

# Agentes quelantes bifuncionales utilizados en la síntesis de radiofármacos

## Bifunctional chelating agents used in the synthesis of radiopharmaceuticals

Elisa Leyva Ramos,<sup>1</sup> Socorro Leyva Ramos,<sup>1</sup> Carlos Jesús Cortés García<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas,  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidad de Guanajuato

---

### Resumen

Los radiofármacos son compuestos orgánicos que contienen átomos de elementos radiactivos. Se han diseñado para utilizarse en diagnóstico o terapia, para liberar pequeñas dosis de radiación ionizante a ciertos tejidos u órganos en el cuerpo. En contraste con la quimioterapia convencional, los radiofármacos actúan contra células malignas con alta especificidad. Generalmente, los radiofármacos consisten en un agente quelante bifuncional, una molécula marcadora, un conector y un radionúclido.

En esta revisión, se presentan los aspectos generales de radiofármacos de marcado específico así como los agentes quelantes bifuncionales más utilizados para la generación de estos medicamentos.

---

### Abstract

Radiopharmaceuticals are organic compounds containing atoms of some radioactive elements. They are designed for diagnostic or therapeutic purposes, to deliver small doses of ionizing radiation to certain tissues or organs in the body. Unlike classical chemotherapeutics, radiopharmaceuticals act against malignant cells with high specificity. These compounds contain a bifunctional chelating agent, a targeting molecule, a linker and a radionuclide. In this review, the general aspects of target specific radiopharmaceuticals are presented, as well as, the bifunctional chelating agents most studied in the development of these drugs.

---

**Palabras clave:** Radiofármacos, agentes quelantes bifuncionales, radionúclido.

**Key words:** Radiopharmaceuticals, bifunctional chelating agents, radionuclide.

---

### Correspondencia:

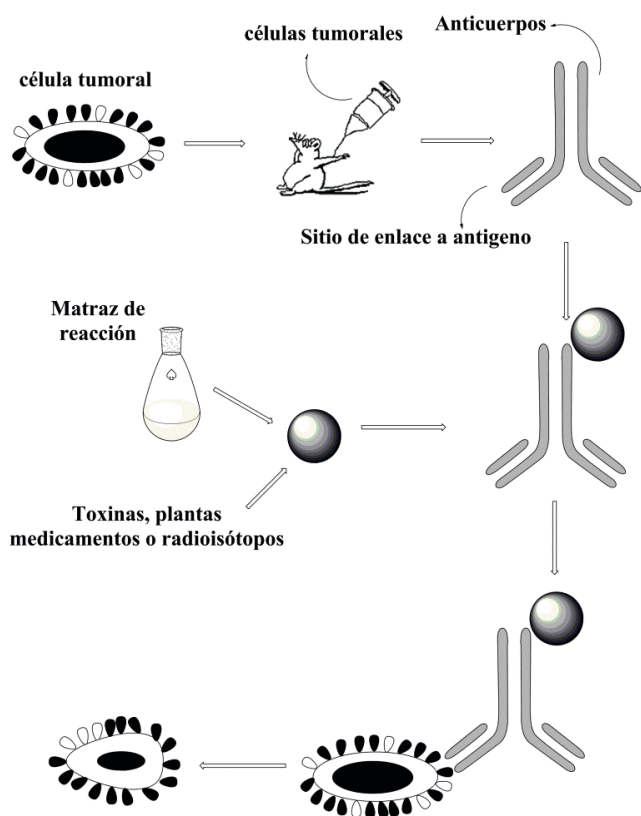
Dra. Socorro Leyva Ramos  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Facultad de Ciencias Químicas  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P.  
México, C.P. 78210  
Tel. (444)-826-2440 al 46 ext. 526  
Fax. (444)-826-2371 y (444)- 826-2372  
e-mail: sleyva@uaslp.mx

Fecha de recepción: 23 de mayo de 2012  
Fecha de recepción de modificaciones:  
20 de noviembre de 2012  
Fecha de aceptación: 15 de diciembre de 2012

## Introducción

### Radiofármacos

El proceso de marcado de fármacos comenzó desde 1908 con el Dr. Paul Ehrlich, quién propuso que los agentes quimioterapéuticos podrían unirse covalentemente a sustrato ligantes como anticuerpos, los cuales tienen afinidad y especificidad para marcar tejidos que presentan tumores malignos.<sup>1</sup> Por lo que varios investigadores han estado estudiando diferentes ligantes y agentes quimioterapéuticos para el desarrollo de bioconjugados (figura 1), dando inicio a la era de los radiofármacos con el uso de metales radiactivos (radionúclidos) y diferentes moléculas marcadoras como anticuerpos, péptidos, entre otros.



**Figura 1. Representación esquemática del desarrollo de un bioconjugado.**

Los radiofármacos son importantes por sus aplicaciones médicas en diagnóstico o terapia.<sup>2,3</sup> Un radiofármaco de diagnóstico es una molécula marcada con un isótopo de emisión que permite evaluar una enfermedad o eficacia de un tratamiento terapéutico específico.<sup>4-8</sup> Por otro lado, un radiofármaco terapéutico es una molécula diseñada para liberar dosis de radiación ionizante a sitios específicos.

Hay tres formas para suministrar esta radiación: irradiación externa, semillas radiactivas implantables o administración sistémica. Un radiofármaco de marcado específico generalmente contiene una molécula marcadora o biomolécula (BM), un conector, un radionúclido y un agente quelante bifuncional. Este último se conoce como BFCA por su nombre en inglés (bifunctional chelating agent). La molécula marcadora es el acarreador que lleva el radionúclido al sitio receptor del tejido enfermo.

Los radiofármacos más populares en la actualidad son los que contienen radionúclidos de tecnecio (<sup>99m</sup>Tc) y de renio (<sup>186,188</sup>Re), ya que presentan propiedades nucleares favorables para imagen y terapia en el tratamiento de diversas enfermedades, como cardiovasculares (<sup>99m</sup>Tc,  $\gamma$  140 Kev,  $t_{1/2}$ = 6 h; <sup>186</sup>Re,  $\beta$  1.07 Mev,  $t_{1/2}$ =90 h, <sup>188</sup>Re,  $\beta$  2.21 Mev,  $t_{1/2}$ =17 h). Existen artículos donde se reporta el empleo de varios radionúclidos (<sup>131</sup>I, <sup>67</sup>Ga, <sup>67</sup>Cu, <sup>212/213</sup>Bi)<sup>3,7,11-17</sup> y la síntesis de quelatos bifuncionales<sup>1-7,9,10,18-20</sup> que se utilizan para marcar diferentes receptores como anticuerpos, ácidos grasos,<sup>14</sup> péptidos,<sup>3,7,9-13,16,21-26</sup> esteroides,<sup>27-31</sup> adenovirus,<sup>32,33</sup> y fármacos como tamoxifeno.<sup>34</sup>

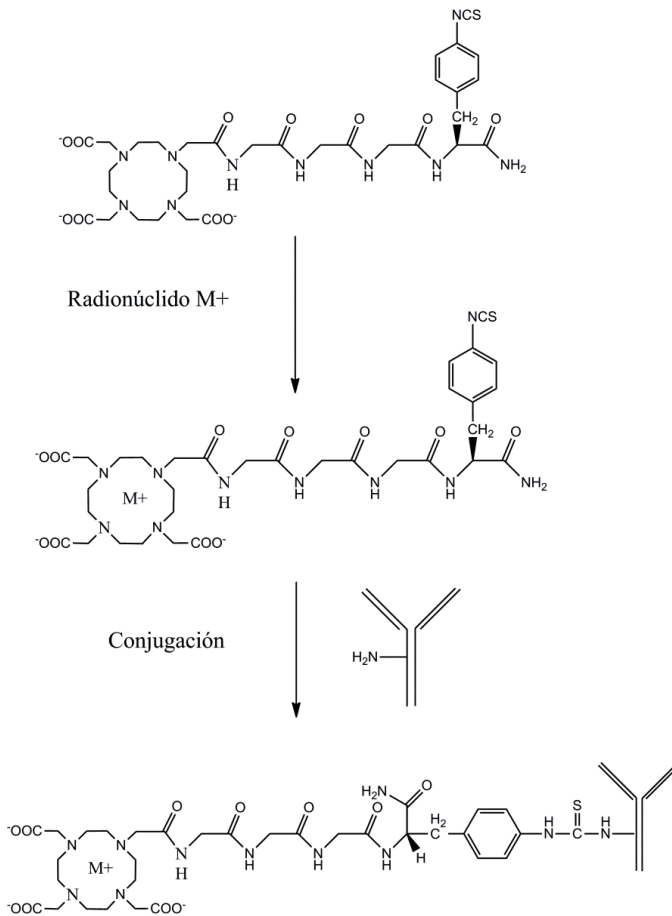
### Marcado de biomoléculas utilizando agentes quelantes bifuncionales

Un gran número de técnicas de radiomarcado han sido desarrolladas y extensamente revisadas.<sup>13,35-39</sup> En la técnica conocida como premarcado se emplea un agente quelante bifuncional que forma un complejo con el radionúclido y después se conjuga con la biomolécula marcadora.<sup>13</sup> En 1985 se utilizó por primera vez esta técnica para unir <sup>67</sup>Cu a un anticuerpo monoclonal.<sup>40</sup> Posteriormente, en 1994 se aplicó esta metodología en el marcado de un anticuerpo con <sup>90</sup>Y y <sup>111</sup>In (Figura 2).<sup>41</sup>

La técnica del postmarcado se basa en la conjugación del BFCA con la molécula marcadora (figura 3), seguido por el radiomarcado del bioconjugado con el radionúclido.<sup>3,42</sup> Este método es el más utilizado en el desarrollo de radiofármacos, ya que no hay pérdida en la actividad biológica de la biomolécula.

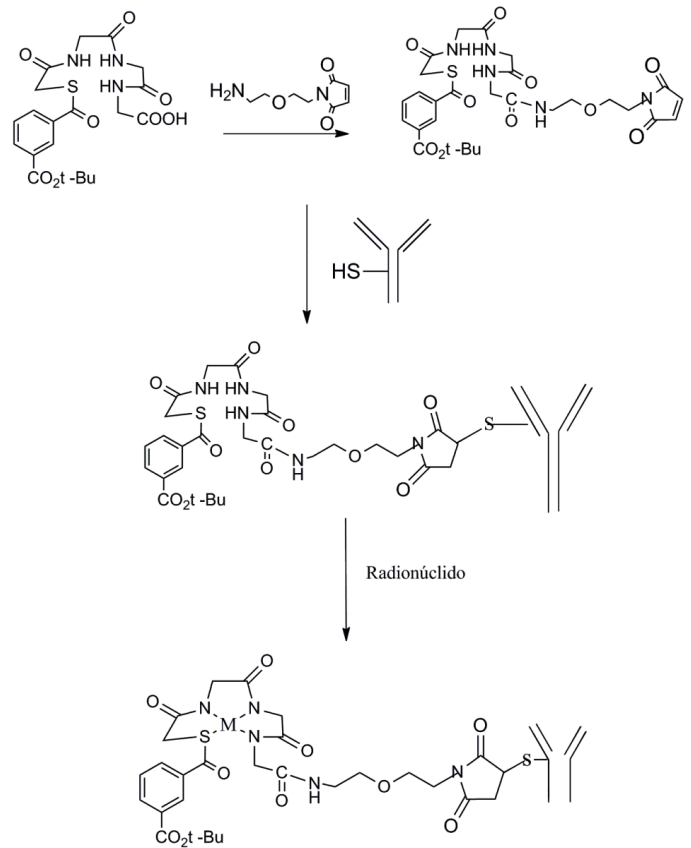
Un radiofármaco de diagnóstico requiere que la biomolécula radiomarcada presente una alta captación en el órgano a marcar con una relación señal-ruido diagnósticamente útil en un corto periodo de tiempo. Para lograr este objetivo, la biomolécula marcada debe poseer un tiempo corto de residencia en la sangre, para minimizar la exposición de tejidos sanos a radiactividad. El tiempo de retención en la sangre debe ser lo suficientemente prolongado para permitir que el bioconjugado se una al sitio receptor y logre una acumulación adecuada en el tejido a marcar, permitiendo conseguir imágenes diagnósticamente útiles.

Siendo necesario que el BFCA forme un complejo metálico con alta estabilidad termodinámica para evitar tener competencia con quelatos nativos como la transferrina.



