

Preparation and characterization of Ga-68-deferoxamine to test the feasibility as a bifunctional chelating agent or a renal imaging radiopharmaceutical

Young Ju Kim^{1,2,3}, Yun-Sang Lee^{1,2,3}, and Jae Min Jeong^{1,2,3,*}

¹Department of Nuclear Medicine, ²Institute of Radiation Medicine, ³Institute of Cancer Research, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

Chelating agents 1,4,7-triazacyclononanetriacetic acid (NOTA), 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA) and 30-amino-3,14,25-trihydroxy-3,9,14,20,25-penta-azatriaccontane-2,10,13,21,24-pentaone (desferrioxamine, DFO) were labeled with ⁶⁸Ga and tested in vitro properties to check the feasibility of using DFO as a bifunctional chelating agent or renal imaging agent. The chelating agents of concentration 2 μM were labeled with ⁶⁸Ga in 0.1 M HCl at pH 1.7-10.3 at room temperature and 80°C and the optimal pH for labeling each chelating agent was found. And then, the chelating agents were labeled with ⁶⁸Ga in various concentration of chelating agents at optimal pH. The labeled chelating agents were subject to stability test in human serum and to binding studies to human red blood cell (RBC) and plasma protein. The optimal pH's of NOTA, DOTA and DFO for ⁶⁸Ga-labeling were 4.4, 3.6 and 5.6, respectively. DFO (10 μM) showed high labeling efficiency (>97%) at pH 5.6. All the labeled chelating agents showed high stability in human serum. ⁶⁸Ga-DFO showed low RBC binding but significant amount was bound to plasma protein. The results demonstrated that ⁶⁸Ga-DFO can be used as a bifunctional chelating agent but not as a renal imaging agent. *J Radiopharm Mol Probes 1(1):31-37, 2015*

Key Words: ⁶⁸Ga, Deferoxamine, NOTA, DOTA, Labeling efficiency

Introduction

양전자단층촬영(positron emission tomography, PET)용 방사성의약품 표지에 ⁶⁸Ga의 사용이 급속히 늘어나고 있다(1-3). ⁶⁸Ga은 반감기가 68분이고 1.077 MeV의 감마선을 3.22%의 확률로 소량 방출하지만 양전자선을 89%의 높은 확률로 방출하므로 PET용으로 매우 적합한 물리적 성질을 가지고 있다. 그리고 제너레이터에서 생산되므로 사이클로트론에서 생산되는 양전자 방출핵종보다 간편하게 경제적으로 생산할 수 있다는 장점이 있다(4-7).

갈륨은 화학적으로 붕소와 같은 3족의 원소에 속하는

금속이므로 수용액에서 +3가로 존재할 때 가장 안정하다. 그래서 ⁶⁸Ga을 표지하려면 각종 양기능성 킬레이트제를 사용하여야 한다.

이러한 킬레이트제로 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA)나 1,4,7-triazacyclononanetriacetic acid (NOTA)와 같은 사이클형의 킬레이트제나, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), 30-amino-3,14,25-trihydroxy-3,9,14,20,25-penta-azatriaccontane-2,10,13,21,24-pentaone (desferrioxamine, DFO), N,N'-di(2-hydroxybenzyl)ethylenediamine-N,N'-diacetic acid (HBED), 등과 같은 비사이클형의 킬레이트제 등을 사용

Received January 5, 2015 / Revised February 25, 2015 / Accepted March 24, 2015

Corresponding Author: Jae Min Jeong

Department of Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Institute of Cancer Research, Seoul National University College of Medicine, 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: +82-2-2072-3805, Fax: +82-2-745-7690, E-mail: jmjng@snu.ac.kr

Copyright © 2015, The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

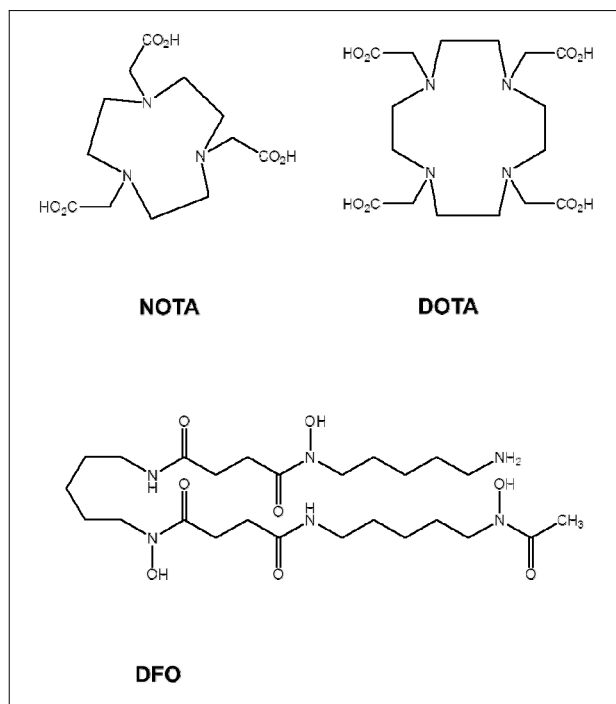


Figure 1. Chemical structures of chelating agents- NOTA , DOTA and DFO.

