более высокой цитотоксической активностью против K562 по сравнению с другими линиями клеток, что указывает на некоторую предпочтительную активность в этих условиях [53].

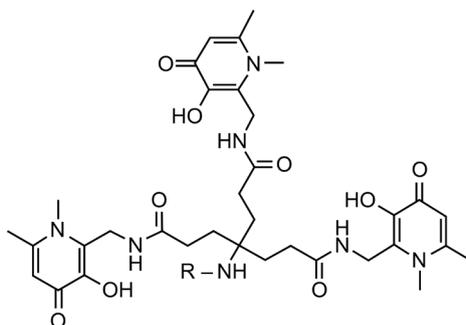
В серии лигандов на основе 3-гидрокси-4-пиридинов (ГПО), гексадентатный хелатор CP256

(R = ацил) (**14a**) и его бифункциональная версия YM103 (R = *N*-(3-амино-3-оксипропил)-3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропан) (**14b**), показали очень высокую эффективность мечения при комнатной температуре с радиохимическим выходом более 98% в течение 5 мин при pH 6.5 (рис. 13) [18].

В исследованиях стабильности комплекса  $^{68}Ga$ -CP256 в сыворотке крови человека при условии контрольного заражения апотрансферрином не наблюдалась ни декомплексация, ни трансхелляция, что указывает на его высокую стабильность и инертность. Стабильность была дополнительно подтверждена *in vivo* исследованиями с помощью ПЭТ-визуализации с использованием в качестве таргетного вектора белка C2Ac, являющегося аналогом фосфатидилсерин-связывающего домена синаптотагмина I.



**Рис. 12.** (a)  $[Ga^I Bu_2(\mu-DMP-kO:kO')]_2$  (**13**), (b) его кристаллическая структура с  $Ga^I Bu_2$  [53].  
**Fig. 12.** (a)  $[Ga^I Bu_2(\mu-DMP-kO:kO')]_2$  (**13**), (b) its crystal structure with  $Ga^I Bu_2$  [53].



R = H DPO (**14**),

R = ацил CP256 (**14a**),

R = асyл CP256 (**14a**),

R = *N*-(3-амино-3-оксопропил)-3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропан YM103 (**14b**).

R = *N*-(3-amino-3-oxopropyl)-3-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)propane YM103 (**14b**).

Другой хелатор на основе гексадентатного ГПО – NTP(PrHP)<sub>3</sub> (**14c**) – используется в качестве связывающего металл агента для хелатной терапии и может быть подходящим для меченя биомолекул <sup>68</sup>Ga (рис. 14) [54, 55]. Лиганд NTP(PrHP)<sub>3</sub> (**14c**) образует гексакоординатный комплекс с Ga(III) высокой термодинамической стабильности ( $\log \beta_1 = 33.34$ ), однако в экспериментах по титрованию было показано, что при pH > 6 он переходит в нерастворимую в воде форму, чего для радиофармацевтических применений следует явно избегать. Однако следует также отметить, что терапевтические концентрации, в которых может использоваться этот препарат, на порядок ниже, чем концентрации, оказывающие существенное влияние на его растворимость.

Радиохимическая чистота комплекса <sup>67</sup>Ga-NTP(PrHP)<sub>3</sub> составляла больше 98%. В связи с возможностью NTP(PrHP)<sub>3</sub> (**14c**) координировать

<sup>67</sup>Ga *in vivo*, его активность была исследована путем совместного введения лиганда после инъекции <sup>67</sup>Ga-цитрата, вызывающего быстрый клиренс <sup>67</sup>Ga из крови, мышц и костей. В дополнительном исследовании биораспределения комплекса <sup>67</sup>Ga-NTP(PrHP)<sub>3</sub> не было отмечено значительных различий в захвате и клиренсе. В исследовании комплекса <sup>67</sup>Ga-NTP(PrHP)<sub>3</sub>, проведенном на крысах линии Wistar, было показано, что он в основном локализовался в крови, почках и печени через 30 и 60 мин практически без поглощения другими органами. <sup>67</sup>Ga-NTP(PrHP)<sub>3</sub> быстро выводился из крови, и только 2% введенной дозы присутствовало через 60 мин. Через 24 ч комплекс в основном выводился из всех тканей, за исключением почек, где все еще присутствовало около 10% исходной концентрации.

Хелатор дефероксамин (ДФО) (**15**) хорошо известен своим применением в терапии хелатирования железа (рис. 15). Сходство высокоспинового

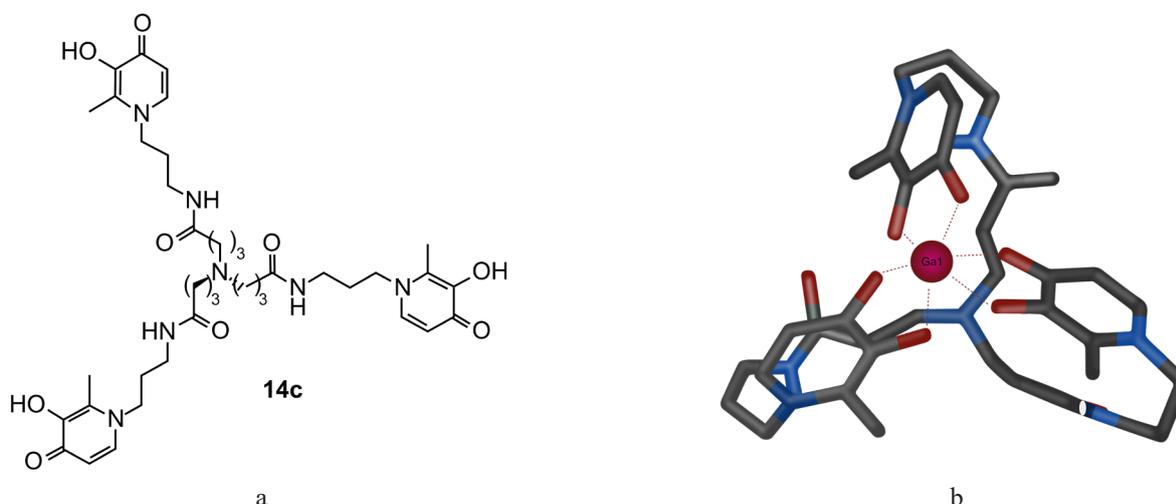


Рис. 14. (а) Структура NTP(PrHP)<sub>3</sub> (**14c**), (b) результаты PCA его комплекса с галлием [54].

Fig. 14. (a) Structure of NTP(PrHP)<sub>3</sub> (**14c**), (b) XRD results of its complex with gallium [54].

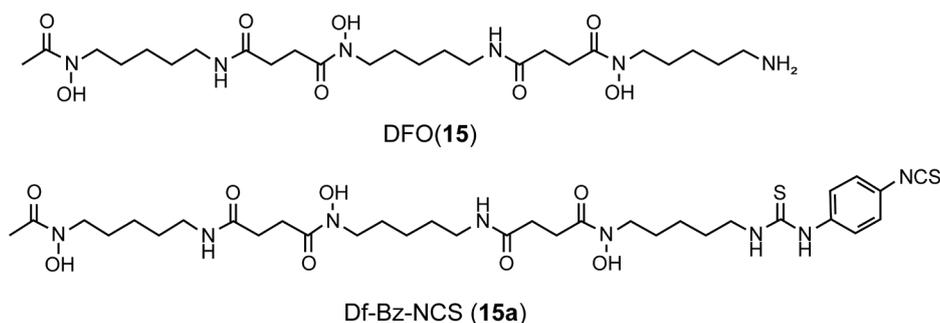


Рис. 15. DFO (15) и Df-Bz-NCS (15a)  
 Fig. 15. DFO (15) and Df-Bz-NCS (15a)

железа(III) с галлием(III) обуславливает способность DFO (15) образовывать комплексы с Ga(III), которые также обладают высокой термодинамической стабильностью. Возможность его применения в качестве БФХ для радиоизотопов галлия была доказана в сочетании с пептидами и небольшими молекулами [20, 56, 57].

