

Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

На правах рукописи

**ПОДРЕЗОВА ЕКАТЕРИНА ВЛАДИМИРОВНА**

**«Технологические основы получения  $\omega$ -дипиридил замещенных кислот  
для производства радиофармпрепаратов на основе технеция-99м»**

Специальность: 05.17.04 – Технология органических веществ

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук

Юсубов Мехман Сулейман оглы

Томск 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Общая характеристика работы.....</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. Литературный обзор. Технологии получения радиофармпрепаратов: основные методы и подходы .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1. Технология современного производства радиофармпрепаратов .....</b>	<b>16</b>
1.1.1. Особенности производства $^{99m}\text{Tc}$ -содержащих РФП из радионуклидного генератора $\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ .....	17
1.1.2. Технологии синтеза бифункциональных хелатирующих агентов .....	18
<b>1.2. Основные подходы к связыванию хелатирующих агентов с биомолекулами .....</b>	<b>31</b>
<b>ГЛАВА 2. Исследовательская часть. Разработка технологии получения бифункциональных хелатирующих агентов.....</b>	<b>34</b>
<b>2.1. Окислительное расщепление алициклических кетонов .....</b>	<b>34</b>
2.1.1. Выбор субстратов для получения $\omega$ -производных кислот и их эфиров	35
2.1.2. Подбор условий окислительного расщепления кетонов.....	36
2.1.3. Поиск оптимального растворителя .....	38
2.1.4. Влияние размера цикла на окислительное расщепление.....	39
2.1.5. Контроль конверсии в реакции расщепления кетонов.....	42
2.1.6 Контроль качества $\omega$ -иодоалифатических кислот и их эфиров .....	47
<b>2.2. Синтез бифункциональных хелатирующих агентов .....</b>	<b>50</b>
<b>2.3. Технология РФП: Примеры химической модификации биологически активных соединений.....</b>	<b>57</b>
2.3.1. Модификация циклического октапептида – октреотида .....	58
2.3.2. Модификация ингибитора к простат-специфическому мембранному антигену (ПСМА).....	69
2.3.3. Модификация адресных молекул белковой природы с антикириновыми повторами (DARPin) .....	71
2.3.4. Подлинность прекурсоров РФП .....	78
<b>ГЛАВА 3. Экспериментальная часть.....</b>	<b>82</b>
<b>ГЛАВА 4. Принципиальная технологическая схема.....</b>	<b>91</b>
<b>4.1 Описание технологической схемы.....</b>	<b>93</b>
<b>4.2 Экономический анализ разработанной технологии .....</b>	<b>100</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>103</b>

<b>ПЕРЕЧЕНЬ СТАТЕЙ ПО ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ.....</b>	<b>104</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>111</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>112</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А1 <sup>1</sup>H спектр стандартного образца (метил 6-иодогексаноата).....</b>	<b>130</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А2 <sup>13</sup>C спектр стандартного образца (метил 6-иодогексаноата).....</b>	<b>131</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б1 <sup>1</sup>H спектр стандартного образца (6-иодгексановой кислоты).....</b>	<b>132</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б2 <sup>13</sup>C спектр стандартного образца (6-иодгексановой кислоты).....</b>	<b>133</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В1 <sup>1</sup>H спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата).....</b>	<b>134</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В2 <sup>13</sup>C спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата).....</b>	<b>135</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В3 ИК-спектр метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата.....</b>	<b>136</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Г1 <sup>1</sup>H спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата).....</b>	<b>137</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Г2 <sup>13</sup>C спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата).....</b>	<b>138</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Г3 ИК-спектр 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановой кислоты.....</b>	<b>139</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Д1 <sup>1</sup>H-спектр сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)аминогексаноата).....</b>	<b>140</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Д2 ИК-спектр сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)аминогексаноата).....</b>	<b>141</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Е Масс-спектр Вос-(L-Lys)-Октреотида.....</b>	<b>142</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Ж1 Хроматограмма ДРАН-(D-Phe)- Вос-(L-Lys)-Октреотида.....</b>	<b>143</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Ж2 Масс-спектр (M+H<sup>+</sup>) ДРАН-(D-Phe)- Вос-(L-Lys)-Октреотида.....</b>	<b>143</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ И1 Хроматограмма ДРАН-(D-Phe)-Октреотида.....</b>	<b>144</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ И2 Масс-спектр ДРАН-(D-Phe)-Октреотида.....</b>	<b>144</b>

<b>ПРИЛОЖЕНИЕ ИЗ</b> ИК-спектр ДРАН-Октреотида.....	145
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ К</b> Хроматограмма и масс-спектр ДРАН-ПСМА .....	146
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Л</b> Патент №2 616 974.....	147
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ М</b> Патент №2 684 289.....	148
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Н</b> Патент №2 655 965 .....	149
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ П</b> Патент №2 655 392 .....	150
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Р</b> Патент №2 692 126 .....	151
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ С</b> Патент №2 708 076.....	152
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Т</b> Акт внедрения результатов диссертационной работы в учебный процесс кафедры фармацевтического анализа СИБГМу .....	153
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ У</b> Акт внедрения результатов диссертационной работы в синтез новых отечественных радиофармпрепаратов ДРАН-octreotide и ДРАН-DARPin9_29 .....	154

## Общая характеристика работы

### Актуальность работы

Радиофармпрепараты (РФП) используют для диагностики онкологических заболеваний. В России в практической медицине используются около 22 РФП для компьютерной томографии и 5-7 для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). По экспертным данным, потребность населения России в РФП удовлетворяется не более чем на 1-3%. В связи с этим, одной из важнейших задач современной химической технологии является разработка новых методов получения **прекурсоров** для производства РФП.

Значительное место в диагностике и терапии занимают РФП на основе изотопов технеция-99м. Тем не менее, современные требования в РФП устанавливают новые стандарты в данной области. На сегодняшний день использование «чистых» изотопов или их хелатов является неоправданным, в силу широкого распределения по органам и тканям человека и необходимости использовать высокие дозы препаратов. Именно поэтому, современные исследования в данной области фокусируются на создании гибридных препаратов, имеющих в структуре как хелатирующий центр, так и центр, ответственный за распознавание специфических рецепторов, обеспечивающий «нацеливание» препарата в специфический орган. Одной из главных задач в данной области является введение в структуру прекурсоров лигандов с высокой хелатирующей способностью для прочного связывания технеция-99м.

В связи с этим **актуальной задачей** является разработка технологий синтеза доступных и эффективных **прекурсоров**, содержащих хелатирующие группы, для введения радиоизотопных меток в структуру биологически активных молекул – **лигандов** для адресной доставки в целевой орган.

## Цель работы

Целью диссертационного исследования является разработка новой **технологии синтеза прекурсоров** для **направленного и контролируемого введения хелатирующих групп в структуру** целевых **биомолекул** для последующего связывания с изотопами технеция-99м.

Работа включает в себя решение следующих взаимосвязанных **задач**:

1) Разработка методов синтеза  $\omega$ -производных алифатических карбоновых кислот как прекурсоров для получения хелат-содержащих линкеров для мечения биомолекул.

2) Разработка методов синтеза металлохелаторов, содержащих фрагмент  $\omega$ -производных алифатических карбоновых кислот для связывания с целевыми биомолекулами.

3) Разработка методов получения прекурсоров радиофармпрепаратов с использованием линкеров, содержащих хелатирующие группировки, и векторов для доставки в специфические органы и ткани (адресных молекул белковой природы с антикириновыми повторами (DARPin); ингибитора к простат-специфическому мембранному антигену (ПСМА); циклического октапептида (октреотида)).

4) Разработка технологической схемы синтеза **прекурсоров** радиофармпрепаратов и методов контроля их качества.

Финансовая поддержка:

Грант РФФИ №16-13-10081; Мегагрант Министерства науки и высшего образования (Соглашение № 2019-220-07- 0919; Государственный контракт № 14. N08.11.0163 от «31» августа 2017 г. в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу»; Доклинические исследования радиофармацевтического препарата, на основе меченного  $^{99m}\text{Tc}$  октреотида для радионуклидной диагностики нейроэндокринных опухолей. ГК № 14.N08.11.0166 от 05 августа 2017 г.; Доклинические исследования радиофармацевтического препарата на основе меченных  $^{99m}\text{Tc}$

рекомбинантных адресных молекул для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER-2/neu» ГК № 14. N08.11.0163 от «31» августа 2017 г.

### **Научная новизна**

1. Разработаны общие подходы к получению  $\omega$ -иод-замещенных алифатических карбоновых кислот путем окислительного расщепления простых и доступных алициклических кетонов.

2. Разработаны фундаментальные основы технологии производства бифункциональных хелатирующих агентов, содержащих сукцинимидную группу на основе  $\omega$ -производных алифатических карбоновых кислот.

### **Практическая значимость**

1. Разработана удобная и воспроизводимая технология синтеза универсальных линкеров на основе  $\omega$ -замещенных алифатических кислот и их эфиров с использованием **доступного** сырья.

2. Предложен простой и эффективный метод получения широкого ряда хелаторов на основе сложных эфиров  $\omega$ -иодалифатических кислот.

3. Предложена лабораторная технология синтеза **прекурсоров** РФП на основе DARPin, ингибитора ПСМА, октреотида с использованием полученных бифункциональных хелатирующих агентов.

По результатам работы сформулированы **положения**, выносимые на защиту:

1. Получение  $\omega$ -иодалифатических карбоновых кислот и эфиров на основе реакции окислительного расщепления циклических кетонов.

2. Синтез бифункциональных хелатирующих агентов на основе  $\omega$ -иодалифатических карбоновых кислот и эфиров.

3. Химическая модификация биомолекул полученными бифункциональными хелатирующими агентами.

**Достоверность полученных данных** была обеспечена за счет использования современных аналитических методов с целью установления строения и чистоты продукта и полупродуктов (использовались ЯМР-, ИК-

спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, ВЭЖХ, спектрофотометрия, температура плавления).

### **Апробация результатов работы**

Отдельные части работы докладывались и обсуждались на 18 специализированных конференциях, симпозиумах и семинарах всероссийского и международного уровней, среди которых выделяются «Mendeleev 2015» в Санкт-Петербурге, Высокие технологии в современной науке и технике (ВТСНТ-2016), Международная научная студенческая конференция МНСК-2017 (Новосибирск), «Molecules and Systems for Diagnostics and Targeted Therapy» (MSDT-2017), «Актуальные проблемы органической химии-2018» (Новосибирск – Шерегеш), V Всероссийская конференция с международным участием по органической химии, 2018 (Владикавказ), Markovnicov Congress on Organic Chemistry 2019, Москва – Казань.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 5 статей и 6 патентов РФ, 18 материалов докладов на конференциях различного уровня.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы из 156 наименования. Работа изложена на 154 страницах, содержит 24 рисунков, 27 схем и 21 таблиц, 27 приложений.

### **Благодарности.**

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю д.х.н. **Юсубову М.С.** (ИШХБМТ ТПУ), а также к.х.н. **Постникову П.С.** (ИШХБМТ ТПУ) за всестороннюю помощь и поддержку в написании диссертационной работы. Автор выражает огромную благодарность к.фарм.н. **Ларькиной М.С.** (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) за помощь в планировании и выполнении экспериментов, интерпретации данных и советы в написании диссертационной работы, а также директору ИШХБМТ ТПУ **Трусовой М.Е.** за активное участие в обсуждении отдельных глав диссертации.

## ГЛАВА 1. Литературный обзор. Технологии получения радиофармпрепаратов: основные методы и подходы

Несмотря на общий прогресс медицины и технологий здоровьесбережения, злокачественные новообразования остаются одной из основных причин смертности населения. Высокая смертность связана, в первую очередь, с проблемами проведения ранней диагностики заболевания – так, зачастую, обнаружение опухолей на ранних стадиях позволяет реализовать эффективные терапевтические мероприятия. У большинства пациентов рак диагностируется уже на поздних стадиях, когда обширное метастазирование негативно влияет на динамику выздоровления и, зачастую, приводит к летальному исходу. Поэтому, **своевременная и точная диагностика злокачественных новообразований (ЗНО)** является актуальной задачей современной медицины.

Одним из наиболее продвинутых, чувствительных и безопасных методов ранней диагностики является **сцинтиграфия**, позволяющая с высокой достоверностью обнаружить даже незначительные очаги новообразований. Для радиоизотопной диагностики применяют **радиофармацевтические препараты** – лекарственный препарат, который в своей структуре содержит определенный радионуклид [1–3], обнаруживающийся в следовых концентрациях в органах и тканях.

Радиоизотопная диагностика *in vivo* стала доступна с открытием рентгеновских лучей в 1895 году, а уже в 1896 году рентгеновское излучение активно использовалось в медицине. В этом же году, в Париже, Антуаном Анри Беккерелем была обнаружена радиоактивность уранилсульфата калия  $K_2(UO_2)(SO_4)_2 \cdot 2H_2O$ , а в 1902 году было показано биологическое воздействие радиоактивного хлорида радия  $RaCl_2$  на собственном примере. Эти открытия стали предпосылками к появлению и становлению ядерной медицины.

Для получения изображений при радионуклидной диагностике используются в настоящее время, в основном, две технологии – однофотонная

эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) [4–6].

**ОФЭКТ** – это 3D томографический метод. ОФЭКТ использует комбинацию вращающейся гамма-камеры с мощной компьютеризированной системой расчетов, которая позволяет получить изображения поперечного сечения различных органов. Развитие ОФЭКТ привело к улучшению визуализации сердца, легких, печени, почек, костей, а также к дифференцировке воспалительных процессов или инфицированных тканей. Помимо этого, ОФЭКТ позволяет локализовать метастатические процессы и, оценивать стадии развития ЗНО [7–9]. В однофотонной эмиссионной компьютерной томографии используются гамма-изотопы ( $\gamma$ ).

Еще одним развивающимся методом трехмерной визуализации служит позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), в основе которой лежит возможность ПЭТ-сканера регистрировать большее количество фотонов, за счет окружения тела пациента кольцом детекторов, что позволяет регистрировать распределение РФП, меченного позитрон-излучающими радиоизотопами ( $\beta^+$ ). ПЭТ применяют для раннего обнаружения злокачественных новообразований, метастазирования, для оценки эффективности противораковой терапии, для измерения кровотока по коронарным и сонным артериям. Кроме того, в отличие от других методов исследования, ПЭТ позволяет оценить перфузию крови в сердечной мышце и головном мозге для выявления ишемической болезни сердца и мозга [10–14]. Наиболее распространенные радионуклиды для ОФЭКТ и ПЭТ томографии представлены в Таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Основные радионуклиды в ядерной медицине

	Радионуклид	Время полураспада	Излучение
1	$^{15}\text{O}$	2,1 мин	ПЭТ, $\beta^+$
2	$^{11}\text{C}$	20,4 мин	ПЭТ, $\beta^+$
3	$^{68}\text{Ga}$	60 мин	ПЭТ, $\beta^+$
4	$^{19}\text{F}$	109,8 мин	ПЭТ, $\beta^+$
5	$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6,02 ч	ОФЭКТ, $\gamma$
6	$^{111}\text{In}$	2,8 дней	ОФЭКТ, $\gamma$
7	$^{123}\text{I}$	13,2 ч	ОФЭКТ, $\gamma$

В современной медицине в 80-85% диагностических процедур практически всех важнейших органов человека используют короткоживущий изотоп технеций-99м ( $^{99m}\text{Tc}$ ) и радиофармпрепараты на его основе [15, 16]. Высокая востребованность  $^{99m}\text{Tc}$ , в первую очередь обусловлена коротким периодом полураспада (6,02 ч), а также низкой энергией гамма-излучения 0,1405 МэВ, которые обеспечивают малую экспозиционную дозу (0,5–5% от допустимого уровня) и, вместе с тем, достаточную проникающую способность для проведения радиометрических измерений. Кроме того, химические свойства  $^{99m}\text{Tc}$  позволяют получать различные комплексные соединения, используемые в медицине [17–20].

Изотоп технеция впервые был получен в 1938 году Сегре и Перье, а уже в 1950-х годах возникла идея использовать изотоп технеция  $^{99m}\text{Tc}$  *in vivo* визуализации и, с тех пор, активно стала развиваться технология получения технеция из молибдена и получение различных РФП на его основе (рисунок 1.1) [21, 22].

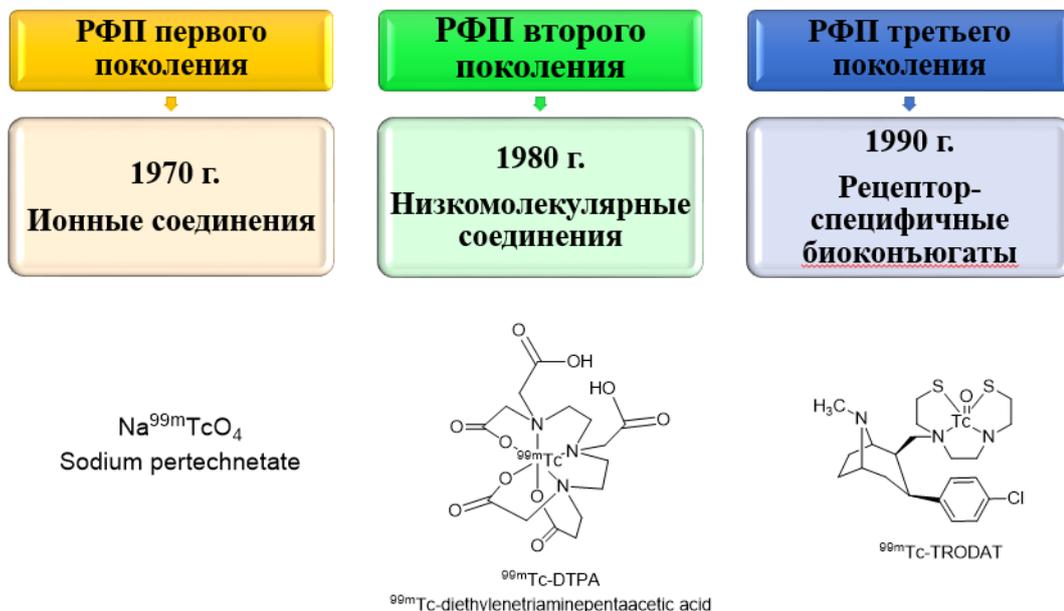
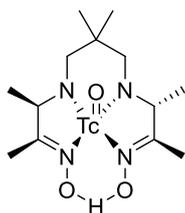


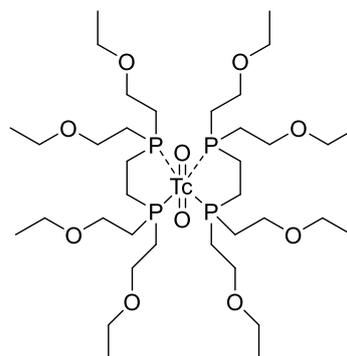
Рисунок 1.1 – Поколения  $^{99m}\text{Tc}$  радиофармпрепаратов

Первое поколение радиофармацевтических препаратов представляло собой простые неорганические соединения технеция и учитывало лишь элементарные свойства данных соединений (поглощение, распределение, метаболизм и выведение). К этой группе препаратов относят пертехнетаты натрия и калия, накопление которых наблюдается в щитовидной железе, околоушной железе и почках. Пертехнетат-ион не обладает биологической специфичностью.

С развитием и использованием мощных современных аналитических инструментов, таких как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрия (МС) и дифракция рентгеновских лучей, перед исследователями открылась возможность определять точную молекулярную структуру координационных соединений, которые имеют более высокую биологическую специфичность, чем пертехнетаты натрия или калия. Поведение радиофармацевтических препаратов *in vivo* определяется их физико-химическими свойствами, такими как размер, заряд, липофильность и растворимость. Данные соединения обычно называют радиофармацевтическими препаратами  $^{99m}\text{Tc}$  второго поколения и представляют собой простые комплексные соединения технеция  $^{99m}\text{Tc}$ -тетрофосмин (Myoview®) и  $^{99m}\text{Tc}$ -НМРАО (exametazime, Ceretec®), рисунок 1.2 [21].



$^{99m}\text{Tc}$ -НМРАО exametazime, Ceretec®



$^{99m}\text{Tc}$ -tetrafosmin, Myoview®

Рисунок 1.2 – РФП второго поколения

Современные структуры РФП третьего поколения включают комплексные соединения с биомолекулами, которые проявляют высокую биологическую специфичность к рецепторам [23] (рисунок 1.3). Для связывания технеция и биомолекул необходимо введение бифункционального хелатирующего агента (*БФХА*, хелатирующий агент) с использованием линкера, либо без него. Введение радионуклида в биомолекулу не должно приводить к изменению ее биологической активности [18, 20].

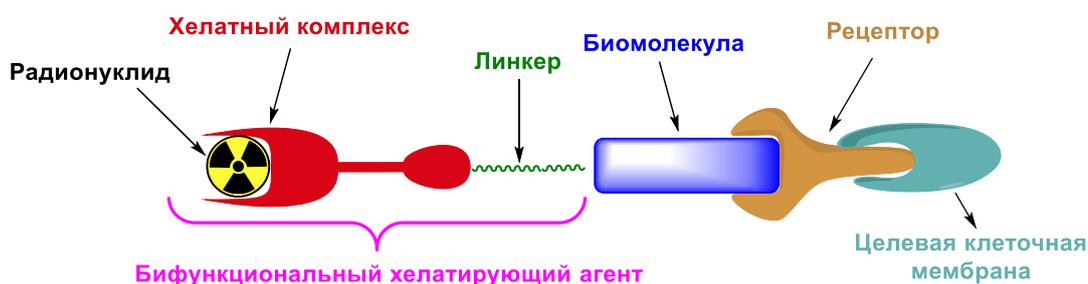


Рисунок 1.3 – Схематическое изображение структуры РФП

Таким образом, типичную структуру радиофармпрепаратов можно разделить на 4 блока: **нацеливающая** (адресная, таргетная) биомолекула (молекула-вектор, пептид) тропная к определенному рецептору; **линкер** (фармокинетический мостик); **бифункциональный хелатирующий агент** (*БФХА*) и **радионуклид** (изотопная метка, например,  $^{99m}\text{Tc}$ -технеций). Идеальный бифункциональный хелатирующий агент должен образовывать стабильный комплекс с  $^{99m}\text{Tc}$  с высоким **радиохимическим** выходом при низких концентрациях конъюгата *БФХА* – *биомолекула*. Как правило, линкером обычно выступают органические молекулы линейного строения (углеводородная цепь, полиэтиленгликоль) переменной длины для изменения фармакинетики, липофильности, константы диссоциации ( $pK_a$ ) и расстояния между *технецием-БФХА* и областью рецепторного связывания молекулы–носителя [24, 25].

В ряде работ показано значительное влияние линкера на связывание биоконъюгата с рецепторами на примере скintiографических исследований

головного мозга. Например, увеличение метиленового линкера до этиленового в конъюгате  $^{99m}\text{Tc}$ -TRODAT (рисунок 1.4) приводит к уменьшению липофильности, и следовательно, к снижению накопления РФП в мозге [26].



0.43% ID/organ, 2 min post-injection in rats

0.05% ID/organ, 2 min post-injection in rats

Рисунок 1.4 – Структуры  $^{99m}\text{Tc}$ -TRODAT и  $^{99m}\text{Tc}$ -H-TRODAT

Еще одним ярким примером влияния линкера (рисунок 1.5) на связывание РФП с тканями мозга является исследование, в которой авторы заменили метиленовый фрагмент в линкере на кислород (простая эфирная группа) и наблюдали повышение концентрации препарата в мозге [27].

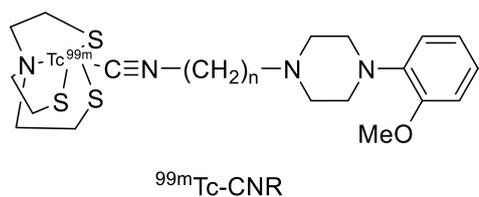


0.05% ID/organ, 2 min post-injection in rats

1.47% ID/organ, 2 min post-injection in rats

Рисунок 1.5 – Структуры  $^{99m}\text{Tc}$ -HSSSH-P и  $^{99m}\text{Tc}$ -HSSSH-O

Группой ученых из Германии было проведено систематическое исследование связывания комплексов технеция  $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{NS}_3(\text{CNR}_n))]$  с различной длиной углеводородных мостиков с рецептором (рисунок 1.6). Авторы обнаружили, что селективность в отношении рецептора уменьшается с увеличением длины алкильной цепи ( $\text{C}_4 > \text{C}_5 > \text{C}_6$ ) [28].



ID/organ, 5 min post-injection in rats

n = 4, 0.32%

n = 5, 0.24%

n = 6, 0.18%

Рисунок 1.6 – Комплексы технеция  $^{99m}\text{Tc}(\text{NS}_3(\text{CNR}_n))$

На сегодняшний день, несмотря на вышеприведенные примеры, не представляется возможным предсказать влияние линкера на связывание РФП с определенным рецептором. Поэтому, ключевыми факторами для дизайна визуализирующих агентов на основе технеция является следующий ряд параметров:

- выбор специфичных активных биомолекул для связывания рецептором;
- оптимизация длины линкера для управления фармакокинетикой и липофильностью;
- химическая структура хелатора и управление его липофильностью;
- пространственные параметры конечного РФП.

Каждый из этих факторов является определяющим, что создает предпосылки для проведения междисциплинарных исследований в области радиохимии и радиологии. Роль химика-технолога заключается в тонком управлении липофильностью всего РФП и прочностью связывания с изотопом.

Таким образом, для разработки новых радиофармпрепаратов необходим комплексный подход, а также сотрудничество с научными и производственными организациями, имеющие оборудование, кадровый состав и опыт работы в области органической химии, радиохимии, ядерной физики, токсикологии, биотехнологии, фармации, экспериментальной и клинической ядерной медицины [20, 29, 30].

## 1.1. Технология современного производства радиофармпрепаратов

Одной из отличительных особенностей производства РФП является малый масштаб производства, не требующего строительства фармацевтических заводов. Производство радиофармпрепаратов, в отличие от обычных лекарственных препаратов, осуществляется в небольших количествах и, как правило, на производственном участке изготавливают 1, реже 2 наименования препарата, в количестве 5-10 флаконов. Содержание основного действующего вещества (биокопьютата) варьируется от 0,1 мкг до 20 мг на 1 флакон, что составляет от 0,1 мг – 200 мг на партию из 10 флаконов [31, 32].

Процесс создания РФП включает ряд самостоятельных этапов. К этим этапам относятся:

- разработка технологии получения химического соединения, фармакокинетика которого в организме животного или человека позволяет решить конкретную диагностическую задачу;
- выбор радионуклида, обладающего оптимальными ядерно-физическими характеристиками, для создания требуемой диагностической дозы;
- разработка метода введения радионуклида в структуру выбранного химического соединения с учетом фармакокинетических требований;
- разработка технологии приготовления лекарственной формы препарата и методов его контроля;
- биологические испытания меченого соединения на животных, с целью предварительного определения его функциональной пригодности и безопасности, которые регламентируются соответствующими инструкциями Минздрава РФ;
- клинические испытания нового РФП, рекомендованного на основе положительных экспериментальных данных [32–34].

### 1.1.1. Особенности производства $^{99m}\text{Tc}$ -содержащих РФП из радионуклидного генератора $\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$

Технеций-99м является дочерним продуктом  $\beta$ -распада молибдена-99 ( $^{99}\text{Mo}$ ), имеющего период полураспада  $T_{1/2} = 66,02$  ч. Его образование происходит по схеме, показанной на схеме 1.1.

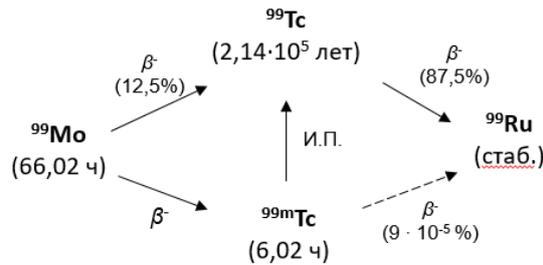


Схема 1.1 – Схема  $\beta$ -распада молибдена-99

В результате  $\beta$ -распада  $^{99}\text{Mo}$  87,5% ядер превращается в  $^{99m}\text{Tc}$ , а 12,5% – в долгоживущий  $^{99}\text{Tc}$ . После этого  $^{99}\text{Tc}$  преобразуется в стабильный изотоп рутения [35].

Для отделения  $^{99m}\text{Tc}$  от  $^{99}\text{Mo}$  используются специальные устройства, которые называются генераторами технеция. Лидирующие позиции по объему выпуска и применения в мировой медицине занимают генераторы сорбционного типа. Их компактность и безопасность дают возможность транспортировать их на большие расстояния, от места производства до непосредственно медицинских учреждений. Кроме этого, эти генераторы характеризуются простотой в эксплуатации и стабильным выходом  $^{99m}\text{Tc}$  на уровне 90-95% (в зависимости от производителя).

Генератор состоит из хроматографической колонки, заполненной сорбентом (оксидом алюминия), к которой подсоединены коммуникации для подачи элюента и отбора элюата. Все это помещено в защитный контейнер.

На колонку наносят раствор, содержащий молибден-99. Последующее выделение  $^{99m}\text{Tc}$  из генератора осуществляют путем его элюирования –

прокачивания через его колонку физраствора (0,9% раствор натрия хлорида). Получаемый на выходе продукт представляет собой раствор натрия пертехнетата,  $^{99m}\text{Tc}$  ( $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ) (рисунок 1.7).

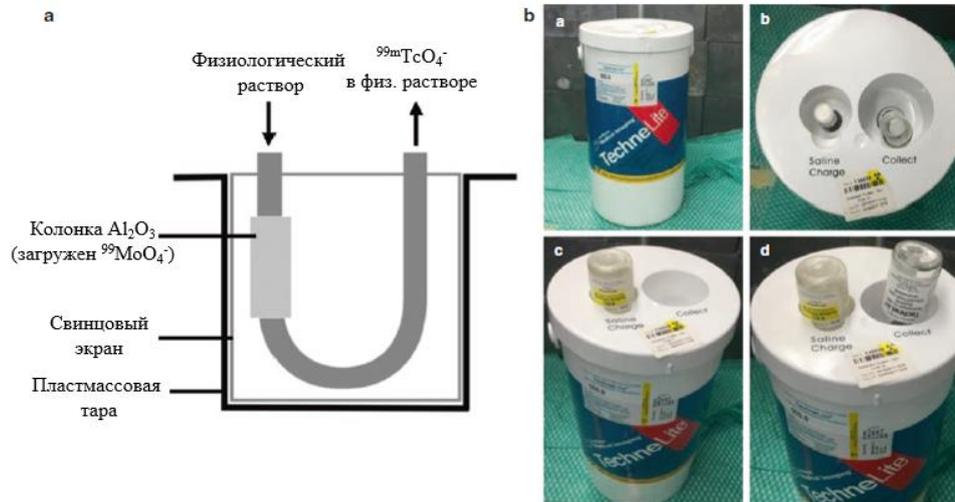


Рисунок 1.7 – (а) Схематическое изображение генератора  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ . (б) Типичный генератор  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ : (а) вид сбоку, (б) вид сверху (с) флакон с физиологическим раствором, содержащий желаемый объем для элюирования, прикрепленный к входному отверстию; (д) флакон для сбора элюата  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ , прикрепленный к выходному отверстию.

Более 99% атомов технеция в этом растворе имеют высшую степень окисления (VII). Поэтому на практике, для получения целого ряда  $^{99m}\text{Tc}$ -РФП, раствор натрия пертехнетата смешивают с восстановителем, например, щавелевой или аскорбиновой кислотами, или двухвалентным оловом, и др. В результате этого образуются различные комплексные соединения  $^{99m}\text{Tc}$ , которые могут селективно накапливаться в тех или иных исследуемых органах [36].

### 1.1.2. Технологии синтеза бифункциональных хелатирующих агентов

В водных растворах технеций может существовать в степенях окисления от -1 до +7, что позволяет создавать различные бифункциональные хелатирующие агенты в зависимости от степени окисления. Хелатирующие агенты, как структурный элемент РФП, впервые стали использовать в технологии получения РФП на основе  $^{111}\text{In}$  и  $^{67}\text{Ga}$ . Однако с развитием

технологии производства технеция разработки получения РФП на основе индия-111 и галия-67 перешли в химию технеция. Начиная с этого момента, химия РФП стала развиваться в направлении использования хелатных комплексов Tc [20, 35, 37]

Ниже будут рассмотрены основные бифункциональные хелатирующие агенты и технологии их производства.

### ***Серусодержащие БФХА***

Серусодержащие бифункциональные хелатирующие агенты – это тетрадентантные хелаты, содержащие две тио- и две аминогруппы ( $N_2S_2$  диаминдителиолы – DADT, моноамидмоноаминдителиолы – МАМА, диамидтиолы – DADS) или одну тио- и три аминогруппы ( $N_3S$  триамидтиолы) в своей структуре (рисунок 1.8) [34, 38–41].