할 수 있다(Figure 1). 이 중 우리는 DOTA, NOTA, EDTA, DTPA 등을 이용하여 ^{68}Ga 표지 비교 연구를 하여 보고한 바 있다(8,9). 그 결과 사이클형 킬레이트제인 DOTA와 NOTA가 비사이클형 킬레이트제인 EDTA와 DTPA에 비하여 표지 효율이 더 높다는 것을 보고하였다(8,9).

DOTA는 각종 금속성 방사성동위원소를 표지하는데 가장 널리 사용되는 킬레이트제이나 ^{68}Ga 의 표지에는 NOTA가 더 유리하다(10-12). 이는 NOTA 내부의 크기가 DOTA에 비하여 비교적 직경이 작은 Ga의 표지에 유리하기 때문이다(11). 따라서 과거에는 펩타이드에 ^{68}Ga 을 표지하기 위해 이중기능성 킬레이트로 DOTA를 많이 사용하였으나, 최근에는 NOTA를 이용하여 착물을 합성하는 연구가 많이 보고되고 있다.

DFO는 비사이클형의 킬레이트제로서 비교적 여러 가지 직경의 금속과 착체를 형성할 수 있다. 그리고 FDA에 의하여 의약품의 품목 허가를 받은 적이 있으므로 이의 응용제제는 허가 받기에 비교적 용이할 것이다. 그러나 이에 대한 상세한 ^{68}Ga 표지 및 시험관내 연구는 아직 보고된 바 없다.

이 연구에서는 ^{68}Ga 의 표지를 위한 양기능성킬레이트제로 DFO가 적당한지 그리고 신장영상용 방사성의약품으로도 사용 가능한지의 여부를 DOTA 및 NOTA와 비교

하여 연구하기로 하였다.

Materials and Methods

1. 장비 및 시약

$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터는 Cyclotron co. (Obninsk, Russia)의 1.85 GBq 용량을 사용하였다. 37°C 교반 및 배양기는 비전과학(VS-8480, Seoul, Korea) 제품을 사용하였다. Radio-TLC 스캐너는 혼합 가스(P10 gas)를 사용하는 Bioscan (AR-2000, Poway, CA, USA)을 사용하였다. 방사능 측정은 Packard Canberra Co. (Cobra II, Kamsey, MN, USA)의 감마 카운터를 사용하였다. 용량측정기는 Capintec Inc. (CRC-25PET, USA)의 제품을 사용하였다. 원심분리기는 Kubota co. (Kubota5930, Osaka, Japan)의 제품을 사용하였다. pH 측정기는 Thermo (Orion 3 Star 8103BNUWP, USA)사의 제품을 사용하였다.

PD-10 컬럼은 GE Healthcare (Little Chalfont, UK, USA) 제품을 사용하였다. 그리고 ITLC-SG는 Varian에서 생산되는 제품을 사용하였다. NOTA·3HCl (분자량 412.69)와 DOTA (분자량 404.42)는 Fluka, DFO mesylate (분자량 656.79)는 Santa Cruz Biotechnolog (USA)사의 시약을 사용하였다. 기타 명기하지 않은 시약은 Sigma-Aldrich (USA)와 Merck (Germany)의 제품을 사용하였다.

2. pH에 따른 NOTA, DOTA, DFO의 ^{68}Ga 표지효율 측정

$^{68}\text{GaCl}_3$ 은 0.1 M HCl을 1 mL씩 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에 흘려주고 나오는 분획을 용량측정기로 측정하여 사용하였다. NOTA, DOTA, DFO는 1-2 mg씩을 정밀하게 달아서 증류수 1 mL에 녹였다. NOTA, DOTA, DFO 각각 2 nmol/0.66-0.82 μL 에 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에서 용출된 $^{68}\text{GaCl}_3$ 17-44 MBq/0.1 M HCl 0.5 mL씩을 넣고 섞어주었다. 이때 1 M 초산, 1 M 초산나트륨, 1 M NaHCO_3 , 1 M Na_2CO_3 을 사용하여 pH를 1.7-10.3으로 맞추고 혼합한 후 실온에서 10분 그리고 80°C에서 10분 동안 반응하였다. 이 때 반응액의 전체 부피는 1.0 mL이고, NOTA, DOTA, DFO의 최종농도는 2 μM 이었다.