Мечение  $^{67}\text{Ga}$  было эффективным, но комплекс плохо удерживался в клетках после интернализации антител и, вероятно, после биотрансформации. Эта проблема была рассмотрена в работе van Dongen *et al.* с использованием БФХ Df-Bz-NCS (*n*-изоотиоцианатобензил-десферриоксамин) (15a), который конъюгировали с нанотелом 7D12 против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (рис. 15) [21]. Мечение  $^{68/67}\text{Ga}$  достигалось путем инкубации Df-биоконъюгата при pH 7.2 в течение 5 мин с последующей очисткой на колонке. Конъюгат  $^{68/67}\text{Ga}$ -Df-Bz-NCS-7D12 был стабильным в сыворотке крови человека с потерей радиоактивности менее 2% через 2 ч и 7% через 24 ч. В исследованиях биораспределения меченное  $^{68}\text{Ga}$  нанотело 7D12 показало высокое поглощение в опухолях A431. Не было отмечено значительного накопления в других органах, за исключением почек. В исследованиях по ПЭТ-визуализации опухоль четко визуализировалась с помощью  $^{68}\text{Ga}$ -Df-Bz-NCS-7D12.

Биспидины (соединения на основе ядра 3,7-дизабицикло[3.3.1]нонана) (16) – широко используемые хелаторы с хорошо организованным координационным сайтом (рис. 16). Они использовались для образования комплексов с целым рядом металлов, в том числе радиоактивными, такими как медь-64, комплексы которой оказались чрезвычайно инертными. Однако применение биспидинов для хелатирования Ga(III) и, в частности,  $^{68}\text{Ga}$ , до недавних пор оставалось относительно неисследованным [58].

Биспидиновый лиганд (16) впервые был применен для комплексообразования с Ga(III) и был мечен  $^{68}\text{Ga}$ . Несмотря на свою 5-координатную природу, полученный комплекс стабилен в сыворотке более двух часов, демонстрируя систему лигандов, хорошо согласованную с окном визуализации ПЭТ  $^{68}\text{Ga}$ . Чтобы показать универсальность биспидинового лиганда (16) и его потенциальное использование в ПЭТ, бифункциональный хелатор был конъюгирован с порфирином. Полученное соединение показало такой же уровень стабильности в сыворотке, что и неконъюгированный комплекс  $^{68}\text{Ga}$ .

Комплексообразование Ga(III) с биспидином (16) проводили при pH 4–4.5 и кипячении с обратным холодильником. Радиохимический выход 89% был достигнут при концентрации лиганда 100 мкМ, тогда как при 200 мкМ выход составил 94% (рис. 17).

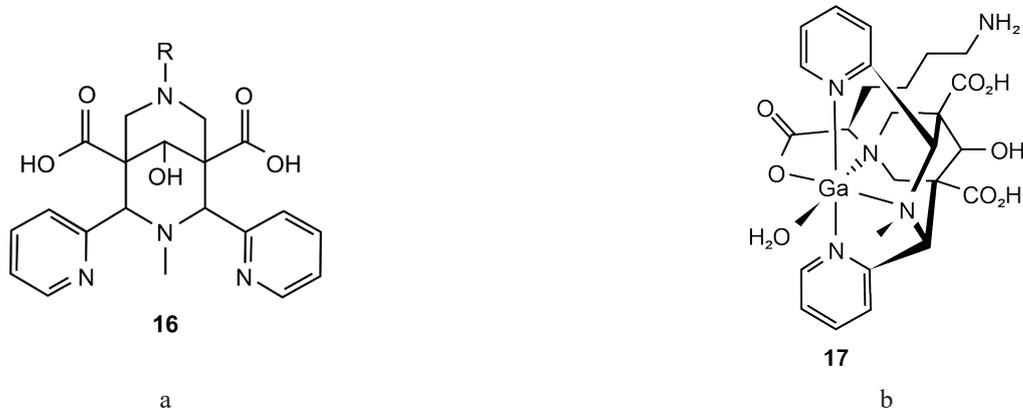


Рис. 16. (a) Биспидин (16), (b) комплекс биспидина с галлием (17) [58].  
 Fig. 16. (a) Bispidine (16), (b) complex of bispidine with gallium (17) [58].

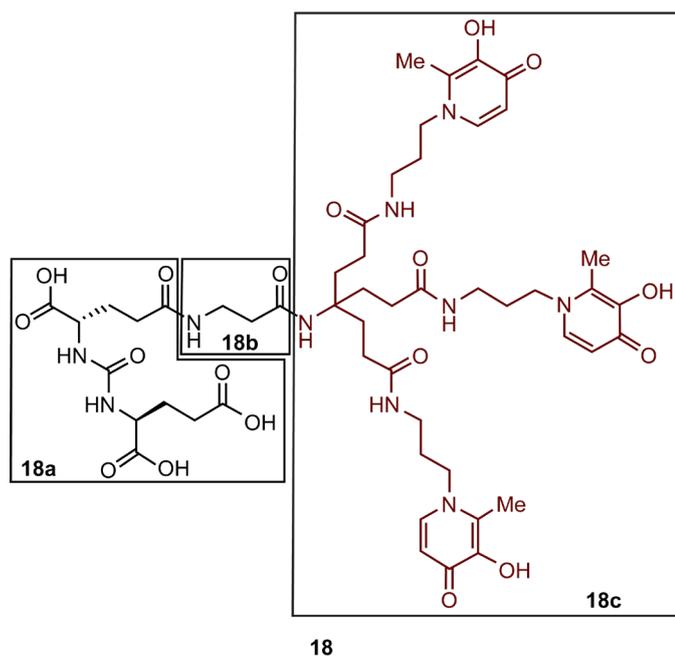


Рис. 17. DUPA-β-Ala-KC18 (18).  
Fig. 17. DUPA-β-Ala-KC18 (18).

С точки зрения кинетики комплексообразования и эффективности радиомечения биспидин (16) не так эффективен, как NOTA (3) и фосфиновый аналог TRAP (3g), который может быть помечен радиоактивным изотопом в гораздо более низких концентрациях при 95 °C или при комнатной температуре при использовании большого избытка лиганда. Аналогичная тенденция наблюдается при сравнении с ациклическими лигандами, такими как  $H_2dedpa$  (8) и  $H_3dpa$  (8b). Эти различия не удивительны, так как биспидин представляет собой пентадентатный лиганд, что не является оптимальным для комплексообразования Ga(III) с точки зрения кинетики, селективности и термодинамической стабильности.

