

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

Galectin-3 腫瘤標靶造影藥物之先期研究
Preliminary study on development of radiopharmaceutical for imaging
oncological galectin-3

計畫編號：1002001INER080

受委託機關(構)：長庚大學

計畫主持人：魏孝萍

聯絡電話：(03)-2118800 轉 5388

E-mail address：spwey@mail.cgu.edu.tw

核研所聯絡人員：廖美秀

報告日期：民國 100 年 11 月 30 日

目 錄

目 錄.....	i
中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
壹、計畫緣起與目的.....	3
貳、研究方法與過程.....	7
一、製備 GSG-G3-C12 胜肽.....	7
二、製備 DOTA- GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物.....	7
三、HPLC 分析 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物.....	8
四、質譜儀分析 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物.....	8
五、鍍-68/鎳-68 發生器之淘洗與純化濃縮.....	9
六、鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物.....	10
七、HPLC 分析鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物.....	11
參、主要發現與結論.....	12
肆、參考文獻.....	17

中文摘要

Galectin-3是半乳糖苷結合蛋白質家族的一員，能選擇性地與細胞表面的碳水化合物特異性結合，此與細胞的附著、腫瘤的入侵與轉移有關。已知 galectin-3會過度表現在許多腫瘤組織，例如乳癌與攝護腺癌，與腫瘤細胞的增長與轉移關係密切。根據這些事實，以放射性核種標幟會特異性結合 galectin-3 的分子可以作為非侵犯性造影檢查galectin-3過度表現的腫瘤，也可以進一步針對galectin-3發展放射性核種的腫瘤標靶治療。本研究以鍍-68/鎩-68發生器產出的鎩-68研製預期會特異性結合腫瘤表現galectin-3的鎩-68標幟G3-C12胜肽放射藥物。

關鍵詞：Galectin-3 腫瘤標靶造影藥物，胜肽合成，胜肽分析

Abstract

Galectin-3 is a member of the galectin (a carbohydrate binding protein) family of β -galactoside-binding animal lectins implicated in cell adhesion, tumor invasion and metastasis. Galectin-3 is overexpressed in a wide range of neoplasms, such as breast cancer and prostate cancer, and is associated with tumor growth and metastases. Given this fact, radiolabeled galectin-3-targeting molecules may be useful for the noninvasive imaging of tumors expressing galectin-3, as well as for targeted radionuclide therapy. In this study, we developed and evaluated the preparation of ^{68}Ga -labeled G3-C12 peptide, which may specifically target to oncological galectin-3 expression, using ^{68}Ga eluted from a $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator.

Key words: Galectin-3 tracer for tumor imaging, peptide synthesis, peptide analysis

壹、計畫緣起與目的

腫瘤由原位轉移到遠端器官是癌病的一項重要特徵 [1]，開始轉移的過程中，腫瘤細胞與內皮細胞之間表面附著為重要步驟 [2,3]，必須藉助能與碳水化合物結合的半乳糖苷結合蛋白、integrins、cadherin、免疫球蛋白(immunoglobulins) 以及 laminin 等分子 [4,5]。

Galectin-3 是一個分子量為 31 kDa 的蛋白質，屬於哺乳類-半乳糖苷結合蛋白的家族 (galectin family) 的一員，在細胞核或是細胞質中表現，再分泌到細胞外 [6,7]。Galectin-3 可以存在於細胞質、細胞表面 [8]、細胞核中 [9] 或細胞間質 [10,11]，取決於細胞種類與增生狀態。所有的半乳糖苷結合蛋白家族成員都含有碳水化合物識別區 (carbohydrate-recognition domain; CRD)，能選擇性地與細胞表面的碳水化合物特異性結合。Galectin-3 會與某些碳水化合物、細胞外間質蛋白結合，藉由促進腫瘤細胞的附著、侵入 [12]、對抗腫瘤細胞凋亡 [13,14]、誘導內皮組織與血管增生等機制 [15]，加速腫瘤細胞的轉移。

已知 Galectin-3 會過度表現在一些腫瘤組織，例如乳癌 [16,17] 與攝護腺癌 [18]，Galectin-3 的表現與許多腫瘤細胞在人體內的變化與轉移相互關聯 [19]，而且在轉移的腫瘤 Galectin-3 的表現程度高於原發性腫瘤 [20,21]。