^{68}Ga 이 표지된 각각의 NOTA, DOTA, DFO의 방사화학적 표지효율을 측정하기 위하여 고정상으로 ITLC-SG와 이동상으로 0.1 M Na_2CO_3 을 사용하여 크로마토그래피를 시행하고 결과를 Radio-TLC 스캐너로 판독하였다.

3. NOTA, DOTA, DFO의 농도에 따른 ^{68}Ga 의 표지효율 측정

가장 표지효율이 높은 pH 조건에서 NOTA, DOTA, DFO의 농도에 따른 ^{68}Ga 의 표지효율을 측정하였다.

NOTA, DOTA, DFO 각 2, 5, 10, 20 nmol/0.66-8.26 μL 에 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 제너레이터에서 용출된 $^{68}\text{GaCl}_3$ 17-44 MBq/0.1 M HCl 0.5 mL을 넣고 섞어주었다. ^{68}Ga -NOTA는 1 M 초산나트륨 완충액 (pH 5.0) 0.5 mL을 넣어서 pH를 4.8로 맞추었고, ^{68}Ga -DOTA는 1 M 초산나트륨 완충액 (pH 4.0) 0.5 mL을 넣어서 pH를 3.6으로 ^{68}Ga -DFO는 1 M 초산나트륨 완충액 (pH 7.8) 0.5 mL을 넣어서 pH를 5.6으로 맞추었다. 혼합한 후 실온에서 10분 그리고 80°C에서 10분 동안 반응하였다.

^{68}Ga 이 표지된 각각의 NOTA, DOTA, DFO 용액의 방사화학적 표지효율을 측정하기 위하여 고정상으로 ITLC-SG와 이동상으로 0.1 M Na_2CO_3 를 사용하여 크로마토그래피를 시행하고 결과를 Radio-TLC 스캐너로 판독하였다.

4. ^{68}Ga -DFO의 시험관내 안정성 시험

^{68}Ga -DOTA와 ^{68}Ga -NOTA의 시험관내 안정성 시험은 이미 발표한 바 있다(9). 따라서 본 실험에서는 ^{68}Ga -DFO의 안정성만 검증하였다. 표지된 ^{68}Ga -DFO를 실온에서 그대로 두었을 때와 37°C에서 사람혈청과 배양했을 때의 안정성을 확인하였다. 사람혈청에서의 안정성은 사람혈청 0.5 mL에 ^{68}Ga -DFO 49 MBq/0.5 mL을 넣고 섞은 후 37°C 배양기에서 10분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간 동안 반응하면서 고정상으로 ITLC-SG와 이동상으로 0.1 M Na_2CO_3 를 사용하여 크로마토그래피를 시행하고 결과를 Radio-TLC 스캐너로 판독하였다.

5. 혈액 속 적혈구 및 단백질 결합 분율 측정

^{68}Ga -DOTA와 ^{68}Ga -NOTA의 혈액 속 적혈구 및 단백질 결합 분율 측정 시험은 이미 발표한 바 있다(9). 따라서 본 실험에서는 ^{68}Ga -DFO의 혈액 속 적혈구 및 단백질 결합 분율만 측정하였다. ^{68}Ga -DFO의 사람 혈청에서 단백질 결합 분율을 확인하기 위하여 사람 혈청 0.5 mL에 ^{68}Ga -DFO 925 kBq/20 μL 을 넣고 섞은 후 37°C 배양기에서 10, 60분 동안 반응하였다. 반응 후 PD-10 컬럼에 반응액 0.1 mL을 넣은 후 인산염완충식염액(phosphate buffered saline, PBS)을 흘려주면서 각각의 분획 (fraction) 0.5 mL씩을

5 mL 시험관에 받은 후 감마카운터를 사용하여 방사능을 측정하였다.

PD-10 컬럼은 사용 전에 금속이온과 단백질이 컬럼내부에 흡착되는 것을 방지하기 위하여 1% BSA (bovine serum albumin)/0.1 M DTPA 1.0 mL을 흘려준 후 PBS 100 mL을 흘려주어 충분히 세척해 주었다. 취한 각각의 분획에서의 단백질의 존재 유무를 확인하기 위하여 여과지에 반응액 2 μL 씩 점적한 후 Coomassie blue 용액을 사용하여 단백질을 염색함으로써 그 유무를 확인하였다. 단백질 결합률(%)=(단백질이 존재하는 fraction의 방사능 [cpm]/전체 fraction의 방사능 [cpm]) \times 100%으로 계산하였다.