Однако, основываясь на наблюдениях поведения аналогичных соединений  $^{64}Cu$ , можно ожидать положительных результатов с точки зрения кинетической инертности при использовании биспидинового каркаса. При оценке радиохимической стабильности декомплексирование не наблюдалось в течение 2 ч при 37 °C, что доказывает пригодность данного лиганда для  $^{68}Ga$ -ПЭТ *in vivo*. Кроме того, предполагается, что радиохимические выходы и условия радиомечения могут быть дополнительно улучшены путем использования других производных биспидина, в частности, с гексадентатным координационным сайтом [58].

Недавно появившийся класс хелаторов основан на трис-(гидроксипиридиноне) (THP) (17). Биоконъюгаты THP-пептид быстро и количественно образуют

комплекс с  $^{68}Ga$  при комнатной температуре, нейтральном pH и микромолярных концентрациях лиганда, что делает их пригодными для синтеза радиофармацевтических препаратов для ПЭТ. Данный класс соединений представлен бифункциональным хелатором, названным THP-PSMA (17a). В THP-PSMA (17a) присутствует три группы 1,6-диметил-3-гидрокси-4-пиридинона и глутамат-мочевина-лизин. Помимо вышеупомянутых преимуществ, на процесс хелатирования этим лигандом  $^{68}Ga$  не влияет присутствие ионов других металлов, таких как  $Fe^{3+}$ . Однако  $^{68}Ga$ -THP-PSMA показал более низкое абсолютное поглощение опухолью по сравнению с  $^{68}Ga$ -PSMA-11 [59].

В связи с этим был синтезирован новый конъюгат, содержащий 3-гидроксипиридин-4-он (17) и фрагмент DUPA (18a) (2-[3-(1,3-дикарбокси-пропил)-уреидо]пентандиоевую кислоту), названный DUPA-β-Ala-KC18 (рис. 17). В DUPA-β-Ala-KC18 (18), DUPA (18a) действует как нацеленный на PSMA (простатоспецифический мембранный антиген) фрагмент, а KC18 (18c) действует как фрагмент для хелатирования галлия(III); β-Ala (18b) использовали в качестве линкера для разделения этих фрагментов. В результате проведенных исследований было выявлено, что DUPA-β-Ala-KC18 (18) может быстро образовывать стабильный комплекс с  $^{68}Ga^{3+}$ , что подразумевает, что DUPA-β-Ala-KC18 (18) может быть эффективно помечен  $^{68}Ga$  [60].

Еще один перспективный класс лигандов для галлия представляют собой производные тиосемикарбазона, обладающие потенциально высокой противоопухолевой активностью. Было показано, что тиосемикарбазоны в комплексе с Ga(III) подавляют активность рибонуклеозиддифосфатредуктазы (RDR) и обладают антипролиферативными свойствами. Из-за сходства с железом(III) галлий(III) влияет на доступность внутриклеточного железа, но также напрямую взаимодействует с RDR, конкурируя с железом за его сайт связывания в субъединице R2 фермента. Комбинация центрального металла и лиганда, которые направлены на одну и ту же молекулярную мишень с использованием различных механизмов действия, может составлять стратегию для получения сильнодействующих ингибиторов RDR, в которых два структурных компонента проявляют синергический эффект [61].

Реакция 2-ацетилпиридин  $^4N$ -диметилтиосемикарбазона с  $GaCl_3$  приводит к образованию комплекса  $[GaL_2][GaCl_4]$  (KP1089) (рис. 18). Атом галлия в этом соединении координируется с двумя почти плоскими тридентатными лигандами. Координационный полиэдр приближается к октаэдру, где два лиганда связаны с атомом галлия через атом азота пиридинового кольца, атом азота и атом серы тиосемикарбазида [62]. Комплекс исследовали на

цитотоксичность в отношении линий опухолевых клеток человека SW480 (аденома толстой кишки), SK-BR-3 (аденокарцинома молочной железы) и 41M (карцинома яичников) [62].

[GaL<sub>2</sub>][GaCl<sub>4</sub>] оказывал сильное антипролиферативное действие при наномолярных концентрациях в клетках 41M, SK-BR-3 и SW480, причем в отношении клеток 41M цитотоксичность комплекса была несколько выше, чем для свободного тиосемикарбазона. Аналогичные результаты были получены с клетками SK-BR-3 и SW480.

Алкилтиосемикарбазоны (**20a-d**) (рис. 19a), модифицированные в положении N4, и их комплексы с металлами также проявляют значительную противораковую активность. При модификации метильной, фенильной и пиридилной групп в положении R<sub>1</sub> α-N-гетероциклических пиперидилтиосемикарбазонов активность последовательно увеличивается. Для α-N-гетероциклических пиперидилтиосемикарбазонов (**21a-c**) (рис. 19, b) наблюдается

снижение активности при модификации заместителя R<sub>2</sub> в ряду H→метил→этил в положении пиразинового фрагмента.

Важно также отметить, что α-N-гетероциклические пиперидилтиосемикарбазоны (**21a-c**) и их комплексы с галлием проявляют низкую токсичность (IC<sub>50</sub> > 30 мкм) для нормальных клеток (MRC-5).

Результаты исследования клеточного поглощения галлия, проведенного на клеточной линии MCF-7, показали, что комплексы тиосемикарбазоновых лигандов с галлием легко усваиваются клетками и обладают, таким образом, потенциально высокой биодоступностью. Относительно механизма противораковой активности было установлено, что эти комплексы обладают способностью повышать экспрессию рецептора трансферрина-1 (TfR1) и, в тоже время, подавлять экспрессию ферритина, что приводит, с одной стороны, к увеличению внутриклеточной концентрации железа, с другой – снижению возможности

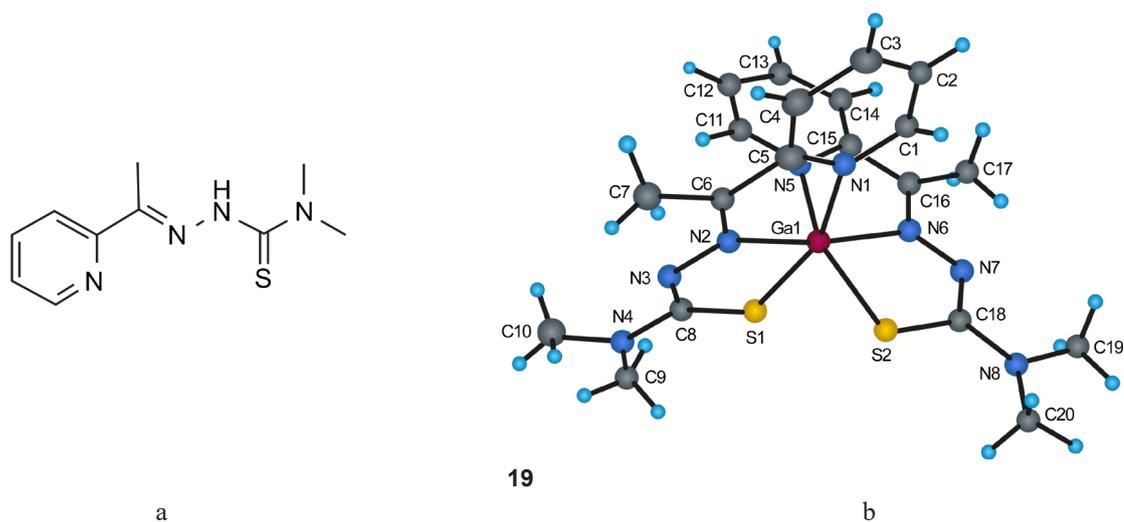


Рис. 18. (a) Структура 2-ацетилпиридин <sup>4</sup>N-диметилтиосемикарбазона (**19**), (b) кристаллическая структура [GaL<sub>2</sub>][GaCl<sub>4</sub>] [62].