TFA (Thomsen-Friedenreich antigen；一種細胞表面 Gal β 1-3GalNAc 雙糖抗原) 已被證實會出現在高達90%的腺癌細胞 (adenocarcinomas)[22]。在許多能與Galectin-3結合的碳水化合物當中，TFA最為重要。Galectin-3與腫瘤細胞表面的TFA結合會促使內皮細胞表面的其他Galectin-3聚集到腫瘤與內皮細胞的接觸面 [23]，所以Galectin-3與TFA的結合很可能在腫瘤細胞血管內轉移初期扮演關鍵角色。因此，阻止Galectin-3與TFA的結合自然成為抗癌藥物發展的一個方向。

大部分的Galectin-3-TFA結合抑制劑都包含能與Galectin CRD (碳水化合物識別區) 結合的碳水化合物結構 [24]，然而Galectin CRD普遍存在於Galectin家族，所以這一類的藥物既能結合Galectin-3，也能結合Galectin家族其他成員，對於Galectin-3的特異性不足。

美國米蘇里大學研究團隊使用Bacteriophage display技術篩選出G3-C12 (胺基酸系列為ANTPCGPYTHDCPVKR) 與G3-A9 (胺基酸系列為PQNSKIPGPTFLDPH) 兩段胜肽 [25]，利用培養的乳癌細胞實驗證實G3-C12胜肽能特異性結合Galectin-3 [25]。從抑制TFA結合的抗癌藥物觀點來看，G3-C12胜肽結合到Galectin-3 CRD的C端，從而阻斷TFA的結合。

Kumar 等人 [26] 以銥-111 標幟 G3-C12 胜肽，成功用於人類乳癌細胞 [26]及攝護腺癌 [27] 轉植小鼠模型之 SPECT 造影，顯示放射性核種標幟 G3-C12 胜肽極有潛力發展成為檢測腫瘤轉移標靶 Galectin-3 造影藥物。

鎩-68 在核子醫學應用與 PET 造影的快速成長有密切關係。鎩-68 的物理半衰期為 68 分鐘，在 PET 造影的方便性還是優於碳-11 等短半衰期同位素 [20]。鎩-68 必須藉由鎳-68/鎩-68 發生器提供，由於鎳-68 之物理半衰期為 270 天，所以鎳-68/鎩-68 發生器的使用壽命可以長達一年或更久的時間；對於沒有迴旋加速器製造 PET 藥物的醫院而言，鎳-68/鎩-68 發生器提供另一種不需要加速器的選擇。

始自 1970 年代迄今，已有許多鎩-68 標幟藥物用於心臟、肝臟、腎臟及腫瘤抗藥基因的研究[29-38]，然而，鎩-68 標幟藥物在臨床造影應用目前仍然不普遍，顯然受限於沒有足夠及普遍性的鎳-68/鎩-68 發生器供應。由於 PET 造影的成長迅速，針對不同造影需求的 PET 放射藥物的發展，近年早已凌駕甚至超越傳統核醫 SPECT 藥物的成長。PET 藥物強勢成長趨勢也同步帶動發生器型正子放射性同位素的市場開發。南非、德國、俄羅斯等國已有鎳-68/鎩-68 發生器供應市場開發新的鎩-68 放射藥物；國內核能研

研究所也正進行鍍-68/鎘-68 發生器的研發。這種趨勢的發展有利於鎘-68 放射藥物的研發與應用。

本研究目的為合成會特異性結合 Galectin-3 的 G3-C12-DOTA 耦合物，發展鎘-68 正子放射性同位素標幟胜肽類核醫藥物，並以腫瘤細胞評估其生物特性。本年度工作內容包括：(1) DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物之合成及純化；(2) 放射性鎘標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物；(3) 放射性鎘標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物之放射化學分析。

核能研究所為國內最具規模之核醫放射藥物研發與製造中心，以往在醫用放射性同位素生產及胜肽藥物研發製造已有成效，其中鈾-111 標幟 DTPA-體抑素 (octreotide) 已獲得衛生署藥品許可證，並供應國內核子醫學檢查內分泌型惡性腫瘤病灶。本研究如能證實鎘-68 標幟 G3-C12 胜肽能與表現 Galectin-3 之乳癌細胞有特異性結合，未來可以配合核研所的醫用放射性同位素生產及胜肽藥物製造能力，進一步開發新一代的乳癌、攝護腺癌造影劑用以鑑別是否為 Galectin-3 表現的癌病灶；計劃如能成功，對於國內乳癌、攝護腺癌的治療規劃與預後評估，會有重大貢獻。