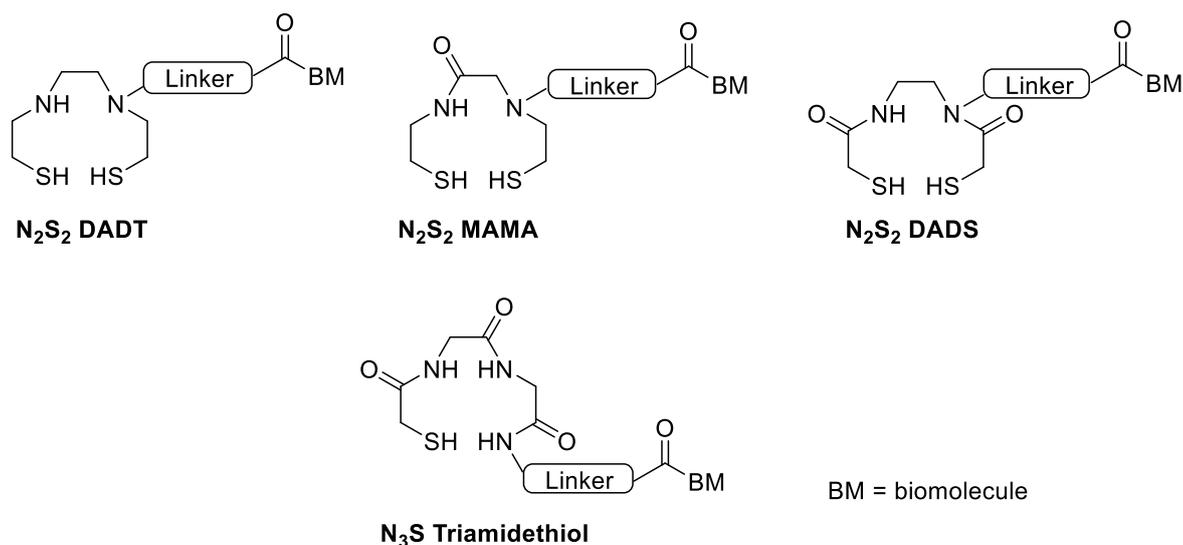


Рисунок 1.8 – Серусодержащие бифункциональные хелатирующие агенты

На сегодняшний день наиболее часто упоминаемым в литературе способом получения  $N,N'$ -бис(2-метил-2-меркаптопропил)этилендиаминовых лигандов ( $N_2S_2$  -DADT) является метод, описанный Liang в 1987 [42]. Хелатирующие агенты типа  $N_2S_2$  DADT (**6**) были получены двухстадийным восстановлением соответствующих

дииминодисульфидов (**3** и **4**), которые, в свою очередь, синтезировали в ходе реакции циклизации 2,2'-дитио-бис(2-метилпропаналя) (**1**) и замещенного или незамещенного этилендиамина (**2**). Комплексы DADT-биомолекула были получены селективным алкилированием одного атома азота диаминдисульфидного фрагмента (**4**) с последующим восстановительным расщеплением дисульфидного мостика в структуре продукта (**5**). Суммарный выход этого процесса не превышает 3% (схема 1.2) [43, 44].

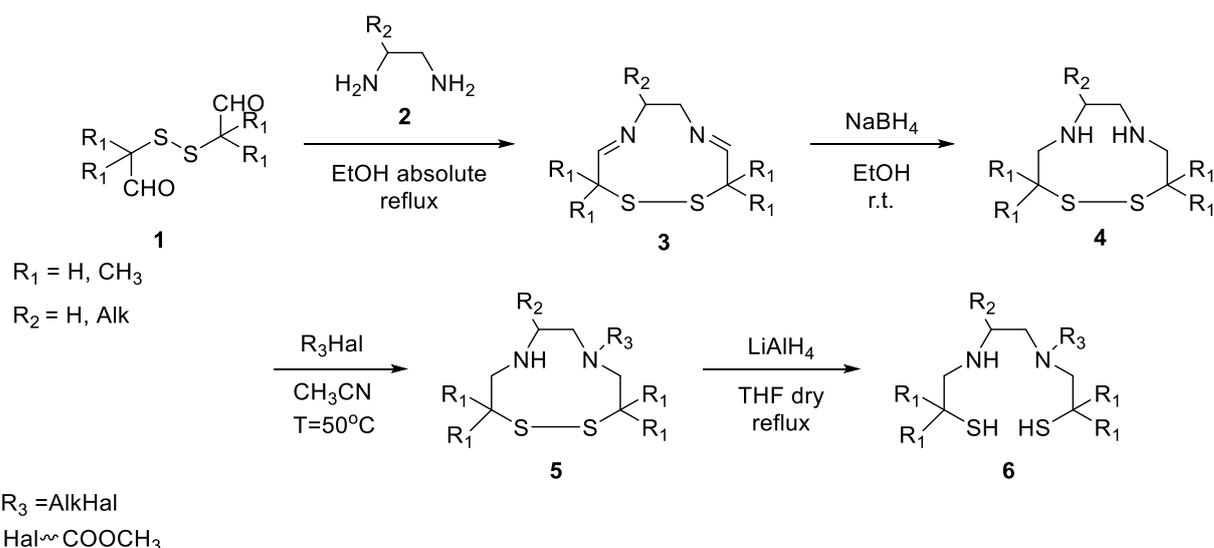


Схема 1.2 – Схема получения хелатирующего агента типа  $\text{N}_2\text{S}_2$  DADT

Тем не менее, данная технология связана с целым рядом существенных недостатков, ограничивающих применение данного хелатирующего агента типа  $\text{N}_2\text{S}_2$  DADT. Так, в качестве исходных используются дорогостоящие, труднодоступные дисульфиды-альдегиды (**1**) (цена за 1 грамм достигает 145\$  $\approx$  11 100 руб)<sup>1</sup>, а для России эти реагенты вовсе недоступны. Вторым ограничивающим моментом является использование абсолютного этанола – его перегонка и хранение трудоемко и проблематично (этиловый спирт очень гигроскопичен, хранить его следует над молекулярными ситами в бескислородной атмосфере). Так же на последней стадии использование алюмогидрида лития требует дополнительной тщательной очистки конечного продукта от неорганических солей (**6**).

<sup>1</sup> Данные актуальны на 18.11.2020 согласно базе Scifinder (scifinder.cas.org). Курс 1\$ = 76.34 рублей

Помимо  $N_2S_2$  DADT не менее популярным является  $N_2S_2$  моноамидмоноаминдитиолы (МАМА) [45]. В настоящее время в фармацевтической промышленности существует только один основной способ получения  $N_2S_2$  МАМА, который был разработан еще в 90-х годах прошлого столетия. На первой стадии проводят трифенилметильную (тритильную) защиту тиоэтанолamina гидрохлорида (**1**) и далее его (**2**) вводят в реакцию с бромацетил бромидом с получением продукта замещения **3**. Алкилирование аминогруппы (**4**) проводят с использованием бромалканов или сложных эфиров бромалифатических карбоновых кислот. На последней стадии (**5**) проводят снятие тритильной группы действием трифторуксусной кислоты (схема 1.3) [46–48].

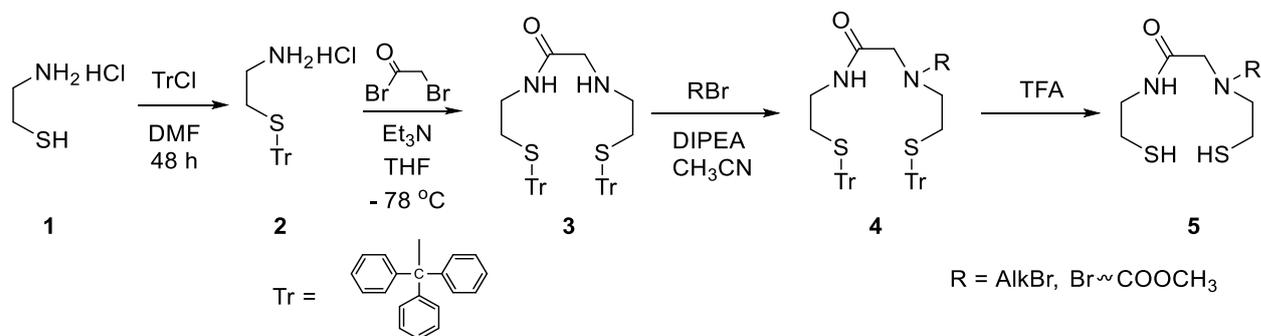


Схема 1.3 – Схема получения хелатирующего агента типа  $N_2S_2$  МАМА

Нужно отметить, что коммерчески доступных бромалифатических кислот в продаже представлено не так много (5-бромпентановая – 524 руб., 6-бромгексановая – 280 руб., 7-бромгептановая – 375 руб, цена указана за 1 грамм)<sup>2</sup>, а их эфиров и разветвлённых кислот практически нет. Кроме того, в литературе сообщается о трудностях этерификации  $\omega$ -бромкарбоновых кислот, связанных с побочными процессами алкилирования получения простых эфиров [49, 50]. Поэтому эта технология является экономически затратной ввиду труднодоступности реагентов и суммарного низкого выхода (не более 5%).

<sup>2</sup> Данные актуальны на 18.11.2020 согласно базе Sigma Aldrich <https://www.sigmaaldrich.com>

Одной из простых технологий получения серусодержащих бифункциональных хелатирующих агентов является синтез  $N_3S$  триамидтиолов. Ярким представителем среди них является меркапто ацетил-триглицин (MAG3), который успешно применяется в качестве БФХА в синтезе  $^{99m}Tc$  РФП [51–54].

Наиболее популярной технологией получения производных меркапто ацетил-триглицина является способ, описанный Winnard в 1997 году. Так по реакции сукцинимидного эфира S-ацетилгликолевой кислоты (**3**) и Boc-защищенной аминокснковой кислоты (**4**) получают MAG3-НА (**5**) с невысокими выходами 3,7% (схема 1.4) [46, 55].

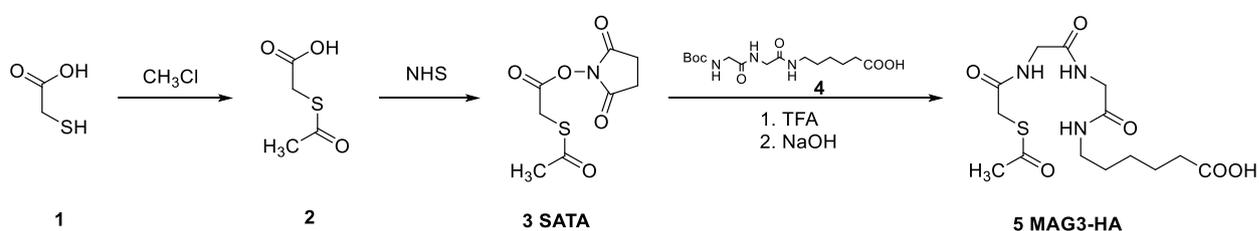


Схема 1.4 – Схема получения хелатирующего агента типа **MAG3-НА**

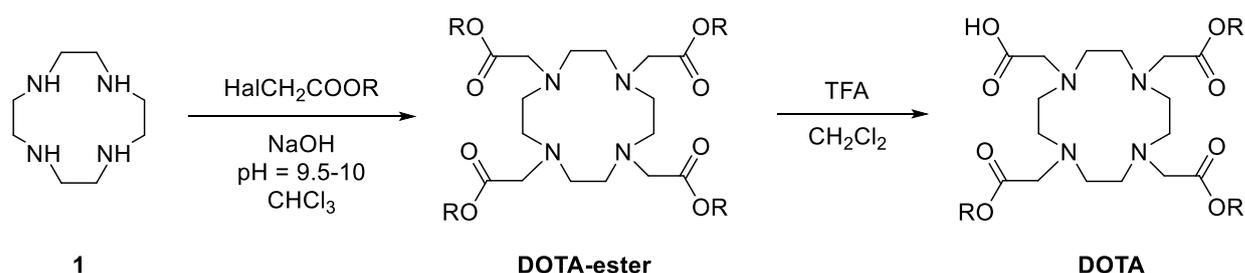
Общим и главным недостатком этих методов получения является морально устаревшие технологии (основные подходы были разработаны в 1990-х годах), а также многостадийность процесса – 6 стадий, низкие суммарные выходы (до 5%), что приводит к повышению себестоимости радиофармпрепаратов, получаемых на основе представленных хелатирующих агентов.

### *Макроциклы как хелатирующие агенты*

К макроциклическим бифункциональным хелатирующим агентам относят DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан- $N,N',N'',N'''$ -тетрауксусную кислоту) и NOTA (1,4,7-триазациклононан- $N,N',N''$ -триуксусную кислоту), которые являются одними из наиболее широко используемых лигандов для разработки новых визуализирующих и терапевтических средств на основе

металлов благодаря своей способности образовывать стабильные и инертные комплексы [56–59].

На сегодняшний день реализуется общий способ получения производных DOTA и NOTA [60]. Подход основан на реакции алкилирования аминогруппы циклена (**1**) (1,4,7,10-тетраазоциклодекана) галагенуксусной кислотой или ее сложными эфирами с последующим полным или частичным гидролизом (схема 1.5) [56, 61–65].



Hal = Cl, Br

R = H, CH<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>

### Схема 1.5 – Схема получения хелатирующего агента типа **DOTA**

Следует отметить, наиболее проблематичной стадией является селективный гидролиз DOTA-ester, поэтому из всех эфиров в продаже имеется только дорогостоящий эфир DOTA-трис(*трет*-бутиловый) эфир: 1,4,7,10-тетраазациклодекан-1,4,7-тритретбутилацетат-10-уксусная кислота. Так 1 грамм стоит 580 \$  $\approx$  42800 руб<sup>3</sup>, но исходный эфир содержит химические примеси как диалкилированного, так и тетраалкилированного цикла, поэтому требует дополнительной очистки после покупки [66].

Второй подход к синтезу производных DOTA был разработан Kohl и его коллегами в 2007 году. Синтез включает в себя получение комплекса  $\eta^3$ -1,4,7,10-тетраазациклодеканемолибдена (**2**) по реакции

<sup>3</sup> Данные актуальны на 18.11.2020 согласно базе Macrocyclics ([www.macrocyclics.com](http://www.macrocyclics.com)). Курс 1\$ = 73.79 рублей

комплексообразования циклена (1) с гексакарбонил молибденом  $\text{Mo}(\text{CO})_6$  (схема 1.6) [67].

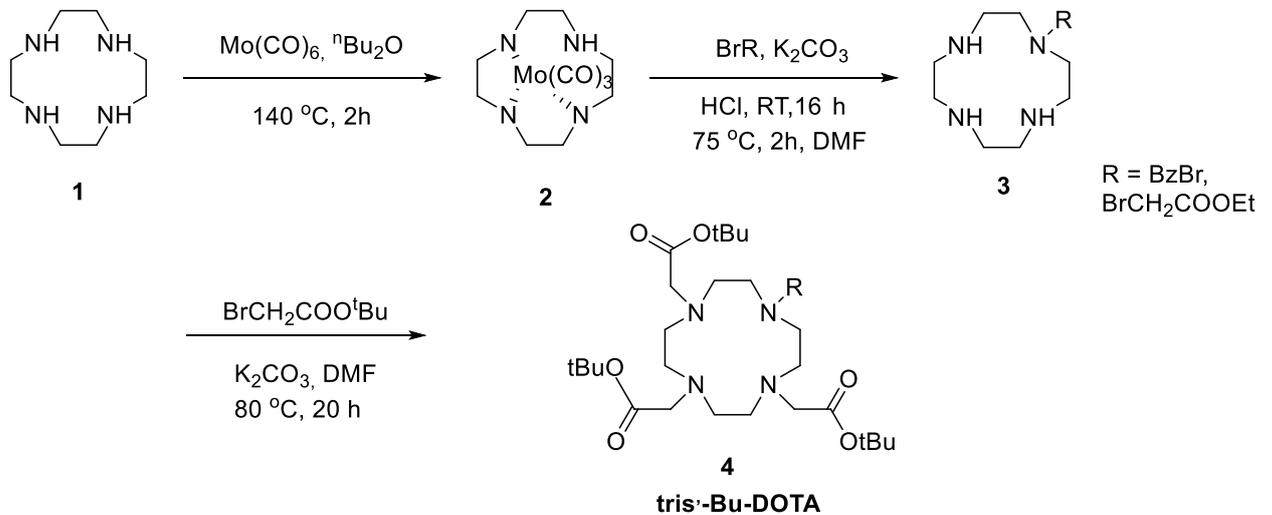


Схема 1.6 – Схема получения хелатирующего агента **tris-Bu-DOTA**

Далее проводят алкилирование по единственной свободной аминогруппе бензилбромидом или этиловым эфиром бромуксусной кислоты в ДМФА с последующим разрушением комплекса в кислой среде с образованием соответствующих монозамещенных цикленов (3). На последней стадии вновь проводят алкилирование ранее полученных цикленов (3) *трет*-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты [68].

Как и все карбонилы металлов, гексакарбонил молибдена является источником чрезвычайно токсичного угарного газа CO. Поэтому для реализации данной технологии необходимо наличие мощной вытяжной вентиляции, защитной спецодежды и достаточно надежного респиратора, позволяющего снизить уровень контакта с сухим гексакарбонил молибденом. Другим ограничивающим фактором использования данной методики является использование высококипящего растворителя ДМФА, работа с которым вызывает ряд трудностей при его отгонке.

### ***Ациклические БФХА: полиаминополикарбоновые кислоты***

Бифункциональные хелатирующие агенты на основе полиаминополикарбоксильных лигандов образуют высокостабильные комплексы с широким спектром металлов [69], что исключает нежелательное высвобождение иона металла *in vivo* и трансметаллирование.

К наиболее распространенным ациклическим структурам, используемым для синтеза бифункциональных хелаторов относят: ДТРА (диэтилентриаминопентауксусная кислота), EDTA (этилендиаминотетрауксусная кислота), IDA (иминодиуксусная кислота), NTA (нитрилотриуксусная кислота) и PyMTA (2,6-пиридин-бис(метиламино)-N,N,N',N'-тетрауксусная кислота (рисунок 1.9) [34, 58, 70–72].

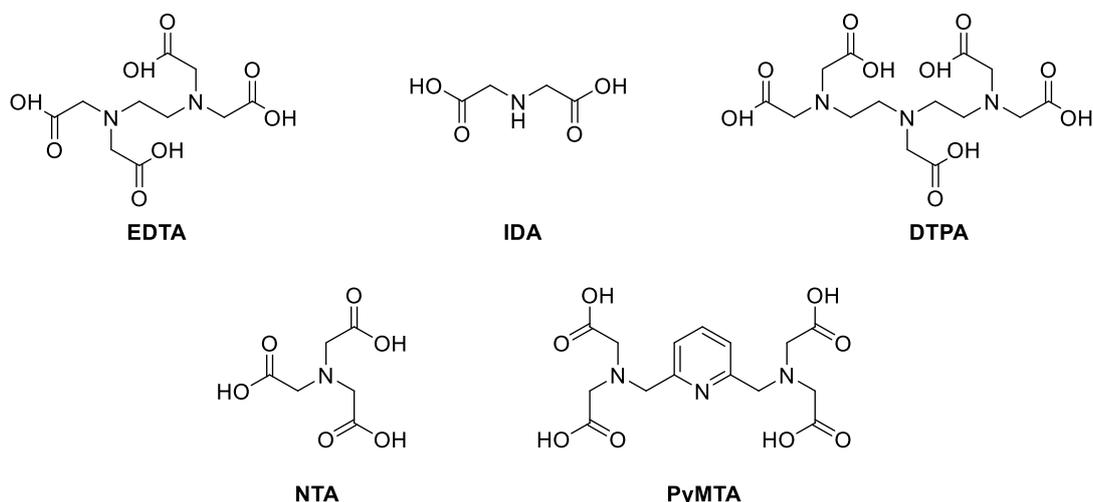


Рисунок 1.9 – Полиаминополикарбоновые как хелатирующие агенты

Наиболее используемым и коммерчески доступным ациклическим лигандом является ДТРА. Для получения более реакционно способного аналога на основе ДТРА – ангидрида – ДТРА обрабатывают уксусным ангидридом в присутствии пиридина при 65°C, затем, после выделения, бисангидрид используют в реакциях амидирования по аминогруппе (схема 1.7) [73–77].

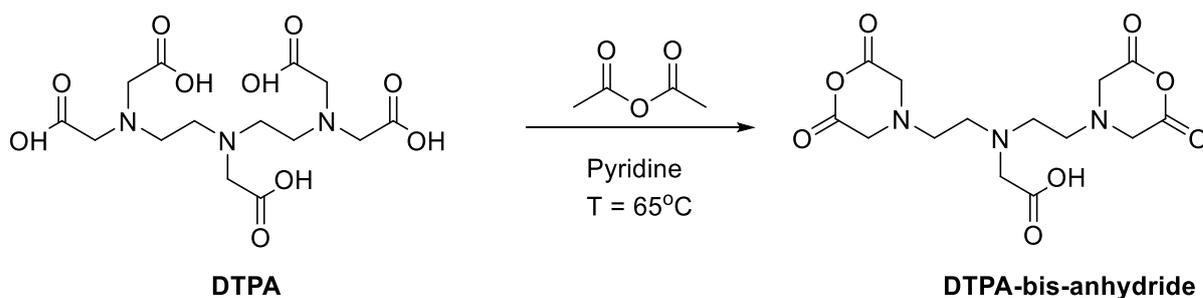


Схема 1.7 – Схема получения **DTPA-bis-anhydride**

Недостаток, который нужно всегда учитывать при работе с DTPA-бис-ангидридом, это наличие двух ангидридных центров, которые могут вести себя как сшивающие агенты и приводить к соответствующим димерам.

Использование тризащищенного DTPA исключает возможность получения изомеров или сшитых продуктов. Для его получения на первой стадии N-бензилэтилендиамин (**1**) алкилируют *tert*-бутилбромацетатом (*t*-BBA) с образованием триэфира (**2**). Далее удаляют бензильную группу и алкилируют вторичный амин N, N-бис[(бензилоксикарбонил) метил]-2-бромэтиламином (**4**). И на последней стадии, бензиловые защиты (соединение **5**) снимают гидрогенолизом (схема 1.8) [78, 79].

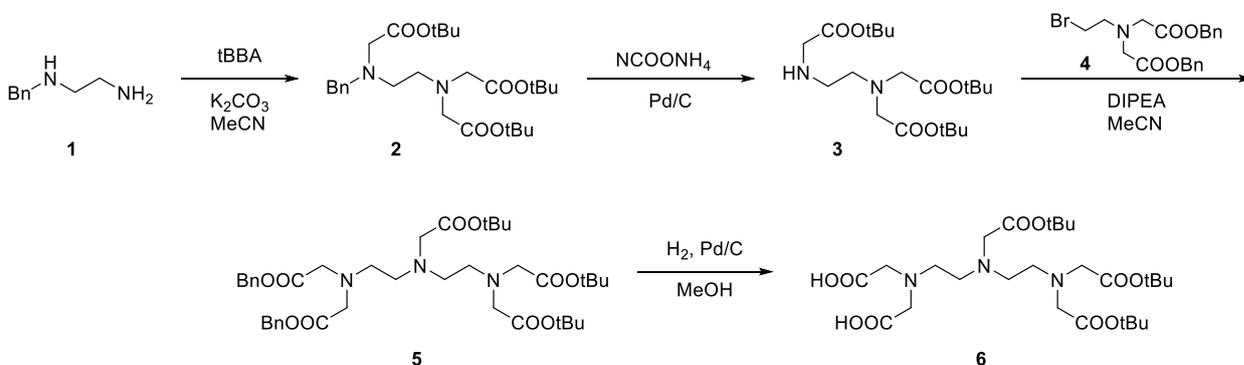


Схема 1.8 – Схема получения тризащищенного **DTPA**

Две свободные карбоксильные группы в тризащищенном DTPA позволяют его использовать для дальнейшей конъюгации с пептидами [57, 77, 80].

EDTA - один из старейших и наиболее известных полиаминополикарбонатовых лигандов [81]. Конъюгацию EDTA с другими молекулами реализуют чаще всего по реакции модификации одной или

нескольких карбоксильных групп. В этом случае EDTA сама по себе представляет исходный материал для образования сложного эфира и амидной связи. Как и в случае DTPA-бис-ангидрид, EDTA переводят в ангидрид, а частичный гидролиз с использованием 1 экв. воды приводит к образованию моноангидрида EDTA (схема 1.9) [82].

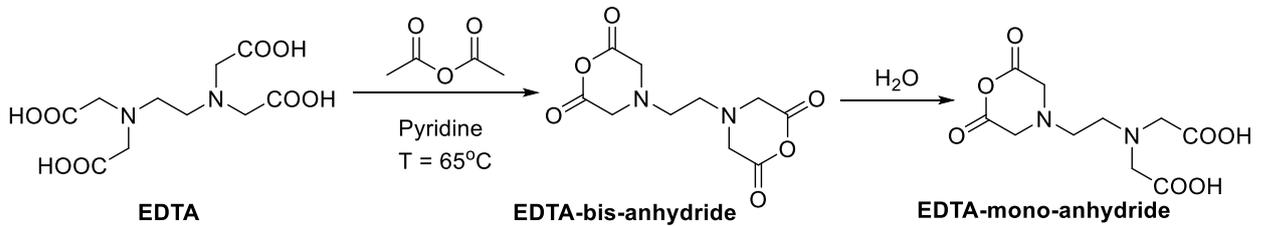


Схема 1.9 – Схема получения **EDTA-mono-andydride**

Использование карбоксильных групп EDTA для прямой конъюгации с биомолекулами в некоторых случаях недопустимо, по причине короткой дистанции между радионуклидом и центром связывания с рецептором [83–86].

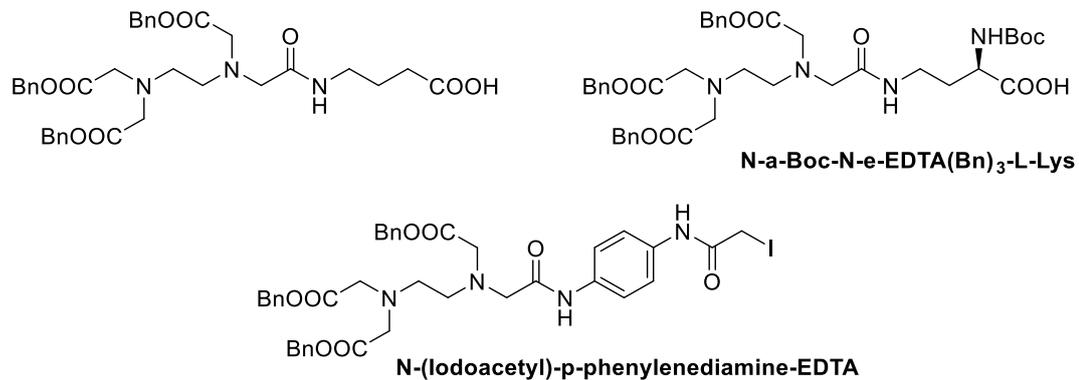


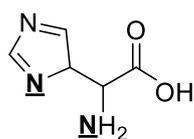
Рисунок 1.10 – Структуры **EDTA с БФХА**

Поэтому дополнительно в структуры EDTA вводят бифункциональные линкеры (рисунок 10).

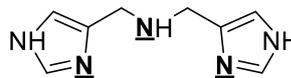
### ***Бидентантные и тридентантные хелатирующие агенты***

Бидентантные и тридентантные лиганды чаще всего представляют собой N-гетероциклы, такие как пиразолы, пиридины, имидазолы и др. [87–89] (рисунок 1.11).

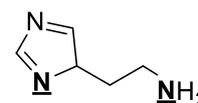
## imidazole derivatives



Histidine

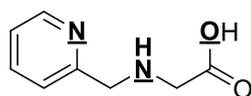


DIM

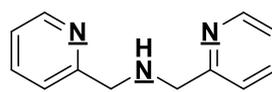


Histamine

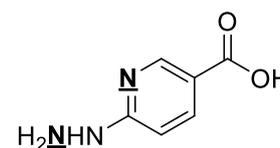
## pyridine derivatives



PAMA



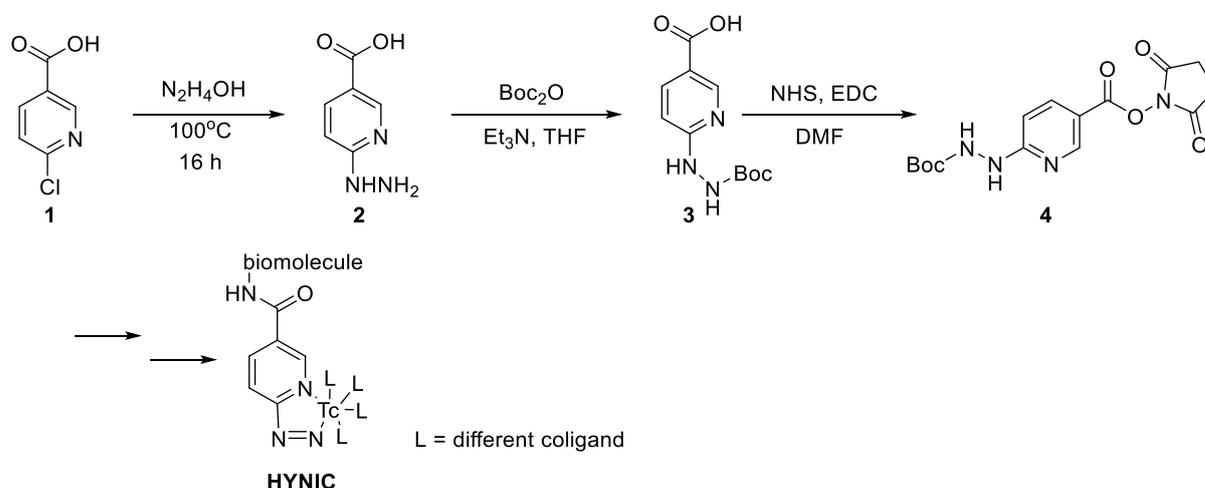
DPA



HYNIC

Рисунок 1.11 - Бидентантные и тридентантные хелатирующие агенты

Одним из часто используемых бифункциональных лигандов в синтезе биоконъюгатов считается 6-гидразионикотиновая кислота (**HYNIC**), которую получают из 6-хлорникотиновой кислоты действием 80%-ого гидразин гидрата [18, 90]. 6-Гидразионикотиновая кислота (6-HYNIC), в отличие от изомеров (2-HYNIC, 4-HYNIC), способна связываться с технецием при очень низких концентрациях, поэтому для дальнейшего ее применения в синтезе биоконъюгатов необходимо провести защиту аминогруппы *tert*-бутоксикарбонильной группой ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ) (**3**) и активацию по карбоксильной группе (**4**) (схема 1.12) [90].

Схема 1.12 – Схема получения хелатирующего агента **HYNIC**

Меченные биомолекулы технецием-99м с использованием HYNIC в качестве хелатора отличаются от других БФХА, поскольку технеций связывается с гидразиновой составляющей, образуя связь Tc-N. Для стабилизации молекулы требуются со-лиганды, которые оказывают значительное влияние на биораспределение РФП [91]. В качестве со-лиганда могут быть применены ранее описанные хелатирующие агенты, что позволяет изменять свойства меченного пептида [92, 93].

Еще одними известными бидентатными хелатирующими агентами являются гистамин и гистидин [94, 95]. Гистидин чаще всего модифицируют по N-альфа-положению свободной аминогруппы или по азоту в имидазольном кольце. Например, авторы использовали комбинацию этих методов и получили функционализированную гистидиновую систему, пригодную для создания новых диагностических РФП (схема 1.13) [3, 94, 96]

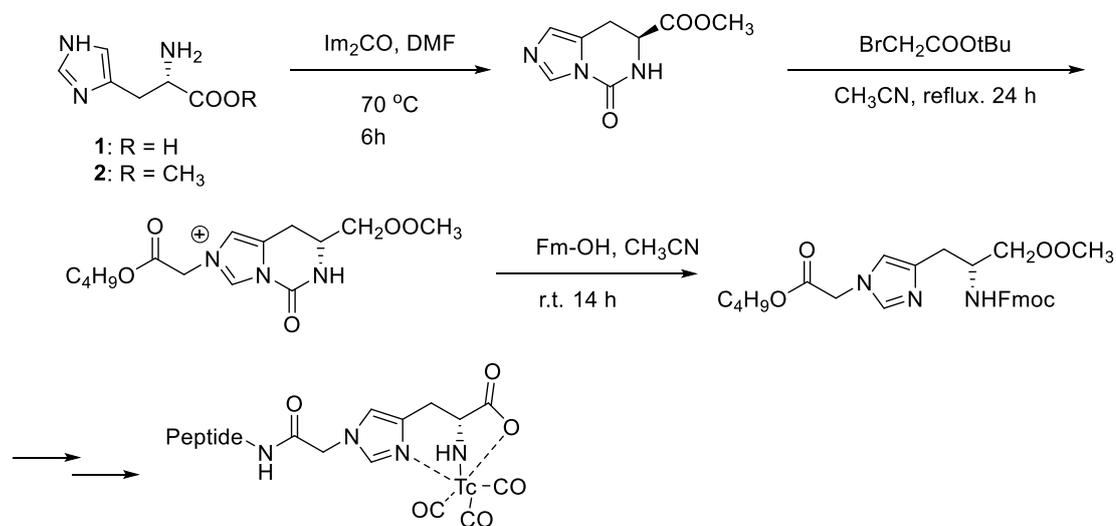


Схема 1.13 – Схема получения хелатирующего агента на основе гистидина

Помимо выше упомянутых лиганд важным и проверенным комплексообразователем является ди-(2-пиколил)амин [97–101]. В литературе встречается две основных технологии получения бифункциональных агентов на основе пиколиламина.