Fig. 18. (a) 2-acetylpyridine <sup>4</sup>N-dimethylthiosemicarbazone (**19**) structure, (b) crystal structure of [GaL<sub>2</sub>][GaCl<sub>4</sub>] [62].

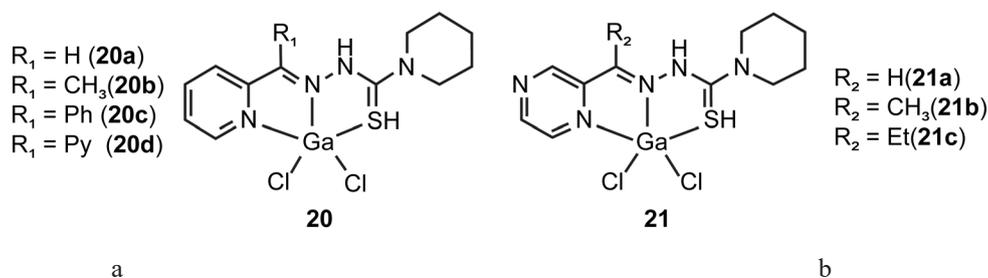


Рис. 19. (a) Структуры комплексов алкилтиосемикарбазонов (**20**), (b) структуры комплексов пиперидилтиосемикарбазонов с хлоридом галлия (**21**).

Fig. 19. (a) Structures of complexes of alkylthiosemicarbazones (**20**), (b) structures of complexes of piperidylthiosemicarbazones with gallium chloride (**21**).

его депонирования и обуславливает токсические эффекты. Кроме того, комплексы тиосемикарбазоновых лигандов с галлием проявили довольно высокую способность активировать апоптоз посредством воздействия сразу на несколько белков, задействованных в механизме его внутриклеточной активации. Было показано, что и исходные тиосемикарбазоновые лиганды и, в большей степени, их комплексы с галлием способны увеличивать экспрессию каспаз-3, -7 и -9, наряду с увеличением экспрессии цитохрома с (сyt-c) и фактора активации апоптотической протеазы-1 (apaf-1), что в совокупности вызывает необратимый апоптоз клеток. Эти экспериментальные результаты указывают на большой потенциал в использовании комплексов Ga(III) с тиосемикарбазоновыми лигандами в качестве эффективных противораковых препаратов [63, 64].

2-Ацетилпиридин- и 2-пиридинформамидизоникотиноилгидразоны НАРІН (22) и НРАmІН (23)

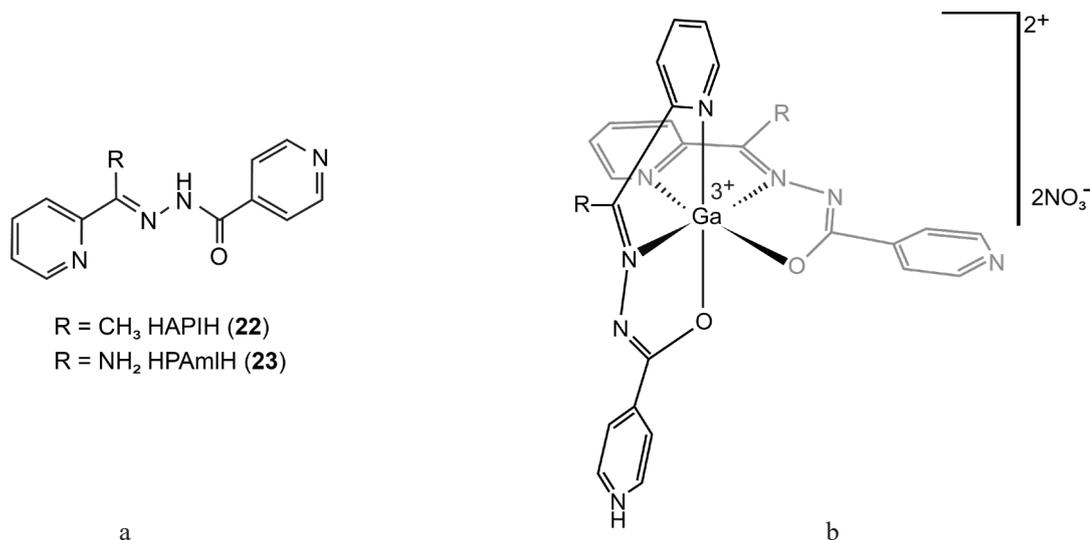


Рис. 20. (a) Структура НАРІН (22) и НРАmІН (23), (b) их комплексы с нитратом галлия [65].  
 Fig. 20. (a) Structure of НАРІН (22) and НРАmІН (23), (b) their complexes with gallium nitrate [65].

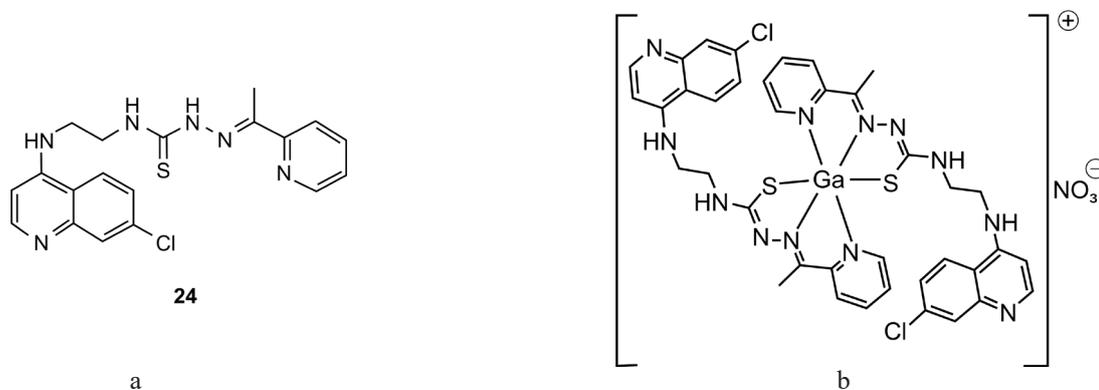


Рис. 21. (a) N-(2-((7-хлорхинолин-4-ил)амино)этил)-2-(1-(пиридин-2-ил)этилиден) гидразинкарботиоамид (24), (b) его комплекс с нитратом галлия.

Fig. 21. (a) N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(1-(pyridin-2-yl)ethylidene) hydrazinecarbothioamide (24), (b) its complex with gallium nitrate.

Кроме того, этот комплекс оказался в 31 раз более активным в отношении клеток НСТ-116 (карцинома), в четыре раза более эффективным для Сасо-2 (аденокарцинома) и в два с половиной раза более эффективным для НТ-29 (аденокарцинома) по сравнению с этопозидом через 72 ч. Комплекс оказался нецитотоксичным по сравнению с клеточной линией доброкачественных фибробластов толстой кишки (ССD-18Сo), показывающей  $IC_{50} = 11.81 \pm 1.42$  мМ через 72 ч [66].