**Figura 2. Técnica del premarcado utilizando un agente quelante bifuncional.**

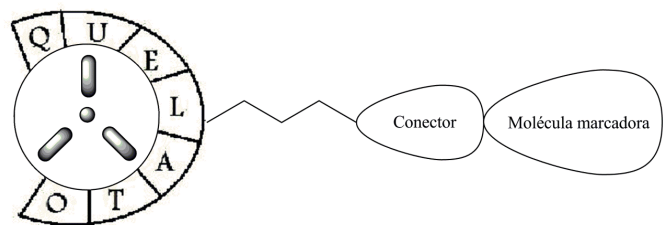
La elección de las características del quelato metálico de un BFCA también depende de la farmacocinética del radiofármaco.<sup>43-45</sup> Para anticuerpos marcados que frecuentemente tienen una vida media alta en el torrente sanguíneo y en el sitio del tumor, el quelato metálico tiene que presentar una alta estabilidad termodinámica y una cinética adecuada para soportar la competencia que existe con los iones metálicos y quelatos nativos en la circulación sanguínea, además de tolerar el metabolismo hepato-biliar. Sin embargo para pequeñas moléculas radiomarcadas, la vida media biológica en el torrente sanguíneo es normalmente más corta que para los anticuerpos marcados. El principal objetivo al elegir un BFCA es minimizar la disociación in vivo del radionúclido.<sup>35</sup>



**Figura 3. Representación general de la técnica del postmarcado.**

### Agentes quelantes bifuncionales (BFCAs)

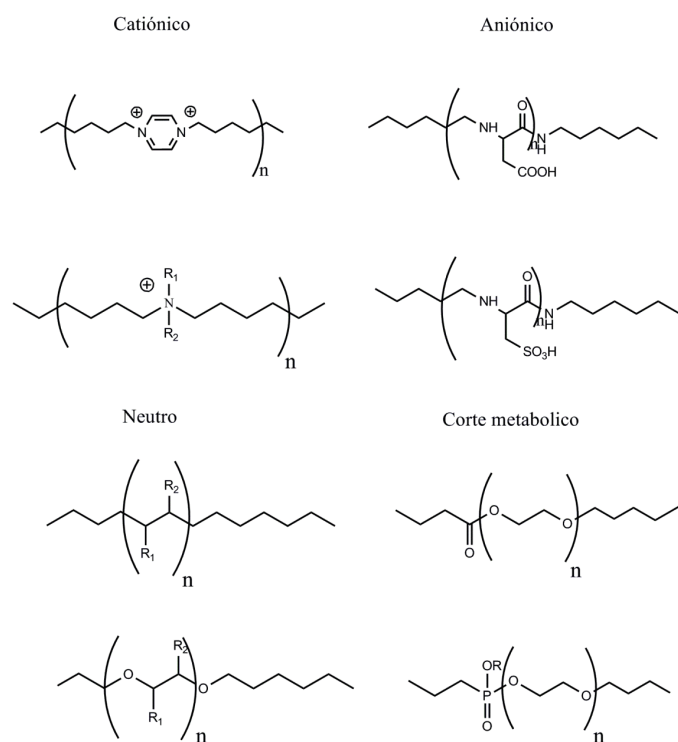
Los agentes quelantes bifuncionales han sido desarrollados para marcar biomoléculas, para el diagnóstico y terapia in vivo.<sup>41</sup> A estos se les considera, la parte más importante de un radiofármaco de marcado específico, ya que coordina al radionúclido y se encuentra unido covalentemente a la molécula marcadora directamente o a través de un conector. En la figura 4 se muestra una representación esquemática de un radiofármaco de marcado específico (Figura 4).<sup>35</sup>



**Figura 4. Representación esquemática de un radiofármaco de marcado específico.**

Las moléculas marcadoras son los acarreadores de los radionúclidos al sitio receptor en vivo y pueden ser macromoléculas como anticuerpos y sus fragmentos, o pequeñas moléculas orgánicas como péptidos entre otros.<sup>10,35,46</sup> La selección de un BFCA esta generalmente determinada por la naturaleza y estado de oxidación del ión metálico. El conector es frecuentemente usado para modificar las propiedades farmacocinéticas del radiofármaco y su biodistribución, alterando la carga neta, lipofilicidad e hidrofiliicidad.<sup>47</sup>

En la Figura 5<sup>35</sup> se muestran los diferentes conectores que existen (catiónicos, aniónicos, neutros o de corte metabólico). El conector puede ser una simple cadena alifática para incrementar la lipofilicidad, una secuencia de polipéptidos (como poliglicina, poliserina, o ácido poliaspártico) para incrementar la hidrofiliicidad y depuración renal, o un polietilenglicol para una lenta extracción de los hepatocitos y sales de amina que modifica la carga neta de estos medicamentos.



**Figura 5. Tipos de conectores utilizados para la elaboración de un radiofármaco.**

Los conectores metabolizables se han usado para los análogos de la somatostatina marcados con <sup>111</sup>In.<sup>48</sup> Un conector tetrapeptídico Gly-Gly-Gly-Leu-(*o*-NO<sub>2</sub>)-Ar-CONH<sub>2</sub> que ha sido cortado entre los residuos de Gly y Ar se ha usado para modificar las propiedades farmacocinéticas de anticuerpos

marcados con <sup>90</sup>Y. Dependiendo del radionúclido y del BFCA, los grupos conectores son capaces de un rápido metabolismo; por ejemplo la presencia de un éster o disulfuro, pueden incrementar la eliminación de los radiofármacos en la sangre por medio del sistema renal.

El uso de radionúclidos ofrece muchas oportunidades para diseñar nuevos radiofármacos modificando el ambiente de coordinación alrededor del metal con una variedad de agentes quelantes. La química de coordinación del radionúclido metálico determinará la geometría y la estabilidad en solución del quelato metálico. Cada radionúclido presenta una química de coordinación diferente y requiere un BFCA con diferentes átomos donadores y fragmentos ligandos.

La naturaleza del quelato metálico puede impactar significativamente en la biodistribución del radiofármaco y en su fijación al tumor, ya que modifica el tamaño global y el peso molecular del radiofármaco. Por lo tanto, el diseño y selección del BFCA es muy importante para el desarrollo de un agente terapéutico clínico útil

**Requerimientos básicos de un agente quelante bifuncional (BFCA)**

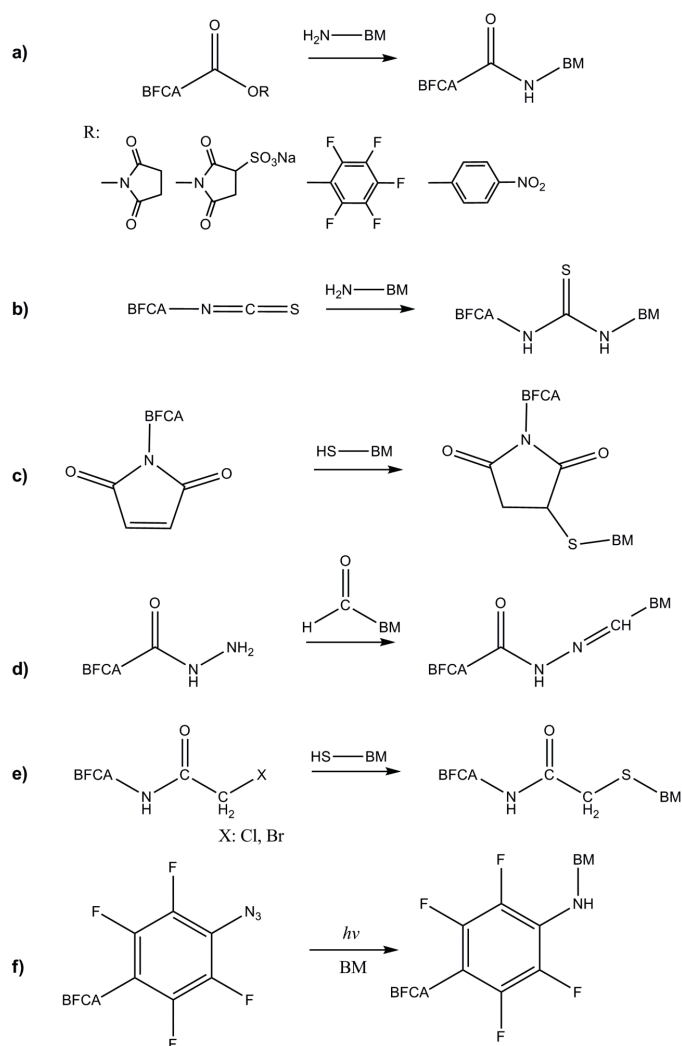
Hay varios requerimientos para considerar a un BFCA. La coordinación con el radionúclido debe ser fuerte y formar un complejo relativamente estable, que coincida con la naturaleza y estado de oxidación del radionúclido para evitar un cambio en su estado de oxidación.<sup>35</sup> También debe presentar tolerancia hacia la radiólisis, ya que una dosis alta de radiación β, puede producir radicales libres muy reactivos, los cuales ocasionan una descomposición considerable del quelato metálico durante la distribución del radioconjugado ocasionando que este sea altamente tóxico.

Por lo tanto, el BFCA debe de formar un complejo con una alta estabilidad termodinámica a pH neutro para mantener intacto el radionúclido bajo condiciones fisiológicas así como generar un quelato metálico con la menor cantidad de isómeros posibles.<sup>35,49,50</sup> Además, el BFCA debe tener una alta hidrofiliicidad que ayude a su eliminación en sangre y excreción renal.<sup>51</sup>

**Grupos de conjugación de un radiofármaco**

Los ésteres activos, isotiocianatos, maleimidias, hidrazidas, α-haloamidas y perfluoro aril azidas<sup>9</sup> son grupos funcionales que pueden estar presentes en un BFCA ya que ayudan a la unión covalente de este con la biomolécula (Figura 6). Los ésteres activos se usan para formar un enlace amida entre un ácido carboxílico de un BFCA y un grupo amino de la biomolécula, dentro de los que se encuentran *p*-nitrofenil, pentafluorofenil, *N*- hidroxisuccinimida y sulfo- *N*- hidroxisuccinimida.





**Figura 6. Conjugación de BFCAs-BM con a) ésteres activos, b) isotiocianatos, c) maleimidias, d) hidrazinas, e)  $\alpha$ -haloamidas, f) perfluoro aril azidas.**

El éster de *N*-hidroxisuccinimida es muy reactivo con una alta selectividad por aminas alifáticas.<sup>3,52-54</sup> La elección de un éster activo para ser usado en la formación del enlace BFCAs-biomolécula es parcialmente debida a su reactividad total, pero también a la fácil remoción de los subproductos. Por ejemplo, para un conjugado BFCAs-BM insoluble en agua, un éster succinimida es conveniente, ya que tanto la *N*-hidroxisuccinimida como la sulfo-*N*-hidroxisuccinimida son muy solubles en agua y fáciles de remover.<sup>53,54</sup> Pero para un conjugado BFCAs-BM soluble en agua, los ésteres de *p*-nitrofenil o pentafluorofenil, pueden ser inclusive una buena opción.<sup>9</sup>

Los isotiocianatos presentan una reactividad intermedia y forman enlaces tio-urea con aminas primarias de proteínas o péptidos. En general son más estables en agua que los ésteres de *N*-hidroxisuccinimida y reaccionan con aminas en solución acuosa a un pH óptimo entre 9-9.5. Por lo tanto, estos no son apropiados para la modificación de biomoléculas que son sensibles a condiciones alcalinas.