貳、研究方法與過程

一、製備 GSG-G3-C12 胜肽

本研究以固相 Fmoc 胜肽合成法依據 (GSG)-ANTPCGPYTHDCPVKR 之胺基酸序列由 C 端開始逐步合成胜肽。完成合成的粗產物加入斷切劑 (含 0.67 g 酚、0.22 ml EDT、0.44 ml thioanisole、0.44 ml 二次水、8.9 ml 三氟醋酸) 攪拌 90 分鐘。過濾後之濾液流入內裝 45 ml 冰乙醚的離心管中，以冰塊冷卻 20~25 分鐘後，使用冷凍離心機以 3,000 rpm 離心 5 分鐘。移除上清液後，以冰乙醚重複洗沉澱物 3 次，置抽風櫃上風乾，再以冷凍乾燥得到成品 GSG-G3-C12 胜肽。

二、製備 DOTA- GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物

本研究使用 DOTA 雙官能基螯合化合物耦合 GSG-G3-C12 以利放射性鎂同位素標幟。DOTA 將與 GSG-G3-C12 胜肽分子的 N 端的胺基酸 Alanine 反應形成醯胺共價鍵。耦合反應後的 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物利用半製備級 C18 逆相 HPLC 純化後，以冷凍濃縮乾燥 DOTA-GSG-G3- C12 胜肽耦合化合物。

三、HPLC 分析 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物

HPLC 系統包括：Empower 軟體、Waters 600 pump、Waters 2997 photodiode array 偵檢器 (波長設定為 220 nm) 及 20- μ l loop。逆相 HPLC 分析管柱為 Phenomenex Gemini 5 μ m C₁₈ 管柱 (4.6 \times 250 mm)。以等濃度 (isocratic) 含 0.1 % (v/v) 三氟醋酸之 15% 乙腈水溶液為移動相；流速設定為每分鐘 1 ml。

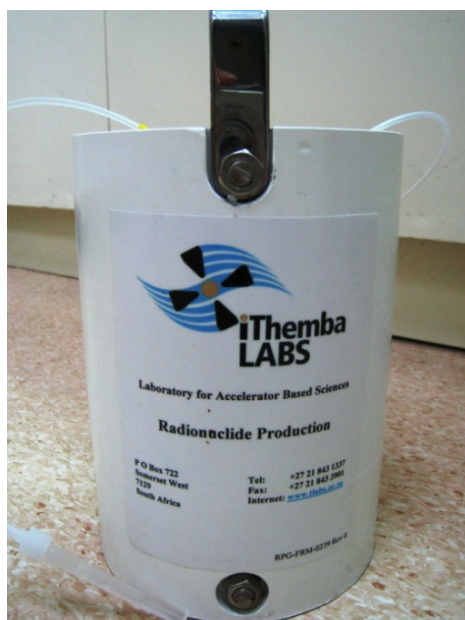
四、質譜儀分析 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合化合物

本研究使用長庚大學貴重儀器中心的 Ultraflex TOF/TOF 質譜儀 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) 進行合成胜肽的 MS 及 MS/MS 質譜分析。胜肽的質譜分析使用德國 Bruker Daltonics 公司提供的 FlexAnalysis 2.2 軟體完成，使用 SNAP 頻波檢測演算 (peak detection algorithm)，信號/雜訊比閾值 (signal-to-noise threshold) 設定為 2，頻波最大數量 (maximal number of peaks) 設定為 200，頻寬 (peak width) 設定為 0.75 m/z，quality factor threshold 設定為 50。系統內部調校使用小牛血清白蛋白 (BSA, m/z 927.49)、人類血管增壓素 II (angiotensin II, m/z 1046.54) 與腎上腺皮質刺激素 18-39 片段 [ACTH-(18-39), m/z 2465.198] 之混合樣品，調校質量精確度為 50 ppm 以內。分析及調校的質譜頻波藉由德國 Bruker Daltonics 公司提供的 BioTools 2.2 軟體