В одном из последних исследований, посвященных БФХ к галлию, метастатические очаги рака простаты были успешно визуализированы с помощью  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-P15-041}$  (25) (рис. 22), при этом поглощение в очагах поражения постоянно превышало фоновое.

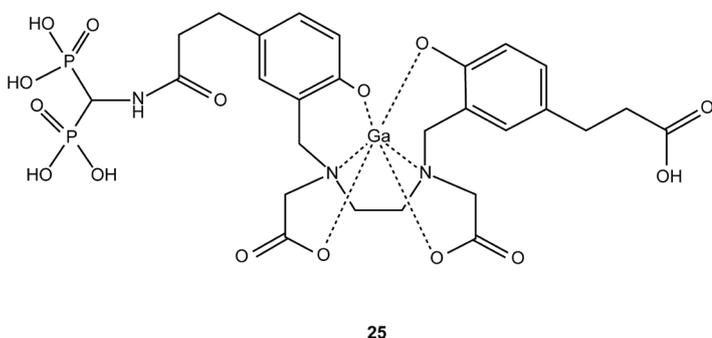


Рис. 22. Химическая структура метиленового дифосфоната  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-P15-041}$  (25).

Fig. 22. Chemical structure of methylene diphosphonate  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-P15-041}$  (25).

Динамический анализ изображений поглощения  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-P15-041}$  свидетельствует об улучшении сигнала относительно постоянного фона с течением времени для опухолей с самым высоким поглощением, но анализ соотношения сигнал/шум показывает, что оптимальным является визуализация в период от 60 до 90 мин после инъекции. Динамический и дозиметрический анализы показывают, что визуализация костных метастазов предстательной железы у людей с помощью  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-P15-041}$ -ПЭТ-сканирования возможна, но необходимы дальнейшие исследования для уточнения первичных результатов [67].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, можно сказать, что за последние десятилетия был достигнут огромный прогресс в разработке радиофармпрепаратов на основе металлов для ПЭТ, что позволяет использовать их

при раннем обнаружении заболеваний. Также был достигнут значительный прогресс в разработке бифункциональных хелаторов для  $^{68}\text{Ga}$ , которые надежно связывают соответствующий металлический центр *in vivo*. Однако новые БФХ следует разрабатывать с осторожностью, поскольку повышенная жесткость может снизить кинетику мечения, так что для достижения достаточных выходов мечения требуются повышенные температуры и увеличенное время реакции. Помимо макроциклических БФХ, стабильные *in vivo* комплексы  $^{68}\text{Ga}$  также образуются и с ациклическими хелаторами, преимущество которых заключается в более быстрой кинетике мечения, что является ключевым фактором, учитывающим короткий период полураспада  $^{68}\text{Ga}$ . Несмотря на достигнутые успехи, по-прежнему остается важной проблема корреляции химической структуры радиофармпрепаратов на основе металлов с их поведением *in vivo*. В этом отношении сравнительные исследования препаратов, имеющих идентичный вектор нацеливания, но включающих разные БФХ, могут помочь в дальнейшем выявлении влияния металл-хелатного фрагмента на фармакокинетику. В то же время выбор хелатирующего фрагмента БФХ зависит от природы и степени окисления радиометалла. В литературе существует множество примеров, показывающих, что природа металлического комплекса БФХ (геометрия, липофильность, общий заряд) играет ключевую роль в определении биораспределения целевых радиофармацевтических препаратов.

Сегодня основной целью при разработке радиофармпрепаратов на основе металлов является выбор эффективных бифункциональных хелатирующих агентов, система которых образует радио-металлический хелат с высокой термодинамической стабильностью и кинетической инертностью для сохранения метки на векторе нацеливания. Важна не только минимизация накопления радиометалла в нецелевых тканях для оптимизации контраста изображения, но и минимизация лучевой нагрузки на пациентов, что особенно важно для радиотерапевтических применений.

Эффективное и количественное радиоактивное мечение, позволяющее готовить радиофармацевтические препараты без необходимости дополнительной очистки, также упрощает внедрение новых индикаторов в клиническую практику.

Другим важным шагом для клинической трансляции является выбор БФХ для регулировки полярности и заряда всего конъюгата в качестве средства оптимизации пути клиренса и фармакокинетики. Например, клиренс радиофармпрепарата с кровью должен быть достаточно продолжительным, чтобы обеспечить оптимальную доставку в целевой участок, но также достаточно коротким, чтобы избежать ненужного радиационного

воздействия. Таким образом, для создания БФХ с высокой стабильностью, эффективной кинетикой радиоактивного мечения и благоприятной фармакокинетикой необходимо глубокое понимание координационной химии интересующего радиометалла.

### Благодарности

Представленная работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания (проект FSSM-2020-0004) «Разработка основ получения и изучение взаимодействия с организмом новых мультифункциональных наноразмерных макромолекулярных систем адресной доставки лекарственных веществ, диагностических и радиофармпрепаратов для борьбы с основными социально значимыми заболеваниями, в том числе методами тераностики».

### Acknowledgments

The presented work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state task (project FSSM-2020-0004) "Development of the basics for obtaining and studying the interaction with the body of new multifunctional nanosized macromolecular systems for the targeted delivery of drugs, diagnostics and radiopharmaceuticals to combat the main socially significant diseases, including theranostics."

### Вклад авторов

**А.Г. Поливанова** – обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи, научное редактирование;

**И.Н. Соловьёва** – обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи, анализ и систематизация материала;

**Д.О. Ботев** – обзор публикаций по теме статьи, написание текста, техническое редактирование;

**Д.Ю. Юрьев** – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование, оформление библиографии;

**А.Н. Мыльникова** – обзор публикаций по теме статьи, написание текста;

**М.С. Ощепков** – научное редактирование, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

### Authors' contributions

**A.G. Polivanova** – review of publications on the topic of the article, writing the text of the article, scientific editing;

**I.N. Solovieva** – review of publications on the topic of the article, writing the text of the article, analysis and systematization of the material;

**D.O. Botev** – review of publications on the topic of the article, writing the text, technical editing;

**D.Y. Yuriev** – review of publications on the topic of the article, technical editing, bibliography design;

**A.N. Mylnikova** – review of publications on the topic of the article, writing the text;

**M.S. Oshchepkov** – scientific editing, critical revision with valuable intellectual content.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Bartholomä M. Recent developments in the design of bifunctional chelators for metal-based radiopharmaceuticals used in Positron Emission Tomography. *Inorganica Chim. Acta.* 2012;389:36–51. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.01.061>
2. Clarke E.T., Martell A.E. Stabilities of trivalent metal ion complexes of the tetraacetate derivatives of 12-, 13- and 14-membered tetraazamacrocycles. *Inorganica Chim. Acta.* 1991;190(1):37–46. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)80229-7](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)80229-7)
3. Clarke E.T., Martell A.E. Stabilities of the Fe(III), Ga(III) and In(III) chelates of *N,N',N''*-triazacyclononatriacetic acid. *Inorganica Chim. Acta.* 1991;181(2):273–280. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)86821-8](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)86821-8)
4. Velikyan I., Beyer G.J., Bergstrom-Pettermann E. The importance of high specific radioactivity in the performance of <sup>68</sup>Ga-labeled peptide. *Nucl. Med. Biol.* 2008;35(5):529–536. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2008.03.002>