Las maleimidias reaccionan selectivamente con tioles y forman enlaces tio-éter sin ninguna competencia con la histidina u otros grupos reactivos. El pH óptimo para la reacción es cerca de 7, a pH más alto, pueden hidrolizarse formando ácidos maleimídicos no reactivos.<sup>45,55</sup>

Las hidrazidas son grupos de conjugación que reaccionan con el aldehído de la biomolécula para formar un conjugado de hidrazona-BM. Estas son apropiadas para biomoléculas que contienen en su estructura un grupo hidroxilo alifático (serina, treonina e hidroxilisina), el cual puede ser oxidado rápidamente con periodato a pH de 7 para generar un aldehído. Las hidrazonas formadas son estables en un pH entre 6 y 8 por 12 horas a 22°C.<sup>56</sup> Las  $\alpha$ -haloamidas son apropiadas para la conjugación con péptidos que contienen un grupo tiol libre. Los haluros (cloro, bromo) de acetilamida son los más usados.<sup>57,58</sup>

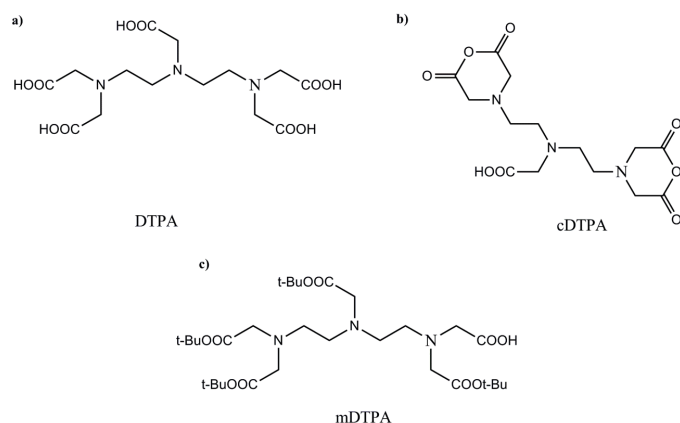
Las perfluoro aril azidas producen agentes quelantes bifuncionales fotolábiles útiles para el enlace covalente a moléculas marcadoras.<sup>36</sup> Estos compuestos son los principales precursores utilizados en fotomarcado.<sup>59,60</sup> Esta técnica es una alternativa atractiva para la unión de los BFCAs a proteínas y anticuerpos,<sup>61</sup> en donde el grupo perfluoro aril azida<sup>59,62-66</sup> produce, a través de radiación electromagnética en el rango del ultravioleta-visible, un intermediario altamente reactivo, que puede ser un nitreno singulete o triplete.<sup>67,68</sup> En el caso del nitreno singulete es posible realizar una inserción eficiente con los enlaces C-H o N-H presentes en la biomolécula, mientras que el nitreno triplete promueve la abstracción de hidrógenos en la biomolécula para formar anilinas o se dimeriza con el mismo para generar azobencenos.<sup>69</sup>

### Tipos de agentes quelantes bifuncionales

En la siguiente sección se presentan los agentes quelantes bifuncionales más utilizados en el desarrollo de diferentes radiofármacos, es muy importante seleccionar cuidadosamente el BFCAs más adecuado, ya que la conjugación de este con una biomolécula dada requiere condiciones específicas de pH, temperatura y tiempos de reacción.

DTPA (ácido *N*<sup>a</sup>-dietilentriaminopentaácético). Este pertenece al grupo de los quelatos poliaminocarboxílicos y es un derivado del EDTA, que fue desarrollado por Sundberg y colaboradores<sup>70</sup>

en 1974 (Figura 7a).<sup>9</sup> El DTPA es un grupo quelato fuerte para lantánidos y algunos iones metálicos de transición incluyendo Mn (II) e In (III), no es un buen ligando para Tecnecio y Renio. El DTPA se puede unir tanto a grandes proteínas como albúminas y anticuerpos<sup>45,55</sup> y a pequeños péptidos como los análogos de la somatostatina.<sup>71</sup> La conjugación del DTPA con macromoléculas se ha realizado con el uso del cloroformiato de isobutilo como agente de acoplamiento.<sup>72</sup> Para la conjugación con péptidos se han aplicado los derivados del DTPA tales como el anhídrido bicíclico (cDTPA) y el derivado monoreactivo mDTPA (Figura 7 incisos b, c).<sup>9</sup>



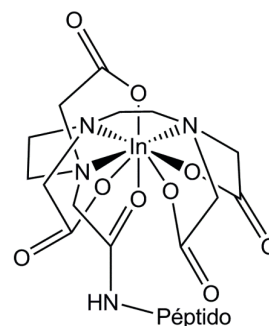
**Figura 7. Estructura del DTPA y sus análogos.**

El cDTPA fue sintetizado por Krejcarek y Tucker<sup>71</sup> en 1977 y se ha usado por muchos investigadores en medicina nuclear. Hnatowich y colaboradores<sup>73</sup> en 1983 desarrollaron un método simple para el acoplamiento covalente del cDTPA con péptidos. La eficiencia de este método es relativamente alta y ofrece algunas ventajas. La reacción se realiza en solución acuosa y se lleva a cabo en un solo paso, el producto secundario de la reacción, es un derivado DTPA doblemente sustituido y un material no reactivo que puede ser fácilmente separado por cromatografía de gel.

Este método es inapropiado para análogos de la somatostatina, debido a que el residuo de la lisina se encuentra situado dentro del sitio activo de la molécula, la conjugación puede resultar en la pérdida de la actividad del enlace al receptor. En 1991, Bakker y colaboradores<sup>74</sup> propusieron proteger el residuo de la lisina dentro del sitio activo del péptido, antes de la reacción con cDTPA y desprotegerlo después de la conjugación, esto permite una reacción selectiva del grupo amino N-terminal con BFCA. Posteriormente en 1989, Boniface y colaboradores<sup>75</sup> realizaron el marcado con <sup>153</sup>Sm del cDTPA con un anticuerpo monoclonal (K-1-21) con células linfáticas, obteniendo un marcado muy eficiente y sin pérdida de la inmunoreactividad del radiofármaco.

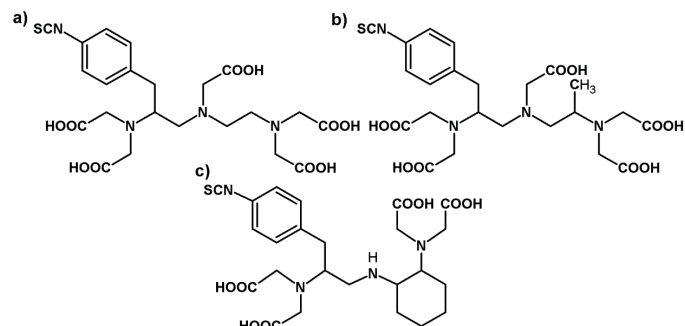
Arano y colaboradores<sup>72</sup> en 1991 sintetizaron el mDTPA con cuatro grupos carboxilos protegidos como ésteres de terbutilo (Figura 7c)<sup>9</sup> y un grupo carboxílico libre, para permitir la formación de uniones intermoleculares libres con la biomolécula.

Un gran obstáculo en la eficiencia del radiomarcado con conjugados de DTPA es la presencia de metales traza en su preparación, ya que ellos compiten con los radionúclidos en el proceso de marcado. Para evitar esto, se debe de utilizar un exceso del péptido conjugado así como un radionúclido de alta pureza. Se ha visto que los derivados del DTPA pueden formar complejos estables con <sup>111</sup>In (Figura 8),<sup>9</sup> debido a que se coordina con ocho átomos donadores, de los cuales tres provienen del grupo amino, cuatro del grupo carboxílico, y el otro del oxígeno del carbonilo del grupo amida.<sup>76</sup>



**Figura 8. Estructura propuesta del conjugado In<sup>3+</sup>-DTPA-péptido.**

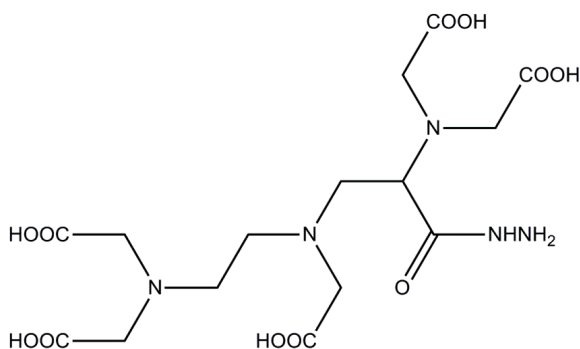
Una ventaja de usar análogos del DTPA es su rápida cinética de marcado con anticuerpos o fragmentos de anticuerpos debido a que son resistentes a altas temperaturas. Muchos grupos de investigación se han dedicado a la síntesis de conjugados DTPA-biomolécula para mejorar la estabilidad termodinámica y cinética con <sup>90</sup>Y o <sup>111</sup>In.<sup>41</sup> Por lo que se han preparado derivados del DTPA, para desarrollar conjugados de primera (Figura 9 incisos a, b)<sup>9</sup> y segunda generación (Figura 9c).<sup>9,77,78</sup>



**Figura 9. Estructura de los derivados del DTPA: (a) ácido-2-(*p*-isotiocianato de bencilo) dietilentriaminopentaacético; (b) ácido 2-(*p*-isotiocianato de bencilo)-6-metil dietilentriaminopentaacético; (c) ácido 2-(*p*-isotiocianato de bencilo) ciclohexildietilentriaminopentaacético.**

La primera generación fueron sintetizados por Brechbiel y colaboradores<sup>79</sup> que reportaron la síntesis del quelato ácido 1-(*p*-isotiocianato de bencilo)-dietilentriaminopentaacético (Figura 9a)<sup>9</sup> y su conjugación con un anticuerpo monoclonal (MoAb B72.3) empleado para el diagnóstico del carcinoma humano colon rectal con el radionúclido <sup>111</sup>In. Posteriormente, Keana y Jeffry<sup>80</sup> en 1990 reportaron la síntesis de un compuesto similar. Sin embargo, el uso de estos BFCAs ha sido limitado por las complejas separaciones involucradas en su preparación, y por la baja estabilidad *in vivo* que presentan. Por lo tanto, se preparó una segunda generación de derivados del DTPA (Figura 9c),<sup>9</sup> en donde se reemplaza uno de los grupos etileno de la estructura del quelato por un grupo ciclohexilo. Tal modificación incrementó la rigidez en la estructura del DTPA y la estabilidad *in vivo* del radiofármaco.

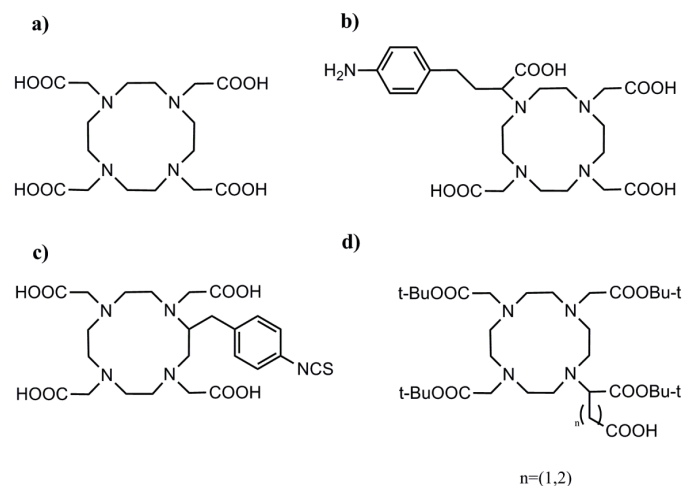
Recientemente se ha publicado la síntesis de nuevos derivados del DTPA en donde se mejoran las propiedades termodinámicas y cinéticas del BFCA así como la estabilidad *in vivo* del radiofármaco.<sup>9</sup> Safavy y colaboradores<sup>81</sup> en el 2002 sintetizaron el ácido *N*<sup>d</sup>, *N*<sup>α</sup>, *N*<sup>α</sup>, *N*<sup>ε</sup>, *N*<sup>ε</sup>- (pentakis (carboximetil))- *N*<sup>d</sup>- (carboximetil)- 2,6-diamino-4-azahexanoico hidrazida (Figura 10), el cual fue conjugado con una proteína (Mab Δ CH2HuCC49) para después ser marcado con <sup>90</sup>Y para el tratamiento de cáncer de colon rectal.



**Figura 10.** Estructura del ácido *N*<sup>d</sup>, *N*<sup>α</sup>, *N*<sup>α</sup>, *N*<sup>ε</sup>, *N*<sup>ε</sup>- (pentakis (carboximetil))-*N*<sup>d</sup>- (carboximetil)- 2, 6- diamino- 4- azahexanoico hidrazida.

DOTA (ácido 1, 4, 7, 10- tetraazaciclododecano- *N*, *N*<sup>′</sup>, *N*<sup>′′</sup>, *N*<sup>′′′</sup>- tetraacético) y sus derivados son ejemplos de quelatos macrocíclicos, que surgieron a partir de 1967, cuando Pederson<sup>82,83</sup> dio a conocer la química de los éteres corona. Desde entonces se ha reportado en la literatura un gran número de ejemplos de este tipo de quelatos utilizando una gran variedad de átomos donadores con diferentes iones metálicos. ya que forman complejos metálicos con buena estabilidad termodinámica y cinética adecuada.