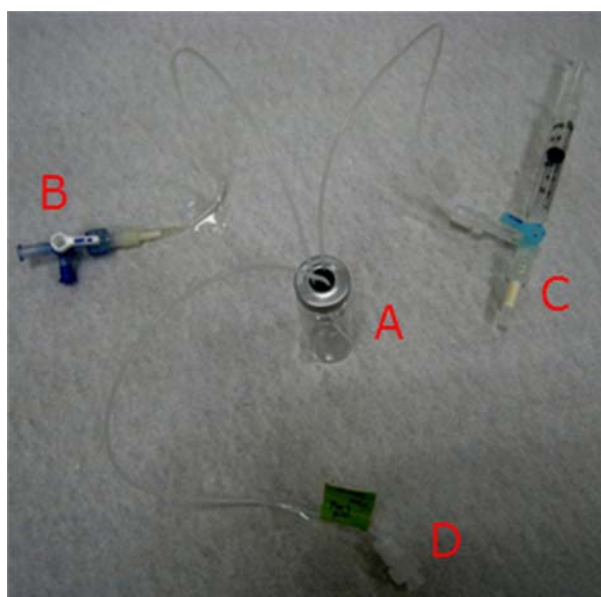
及由英國 Matrix Science 公司提供的 MASCOT engine (version 2.1) 與 National Center for Biotechnology non-redundant (NCBI nr) 資料庫 (released at April 2005; 2,506,589 sequences; 850,049,330 residues) 比對。

五、鍺-68/鎵-68 發生器之淘洗與純化濃縮

50 mCi 鍺-68/鎵-68 發生器 (南非 iThemba LABS, 圖一) 以高純度 0.6 N HCl 淘洗。淘洗液 (5 mL) 加入高純度鹽酸調整為 4 N HCl 溶液, 通過一 CHROMABOND PS-HCO₃ 陰離子交換樹脂小管柱。以 2 mL 4 N HCl 流洗小管柱後, 以 0.6 mL 高純度水洗出吸附的鎵-68 (純化濃縮裝置管線如圖二)。



圖一、南非 iThemba LABS 鍺-68/鎵-68 發生器



圖二、鎶-68 純化濃縮裝置管線。(A) 收集發生器鎶-68 淘洗液及調整 HCl 酸度小瓶；(B) 連接發生器出口之三通閥；(C) 4N HCl 淘洗及吹氣三通閥；(D) CHROMABOND PS-HCO₃ 陰離子交換樹脂小管柱。

六、鎶-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物

取 16 μg DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物置於一玻璃試管，加入 1 mL 0.5 M HEPES 溶液及前述 0.6 mL 純化濃縮鎶-68 溶液，混合均勻後放入恆溫乾浴器中，以 90°C 加熱 10 分鐘，或以 CEM 聚焦微波 (圖三) 以 90°C 加熱 1 分鐘，即完成標幟。將反應液移入一 Waters C18 light 小管柱，先以 5 ml 注射用水流洗移除極性不純物，再以 0.5 ml 乙醇洗出放射性鎶標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物。以無菌生理食鹽水稀釋乙醇

溶液至適當濃度。鎳-68 標幟胜肽耦合物以逆相 HPLC 分析放射化學純度。



圖三、CEM 聚焦微波加熱器

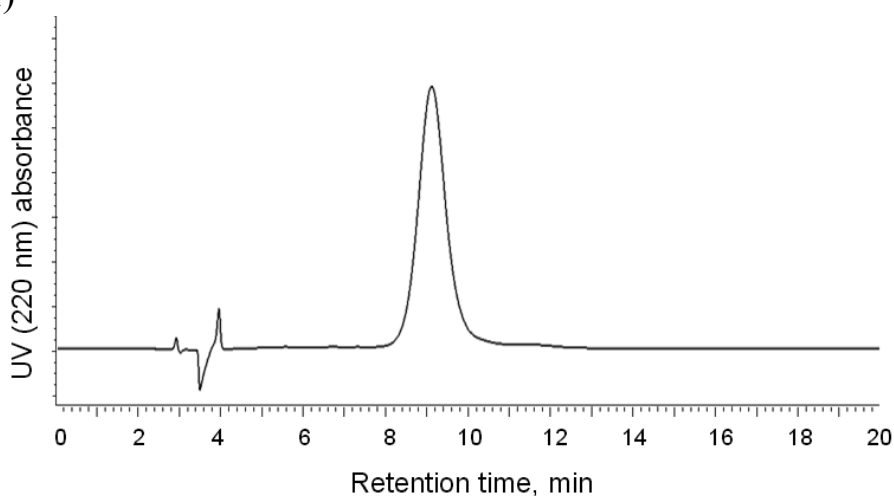
七、HPLC 分析鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物