5. Riss P.J., et al. NODAPA-OH and NODAPA-(NCS)<sub>n</sub>: Synthesis, <sup>68</sup>Ga-radiolabelling and *in vitro* characterisation of novel versatile bifunctional chelators for molecular imaging. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008;18(2):5364–5367. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.09.054>

6. Notni J., Hermann P., Havlíčková J., et al. A Triazacyclononane-Based Bifunctional Phosphinate Ligand for the Preparation of Multimeric <sup>68</sup>Ga Tracers for Positron Emission Tomography. *Chem. Eur. J.* 2010;16(24):7174–7185. <https://doi.org/10.1002/chem.200903281>

7. Simeček J., et al. A monoreactive bifunctional triazacyclononane phosphinate chelator with high selectivity for gallium-68. *ChemMedChem.* 2012;8(7):1375–1378. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201200261>

8. Prata M.I.M., et al. Gallium(III) chelates of mixed phosphonate-carboxylate triazamacrocyclic ligands relevant to nuclear medicine: Structural, stability and *in vivo* studies. *J. Inorg. Biochem.* 2017;177:8–16. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.08.015>

9. Yang C.-T., Sreerama S.G., Hsieh W.-Y. Synthesis and Characterization of a Novel Macrocyclic Chelator with 3-Hydroxy-4-Pyrone Chelating Arms and Its Complexes with Medicinally Important Metals. *Inorg. Chem.* 2008;47(7):2719–2727. <https://doi.org/10.1021/ic7022506>
10. Seemann J., Waldron B.P., Roesch F. Approaching ‘Kit-Type’ Labelling with  $^{68}\text{Ga}$ : The DATA Chelators. *ChemMedChem.* 2015;10(6):1019–1026. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201500092>
11. Ma M.T., Neels O.C., Denoyer D., Roselt P., *et al.* Gallium-68 Complex of a Macrobicyclic Cage Amine Chelator Tethered to Two Integrin-Targeting Peptides for Diagnostic Tumor Imaging. *Bioconjugate Chem.* 2011;22(10):2093–2103. <https://doi.org/10.1021/bc200319q>
12. Boros E., *et al.* Acyclic chelate with ideal properties for  $^{68}\text{Ga}$  PET imaging agent elaboration. *J. Am. Chem. Soc.* 2010;132(44):15726–15733. <https://doi.org/10.1021/ja106399h>
13. Sun Y., *et al.* Indium(III) and gallium(III) complexes of bis(aminoethanethiol) ligands with different denticities: stabilities, molecular modeling, and *in vivo* behavior. *J. Med. Chem.* 1996;39(2):458–470. <https://doi.org/10.1021/jm9505977>
14. Eder M., Krivoshein A.V., Backer M., Backer J.M. ScVEGF-PEG-HBED-CC and scVEGF-PEG-NOTA conjugates: comparison of easy-to-label recombinant proteins for [ $^{68}\text{Ga}$ ]PET imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature. *Nucl. Med. Biol.* 2010;37(4):405–412. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.02.001>
15. Liolios C., *et al.* Synthesis, characterization and evaluation of  $^{68}\text{Ga}$  labelled monomeric and dimeric quinazoline derivatives of the HBED-CC chelator targeting the epidermal growth factor receptor. *Bioorg. Chem.* 2020;100:103855. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103855>
16. Timerbaev A.R. Advances in developing tris(8-quinolinolato)gallium(III) as an anticancer drug: critical appraisal and prospects. *Metallomics.* 2009;1(3):193–198. <https://doi.org/10.1039/b902861g>
17. Enyedy É.A., Mészáros J.P., Spengler G., Hanif M. Comparative solution studies and cytotoxicity of gallium(III) and iron(III) complexes of 3-hydroxy-2(1H)-pyridinones. *Polyhedron.* 2019;172:141–147. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.04.010>
18. Berry D.J., Ma Y., Ballinger J.R., Tavaré R. Efficient bifunctional gallium-68 chelators for positron emission tomography: tris(hydroxypyridinone) ligands. *ChemComm.* 2011;47(25):7068. <https://doi.org/10.1039/C1CC12123E>
19. Chaves S., Marques S.M., Matos A.M.F., Nunes A. New Tris(hydroxypyridinones) as Iron and Aluminium Sequestering Agents: Synthesis, Complexation and *in Vivo* Studies. *Chem. Eur. J.* 2011;16(34):10535–10545. <https://doi.org/10.1002/chem.201001335>
20. Mathias C.J., Lewis M.R., Reichert D.E., Laforest R., *et al.* Preparation of  $^{66}\text{Ga}$ - and  $^{68}\text{Ga}$ -labeled Ga(III)-deferoxamine-folate as potential folate-receptor-targeted PET radiopharmaceuticals. *Nucl. Med. Biol.* 2003;30(7):725–731. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(03\)00080-5](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(03)00080-5)
21. Vosjan M.J.W.D., Perk L.R., Roovers R.C., Visser G.W.M., *et al.* Facile labelling of an anti-epidermal growth factor receptor Nanobody with  $^{68}\text{Ga}$  via a novel bifunctional desferal chelate for immuno-PET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2011;38(4):753–763. <https://doi.org/10.1007/s00259-010-1700-1>
22. Fani M., *et al.* PET of somatostatin receptor-positive tumors using  $^{64}\text{Cu}$ - and  $^{68}\text{Ga}$ -somatostatin antagonists: the chelate makes the difference. *J. Nucl. Med.* 2011;52(7):1110–1118. <https://doi.org/10.2967/jnumed.111.087999>
23. Martell A.E., Motekaitis R.J., Clarke E.T., Delgado R., *et al.* Stability constants of metal complexes of macrocyclic ligands with pendant donor groups. *Supramol. Chem.* 1996;6(3–4):353–363. <https://doi.org/10.1080/10610279608032555>
24. Ma R., Welch M.J., Reibenspies J. Stability of metal ion complexes of 1,4,7-tris(2-mercaptoethyl)-1,4,7-triazacyclonane (TACN-TM) and molecular structure of  $\text{In}(\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{S}_3)$ . *Inorg. Chim. Acta.* 1995;236(1–2):75–82. [https://doi.org/10.1016/0020-1693\(95\)04617-1](https://doi.org/10.1016/0020-1693(95)04617-1)
25. Craig A.S., Parker D., Adams H. Stability,  $^{71}\text{Ga}$  NMR, and crystal structure of a neutral gallium(III) complex of 1,4,7-triazacyclononatriacetate: a potential radiopharmaceutical? *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1989;(23):1793–1794. <https://doi.org/10.1039/C39890001793>
26. Broan C.J., Cox J.P.L., Craig A.S., Katakly R., *et al.* Structure and solution stability of indium and gallium complexes of 1,4,7-triazacyclononatriacetate and of yttrium complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecanetriacetate and related ligands: kinetically stable complexes for use in imaging and radioimmunotherapy. X-Ray molecular structure of the indium and gallium complexes of 1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.2.* 1991;2(1):87–99. <https://doi.org/10.1039/P29910000087>
27. Kruper W.J., Rudolf P.R., Langhoff C.A. Unexpected selectivity in the alkylation of polyazamacrocycles. *J. Org. Chem.* 1993;58(15):3869–3876. <https://doi.org/10.1021/jo00067a018>
28. Chappell L.L., Rogers B.E., Khazaeli M.B., Mayo M.S. Improved synthesis of the bifunctional chelating agent 1,4,7,10-tetraaza-*N*-(1-carboxy-3-(4-nitrophenyl)propyl)-*N'*, *N''*, *N'''*-tris(acetic acid)cyclododecane (PA-DOTA). *Bioorg. Med. Chem.* 1999;7(11):2313–2320. [https://doi.org/10.1016/s0968-0896\(99\)00171-6](https://doi.org/10.1016/s0968-0896(99)00171-6)
29. Prata M.I.M., Santos A.C., Geraldes C.F.G.C. Characterisation of  $^{67}\text{Ga}^{3+}$  complexes of triaza macrocyclic ligands: biodistribution and clearance studies. *Nucl. Med. Biol.* 1999;26(6):707–710. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(99\)00041-4](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(99)00041-4)
30. Heppeler A., Froidevaux S., Mäcke H.R., Jermann E., *et al.* Radiometal-Labelled Macrocyclic Chelator-Derivatised Somatostatin Analogue with Superb Tumour-Targeting Properties and Potential for Receptor-Mediated Internal Radiotherapy. *Chem. Eur. J.* 1999;5(7):1974–1981. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3765\(19990702\)5:7%3C1974::AID-CHEM1974%3E3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3765(19990702)5:7%3C1974::AID-CHEM1974%3E3.0.CO;2-X)
31. Viola N.A., Rarig R.S., Ouellette W., Doyle R.P. Synthesis, structure and thermal analysis of the gallium complex of 1,4,7,10-tetraazacyclo-dodecane-*N,N',N'',N'''*-tetraacetic acid (DOTA). *Polyhedron.* 2006;25(18):3457–3462. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2006.06.039>
32. Velikyan I., Beyer G.J., Långström B. Microwave-Supported Preparation of  $^{68}\text{Ga}$  Bioconjugates with High Specific Radioactivity. *Bioconjugate Chem.* 2004;15(3):554–560. <https://doi.org/10.1021/bc030078f>
33. Decristoforo C., Hernandez Gonzalez I., Carlsen J., Rupprich M., *et al.*  $^{68}\text{Ga}$ - and  $^{111}\text{In}$ -labelled DOTA-RGD peptides for imaging of  $\alpha\text{v}\beta 3$  integrin expression. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008;35(8):1507–1515. <https://doi.org/10.1007/s00259-008-0757-6>
34. Griffiths G.L., *et al.* Reagents and methods for PET using bispecific antibody pretargeting and  $^{68}\text{Ga}$ -radiolabeled bivalent hapten-peptide-chelate conjugates. *J. Nucl. Med.* 2004;45(1):30–39.
35. Sneddon D., Cornelissen B. Emerging chelators for nuclear imaging. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2021;63:152–162. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.03.001>