El agente quelante DOTA (Figura 11a)<sup>9</sup> junto con sus derivados (Figura 11a)<sup>9</sup> son una buena alternativa que puede ser utilizada en lugar del DTPA, ya que los complejos metálicos de dicho compuesto han mostrado tener una liberación del radionúclido bajo condiciones fisiológicas.<sup>48</sup> El DOTA forma complejos muy estables con una variedad de radionúclidos trivalentes, tales como <sup>68</sup>Ga<sup>79</sup>, <sup>90</sup>Y, <sup>111</sup>In, <sup>149</sup>Pm, <sup>177</sup>Lu,<sup>84, 85</sup> y radionúclidos divalentes como <sup>27</sup>Mg, <sup>47</sup>Ca, <sup>64</sup>Cu.<sup>86</sup>



**Figura 11.** DOTA y sus derivados.

Se han desarrollado dos metodologías de conjugación del DOTA con biomoléculas. En el primer método, uno de los cuatro grupos carboxílicos en la molécula de DOTA es activado para facilitar su reacción con aminas primarias en la biomolécula y formar un enlace amida estable. Mientras que en el segundo método, la biomolécula se une covalentemente a los derivados de DOTA con cadenas laterales (Figura 11 incisos b, c).<sup>5,9,84</sup>

En años recientes, Eisenwiener y colaboradores<sup>87</sup> introdujeron nuevos derivados (Figura 11d)<sup>9</sup> donde la conjugación se realizó a través del grupo amino de la biomolécula. Los conjugados DOTA son especialmente apropiados para radionúclidos de terapia, ya que pueden ser marcados con <sup>67</sup>Ga, <sup>90</sup>Y<sup>73</sup> e <sup>111</sup>In.<sup>88</sup> De Jong y colaboradores<sup>89</sup> han demostrado que los conjugados de <sup>90</sup>Y-DOTA tienen muy buenas propiedades farmacocinéticas *in vivo*. Sin embargo, en estos conjugados el quelato está situado cerca del péptido, haciendo que el bioconjugado sea más rígido y menos flexible, lo cual provoca que el enlace con el receptor sea más difícil.

Reubi y colaboradores<sup>90</sup> reportaron complejos de <sup>67</sup>Ga-DOTA con mejores propiedades farmacológicas. Donde la geometría de coordinación del radionúclido, incrementó la flexibilidad del ligando y permitió una mejor afinidad al sitio de enlace del receptor. Para un tratamiento en radioterapia seguro y potente se requiere un ligando que forme un complejo estable con una

cinética de complejación clínicamente aceptable. Por lo que Chong y colaboradores,<sup>91</sup> sintetizaron la segunda generación del DOTA, el DEPA (ácido (7- [2- bis- (carboximetil- amino)-etil]- 4, 10- bis- carboximetil- 1, 4, 7, 10- tetraza- ciclododec- 1- il)- acético), donde evaluaron la estabilidad del quelato con <sup>177</sup>Lu, <sup>212/213</sup>Bi y <sup>205/206</sup>Bi (Figura 12).<sup>91</sup>

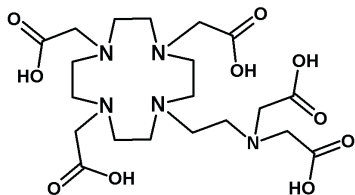


Figura 12. DEPA.

Muy recientemente el mismo grupo llevó a cabo la síntesis de un nuevo agente quelante bifuncional el c-DEPA (Figura 13),<sup>15</sup> el cual lograron conjugarlo al trastuzumab que es un anticuerpo para el marcado específico de tumores, evaluando la cinética de complejación con el <sup>205/206</sup>Bi. El radiofármaco mostro una alta eficiencia de radiomarcado y buena estabilidad en suero humano durante 72 h, por lo que en base a estos resultados, los autores sugieren que el c-DEPA puede ser un buen agente quelante para radioinmunoterapia utilizando radionúclidos de <sup>212/213</sup>Bi.<sup>15</sup>

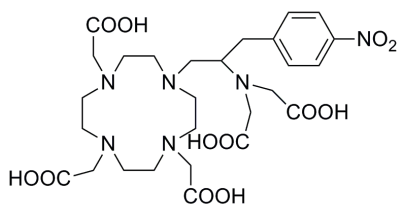


Figura 13. c-DEPA.

En 2012, Susuki y colaboradores<sup>16</sup> reportaron la síntesis de un nuevo análogo, el c-DOTA (Figura 14) como agente quelante para el <sup>111</sup>In, utilizado en la radiodetección, donde el complejo mostró altos rendimientos radioquímicos y buena estabilidad termodinámica.

TETA (ácido 1, 4, 8, 11- tetraazaciclodeceno- 1, 4, 8, 11- tetraacético) Figura 15,<sup>9</sup> es uno de los agentes quelates más estudiados para cobre en el marcado de péptidos y anticuerpos en radioterapia. Se han sintetizado varios derivados de este, que se han utilizado en el desarrollo de conjugados de <sup>67</sup>Cu con anticuerpos para el tratamiento de cáncer de colon.<sup>41,55,92,93</sup> TETA también ha sido exitosamente utilizado como BFCA con análogos de la somatostatina.<sup>9</sup>

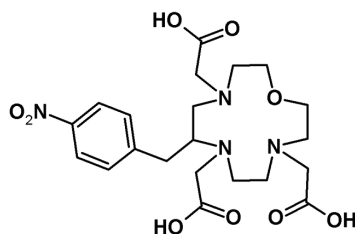


Figura 14. c-DOTA

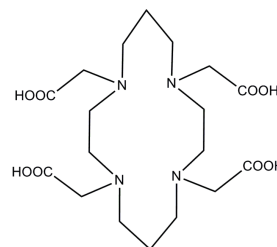


Figura 15. TETA.

El grupo de Yoo<sup>94</sup> en el 2012 reportaron la síntesis de un nuevo agente quelante tipo TETA. El PCB-TE2A puede acomplejarse con <sup>64</sup>Cu (Figura 16),<sup>94</sup> teniendo una muy alta estabilidad cinética y adecuada biodistribución, para ser utilizado como radiofármaco de marcado específico.

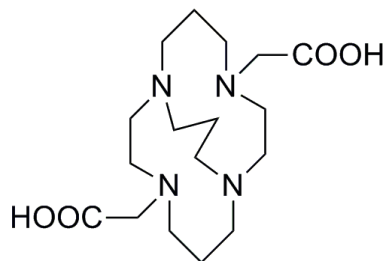
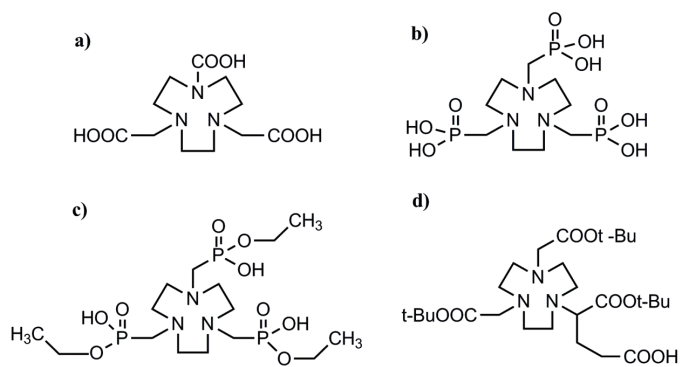


Figura 16. PCB-TE2A.

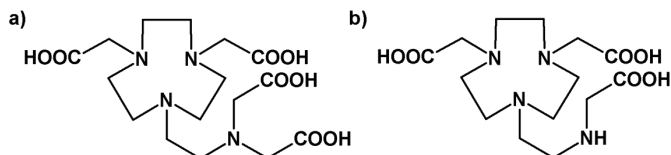
NOTA (ácido 1,4,7-triazaciclono-nano-1,4,7-triacético) Figura 17a junto con su derivado fosfonato NOTP (Figura 17b) y éster monoetil NOTPME (Figura 17c) fueron estudiados para su posible uso como radiofármacos.<sup>9</sup> Se han reportado los complejos de estos agentes quelantes con <sup>67/68</sup>Ga y <sup>111</sup>In.<sup>85,93,95</sup> Recientemente Jeong y colaboradores<sup>96</sup> reportaron la conjugación de NOTA con el péptido cíclico Arg- Gly- Asp- D- Tyr- Lys [c (RGDyK)] y marcado con <sup>68</sup>Ga para estudios de imagen de angiogénesis en el tejido isquémico, obteniendo un alto rendimiento de marcado y alta selectividad a los receptores del péptido cíclico.



**Figura 17. Estructura del NOTA y sus derivados: (a) NOTA, (b) NOTP, (c) NOTPME, (d) NODAGA (t-Bu)3.**

Eisenwiener y colaboradores<sup>97</sup> sintetizaron un derivado monoreactivo de NOTA, el NODAGA (Figura 17d).<sup>9</sup> Este BFCAs es útil para acoplar péptidos con el grupo N-amino terminal tanto en fase sólida como en solución. Los conjugados del NODAGA-biomolécula fueron marcados con <sup>67</sup>Ga y <sup>111</sup>In en altos rendimientos y presentaron buenas actividades específicas.

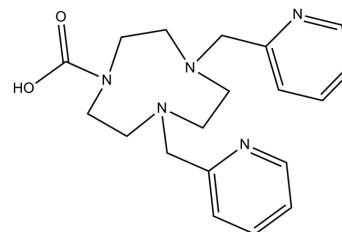
La segunda generación de NOTA fue preparada por Chong y colaboradores<sup>98</sup> resultando NETA (ácido {4- [2- (bis-carboximetil- amino)- etil]- 7- carboximetil- [1,4,7]triazonan-1-il}-acético) y NE3TA (ácido {4- carboximetil-7- [2- (carboximetil- amino)- etil]- [1,4,7]triazonan-1-il}-acético) (Figura 18).<sup>91</sup> Estos ligandos fueron evaluados como quelatos con varios metales (<sup>90</sup>Y, <sup>205/206</sup>Bi, <sup>203</sup>Pb, <sup>177</sup>Lu y <sup>64</sup>Cu) mostrando una buena afinidad por lo que se pueden utilizar en diagnóstico y terapia. En particular, los quelatos de NETA resultaron ser muy efectivos en radioinmunoterapia, donde se emplea un anticuerpo monoclonal para la entrega selectiva del radioisótopo citotóxico.



**Figura 18. NETA y NE3TA.**

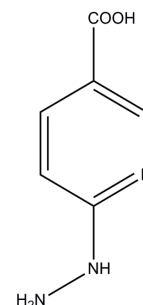
La tercera generación de estos compuestos fue recientemente propuesta por Gasser y colaboradores<sup>99</sup> en el 2008, ellos sintetizaron un derivado del 1,4,7-triazacyclononano, (TACN) el ácido 2- (4, 7- bis- (2- piridilmetil)- 1, 4, 7- triazacyclononan- 1-il)-acético (Figura 19),<sup>99</sup> que contiene tanto un grupo carboxílico para la unión covalente a la biomolécula como dos grupos secundarios piridil. Ellos realizaron el radiomarcado con <sup>64</sup>Cu y su conjugación con un análogo de la bombesina en la

radiodetección del cáncer pancreático. Gasser y colaboradores concluyeron que el bioconjugado presenta una alta estabilidad *in vivo* y rápida separación renal sin pérdida del radionúclido.