HPLC 系統包括：Empower 軟體、Waters 600 pump、Waters 2997 photodiode array 偵檢器（波長設定為 220 nm）、Bioscan B-FC-1000 Flow Count 輻射偵測器及 20- μ l loop。逆相 HPLC 分析管柱為 Phenomenex Gemini 5 μ m C₁₈ 管柱 (4.6 \times 250 mm)。以等濃度 (isocratic) 含 0.1 % (v/v) 三氟醋酸之 15% 乙腈水溶液為移動相；流速設定為每分鐘 1 ml。

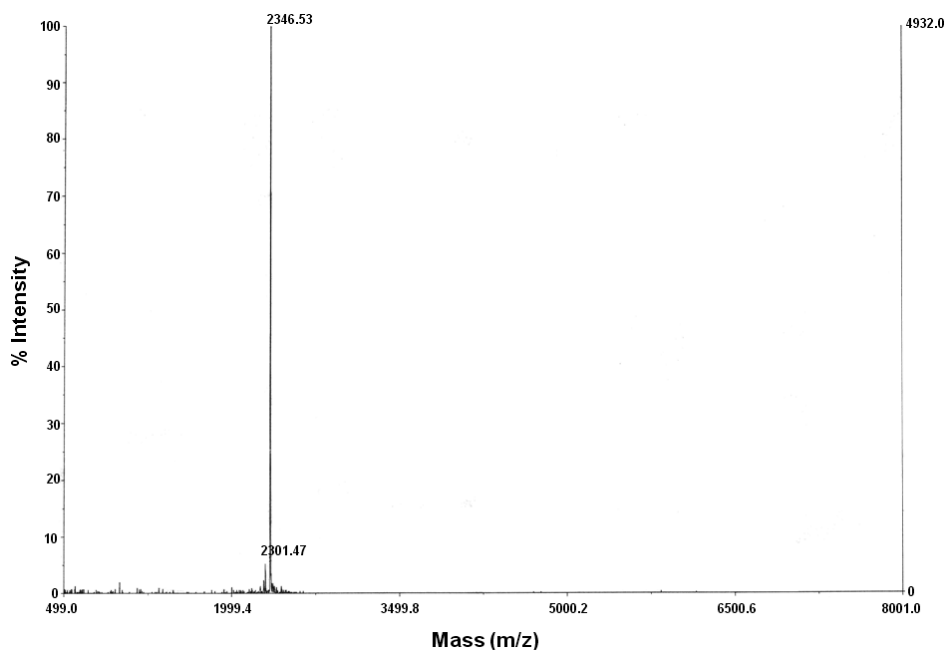
參、主要發現與結論

一、製備 DOTA-(GSG-G3-C12) 胜肽耦合化合物

本研究製備約 9 mg DOTA-(GSG)-ANTPCGPYTHDCPVKR 胜肽耦合物，HPLC 分析純度為 98.3% (圖四)；Electrospray 質譜儀分析 M/Z+信號為 2346.53，符合該胜肽耦合物分子量 (2346.6) (圖五)。