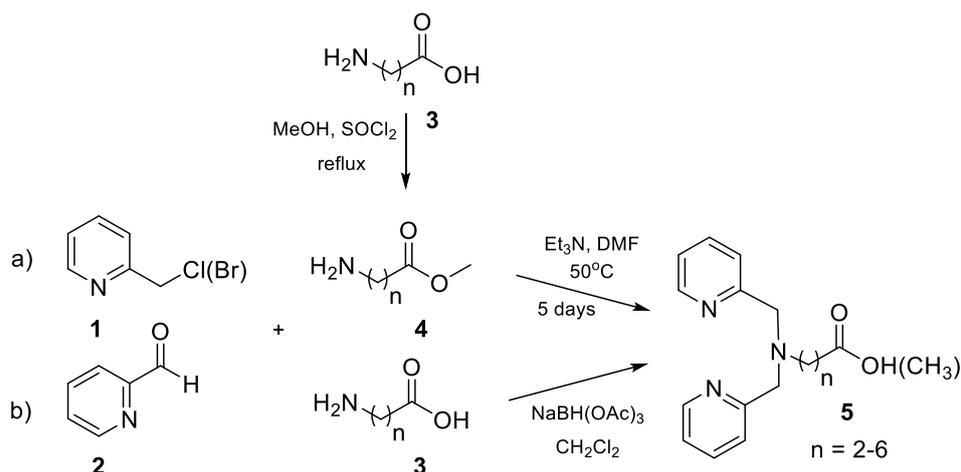


Схема 1.14 – Схема получения хелатирующего агента на основе ди-(2-пиколил)амина

Первый подход (путь **a**) основан на реакции алкилирования сложных эфиров (**4**)  $\omega$ -аминокарбоновых кислот с 2-пиколилгалогенами (**1**). Второй подход (путь **b**) представляет собой восстановительное аминирование, протекающее через образование основания Шиффа между аминогруппой кислоты (**3**) и альдегидной группой пиридин-2-карбоксальдегида (**2**) с последующим восстановлением триацетоксиборгидридом натрия (схема 1.14).

Главным недостатком этих методов является низкие выходы конечных продуктов (не более 60%), время реакции (до 5 дней), а также необходимость предварительной этерификации  $\omega$ -аминокарбоновых кислот.

Однако одним из преимуществ работы с тридентантными лигандами следует отметить возможность проведения радиосинтеза при низких концентрациях биомолекул-лигандов ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  ммоль).

## 1.2. Основные подходы к связыванию хелатирующих агентов с биомолекулами

Конъюгирование бифункционального хелатирующего агента с интересующей биомолекулой осуществляют по одним из нижеприведенных подходов (схема 1.15) [58][102].

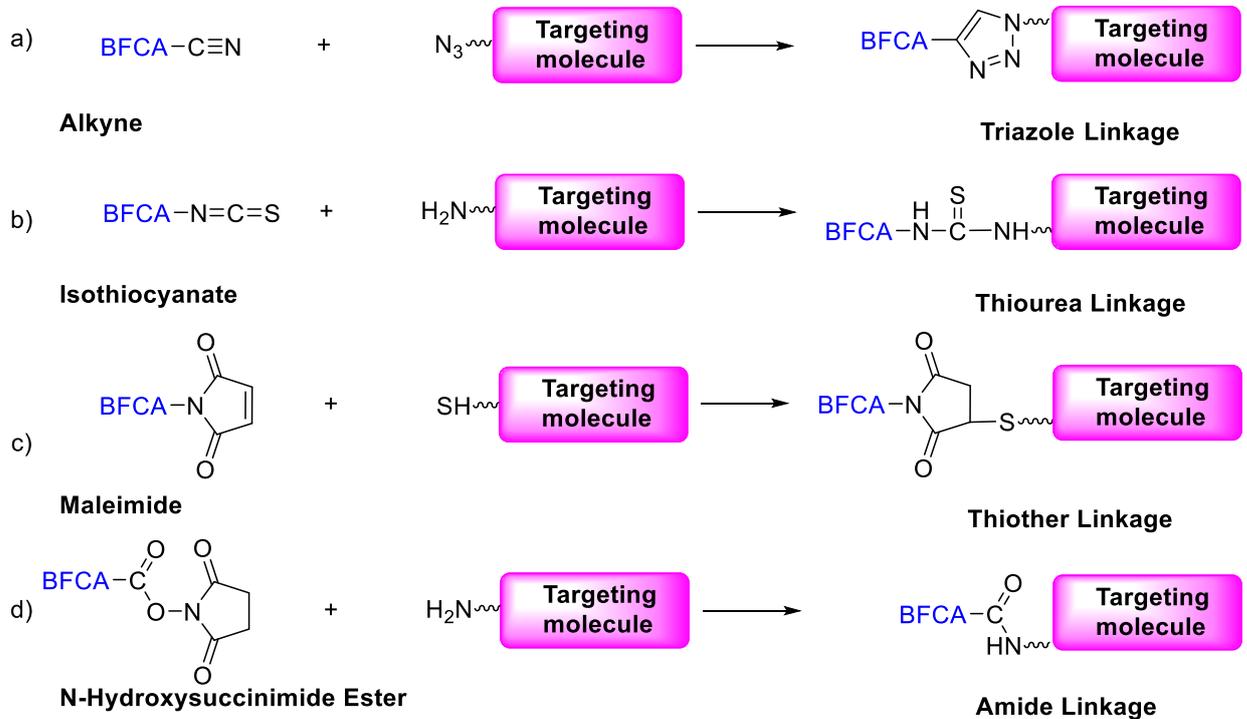


Схема 1.15 – Классические методы связывания БФХА с БАС

В последнее время широкую популярность набирает метод, основанный на реакции между алкинами и азидами с образованием 1,2,3-триазолов в присутствии медных катализаторов (так называемое азид-алкиновое циклоприсоединение (CuAAC), путь **a**).

Данный подход используется в создании тридентантного лиганда (1,2,3-триазола) в структуре радиофармпрепарата для дальнейшей координации с технецием. Как известно, медь токсична и важно полностью удалить металл из конечного продукта. Однако, это может вызвать ряд трудностей, потому что многие пептиды и белки (входящие в структуру РФП) содержат аминокислоты, способные координировать медь, а неспецифическое связывание с медью может привести к отрицательному влиянию на

способность связывания конечного РФП с рецептором. Кроме того, использование катализаторов требует тщательной оптимизации и усложняет технологию радиосинтеза [70, 103, 104].

Другим распространённым подходом конъюгации бифункционального хелатирующего агента и биомолекулы является образование стабильных тиомочевин посредством реакции изотиоцианатов и первичных аминов (путь **b**). Их конъюгирование проводят в диапазоне pH 8,0–9,5 при комнатной температуре. Однако полной конверсии связывания изоцианата с первичной аминогруппой не удается добиться, поскольку наблюдаются конкурирующие реакции по гидроксильным и сульфгидрильным группам, присутствующих в структурах биомолекул. Данный подход конъюгации не подходит для модификации биомолекул чувствительных к щелочным условиям [105].

Не менее популярной функциональной группой для конъюгации является малеимид, который селективно реагирует с тиолами с образованием тиоэфирной связи (путь **c**). Реакция протекает при нейтральном pH 6,5–7,5, в связи с тем, что при pH выше 8,0 малеимиды могут гидролизироваться с образованием инертных малеиминовых кислот. Поскольку многие биомолекулы не содержат тиоловых групп, использование малеимида, как группы для конъюгации несколько ограничено [61].

Наиболее популярной функциональной группой является карбоксильная, которую легко активируют превращением в сукцинимидный эфир действием NHS и карбодиимида (EDC или DCC) и далее вводят в реакцию с первичными аминами с образованием амидной связи (подход **d**). Данный подход является популярным, потому что он обеспечивает высокую селективность связывания и мягкие условия реакции (pH в водных системах 7,0–8,0). NHS-эфиры карбоновых кислот обладают относительной устойчивостью и могут храниться при низких температурах в безводном состоянии достаточно долго, поэтому широко используются в синтезе радиофармпрепаратов. Этот подход часто используется для конъюгации с различными антибиотиками,

аминокислотами, гормонами и другими специфичными активными биомолекулами [108, 109].

Таким образом, за последние годы было получено огромное количество бифункциональных хелатирующих агентов, которые используются в области химии, биохимии и медицины. Однако несмотря на широкий арсенал, исследователи продолжают разрабатывать и синтезировать новые структуры для придания улучшенных свойств и управления липофильностью РФП.

## ГЛАВА 2. Исследовательская часть. Разработка технологии получения бифункциональных хелатирующих агентов

Как показывает литературный обзор, разработка методов получения РФП представляет собой комплексную задачу, включающую в себя всестороннее исследование и оптимизацию ключевых стадий процесса. Данная диссертационная работа направлена на разработку технологии получения прекурсоров для РФП, а также путей их введения в структуру биомолекул.

### 2.1. Окислительное расщепление алициклических кетонов

Проведенный анализ современных источников литературы, описывающих основные подходы к синтезу РФП, показывает исключительную ценность алифатических кислот с терминальными хорошо уходящими группами в алкильном фрагменте **как прекурсоров РФП** [43,49,50,66] (рисунок 2.1) (глава 1).

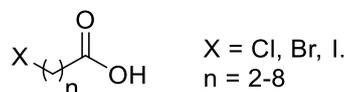


Рисунок 2.1 – Общая структура алифатических кислот с терминальными хорошо уходящими группами

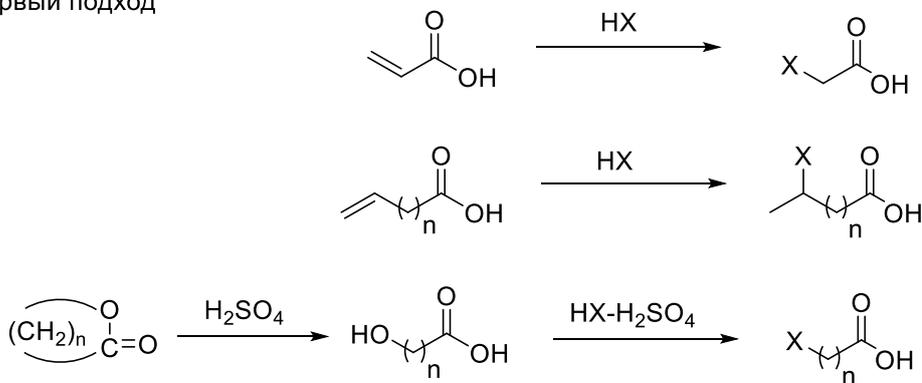
Собственно, одной из основных задач современной технологии синтеза РФП является целенаправленный поиск синтетических методов для получения кислот данного типа и разработка технологических решений для их эффективного и низкочатратного производства. Вполне очевидным является то, что именно данная стадия привлекла наше внимание.

### 2.1.1. Выбор субстратов для получения $\omega$ -производных кислот и их эфиров

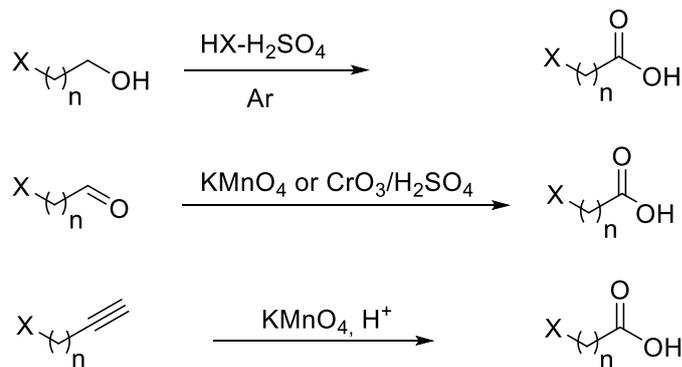
В настоящий момент известны два основных способа получения алифатических кислот с терминальными хорошо уходящими группами в алкильном фрагменте.

Первый способ (схема 2.1) основан на присоединение галогенводородов или галогенов к непредельным кислотам, а также замещение гидроксигруппы гидроксикислот галогенами [110].

Первый подход



Второй подход



X = Cl, Br

Схема 2.1 – Основные подходы получения терминальных галогенкарбоновых кислот

Второй способ (схема 2.1) основан на окислительных трансформациях ряда галогенсодержащих соединений с образованием карбоксильной группы в альдегидах, спиртах, алкинах [111–115].

Тем не менее, существующие методы получения не лишены недостатков, в частности, окисление протекает недостаточно селективно, а кислая среда способствует нежелательному окислению других функциональных групп или осмолению/разложению субстрата.

Поэтому для получения  $\omega$ -замещенных карбоновых кислот предпочтительно использование лактонов либо кетонов в качестве субстратов. Современные системы их расщепления, как правило приводят к оксикислотам, и основаны на использовании нескольких окислительных систем: муравьиная кислота – пероксид водорода [116], тетрахлорид олова – пероксид водорода [117, 118]. Система Байера-Виллигера, которой проводят окисление альдегидов или кетонов действием пероксида водорода, органическими надкислотами или мононадсерной кислотой, приводит к образованию сложных эфиров, лактонов или кислот [119]. Однако использование пероксикислот и пероксидов в высоких концентрациях зачастую связано с активным протеканием побочных процессов, а также со взрывоопасными свойствами самих перекисных соединений. [120]. К тому же, данные методы плохо совместимы с галоид-производными, особенно иод-содержащими [121].

Отсутствие удобных и безопасных систем расщепления кетонов стало стартом для нашего исследования и целенаправленной разработки методов окислительной трансформации циклических кетонов в  $\omega$ -иодоалифатические кислоты и их эфиры.

### 2.1.2. Подбор условий окислительного расщепления кетонов

На первом этапе наших исследований был проведен ряд экспериментов по подбору окислительной системы для **расщепления** циклических кетонов. При выборе окислителей мы руководствовались соображениями безопасности, доступности и дешевизны реагентов. Так, нами были выбраны такие окислители, как Оксон (OXONE), иодат калия и пероксид водорода, которые удовлетворяют вышеуказанным требованиям (таблица 2.1). Условия

реакции были оптимизированы с использованием циклогексанона **1a** в качестве модельного соединения.

Таблица 2.1 – Влияние окислителя на расщепление циклогексанона

№	Окислитель	<b>1a</b>	<b>2a</b>	<b>3a</b>	<b>4</b>
1	Охоне	-	-	-	+
2	KIO <sub>3</sub>	+	-	+	+
3	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	+	+	-

При проведении окислительного расщепления циклогексанона **1a** в присутствии Оксона (таблица 2.1, эксперимент 1), по данным ГХ-МС и <sup>1</sup>H ЯМР спектров в реакционной массе отсутствовал основной продукт расщепления – метиловый эфир б-иодгексановой кислоты (**2a**), а также промежуточный продукт – капролактон и исходный кетон (**1a**). Согласно протонному спектру при окислении Оксоне образуются только гидроксипроизводные кислоты (**4**).

В случае расщепления циклогексанона (**1a**) под действием иодата калия (KIO<sub>3</sub>) в реакционной массе наблюдался только сигнал циклогексанона (согласно ГХ-МС), а, в свою очередь, по данным <sup>1</sup>H ЯМР-спектров образуется смесь гидрокси- (**4**) и иодгексановой кислот (**3a**) (таблица 2.1, эксперимент 2).

Использование перекиси водорода в качестве окислителя является более предпочтительным, в силу экологичности данного реагента, поскольку единственным побочным продуктом является вода. Более того перекись водорода в присутствии солей металлов или иода в качестве катализатора проявляет высокую активность в реакции Байера – Виллигера, однако об образовании органических иодидов в этих реакциях ранее не сообщалось. Так

в случае совместного использования (таблица 2.1, эксперимент 3) пероксида водорода, хлорида меди (I) в качестве катализатора и молекулярного иода согласно ГХ-МС и  $^1\text{H}$  ЯМР-спектров мы фиксировали образование двух продуктов: метил 6-иодгексаноата (**2a**) и 6-иодгексановой кислоты (**3a**). Поэтому в дальнейшей работе была использована эта окислительная система.

### 2.1.3. Поиск оптимального растворителя

Важнейшей технологической задачей является выбор растворителя, который влияет на технико-экономические показатели процесса. В силу того, что в ходе реакции в среде метилового спирта (MeOH) образуются два продукта: метил 6-иодгексаноат (**2a**) и 6-иодгексановая кислота (**3a**), мы решили проверить как влияет природа растворителя на конечные продукты (таблица 2.2). Так образование иодзамещенных кислот и эфиров с хорошими выходами мы наблюдали только в случае использования спиртов (таблица 2.2, эксперимент 1-4). Соотношение сложный эфир:кислота сильно зависит от природы спирта; и выход кислот резко увеличивается при переходе от MeOH к *t*-BuOH. При этом реакции в метаноле и этаноле (таблица 2.2, эксперимент 1-2) преимущественно дают эфиры в качестве основных продуктов, а в реакциях в *i*-PrOH и *t*-BuOH в качестве основного продукта получается 6-иодгексановая кислота (**3a**) (таблица 2.2, эксперимент 3-4). Использование апротонных растворителей, таких как ацетонитрил или тетрагидрофуран, приводило к образованию 6-иодгексановой (**3a**) и 6-гидроксигексановой (**4**) кислот (таблица 2.2, эксперимент 5-6). Единственным продуктом, наблюдаемым в следовых количествах в воде, была 6-гидроксигексановая кислота (**4**) (таблица 2.2, эксперимент 7). Однако, низкий выход данного производного не позволяет рассматривать данный процесс как синтетически полезный метод.

Таблица 2.2 – Влияние природы растворителя на окисление циклогексанона

№	Растворитель	2a (R), выход (%)	3a, выход (%)	4, выход (%)
1	MeOH	75 (Me)	24	-
2	EtOH	55 (Et)	40	-
3	<i>i</i> -PrOH	3 ( <i>i</i> -Pr)	75	-
4	<i>t</i> -BuOH	-	84	-
5	CH <sub>3</sub> CN	-	18	7
6	THF	-	24	8
7	H <sub>2</sub> O	-	-	<1

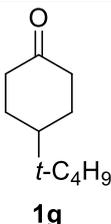
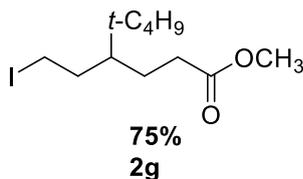
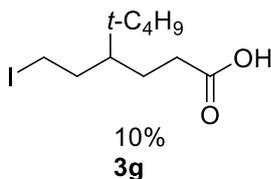
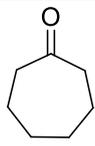
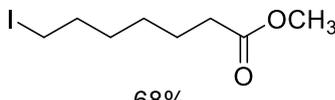
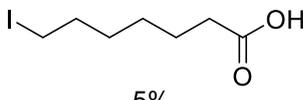
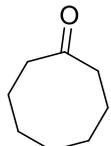
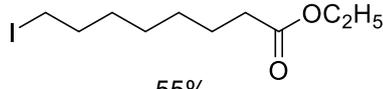
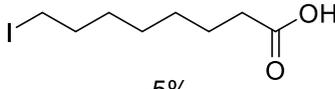
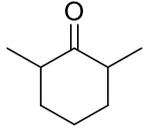
Таким образом, варьируя природу растворителя можно менять направление процесса. В частности, использование *t*-BuOH в качестве растворителя приводит к образованию исключительно  $\omega$ -иодгексановой кислоты (**3a**). Это потенциально важный результат, поскольку гидролиз  $\omega$ -иодоалифатических сложных эфиров не приводит к образованию соответствующих кислот из-за лабильности атома иода в условиях реакции гидролиза.

#### 2.1.4. Влияние размера цикла на окислительное расщепление

Найденные условия позволили нам окислить ряд кетонов **1** с различным размером цикла (таблица 2.3) с использованием метанола или этанола в качестве растворителей. Так, окисление пятичленных и шестичленных циклов протекает гладко с образованием соответствующих продуктов (таблица 2.3, эксперимент 1,2).

Таблица 2.3 – Получение ω-иодоалифатических карбоновых кислот и эфиров

<p> <math display="block">\text{R} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{R} \xrightarrow[\text{R}^1\text{OH}]{\text{I}_2, \text{H}_2\text{O}_2, \text{CuCl}} \text{R} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{O} \text{R}^1 + \text{R} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \end{array} \text{C} \begin{array}{c} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{OH}</math> <math display="block">\text{R} = \text{H}, \text{CH}_3, \text{CH}(\text{CH}_3)_2, \text{C}(\text{CH}_3)_3</math> <math display="block">n = 1-4</math> </p>				
№	Кетон	2, ВЫХОД <sup>b</sup> (%)	3, ВЫХОД <sup>b</sup> (%)	Время, h
1	 <b>1a</b>	 75% <b>2a</b>	 24% <b>3a</b>	8
2	 <b>1b</b>	 70% <b>2b</b>	 18% <b>3b</b>	8
3	 <b>1c</b>	  57% <b>2c+2c'</b>	- <sup>d</sup>	14
4	 <b>1d</b>	 54% <b>2d</b>	 3% <b>3d</b>	14
5	 <b>1e</b>	 40% <b>2e</b>	 5% <b>3e</b>	16
6	 <b>1f</b>	 68% <b>2f</b>	-	14

7	 <b>1g</b>	 75% <b>2g</b>	 10% <b>3g</b>	14
8	 <b>1h</b>	 68% <b>2h</b>	 5% <b>3h</b>	24
9	 <b>1i</b>	 55% <b>2i</b>	 5% <b>3i</b>	36
10	 <b>1j</b>	-	-	-

<sup>a</sup> Условия реакции: 6 ммоль циклогексанона, 3 ммоль I<sub>2</sub>, 0,6 ммоль CuCl, 18 ммоль H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MeOH, r.t., 8–36 h.

<sup>b</sup> Препаративный выход.

<sup>c</sup> Получен в виде смеси 6-иод-3-метилгексаноата и 6-иод-5-метилгексаноата в соотношении 3:2

<sup>d</sup> Получен в виде неразделимой смеси изомерных кислот.

Интересным являлся факт влияния заместителей (метил, пропил, *tert*-бутил-) в циклогексаноне. Так, их наличие смещает образование продуктов в сторону эфиров (таблица 2.3, эксперимент 3-7). Стерически затруднённый 2,6-диметилциклогексанон в данных условиях закономерно не окислялся из-за пространственного строения (таблица 2.3, эксперимент 10).

В случае окисления несимметричного 3-метилциклогексанона, мы наблюдали смесь продуктов 6-иод-3-метилгексаноата и 6-иод-5-метилгексаноата в соотношении 3:2 (таблица 2.3, эксперимент 3). Циклы больших размеров, а именно циклогептанон и циклооктанон окислялись дольше (таблица 2.3, эксперимент 8,9), причем проведение реакции даже в

течение 56 часов и увеличение количества окислителя до 24 ммоль не приводило к полному превращению кетонов в соответствующие продукты.

### 2.1.5. Контроль конверсии в реакции расщепления кетонов

Для разработки и валидации аналитической методики были выбраны циклогексанон (**1a**) и метиловый эфир 6-иодгексановой кислоты (**2a**), собственно, субстрат и продукт реакции. Хроматомасс-спектрометрические исследования проводили на газохроматографическом комплексе Agilent 7820 с масс-селективным квадрупольным детектором Agilent 7820. Количественное содержание определяли по методу внутреннего стандарта.

Условия проведения анализа:

1. Колонке DB-5MS (5%-фенил-95%-метил-полисилоксановая фаза, длина 30 м, диаметр 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм).
2. скорость потока 1 мл/мин;
3. температура 60 °С;
4. подвижная фаза: гелий;
5. деление потока 1:20.

**Линейность.** Параметр линейность определяли путем измерения шести стандартных растворов циклогексанона (**1a**) и восьми стандартных растворов метил 6-иодгексаноата (**2a**). В качестве внутреннего стандарта был использован хлорбензол. Каждый стандартный раствор хроматографировали по шесть раз, затем подсчитывали среднюю площадь пиков циклогексанона (**1a**), метил 6-иодгексаноата (**2a**) и хлорбензола. На основании полученных данных были построены градуировочные графики (рисунок. 2.2 и 2.3).

В ходе определения линейности методики установлено, что график зависимости имеет линейный характер в области концентрации циклогексанона (**1a**) от 1,3 до 10,5 мг/мл и описывается уравнением  $y = 0,4057x - 0,0025$ . Коэффициент корреляции равен 0,9998, что свидетельствует о

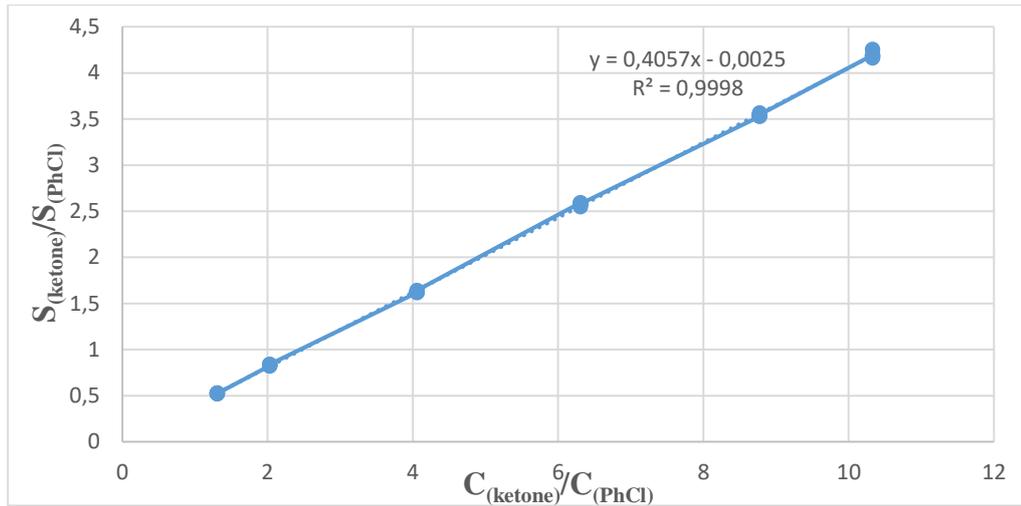


Рисунок 2.2 – Калибровочный график зависимости отношения площади пика циклогексанона ( $S(ketone)$ ) к площади внутреннего стандарта ( $S(PhCl)$ ) к концентрации циклогексанона ( $C(ketone)$ ) к концентрации внутреннего стандарта ( $C(PhCl)$ ).

линейной зависимости значений отношения площадей циклогексанона (**1a**) к площадям хлорбензола от концентрации циклогексанона (**1a**) к концентрации внутреннего стандарта в пробе (рисунок 2.2).

В ходе определения линейности методики установлено, что график зависимости имеет линейный характер в области концентрации метил 6-иодгексаноата (**2a**) от 3 до 37,5 мг/мл и описывается уравнением  $y = 0,5695x - 0,0036$  (рисунок 2.3).

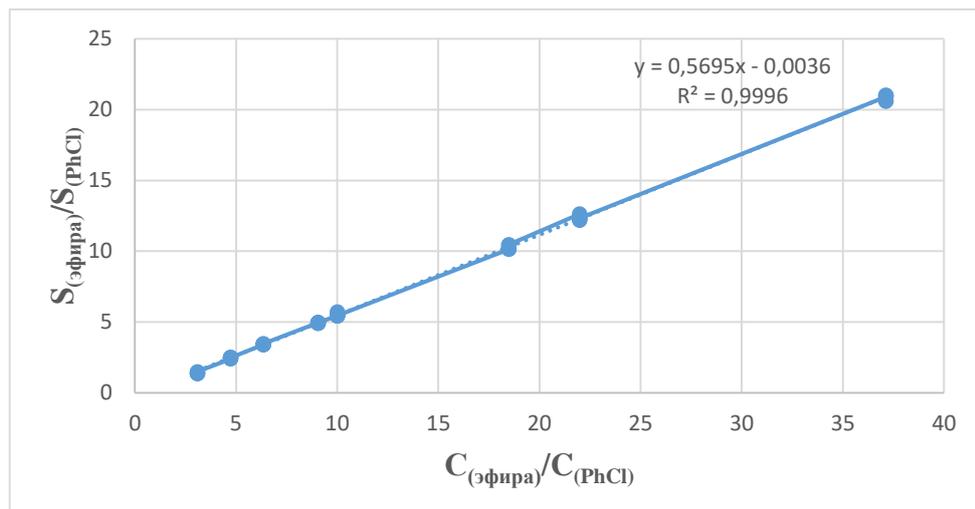


Рисунок 2.3 – График зависимости отношения площади пика метил 6-иодгексаноата к площади пика хлорбензола от концентрации метил 6-иодгексаноата к концентрации внутреннего стандарта

Коэффициент корреляции равен 0,9996, что свидетельствует о линейной зависимости значений отношения площадей метил 6-иодгексаноата (**2a**) к площадям хлорбензола от концентрации метил 6-иодгексаноата (**2a**) к концентрации внутреннего стандарта в пробе.

**Специфичность.** На хроматограмме реакционной смеси (рисунок 2.4) наблюдали 3 пика, идентификацию которых проводили по масс-спектру.

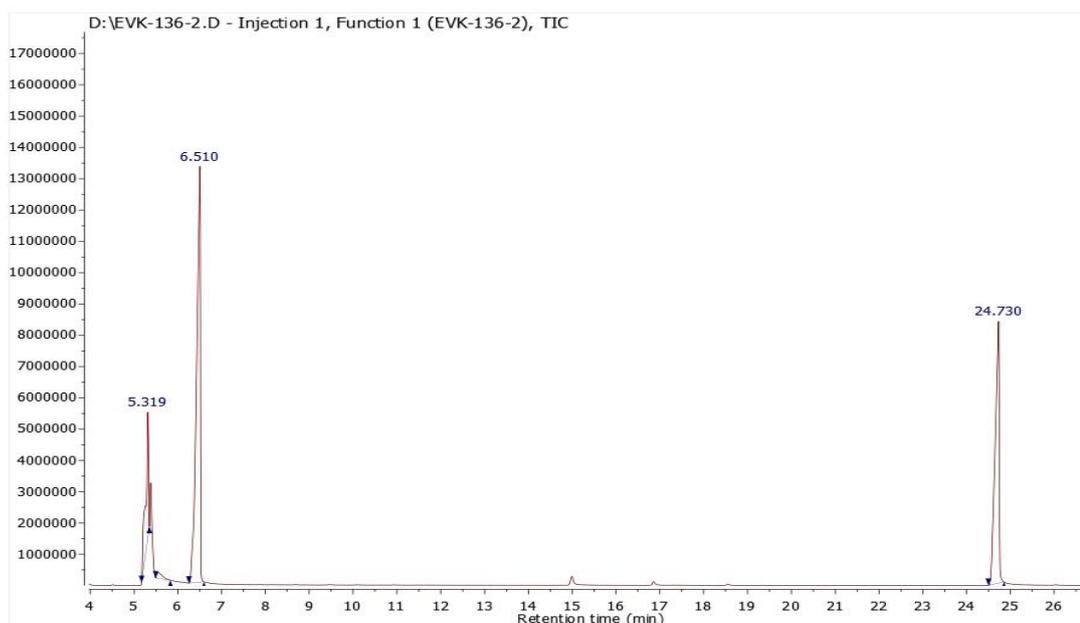


Рисунок 2.4 – ГХ-хроматограмма с внутренним стандартом

Пики соответствовали хлорбензолу, циклогексанону (**1a**) и метил 6-иодгексаноату (**2a**) со временами удерживания 5,319, 6,510 и 24,730 мин соответственно.

Однако ввиду отсутствия масс-спектра метил 6-иодгексаноата (**2a**) в библиотеке масс-спектров NIST2008.L и несовпадением с найденным молекулярным ионом, дальнейшую валидацию методики было решено проводить на циклогексаноне (**1a**).