36. Al-Nahhas A., *et al.* Gallium-68 PET: a new frontier in receptor cancer imaging. *Anticancer Res.* 2007;27(6B):4087–4094.
37. AL-Nahhas A., Win Z., Szyszko T., Singh A. What can gallium-68 PET add to receptor and molecular imaging? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007;34(12):1897–1901. <https://doi.org/10.1007/s00259-007-0568-1>
38. Velikyan I., Maecke H., Langstrom B. Convenient preparation of <sup>68</sup>Ga-based PET-radiopharmaceuticals at room temperature. *Bioconjugate Chem.* 2008;19(2):569–573. <https://doi.org/10.1021/bc700341x>
39. André J. P., Maecke H. R., Zehnder M., Macko L. 1,4,7-Triazacyclononane-1-succinic acid-4,7-diacetic acid (NODASA): a new bifunctional chelator for radio gallium-labelling of biomolecules. *Chem. Commun.* 1998;(12):1301–1302. <https://doi.org/10.1039/A801294F>
40. André J.P., Mäcke H., Kaspar A., Künnecke B. *In vivo* and *in vitro* 27Al NMR studies of aluminum(III) chelates of triazacyclononane polycarboxylate ligands. *J. Inorg. Biochem.* 2002;88(1):1–6. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(01\)00340-3](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(01)00340-3)
41. Eisenwiener K.-P., *et al.* NODAGATOC, a new chelator-coupled somatostatin analogue labeled with [<sup>67/68</sup>Ga] and [<sup>111</sup>In] for SPECT, PET, and targeted therapeutic applications of somatostatin receptor (hsst2) expressing tumors. *Bioconjugate Chem.* 2002;13(3):530–541. <https://doi.org/10.1021/bc010074f>
42. Jeong J.M., *et al.* Preparation of a promising angiogenesis PET imaging agent: <sup>68</sup>Ga-labeled c(RGDyK)-isothiocyanatobenzyl-1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid and feasibility studies in mice. *J. Nucl. Med.* 2008;49(5):830–836. <https://doi.org/10.2967/jnumed.107.047423>
43. Waldron B.P., Parker D., Burchardt C., Yufit D.S. Structure and stability of hexadentate complexes of ligands based on AAZTA for efficient PET labelling with gallium-68. *Chem. Commun.* 2017;49(6):579–581. <https://doi.org/10.1039/C2CC37544C>
44. Parker D., Waldron B.P. Conformational analysis and synthetic approaches to polydentate perhydro-diazepine ligands for the complexation of gallium(III). *Org. Biomol. Chem.* 2013;11(17):2827. <https://doi.org/10.1039/C3OB40287H>
45. Costa J., Delgado R. Metal complexes of macrocyclic ligands containing pyridine. *Inorg. Chem.* 1993;32(23):5257–5265. <https://doi.org/10.1021/ic00075a052>
46. Ferreira C.L., Lamsa E., Woods M., Duan Y. Evaluation of Bifunctional Chelates for the Development of Gallium-Based Radiopharmaceuticals. *Bioconjugate Chem.* 2010;21(3):531–536. <https://doi.org/10.1021/bc900443a>
47. Liu S., Edwards D.S. Bifunctional chelators for therapeutic lanthanide radiopharmaceuticals. *Bioconjugate Chem.* 2001;12(1):7–34. <https://doi.org/10.1021/bc000070v>
48. Moreau J., Guillon E., Pierrard J.-C., Rimbault J. Complexing Mechanism of the Lanthanide Cations Eu<sup>3+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, and Tb<sup>3+</sup> with 1,4,7,10-Tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane (dota)—Characterization of Three Successive Complexing Phases: Study of the Thermodynamic and Structural Properties of the Complexes by Potentiometry, Luminescence Spectroscopy, and EXAFS. *Chem. Eur. J.* 2004;10(20):5218–5232. <https://doi.org/10.1002/chem.200400006>
49. Eder M., *et al.* Tetrafluorophenolate of HBED-CC: a versatile conjugation agent for <sup>68</sup>Ga-labeled small recombinant antibodies. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008;35(10):1878–1886. <https://doi.org/10.1007/s00259-008-0816-z>
50. Collery P., Lechenault F., Cazabat A. Juvin E., *et al.* Inhibitory effects of gallium chloride and tris (8-quinolinolato) gallium(III) on A549 human malignant cell line. *Anticancer Res.* 2000;20(2A):955–8.
51. Lessa J.A., Parrilha G.L., Beraldo H. Gallium complexes as new promising metaldrug candidates. *Inorg. Chim. Acta.* 2012;393:53–63. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.06.003>
52. Litecká M., Hreusová M., Kašpárková J., Gyepes R., *et al.* Low-dimensional compounds containing bioactive ligands. Part XIV: High selective antiproliferative activity of tris(5-chloro-8-quinolinolato)gallium(III) complex against human cancer cell lines. *Bioorg. Med. Chem Lett.* 2020;30(13):127206. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127206>
53. Gómez-Ruiz S., Ceballos-Torres J., Prashar S., Fajardo M. One ligand different metal complexes: Biological studies of titanium(IV), tin(IV) and gallium(III) derivatives with the 2,6-dimethoxypyridine-3-carboxylate ligand. *J. Organometallic Chem.* 2011;696(20):3206–3213. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2011.06.036>
54. Chaves S., Marques S. M., Matos A. M. F., Nunes A., *et al.* New Tris(hydroxypyridinones) as Iron and Aluminium Sequestering Agents: Synthesis, Complexation and *in Vivo* Studies. *Chem. Eur. J.* 2010;16(34):10535–10545. <https://doi.org/10.1002/chem.201001335>
55. Chaves S., Mendonça A.C., Marques S.M., Prata M.I. A gallium complex with a new tripodal tris-hydroxypyridinone for potential nuclear diagnostic imaging: solution and *in vivo* studies of <sup>67</sup>Ga-labeled species. *J. Inorg. Biochem.* 2011;105(1):31–38. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.09.012>
56. Smith-Jones P. M., Stolz B., Bruns C., *et al.* Gallium-67/gallium-68-[DFO]-octreotide—a potential radiopharmaceutical for PET imaging of somatostatin receptor-positive tumors: synthesis and radiolabeling *in vitro* and preliminary *in vivo* studies. *J. Nucl. Med.* 1994;35(2):317–325.
57. Mathias C.J., *et al.* Receptor-mediated targeting of <sup>67</sup>Ga-deferoxamine-folate to folate-receptor-positive human KB tumor xenografts. *Nucl. Med. Biol.* 1999;26(1):23–25. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(98\)00076-6](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(98)00076-6)
58. Thomas W. Price, *et al.* Evaluation of a bispidine-based chelator for gallium-68 and of the porphyrin conjugate as PET/PDT theranostic agent. *Chem. Eur. J.* 2020;26(34):7602–7608. <https://doi.org/10.1002/chem.201905776>
59. Imberti C., *et al.* Manipulating the *in Vivo* Behaviour of <sup>68</sup>Ga with Tris(Hydroxypyridinone) Chelators: Pretargeting and Blood Clearance. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(4):1496. <https://doi.org/10.3390/ijms21041496>
60. Zhou X., *et al.* Design and synthesis of a new conjugate of a tris(3-hydroxy-4-pyridinone) chelator (KC18) for potential use as gallium-68-labeled prostate-specific membrane antigen (PSMA) radiopharmaceutical. *Results in Chemistry.* 2021;3:100240. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2021.100240>
61. Kowol C.R., Berger R., Eichinger R., Roller A., *et al.* Gallium(III) and Iron(III) Complexes of  $\alpha$ -N-Heterocyclic Thiosemicarbazones: Synthesis, Characterization, Cytotoxicity, and Interaction with Ribonucleotide Reductase. *J. Med. Chem.* 2007;50(6):1254–1265. <https://doi.org/10.1021/jm0612618>
62. Arion V.B., *et al.* Synthesis, structure, spectroscopic and *in vitro* antitumour studies of a novel gallium(III) complex with 2-acetylpyridine (4)-N-dimethylthiosemicarbazone. *J. Inorg. Biochem.* 2002;91(1):298–305. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(02\)00419-1](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(02)00419-1)