圖四、HPLC 分析 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合化合物圖譜

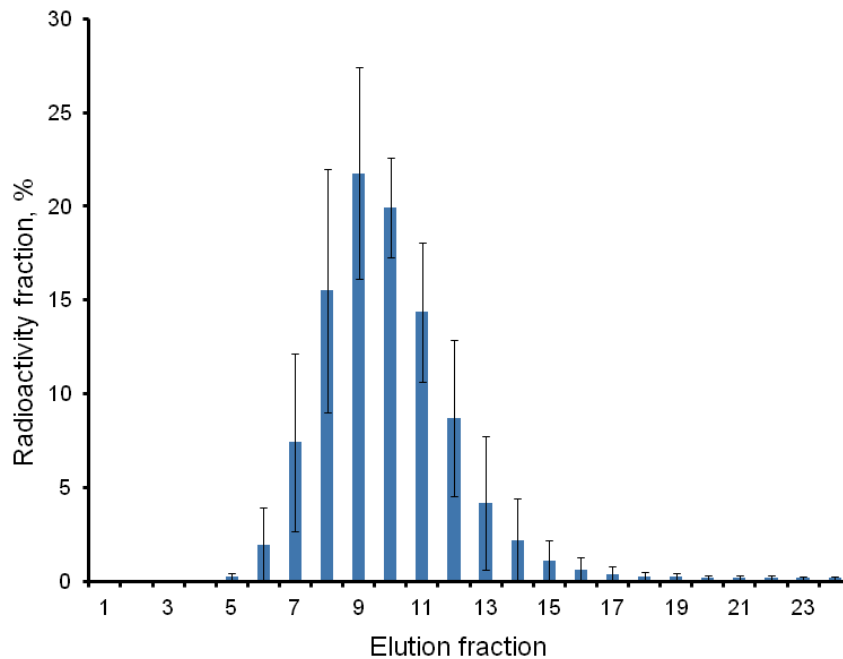


圖五、質譜儀分析 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合化合物圖譜

二、鍺-68/鎳-68 發生器之淘洗與純化濃縮

本研究原計畫以核能研究所產製之鎳-67 氯化鎳為原料製備放射性標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物進行放射化學及生物學研究。由於長庚醫院自南非 iThemba LABS 引進一鍺-68/鎳-68 發生器，本研究遂使用鎳-68 進行研究。鍺-68/鎳-68 發生器分別以 0.25 毫升 0.6 N HCl 分段淘洗之最高的鎳-68 的放射活度出現在第八到第十一支試管 (相當於淘洗體積 2.0 至 2.75 mL)(圖六)。鎳-68 溶液放置超過 24 小時候量測的鍺-68 總溶離度平均為鎳-68 放射活度的 0.066%。發生器淘洗鎳-68 之效率由最初之 86.2% (製造後 103 天) 逐漸下降至目前的 73.1% (製造後 266 天)。雖然 iThemba LABS 鍺-68/鎳-68 發生器淘洗效率優於文獻報導使用 Obninsk 或 IGG100 型 (德國 Eckert & Ziegler) 鍺-68/鎳-68 發生器，但 0.6 N HCl 淘洗液的酸度過大，無法直接用於標幟反應。

為取得足夠鎳-68 放射活度，必須收集全部的淘洗液 (5 mL in 0.6 N HCl)。大體積、高酸度且含有微量的鍺-68 不純核種，相當不適合鎳-68 的標幟反應。本研究使用高濃度 HCl 使淘洗液鎳-68 形成氯化鎳合物因離子，再以陰離子交換樹脂吸附，以 4 N HCl 洗出不純物後，最後以少量水 (0.4 mL) 洗出濃縮的鎳-68。純化濃縮效率為 64%-72%。

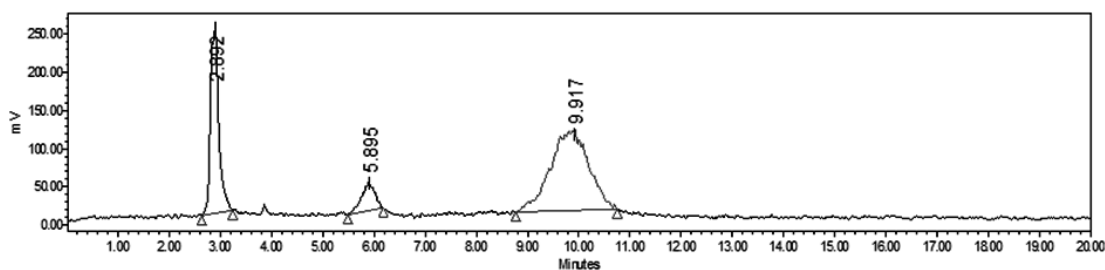


圖六、以 0.25 毫升 0.6 N HCl 分段淘洗 iThemba LABS 鎳-68/鎳-68 發生器之鎳-68 放射活度分布

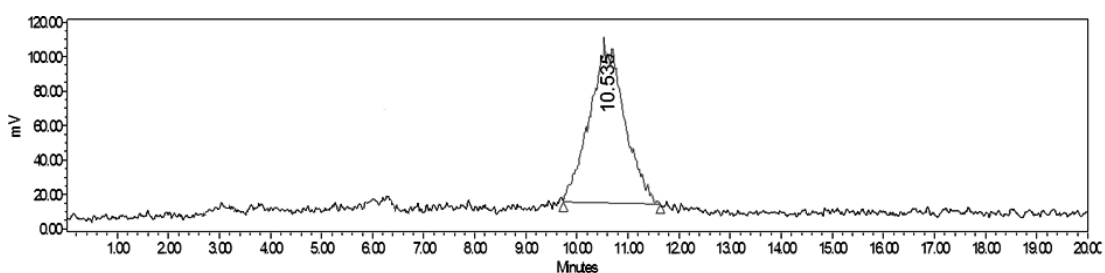
三、鎳-68 標幟 DOTA-GSGANTPCGPYTHDCPVKR 胜肽耦合物