사람혈액 속에서 ^{68}Ga -DFO가 적혈구 또는 단백질과 결합하는 것을 확인하기 위하여 사람혈액 2.0 mL에 ^{68}Ga -DFO 666 $\mu\text{Ci}/20$ μL 을 넣고 섞은 후 37°C 배양기에서 10, 60분 동안 반응하였다. 반응액 0.5 mL을 5 mL 시험관에 옮겨 담은 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 적혈구와 혈청을 분리한 후 분리된 혈청에 15% TCA (trichloroacetic acid) 1.0 mL을 섞고 난 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 단백질을 침전시켰다. 감마카운터를 사용하여 각각의 적혈구와 단백질, 결합하지 않은 상층액의 방사능을 측정하였다.

Result and Discussion

DFO는 알루미늄이나 철을 체내에서 킬레이트로 만들어 신속하게 배설하는 해독제로 허가를 받고 오랫동안 사용되어 왔다(13-16). 따라서 ^{68}Ga 을 표지한 DFO는 품목 허가를 받을 필요가 없거나 쉽게 받을 수 있는 장점이 있다. 우리는 ^{68}Ga -NOTA는 신장의 사구체여과율을 영상화하는 방사성의약품으로 사용될 수 있는 결과를 발표하였지만(9), 그래도 이는 허가를 받기 위한 전임상 및 임상시험을 통과하여야 제품화할 수 있다. 또한 각종 펩타이드의 ^{68}Ga 표지에 양기능성킬레이트제로 NOTA 대신에 DFO로 사용할 수 있는 방안을 고려해 볼 수도 있을 것이다.

우선 기본적인 표지 실험 결과는 ^{68}Ga -NOTA와 ^{68}Ga -DOTA, ^{68}Ga -DFO 3 가지 킬레이트제 모두 거의 같은 양상의 TLC 결과를 보여주었다. 즉 3가지 모두 ITLC-SG/0.1 M Na_2CO_3 에서 $R_f = 1.0$ 이었고, Free $^{68}\text{GaCl}_3$ 는 $R_f=0.0$ 이었다 (Figure 2).

NOTA, DOTA, DFO 각 2 μM 농도를 사용하여 pH를 변화시켜가며 표지하여 보니 ^{68}Ga -NOTA는 pH 4.4-5.6에서 실온과 80°C로 가열하였을 때 모두 표지효율이 85% 이상으로 높았고, 특히 pH 5.6에서 80°C로 가열하였을 때

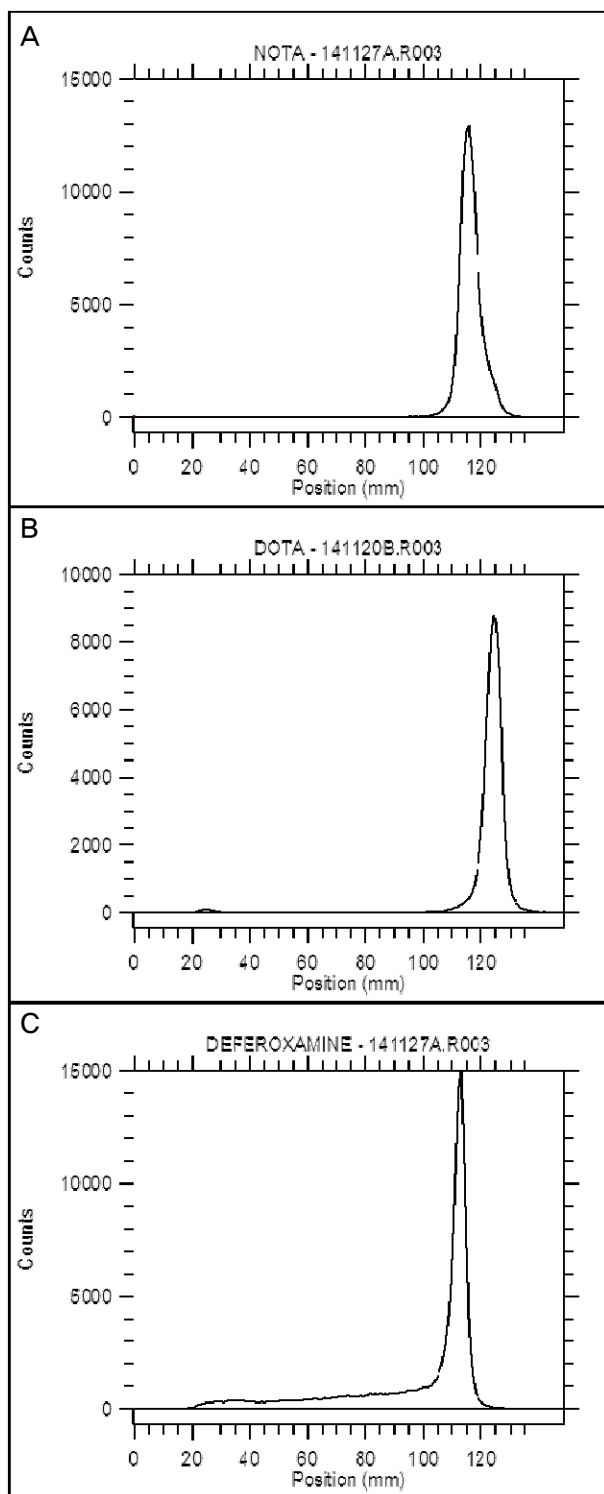


Figure 2. ITLC chromatograms of ⁶⁸Ga-NOTA (A), ⁶⁸Ga-DOTA (B) and ⁶⁸Ga-DFO (C).