**Методика количественного определения.** Из реакционной массы отбирают 100 мкл аликвоты и помещают в виалу, затем добавляют 100 мкл раствора внутреннего стандарта и 800 мкл ацетонитрила. Раствор перемешивают и хроматографируют. Концентрация внутреннего стандарта хлорбензола в исследуемых образцах 0, 4667 мг/мл. Время удерживания –

24,681 минуты.

Концентрация циклогексанона в реакционной смеси с учетом разведения по методике количественного определения и объема реакционной смеси рассчитывается по следующей формуле:

$$X = A \times 10,$$

где  $X$  – концентрация циклогексанона в реакционной смеси, мг/мл;

$A$  – концентрация циклогексанона в исследуемое пробе, найденная по градуировочному графику с учетом концентрации внутреннего стандарта хлорбензола, мг/мл.

**Правильность.** Для определения правильности были приготовлены модельные растворы **1, 2, 3**, используя точные навески хлорбензола и циклогексанона. Каждый модельный раствор хроматографировали по 3 раза в 6 повторах, затем подсчитывали среднюю площадь пиков циклогексанона (**1a**) и хлорбензола. Для оценки правильности полученные результаты подвергли статистической обработке (таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Результаты определения правильности методики

Номер модельного раствора	Концентрация циклогексанона в растворе, мг/мл		Ошибка		Процент нахождения циклогексанона, %
	теоретическая	практическая	абсолютная	относительная	
1	0,6000	0,6045	0,0045	0,75	100,75
	0,6000	0,6056	0,0056	0,93	100,93
	0,6000	0,6012	0,0012	0,20	100,20
2	0,3000	0,3081	0,0081	2,70	102,70
	0,3000	0,3072	0,0072	2,40	102,40
	0,3000	0,3035	0,0035	1,16	101,16
3	0,2000	0,1927	-0,0073	-3,65	96,35
	0,2000	0,1940	-0,0060	-3,00	97,00
	0,2000	0,1963	0,0037	-1,85	98,15

Как видно из данных, представленных в таблице 2.4, величина относительной ошибки не превышает 5%, что свидетельствует о незначительных отклонениях результатов, полученных с помощью данной методики. Следовательно, разрабатываемая методика обладает таким параметром, как правильность.

**Сходимость и внутрилабораторная прецизионность.** Сходимость определения на основании статистической обработки результатов, полученных при анализе 10 проб реакционной массы. Внутрилабораторная прецизионность доказана путем использования данных сходимости вместе с набором данных, полученных при выполнении методики другими аналитиками и в другой день (таблица 2.5).

Таблица 2.5 – Оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения циклогексанона

Аналитик	$\bar{x}$	$S$	$S\bar{x}$	$T_{(p, f)}$	$\Delta x$	$\tau, \%$	$v, \%$	$f$
№1	48,5	1,29	0,41	2,26	0,93	1,91	2,7	9
№2	48,2	1,52	0,48	2,26	1,08	2,24	3,1	9
№1 (в другой день)	48,7	1,4	0,44	2,26	0,99	2,03	2,8	9

Примечание:  $\bar{x}$  – значение среднего результата;  $S$  – стандартное отклонение;  $S\bar{x}$  – стандартное отклонение среднего результата;  $T(p, f)$  – критерий Стьюдента (табличное значение);  $\Delta x$  – доверительный интервал среднего значения;  $\tau$  – относительная ошибка;  $v$  – коэффициент корреляции;  $f$  – число степеней свободы;

Согласно данным таблице 2.5, относительная ошибка составляет не более 5%, а коэффициент вариации не более 7%, что удовлетворяет параметрам валидирования методики.

**Устойчивость методики.** Для установления устойчивости методики проводили по 3 определения пробы при стандартных условиях (см. условия выше) и при изменении условий (температура колонки 70 °С, скорость потока 1 мл/мин и при температуре колонки 50 °С, скорость потока 1 мл/мин). Влияние параметров оценивали с помощью следующих характеристик: время удерживания, коэффициент асимметрии, число теоретических тарелок, площадь пика и полученное значение содержания циклогексанона в реакционной смеси. Изменение температуры незначительно влияло на параметры хроматографической системы, что указывает на надежность методики при ее использовании в указанных условиях.

### 2.1.6 Контроль качества $\omega$ -иодоалифатических кислот и их эфиров

Для обеспечения высокого уровня качества и безопасности радиофармпрепаратов необходимо проводить контроль производства и контроль качества, как промежуточных прекурсоров, так и конечных РФП. Для этих целей необходимо создание ряда протоколов, где должны быть четко регламентированы все производственные процессы, валидированы методики и описаны все характеристики полученных продуктов.

В современном фармацевтическом анализе органических лекарственных средств перспективными являются быстрые, точные и доступные методы анализа. К таким методам относят ЯМР-, УФ-, ИК-спектроскопии, а также хроматографические методы: ТСХ, ГХ и ВЭЖХ.

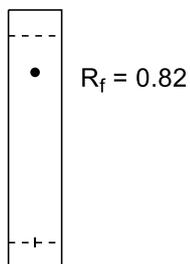
#### Подлинность метилового эфира 6-иодгексановой кислоты

**Описание:** цвет от бледно–желтого до темно–коричневого.

**Растворимость:** легко растворим в органических растворителях (этилацетат, дихлорметан, хлороформ, гексан, метанол), нерастворим в воде, малорастворим в ацетонитриле с 0,1% добавкой трифторуксусной кислоты.

**Подлинность:**

1. **Тонкослойная хроматография:  $R_f = 0.82$ .** ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ и Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. В качестве подвижной фазы использовали гексан/этилацетат = 5:1.



2. **Газовая хроматография с масс-селективным квадрупольным детектором.** Время удерживания – 24,681 минуты. Условия хроматографирования см 2.1.4 Разработка условий валидации.

3. **ЯМР-спектроскопия:** ЯМР-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение А1 и А2). Допустимое содержание

примесей (посторонних сигналов) до 5%.

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

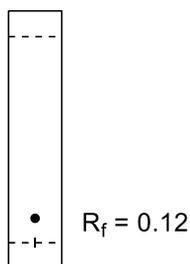
### Подлинность 6-иодгексановой кислоты

**Описание:** белые игольчатые кристаллы, плавящиеся при комнатной температуре до маслообразной консистенции.

**Растворимость:** легко растворим в органических растворителях (этилацетат, дихлорметан, хлороформ, гексан, метанол), нерастворим в воде, мало растворим в ацетонитриле с 0,1% добавкой трифторуксусной кислоты.

**Подлинность:**

1. **Тонкослойная хроматография:**  $R_f = 0.12$ . ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ и Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. В качестве подвижной фазы использовали гексан/этилацетат = 5:1.



2. **ЯМР-спектроскопия:** ЯМР-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Б1 и Б2). Допустимое содержание примесей (посторонних сигналов) до 5%.

3. **Температура плавления:**  $T_{пл} = 30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

Таким образом, мы разработали новую, эффективную и низкочатратную технологию получения ценных иодалифатических кислот и их эфиров из малотоксичных и доступных циклических кетонов действием «зеленого» окислителя – пероксида водорода. Также стоит отметить, наиболее

перспективным растворителем в этой технологии является дешевый, часто используемый в промышленности метанол.

Помимо этого, была разработана и валидирована методика количественного определения циклогексанона (**1a**) и метилового эфира 6-иодгексановой кислоты (**2a**) методом ГХ-МС. Разработанная методика может быть использована контроля подлинности  $\omega$ -иодалифатических эфиров в синтезе прекурсоров РФП.

Стоит отметить, что полученные иодалифатических эфиры послужили ценными субстратами для получения  $\omega$ - $[^{18}\text{F}]$ -фторкарбоновых кислот [122, 123], которые предлагается использовать в кардиологии для ПЭТ [123–125].

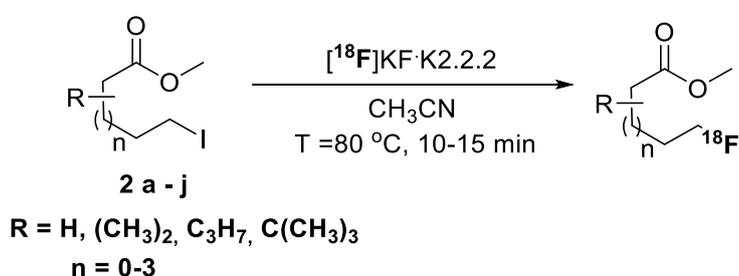


Схема 2.2 – Схема получения  $\omega$ - $[^{18}\text{F}]$ -фторкарбоновых кислот

Работа по радиофторированию проводилась аспирантом НИ ТПУ на базе Центра ядерной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФСНКЦ ФМБА) России в г. Красноярске А.В. Озерской.

## 2.2. Синтез бифункциональных хелатирующих агентов

Современная структура радиофармпрепаратов (см главу 1) состоит из четырех главных структурных единиц (таргетная молекула, линкер, бифункциональный хелатирующий агент и радионуклид – технеций) [126]. Одной из главных задач в технологии получения визуализирующих агентов на основе технеция является разработка подходов введения линкера в структуру бифункциональных хелатирующих агентов. Как видно из литературного обзора (см главу 1), модификация аминогруппы галогенсодержащими алкилирующими агентами – один из часто используемых подходов. В данной работе мы также решили использовать этот метод с использованием ранее полученных  $\omega$ -иодалифатических эфиров для получения тридентантных хелатирующих агентов - ди(2-пиридилметиламино)алифатических кислот (**6**).

Как видно из литературного обзора (глава 1), для получения БФХА такого типа необходима предварительная стадия этерификации  $\omega$ -аминокарбоновых кислот. Более того, другими ограничивающими факторами являются низкие выходы (до 60%) и длительность процесса – 5 дней.

Для решения этой проблемы, мы решили использовать в эквимольных количествах  $\omega$ -иодалифатические эфиры (**2a-g**) и ди-(2-пиколил)амин с добавлением небольшого избытка триэтиламина в качестве основания в среде изопропанола (схема 2.2). Оптимальной температурой для проведения процесса является 80°C. В этих условиях мы получали продукты N-алкилирования **5a-g** с хорошими выходами (схема 2.3).

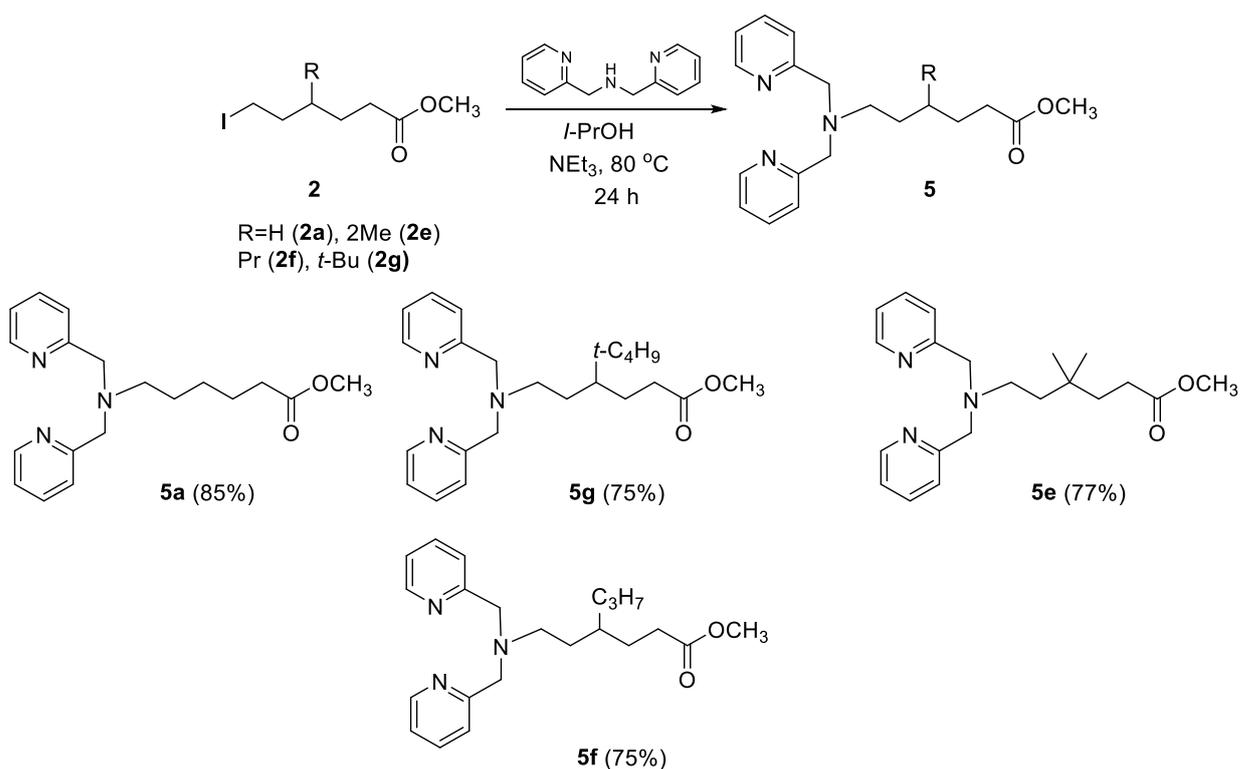


Схема 2.3 – Синтез ω-дипиридил замещенных эфиров **5a-f**

Следующей технологической задачей являлся подбор условий для гидролиза. Экспериментальным путем было выяснено, что кислотный гидролиз (схема 2.4) является более предпочтительным, чем расщепление С-О связи действием оснований. Например, проведение реакции гидролиза с использованием гидроксида натрия даже в течение 24 часов при температуре 80 °С не приводило к полной конверсии сложного эфира. В случае же кислото-катализируемого процесса (HCl) требуется лишь небольшое нагревание в ацетонитриле 50 °С в течение 2 часов. Кислоты (**6a-g**) были выделены с количественными выходами в виде гидрохлоридов после простой отгонки растворителя.

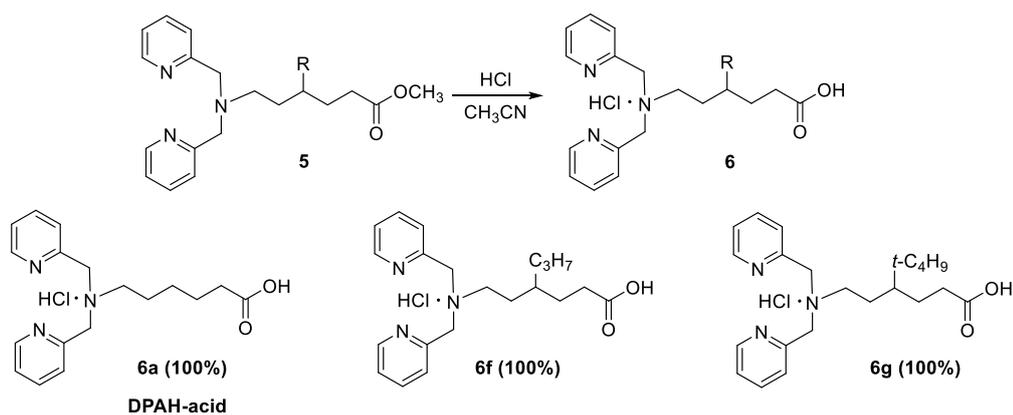


Схема 2.4 – Синтез  $\omega$ -дипиридил замещенных кислот **6a-g**

Как известно, прямое ацилирование amino-групп в структуре биомолекул карбоновыми кислотами не представляется возможным из-за необходимости использования высоких температур, приводящих к денатурации белков. Мы использовали известный подход карбодимидной активации карбоновых кислот с последующим получением N-сукцинимидных эфиров с использованием NHS и DCC [127]. Однако, основная сложность заключалась в том, что 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановая кислота (**6a**) была получена в виде гидрохлорида, который плохо растворялся в метиленхлориде, ацетонитриле, тетрагидрофуране, что затрудняло проведение процесса. Поэтому, важной стадией являлся выбор основания для перевода аммонийной соли в свободное основание. Для этих целей мы использовали растворы натрия карбоната, калия карбоната, раствор натрия гидроксида, однако низкая растворимость неорганических солей приводила к появлению побочных продуктов реакции получения NHS-эфиров. Исходя из этого, мы предложили использовать органическое основание – триэтиламин, который показал высокую эффективность в данном процессе.

На втором этапе работы проводилась оптимизация растворителя. Проведение активации в метиленхлориде является нежелательным, так как по данным <sup>1</sup>H-ЯМР спектра целевой продукт содержит значительное количество примеси триэтиламмония хлорида, легко растворимого в метиленхлориде. Данная проблема наблюдается и при проведении синтеза в ацетонитриле.

Лучшие результаты достигались при использовании безводного тетрагидрофурана в качестве растворителя, где выделяющийся триэтиламмоний хлорид может быть легко отделен простой фильтрацией.

Второй очевидной проблемой очистки продукта являлось образование N,N-дициклогексилмочевины (DCU). Данное вещество образуется в ходе реакции и выпадает в осадок, при этом мочевина частично растворима во многих органических растворителях (метилен хлористый, этилацетат, тетрагидрофуран, ацетонитрил), что и вызывает сложность в ее отделении. Нами было предпринято большое количество попыток очистки активированной кислоты: колоночная хроматография, фильтрование, но полностью избавиться от DCU так и не удалось. Поэтому мы решили заменить DCC на EDC, поскольку в ходе реакции образуется водорастворимая мочевина, которая легко удаляется из реакционной массы при экстракции водой.

Таким образом, эмпирическим путем были подобраны условия процесса получения NHS-эфиров ω-ди-(2-пиридилметиламино)алкановых кислот (время, температурный режим, растворитель). Реакция протекает при комнатной температуре в среде тетрагидрофурана в присутствии NHS|EDC, повышение температуры реакции приводит к снижению выхода целевого продукта. Оптимальным временем синтеза является 24 часа, в течение которых достигается максимальный выход целевого продукта 92% (схема 2.5).

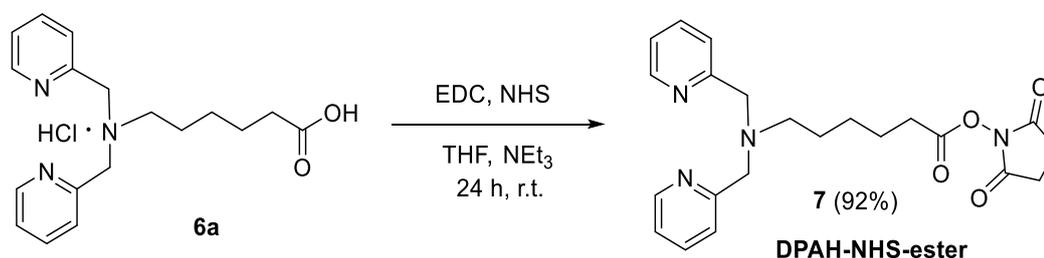


Схема 2.5 – Способ получения **DPAH-NHS-ester (7)**

Полученные ω-дипиридил замещенные кислот **6a-g** были апробированы в радиосинтезе с  $^{99m}\text{Tc}$ .

Таблица 2.6 – РХВ, изолированный выход, РХЧ ω-бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот, меченных технецием-99м<sup>4</sup>.

Радиокомплекс	РХВ*, %	Изолированный выход**, %	РХЧ, %	Специфическая активность, МБк/мкг
<sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановая кислота	95 ± 2	81 ± 1	98 ± 1	1,52
<sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)-4-пропилгексановая кислота	85 ± 2	68 ± 2	97 ± 1	1,36
<sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)-4-третбутилгексановая кислота	86 ± 1	65 ± 1	98 ± 0	1,38
<sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)-4,4-диметилгексановая кислота	87 ± 0	69 ± 0	98 ± 1	1,39

Примечание:

\*РХВ основан на радио-ТСХ неочищенного продукта;

\*\*изолированный выход определяется как процент активности очищенного продукта к общей активности.

Данные, представленные в таблице 2.6 показывают высокие радиохимические выходы (РХВ) (более 80%), в том числе изолированные (более 66%) и радиохимическую чистоту более 97%.

<sup>4</sup> Работа выполнена сотрудниками лаборатории № 31 Ядерного реактора НИ ТПУ

### 2.2.1 Подлинность $\omega$ -ди(2-пиридилметиламино)алкановых кислот и их эфиров

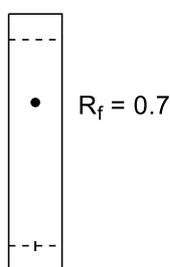
#### Подлинность метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

**Описание:** вязкое светло-желтое масло.

**Растворимость:** легко растворим в органических растворителях (этилацетат, дихлорметан, хлороформ, метанол, ацетонитрил), нерастворим в воде.

#### Подлинность:

1. *Тонкослойная хроматография:*  $R_f=0.7$ . ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ или Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. В качестве подвижной фазы использовали этилацетат/этанол = 10:1.



2. *ЯМР-спектроскопия:* ЯМР-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение В1 и В2). Допустимое содержание примесей (посторонних сигналов) до 5%.

3. *ИК-спектроскопия.* ИК-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение В3)

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

#### Подлинность 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановой кислоты

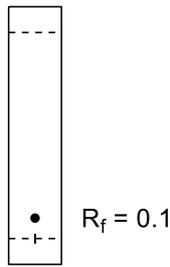
**Описание:** имеет цвет от бледно-желтого до темно-коричневого.

**Растворимость:** легко растворим в воде, не растворим в органических растворителях.

#### Подлинность:

1. *Тонкослойная хроматография:*  $R_f=0.1$ . ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ или Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. В качестве

подвижной фазы использовали этилацетат/этанол = 10:1.



2. *ЯМР-спектроскопия:* ЯМР-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Г1 и Г2). Допустимое содержание примесей (посторонних сигналов) до 5%.

3. *ИК-спектроскопия.* ИК-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Г3)

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

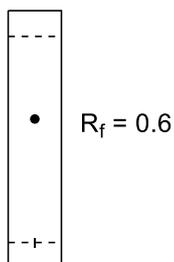
**Подлинность** сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

**Описание:** светло-коричневое масло.

**Растворимость:** легко растворим в органических растворителях (этилацетат, дихлорметан, хлороформ, метанол, ацетонитрил), нерастворим в воде.

**Подлинность:**

1. *Тонкослойная хроматография:*  $R_f=0.65$ . ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ или Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. В качестве подвижной фазы использовали этилацетат/этанол = 10:1.



2. *ЯМР-спектроскопия:* ЯМР-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Д1). Допустимое содержание

примесей (посторонних сигналов) до 5%.

3. ИК-спектроскопия. ИК-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Д2)

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

### 2.3. Технология РФП: Примеры химической модификации биологически активных соединений<sup>5</sup>

Адресное воздействие на опухолевые ткани – важнейшая проблема современной фундаментальной и практической медицины. Крупнейшие фирмы и ведущие мировые научные медицинские центры проводят исследования по направленной доставке препаратов к опухолям. Конкуренция, и уровень разработок, именно по этому направлению, исключительно высок, поэтому основное внимание уделяется созданию систем адресной доставки, представляющих собой производные антител, токсины, либо химиотерапевтические препараты.

Для направленной доставки и воздействия на биологические мишени диагностического РФП, необходимо ввести в его структуру биомолекулу, которая имеет высокое сродство с рецепторами клеток-мишеней и высокоизбирательно связывается с ними.

В литературном обзоре (см главу 1) показаны основные подходы к связыванию биомолекул с бифункциональными хелатирующими агентами.

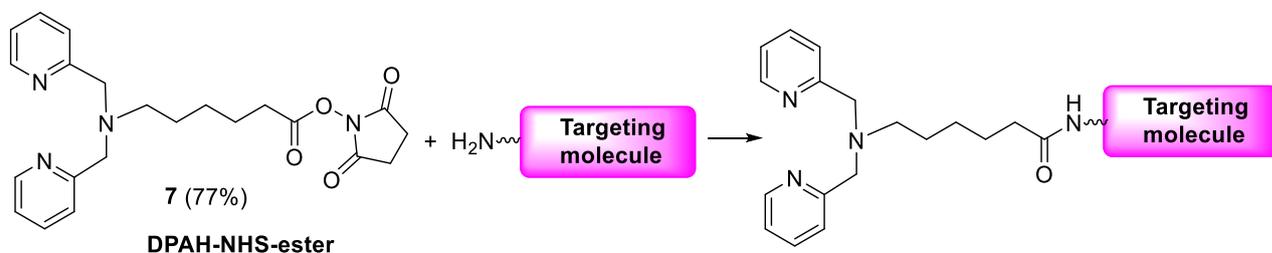


Схема 2.6 – Общая схема модификации

<sup>5</sup> Работа выполнялась совместно с к.фарм.н. Ларькиной Марией Сергеевной (СибГМУ), с сотрудниками лаборатории ядерного синтеза №31 (НИ ТПУ), с сотрудниками НИИ онкологии Томского национального исследовательского центра (НИМЦ) РАН.

Мы предлагаем в своей работе использовать часто используемый подход, основанный на взаимодействии сукцинимидного эфира с первичной аминогруппой таргетной биомолекулы (схема 2.6).

### 2.3.1. Модификация циклического октапептида – октреотида

Популярной адресной молекулой является аналог соматостатина – октреотид, который используется для диагностики и терапии нейроэндокринных опухолей (НЭО) тонкого кишечника и поджелудочной железы [128, 129]. Использование радиоактивно меченных производных октреотида позволяет проводить диагностику и лечение неоперабельных нейроэндокринных опухолей. В настоящее время известны работы, в которых дополнительную модификацию октреотида проводили такими хелатирующими агентами как HYNIC ( $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-[Tyr3]), DOTA ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC), NOTA ( $^{18}\text{F}$ ]AlF-NOTA), DTPA ( $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe) и др. [29, 130–133].

Все эти методы имеют ряд недостатков: низкие выходы, многостадийность процесса, использование дополнительных дорогостоящих добавок, аппаратная сложность в проведении радиохимического синтеза (необходимость кипячения готового РФП в течение 10 минут).

Поэтому мы предположили, что модификация ранее разработанным хелатирующим агентом (7) позволит избежать существующие проблемы.

Структура октреотида, представляет собой циклический октапептид, в которой имеются две свободные амино-группы, по которым возможно образование амидной связи с ДРАН-NHS (7). Это амино-группы в остатках аминокислот *L*-лизина и *D*-фенилаланина (рисунок 2.5). Однако, амино-группа в *L*-лизине имеет минимальные стерические затруднения, и поэтому более доступна для модификации.

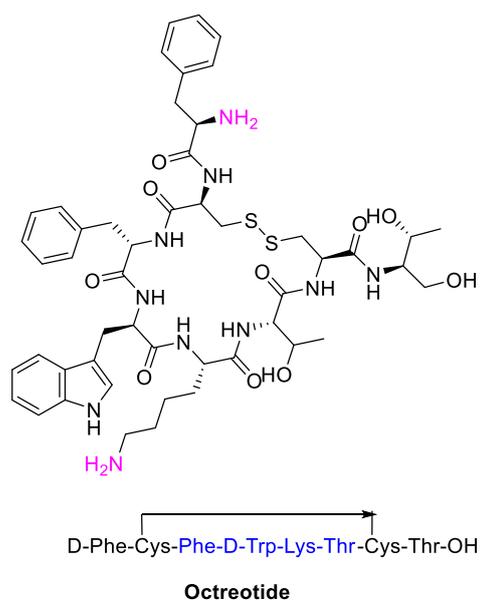


Рисунок 2.5 – Структурная формула октреотида. Примечание: синим цветом выделен фармакофорный фрагмент октреотида

Таким образом, при взаимодействии ДРАН-NHS (**7**) и октреотида может наблюдаться смесь трех продуктов: два структурных изомера, которые различаются местом образования амидной связи (целевой продукт ДРАН-Октреотид и продукт 2), и продукта 3, содержащий два фрагмента ДРАН, модифицированный по двум аминогруппам одновременно (схема 2.7). Учитывая, что фармакофорный фрагмент октреотида представляет аминокислотную последовательность Phe–D-Trp–Lys–Thr, то модификация этого фрагмента разрушит высокое средство октреотида к соматостатиновым рецепторам (схема 2.7). Поэтому одной из проблематичных стадий в этой технологии является химическая модификация октреотида, а также выделение продуктов (**ДРАН-Октреотида**), обладающих средством к соматостатиновым рецепторам.

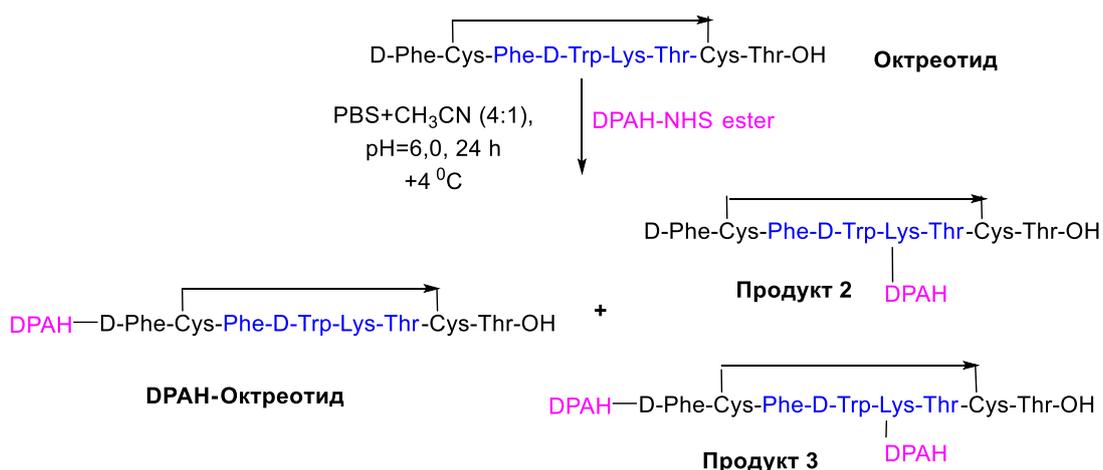


Схема 2.7 – Схема получения производных октреотида

В связи с этим на первом этапе работы была проведена защита аминогруппы остатка *L*-лизина в структуре октреотида с использованием (Boc)<sub>2</sub>O, схема 2.8.

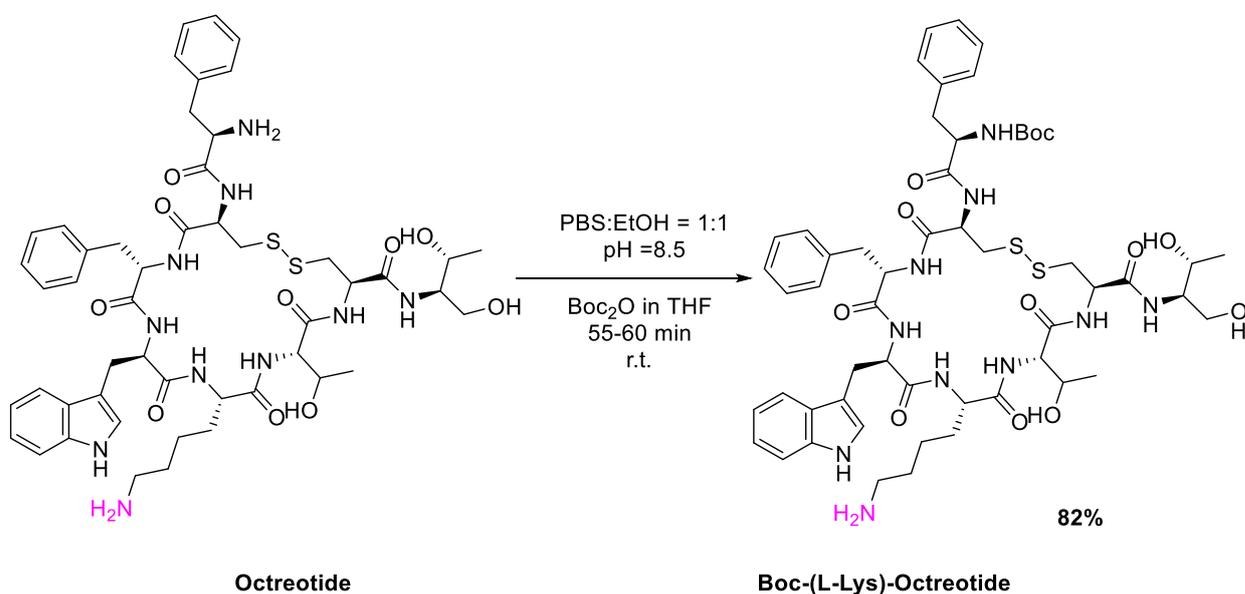


Схема 2.8 – Схема получения **Вос-(L-Lys)-Октреотида**

Модификацию октреотида проводили в боратном буфере с pH = 8,5 в смеси с этанолом (1 : 1), (Boc)<sub>2</sub>O растворяли в тетрагидрофуране, время реакции 55-60 мин при комнатной температуре, мольное соотношение субстрата и реагента 1 : 1,1 [134]. Выход Вос-(L-Lys)-Октреотида составил

после очистки более 82%. Контроль за ходом реакции осуществляли аналитической ВЭЖХ (Приложение Е).