**Figura 19. Estructura del TACN.**

Abrams y colaboradores<sup>100</sup> en 1990 fueron los primeros en reportar el uso de arilhidrazinas, incluyendo el ácido 4-hidrazinobenzoico (HYBA) y el ácido 6-hidrazinonicotínico (HYNIC) (Figura 20),<sup>9</sup> como agentes quelantes bifuncionales para <sup>99m</sup>Tc y su conjugación con anticuerpos policlonales IgG.<sup>100,101</sup> Desde entonces HYNIC se ha usado para el marcado de <sup>99m</sup>Tc con anticuerpos,<sup>102</sup> péptidos,<sup>103</sup> quimiofármacos,<sup>104</sup>  $\gamma$ -globulinas,<sup>101,102</sup> análogos de la somatostatina,<sup>104</sup> receptores para ligandos folatos<sup>105</sup> y polipéptidos.<sup>106-108</sup>



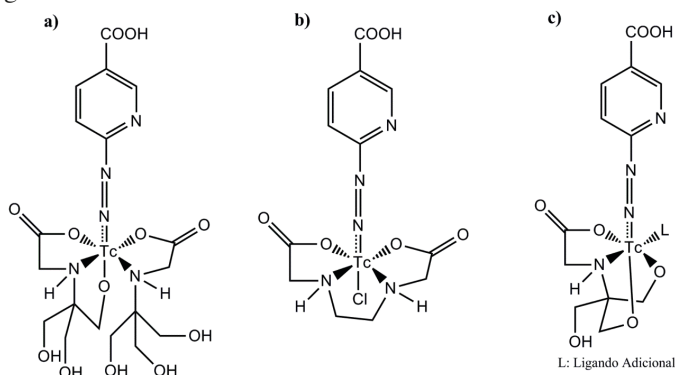
**Figura 20. HYNIC.**

La ventaja de utilizar el HYNIC es su alta eficiencia de marcado. El arreglo estructural del HYNIC indica solo la presencia de dos sitios de coordinación del radionúclido. Por ello con un coligando como la tricina, ácido etilen-diamino-acético o glucoheptonato se coordina para completar la esfera de coordinación del radionúclido<sup>109,110</sup> (Figura 21).<sup>9</sup> La conjugación de los coligandos ayuda a modificar las propiedades farmacocinéticas del radiofármaco.

Se han encontrado que los derivados de HYNIC, junto con fosfinas<sup>110,111</sup> y tricinas forman complejos ternarios. (<sup>99m</sup>Tc (HYNIC-Tm) (tricina) (fosfina)) (Tm: molécula marcadora), los cuales son estables en solución, y su hidrofiliidad puede ser



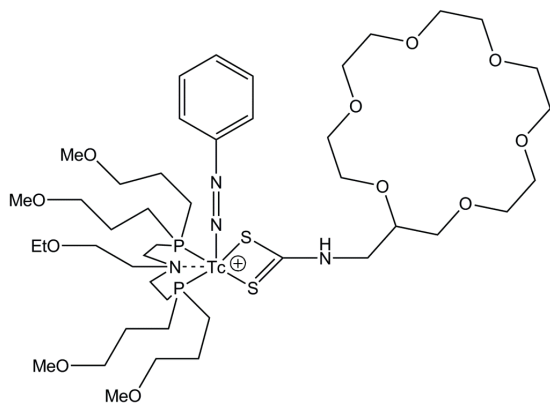
modificada cambiando los grupos funcionales unidos a la fosfina o por sustitución de la tricina con otros derivados de la glicina.



**Fig. 21. Estructuras de complejos de HYNIC- Tc: (a) (Tc (HYNIC) (tricina) 2); (b) (Tc (HYNIC) (EDDA) Cl); (c) (Tc (HYNIC)- (tricina) (L)).**

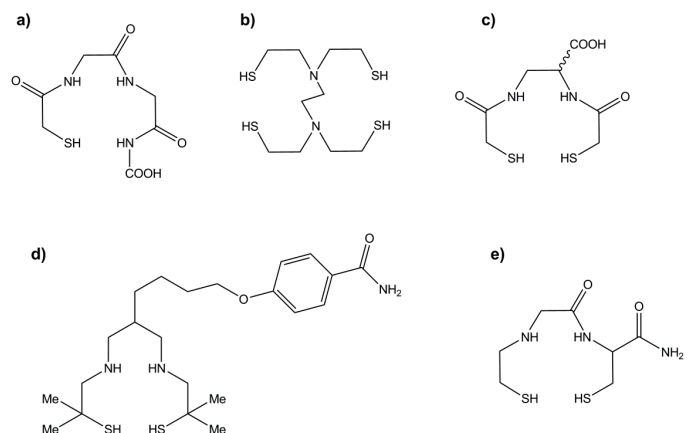
Desde hace varios años, Liu y colaboradores<sup>112</sup> han utilizado un sistema de ligandos ternarios (HYNIC, tricina y trifenilfosfina-3-3'-3''-trisulfonato trisódico) para el marcado de <sup>99m</sup>Tc con una gran variedad de pequeñas biomoléculas como: receptores antagonistas de LTB<sub>4</sub>,<sup>113</sup> receptores antagonistas de vitronectina<sup>112</sup> y receptores antagonistas de GPIIb/IIIa.<sup>114</sup> Este sistema ternario forma complejos con el tecnecio con alto rendimiento y actividad específica mostrando frecuentemente dos formas isoméricas si la biomolécula contiene uno o más centros quirales.

Recientemente se ha propuesto la síntesis de nuevos coligandos, para generar una nueva clase de quelatos HYNIC, que contienen dentro de su estructura fenilhidrazina, un éter corona con ditiocarbamato y una difosfina conocida como PNP (Figura 22).<sup>108</sup> La combinación de esos tres ligandos con el <sup>99m</sup>Tc resulta en la formación de complejos catiónicos que se pueden utilizar en el desarrollo de radiofármacos para imagen en diagnóstico de enfermedades cardiovasculares.



**Figura 22. Estructura del complejo tipo [<sup>99m</sup>Tc (NNAr) (DTC) (PNP)]<sup>+</sup>.**

Dentro de los quelatos tetradentados se encuentran triamidotioles N<sub>3</sub>S, diamidatitioles N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (DADS),<sup>114,115</sup> N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> monoamidamonoaminaditiol (MAMA),<sup>116,117</sup> diaminotetra- tioletos N<sub>2</sub>S<sub>4</sub>,<sup>13</sup> N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diaminaditiol (DADT)<sup>3</sup> (Figura 23)<sup>9</sup> y un gran número de sus derivados, que contienen átomos de azufre y nitrógeno, incorporados en la estructura de estos quelatos. Los quelatos N<sub>2</sub>S<sub>4</sub> contienen dos átomos donadores de nitrógeno amino y cuatro átomos donadores de azufre, los cuales se han utilizado para el marcado de anticuerpos con <sup>99m</sup>Tc y <sup>186/188</sup>Re,<sup>36,118</sup> la presencia de los grupos tioles permite el acoplamiento con anticuerpos vía unión disulfuro.<sup>3</sup>



**Figura 23. Ejemplos de quelatos multidentados: (a) N<sub>3</sub>S triamidatitiol; (b) N<sub>2</sub>S<sub>4</sub> diaminotetraetiol; (c) N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diamidoditiol, d) N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diaminoditiol y e) N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> monoamidamonoaminaditiol.**

Los quelatos N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diamidatitiol (DADS) tienen dos átomos donadores de nitrógeno amida y dos átomos donadores de azufre para formar complejos estables aniónicos de oxotecnecio con el núcleo (Tc=O).<sup>3+</sup> Los N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diamidatitiol y triamidotioles N<sub>3</sub>S forman complejos de tecnecio muy estables y solubles en lípidos.<sup>119</sup> Fritzberg y colaboradores<sup>120</sup> fueron los primeros en reportar el uso del 4,5-bis(tioacetamida)pentanoato como BFCA en el marcado de anticuerpos y sus fragmentos con <sup>99m</sup>Tc utilizando la técnica del premarcado. Se encontró que el enlace de este BFCA y la incorporación del radionúclido (<sup>99m</sup>Tc, <sup>188/186</sup>Re) no afectan significativamente las propiedades biológicas de los anticuerpos y sus fragmentos, ya que el radiomarcado solo ocurre en una porción de estas macromoléculas.<sup>3</sup> Otros agentes quelantes bifuncionales como N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> diamidatitiol y triamidatitiol N<sub>3</sub>S también se han utilizado para el marcado de biomoléculas, incluyendo proteínas,<sup>121-123</sup> biotina,<sup>124</sup> péptidos.<sup>9, 116, 125,126</sup>

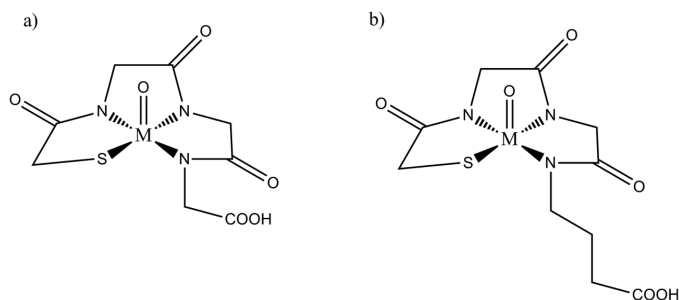
N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (DADT) forman complejos muy estables con <sup>99m</sup>Tc y <sup>188/186</sup>Re. Los quelatos N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> contienen dos átomos donadores amino y dos átomos donadores tiol, y se han utilizado para el marcado de proteínas, péptidos y oligonucleótidos.



Estos forman complejos con renio y tecnecio altamente lipofílicos,<sup>127</sup> por lo que se han aplicado en el marcado en sistemas hidrofóbicos.<sup>121</sup>  $N_3S$  y  $N_2S_2$  son BFCAs que forman complejos con alta actividad específica. Por ello pueden ser utilizados en la técnica del premarcado. En el caso de pequeñas moléculas (esteroides, péptidos de bajo peso molecular) acomplejan al  $^{188/186}Re$  en el proceso de marcado de post-conjugación.<sup>128</sup> Por lo que son utilizados en la síntesis de radiofármacos.<sup>129</sup>

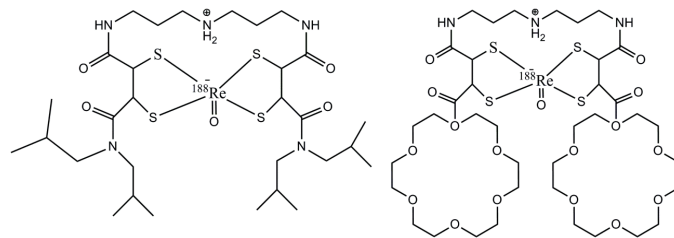
Los quelatos  $N_2S_2$  monoamidamonoamidatiol (MAMA) tienen en su estructura un nitrógeno de amina secundaria, un nitrógeno de amida y dos donadores de azufre, que forman complejos neutros con el tecnecio, evitando que quede sin carga. Estos quelatos se han utilizado para el marcado de tecnecio con biomoléculas tales como ligandos receptores de la progesterona,<sup>29</sup> antagonistas receptores plaquetarios GPIIb/GPIIIa<sup>117</sup> y transportadores de dopamina.<sup>130,131</sup>

Los BFCAs más frecuentemente utilizados son los del tipo  $MAG_3$  (mercaptoacetil-glicilglicilglicina) y  $MAG_2$ -GABA (ácido- $\gamma$ -butírico-mercaptoacetilglicilglicilglicina), los cuales contienen grupos glicina y GABA, respectivamente (Figura 24).<sup>9</sup> Los grupos GABA son dos unidades de carbono mayor que la glicina; por lo que presentan mejores propiedades fisicoquímicas como alto rendimiento en el marcado de radionúclidos o mayor enlace al receptor debido a los cambios en la organización intramolecular.<sup>36,129</sup>



**Figura 24. Estructuras de (a)  $MAG_3$  y (b)  $MAG_2$ -GABA.**

Recientemente Seifert y colaboradores<sup>132</sup> han reportado la síntesis de quelatos tetradentados del tipo tetratiolato  $S_4$  (Figura 25). Los quelatos  $S_4$  sintetizados fueron acomplejados con el  $^{188}Re$ , presentando una alta estabilidad *in vivo* de los complejos así como una alta retención en tejidos marcados y rápida eliminación en órganos no marcados. Por lo que Seifert y colaboradores concluyeron que los complejos  $^{188}Re$ - $S_4$  cumplen con los requerimientos básicos de un marcado estable y específico a biomoléculas.