97.1%로 가장 높았다. ⁶⁸Ga-DOTA는 실온에서는 표지효율이 4% 이하로 매우 낮았고, 80°C로 가열하였을 때 pH

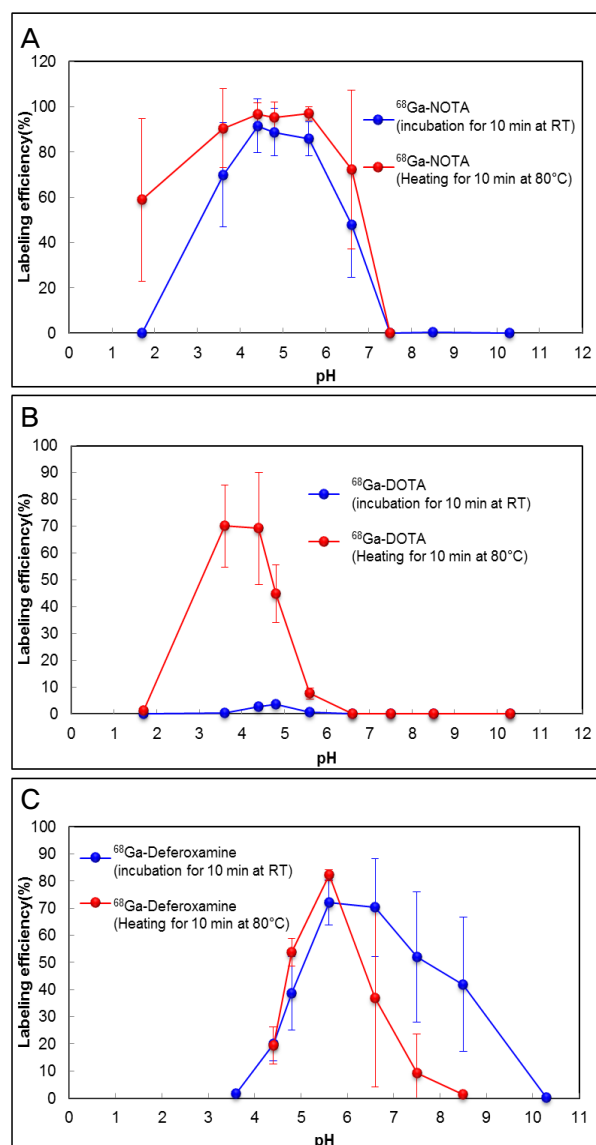


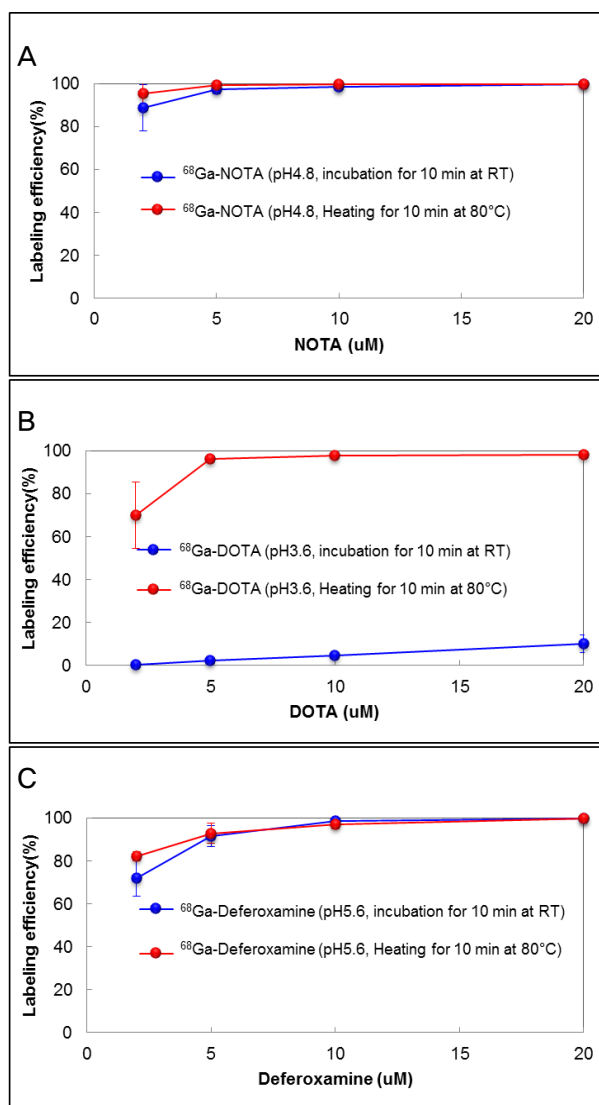
Figure 3. pH dependent labeling efficiency of ⁶⁸Ga-NOTA (A), ⁶⁸Ga-DOTA (B) and ⁶⁸Ga-DFO (C) labeled at 2 μM concentration of chelating agents.