63. Qi J., Yao Q., Qian K., Tian L., *et al.* Gallium(III) complexes of  $\alpha$ -N-heterocyclic piperidylthiosemicarbazones: Synthesis, structure-activity relationship, cellular uptake and activation of caspases-3/7/9. *J. Inorg. Biochem.* 2018;186:42–50. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.05.005>

64. Qi J., *et al.* Synthesis, antiproliferative activity and mechanism of gallium(III)-thiosemicarbazone complexes as potential anti-breast cancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2018;154:91–100. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.016>

65. Firmino G. dos S.S., André S.C., Hastenreiter Z., Campos V.K., *et al.* *In vitro* assessment of the cytotoxicity of Gallium(III) complexes with Isoniazid-Derived Hydrazones: Effects on clonogenic survival of HCT-116 cells. *Inorganica Chim. Acta.* 2019;497:119079. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119079>

66. Kumar K., *et al.* Highly potent anti-proliferative effects of a gallium(III) complex with 7-chloroquinoline thiosemicarbazone as a ligand: synthesis, cytotoxic and antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 2014;86:81–86. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.054>

67. Doot R.K., Young A.J., Daube-Witherspoon M.E., Alexoff D., Labban K.J., Lee H., Wu Z., Zha Z., Choi S.R., Ploessl K.H. Biodistribution, dosimetry, and temporal signal-to-noise ratio analyses of normal and cancer uptake of [<sup>68</sup>Ga] Ga-P15-041, a gallium-68 labeled bisphosphonate, from first-in-human studies. *Nucl. Med. Biol.* 2020;86:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2020.04.002>

#### Об авторах:

**Поливанова Анна Геннадьевна**, к.х.н., доцент кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: zagchem@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4502-0745>

**Соловьёва Инна Николаевна**, к.х.н., доцент кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: solandsol@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-0079-6710>

**Ботев Дмитрий Олегович**, магистрант, кафедра химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: botev.dm@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4954-6779>

**Юрьев Данил Юрьевич**, магистрант, ведущий инженер, кафедра химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: DanilYuriev35@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5906-4020>

**Мильникова Алёна Николаевна**, ведущий инженер, ассистент, кафедра химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: pobeg\_is\_raya@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8297-8322>

**Ощепков Максим Сергеевич**, д.х.н., заведующий кафедрой химии и технологии биомедицинских препаратов Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (125047, Россия, Москва, Миусская площадь, д. 9). E-mail: maxim.os@mail.ru. Scopus Author ID 50262866400, ResearcherID AAA-6443-2022, <https://orcid.org/0000-0002-2892-4884>

#### About the authors:

**Anna G. Polivanova**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: zagchem@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4502-0745>

**Inna N. Solovieva**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: solandsol@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-0079-6710>

**Dmitrii O. Botev**, Master Student, Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: botev.dm@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-4954-6779>

**Danil Yu. Yuriev**, Master Student, Leading Engineer, Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: DanilYuriev35@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5906-4020>

**Alyona N. Mylnikova**, Leading Engineer, Assistant, Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: pobeg\_is\_raya@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8297-8322>

**Maxim S. Oshchepkov**, Dr. Sci. (Chem.), Head of the Department of Chemistry and Technology of Biomedical Preparations, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (9, Miusskaya pl., Moscow, 125047, Russia). E-mail: maxim.os@mail.ru. Scopus Author ID 50262866400, ResearcherID AAA-6443-2022, <https://orcid.org/0000-0002-2892-4884>

*Поступила: 22.03.2022; получена после доработки: 18.04.2022; принята к опубликованию: 22.04.2022.  
The article was submitted: March 22, 2022; approved after reviewing: April 18, 2022; accepted for publication: April 22, 2022.*