**Figura 25. Estructuras de los complejos  $^{188}Re$ - $S_4$ .**

## Conclusiones

La aplicación de radiofármacos con fines de diagnóstico o terapéuticos está ganando importancia rápidamente en medicina nuclear. Moléculas biológicamente activas que interactúan selectivamente con sitios específicos, en tejidos u órganos humanos son vehículos adecuados para liberar pequeñas dosis de radioactividad. Existen dos métodos en la síntesis de radiofármacos. El premarcado que se basa en la conjugación del BFCa con el radionúclido seguido de su unión a la biomolécula y el postmarcado donde se une el BFCa y la biomolécula seguido del radiomarcado. Este último procedimiento es el más utilizado en la síntesis de radiofármacos. Para esto se han sintetizado varios BFCAs como DTPA, DOTA, NOTA e Hynic. Actualmente no existen muchos ejemplos de radiofármacos en la práctica clínica. La mayoría de ellos son análogos de somatostatina, por lo que es necesario desarrollar nuevos BFCAs bioconjugados que puedan ser preparados por metodologías sencillas y tengan las propiedades fisicoquímicas adecuadas para ser utilizados en diagnóstico o terapia. El desarrollo de nuevos radiofármacos es un trabajo multidisciplinario que requiere la colaboración de científicos en las áreas del campo orgánico, inorgánico, química analítica, bioquímica y medicina nuclear.

## Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por el financiamiento otorgado a través de la beca de maestría (registro No. 230777) y proyectos de investigación (CB-2010-155678, SEP-82585). A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, UASLP (PIFI 2011).

## Referencias

1. Koppel GA Recent advances with monoclonal antibody drug targeting for the treatment of human cancer. *Bioconjugate Chem.* 1990; 1(1): 13-23.
2. Ziessman HA, O'Malley JP, Thrall JH. *Nuclear Medicine.* Elsevier. 2006.

3. Liu S, Edwards DS. <sup>99m</sup>Tc-labeled small peptides as diagnostic radiopharmaceuticals. *Chem Rev.* 1999; 99(9): 2235-2268.
4. Liu S. Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides. *Adv Drug Delivery Rev.* 2008; 60(12): 1347-1370.
5. Liu, S. Ether and crown ether-containing cationic <sup>99m</sup>Tc complexes useful as radiopharmaceuticals for heart imaging. *Dalton Trans.* 2007; 1183-1193.
6. Bartholomä MD, Louie AS, Valliant JF, Zubieta J. Technetium and gallium derived radiopharmaceuticals: comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era. *Chem Rev.* 2010; 110(5): 2903-2920.
7. Schubiger PA, Alberto R, Smith A. Vehicles, chelators, and radionuclides: choosing the “building blocks” of an effective therapeutic radioimmunoconjugate. *Bioconjugate Chem.* 1996; 7(2): 165-179.
8. Reubi JC. J. Neuropeptide receptors in health and disease: the molecular basis for in vivo imaging. *J Nucl Med.* 1995; 36(10): 1825-1835.
9. Fichna J, Janecka A. Synthesis of target-specific radiolabeled peptides for diagnostic imaging. *Bioconjugate Chem.* 2003; 14(1): 3-17.
10. Wilbur DS. Radiohalogenation of proteins: an overview of radionuclides, labeling methods and reagents for conjugate labeling. *Bioconjugate Chem.* 1992; 3(6): 433-470.
11. Jurisson SS, Lydon JD. Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals. *Chem Rev.* 1999; 99(9): 2205- 2218.
12. Anderson CJ, Welch MJ. Radiometal-labeled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. *Chem Rev.* 1999; 99(9): 2219-2234.
13. Liu S, Edwards DS, Barrett JA. <sup>99m</sup>Tc labeling of highly potent small peptides. *Bioconjugate Chem.* 1997; 8(5): 621-636.
14. Yamamura N, Magata Y, Arano Y, Kawaguchi T, Ogawa K, Konishi J, Saji H. Technetium-<sup>99m</sup>-labeled medium-chain fatty acid analogues metabolized by  $\beta$ -oxidation: radiopharmaceutical for assessing liver function. *Bioconjugate Chem.* 1999; 10(3): 489-495.
15. Dadwal M, Kang CS, Song, HA, Sun X, Dai A, Baidoo KE, Bhechbiel MW, Chong HS. Synthesis and evaluation of a bifunctional chelate for development of Bi(III)-labeled radioimmunoconjugates. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011; 21(24): 7513-7515.
16. Susuki H, Kanai A, Uehara T, Guerra Gomez FL, Hanaoka H, Arano Y. Facile synthesis and evaluation of C-functionalized benzyl- 1- oxa- 4, 7, 10 triazacyclododecane-*N,N',N''*-triacetic acid as chelating agent for <sup>111</sup>In-labeled polypeptides. *Bioorg Med Chem.* 2012; 20 (2): 978-984.
17. Maruk AY, Bruskin AB, Kodina GE. Novel <sup>99m</sup>Tc radiopharmaceuticals with bifunctional chelating agents. *Radiochemistry.* 2011; 53(4): 341-353.
18. Swor CD, Tyler DR. Synthesis and coordination chemistry of macrocyclic phosphine ligands. *Coord Chem Rev.* 2011; 255: 2860-2881.
19. Lim SC, Paterson BM, Fodero-Tavoletti MT, O’Keefe GJ, Cappai R, Barnham KJ, Villemagne VL, Donnelly PS. A copper radiopharmaceutical for diagnostic imaging of Alzheimer’s disease: a bis(thiosemicarbazonato)copper(II) complex that binds to amyloid- $\beta$  plaques. *Chem Commun.* 2010; 46: 5437-5439.
20. Bechara G, Leygue N, Galaup C, Mestre B, Picard C. An efficient route to pyridine and 2,2'-bipyridine macrocycles incorporating a triethylenetetraminetetraacetic acid core as ligand for lanthanide ions. *Tetrahedron Lett.* 2009; 50(47): 6522-6525.
21. Maschauer S, Einsiedel J, Hocke H, Hübner H, Kuwert T, Gmeiner P, Prante O. Synthesis of a <sup>68</sup>Ga-labeled peptid-peptide hybrid for imaging of neurotensin receptor expression in vivo. *Med Chem Lett.* 2010; 1(5): 224-228.
22. Zelenka K, Borsig L, Alberto R. Metal complex mediated conjugation of peptides to nucleus targeting acridine orange: a modular concept for dual-modality imaging agents. *Bioconjugate Chem.* 2011; 22(5): 958-967.
23. Cai H, Li Z, Huang CW, Shahinian AH, Wang H, Park R, Conti PS. Evaluation of copper-64 labeled ambasar conjugated cyclic RGD peptide for improved microPET imaging of integrin  $\alpha v \beta 3$  expression. *Bioconjugate Chem.* 2010; 21(8): 1417-1424
24. Huang CW, Li Z, Cai H, Shahinian T, Conti PS. Biological stability evaluation of the  $\alpha 2 \beta 1$  receptor imaging agents: diamsar and DOTA conjugated DGEA peptide. *Bioconjugate Chem.* 2011; 22(2): 256-263.
25. Volkert WA, Hoffman TJ. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem. Rev.* 1999; 99(9): 2269-2292.
26. Blok D, Feitsma RIJ, Vermeij P, Pauwels EJK. Peptide radiopharmaceuticals in nuclear medicine. *Eur J Nucl Med.* 1999; 26(11):1511-1519.
27. DiZio JP, Fiaschi R, Davison A, Jones AG, Katzenellenbogen JA. Progestin-rhenium complexes: metal-labeled steroids with high receptor binding affinity, potential receptor-directed agents for diagnostic imaging or therapy. *Bioconjugate Chem.* 1991; 2(5): 353-366.
28. DiZio JP, Anderson CJ, Davison A, Ehrhardt GJ, Carlson KE, Welch MJ, Katzenellenbogen JA. Technetium- and rhenium-labeled progestins: synthesis, receptor binding and in vivo distribution of an 11 $\beta$ -substituted progestin labeled with technetium-99 and rhenium-186. *J Nucl Med.* 1992; 33(4): 558-569.

29. O'Neil JP, Carlson KE, Anderson CJ, Welch MJ, Katzenellenbogen JA. Progestin radiopharmaceuticals labeled with Technetium and Rhenium: synthesis, binding affinity, and in vivo distribution of a new progestin  $N_2S_2$ -metal conjugate. *Bioconjugate Chem.* 1994; 5(3): 182-193.
30. Chi DY, O'Neil JP, Anderson CJ, Welch MJ, Katzenellenbogen JA. Homodimeric and heterodimeric bis(amino thiol) oxometal complexes with rhenium(V) and technetium(V). Control of heterodimeric complex formation and an approach to metal complexes that mimic steroid hormones *J Med Chem* 1994; 37(7): 928-937.
31. Skaddan MB, Katzenellenbogen, JA. Integrated "3+1" oxorhenium(V) complexes as estrogen mimics. *Bioconjugate Chem.* 1999; 10(1): 119-129.
32. Zinn KR, Douglas JT, Smyth CA, Liu HG, Wu Q, Krasnykh VN, Mountz JD, Curiel DT, Mountz JM. Imaging and tissue biodistribution of  $^{99m}Tc$ -labeled adenovirus knob (serotype 5). *Gene Ther.* 1998; 5(6): 798-808.
33. Vasalatiy O, Gerard RD, Zhao P, Sun X, Sherry AD. Labeling of adenovirus particles with PARACEST agents. *Bioconjugate Chem.* 2008; 19(3): 598-606.
34. Hunter DH, Luyt LG. Single isomer technetium- $^{99m}$  tamoxifen conjugates. *Bioconjugate Chem.* 2000; 11(2): 175-181.
35. Liu S, Edward DS. Bifunctional chelators for therapeutic lanthanide radiopharmaceuticals. *Bioconjugate Chem.* 2001; 12(1): 7-34.
36. Griffiths GL, Goldenberg DM, Knapp FF, Callahan AP, Chang CH, Hansen HJ. Direct radiolabeling of monoclonal antibodies with generator-produced rhenium-188 for radioimmunotherapy: labeling and animal biodistribution studies. *Cancer Res.* 1991; 51(17): 4594-4602.
37. Rajagopalan R, Kuntz RR, Sharma U, Volkert WA, Pandurangi RS. Chemistry of bifunctional photoprobes. 6. Synthesis and characterization of high specific activity metalated photochemical probes: development of novel rhenium photoconjugates of human serum albumin and Fab fragments. *J Org Chem.* 2002; 67(19): 6748-6757.
38. Baidoo KE, Scheffel U, Stathis M. High-affinity no-carrier-added  $^{99m}Tc$ -labeled chemotactic peptides for studies of inflammation in vivo. *Bioconjugate Chem.* 1998; 9(2): 208-217.
39. Fischman AJ, Babich JW, Strauss WJ. A ticket to ride: peptide radiopharmaceuticals. *J Nucl Med.* 1993; 34(12): 2253-2263.
40. Moi MK, Meares CF, McCall MJ, Cole WC, DeNardo, SJ. Copper chelates as probes of biological systems: stable copper complexes with a macrocyclic bifunctional chelating agent. *Anal Biochem.* 1985; 148(1): 249-253.
41. Li M, Meares FC, Zhong GR, Miers L, Xiong CY, DeNardo SJ. Labeling monoclonal antibodies with  $^{90}Y$ trium- and  $^{111}In$ dium-DOTA chelates: a simple and efficient method. *Bioconjugate Chem.* 1994; 5(2): 101-104.
42. Weber RW, Boutin RH, Nedelman MA, Lister-James J, Dean RT. Enhanced kidney clearance with an ester-linked  $^{99m}Tc$ -radiolabeled antibody Fab'-chelator conjugate. *Bioconjugate Chem.* 1990; 1(6): 431-437.
43. Liu S. The role of coordination chemistry in the development of target-specific radiopharmaceuticals. *J Nucl Med.* 2004; 45(10): 1776-1783.
44. Ando A, Ando I, Hirako T, Hisda K. Relation between the location of elements in the periodic table and various organ-uptake rates. *Nucl Med Biol.* 1989; 16(1): 57-80.
45. McMurry TJ, Pippin CG, Wu C, Deal KA, Brechbiel MW, Mirzadeh S, Gansow OA. Physical parameters and biological stability of yttrium (III) diethylenetriaminepentaacetic acid derivative conjugates *J Med Chem.* 1998; 41(18): 3546-3549.
46. Cheng Y, Ono M, Kimura H, Ueda M, Saji H. Technetium- $^{99m}$  labeled pyridyl benzofuran derivatives as single photon emission computed tomography imaging probes for  $\beta$ -amyloid plaques in Alzheimer's brains. *J Med Chem.* 2012; 55(5): 2279-2286.
47. De León-Rodríguez LM, Kovacs Z. The synthesis and chelation chemistry of DOTA-peptide conjugates. *Bioconjugate Chem.* 2008; 19(2): 391-402.
48. Smith-Jones PM, Stolz B, Albert R, Knecht H, Bruns CJ. Synthesis, biodistribution and renal handling of various chelate-somatostatin conjugates with metabolizable linking groups. *Nucl Med Biol.* 1997; 24(8): 761-769.
49. Luyt GL, Jenkins HA, Hunter DH. An  $N_2S_2$  bifunctional chelator for Technetium- $^{99m}$  and Rhenium: complexation, conjugation, and epimerization to a single isomer. *Bioconjugate Chem.* 1999; 10(3): 470-479.
50. Rao TN, Adhikesavalu D, Camerman A, Fritzberg AR. Technetium (V) and rhenium (V) complexes of 2,3-bis(mercaptoacetamido)propanoate. Chelate ring stereochemistry and influence on chemical and biological properties. *J Am Chem Soc.* 1990; 112(15): 5798-5804.
51. Tsai SW, Li L, Williams LE, Anderson AL, Raubitschek AA, Shively JE. Metabolism and renal clearance of  $^{111}In$ -labeled DOTA-conjugated antibody fragments. *Bioconjugate Chem.* 2001; 12(2): 264-270.
52. Anderson GW, Zimmerman JE, Callahan FM. Reinvestigation of the mixed carbonic anhydride method of peptide synthesis. *J Am Chem Soc.* 1967; 89(19) : 5012-5017.
53. Anderson GW, Zimmerman JE, Callahan FM. The use of esters of *N*-hydroxysuccinimide in peptide synthesis. *J Am Chem Soc.* 1964; 86(9): 1839-1842.