Введение в структуру Вос-(L-Lys)-Октреотида хелатирующего агента сукцинимид-1-ил-6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата (**7**) проводили в среде ДМФА в присутствии триэтиламина при комнатной температуре в течение 4 часов.

Экспериментально установлено, повышение температуры способствовало протеканию побочных реакций, связанных с разложением хелатирующего агента DPAH-NHS-ester (**7**), а увеличение времени реакции незначительно сказывалось на выходе биоконъюгата DPAH-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида (схема 2.9), приложение Ж1-Ж2.

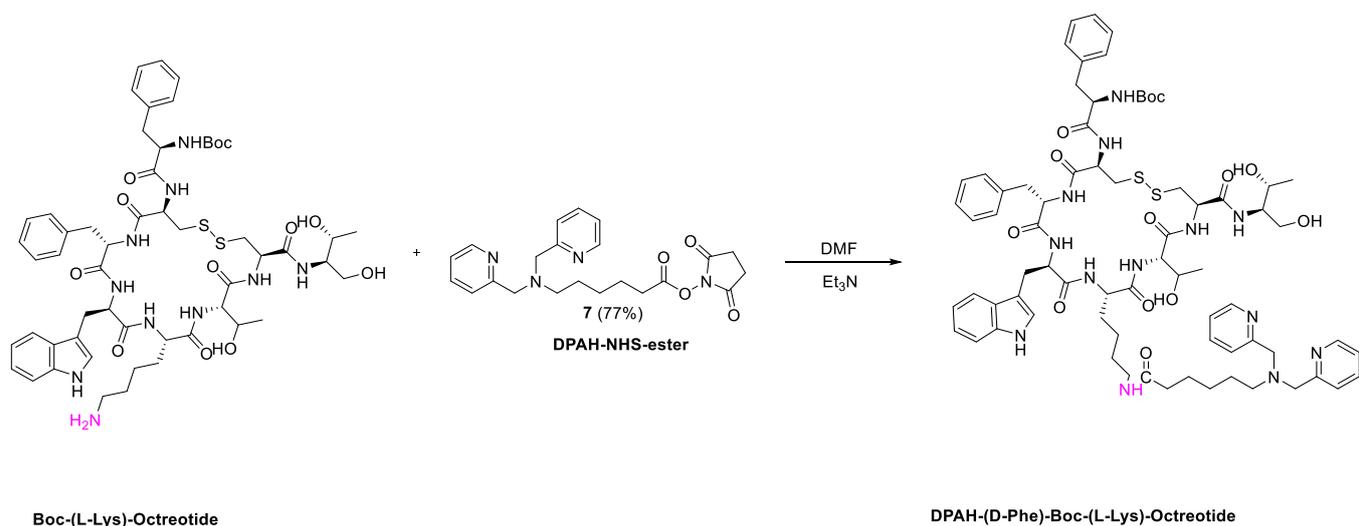


Схема 2.9 – Общая схема получения **DPAH-октреотид**

И на последней стадии проводили гидролиз DPAH-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида смесью ТФА:метиленхлорид (1:1) в течение 2 часов при комнатной температуре (схема 2.10).



Октреотида (чистота 99,5%), (ДРАН)<sub>2</sub>-октреотида (чистота 99,1%), ДРАН-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида (чистота 98,5%), Вос-(L-Lys)-Октреотида (чистота 99,1%), ДРАН (чистота 99,0%) были получены в Центре внедрения технологий СибГМУ по разработанным методикам.

Нами были опробованы ранее описанные условия для анализа субстанции «Октреотид» методом ВЭЖХ - изократический режим с подвижной фазой ацетонитрил – буферный раствор рН 3,0 (22:78 об/об) и с временем интегрирования 20 минут, но исследуемые вещества не разделялись. Замена подвижной фазы на 0,1% раствор ТФА в ацетонитриле и 0,1% раствор ТФА в воде привела к эффективному разделению всех веществ в модельной смеси.

Хроматографические условия:

Колонка 0,46 см x 25 см, силикагель октадецилсилильный (С18), 5 мкм;

Скорость потока 1 мл/мин;

Объем вводимой пробы 20 мкл;

Температура колонки 30 °С;

Детектор спектрофотометрический, 260 нм

Градиент концентрации: 0 мин 100% А (0% Б), 5 мин 80% А (20% Б), 10 мин 65% А (35% Б), 15 мин 50% А (50% Б), 25 мин 20% А (80% Б), 30 мин 0% А (100% Б), 32 мин 95% А (5% Б).

Содержание ДРАН-Октреотида предложено рассчитывать по формуле:

$$X = \frac{S \times a_0}{S_0 \times a} \times 100$$

где X – содержание ДРАН-Октреотида в субстанции, в %;

S – площадь пика ДРАН-Октреотида на хроматограмме испытуемого раствора II;

S<sub>0</sub> – площадь пика ДРАН-Октреотида на хроматограмме стандартного раствора;

a<sub>0</sub> – навеска ДРАН-Октреотида для приготовления стандартного раствора в граммах;

$a$  – навеска субстанции, взятая для приготовления испытуемого раствора  
 $I$  в граммах;

100 – коэффициент для перевода в проценты.

Валидационная оценка разработанной методики проведена в соответствии с требованиями ГФ XIV и международными требованиями ICH [136].

**Специфичность.** При определении специфичности использовались стандартные образцы возможных основных примесей. (таблица 2.7).

Таблица 2.7 – Оценка пригодности хроматографической системы

Идентификация	Время удерживания, мин	Разрешение ( $R_s$ )	Коэффициент емкости	Фактор асимметрии пика	Число теоретических тарелок
ДРАН	9,574	> 2	2,64	1,35	78866
Октреотид	13,230	> 2	4,03	1,82	81363
ДРАН-Октреотид	14,215	-	4,41	1,41	168661
ДРАН-(L-Lys)-Октреотид	14,815	> 2	4,64	1,90	140904
(ДРАН) <sub>2</sub> -октреотид	15,615	> 2	4,94	1,60	150730

На хроматограмме испытуемого раствора ДРАН-Октреотида наблюдался один основной пик с временем удерживания 14,215 мин, соответствующий объекту исследования ДРАН-Октреотиду (рисунок 2.6). Возможные продукты распада ДРАН-Октреотида (ДРАН и октреотид) и другие неидентифицированные продукты обнаружены не были.

Следовательно, данная методика специфична для определения ДРАН-Октреотида и применима для включения в нормативный документ для определения подлинности исследуемого предшественника путем сравнения времени удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора с временем удерживания пика ДРАН-Октреотида на хроматограмме стандартного раствора ДРАН-Октреотида.

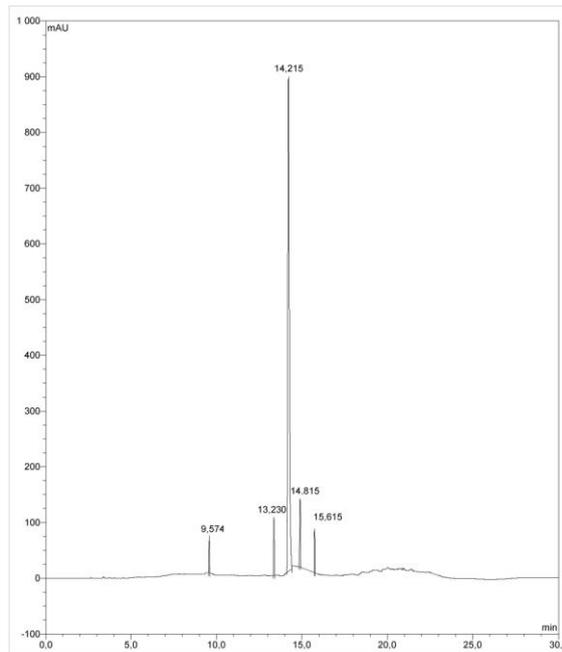


Рисунок 2.6 – ВЭЖ хроматограмма модельной смеси

**Предел обнаружения (для родственных примесей).** Для характеристики чистоты ДРАН-Октреотид был выбран предел содержания идентифицированных и неидентифицированных примесей, при этом идентифицировать решено только ДРАН-(L-Lys)-Октреотид, как основную примесь и нормировать ее содержание – не более 1,0%, суммарное содержание всех остальных примесей – не более 1,0%. На хроматограммах низких концентраций примеси (в диапазоне 0,034 – 35 мкг/мл) для установления предела обнаружения ДРАН-(L-Lys)-Октреотида использовали соотношение сигнал/шум (S/N). На хроматограмме раствора ДРАН-(L-Lys)-Октреотида (4,95 мкг/мл) определено, что это соотношение равно 3,3, поэтому данная концентрация была принята за предел обнаружения примеси (рисунок 2.7).

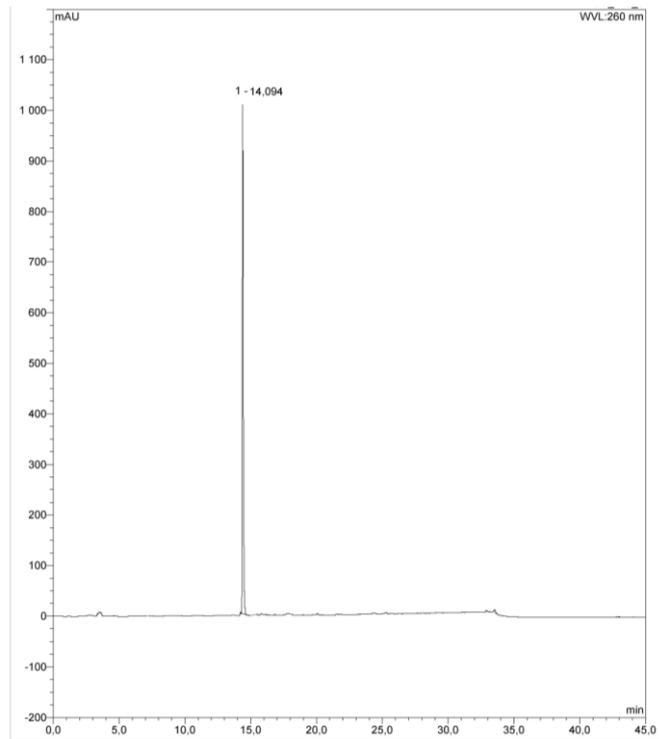


Рисунок 2.7 – ВЭЖ хроматограмма стандартного раствора ДРАН-Октреотида ( $t_R = 14,094$  мин)

**Линейность.** Параметр линейность определяли путем измерения восьми стандартных растворов ДРАН-Октреотида. Каждый стандартный раствор хроматографировали по пять раз, затем подсчитывали среднюю площадь пика ДРАН-Октреотида.

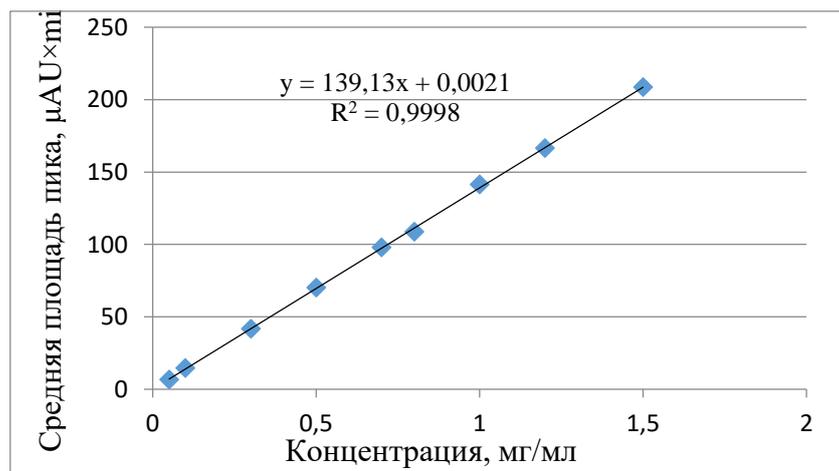


Рисунок 2.8 – График зависимости площади пика ДРАН-Октреотида от концентрации

На основании полученных данных был построен градуировочный график (рисунок 2.8). В ходе определения линейности методики установлено, что график зависимости имеет линейный характер в диапазоне концентраций ДРАН-Октреотида от 0,05 до 1,50 мг/мл и описывается уравнением  $y = 139,13x + 0,0021$ . Коэффициент корреляции равен 0,9998, что свидетельствует о линейной зависимости площади пика ДРАН-Октреотида от его концентрации.

#### **Прецизионность методики в условиях повторяемости.**

Повторяемость определяли на основании статистической обработки результатов, полученных при анализе 10 образцов ДРАН-Октреотида одной серии. Из результатов, полученных при статистической обработке (таблица 2.8), видно, что относительная ошибка среднего результата имеет значение менее 1%, следовательно, методика валидна по параметру повторяемость.

Таблица 2.8 – Оценка прецизионности методики определения содержания ДРАН-Октреотида

$\bar{x}$ , %	f	S	$S\bar{x}$	P	$t_{(p,f)}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$ , %
99,61	9	0,433205	0,136991	0,95	2,26	0,31	0,31

Внутрилабораторная прецизионность валидируемой методики оценивалась в условиях работы одной лаборатории (другой день, другой исполнитель) на основании статистической обработки результатов, полученных при анализе 6 образцов ДРАН-Октреотида одной серии (таблица 2.9).

Таблица 2.9 – Оценка внутрилабораторной прецизионности в условиях повторяемости

$\bar{x}$ , %	f	S	$S\bar{x}$	P	$t_{(p,f)}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$ , %
99,55	5	0,700714	0,31338	0,95	2,57	0,8	0,8

**Определение правильности методики.** Для определения правильности использовали метод добавок (введено-найдено). Для этого готовили 3

модельных раствора на трех уровнях концентраций 80, 100 и 120% от номинального значения определяемой величины (в 5 повторах), используя раствор добавки стандартного раствора ДРАН-Октреотида с концентрацией 0,5 мг/мл (таблица 2.10).

Таблица 2.10 – Приготовление модельных растворов для определения правильности

Номер модельного раствора	Объем исходного раствора ДРАН-Октреотида, мл	Объем стандартного раствора ДРАН-Октреотида, мл	Объем воды очищенной, мл	Суммарный объем, мл	Условное содержание ДРАН-Октреотида, %
1	2,00	2,00	6,00	10,00	80
2	2,50	2,50	5,00	10,00	100
3	3,00	3,00	4,00	10,00	120

Из результатов, полученных при статистической обработке (таблица 2.11), видно, что относительная ошибка среднего результата имеет значение менее 2%, следовательно, методика валидна по параметру правильность [137].

Таблица 2.11 – Результаты определения правильности методики

Номер модельного раствора	Введено ДРАН-Октреотида в субстанции, %	Найдено ДРАН-Октреотида, $\bar{x}$ , %	S	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$ , %
1	80	80,06	0,838451	0,374967	1,04	1,3
2	100	99,72	0,759605	0,339706	0,94	0,9
3	120	119,76	0,49800	0,222711	0,62	0,5

Примечание: P – 95 %;  $t_{(p,f)}$  – 2,78; f – 4.

Таким образом, параметры разработанной методики (специфичность, линейность, предел обнаружения т.д.) удовлетворяют требованиям для аналитических методов, что позволяет использовать для оценки качества прекурсора ДРАН-Октреотида.

### 2.3.2. Модификация ингибитора к простат-специфическому мембранному антигену (ПСМА)

В России рак предстательной железы (РПЖ) занимает 4-е место, при этом, у 60-80% пациентов при первичном обследовании выявляются местнораспространенные формы рака или метастатические поражения отдаленных органов и тканей. Для первичной диагностики в качестве стандартного биомаркера используют простат-специфичный мембранный антиген (ПСМА) [138]. В качестве ингибиторов используются конъюгаты на основе мочевины (карбамида) с различными аминокислотами [138–140]. Однако, один из перспективных является (3*S*,7*S*,25*S*,28*S*)-33-амино-25,28-дифенил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,29,24,27,30-гептаазатрио-ктан-1,3,7-трикарбоновая кислота (Glu-urea-Lys-дифенил-ПСМА-лиганд), которое было нам представлено научной группой под руководством проф. Мажуга А.Г. (МГУ им. М. В. Ломоносова и РХТУ им. Д. И. Менделеева) (рисунок 2.9).

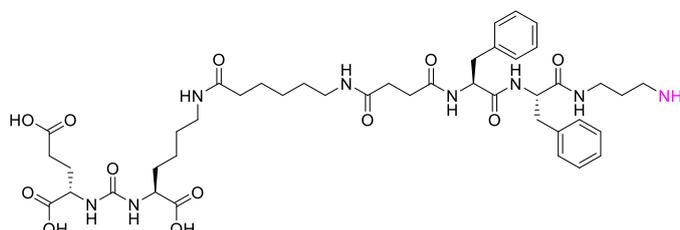


Рисунок 2.9 – Структурная формула Glu-urea-Lys-дифенил-ПСМА-лиганд

Ввиду своей недостаточной реакционной способности данный лиганд способен связывать  $^{99m}\text{Tc}$  только путем предварительного присоединения к нему хелатирующего агента (схема 2.11) [110, 142].

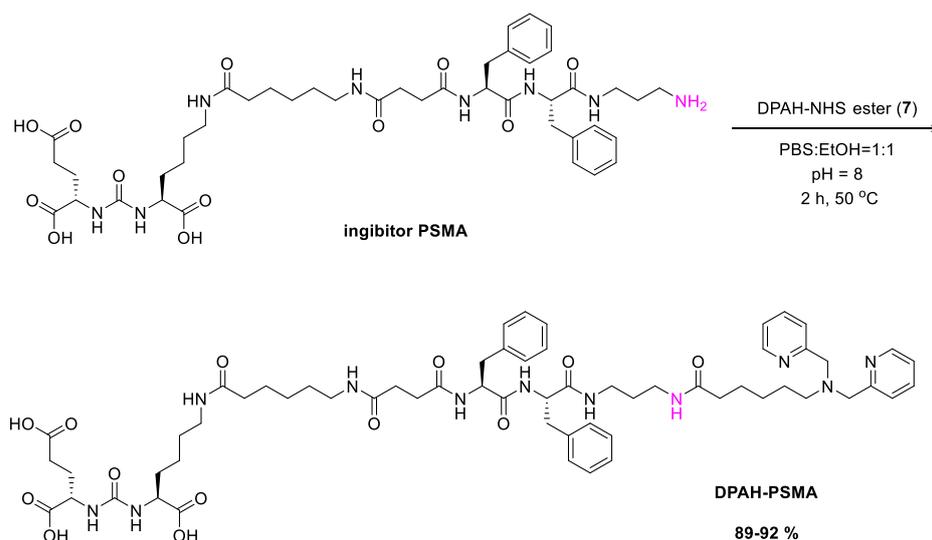


Схема 2.11 - Общая схема получения DPAH-ПСМА

На первом этапе работы был произведен подбор соответствующего буфера и его молярность. Установлено, что для модификации ПСМА ингибитора можно использовать физиологический раствор натрия хлорида, а также фосфатный, боратный, карбонатный буферные растворы. Выход целевого продукта составлял в различных растворителях выше 70%, но наиболее предпочтительным в использовании является смесь (1:1) PBS (рН=8.5) с этанолом или ацетонитрилом (выход более 82%). Молярность буферного раствора не существенно влияла на выход биоконъюгата DPAH-ПСМА.

Следующим этапом работы была оптимизация времени и температурного режима для протекания реакции. Однако, как и в случае октреотида, увеличение температуры способствовало протеканию побочных реакций, связанных с разложением хелатирующего агента DPAH-NHS-ester (7), а увеличение времени незначительно сказывалось на выходе биоконъюгата DPAH-ПСМА (таблица 2.12).

Таблица 2.12 – Влияние времени инкубации от выходов DPAH-ПСМА

Время, ч	1	2	3	4	5	8
Выход DPAH-ПСМА	39±1	91±1	92±1	91±0	90±1	90±1

Таким образом, нами была разработана следующая технология модификации ингибитора ПСМА:

0,1 М PBS (pH = 8,0):этанол (1:1);

мольное соотношение хелатирующий агент (7):ингибитор = 1:3;

T = 50°C

Время - 2 ч.

Очистку ДРАН-ПСМА проводили в градиентном режиме с использованием 0,1% TFA и 0,1% TFA/ацетонитрил. Очистку проводили с использованием полупрепаративного хроматографа (приложение К). Выход биоконъюгата ДРАН-ПСМА составил 91%.

Радиохимический выход  $^{99m}\text{Tc}$ -ДРАН-ПСМА составил более 60%, а радиохимическая чистота комплекса составляла более 97%. При этом была доказана высокая стабильность в присутствии 5000 - кратного мольного избытка L-гистидина.

### **2.3.3. Модификация адресных молекул белковой природы с антикириновыми повторами (DARPin)**

В настоящее время одним из наиболее изученных и часто упоминаемых в литературе опухолевых антигенов является поверхностный рецептор HER2/neu, который гиперэкспрессирован во многих человеческих карциномах (рак молочной железы, легких, желудка, яичников, простаты). К этому антигену разработан ряд моноклональных антител, пригодных для применения в диагностических и терапевтических целях. Альтернативой адресным антителам и их фрагментам являются рекомбинантные адресные молекулы белковой природы с антикириновыми<sup>6</sup> повторами (DARPin), которые специфичны к рак-ассоциированному антигену HER2/neu [143–145]. К главным преимуществам DARPinов относят высокую специфичность и

---

<sup>6</sup> Анкирин – белок клеточной мембраны, участвующий в прикреплении клетки к подложке при культивировании.

аффинность к антигену, небольшой размер (14-20 кДа), а также низкую стоимость их производства. В последние годы для радионуклидной диагностики активно используют меченые DARPin [146].

Ввиду того, что прямое введение радиоизотопной метки в структуру DARPin не представляется возможным, для этих целей необходимо проводить его дополнительную модификацию – введение бифункционального хелатирующего агента. В качестве БФХА мы использовали ранее разработанный тридентантный хелатирующий агент на основе  $\omega$ -бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатической кислоты (7).

Экспериментальные образцы кодирующей последовательности DARPin9\_29 были наработаны лабораторией молекулярной онкологии Института биоорганической химии им. Академика М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством академика РАН Деева Сергея Михайловича. Рекомбинантные адресные молекулы DARPin9\_29 имеют несколько остатков  $\epsilon$ -аминогруппы *L*-лизина и свободных амино-групп (N-концов), по которым может пойти образование амидной связи с DPAH-NHS (7) (схема 2.12). Однако,  $\epsilon$ -аминогруппы в *L*-лизине стерически более доступны для образования амидной связи. При этом следует отметить, что из-за расположения части остатков *L*-лизина в структуре DARPin9\_29, которые являются аффинными к специфическому рецептору HER2, а также из-за высокой липофильности DPAH-NHS, избыточная конъюгация с DPAH-NHS является нежелательной.

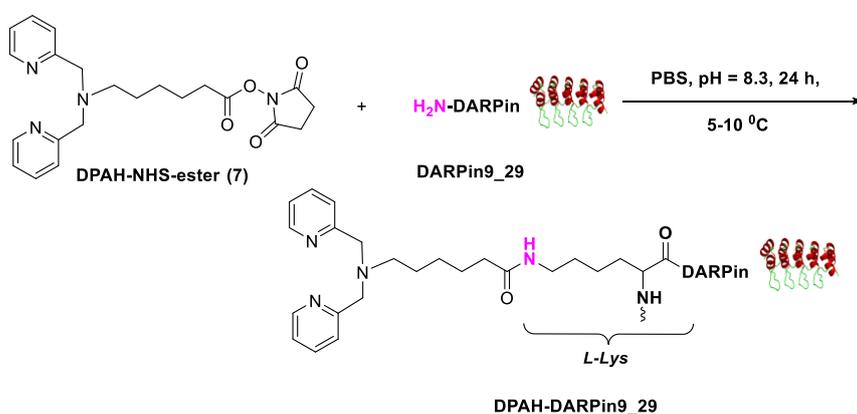


Схема 2.12 – Схема получения **DPAH-DARPin9\_29**

На первом этапе работы была изучена зависимость условий модификации от pH среды. Так, при низких значениях pH (менее 7) происходило протонирование аминогруппы, в результате чего снижалась эффективность реакции. При высоких значениях (более 8,7) существенным становился процесс гидролиза активированного эфира DPAH-NHS-ester (7). Таким образом, оптимальным значением pH для проведения модификации являлся диапазон pH 8,3-8,5.

Помимо этого, важным параметром в получении радиофармпрепарата DPAH-DARPin9\_29 являлся выбор растворителя и соразтворителя ввиду высокой липофильности DPAH-NHS-ester (7). В качестве соразтворителя нами были опробованы диметилсульфоксид (ДМСО), диметилформамид (ДМФА), ацетонитрил, РВО (натрий-фосфатный буфер) при различных значениях pH. Стоит отметить, ДМФА способен деградировать при хранении, при этом в нем накапливается диметиламин, способный реагировать DPAH-NHS-ester (7). Поэтому ДМФА для мечения должен быть высокого качества. При использовании ДМСО и ДМФА, согласно ВЭЖХ-анализу при хранении 24 часов наблюдались не идентифицированные примеси. Таким образом, оптимальным растворителем для конъюгации DPAH-NHS-ester (7) с DPAH-DARPin9\_29 был выбран 100 ммоль PBS с добавлением 20% ацетонитрила.

При определении времени и температурного режима модификации, в первую очередь учитывалась неустойчивость DARPin при хранении, как при комнатной температуре, так и при нагревании. Поэтому оптимальными условиями для модификации являются 2 часа при комнатной температуре и выдерживание инкубационной смеси 24 ч при температуре 5-10 °С.

Также стоит отметить, что концентрация DARPin9\_29 в буфере может варьироваться в различных сериях от 1 до 6 мг/мл (зависит от условий биосинтеза и его очистки), поэтому исходная концентрация белка будет определять мольный избыток DPAH-NHS (7).

Экспериментально было установлено, что оптимальными являются следующие значения мольного избытка DPAH-NHS:

- концентрация раствора DARPin9\_29 1 мг/мл необходимо использовать 5-кратный мольный избыток DPAH-NHS;

- концентрация раствора DARPin9\_29 свыше 1 мг/мл до 5 мг/мл необходимо использовать 3-кратный мольный избыток DPAH-NHS;

- концентрация раствора DARPin9\_29 свыше 5 мг/мл до 10 мг/мл необходимо использовать 2-кратный мольный избыток DPAH-NHS.

Исходя из этого, мы разработали следующую технологию получения, модифицированного DARPin9\_29: pH буфера для модификации (8,3-8,5), вид буфера (100 ммоль PBS, содержащего 350 ммоль натрия хлорида), соразтворитель для DPAH-NHS (ацетонитрил), кратность мольного избытка DPAH-NHS в зависимости от концентрации DARPin9\_29, время инкубации (26 ч) и температурный режим (2 ч – при комнатной температуре, 24 ч – при 5–10 °С). Предложено проводить очистку методом гель-фильтрации, используя колонки с сефадексом G25.

Радиохимический выход  $^{99m}\text{Tc}$ -DPAH-DARPin9\_29 составил более 75%, а радиохимическая чистота комплекса составляла более 96% после очистки гель-фильтрацией. При этом была доказана высокая стабильность в присутствии 5000 - кратного мольного избытка L-гистидина.

### **УФ-спектрофотометрический анализ подлинности DPAH-DARPin9\_29**

Для контроля качества образования был использован УФ-спектрофотометрический метод. В качестве раствора сравнения было решено использовать 0,5 М натрия хлорида и 0,01 М фосфатно-буферного раствора.

В концентрации 0,001% и 0,002% были приготовлены растворы DPAH-DARPin9\_29 в 0,01 М фосфатно-буферном растворе содержащем 0,5 М натрия хлорида, для этого содержимое переносили в мерную колбу на 50 или 100 мл и доводили буфером до метки.

Регистрацию УФ-спектров экспериментальных образцов ДРАН-DARPin9\_29 проводили в одинаковых условиях в диапазоне 200 – 350 нм в кварцевых кюветах на спектрофотометре

В УФ-спектре исследуемых растворов регистрировали только один пик с максимумом на  $260 \pm 2$  нм, который обусловлен фрагментом ДРАН (рисунок 2.10).

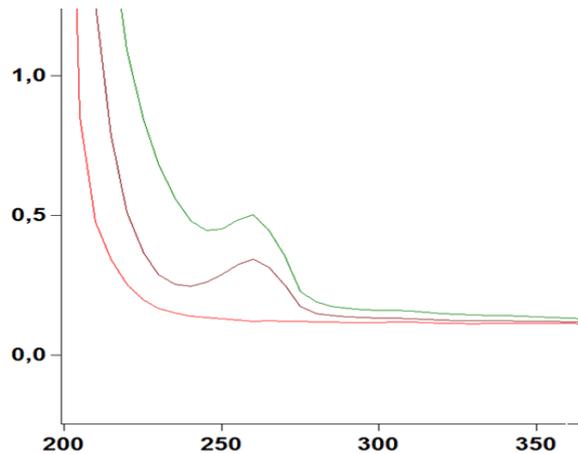


Рисунок 2.10– УФ-спектр раствора ДРАН-DARPin9\_29 в буфере (0,01 М фосфатно-буферного раствора, 0,5 М натрия хлорида). 1 – 0,002% раствор ДРАН-DARPin9\_29, 2 – 0,001% раствор ДРАН-DARPin9\_29, 3 – раствор буфера.

### Определения светопоглощающих примесей в ДРАН-DARPin9\_29

В биоконъюгате ДРАН-DARPin9\_29 может присутствовать примесь ДРАН, а так как сам ДРАН может образовывать комплекс с  $^{99m}\text{Tc}$  в готовом препарате, а это в свою очередь будет приводить к нежелательным радиохимическим примесям. Поэтому необходимо контролировать предел содержания примеси ДРАН. Для контроля примесей ДРАН и качества раствора ДРАН-DARPin9\_29 в наборе реагента было решено использовать спектрофотометрические методы, которые будут удобны и экспрессны.

Следует отметить, что с учетом физико-химических свойств ДРАН и ДРАН-DARPin9\_29 в пробоподготовке необходимо использовать жидкостную экстракцию раствора ДРАН-DARPin9\_29 органическим растворителем, например в соотношении 1 : 1, для экстракции примеси.

Для подтверждения специфичности методики и предела обнаружения примеси, основываясь на методике синтеза ДРАН-DARPin9\_29, было предположено теоретически возможное количество примеси ДРАН и подготовлены экспериментальные образцы водных растворов ДРАН в диапазоне концентраций 0,1 – 50 мкг/мл. Из водных растворов проводили экстракцию ДРАН органическими растворителями, в качестве которых использовали гексан, хлороформ и этилацетат. Наиболее эффективным оказался гексан, полностью извлекающий ДРАН из водного раствора и не образующий пены при экстракции.

Для гексановых экстрактов из экспериментальных образцов измеряли оптическую плотность при длине волны 260 нм (раствор сравнения – гексан) в 5 повторах и рассчитывали среднюю оптическую плотность (таблица 2.13). Исходя из полученных данных, если оптическая плотность испытуемого раствора не будет превышать значения 0,05, предел содержания примеси не будет превышать 1 мкг/мл (0,0001%).

Дополнительно были проанализированы (после проведения описанной пробоподготовки) экспериментальные образцы раствора ДРАН-DARPin9\_29 и раствора ДРАН-DARPin9\_29 с добавкой 1 мкг/мл примеси ДРАН (модельные растворы). Оптическая плотность экспериментальных образцов раствора ДРАН-DARPin9\_29 не превышала 0,01, а оптическая плотность модельных растворов была в диапазоне 0,045 – 0,049.

Таким образом, подтверждается пригодность методики для оценки светопоглощающих примесей в растворе ДРАН-DARPin9\_29.

Таблица 2.13 – Значение оптической плотности раствора ДРАН в гексане в диапазоне концентраций 0,1 – 50 мкг/мл.

С, мкг/мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1,0	5,0	10,0	50,0
А	<0,01	<0,01	<0,01	0,014	0,019	0,048	0,25	0,410	>1

Учитывая вышеизложенное, была предложена методика определения светопоглощающих примесей, согласно которой оптическая плотность

испытуемого раствора не должна превышать 0,05, предлагаемая пробоподготовка описана ниже.

*Испытуемый раствор.* 0,2 мл раствора препарата встряхивают с 0,2 мл гексана. Измеряют оптическую плотность гексанового раствора при длине волны 260 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Значение оптической плотности должно быть не более 0,05. Раствор сравнения – гексан.