本研究以 16 μg DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物、1 mL 0.5 M HEPES 溶液及 0.6 mL 純化濃縮鎳-68 之混合溶液，以 90°C 電熱板槽加熱 10 分鐘之標幟效率為 $55.2 \pm 7.5\%$ ($n = 6$)。同樣的反應溶液置於 CEM 聚焦微波以 90°C 加熱 1 分鐘，標幟效率為 $74.3 \pm 6.2\%$ ($n = 4$)(圖七)。聚焦微波加熱，在標幟效率與節省時間方面，顯然優於電熱板槽加熱。由於高濃度緩衝鹽類 (HEPES) 的加入，以逆相固態萃取小管柱移除這些鹽類的純化步驟實屬必要；純化回收效率約為 $79.3 \pm 5.2\%$ ($n = 6$)。純化後的鎳-68 標幟

DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽之放射化學純度大於 95% (圖八)。



圖七、HPLC 分析 CEM 聚焦微波 90°C 加熱 1 分鐘之未純化鎳-68-DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物標幟溶液之放射圖譜



圖八、HPLC 分析逆相固態萃取小管柱純化後鎳-68-DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物之放射圖譜

結論

本研究已達成 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物製備、發生器取得鎳-68 之純化濃縮，以及鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽等技術目標，可以接續執行生物活性評估研究。

未來引進鍺-68/鎵-68 發生器進行鎵-68 標幟用途時，應考慮 HCl 淘洗液酸度對標幟反應的不利影響。選擇低濃度 HCl 淘洗之鍺-68/鎵-68 發生器為上策，否則就應考量鎵-68 純化濃縮之必要性。

聚焦微波加熱可以大幅縮短標幟反應時間，對製備短半衰期鎵-68 標幟藥物而言，極具發展潛力。

肆、参考文献

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43-66.
2. Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA. Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Ann Rev Cell Biol* 1993;9:541-73.
3. Liotta LA. Cancer cell invasion and metastasis. *Sci Am* 1992;266:54-63.
4. Inohara H, Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion. *Cancer Res* 1995;55:3267-3271.
5. Bussemakers MJ, Schalken JA. The role of cell adhesion molecules and proteases in tumor invasion and metastasis. *World J Urol* 1996;14:151-156.
6. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994;269:20807-20810.
7. Raz A, Lotan R. Endogenous galactoside-binding lectins: a new class of functional tumor cell surface molecules related to metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1987;6:433-452.

8. Sato S, Hughes RCJ. Regulation of secretion and surface expression of Mac-2, a galactoside binding protein of macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:4424-4430.
9. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6452-6456.
10. Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med* 1998;76:402-412.
11. Sato S, Burdett I, Hughes RC. Secretion of the baby hamster kidney 30-kDA galactose binding lectin from polarized and nonpolarized cells: a pathway independent of the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Exp Cell Res* 1993;207:8-18.
12. Inohara H, Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion. *Cancer Res* 1995;55:3267-3271.
13. Matarrese P, Fusco O, Tinari N, et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int J Cancer* 2000;85:545-554.
14. Fukumori T, Oka N, Takenaka Y, et al. Galectin-3 regulates

- mitochondrial stability and antiapoptotic function in response to anticancer drug in prostate cancer. *Cancer Res* 2006;66:3114-3119.
15. Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, et al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol* 2000;156:899-909.
 16. Ochieng J, Warfield P, Green-Jarvis B, Fentie I. Galectin-3 regulates the adhesive interaction between breast carcinoma cells and elastin. *J Cell Biochem* 1999;75:505-514.
 17. Idikio H. Galectin-3 expression in human breast carcinoma: correlation with cancer histologic grade. *Int J Oncol* 1998;12:1287-1290.
 18. Wang I, Inohara H, Pienta KJ, Raz A. Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;217:292-303.
 19. Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. *Glycoconj J* 2004;19:543-549.
 20. Raz A, Lotan R. Lectin-like activities associated with human and murine neoplastic cells. *Cancer Res* 1981;41:3642-3647.
 21. Raz A, Zhu D, Hogan V, Shan N, Raz T, Karkash R, et al. Evidence for the role of 34-kDa galactoside-binding lectin in transformation