54. Grumbach IM, Veh RW. Sulpho-N-hydroxysuccinimide activated long chain biotin: a new microtitre plate assay for the determination of its stability at different pH values and its reaction rate with protein bound amino groups. *J Immunol Methods*. 1991; 140(2): 205-210.
55. Meares, CJ. Chelating agents for the binding of metal ions to antibodies. *Nucl Med Biol*. 1986; 13(4): 311-318.
56. Geoghegan KF, Stroh JG. Site-directed conjugation of nonpeptide groups to peptides and proteins via periodate oxidation of a 2-amino alcohol. Application to modification at N-terminal serine. *Bioconjugate Chem*. 1992; 3(2): 138-146.
57. Pearson DA, Lister-James J, McBride WJ, Wilson DM, Martel LJ, Civitello ER, Dean RT. Thrombus imaging using technetium-<sup>99m</sup>-labeled high-potency GPIIb/IIIa receptor antagonists. Chemistry and initial biological studies. *J Med Chem*. 1996; 39(7): 1372-1382.
58. Pearson DA, Lister-James J, McBride WJ, Wilson DM, Martel LJ, Civitello ER, Taylor JE, Moyer BR, Dean RT. Somatostatin receptor-binding peptides labeled with technetium-<sup>99m</sup>: chemistry and initial biological studies. *J Med Chem* 1996; 39(7): 1361-1371.
59. Poe R, Grayzar J, Young MT, Leyva E, Schnap KA, Platz M. Remarkable catalysis of intersystem crossing of singlet (pentafluorophenyl)nitrene. *J Am Chem Soc*. 1991; 113(8): 3209-3211.
60. Schnapp KA, Poe R, Leyva E, Soundararajan N, Platz MS. Exploratory photochemistry of fluorinated aryl azides. Implications for the design of photoaffinity labeling reagents. *Bioconjugate Chem*. 1993; 4(2): 172-177.
61. Pandurangi RS, Karra SR, Kuntz RR, Volkert WA. High efficiency photolabeling of human serum albumin and human  $\gamma$ -globulin with [14C] methyl 4- azido- 2, 3, 5, 6- tetrafluorobenzoate. *Bioconjugate Chem*. 1995; 6 (5): 630-634.
62. Leyva E, Platz MS, Persy G, Wirz J. Photochemistry of phenyl azide: the role of singlet and triplet phenylnitrene as transient intermediates. *J Am Chem Soc*. 1986; 108(13): 3783-3790.
63. Leyva E, Jennifer M, Young T, Platz M. High yields of formal CH insertion products in the reactions of polyfluorinated aromatic nitrenes. *J Am Chem Soc*. 1986; 108(26): 8307-8309.
64. Leyva E, Munoz D, Platz M. Photochemistry of fluorinated aryl azides in toluene solution and in frozen polycrystals. *J Org Chem*. 1989; 54(25), 5938-5945.
65. Leyva E, Sagredo R. Photochemistry of fluorophenyl azides in diethylamine. Nitrene reaction versus ring expansion. *Tetrahedron*. 1998; 54(26): 7367-7370.
66. Leyva E, Sagredo R, Moctezuma E. Photochemistry of fluorophenyl azides in aniline: asymmetric fluoroazobenzenes by NH singlet nitrene insertion. *J Fluorine Chem*. 2004; 125 (5): 741-743.
67. Moss R, Platz M, Maitland J. *Reactive Intermediate Chemistry*. Wiley Interscience, 2004.
68. Leyva S, Leyva E. Thermochemical reaction of 7-azido-1-ethyl-6,8-difluoroquinolone-3-carboxylate with heterocyclic amines. An expeditious synthesis of novel fluoroquinolone derivatives. *Tetrahedron*. 2007; 63(9), 2093-2097.
69. Leyva E, de Loera D, Leyva S. Photochemistry of 7-azide-1-ethyl-3-carboxylate-6,8-difluoroquinolone: a novel reagent for photoaffinity labeling. *Tetrahedron Lett*. 2008; 49(48): 6759-6761.
70. Sundberg MW, Meares CF, Goodwin DA, Diamanti CI. Chelating agents for the binding of metal ions to macromolecules. *Nature*. 1974; 250: 587-589.
71. Krejcarek, G. E.; Tucker, K.L. Covalent attachment of chelating groups to macromolecules. *Biochem Biophys Res Commun*. 1977; 77(2): 581-585.
72. Arano Y, Matsushima H, Tagawa M, Koizumi M, Endo K, Konishi J, Yokoyama A. A novel bifunctional metabolizable linker for the conjugation of antibodies with radionuclides. *Bioconjugate Chem*. 1991; 2(2), 71-76.
73. Hnatowich DJ, Layne WW, Childs RL, Lanteigne D, Davis MA, Griffin TW, Doherty, PW. Radioactive labeling of antibody: a simple and efficient method. *Science*. 1983; 220: 613-615.
74. Bakker WH, Albert R, Bruns C, Breeman WAP, Hofland LJ, Marbach P, Pless J, Pralet D, Stolz B, Koper JW, Lamberts SWJ, Visser TJ, Krennig, EP. [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe<sup>1</sup>]-octreotide, a potential radiopharmaceutical for imaging of somatostatin receptor-positive tumors: synthesis, radiolabeling and in vitro validation. *Life Sci*. 1991; 49(22): 1583-1591.
75. Boniface GR, IZard ME, Walker KZ, McKay DR, Sorby PJ, Turner JH, Morris, JG. Labeling of monoclonal antibodies with samarium-153 for combined radioimmunoscintigraphy and radioimmunotherapy. *J Nucl Med*. 1989; 30(5): 683-691.
76. Maecke HR, Riesen A, Ritter W. The molecular structure of indium-DTPA. *J Nucl Med*. 1989; 30(7): 1235-1239.
77. Brechbiel, MW, Gansow, OA. Backbone-substituted DTPA ligands for yttrium-90 radioimmunotherapy. *Bioconjugate Chem*. 1991; 2(3): 187-194.
78. Kobayashi H, Wu C, Yoo TM, Sun BF, Drumm D, Pastan I, Paik CH, Gansow OA, Carrasquillo JA, Brechbiel MW. Evaluation of the in vivo biodistribution of yttrium-labeled isomers of CHX-DTPA-conjugated monoclonal antibodies. *J Nucl Med*. 1998; 39(5): 829-836.
79. Brechbiel MW, Gansow OA, Atcher RW, Schlom J, Esteban J, Simpson D, Colcher D. Synthesis of 1-(*p*-isothiocyanatobenzyl) derivatives of DTPA and EDTA. Antibody labeling and tumor-imaging studies. *Inorg Chem*. 1986; 25(16): 2772-2781.



80. Keana JFW, Jeffry SM. Chelating ligands functionalized for facile attachment to biomolecules. A convenient route to 4-isothiocyanatobenzyl derivatives of diethylenetriaminepentaacetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid. *J Org Chem*. 1990; 55(9): 2868-2871.
81. Safavy A, Smith DC. Jr., Bazooband A, Buchsbaum DJ. De novo synthesis of a new diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) bifunctional chelating agent. *Bioconjugate Chem*. 2002; 13(2): 317-326.
82. Pederson CJ. Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. *J Am Chem Soc*. 1967; 89(10): 2495-2496.
83. Pederson CJ. Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. *J Am Chem Soc*. 1967; 9(26): 7017-7036.
84. McMurry TJ, Brechbiel M, Kumar K, Gansow OA. Convenient synthesis of bifunctional tetraaza macrocycles. *Bioconjugate Chem*. 1992; 3(2): 108-117.
85. DeNardo SJ, Kukis DL, Miers LA, Winthrop MD, Kroger LA, Salako Q, Shen S, Lamborn KR, Gumerlock PH, Meares CF, DeNardo GL. Yttrium-90-DOTA-peptide-chimeric L6 radioimmunoconjugate: efficacy and toxicity in mice bearing p53 mutant human breast cancer xenografts. *J Nucl Med*. 1998; 39(5): 842-849.
86. Keire DA, Jang YH, Li L, Dasgupta S, Goddard WA, Shively JE. Chelators for radioimmunotherapy: I. NMR and Ab initio calculation studies on 1, 4, 7, 10-tetra(carboxyethyl)- 1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane (DO4Pr) and 1, 4, 7-tris (carboxymethyl)- 10-(carboxyethyl)- 1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane (DO3A1Pr). *Inorg Chem*. 2001; 40(17): 4310-4318.
87. Eisenwiener KP, Powell P, Mäcke HR. A convenient synthesis of novel bifunctional prochelators for coupling to bioactive peptides for radiometal labelling. *Bioorg Med Chem Lett*. 2000; 10(18): 2133-2135.
88. Virgolini I, Szilvasi I, Kurtaran A, Angelberger P, Raderer M, Havlik E, Vorbeck F, Bischof C, Leimer M, Dorner G, Kletter K, Niederle B, Scheithauer W, Smith-Jones P. Indium-111-DOTA-*lanreotide*: biodistribution, safety and radiation absorbed dose in tumor patients. *J Nucl Med*. 1998; 39(11): 1928-1936.
89. De Jong M, Bakker WH, Krenning EP, Breeman WAP, Van der Pluijm ME, Bernard BF, Visser TJ, Jermann E, Béhé M, Powell P, Mäcke, HR. Yttrium-90 and indium-111 labelling, receptor binding and biodistribution of [DOTA<sup>0</sup>, D-Phe<sup>1</sup>, Tyr<sup>3</sup>]octreotide, a promising somatostatin analogue for radionuclide therapy. *Eur J Nucl Med*. 1997; 24(4): 368-371.
90. Reubi JC, Waser B, Laederach U, Erion J, Srinivasan A, Schmidt MA, Bugai, JE. Unsulfated DTPA- and DOTA-CCK analogs as specific high-affinity ligands for CCK-B receptor-expressing human and rat tissues *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Nucl Med*. 1998; 25(5): 481-490.
91. Chong HS, Lim S, Baidoo KE, Milenic DE, Ma X, Jia F, Song HA, Brechbiel MW, Lewis MR. Synthesis and biological evaluation of a novel decadentate ligand DEPA. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008; 18(21): 5792-5795.
92. Meares CF, Wensel TG. Metal chelates as probes of biological systems. *Acc Chem Res*. 1984; 17(6): 202-209.
93. Broan CJ, Cox JPL, Craig AS, Katakly R, Parker D, Harrison A, Randall AM, Ferguson G. Structure and solution stability of indium and gallium complexes of 1, 4, 7-triazacyclononatriacetate and of yttrium complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecanetetraacetate 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; 1(1): 87-98.
94. Pandya DN, Dale AV, Kim JY, Lee H, Ha YS, An G II, Yoo J. New macrobicyclic chelator for the development of ultrastable <sup>64</sup>Cu-radiolabeled Bioconjugate. *Bioconjugate Chem*. 2012; 23(3): 330-335.
95. Clarke ET, Martell AE. Stabilities of the Fe(III), Ga(III) and In(III) chelates of *N,N',N''*-triazacyclononatriacetic acid. *Inorg Chem Acta*. 1991; 181(2): 273-280.
96. Jeong JM, Hong MK, Chang YS, Lee YS, Kim YJ, Cheon GJ, Lee DS, Chung JK, Lee MC. 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.
97. Eisenwiener KP, Prata MI, Buschmann I, Zhang HW, Santos AC.; Wenger S, Reubi JC, Macke HR. 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.
98. Chong HS, Garmestani K, Ma D, Milenic DE, Overstreet T, Brechbiel MW. Synthesis and biological evaluation of novel macrocyclic ligands with pendent donor groups as potential yttrium chelators for radioimmunotherapy with improved complex formation kinetics. *J Med Chem*. 2002; 45(16): 3458-3464.
99. Gasser G, Tjioe L, Graham B, Belousoff MJ, Juran S, Walther M, Künstler JU, Bergmann R, Stephan H, Spiccia L. Synthesis, copper(II) complexation, <sup>64</sup>Cu-labeling, and bioconjugation of a new bis(2-pyridylmethyl) derivative of 1,4,7-triazacyclononane. *Bioconjugate Chem*. 2008; 19(3): 719-730.
100. Abrams MJ, Juweid M, TenKate CI, Schwartz DA, Hauser MM, Gaul FE, Fuccello AJ, Rubin RH, Strauss HW, Fischman AJ. Technetium-99m-human polyclonal IgG radiolabeled via the hydrazino nicotinamide derivative for imaging focal sites of infection in rats. *J Nucl Med* 1990; 31(12): 2022-2028.