3.6에서 70.0±15.4%로 제일 높았다. ⁶⁸Ga-DFO의 표지효율은 ⁶⁸Ga-DOTA보다 실온과 80°C로 가열하였을 때 모두 높았고, pH 5.6에서 실온과 가열시 각각 72.0±8.3%, 82.3±2.0%로 제일 높았다. 그러나 pH 6.6-10.3에서는 80°C로 가열하였을 때 오히려 실온에서 반응한 것보다 낮았다(Figure 3, Table 1). 이러한 현상은 DFO의 안정성과 관련이 있을 것으로 추측된다.

⁶⁸Ga-NOTA와 ⁶⁸Ga-DOTA, ⁶⁸Ga-DFO의 가장 표지가 잘 되는 pH는 각각 pH 4.4, pH 3.6, pH 5.6이었다. 가장 표지가 잘 되는 pH에서 NOTA, DOTA, DFO 10 uM 농도를 사

Table 1. Labeling Efficiencies of 2 μM Chelating Agents at Different pH's

pH	^{68}Ga -NOTA		^{68}Ga -DOTA		^{68}Ga -DFO	
	RT	80°C	RT	80°C	RT	80°C
1.7	0.0±0.0*	59.0±36.0	0.0±0.0	1.2±0.7	-	-
3.6	69.9±23.1	90.6±17.5	0.5±0.1	70.0±15.4	1.7	-
4.4	91.7±11.9	96.8±5.0	2.8±0.6	69.2±20.9	20.1±6.2	19.4±6.9
4.8	88.9±10.6	95.5±6.5	3.5±0.3	44.9±10.7	38.5±13.6	53.7±5.2
5.6	85.8±7.4	97.1±3.0	0.8±0.2	7.7±2.1	72.0±8.3	82.3±2.0
6.6	47.9±23.3	72.2±35.1	0.0	0.0	70.2±18.1	36.9±32.9
7.5	0.2±0.1	0.2	0.0	0.0	52.0±24.0	9.1±14.6
8.5	0.2	-	0.0	0.0	42.0±24.7	1.5±0.9
10.3	0.0	-	0.0	0.0	0.2	-

Mean \pm SD (n = 4-5).**Figure 4.** Labeling efficiencies of ^{68}Ga -NOTA (A), ^{68}Ga -DOTA (B) and ^{68}Ga -DFO (C) at the optimal pH according to the concentration of chelating agent.

용하여 표지하였을 때 ^{68}Ga -NOTA와 ^{68}Ga -DFO는 실온과 80°C로 가열시 모두에서 97% 이상의 높은 표지효율을 보였고, ^{68}Ga -DOTA는 가열하였을 때만 97%로 높았다 (Figure 4, Table 2). 따라서 일반적으로 사용되는 양기능성 킬레이트제와 펩타이드 결합체 표지시의 농도범위에서는 충분히 높은 표지효율을 보여 준다는 것을 밝혔다.

^{68}Ga -DFO는 실온에 그대로 두었을 때와 사람혈청과 혼합하여 37°C에서 배양하였을 때 모두 4시간 동안 99% 이상의 안정성을 보여주었다. ^{68}Ga -NOTA와 ^{68}Ga -DOTA의 사람혈청 중의 안정성은 이미 보고된 바 있다(9). 따라서 이 3가지 킬레이트제 모두 인체에 사용 가능성이 있음을 알 수 있었다.