### **Исследование специфической активности $^{99m}\text{Tc}$ -DPAH-DARPin9\_29**

Для изучения специфичности накопления полученного препарата на  $^{99m}\text{Tc}$ -DPAH-DARPin9\_29 была выбрана клеточная линия аденокарциномы молочной железы человека BT-474, которая характеризуется гиперэкспрессией рецептора Her-2/neu. Доказательством селективного взаимодействия с препаратом являлась высокая аккумуляция препарата на поверхности исследуемой группы клеток. При проведении визуальной сцинтиграфической оценки значительно большая интенсивность накопления, изучаемого РФП отмечалась в культуре клеток с гиперэкспрессией поверхностного рецептора Her-2/neu (рисунок 2.11).

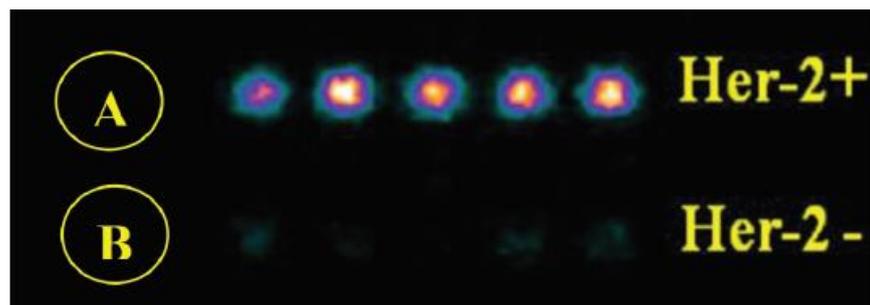


Рисунок 2.11 – Визуальная сцинтиграфическая оценка накопления  $^{99m}\text{Tc}$ -DPAH-DARPin9\_29: А – клетки тканей злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her-2/neu (BT-474, Her-2/neu – позитивная, человеческая аденокарцинома молочной железы); В – клетки тканей злокачественных опухолей без гиперэкспрессии Her-2/neu (MCF-7, Her-2/neu – отрицательная, человеческая аденокарцинома молочной железы)

Результаты прямой радиометрии также продемонстрировали более высокое накопление радиофармацевтического препарата в клеточной линии аденокарциномы. молочной железы человека BT-474 с гиперэкспрессией Her-

2/neu по сравнению с контрольной группой. При проведении доклинических испытаний *in vitro* показана высокая стабильность исследуемого соединения, а также его аккумуляция в группе клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu.

#### **2.3.4. Подлинность прекурсоров РФП**

В связи с тем, что оптимизация получения биоконъюгатов проводилась на микро- или миллиграммовые загрузки, то снять ЯМР- и ИК- спектры не представлялось возможным. Поэтому контроль реакции и подлинность полученных предшественников РФП проводили ВЭЖХ путем сравнения времени удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора с временем удерживания пика на хроматограмме стандартного раствора.

##### **Подлинность ДРАН-DARPin9 29**

**Описание:** бесцветная, прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость.

**Растворимость:** легко растворим в 0,01 М фосфатно-буферном растворе, в 0,5 М натрия хлорида.

**Подлинность:** УФ-спектр поглощения 0,001% раствора в 0,01М фосфатно-буферном растворе, содержащем 0,5М натрия хлорида, в области длин волн от 200 до 350 нм должен иметь максимум при  $260 \pm 2$  нм.

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^{\circ}\text{C}$ .

##### **Подлинность ДРАН-октреотид**

**Описание:** лиофилизат белого цвета в виде порошка или пористой массы.

**Растворимость:** легко растворим в ДМФА, физиологическом растворе натрия хлорида.

**Подлинность:****1. Высокоэффективная газовая хроматография:**

Подлинность проводят с использованием ВЭЖХ хроматографа Ultimate 3000 («Thermo», Германия) или аналогичном с использованием следующих хроматографических условий:

Колонка Luna C18(2) 5 мкм, 100 А°, 250×4.6 мм, скорость потока 1 мл/мин,

Таблица 2.14 – Параметры градиентного элюирования при препаративном выделении ДРАН-октреотид

Время, мин	Содержание компонентов А в подвижной фазе, %	Содержание компонентов В в подвижной фазе, %
0	100	0
5	80	20
10	65	35
15	50	50
25	20	80
30	0	100
32	95	5

где система А - 0,1% ТФА в воде и система В - 0,1% ТФА в ацетонитриле.

Время удерживания продукта  $t_R = 14,094$  мин.

**2. ИК-спектроскопия:** ИК-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение И3).

**Хранение:** в сухом, темном месте при температуре 2–8 °С.

**Подлинность ДРАН-ПСМА**

**Описание:** гигроскопический порошок от белого до светло-желтого цвета.

**Растворимость:** легко растворим в фосфатном, боратном, карбонатном буферах, в очищенной воде или в физиологическом растворе натрия хлорида.

**Высокоэффективная газовая хроматография:** Подлинность проводят с использованием ВЭЖХ хроматографа Ultimate 3000 («Thermo», Германия) или аналогичном с использованием следующих хроматографических условий:

Колонка Luna C18(2) 5 мкм, 100 А°, 250×4.6 мм, скорость потока 1 мл/мин.

Таблица 2.15 – Параметры градиентного элюирования при препаративном выделении ДРАН-ПСМА

Время, мин	Содержание компонентов А в подвижной фазе, %	Содержание компонентов В в подвижной фазе, %
0	100	0
5	80	20
10	65	35
15	50	50
25	20	80
30	0	100
32	95	5

где система А - 0,1% ТФА в воде и система В - 0,1% ТФА в ацетонитриле.

Время удерживания продукта  $t_R = 14,077$  мин

Масс-спектр должен соответствовать стандартному образцу (см. Приложение Н) ( $m/z$  1179,9 (M+H)<sup>+</sup>).

**Хранение:** в плотно закрытой упаковке, в защищенном от света месте, при температуре  $<0^\circ\text{C}$ .

Таким образом, процесс создания готовых предшественников радиофармпрепаратов включает в себя комплексную задачу. Нами была разработана удобная и воспроизводимая технология синтеза универсальных линкеров на основе  $\omega$ -замещенных алифатических кислот и их эфиров с использованием дешевого сырья. Предложен простой и эффективный метод получения ряда хелаторов на основе сложных эфиров  $\omega$ -иодалифатических кислот. Разработана простая лабораторная технология синтеза трех радиофармпрепаратов с использованием востребованных и высокоизбирательных биомолекул (DARPin, октреотид, ингибитора ПСМА).

В процессе технологии получения лекарственных препаратов, в том числе РФП, стремятся к минимизации стадий получения и к повышению суммарного выхода продукта. Согласно, разработанной выше технологии суммарный выход прекурсора ДРАН-NHS ester (7) составляет 59%. Это потенциально важный результат, поскольку как показывает литературный

обзор, суммарный выход ряда бифункциональных хелатирующих агентов не превышает 5%.

Также стоит отметить, что в разработанной нами технологии отсутствует необходимость в использовании инертных газов и линии Шленка, что значительно упрощает процесс синтеза и приводит к снижению себестоимости конечного РФП.

### ГЛАВА 3. Экспериментальная часть

Спектры ЯМР были получены с использованием ЯМР-спектрометров Bruker AVANCE III HD 400 и 300 МГц, растворитель указан в тексте. Химические сдвиги приводятся в м.д. относительно тетраметилсилана (ТМС). Температура плавления была определена с использованием прибора Buchi Melting Point M-50. Протекание реакции и чистоту полученных продуктов оценивали с использованием метода ТСХ на пластинках Sorbfil ПТсХ-П-А-УФ или Macherey-Nagel Alugram® Xtra SIL G/UV254. Все растворители и реагенты использовались фирмы SigmaAldrich без предварительной очистки. Тетрагидрофуран был очищен от стабилизатора и обезвожен согласно литературной методике [147]. HRMS были измерены в режиме ESI, с использованием времяпролетного детектора в режиме идентификации положительно-заряженных ионов.

**Методика синтеза  $\omega$ -иодалифатических кислот (3a-3j) и их сложных эфиров (2a-2j).** К раствору циклического кетона (6 ммоль) в 10 мл соответствующего спирта, добавляли иод (3 ммоль, 0,762 г), катализатор меди (I) хлорида (0,6 ммоль, 0,06 г). Затем при перемешивании при комнатной температуре по каплям вносили раствор пероксида водорода (12 ммоль, 1,275 г пергидроля (32%-ного  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\rho=1,125\text{г/см}^3$ ) в 5 мл спирта в течение 4 часов. Далее добавляли 12 ммоль (1,275 г) пергидроля и меди (I) хлорида (0,3 ммоль, 0,03 г), перемешивали при комнатной температуре 10 часов и после этого добавляли еще 6 ммоль (0,638 г) пергидроля при перемешивании еще 6 часов в тех же условиях.

К реакционной смеси добавляли насыщенный раствор натрия сульфита для окисления остатка иода и экстрагировали метиленхлоридом (3x10 мл), промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (3x10 мл). Органический слой высушивался над натрий сульфатом и растворитель упаривался в вакууме. Полученную светло-желтую маслообразную массу (эфир) сушили под вакуумом. Водный слой подкисляли соляной кислотой и

снова экстрагировали метиленхлоридом (3x10 мл). Органическая фаза осушалась над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, с последующей отгонкой растворителя под вакуумом. Продукт дополнительно осушался под глубоким вакуумом (до 1 мбар).

**Метил 6-иодгексаноат (2a)** [148]. Выход 75%, светло-желтое масло. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.67 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.18 (т, *J* = 6.8 Гц, 2H), 2.32 (т, *J* = 7.6 Гц, 2H), 1.87–1.90 (м, 2H), 1.67–1.61 (м, 2H), 1.47–1.39 (м, 2H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 179.92, 33.92, 33.18, 30.00, 23.68, 6.57.

**6-иодгексановая кислота (3a)**. Выход 24%, белые кристаллы. T<sub>пл</sub>=41°C (по литературным данным 41 °C) [149]. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.18 (т, *J* = 6.8 Гц, 2H), 2.37 (т, *J* = 7.6 Гц, 2H), 1.86–1.82 (м, 2H), 1.69–1.62 (м, 2H), 1.49–1.43 (м, 2H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 179.92, 33.92, 33.18, 30.00, 23.68, 6.57.

**Метил 5-иодпентаноат (2b)** [150]. Выход 70%, светло-желтое масло. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.67 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.18 (т, *J* = 6.8 Гц, 2H), 2.34 (т, *J* = 7.2 Гц, 2H), 1.89–1.82 (м, 2H), 1.77–1.70 (м, 2H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.68, 51.76, 32.99, 32.85, 25.91, 5.95.

**5-иодпентановая кислота (3b)** [149]. Выход 18%, белые кристаллы. T<sub>пл</sub>=57–58°C (по литературным данным 58,2 °C)[151]. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.20 (т, *J* = 6.8 Гц, 2H), 2.39 (т, *J* = 7.6 Гц, 2H), 1.91–1.85 (м, 2H), 1.79–1.72 (м, 2H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 179.28, 32.91, 32.69, 25.63, 5.80.

**Метил 6-иод-3-метилгексаноат (2c)**. Суммарный выход **2c** и **2c'** 57%, светло-желтое масло. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.65 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.21–3.11 (м, 2H), 2.32–2.25 (м, 2H), 2.17–2.10 (м, 1H), 1.90–1.77 (м, 2H), 1.47–1.34 (м, 2H), 0.93 (д, *J* = 6.4 Гц, 3H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.49, 51.60, 41.53, 37.50, 31.13, 29.65, 20.57, 6.90.

**Метил 6-иод-5-метилгексаноат (2c')**. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.65 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.21–3.11 (м, 2H), 2.32–2.25 (м, 2H), 2.02–1.93 (м, 1H), 1.65–1.56 (м, 2H), 1.31–1.18 (м, 2H), 0.97 (д, *J* = 6.4 Гц, 3H). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 174.01, 51.68, 35.93, 34.58, 34.10, 22.41, 19.79, 17.42.

**Метил 6-иод-4-метилгексаноат (2d).** Выход 65%, светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.18 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 2.37 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.86–1.82 (м, 2H), 1.69–1.62 (м, 2H), 1.49–1.43 (м, 2H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.27, 51.76, 40.60, 33.54, 31.73, 31.18, 18.45, 4.75.

**6-иод-4-метилгексановая кислота (3d)** [152]. Выход 3%, светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.26–3.13 (м, 2H), 2.43–2.34 (м, 2H), 1.91–1.83 (м, 1H), 1.71–1.58 (м, 3H), 1.52–1.45 (м, 1H), 0.90 (д,  $J = 6.4$  Гц, 3H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.40, 40.57, 33.47, 31.74, 30.85, 18.41, 4.58.

**Метил 6-иод-4,4-диметилгексаноат (2e)** [152]. Выход 40%, светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.66 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.14 (м, 2H), 2.25 (т,  $J = 8$  Гц, 2H), 1.89 (т,  $J = 8$  Гц, 2H), 1.58–1.54 (м, 2H), 0.87 (с, 6H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 Гц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.46, 51.81, 47.26, 36.04, 35.52, 29.35, 26.20, 0.51.

**6-иод-4,4-диметилгексановая кислота (3e)** Выход 5%, светло-желтое масло. **ИК** (пленка): 2925, 1702, 1411, 733  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.13 (т,  $J = 8.0$  Гц, 2H), 2.30 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.90 (т,  $J = 8.0$  Гц, 2H), 1.57 (т,  $J = 8.0$  Гц, 2H), 0.89 (с, 6H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.65, 47.22, 35.73, 35.72, 35.48, 29.37, 26.15, 0.40. **HRMS (TOF,  $\text{ES}^+$ ):**  $m/z$  вычислено для  $[\text{M} + 2\text{Na} - \text{H}]^+$ :  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{I}\text{Na}_2\text{O}_2$ : 314.9828; Обнаружено: 314.9826.

**Метил 6-иод-4-пропилгексаноат (2f).** Выход 68%, светло-желтое масло. **ИК** (пленка): 2926, 2830, 1735, 1435, 1169  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.67 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.19 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 2.30 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.81–1.79 (м, 2H), 1.63–1.58 (м, 2H), 1.48–1.66 (м, 1H), 1.29–1.24 (м, 1H), 0.89 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.27, 51.74, 38.03, 37.88, 34.92, 31.39, 27.99, 19.51, 14.46, 4.60. **HRMS (TOF,  $\text{ES}^+$ ):**  $m/z$  вычислено для  $[\text{M} + \text{H}]^+$   $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{IO}_2$ : 299.0508; Обнаружено: 299.0506.

**Метил 6-иод-4-трет-бутилгексаноат (2g).** Выход 75%, светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.67 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.29–3.23 (м, 1H), 3.18–3.11 (м, 1H), 2.45–2.30 (м, 2H), 2.43–2.30 (м, 2H), 2.08–2.01 (м, 1H), 1.89–1.84 (м, 1H), 1.66–1.60 (м, 1H), 1.40–1.30 (м, 1H), 0.98–0.95 (м, 1H), 0.88 (с, 9H).  $^{13}\text{C}$

**ЯМР** (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.11, 51.75, 49.64, 36.29, 34.24, 34.06, 27.75, 26.21, 6.79.

**6-иод-4-третбутилгексановая кислота (3g)**. Выход 10%, светло-желтое масло.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.30–3.24 (м, 1H), 3.20–3.13 (м, 1H), 2.50–2.34 (м, 2H), 2.12–2.03 (м, 1H), 1.91–1.84 (м, 1H), 1.67–1.57 (м, 1H), 1.42–1.33 (м, 1H), 1.05–0.98 (м, 1H), 0.90 (с, 9H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  178.73, 49.53, 36.21, 34.08, 33.95, 27.75, 25.93, 6.76.

**Метил 7-иодгептаноат (2h)** [153]. Выход 68%, светло-желтое масло.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.66 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.18 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 2.31 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.83–1.78 (м, 2H), 1.65–1.61 (м, 2H), 1.45–1.30 (м, 4H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.24, 51.66, 34.05, 33.34, 30.23, 28.13, 24.81, 7.18.

**7-иодгептановая кислота (3h)** [154]. Выход 5%, светло-желтое масло.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.18 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 2.36 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 1.86–1.79 (м, 2H), 1.68–1.61 (м, 2H), 1.46–1.34 (м, 4H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  180.29, 34.05, 33.31, 30.22, 28.04, 24.52, 7.12.

**Этил 8-иодоктаноат (2i)** [155]. Выход 55%, светло-желтое масло.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.12 (кв,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 3.18 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 2.31 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 1.85–1.80 (м, 2H), 1.65–1.59 (м, 2H), 1.41–1.34 (м, 4H), 1.25 (т,  $J = 7.2$  Гц, 3H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.81, 60.38, 34.36, 33.35, 30.24, 29.02, 28.13, 24.84, 14.40, 7.20.

**8-иодоктановая кислота (3i)** [155]. Выход 5%, светло-желтое масло.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.19 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 2.39–2.35 (м, 2H), 1.85–1.80 (м, 2H), 1.67–1.62 (м, 2H), 1.43–1.37 (м, 4H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  178.60, 33.84, 33.76, 33.34, 30.25, 28.07, 24.57, 7.12.

**Общая методика получения сложных эфиров ди(2-пиридилметиламино)алифатических кислот (5a-g)**. К сложному эфиру  $\omega$ -иодалифатической кислоты 1 ммоль (**3a-g**) в 10 мл изопропанола был добавлен 2-(дипикалил)амин 1,2 ммоль и триэтиламин 1,2 ммоль. Реакционную массу перемешивали при  $80^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. Конец реакции определяли методом тонкослойной хроматографии (элюент: этилацетат–этанол = 10:3).

К реакционной смеси добавляли 5 мл 10% раствора бикарбоната натрия и экстрагировали метиленхлоридом (3x10 мл). Органический слой высушивался над натрий сульфатом и растворитель упаривался в вакууме. Продукт был выделен с использованием колоночной хроматографией (этилацетат:метанол в градиентном режиме) с последующей отгонкой растворителей под вакуумом.

**Метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)аминогексаноат (5a).** Выход 85%, вязкое светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.50 (д,  $J = 4.8$  Гц, 2H), 7.64 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.52 (д,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.13 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H), 3.79 (с, 4H), 3.63 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.53 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 2.25 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.57–1.50 (м, 4H), 1.31–1.21 (м, 2H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.22, 159.96, 149.06, 136.47, 122.96, 122.00, 60.55, 54.31, 51.55, 34.11, 26.91, 26.85, 24.87. **HRMS (TOF, ES<sup>+</sup>) m/z:**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$ : 328.2020; найдено: 328.2032.

**Метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино-4,4-диметилгексаноат (5e).** Выход 77%, вязкое светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.53 (д,  $J = 5.2$  Гц, 2H), 7.66 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.53 (д,  $J = 8$  Гц, 2H), 7.15 (т,  $J = 5.2$  Гц, 2H), 3.82 (с, 4H), 3.63 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.54 (т,  $J = 8$  Гц, 2H), 2.19 (т,  $J = 8$  Гц, 2H), 1.51–1.43 (м, 4H), 0.78 (с, 6 H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.81, 159.61, 148.96, 136.73, 123.08, 122.17, 60.32, 51.71, 49.69, 38.00, 36.57, 32.06, 29.40, 26.92. **HRMS (TOF, ES<sup>+</sup>):** m/z вычислено для  $[\text{M} + \text{H}]^+$   $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$ : 356.2338; Обнаружено: 356.2331.

**Метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино-4-пропилгексаноат (5f).** Выход 75%, вязкое светло-желтое масло.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.50 (д,  $J = 4.4$  Гц, 2H), 7.64 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.51 (д,  $J = 8$  Гц, 2H), 7.13 (т,  $J = 6$  Гц, 2H), 3.79 (с, 4H), 3.61 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.52 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 2.20 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.50–1.45 (м, 4H), 1.34–1.29 (м, 1H), 1.24–1.68 (м, 2H), 1.12–1.08 (м, 2H), 0.79 (т,  $J = 6.8$  Гц, 3H).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.54, 159.97, 149.01, 136.53, 123.01, 122.03, 60.54, 51.90, 51.59, 35.52, 35.03, 31.49, 30.56, 28.70,

19.58, 14.47. **HRMS (TOF, ES+):**  $m/z$  вычислено для  $[M + H]^+$   $C_{22}H_{31}N_3O_2$ : 370.2495; Обнаружено: 370.2489.

**Метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино-4-третбутилгексаноат (5g).** Выход 75%, вязкое светло-желтое масло.  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.52 (д,  $J = 5.6$  Гц, 2H), 7.64 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.52 (д,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 7.13 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H), 3.83 (с, 4H), 3.61 (с, 3H,  $OCH_3$ ), 2.53–2.48 (м, 2H), 2.27–2.23 (м, 1H), 2.14–2.06 (м, 1H), 1.81–1.70 (м, 2H), 1.31–1.22 (м, 1H), 0.79 (с, 9H).  $^{13}C$  ЯМР (100 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  174.32, 160.03, 149.12, 136.47, 123.06, 122.02, 60.64, 54.98, 51.49, 46.20, 34.04, 33.81, 28.49, 27.70, 26.91. **HRMS (TOF, ES+):**  $m/z$  вычислено для  $[M + H]^+$   $C_{23}H_{34}N_3O_2$ : 384.2651; Обнаружено: 384.2646.

**Общая методика получения ди(2-пиридилметиламино)алифатических кислот (6a-g).** Эфиры ди(2-пиридилметиламино)алифатических кислот (**5a-g**) 1 ммоль) растворяли в 2 мл ацетонитрила и добавляли 50 мкл  $HCl$  (36%). Реакционную массу перемешивали в течение 2 часов при температуре 80 °С. Конец реакции определяли ТСХ (элюент: этилацетат – этанол = 10:3). После окончания гидролиза растворители отгоняли при пониженном давлении.

**6-(бис(пириди-2-илметил)амино)гексановая кислота (6a).** Выход 100%, вязкое светло-желтое масло.  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.81 (д,  $J = 6$  Гц, 2H), 8.59 (т,  $J = 9.2$  Гц, 2H), 8.13 (д,  $J = 8$  Гц, 2H), 8.03 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 4.39 (с, 4H), 2.75 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 2.36 (т,  $J = 7.2$  Гц, 2H), 1.60–1.56 (м, 4H), 1.32–1.24 (м, 2H).  $^{13}C$  ЯМР (100 МГц,  $D_2O$ ):  $\delta$  178.82, 152.72, 147.01, 141.61, 127.12, 126.31, 55.69, 54.68, 33.55, 25.73, 25.03, 23.88.

**6-(бис(пириди-2-илметил)амино)-4-пропилгексановая кислота (6f).** Выход 100%, вязкое светло-желтое масло. ИК (пленка): 3400–2800, 1718, 1375, 1165, 764  $cm^{-1}$ .  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $D_2O$ ):  $\delta$  8.72 (д,  $J = 5.2$  Гц, 2H), 8.51 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 8.05 (д,  $J = 8$  Гц, 2H), 7.94 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 4.29 (с, 4H), 2.63 (т,  $J = 6$  Гц, 2H), 2.21 (т,  $J = 7.6$  Гц, 2H), 1.43–1.37 (м, 4H), 1.26–1.23 (м, 1H), 1.13–1.04 (м, 4H), 0.70 (т,  $J = 6.4$  Гц, 2H).  $^{13}C$  ЯМР (100 МГц,  $D_2O$ ):  $\delta$  178.96, 152.65, 147.08, 141.41, 127.07, 126.28, 55.48, 52.25, 34.38, 34.05, 30.95, 28.56, 27.76,

18.69, 13.46. **HRMS (TOF, ES<sup>+</sup>)**:  $m/z$  вычислено для  $[M + H]^+$  C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 356.2338; Обнаружено: 356.2337.

**6-(бис(пириди-2-илметил)амино)-4-третбутилгексановая кислота (6g)**. Выход 100%, вязкое светло-желтое масло. **<sup>1</sup>H ЯМР** (400 МГц, D<sub>2</sub>O): δ 8.75 (д,  $J = 6$  Гц, 2H), 8.53 (т,  $J = 8$  Гц, 2H), 8.08 (д,  $J = 8.4$  Гц, 2H), 7.96 (т,  $J = 6.8$  Гц, 2H), 4.33 (с, 4H), 2.61 (т,  $J = 8.4$  Гц, 2H), 2.23–2.22 (м, 2H), 1.76–1.58 (м, 2H), 1.22–1.12 (м, 2H), 0.72 (с, 9H). **<sup>13</sup>C NMR** (100 МГц, D<sub>2</sub>O): δ 178.66, 152.71, 147.08, 141.48, 127.03, 126.30, 55.38, 54.71, 45.08, 33.29, 33.02, 26.58, 26.44, 25.97. **HRMS (TOF, ES<sup>+</sup>)**:  $m/z$  вычислено для  $[M + H]^+$  C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: 370.2489; Обнаружено: 370.2489.

**Методика получения сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата (7)**. 0,4 г (1,14 ммоль) 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановой кислоты смешивали с 2 мл свежеперегнанного тетрагидрофурана, затем добавляли 160 мкл (1,14 ммоль) триэтиламина и перемешивали 30 минут. После добавляли 0,157 г (1,4 ммоль) г N-гидроксисукцинимид и 0,217 г (1,4 ммоль) EDC. Реакционную массу перемешивали 48 часов при комнатной температуре. По окончании реакции THF отгоняли, к полученному маслу добавляли 3 мл воды и экстрагировали метиленхлоридом (3×5 мл). Органический слой высушивался над натрий сульфатом и растворитель упаривался в вакууме. Продукт был выделен с использованием колоночной хроматографией (гексан:этилацетат в градиентном режиме) с последующей отгонкой растворителей под вакуумом. Выход: 92%; R<sub>f</sub> 0,35 (этилацетат/этанол = 10:1), светло-желтая вязкая масса. **<sup>1</sup>H ЯМР** (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8,51 (д,  $J = 4,8$  Гц, 2H), 7,66 (т,  $J = 7,6$  Гц, 2H), 7,52 (д,  $J = 7,6$  Гц, 2H), 7,13 (т,  $J = 6,4$  Гц, 2H), 3,79 (с, 4H), 2,82 (с, 4H), 2,54 (т, 4H), 1,65 (м, 2H), 1,55 (м, 2H), 1,36 (м, 2H). **<sup>13</sup>C ЯМР** (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ = 169,26, 168,63, 159,67, 148,57, 136,96, 123,22, 122,24, 60,18, 54,10, 30,94, 26,63, 25,69, 25,59, 24,40. **HRMS (TOF, ESI)- $m/z$**  для C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: (M+H)<sup>+</sup> – найдено: 411,2113; вычислено: 411,2020

**Модификация DARPin.** К 100 мкл раствора DARPin (концентрация 3 мг/мл) в буфере (5 ммоль Tris, 40 ммоль  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 500 ммоль NaCl, pH=8,1) добавляли 10 мкл раствора сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата в ДМФА (6,7 мг/мл). Пробу перемешивали и инкубировали 4 часа при комнатной температуре. Далее пробу выдерживали 24 часа при температуре 5-10°C. Очистку модифицированных мини-антител проводили гель-фильтрацией на колонке с Superdex-75. Радиохимическая чистота полученного комплекса составила 79%.

**Методика синтеза Вос-(L-Lys)-Октреотида.**  $9,8 \cdot 10^{-3}$  ммоль (10 мг) октреотида растворяли в 1 мл боратного буфера (pH = 8,5), добавляли  $10,8 \cdot 10^{-3}$  ммоль (2,4 мг) ди-*трет*-бутилдикарбоната ((BOC)<sub>2</sub>O) в 1 мл тетрагидрофурана, перемешивали и инкубировали при комнатной температуре 60 минут. Контроль за ходом реакции осуществляли аналитической ВЭЖХ ( $t_R = 18,518$  мин). Очистку продукта проводили полупрепаративной ВЭЖХ. Фракции, соответствующие целевому продукту, объединяли и лиофилизировали.

**Методика синтеза ДРАН-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида.**  $4 \cdot 10^{-3}$  ммоль (4,5 мг) Вос-(L-Lys)-Октреотид растворяли в 1 мл ДМФА, добавляли 50 мкл ТЭА,  $8 \cdot 10^{-3}$  ммоль (3,3 мг) ДРАН-NHS, перемешивали и инкубировали при комнатной температуре 4 часа. Контроль за ходом реакции осуществляли аналитической ВЭЖХ ( $t_R = 18,715$  мин). Очистку продукта проводили полупрепаративной ВЭЖХ. Фракции, соответствующие целевому продукту, объединяли и лиофилизировали.

**Методика синтеза ДРАН-(D-Phe)-Октреотида путем гидролиза ДРАН-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида.**  $2,8 \cdot 10^{-3}$  ммоль (4 мг) ДРАН-(D-Phe)-Вос-(L-Lys)-Октреотида растворяли в 500 мкл метиленхлорида, добавляли 500 мкл ТФА, смесь инкубировали при комнатной температуре 2 часа. Контроль за ходом реакции осуществляли аналитической ВЭЖХ ( $t_R = 14,094$  мин). Очистку продукта проводили полупрепаративной ВЭЖХ после

нейтрализации триэтиламино́м. Фракции, соответствующие целевому продукту, объединяли и лиофилизировали.

**Модификация ПСМА.**  $1,6 \cdot 10^{-3}$  ммоль (2,0 мг) ингибитора ПСМА растворяли в 0,5 мл 0,1 М PBS (pH=8,0), добавляли  $4,8 \cdot 10^{-3}$  ммоль ДРАН-NHS (2,0 мг) в 0,5 мл 95% этанола, перемешивали 2 часа при температуре 50 °С. Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью жидкостной хроматографии ( $t_R = 14,077$  мин, система Ultimate 3000 («Thermo», Германия), колонка Luna C18(2) 5 мкм, 100 А°, 250×4.6 мм, градиент концентрации: 0 мин 100% А (0% В), 5 мин 80% А (20% В), 10 мин 65% А (35% В), 15 мин 50% А (50% В), 25 мин 20% А (80% В), 30 мин 0% А (100% В), 32 мин 95% А (5% В), где система А – 0,1% ТФА в воде и система В – 0,1% ТФА в ацетонитриле, скорость потока 1 мл/мин). Очистку продукта проводили полупрепаративным методом (система Ultimate 3000 («Dionex», Германия), колонка Luna C18(2) 10 мкм, 100 А°, 250×10 мм, градиент концентрации 0 мин 100% А (0% В), 5 мин 80% А (20% В), 10 мин 65% А (35% В), 15 мин 50% А (50% В), 25 мин 20% А (80% В), 30 мин 0% А (100% В), 32 мин 95% А (5% В), где система А – 0,1% ТФА в воде и система В – 0,1% ТФА в ацетонитриле, скорость потока 5 мл/мин). Фракции, соответствующие целевому продукту ( $t_R = 13,05$  мин), объединяли и лиофилизировали. Расчет выхода целевого продукта реакции проводили методом нормирования.

## ГЛАВА 4. Принципиальная технологическая схема

Процесс производства прекурсоров РФП включает в себя следующие основные стадии:

I. **Окисление кетонов**, включает в себя 6 технологических процессов:

ТП 1: Окисление кетона;

ТП 2: Окисление иода;

ТП 3: Экстракция  $\omega$ -иодкарбоновых эфиров;

ТП 4: Упаривание;

ТП 5: Экстракция  $\omega$ -иодкарбоновых кислот;

ТП 6: Упаривание.

II. **Алкилирование  $\omega$ -иодкарбоновых эфиров** (введение хелатирующего агента), включает в себя 3 технологических процесса:

ТП 7: Алкилирование  $\omega$ -иодкарбоновых эфиров;

ТП 8: Очистка (колоночная хроматография);

ТП 9: Упаривание.

III. **Гидролиз  $\omega$ -дипиридил замещенных эфиров**, включает в себя 2 технологических процесса:

ТП 10: Гидролиз;

ТП 11: Упаривание.

IV. **Получение сукцинимидных эфиров**;

ТП 12: Получение сукцинимидных эфиров;

ТП 13: Экстракция сукцинимидных эфиров;

ТП 14: Упаривание.

V. **Биоконъюгация сукцинимидных эфиров с целевыми биомолекулами**.

ТП 15: Химическая модификация биомолекул;

ТП 16: Очистка;

ТП 17: Лиофилизация.