101. Schwartz DA, Abrams MJ, Hauser MM, Gaul FE, Larsen SK, Rauh D, Zubieta JA. Preparation of hydrazino-modified proteins and their use for the synthesis of technetium-99m-protein conjugates. *Bioconjugate Chem.* 1991; 2(5): 333-336.
102. Ultee ME, Bridger GJ, Abrams MJ, Longley CB, Burton CA, Larsen S. K, Henson GW, Padmanabhan S, Gaul FE, Schwartz DA. Tumor imaging with technetium-99m-labeled hydrazinonicotinamide-Fab' conjugates. *J Nucl Med.* 1997; 38(1): 133-138.
103. Babich JW, Solomon H, Pike MC, Kroon D, Graham W, Abrams MJ, Tompkins RG, Rubin RH, Fischman AJ. Technetium-99m-labeled hydrazino nicotinamide derivatized chemotactic peptide analogs for imaging focal sites of bacterial infection. *J Nucl Med.* 1993; 34(11): 1964-1974.
104. Decristoforo C, Melendez-Alafort L, Sosabowski JK, Mather SJ. <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-[Tyr<sup>3</sup>]-octreotide for imaging somatostatin-receptor-positive tumors: preclinical evaluation and comparison with <sup>111</sup>In-octreotide. *J Nucl Med.* 2000; 41(6): 1114-1119.
105. Guo W, Hinkle, GH. Lee, RJ. <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-folate: a novel receptor-based targeted radiopharmaceutical for tumor imaging. *J Nucl Med.* 1999; 40(9): 1563-1569.
106. Ono M Arano Y, Mukai T, Uehara T, Fujioka Y, Ogawa K, Namba S, Nakayama M, Saga T, Konishi J, Horiuchi K, Yokoyama A, Saji H. Plasma protein binding of <sup>99m</sup>Tc-labeled hydrazino nicotinamide derivatized polypeptides and peptides. *Nucl Med Biol.* 2001; 28(2): 155-164.
107. Ono M, Arano Y, Mukai T, Fujioka Y, Ogawa K, Uehara T, Saga T, Konishi J, Saji H. <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-derivatized ternary ligand complexes for <sup>99m</sup>Tc-labeled polypeptides with low *in vivo* protein binding. *Nucl Med Biol.* 2001; 28(3): 215-224.
108. Kim YS, He Z, Hsieh WY; Liu S. A novel ternary ligand system useful for preparation of cationic <sup>99m</sup>Tc-diazenido complexes and <sup>99m</sup>Tc-labeling of small biomolecules. *Bioconjugate Chem.* 2006; 17(2): 473-484.
109. Edwards DS, Liu S, Barrett JA, Harris AR, Looby RJ, Ziegler MC, Heminway SJ, Carroll TR. New and versatile ternary ligand system for technetium radiopharmaceuticals: water soluble phosphines and tricine as coligands in labeling a hydrazinonicotinamide-modified cyclic glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist with <sup>99m</sup>Tc. *Bioconjugate Chem.* 1997; 8(2): 146-154.
110. Liu S, Edwards DS, Harris AR. A novel ternary ligand system for <sup>99m</sup>Tc- labeling of hydrazino nicotinamide-modified biologically active molecules using imine-N-containing heterocycles as coligands. *Bioconjugate Chem.* 1998; 9(5): 583-595.
111. Barrett JA, Crocker AC, Dampousse DJ; Heminway SJ; Liu S; Edwards DS, Lazewatsky JL, Kagan M, Mazaika TJ, Carroll TL. Biological evaluation of thrombus imaging agents utilizing water soluble phosphines and tricine as coligands when used to label a hydrazinonicotinamide-modified cyclic glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist with <sup>99m</sup>Tc. *Bioconjugate Chem.* 1997; 8(2): 155-160.
112. Liu S, Harris AR, Williams NE, Edwards DS. <sup>99m</sup>Tc-labeling of a hydrazinonicotinamide-conjugated LTB4 receptor antagonist useful for imaging infection and inflammation. *Bioconjugate Chem.* 2002; 13(4): 881-886.
113. Brouwers AH, Laverman P, Boerman, OC, Oyen WJG, Barrett JA, Harris TD, Edwards DS, Corstens FHM. A <sup>99m</sup>Tc-labelled leukotriene B4 receptor antagonist for scintigraphic detection of infection in rabbits. *Nucl Med Commun.* 2000; 21(11): 1043-1050.
114. Liu S, Edwards DS, Ziegler MC, Harris AR, Heminway SJ, Barrett JA. <sup>99m</sup>Tc-labeling of a hydrazinonicotinamide-conjugated vitronectin receptor antagonist useful for imaging tumors. *Bioconjugate Chem.* 2001; 12(4): 624-629.
115. Rao, T. N.; Adhikesavalu, D.; Camerman, A.; Fritzberg, A. R. Technetium (V) and rhenium (V) complexes of 2,3-bis(mercaptoacetamido) propanoate. Chelate ring stereochemistry and influence on chemical and biological properties. *J Am Chem Soc.* 1990; 112(15): 5798-5804.
116. Liu S, Edwards DS, Looby RJ, Poirier MJ, Rajopadhye M, Bourque JP, Carroll TR. Labeling cyclic glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists with <sup>99m</sup>Tc by the preformed chelate approach: effects of chelators on properties of [<sup>99m</sup>Tc] chelator-peptide conjugates. *Bioconjugate Chem.* 1996; 7(2): 196-202.
117. Meegalla SK, Plössl K, Kung MP, Chumpradit S, Stevenson DA, Kushner SA, McElgin WT, Mozley PD, Kung HF. Synthesis and characterization of technetium-<sup>99m</sup>-labeled tropanes as dopamine transporter-imaging agents. *J Med Chem.* 1997; 40(1): 9-17.
118. Najafi A, Alauddin MM, Siegel ME, Epstein AL. Synthesis and preliminary evaluation of a new chelate N<sub>2</sub>S<sub>4</sub> for use in labeling proteins with metallic radionuclides. *Nucl Med Biol.* 1991; 18(2): 179-185.
119. Vanbilloen HP, Bormans GM, De Roo MJ, Verbruggen AM. Complexes of technetium-<sup>99m</sup> with tetrapeptides, a new class of <sup>99m</sup>Tc-labelled agents. *Nucl Med Biol.* 1995; 22(3): 325-332.
120. Fritzberg AR, Abrams PG, Beaumier PL, Kasina S, Morgan AC, Rao TN, Reno JM, Sanderson JA, Srinivasan A, Wilbur DS. Specific and stable labeling of antibodies with technetium-99m with a diamide dithiolate chelating agent. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1988; 85(11): 4025-4029.



121. Kasina S, Rao TN, Srinivasan A, Sanderson JA, Fitzner JN, Reno JM, Beaumier PL, Fritzberg AR. Development and biologic evaluation of a kit for preformed chelate technetium-<sup>99m</sup> radiolabeling of an antibody Fab fragment using a diamide dimercaptide chelating agent. *J Nucl Med.* 1991; 32(7): 1445-1451.
122. Majocha RE, Reno JM, Friedland RP, VanHaight C, Lyle LR, Marotta CA. Development of a monoclonal antibody specific for  $\beta$ /A4 amyloid in Alzheimer's disease brain for application to in vivo imaging of amyloid angiopathy. *J Nucl Med.* 1992; 33(12): 2184-2189.
123. Kasina S, Sanderson JA, Fitzner JN, Srinivasan A, Rao TN, Hobson LJ, Reno JM, Axworthy DB, Beaumier PL, Fritzberg AR. Simplified preformed chelate protein radiolabeling with technetium-<sup>99m</sup> mercaptoacetamidoadipoylglycylglycine (N<sub>3</sub>S-adipate). *Bioconjugate Chem.* 1998; 9(1): 108-117.
124. Van Gog FB, Visser GWM, Gowrising RWA, Snow GB, Van Dogen GAMS. Synthesis and evaluation of <sup>99m</sup>Tc/<sup>99</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>-biotin conjugates for antibody pretargeting strategies. *Nucl Med Biol.* 1998; 25(7): 611-619.
125. Rajopadhye M, Harris TD, Yu K, Glowacka D, Damphousse PR, Barrett JA, Hemingway SJ, Edwards DS, Carroll TR. Synthesis, evaluation and Tc-<sup>99m</sup> complexation of a hydrazinonicotinyl conjugate of a GP IIb/IIIa antagonist cyclic peptide for the detection of deep vein thrombosis. *Bioorg Med Chem Lett.* 1997; 7(8): 955-960.
126. Hnatowich DJ, Qu T, Chang F, Ley AC, Ladner RC, Rusckowski M. Labeling peptides with technetium-<sup>99m</sup> using a bifunctional chelator of a N-hydroxysuccinimide ester of mercaptoacetyltryglycine. *J Nucl Med.* 1998; 39(1): 56-64.
127. Baidoo K, Lever S, Scheffel U. Bifunctional chelator for facile preparation of neutral technetium complexes. *Bioconjugate Chem.* 1994; 5(2): 114-118.
128. Hom RK, Katzenellenbogen JA. Technetium<sup>99m</sup>-labeled receptor-specific small-molecule radiopharmaceuticals: recent developments and encouraging results. *Nucl Med Biol.* 1997; 24(6): 485-498.
129. Mathias CJ, Sun Y, Welch MJ, Green MA, Thomas JA, Wade KR, Martell AE. Targeting radiopharmaceuticals: comparative biodistribution studies of gallium and indium complexes of multidentate ligands. *Int J Rad Appl Instrum Part B.* 1988; 15(1): 69-81.
130. Bubeck B, Brandau W, Reinbold F, Dreikorn K, Steinbacher M, Eisenhant M, Georgi P. Technetium-<sup>99m</sup> labeled renal function and imaging agents: I. Clinical evaluation of <sup>99m</sup>Tc CO<sub>2</sub>-DADS-A (<sup>99m</sup>Tc N, N'- bis- (mercaptoacetyl)- 2, 3-diaminopropanoate). *Int. J. Rad. Appl. Instrum. Part B.* 1988; 15(1): 99-108.
131. Walovitch, RC Cheesman EH, Maheu LJ, Hall KM. Studies of the retention mechanism of the brain perfusion imaging agent <sup>99m</sup>Tc-bicisate (<sup>99m</sup>Tc-ECD). *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994; 14 (Suppl 1):S4-S11.
132. Seifert S, Heinrich T, Jentschel C, Smuda C, Bergmann R, Pietzsch HJ. Preparation and biological characterization of isomeric <sup>188</sup>Re (V) oxocomplexes with tetradentate S<sub>4</sub> ligands derived from meso-dimercaptosuccinic acid for labeling of biomolecules. *Bioconjugate Chem.* 2006; 17(6): 1601-1606.