^{68}Ga -DFO의 사람혈청 단백질과의 결합능을 측정하기 위하여 사람혈청과 혼합한 다음 PD-10 칼럼으로 걸어서 0.5 mL씩 30개의 분획을 취하였다(Figure 5). 각각의 분획을 Coomassie blue로 염색한 결과 7, 8, 9 번째 분획에서 염색이 된 것으로 보아 이 분획들에 단백질이 포함됨을 알 수 있었다. 따라서 단백질 결합 분획과 결합하지 않은 분획의 방사능을 측정하여 단백질 결합능을 계산한 결과 ^{68}Ga -DFO의 사람 혈청에서의 단백질 결합률은 10분 후에 11.12%, 1시간 후에는 14.18%로 기존에 보고된 ^{68}Ga -NOTA와 ^{68}Ga -DOTA의 2.08-3.32% 보다는 높았다(Table 3). 따라서 ^{68}Ga -DFO는 사구체여과용 영상용 방사성의약품으로는 적당하지 않다는 것을 알았다. 왜냐하면 단백질에 결합한 방사성의약품은 사구체 여과가 되지 않기 때문이다(17,18). 이렇게 DFO의 단백질 결합률이 높은 이유는 명확하지 않다. 화학구조상 지용성이 강하면 알부민과 결합할 수도 있고, 또 혹시 안정성이 낮으면 혈청 중의 트랜스페린으로 트랜스킬레이션이 일어날 수도 있겠지만 지용성도 약하고 안정성도 좋으므로 그렇게 보기는 힘들다.

37°C 사람혈액에서 ^{68}Ga -DFO의 적혈구와 단백질 결합

Table 2. Labeling Efficiencies of Chelating Agents at Optimal pH Conditions

Conc. (μM)	⁶⁸ Ga-NOTA		⁶⁸ Ga-DOTA		⁶⁸ Ga-Deferoxamine	
	RT	80 °C	RT	80 °C	RT	80 °C
2	88.88±10.62	95.53±6.53	0.45±0.07	70.02±15.38	72.02±8.27	82.26±2.03
5	97.35±1.87	99.57±0.28	2.28±0.99	96.28±0.38	91.58±5.02	92.97±4.70
10	98.66±0.97	99.73±0.21	4.62±1.76	97.82±0.42	98.83±0.63	97.12±1.97
20	99.77±0.13	99.92±0.04	10.14±4.10	98.14±0.94	99.84±0.19	99.93±0.03

Mean ± SD (n = 3-5).

Table 3. Protein Binding (%) of Labeled Chelating Agents after Incubation with Human Serum at 37 °C

	⁶⁸ Ga-NOTA ^{a)}	⁶⁸ Ga-DOTA ^{a)}	⁶⁸ Ga-Deferoxamine
10 min	2.08±0.01	2.04±0.15	11.12±1.00
60 min	2.67±0.04	3.32±0.24	14.18±1.64

^{a)}Nucl Med Mol imaging 2009;43(4):330-336, Mean ± SD (n = 3).

Table 4. RBC and Protein Bindings (%) of ⁶⁸Ga-DFO after Incubation with Human Whole Blood at 37 °C

	RBC binding	Protein binding	Supernatant
10 min	2.35±0.14	12.48±0.88	85.17±0.82
60 min	2.35±0.28	11.81±0.57	85.85±0.43

Mean ± SD (n = 3).

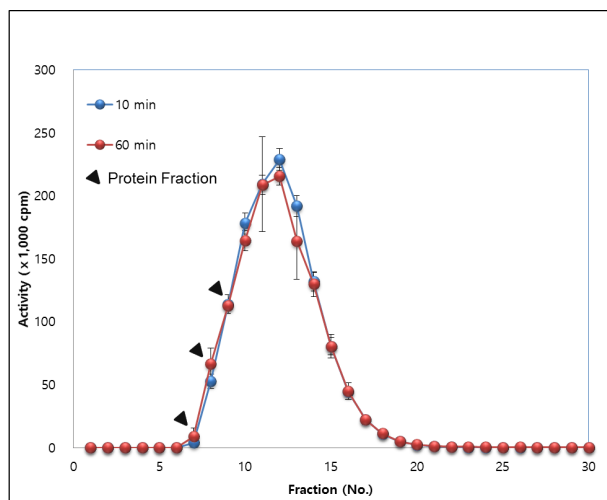


Figure 5. The elution profile of ⁶⁸Ga-DFO from PD-10 column after incubation with human serum. Each fraction size was 0.5 mL. Protein-containing fractions were detected by Coomassie blue staining after dotting onto a filter paper and found to be fraction number 7-9.

능을 침전법으로 측정하였다. ⁶⁸Ga-DFO의 적혈구와 단백질 결합능은 10분 후 각각 2.35%와 12.48%였고, 1 시간 후에는 각각 2.35%와 11.81%였다(Table 4). 이 결과는 ⁶⁸Ga-DFO가 적혈구에는 거의 결합하거나 들어가지 않는다는 결과를 보여 주었다. 그러나 단백질 결합 때문에 신장 영상용 방사성의약품으로는 적합하지 않다는 결과를 다시 보여 주었다.