Таблица 4.1 – Характеристика исходных материалов

№ п/п	Наименование	ГОСТ, ТУ, страна, фирма	Сорт или артикул	Стадия
1.	Циклопентанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
2.	Циклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
3.	3-метилциклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
4.	4-метилциклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
5.	4,4-диметилциклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
6.	4-пропилциклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
7.	4-третбутилциклогексанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
8.	Циклогептанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
9.	Циклооктанон	Sigma-Aldrich, США	≥ 99%	I
10.	Метиловый спирт	ГОСТ 6995-77	ХЧ	I, II, V
11.	Этиловый спирт	ГОСТ Р-51-652-2000	«Высшей очистки» 96	I
12.	Изопропиловый спирт	ТУ 6-09-402-87	ХЧ	I
13.	Третбутиловый спирт	Sigma-Aldrich, США	≥ 99,6%	I
14.	Иод металлический	Sigma-Aldrich, США	≥ 99,8%	I
15.	Хлорид меди (I)	Sigma-Aldrich, США	≥ 99 %	I
16.	Пероксид водорода	ГОСТ Р 50632-93	29-32%	I
17.	Тиосульфат натрия	ГОСТ 27068-86	ХЧ	I
18.	Метилен хлористый	ГОСТ 9968-86	ХЧ	I, II, IV
19.	Сульфат натрия безводный	ГОСТ 4166-76	ХЧ	I, II, IV
20.	Соляная кислота	ГОСТ 3118-77	ХЧ	I, III
21.	Ди-2-пиколиламин	Sigma-Aldrich, США	≥ 97 %	II
22.	Триэтиламин	Sigma-Aldrich, США	≥ 99,6%	II, V
23.	Гидрокарбонат натрия	ГОСТ 2156-76	≥ 99,5%	I, II
24.	Гексан	ТУ 2631-158-44493179-13	ХЧ	II
25.	Этилацетат	ГОСТ 22300-76	ХЧ	II
26.	Ацетонитрил	ТУ 2636-092-44493179-04	ХЧ	III, V
27.	NHS	Sigma-Aldrich, США	≥ 98%	IV
28.	EDC	Sigma-Aldrich, США	≥ 98%	IV
29.	THF	Sigma-Aldrich, США	ХЧ	IV
30.	DARPin	Синтезирован научной группой под руководством проф. Деевым С.М. (Институт биорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН)		V
31.	Октреотид	АО «Фарм-Синтез»		V
32.	Ингибитор ПСМА	Синтезирован научной группой под руководством проф. Мажугой А.Г. (МГУ им. М. В. Ломоносова и РХТУ им. Д. И. Менделеева).		V
33.	Буфер PBS	Sigma-Aldrich, США	pH 7.3 – 7.5	V
34.	Вода дистиллированная	Дистиллированная в НИ ТПУ	-	I, II, IV, V

#### 4.1 Описание технологической схемы

##### I стадия: Окисление кетонов

Циклогексанон 588,9 мг (6 ммоль, 0,622 мл) растворяется в 10 мл метанола в стеклянном реакторе объемом на 100 мл, снабженный магнитным перемешивающим устройством (300-350 об/мин). По истечении 5 минут в реакционную массу вводится кристаллический иод 761,3 мг (3 ммоль), после полного растворения иода вводится катализатор хлорид меди (I) 59,4 мг (0,06 ммоль). После загрузки катализатора по каплям вводится 6 мл раствора пероксида водорода в метаноле (1 мл пероксида водорода (32%,  $\rho=1,125\text{г/см}^3$ ) и 5 мл спирта) в течение 4 часов с использованием дозирующего устройства (капельной воронки). По истечению 4-х часов повторно вводится катализатор хлорид меди (I) 33 мг (0,033 ммоль) и 1 мл пероксида водорода в дозирующее устройство и прикапывается при перемешивании.

По окончании реакции (ТСХ и ГХ-МС- контроль) в реактор приливается насыщенный раствор тиосульфата натрия до обесцвечивания реакционной массы. Полученная смесь направляется в экстрактор (делительную воронку объемом на 250 мл), куда добавляется 10 мл дихлорметана и встряхивается. После расслоения реакционной массы на водный и органический слои, водный слой направляется в накопительную емкость объемом на 100 мл и далее направляется на утилизацию. Органический слой вновь направляется в экстрактор на 250 мл, куда вводится 10 мл насыщенного раствора бикарбоната. После расслоения реакционной массы на водный и органический слои, органический слой собирается в емкость на 100 мл и далее пропускается через фильтр Шотта, содержащий 1 г сульфата натрия. Фильтрат собирается в колбу на 100 мл и растворитель упаривается на роторном испарителе. Полученное светло-желтое масло сушится под вакуумом (1-5 мм рт. ст.). **Продукт – метиловый эфир 6-иодгексановой кислоты (2a)**, далее используется на II стадии процесса.

В водную фазу по каплям стеклянной пипеткой вводится концентрированная соляная кислота до  $\text{pH}=1$ .  $\text{pH}$  определяется по лакмусовой

бумаге. Далее водная фаза переносится в экстрактор (делительную воронку объемом 250 мл), куда добавляется 10 мл дихлорметана и встряхивается. После расслоения реакционной массы на водный и органический слои, водный слой направляется в накопительную емкость объемом на 100 мл и далее направляется на утилизацию. Органический слой собирается в емкость на 100 мл и далее пропускается через фильтр Шотта, содержащий 1 г сульфата натрия. Фильтрат собирается в колбу на 100 мл и растворитель упаривается на роторном испарителе. Полученные белые кристаллы, плавящиеся при комнатной температуре, сушатся под вакуумом (1-5 мм рт. ст.). **Продукт – 6-иодкарбоновая кислота** не используется в данном процессе.

### **II стадия: Алкилирование $\omega$ -иодкарбоновых эфиров (введение хелатирующего агента)**

Метилловый эфир 6-иодгексановой кислоты 468 мг (1,82 ммоль) растворяется в 10 мл изопропанола в стеклянном реакторе объемом на 50 мл, снабженного магнитным перемешивающим устройством (300-350 об/мин), в течение 5 минут. После растворения загружается 422 мг (2,12 ммоль, 385 мкл ди-2-пиколиламин и 183 мг (1,82 ммоль, 255 мкл) триэтиламина. Далее реактор помещается в масляную баню, и реакционная масса перемешивается при 80 °С в течение 24 часов с обратным холодильником.

По окончании реакции (ТСХ и ГХ-МС- контроль) в реактор вводится 5 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия. Полученный раствор направляется экстрактор (делительную воронку объемом 250 мл), куда добавляется 10 мл дихлорметана и встряхивается. После расслоения реакционной массы на водный и органический слои, водный слой направляется в накопительную емкость объемом на 100 мл и далее направляется на утилизацию. Органический слой собирается в емкости на 100 мл и далее проходит через фильтр Шотта, содержащий 1 г сульфата натрия. Фильтрат собирается в колбу на 100 мл и растворитель упаривается на роторном испарителе. Полученное масло направляется на хроматографическую очистку (колоночная хроматография на силикагеле).

Продукт метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат используется на III стадии процесса.

### **III стадия: Гидролиз**

Метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат 0,508 г (1,55 ммоль) растворяется в 2 мл ацетонитрила в стеклянном реакторе объемом на 50 мл, снабженного магнитным перемешивающим устройством (300-350 об/мин), в течение 5 минут. После растворения вносится 50 мкл HCl (36%). Далее реактор помещается в масляную баню, и реакционная масса перемешивается при 50 °C в течение 2 часов с обратным холодильником.

По окончании реакции (ТСХ –контроль) растворители упариваются и продукт досушивается под вакуумом (1-5 мм рт. ст.). Продукт **6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановая кислота** используется на IV стадии процесса.

### **IV стадия: Активация карбоксильной группы.**

6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановую кислоту 0,4 г (1,14 ммоль) и триэтиламин 160 мкл (1,14 ммоль) растворяют в 2 мл свежеперегнанного тетрагидрофурана в стеклянном реакторе объемом на 50 мл, снабженного магнитным перемешивающим устройством (300-350 об/мин), в течение 15 минут. После растворения загружается 0,157 г (1,4 ммоль) г N-гидроксисукцинимид и 0,217 г (1,4 ммоль) EDC. После этого раствор перемешивается 24 часа при комнатной температуре.

По истечению 24 часов тетрагидрофуран упаривается на роторном испарителе. Полученное масло растворяется в 5 мл дистиллированной воды и 10 мл дихлорметана. Полученная эмульсия переносится в сепаратор объемом на 100 мл. После расслоения реакционной массы на водный и органический слои, водный слой направляется в накопительную емкость объемом на 50 мл и далее направляется на утилизацию. Органический слой собирается в емкость на 50 мл и далее пропускается через фильтр Шотта, содержащий 1 г сульфата натрия. Фильтрат собирается в колбу на 100 мл и растворитель упаривается на роторном испарителе. Полученная светло-коричневая маслообразная масса сушится под вакуумом (1-5 мм рт. ст.). Продукт **сукцинимид-1-ил 6-**

(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат используется на V стадии процесса.

### V стадия: Биоконъюгация

К раствору биомолекулы (DARPin, октреотид, ингибитор ПСМА) в соответствующем буфере добавляется DPAH-NHS-ester и перемешивается либо выдерживается при комнатной/пониженной температуре. Контроль за реакцией осуществляется методом ВЭЖХ. Полученные биоконъюгаты очищаются на полупрепаративном ВЭЖХ хроматографе. Продукт **биоконъюгаты (модифицированные биомолекулы)** используется для связывания с технецием-99м, далее стерилизуется и получается конечный РФП.

В ходе разработки технологии получения прекурсоров для получения РФП был проведен анализ по применяемому в производстве исходного сырья (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Анализ исходного сырья

№ п/п	Компонент сырья	ПДК в воздухе рабочей зоны, мг/м <sup>3</sup>	Класс опасности
1.	Циклогексанон	10	3 [ГОСТ 12.1.007-76]
2.	Метиловый спирт	5	3 [ГОСТ 6995-77]
3.	Изопропанол	10	3 [ГОСТ 9805-84]
4.	Иод металлический	1	2 [ГОСТ 4159-79]
5.	Хлорид меди (I)	0,5 (по меди)	2 [ГОСТ 4164-79]
6.	Пероксид водорода	0,3	2 [ГОСТ 177-88]
7.	Тиосульфат натрия	10 (по SO <sub>2</sub> )	Нет данных [ГОСТ 244-76]
8.	Метилен хлористый	50	4 [ГОСТ 9968-86]
9.	Сульфат натрия безводный	10	4 [ГОСТ 4166-76]
10.	Кислота соляная	5	3 [ГОСТ 3118-77]
11.	Ди-2пиколиламин	-	3 [SDC-385638]
12.	Триэтиламин	10	3 [ГОСТ 9966-88]
13.	Гидрокарбонат натрия	5	3 [ГОСТ 2156-76]
14.	Гексан	300	4 [ГН 2.2.5.686-98]
15.	Этилацетат	200	4 [ГОСТ 22300-76]
16.	Ацетонитрил	10	3 [ГН 2.2.5.686-98]
17.	NHS	10	2 [SDC-219162]
18.	EDC	-	2 [SDS-71674020]
19.	THF	100	4 [ГН 2.2.5.686-98]

Таким образом, в разработанной технологии не применяются соединения, относящиеся к первому классу опасности. Поэтому данная технология с соблюдением необходимых мер безопасности и работы в химической лаборатории можно рассматривать как безопасное производство [156]

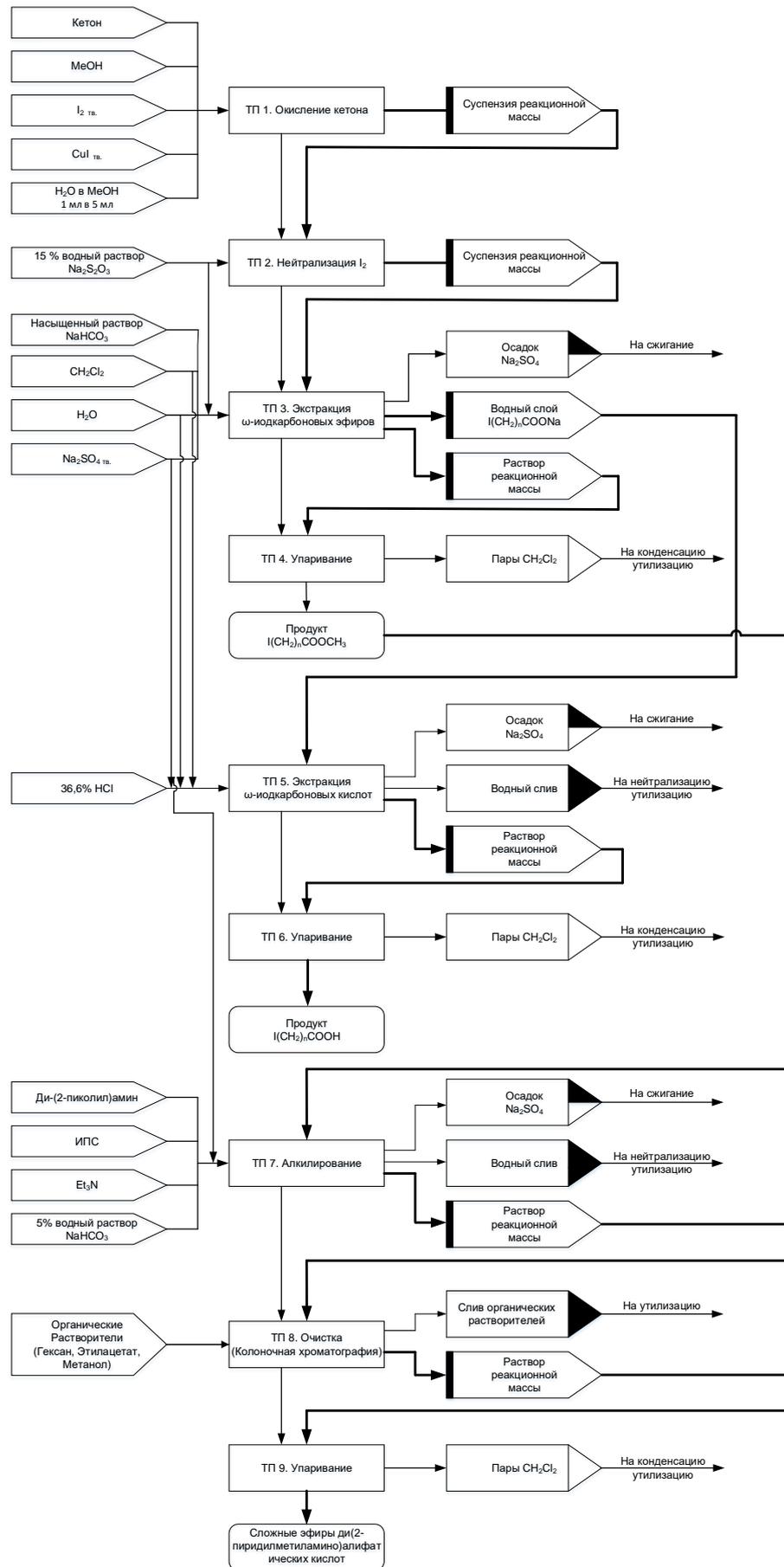


Рисунок 4.1 – Технологическая схема ТП 1 – ТП 9

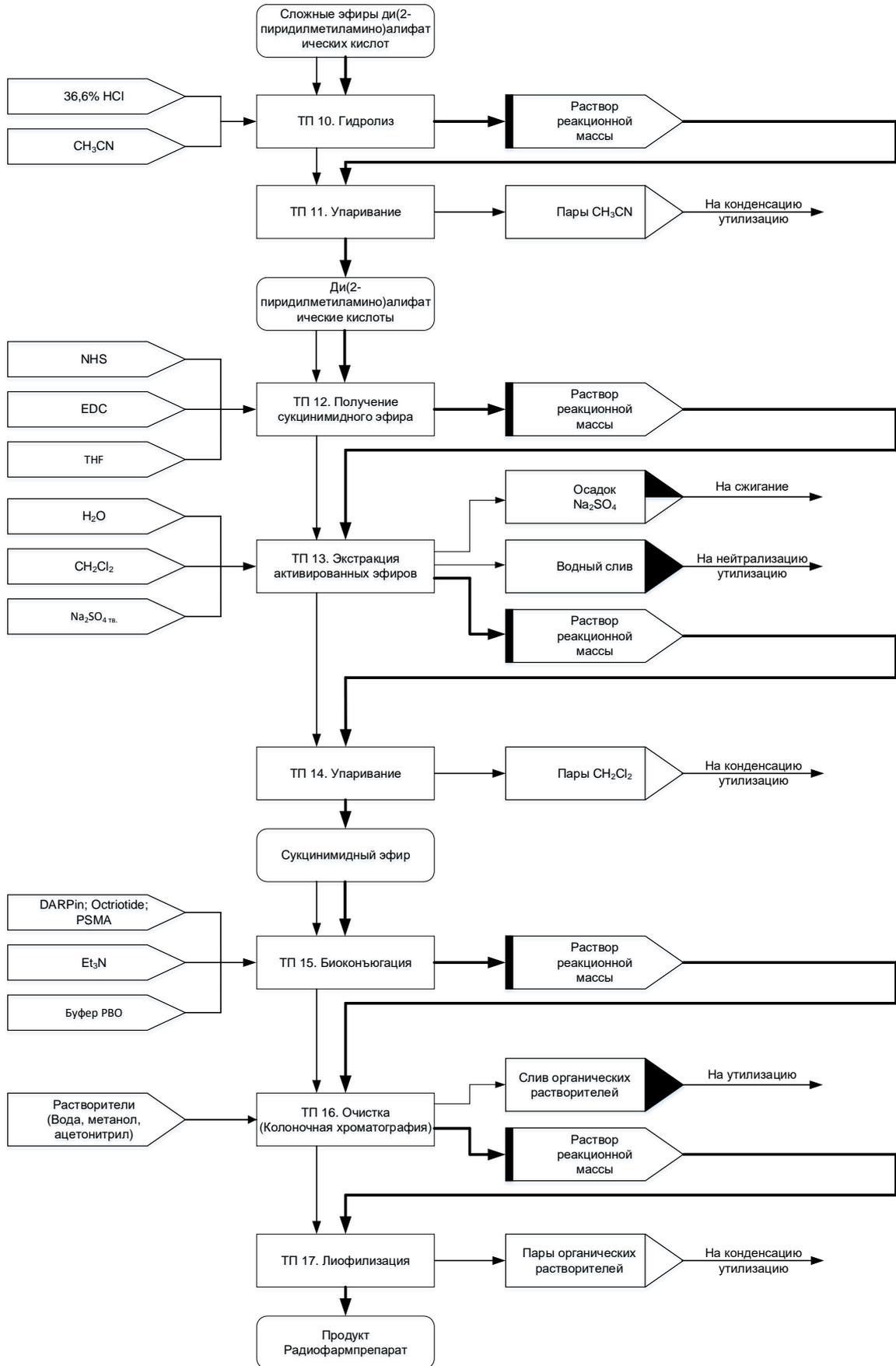


Рисунок 4.2 – Технологическая схема ТП 10 – ТП 17

## 4.2 Экономический анализ разработанной технологии

В ходе работы был проведен сравнительный анализ себестоимости получения ДРАН-NHS-ester (7). Сравнение осуществляли с существующими лабораторными методиками [100, 101].

Таблица 4.3 – Затраты на покупку реагентов для получения 0,2 грамм ДРАН-NHS-ester (7) по разработанной технологии

№ п/п	Компонент сырья	Масса, г	Объем, мл	Цена за ед (мл/гр), руб	Сумма, руб
1.	Циклогексанон	0,082		92,69	7,60
2.	Метиловый спирт		100	0,53	53,02
3.	Иод металлический	0,105		67,07	7,04
4.	Хлорид меди (I)	0,004		185,87	0,74
5.	Пероксид водорода		4	0,26	1,03
6.	Тиосульфат натрия	10		0,26	2,60
7.	Метилен хлористый		500	0,43	217,00
8.	Сульфат натрия безводный	10		0,24	2,37
9.	Кислота соляная		2	0,08	0,17
10.	Ди-2-пиколиламин	0,149		3281,43	0,75
11.	Изопропанол		10	0,14	1,37
12.	Триэтиламин	1,41		34,01	47,96
13.	Гидрокарбонат натрия	10		0,22	2,17
14.	Гексан		400	0,97	387,40
15.	Этилацетат		300	0,16	47,55
16.	Ацетонитрил		20	2,13	42,62
17.	NHS	0,082		240,00	19,68
18.	EDC	0,099		1305,38	129,23
19.	THF		10	1,35	13,50
	<b>ИТОГО</b>				<b>983,80</b>

Таблица 4.4 – Затраты на покупку реагентов для получения 0,2 грамм ДРАН-NHS-ester (7) по известной технологии [100]

№ п/п	Компонент сырья	Масса, г	Объем, мл	Цена за ед (мл/гр), руб	Сумма, руб
1.	6-аминогексановая кислота	0,155		526,94	81,68
2.	1,2-дихлорэтан		10	91,86	918,56
3.	Пиридин-2-карбальдегид	0,229		152,81	34,99
4.	Триацетоксиборгидрид натрия	0,567		308,96	175,19
5.	Метилловый спирт		100	0,53	53,02
6.	Этилацетат		300	0,16	47,55
7.	Метилен хлористый		500	2,17	217,00
8.	Сульфат натрия безводный	5		0,24	1,19
9.	Ацетонитрил		20	2,13	42,62
10.	NHS	0,124		240,00	29,76
11.	EDC	0,149		1305,38	194,50
	<b>ИТОГО</b>				<b>1796,06</b>

Условия: по данной методики получают 6-(бис(пириди-2-илметил)амино)гексановую кислоту (6a) с выходом 75%, реакция протекает 12 ч при комнатной температуре. Для получения ДРАН-NHS-ester (7) используют микроволновый реактор, реакция протекает 10 минут, выход 61%.

Таблица 4.5 – Затраты на покупку реагентов для получения 200 мг ДРАН-NHS-ester (7) по известной технологии [101]

№ п/п	Компонент сырья	Масса, г	Объем, л	Цена за ед	Сумма, руб
1.	2-пиколилхлорид гидрохлорид	1,04		1222,6	1271,25
2.	6-аминогексановая кислота	0,404		526,94	212,89
3.	Гидроксид натрия	5		0,25	1,25
4.	Хлороформ		150	0,35	52,61
5.	Сульфат натрия безводный	5		0,24	1,19
6.	2-пропанол		30	0,23	6,84
7.	Ацетонитрил		20	2,13	42,62
8.	NHS	0,124		240	29,76
9.	EDC	0,149		1305,38	194,50
	<b>ИТОГО</b>				<b>1812,91</b>

Условия: 6-(бис(пириди-2-илметил)амино)гексановую кислоту (6a) получают с 51%, реакция протекает 5 дней при комнатной температуре. В данной статье авторы не рассматривают получение ДРАН-NHS-ester (7), поэтому для сравнительного анализа получения ДРАН-NHS-ester (7) были использованы ранее известные условия: микроволновый реактор, время реакции 10 минут, выход 61%.

Цены на растворители и химические реактивы были приняты согласно производимым закупкам у поставщиков (Sigma Aldrich и Химмедснаб) в ходе выполнения работы и соответствовали на 2017-2020 гг.

На основании экономического анализа (табл. 4.3-4.5) можно сделать вывод, что разработанная технология позволит значительно сократить время получения ДРАН-acid (**6a**) (3 дня вместо 6 дней), а также позволит снизить себестоимость получаемого прекурсора ДРАН-NHS-ester (**7**) в 1,83 раза по сравнению с существующими методами.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан метод синтеза  $\omega$ -иод-замещенных алифатических карбоновых кислот и их эфиров путем окислительного расщепления простых и доступных алициклических кетонов.

2. На основе  $\omega$ -производных алифатических карбоновых кислот разработана удобная технология синтеза бифункциональных хелатирующих агентов, содержащих сукцинимидную группу.

3. Разработана технология синтеза прекурсоров радиофармпрепаратов меченных изотопом технеция-99м.

4. Проведен анализ разработанной технологии с точки зрения безопасности для персонала и окружающей среды, который показал высокую степень ее безопасности и экологичности.

5. Разработанная принципиальная технологическая схема и рассчитанные технико-экономические показатели процесса могут быть реализованы в виде четырехстадийного синтеза 200 мг DPAH-NHS-ester с суммарным выходом 59% (7).

## ПЕРЕЧЕНЬ СТАТЕЙ ПО ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ

### Статьи в Международных базах данных Scopus и Web of Science:

1. **Podrezova, E.V.** Expedient synthesis of long-chain  $\omega$ -substituted fatty acids and esters from cyclic ketones using iodine and hydrogen peroxide / **E.V. Podrezova**, M.S. Larkina, M.V. Belousov, A. Kirschning, V.V. Zhdankin, M.S. Yusubov // *Synthesis*. – 2018. – Vol. 50. – No 20. – P. 4081-4088.

2. Larkina, M.S. Validation of an Analytical HPLC Method for a New Diagnostic Octreotide Derivative for Neuroendocrine Tumors / M.S. Larkina, S. V. Krivoshchekov, **E.V. Podrezova**, O.D. Bragina, V.I. Chernov, E.A. Nesterov, V.V. Bodenko, M.V. Belousov, M.S. Yusubov // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2019. – Vol. 53. – No 9. – P. 865-870.

3. **Подрезова, Е.В.** Валидация методики количественного определения циклогексанона в реакции окислительного расщепления методом газовой хроматографии –масс-спектрометрии = Validation of a GC-MS Method for Quantitative Determination of Cyclohexanone by Oxidative Cleavage / **Е.В. Подрезова**, М.С. Ларькина, М.С. Юсубов, М.В. Белоусов, М.К. Заманова, С.В. Кривошеков // *Химико-фармацевтический журнал = Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2018. – Том 52. – №12. – С. 60-64.

4. Ларькина, М.С. Разработка способа получения производного октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей = Validation of an analytical HPLC method for a new diagnostic octreotide derivative for neuroendocrine tumors / М.С. Ларькина, **Е.В. Подрезова**, О.Д. Брагина, Е.А. Тагирова, В.И. Чернов, М.С. Юсубов, Е.А. Нестеров, В.С. Скуридин, С.В. Кривошеков, Е.А. Янковская, Р.В. Гурто, М.В. Белоусов // *Бюллетень сибирской медицины = Byulleten Sibirskoy Meditsiny*. – 2019. – Том 18. – №3. – С.72-80.

5. Брагина, О.Д. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых  $^{99m}\text{Tc}$  рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu =

The development of a highly specific radiochemical compound based on labeled <sup>99m</sup>Tc recombinant molecules for targeted imaging of cells with the overexpression of Her-2 / neu / О.Д. Брагина, М.С. Ларькина, Е.С. Стасюк, В.И. Чернов, М.С. Юсубов, В.С. Скуридин, С.М. Деев, Р.В. Зельчан, М.А. Булдаков, **Е.В. Подрезова**, М.В. Белоусов // Бюллетень сибирской медицины = Vyulleten Sibirskoy Meditsiny. – 2017. – Т. 16. – №3. – С. 25-33.

#### Патенты:

1. Патент №2616974 Российской Федерации, МПК (2006.01) C07D 213/38, C07D 213/55. Способ получения ω-(бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот – прекурсоров для связывания металлов / М.С. Юсубов, М.С. Ларькина, **Е.В. Кулибаба (Подрезова)**, Е.С. Стасюк, В.С. Скуридин; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России и ФГАОУ ВО НИ Томский политехнический университет. - № 2016101473; заявл. 19.01.2016; опубл. 19.04.2017, Бюл. № 11.

2. Патент №2655392 Российской Федерации, МПК (2006.01) C07K 7/06, C07F 13/00, A61K 51/08, A61K 103/10. Способ получения комплекса технеция-<sup>99m</sup> с октреотидом для диагностики нейроэндокринных опухолей / Е.С. Стасюк, Е.А. Нестеров, В.С. Скуридин, М.С. Ларькина, О.Д. Брагина, М.С. Юсубов, Н.В. Варламова, В.Л. Садкин, Е.А. Ильина, А.С. Рогов, **Е.В. Подрезова**, В.И. Чернов, Р.В. Зельчан, М.В. Белоусов, С.В. Кривощек; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО НИ Томский политехнический университет. - № 2017106820; заявл. 02.03.2017; опубл. 28.05.2018, Бюл. № 16.

3. Патент №2655965 Российской Федерации, МПК (2006.01) G01N 33/534. Способ получения комплекса технеция-<sup>99m</sup> с модифицированными специфичными мини-антителами для диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER2/neu. М.С. Юсубов, М.В. Белоусов, М.С. Ларькина, А.М. Гурьев, **Е.В. Подрезова**, В.С. Скуридин, Е.С. Стасюк, В.И. Чернов, О.Д. Брагина, С.М. Деев, Р.В. Зельчан; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, ФГАОУ ВО НИ

Томский политехнический университет и ФГБНУ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. - № 2016140287; заявл. 12.10.2016; опубл. 12.05.2018, Бюл. № 15.

4. Патент №2684289 Российской Федерации, МПК (2006.01) А61К 51/04. Способ получения комплекса технеция-99м с рекомбинантными адресными молекулами белковой природы для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER-2/neu / В.И. Чернов, Р.В. Зельчан, А.А. Медведева, О.Д. Брагина, И.Г. Синилкин, В.С. Скуридин, Е.С. Стасюк, Е.А. Тагирова, М.С. Юсубов, М.В. Белоусов, М.С. Ларькина, **Е.В. Подrezова**; заявитель и патентообладатель ФГБНУ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. - № 2018110029; заявл. 21.03.2018; опубл. 05.04.2019, Бюл. № 10.

5. Патент №2692126 Российской Федерации, МПК (2006.01) С07D 401/12, С07С 275/24, А61К 51/04, А61К 103/10. Способ получения производного мочевины с хелатным центром, тропного к простат-специфичному мембранному антигену для связывания технеция-99м/рения для диагностики/лечения рака предстательной железы / М.С. Ларькина, М.С. Юсубов, М.В. Белоусов, **Е.В. Подrezова**, С.В. Кривошеков, Е.А. Янковская, Р. В. Гурто, А.Г. Мажуга, А.Э. Мачулкин, В.И. Чернов, Р.В. Зельчан, А.А. Медведева, О.Д. Брагина, И.Г. Синилкин; заявитель и патентообладатель ФГБНУ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. - № 2018105277; заявл. 13.02.2018; опубл. 21.06.2019, Бюл. № 8.

6. Патент №2708076 Российской Федерации, МПК (2006.01) С07К 7/06, С07F 13/00, А61К 51/08, А61К 103/10, А61К 38/08, А61Р 35/00. Способ получения комплекса технеция-99м с производным октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей / М.С. Ларькина, Е.А. Нестеров, М.С. Юсубов, М.В. Белоусов, Е.С. Стасюк, Н.В. Варламова, В.С. Скуридин, В.Л. Садкин, А.С. Рогов, Е.А. Шелихова, Л.А. Ларионова, **Е.В. Подrezова**, В.И. Чернов, Е.А. Янковская, С.В. Кривошеков; заявитель и

патентообладатель ФГАОУ ВО НИ Томский политехнический университет. - № 2019128377; заявл. 10.09.2019; опубл. 04.12.2019, Бюл. № 34.

### Тезисы докладов на конференции:

1. **Подрезова Е.В.** Разработка способа синтеза прекурсора – производного октреотида для радиофармацевтических препаратов / **Е.В. Подрезова**, В.В. Боденко // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых, Томск, 20-23 Мая 2019. - Томск: ТПУ, 2019. – С. 197-198.

2. **Podrezova E. V.** Cyclic ketones as important precursors for creationing radiopharmaceuticals / **E.V. Podrezova**, M.S. Larkina, M.S. Yusubov, A. V. Ozerskaya // Markovnikov Congress on Organic Chemistry: poster presentation, Kazan, June 21-28, 2019. – Казань: КФУ, 2019. – P. 188.

3. **Podrezova E. V.** Synthesis of w-Fluoro-substituted of Fatty Acids and their Ethers with the Use of Cyclic Ketone / **E.V. Podrezova**, M.S. Larkina, M.S. Yusubov, A. V. Ozerskaya // 4th Russian Conference on Medicinal Chemistry with international participants. MedChem Russia 2019: Abstract book, Ekaterinburg, June 10-14, 2019. - Екатеринбург: Российская Академия наук. Уральское отделение, 2019. – P. 253.

4. **Подрезова Е.В.** Дизайн хелатирующих агентов для связывания с технецием-99м / **Е.В. Подрезова**, А.О. Артемова, Д. М. Носков, А. Е. Тулупов, М.С. Юсубов // VIII Молодежная конференция ИОХ РАН: сборник тезисов докладов, Москва, 22-23 Мая 2019. - Москва: МАКС Пресс, 2019. – С. 148.

5. **Подрезова Е.В.** Химическая модификация биоразлагаемых микрокапсул для связывания технеция-99м // **Е.В. Подрезова**, М.С. Ларькина // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых, Томск, 21-24 Мая 2018. – Томск: ТПУ, 2018. – С. 538-539.

6. **Подрезова Е.В.** Синтез  $\omega$ -замещенных жирных кислот и их эфиров с использованием циклических кетонов / **Е.В. Подрезова**, М.С. Ларькина, В.В. Жданкин, М.С. Юсубов // V Всероссийская конференция с международным участием по органической химии: сборник тезисов, Владикавказ, 10-14 Сентября 2018. - Владикавказ: Профобриздат, 2018. – С. 429.