- and metastasis. *Int J Cancer* 1990;46:871-877.
22. Springer GF. T and Tn, general carcinoma autoantigens. *Science* 1984;224:1198-1206.
 23. Glinsky VV, Glinsky GV, Rittenhouse-Olson K, et al. The role of Thomsen-Friedenreich antigen in adhesion of human breast and prostate cancer cells to the endothelium. *Cancer Res* 2001;61:4851-4857.
 24. Nangia-Makker P, Hogan V, Honjo Y, et al. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1854-1862.
 25. Zou J, Glinsky VV, Landon L, Matthews L, Deutscher SL. Peptides specific to the galectin-3 carbohydrate recognition domain inhibit metastasis-associated cancer cell adhesion. *Carcinogenesis* 2005;26:309-318.
 26. Kumar SR, Deutscher SL. ¹¹¹In-labeled galectin-3-targeting peptide as a SPECT agent for imaging breast tumors. *J Nucl Med* 2008;49:796-803.
 27. Deutscher SL, Figuero SD, Kumar SR. Tumor targeting and SPECT imaging properties of an ¹¹¹In-labeled galectin-3 binding peptide in prostate carcinoma. *Nucl Med Biol* 2009;36:137-146.

28. Breeman WAP, 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.
29. Wagner SJ, Welch MJ. Gallium-68 labeling of albumin and albumin microspheres. *J Nucl Med* 1979;20:428-433.
30. Cutler CS, Giron MC, Reichert DE, et al. Evaluation of gallium-68 tris(2-mercaptobenzyl) amine: a complex with brain and myocardial uptake. *Nucl Med Biol* 1999;26:305-316.
31. Schuster DP, Markham J, Welch MJ. Positron emission tomography measurements of pulmonary vascular permeability with Ga-68 transferrin or C-11 methylalbumin. *Crit Care Med* 1998;26:518-525.
32. Green MA, Welch MJ, Mathias CJ, Fox KA, Knabb RM, Huffman JC. Gallium-68 1,1,1-tris (5-methoxysalicylaldehydimethyl)ethane: a potential tracer for evaluation of regional myocardial blood flow. *J Nucl Med* 1985;26:170-180.
33. Kumar B, Miller TR, Siegel BA, et al. Positron tomographic imaging of the liver: ^{68}Ga iron hydroxide colloid. *AJR Am J Roentgenol* 1981;136:685-690.
34. Mathias CJ, Lewis MR, Reichert DE, et al. Preparation of ^{66}Ga - and

- ⁶⁸Ga-labeled Ga(III)- deferoxamine-folate as potential folate-receptor-targeted PET radiopharmaceuticals. Nucl Med Biol 2003;30:725-731.
35. Welch MJ, Thakur ML, Coleman RE, Patel M, Siegel BA, Ter-Pogossian M. Gallium-68 labeled red cells and platelets: new agents for positron tomography. J Nucl Med 1977;18:558-562.
36. Sharma V, Prior JL, Belinsky MG, Kruh GD, Piwnica-Worms D. Characterization of a ⁶⁷Ga/⁶⁸Ga radiopharmaceutical for SPECT and PET of MDR1 P-glycoprotein transport activity in vivo: validation in multidrug-resistant tumors and at the blood-brain barrier. J Nucl Med 2005;46:354-364.
37. Sharma V, Beatty A, Wey SP, et al. Novel gallium(III) complexes transported by MDR1 Pglycoprotein: potential PET imaging agents for probing P glycoprotein-mediated transport activity in vivo. Chem Biol 2000;7:335-343.
38. Hsiao YM, Mathias CJ, Wey SP, Fanwick PE, Green MA. Synthesis and biodistribution of lipophilic and monocationic gallium radiopharmaceuticals derived from *N,N'*-bis(3-aminopropyl)-*N,N'*-dimethylethylenediamine: potential agents for PET myocardial imaging with ⁶⁸Ga. Nucl Med Biol 2009;36:39-45.