Conclusion

이 실험의 결과 DFO는 최적 pH 조건(pH 5.6)에서 높은 효율로 ⁶⁸Ga 표지가 되고 사람혈청에서 안정성이 높아 다른 펩타이드 등에 결합하여 사용하는 양기능성킬레이트제로 개발할 가치가 충분이 있음을 밝혔다. 그러나 높은 단백질결합률 때문에 ⁶⁸Ga-DFO 자체는 신장영상용 방사성의약품으로 적절하지 않다는 것을 알았다.

Acknowledgments

이 연구는 한국연구재단 도약연구과제(2013RIA2A1A05006227)와 방사선연구개발과제(NRF-2012M2A2A7035853)의 지원을 받았으며, 다른 이해관계는 없음을 밝힙니다.

References

- Shetty D, Lee YS, Jeong JM. ⁶⁸Ga-labeled radiopharmaceuticals for positron emission tomography. *Nucl Med Mol Imaging* 2010;44:233-240.
- Yang BY, Jeong JM, Kim YJ, Choi JY, Lee YS, Lee DS, Chung JK, Lee MC. Formulation of ⁶⁸Ga BAPEN kit for myocardial positron emission tomography imaging and biodistribution study. *Nucl Med Biol* 2010;37:149-155.
- Choi JY, Jeong JM, Yoo BC, Kim K, Kim Y, Yang BY, Lee YS, Lee

- DS, Chung JK, Lee MC. Development of ^{68}Ga -labeled mannosylated human serum albumin (MSA) as a lymph node imaging agent for positron emission tomography. *Nucl Med Biol* 2011;38:371-379.
- Breeman WA, Verbruggen AM. The $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator has high potential, but when can we use ^{68}Ga -labelled tracers in clinical routine? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:978-981.
 - Greene MW, Tucker WD. An improved gallium-68 cow. *Int J Appl Radiat Isot* 1961;12:62-63.
 - Roesch F. Maturation of a key resource - the germanium-68/gallium-68 generator: development and new insights. *Curr Radiopharm* 2012;5:202-211.
 - Zhernosekov KP, Filosofov DV, Baum RP, Aschoff P, Bihl H, Razbash AA, Jahn M, Jennewein M, Rösch F. Processing of generator-produced ^{68}Ga for medical application. *J Nucl Med* 2007;48:1741-1748.
 - Jeong JM, Kim YJ, Lee YS, Lee DS, Chung JK, Lee MC. Radiolabeling of NOTA and DOTA with positron emitting ^{68}Ga and investigation of in vitro properties. *Nucl Med Mol Imaging* 2009;43:330-336.
 - Lee JY, Jeong JM, Kim YJ, Jeong HJ, Lee YS, Lee DS, Chung JK. Preparation of Ga-68-NOTA as a renal PET agent and feasibility tests in mice. *Nucl Med Biol* 2014;41:210-215.
 - 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: ^{68}Ga -labeled c(RGDyK)-isothiocyanatobenzyl-1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid and feasibility studies in mice. *J Nucl Med* 2008;49:830-836.
 - Parker D. Tumor targeting with radiolabeled macrocycle antibody conjugates. *Chem Soc Rev* 1990;19:271-291.
 - Studer M, Meares CF. Synthesis of novel 1,4,7-triazacyclononane- $\text{N},\text{N}',\text{N}''$ -triacetic acid derivatives suitable for protein labeling. *Bioconjug Chem* 1992;3:337-341.
 - Giardina PJ, Grady RW. Chelation-therapy in beta-thalassemia: the benefits and limitations of desferrioxamine. *Semin Hematol* 1995;32:304-312.
 - Hernandez P, Johnson CA. Deferoxamine for aluminum toxicity in dialysis patients. *ANNA J* 1990;17:224-228.
 - Milliner DS, Nebeker HG, Ott SM, Andress DL, Sherrard DJ, Alfrey AC, Slatopolsky EA, Coburn JW. Use of the deferoxamine infusion test in the diagnosis of aluminum-related osteodystrophy. *Ann Intern Med* 1984;101:775-780.
 - Cappellini MD, Bejaoui M, Agaoglu L, Porter J, Coates T, Jeng M, Lai ME, Mangiagli A, Strauss G, Girot R, Watman N, Ferster A, Loggetto S, Abish S, Cario H, Zoumbos N, Vichinsky E, Opitz H, Ressayre-Djaffer C, Abetz L, Rofail D, Baladi JF. Prospective evaluation of patient-reported outcomes during treatment with deferasirox or deferoxamine for iron overload in patients with beta-thalassemia. *Clin Ther* 2007;29:909-917.
 - Stacy BD, Thorburn GD. Chromium-51 ethylenediaminetetraacetate for estimation of glomerular filtration rate. *Science* 1966;152:1076-1077.
 - Qi Z, Whitt I, Mehta A, Jin J, Zhao M, Harris RC, Fogo AB, Breyer MD. Serial determination of glomerular filtration rate in conscious mice using FITC-inulin clearance. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F590-F596.