7. **Подрезова Е.В.** Синтез бис(2-пиридилметил)амино алифатических кислот для получения радиофармацевтических препаратов / **Е.В. Подрезова**, М.С. Ларькина, М.С. Юсубов, О.Д. Брагина, В.И. Чернов, Е.С. Стасюк, В.С. Скуридин // Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней: сборник тезисов научной конференции, Красновигово, 19-23 Января 2018. - Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2018. – С. 190.

8. **Ларькина М.С.** Новые подходы к созданию таргетных радиофармпрепаратов / М.С. Ларькина, **Е.В. Подрезова**, М.С. Юсубов, О.Д. Брагина, Р.В. Зельчан, В.И. Чернов, Е.С. Стасюк, Е.А. Тагирова, В.С. Скуридин, С.В. Кривошеков, М.В. Белоусов, С.М. Деев // Молекулы и системы для диагностики и адресной терапии: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию ЦНИЛ СибГМУ, Томск, 1-3 Ноября 2017. – Томск: СибГМУ, 2017. – С. 22.

9. **Ларькина М.С.** Разработка радиобиоконъюгата для диагностики в онкологии / М.С. Ларькина, **Е.В. Подрезова**, М.С. Юсубов, В.И. Чернов, Е.С. Стасюк, А.М. Мациевский, В.С. Скуридин // Человек и лекарство: сборник тезисов докладов XXIV Российского национального конгресса, Москва, 10-13 Апреля 2017. – Москва: Видокс, 2017. – С. 102.

10. **Подрезова Е.В.**  $\omega$ -карбоновые кислоты как прекурсоры для получения радиофармацевтических препаратов / **Е.В. Подрезова**, М.С. Ларькина // Химия и химическое образование: сборник научных трудов VII Международного симпозиума, Владивосток, 17-20 Октября 2017. – Владивосток: ДВФУ, 2017. – С. 32.

11. **Подrezова Е.В.** Окислительное расщепление циклогептанона / **Е.В. Подrezова**, М.С. Ларькина, В.В. Подrezов, А.М. Мациевский // XX Всероссийская конференция молодых ученых-химиков (с международным участием): тезисы докладов, Нижний Новгород, 18-20 Апреля 2017. – Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2017. – С. 173.

12. **Подrezова Е.В.** Новый синтез  $\omega$ -замещенных производных разветвленных алифатических карбоновых кислот / **Е.В. Подrezова**, М.С. Ларькина, В.В. Подrezов, А.М. Мациевский // 55-я Международная научная студенческая конференция (МНСК-2017): Химия: материалы конференции, Новосибирск, 17-20 Апреля 2017. - Новосибирск: Изд-во НГУ, 2017. – С. 42.

13. **Подrezова Е.В.** Синтез новых алифатических карбоновых кислот для диагностики в кардиологии / **Е.В. Подrezова**, М.С. Ларькина, В.В. Подrezов, А.М. Мациевский // Менделеев - 2017: сборник тезисов докладов X Международной конференции молодых ученых по химии, Санкт-Петербург, 4-7 Апреля 2017. – Санкт-Петербург: СПбГУ, 2017. – С. 371.

14. **Подrezова Е.В.** Синтез  $^{99m}\text{Tc}$ -меченных биоконъюгатов на основе циклических кетонов / **Е.В. Подrezова**, М.С. Ларькина, М.С. Юсубов, О.Д. Брагина, В.И. Чернов, Е.С. Стасюк, В.С. Скуридин // Современные проблемы органической химии: тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения академика А.А. Ворожцова, Новосибирск, 5-9 Июня 2017. – Новосибирск: НИОХ СО АН, 2017. – С. 109

15. **Подrezова Е.В.** Использование некоторых иододержащих органических соединений в качестве прекурсоров для синтеза радиофармацевтических препаратов / **Е.В. Подrezова**, В.В. Подrezов, М.С. Ларькина // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П.Кулева, посвященной 120-летию Томского политехнического университета, Томск, 17-20 Мая 2016. – Томск: ТПУ, 2016. – С. 181-182.

16. **Кулибаба (Подрезова) Е.В.** Синтез метил 6-ди(пиридин-2-илметил)гексаноата как прекурсора для создания центров хелатирования металлов / **Е.В. Кулибаба (Подрезова)** // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 25-29 Мая 2015. – Томск: ТПУ, 2015 - Т. 1. – С. 146-148.

17. **Кулибаба (Подрезова) Е.В.** Синтез метил 6-ди(пиридин-2-илметил)гексаноата как прекурсора для создания центров хелатирования металлов / **Е.В. Кулибаба (Подрезова)**, М.С. Ларькина // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 25-29 Мая 2015. – Томск: ТПУ, 2015 - Т. 1. – С. 146-148.

18. **Kulibaba E. V. (Podrezova E.V.)** New syntheses of bis(2-pyridylmethyl)amino acid / **E.V. Kulibaba**, M.S. Larkina, M.S. Yusubov // Mendeleev 2015: Book of Abstracts IX of International Conference of Young Scientists on Chemistry, Saint Petersburg, April 7-10, 2015. – Saint-Petersburg: SPbSU, 2015. – P. 250.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

**HRMS** – масс-спектрометрия высокого разрешения

**TOF** - времяпролетный масс-спектрометр

**ESI** – ионизация электрораспылением

**ЯМР** – ядерно-магнитный резонанс

**РФП** – радиофармацевтический препарат

**ТСХ** – тонкослойная хроматография

**БФХА** - бифункциональные хелатирующие агенты

**DCC** - N,N-дициклогексилмочевина

**EDC** - 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид

**PBS** - натрий-фосфатный буфер

**NHS** - N-гидроксисукцинимид

**THF** – тетрагидрофуран

**ТП** – технологический процесс

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Mansi, R., Minamimoto, R., Mäcke, H., Iagaru, A.H. Bombesin-targeted PET of prostate cancer // *J. Nucl. Med.* – 2016. – Vol. 57. – P. 67-72.
2. Zukotynski, K., Jadvar, H., Capala, J., Fahey, F. Targeted Radionuclide Therapy: Practical Applications and Future Prospects Supplementary Issue: Biomarkers and their Essential Role in the Development of Personalised Therapies (A) // *Biomark. Cancer.* – Vol. 2016. – No. 8. – P. 35-38.
3. Pouget, J.-P., Lozza, C., Deshayes, E., Boudousq, V., Navarro-Teulon, I., Schibli, R. Medicine reviews in medicine Introduction to radiobiology of targeted radionuclide therapy // *Frontiers in medicine.* – 2015. – Vol. 2. – No.12. – P. 1–11.
4. Zanzonico, P. Principles of nuclear medicine imaging: Planar, SPECT, PET, multi-modality, and autoradiography systems // *Radiat. Res.* – 2012. – Vol. 177. – No. 4. – P. 349–364.
5. Knapp, F.F.R., Dash, A. Radiopharmaceuticals for therapy // *Radiopharm. Ther.* – 2016. – P. 1–347.
6. Yonekura, Y. Molecular imaging // *Japanese J. Clin. Radiol.* – 2005. – Vol. 50. – No. 3. – P. 355–361 .
7. Eberl, S., Chan, H.K., Daviskas, E. SPECT imaging for radioaerosol deposition and clearance studies // *J. Aerosol Med. Depos. Clear. Eff. Lung.* – 2006. – Vol. 19. – No. 1. – P. 8–20.
8. Schillaci, O. Single-Photon Emission Computed Tomography/Computed Tomography in Lung Cancer and Malignant Lymphoma // *Semin. Nucl. Med.* – 2006. – Vol. 36. – No. 4. – P. 275–285.
9. Schillaci, O., Spanu, A., Madeddu, G. [99mTc]sestamibi and [99mTc]tetrofosmin in oncology: SPET and fusion imaging in lung cancer, malignant lymphomas and brain tumors // *J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* – 2005. – Vol. 49. – No. 2. – P. 133–144.
10. Gholamrezanejad, A., Mirpour, S., Mariani, G. Future of nuclear medicine: SPECT versus PET // *Journal of Nuclear Medicine.* – 2009. – Vol. 50. –

No.7 P. 16–18.

11. Delbeke, D., Schöder, H., Martin, W.H., Wahl, R.L. Hybrid Imaging (SPECT/CT and PET/CT): Improving Therapeutic Decisions // *Semin. Nucl. Med.* – 2009. – Vol. 39. – No. 5. – P. 308–340.

12. Kubota, K. From tumor biology to clinical PET: A review of positron emission tomography (PET) in oncology // *Ann. Nucl. Med.* – 2001. – Vol. 15. – No. 6. – P. 308–340.

13. Thorp-Greenwood, F.L., Coogan, M.P. Multimodal radio- (PET/SPECT) and fluorescence imaging agents based on metallo-radioisotopes: Current applications and prospects for development of new agents // *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* – 2011. – Vol. 40. – No. 23. – P. 6129–6143.

14. Wurzer, A., Seidl, C., Morgenstern, A., Bruchertseifer, F., Schwaiger, M., Wester, H.J., Notni, J. Dual-Nuclide Radiopharmaceuticals for Positron Emission Tomography Based Dosimetry in Radiotherapy // *Chem. - A Eur. J.* – 2018. – Vol. 24. – No. 3. – P. 547–550.

15. Papagiannopoulou, D. Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2017. – Vol. 60. – No. 11. – P. 502–520.

16. Green, C.H. Technetium-99m production issues in the United Kingdom // *J. Med. Phys.* – 2012. – Vol. 37. – No. 2. – P. 66.

17. Skinner, S.P., Goult, B.T., Fogh, R.H., Boucher, W., Stevens, T.J., Laue, E.D., Vuister, G.W. Structure calculation, refinement and validation using CcpNmr Analysis // *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* – 2015. – Vol. 71. – P. 154–161.

18. Meszaros, L.K., Dose, A., Biagini, S.C.G., Blower, P.J. Synthesis and evaluation of analogues of HYNIC as bifunctional chelators for technetium // *Dalt. Trans.* – 2011. – Vol. 40. – No. 23. – P. 6260–6267.

19. Donnelly, P.S. The role of coordination chemistry in the development of copper and rhenium radiopharmaceuticals // *Dalt. Trans.* – 2011. – Vol. 40. – No. 5. – P. 999–1010.

20. Liu, S., Edwards, D.S.  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled small peptides as diagnostic radiopharmaceuticals // *Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 99. – No. 9. – P. 2235–2268.
21. Jürgens, S., Herrmann, W.A., Kühn, F.E. Rhenium and technetium based radiopharmaceuticals: Development and recent advances // *J. Organomet. Chem.* – 2014. – Vol. 751. – P. 83–89.
22. Product, G.N., Two, R. Chapter 1: Introduction Chapter 1: Introduction // *Fluid Mech.* – 1966. – P. 1–16.
23. Chaturvedi, S., Mishra, A.K. Small molecule radiopharmaceuticals - A review of current approaches // *Front. Med.* – 2016. – No. 3. – P. 1–18.
24. Bargh, J.D., Isidro-Llobet, A., Parker, J.S., Spring, D.R. Cleavable linkers in antibody-drug conjugates // *Chem. Soc. Rev.* – 2019. – Vol. 48. – No. 16. – P. 4361–4374.
25. Johannsen, B., Scheunemann, M., Spies, H., Brust, P., Wober, J., Syhre, R., Pietzsch, H.J. Technetium(V) and rhenium(V) complexes for 5-HT(2A) serotonin receptor binding: Structure-affinity considerations // *Nucl. Med. Biol.* – 1996. – Vol. 23. – No. 4. – P. 429–438.
26. Kung, M.P., Stevenson, D.A., Plössl, K., Meegalla, S.K., Beckwith, A., Essman, W.D., Mu, M., Lucki, I., Kung, H.F. [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT-1: A novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent // *Eur. J. Nucl. Med.* – 1997. – Vol. 24. – No. 4. – P. 372–380.
27. Johannsen, B., Berger, R., Brust, P., Pietzsch, H.J., Scheunemann, M., Seifert, S., Spies, H., Syhre, R. Structural modification of receptor-binding technetium-99m complexes in order to improve brain uptake // *Eur. J. Nucl. Med.* – 1997. – Vol. 24. – No. 3. – P. 316–319.
28. Drews, A., Pietzsch, H.J., Syhre, R., Seifert, S., Varnäs, K., Hall, H., Halldin, C., Kraus, W., Karlsson, P., Johnsson, C., Spies, H., Johannsen, B. Synthesis and biological evaluation of technetium(III) mixed-ligand complexes with high affinity for the cerebral 5-HT<sub>1A</sub> receptor and the  $\alpha$ <sub>1</sub>-adrenergic receptor // *Nucl. Med. Biol.* – 2002. – Vol. 29. – No. 4. – P. 389–398.
29. Bakker, W.H., Albert, R., Bruns, C., Breeman, W.A.P., Hofland, L.J.,

Marbach, P., Pless, J., Pralet, D., Stolz, B., Koper, J.W., Lamberts, S.W.J., Visser, T.J., Krenning, E.P. [111In-DTPA-D-Phe1]-octreotide, a potential radiopharmaceutical for imaging of somatostatin receptor-positive tumors: synthesis, radiolabeling and in vitro validation // *Life Sci.* – 1991. – Vol. 49. – No. 22. – P. 1583–1591.

30. Notni, J., Wester, H.J. Re-thinking the role of radiometal isotopes: Towards a future concept for theranostic radiopharmaceuticals // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2018. – Vol. 61. – No. 3. – P. 141–153.

31. Saleh, T.B. Technetium-99m radiopharmaceuticals // *Basic Sci. Nucl. Med.* – 2011. – No. 466. – P. 41–53.

32. Arbab, A.S., Koizumi, K., Toyama, K., Arai, T., Araki, T. Technetium-99m-tetrofosmin, Technetium-99m-MIBI and Thallium-201 uptake in rat myocardial cells // *J. Nucl. Med.* – 1998. – Vol. 39. – No. 2. – P. 266–271.

33. Lee, Y.S. Radiopharmaceutical chemistry // *Handb. Nucl. Med. Mol. Imaging Princ. Clin. Appl.* – 2012. – P. 151–163.

34. Lin, K.S., Luu, A., Baidoo, K.E., Hashemzadeh-Gargari, H., Chen, M.K., Brenneman, K., Pili, R., Pomper, M., Carducci, M.A., Wagner, H.N. A new high affinity technetium-99m-bombesin analogue with low abdominal accumulation // *Bioconjug. Chem.* – 2005. – Vol. 16. – No. 1. – P. 43–50.

35. Jurisson, S.S., Lydon, J.D. Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals // *Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 99. – No. 9. – P. 2205–2218.

36. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов: учебное пособие / В.С. Скуридин; Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2013. – 140 с.

37. Liu, Y., Liu, G., Hnatowich, D.J. A brief review of chelators for radiolabeling oligomers // *Materials (Basel).* – 2010. – Vol. 3. – No. 5. – P. 3204–3217.

38. Jones, G.S., Elmaleh, D.R., Strauss, H.W., Fischman, A.J. Synthesis and biodistribution of a new 99mtechnetium fatty acid // *Nucl. Med. Biol.* – 1994. – Vol. 21. – No. 1. – P. 117–123.

39. Baidoo, K.E., Lever, S.Z. Synthesis of a Diaminedithiol Bifunctional Chelating Agent for Incorporation of Technetium-99m into Biomolecules // *Bioconjug. Chem.* – 1990. – Vol. 1. – No. 2. – P. 132–137.
40. Stetter, H., Frank, W. Catalyzed Addition of Aldehydes to Activated Double Bonds—A New Synthetic Approach // *Angew. Chem.* – 1976. – Vol. 15. – No. 11. – P. 686.
41. Sukal, J.P., Griffin, J.H., Mack, D.P., Dervan, P.B. Reagents and Methods for the Solid-Phase Synthesis of Protein-EDTA for Use in Affinity Cleaving // *J. Am. Chem. Soc.* – 1990. – Vol. 112. – No. 17. – P. 6369–6374.
42. Liang, F.H., Virzi, F., Hnatowich, D.J. Serum stability and non-specific binding of technetium-99m labeled diaminodithiol for protein labeling // *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation.* – 1987. – Vol. 14. – No. 6. – P. 555–561.
43. Kung, H.F., Molnar, M., Billings, J., Wicks, R., Blau, M. Synthesis and biodistribution of neutral lipid-soluble Tc-99m complexes that cross the blood-brain barrier // *J. Nucl. Med.* – 1984. – Vol. 25. – No. 3. – P. 326–332.
44. Meegalla, S.K., Plössl, K., Kung, M.P., Chumpradit, S., Stevenson, D.A., Kushner, S.A., McElgin, W.T., Mozley, P.D., Kung, H.F. Synthesis and characterization of technetium-99m-labeled tropanes as dopamine transporter-imaging agents // *J. Med. Chem.* – 1997. – Vol. 40. – No. 1. – P. 9–17.
45. Uehara, T., Uemura, T., Hirabayashi, S., Adachi, S., Odaka, K., Akizawa, H., Magata, Y., Irie, T., Arano, Y. Technetium-99m-labeled long chain fatty acid analogues metabolized by  $\beta$ -oxidation in the heart // *J. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 50. – No. 3. – P. 543–549.
46. Yamamura, N., Magata, Y., Arano, Y., Kawaguchi, T., Ogawa, K., Konishi, J., Saji, H. Technetium-99m-labeled medium-chain fatty acid analogues metabolized by  $\beta$ -oxidation: Radiopharmaceutical for assessing liver function // *Bioconjug. Chem.* – 1999. – Vol. 10. – No. 3. – P. 489–495.
47. Guo, Y., Chen, X., Jia, H., Ji, X., Liu, B. Synthesis and biological evaluation of one novel technetium-99m-labeled nitroquipazine derivative as an imaging agent for serotonin transporter // *Appl. Radiat. Isot.* – 2008. – Vol. 66. –

No. 12. – P. 1804–1809.

48. Lipowska, M., Hansen, L., Cini, R., Xu, X., Choi, H., Taylor, A.T., Marzilli, L.G. Synthesis of new N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> ligands and Re(V)O(N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>) analogues of <sup>99m</sup>Tc renal imaging agents. Characterization by NMR spectroscopy, molecular mechanics calculations, and X-ray crystallography // *Inorganica Chim. Acta.* – 2002. – Vol. 339. – P. 327–340.

49. Heslinga, L., van Der Linde, R., Pabon, H.J.J., van Dorp, D.A. Synthesis of substituted cis-8,cis-11,cis-14-eicosatrienoic acids, precursors of correspondingly substituted prostaglandins // *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas.* – 1975. – Vol. 94. – No. 12. – P. 262–273.

50. Kling, M.R., Easton, C.J., Poulos, A. Synthesis of very long chain fatty acid methyl esters // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* – 1993. – No. 10. – P. 1183–1189.

51. Destine, M., Seret, A. Legendre polynomials: A fully-automatic method for noise reduction in MAG3 renogram analysis // *J. Nucl. Med. Technol.* – 2020. – Vol. 48. – No. 4. – P. 346–353.

52. Elgazzar, A.H., Alenezi, S., Elgazzar, A.H., Alenezi, S. Nuclear Medicine in the Genitourinary System // *A Concise Guid. to Nucl. Med.* – 2020. – P. 13–29.

53. Shi, J., Kim, Y.S., Chakraborty, S., Jia, B., Wang, F., Liu, S. 2-Mercaptoacetylglucylglycyl (MAG2) as a bifunctional chelator for <sup>99m</sup>Tc-labeling of cyclic RGD dimers: Effect of technetium chelate on tumor uptake and pharmacokinetics // *Bioconjug. Chem.* – 2009. – Vol. 20. – No. 8. – P. 1559–1568.

54. Zhu, Z., Wu, Y., Liu, Y. Convenient Synthesis and Bioevaluation of New MAG3 Analogs for Rhenium-Labeling of Antibodies IgG // *Radiochim. Acta.* – 1997. – Vol. 79. – No. 2. – P. 109–112.

55. Winnard, P., Chang, F., Rusckowski, M., Mardirossian, G., Hnatowich, D.J. <sup>99m</sup>Tc-<sup>125</sup>I-3. – 1997. – Vol. 24. – No. 5. – P. 425–432.

56. Hoareau, R., Scott, P.J.H. Synthesis of perfluorinated analogs of DOTA and NOTA: Bifunctional chelating groups with potential applications in hybrid

- molecular imaging // *Tetrahedron Lett.* – 2013. – Vol. 54. – No. 42. – P. 5755–5757.
57. Alshoukr, F., Rosant, C., Maes, V., Abdelhak, J., Raguin, O., Burg, S., Sarda, L., Barbet, J., Tourwé, D., Pelaprat, D., Gruaz-Guyon, A. Novel neurotensin analogues for radioisotope targeting to neurotensin receptor-positive tumors // *Bioconjug. Chem.* – 2009. – Vol. 20. – No. 8. – P. 1602–1610.
58. Lattuada, L., Barge, A., Cravotto, G., Giovenzana, G.B., Teid, L. The synthesis and application of polyamino polycarboxylic bifunctional chelating agents // *Chem. Soc. Rev.* – 2011. – Vol. 40. – No. 5. – P. 3019–3049.
59. Weekes, D.M., Ramogida, C.F., Guadalupe, M. De, Peláez, J., Brian, O., Apte, C., Kostelnik, T.I., Cawthray, J.F., Murphy, L., Orvig, C. Bis-picolinate complexes of gallium ( III ) and lanthanum ( III ). // *Inorganic chemistry.* – 2016. – Vol. 55. – No. 24. – P. 12544-12558.
60. Barge, A., Cappelletti, E., Cravotto, G., Ferrigato, A., Lattuada, L., Marinoni, F., Tei, L. Synthesis of functionalised HP-DO3A chelating agents for conjugation to biomolecules // *Org. Biomol. Chem.* – 2009. – Vol. 7. – No. 18. – P. 3810–3816.
61. Kohl, S.W., Kuse, K., Hummert, M., Schumann, H., M, C., Janek, K., Weißhoff, H. Starting Materials for Metal-coded DOTA-Based Affinity Tags // *Zeitschrift für Naturforsch.* – 2007. – Vol. 62b. – P. 397–406.
62. Wu, F., Ye, G., Yi, R., Sun, T., Xu, C., Chen, J. Novel polyazamacrocyclic receptor decorated core-shell superparamagnetic microspheres for selective binding and magnetic enrichment of palladium: Synthesis, adsorptive behavior and coordination mechanism // *Dalt. Trans.* – 2016. – Vol. 45. – No. 23. – P. 9553–9564.
63. Guérin, B., Ait-Mohand, S., Tremblay, M.C., Dumulon-Perreault, V., Fournier, P., Bénard, F. Total solid-phase synthesis of NOTA-functionalized peptides for PET imaging // *Org. Lett.* – 2010. – Vol. 12. – No. 2. – P. 280-283.
64. Takahashi, M., Takamoto, S. The Preparation of Trivalent Metal Chelates with Some N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>-Type Ligands // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1977. – Vol. 50. – No. 12. – P. 3413–3414.

65. Mojarrad, P., Zamani, S., Seyedhamzeh, M., Omoomi, F.D., Karimpourfard, N., Hadadian, S., Ebrahimi, S.E.S., Hamedani, M.P., Farzaneh, J., Ardestani, M.S. Novel radiopharmaceutical (Technetium-99m)-(DOTA-NHS-ester)-Methionine as a SPECT-CT tumor imaging agent // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2020. – Vol. 141. – P. 105112.
66. Okarvi, S.M., AlJammaz, I. A convenient and efficient total solid-phase synthesis of DOTA-functionalized tumor-targeting peptides for PET imaging of cancer // *EJNMMI Res.* – 2019. – Vol. 9. – No. 1. – P. 88.
67. Patinec, V., Yaouanc, J.J., Clement, J.C., Handel, H., des Abbayes, H., Kubicki, M.M. Modes of complexation of non-substituted and substituted tetraazamacrocycles with Group 6 metal carbonyls. X-ray structure of [(permethylcyclam)Mo(CO)<sub>4</sub>] // *J. Organomet. Chem.* – 1995. – Vol. 494. – No. 1-2. – P. 215-222.
68. Kohl, S.W., Kuse, K., Hummert, M., Schumann, H., Mügge, C., Janek, K., Weißhoff, H. New synthetic routes for 1-benzyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane and 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-acetic acid ethyl ester, important starting materials for metal-coded DOTA-based affinity tags // *Zeitschrift für Naturforsch. - Sect. B J. Chem. Sci.* – 2007. – Vol. 62. – P. 397-406.
69. Anderegg, G., Arnaud-Neu, F., Delgado, R., Felcman, J., Popov, K. Critical evaluation of stability constants of metal complexes of complexones for biomedical and environmental applications (IUPAC Technical Report) // *Pure Appl. Chem.* – 2005. – Vol. 77. – No. 8. – P. 1445-1495.
70. Crowley, J.D., Bandeen, P.H., Hanton, L.R. A one pot multi-component CuAAC «click» approach to bidentate and tridentate pyridyl-1,2,3-triazole ligands: Synthesis, X-ray structures and copper(II) and silver(I) complexes // *Polyhedron.* – 2010. – Vol. 29. – No. 1. – P. 70-83.
71. Kolb, M. Synthetic communications: An international journal for rapid communication of synthetic organic chemistry // *Synth. Commun.* – 1993. – Vol. 23. – No. 1. – P. 2409-2413.
72. Zhao, F., Repo, E., Sillanpää, M., Meng, Y., Yin, D., Tang, W.Z. Green

synthesis of magnetic EDTA- And/or DTPA-cross-linked chitosan adsorbents for highly efficient removal of metals // *Ind. Eng. Chem. Res.* – 2015. – Vol. 54. – No. 4. – P. 1271–1281.

73. Sieving, P.F., Watson, A.D., Rocklage, S.M. Preparation and Characterization of Paramagnetic Polychelates and Their Protein Conjugates // *Bioconjug. Chem.* – 1990. – Vol. 1. – No.1. – P. 65-71.

74. Geraldles, C.F.G.C., Urbano, A.M., Alpoim, M.C., Sherry, A.D., Kuan, K.T., Rajagopalan, R., Maton, F., Muller, R.N. Preparation, physico-chemical characterization, and relaxometry studies of various gadolinium(III)-DTPA-bis(amide) derivatives as potential magnetic resonance contrast agents // *Magn. Reson. Imaging.* – 1995. – Vol. 13. – No. 3. – P. 401–420.

75. Brechbiel, M.W., Gansow, O.A., Atcher, R.W., Schlom, J., Esteban, J., Simpson, D.E., Colcher, D. Synthesis of 1-(p-Isothiocyanatobenzyl) Derivatives of DTPA and EDTA. Antibody Labeling and Tumor-Imaging Studies // *Inorg. Chem.* – 1986. – Vol. 25. – No. 16. – P. 2772–2781.

76. Engelmann, M.D., Bobier, R.T., Hiatt, T., Cheng, I.F. Variability of the Fenton reaction characteristics of the EDTA, DTPA, and citrate complexes of iron. – 2003. – Vol. 16. – No. 4. – P. 519–527.

77. Safavy, A., Smith, D.C., Bazooband, A., Buchsbaum, D.J. De novo synthesis of a new diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) bifunctional chelating agent // *Bioconjug. Chem.* – 2002. – Vol. 13. – No. 2. – P. 317–326.

78. Williams, M.A., Rapoport, H. Synthesis of Enantiomerically Pure Diethylenetriaminepentaacetic Acid Analogues. 1-Phenylalanine as the Educt for Substitution at the Central Acetic Acid // *J. Org. Chem.* – 1993. – Vol. 58. – No. 5. – P. 1151-1158.

79. Achilefu, S., Randy Wilhelm, R., Jimenez, H.N., Schmidt, M.A., Srinivasan, A. A new method for the synthesis of tri-tert-butyl diethylenetriaminepentaacetic acid and its derivatives // *J. Org. Chem.* – 2000. – Vol. 65. – No. 5. – P. 1532-1568.

80. De Visser, M., Bernard, H.F., Erion, J.L., Schmidt, M.A., Srinivasan,

A., Waser, B., Reubi, J.C., Krenning, E.P., De Jong, M. Novel  $^{111}\text{In}$ -labelled bombesin analogues for molecular imaging of prostate tumours // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* – 2007. – Vol. 34. – No. 8. – P. 1228–1238.

81. Eckelman, W.C., Karesh, S.M., Reba, R.C. New compounds: Fatty acid and long chain hydrocarbon derivatives containing a strong chelating agent // *J. Pharm. Sci.* – 1975. – Vol. 64. – No. 4. – P. 704–706.

82. Jaeger, D.A., Peacock, M.F., Scott Bohle, D. A surfactant transition metal chelate. – 2003. – Vol. 19. – No. 11. – P. 4859–4862.

83. Ebright, Y.W., Chen, Y., Ebright, R.H., Ludescher, R.D. N-(Iodoacetyl)-p-phenylenediamine-EDTA: A Reagent for High-Efficiency Incorporation of an EDTA-Metal Complex at a Rationally Selected Site within a Protein // *Bioconjug. Chem.* – 1993. – Vol. 4. – No. 3. – P. 219–225.

84. Cuenoud, B., Schepartz, A. Synthesis of N- $\alpha$ -*boc*-N- $\epsilon$ -tribenzyl EDTA-L-lysine. An amino acid analogue suitable for solid phase peptide synthesis // *Tetrahedron.* – 1991. – Vol. 47. – No. 14–15. – P. 2535–2542.

85. Pollack, R., Dietze, P., Sayer, J., Sluka, J.P., Griffin, J.H., Mack, D.P., Dervan, P.B. Reagents and Methods for the Solid-Phase Synthesis of Protein-EDTA for Use in Affinity Cleaving // *J. Am. Chem. Soc.* – 1990. – Vol. 112. – P. 6369–6374.

86. Fulgenzi, A., Ferrero, M.E. EDTA Chelation Therapy for the Treatment of Neurotoxicity // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – No. 5. – P. 1–16.

87. Bolzati, C., Dolmella, A. Nitrido technetium-99m core in radiopharmaceutical applications: Four decades of research. – 2020. – V. 8. – No. 1. – P. 1–36.

88. Fernández, S., Giglio, J., Rey, A.M., Cerecetto, H. Influence of ligand denticity on the properties of novel  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$ -carbonyl complexes. Application to the development of radiopharmaceuticals for imaging hypoxic tissue // *Bioorganic Med. Chem.* – 2012. – Vol. 20. – No. 13. – P. 4040–4048.

89. Münchenberg, J., Fischer, A.K., Thönnessen, H., Jones, P.G., Schmutzler, R. N-(N',N',N',N'-tetramethyl)guanidine-substituted phosphines as

monodentate, bidentate or tridentate ligands in transition metal chemistry // *J. Organomet. Chem.* – 1997. – Vol. 529. – No. 1–2. – P. 361–374.

90. Abiraj, K., Ursillo, S., Tamma, M.L., Rylova, S.N., Waser, B., Constable, E.C., Fani, M., Nicolas, G.P., Reubi, J.C., Maecke, H.R. The tetraamine chelator outperforms HYNIC in a new technetium-99m-labelled somatostatin receptor 2 antagonist // *EJNMMI Res.* – 2018. – Vol. 8. – No. 1. – P. 1–10.

91. Decristoforo, C., Mather, S.J. 99m-technetium-labelled peptide-HYNIC conjugates: Effects of lipophilicity and stability on biodistribution // *Nucl. Med. Biol.* – 1999. – Vol. 26. – No. 4. – P. 389–396.

92. Khoshbakht, S., Kobarfard, F., Beiki, D., Sabzevari, O., Amini, M., Mehrnejad, F., Tabib, K., Shahhosseini, S. HYNIC a bifunctional prosthetic group for the labelling of peptides with 99mTc and 18FDG // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* – 2016. – Vol. 307. – No. 2. – P. 1125-1134.

93. Abrams, M.J., Juweid, M., TenKate, C.I., Schwartz, D.A., Hauser, M.M., Gaul, F.E., Fucello, A.J., Rubin, R.H., Strauss, H.W., Fischman, A.J. Technetium-99m-human polyclonal IgG radiolabeled via the hydrazino nicotinamide derivative for imaging focal sites of infection in rats // *J. Nucl. Med.* – 1990. – Vol. 31. – No. 12. – P. 2022–2028.

94. Pak, J.K., Benny, P., Spingler, B., Ortner, K., Alberto, R. N Functionalization of Metal and Organic Protected L-Histidine for a Highly Efficient, Direct Labeling of Biomolecules with  $[Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$  // *Chem. - A Eur. J.* – 2003. – Vol. 9. – No. 9. – P. 2053–2061.

95. Sanad, M.H. Novel radiochemical and biological characterization of 99m Tc-histamine as a model for brain imaging. – 2014. – Vol. 5. – No. 1. – P. 1-7.

96. Alberto, R., Schibli, R., Waibel, R., Abram, U., Schubiger, A.P. Basic aqueous chemistry of  $[M(OH_2)_3(CO)_3]^+$  + (M = Re, Tc) directed towards radiopharmaceutical application // *Coord. Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 190–192. – P. 901–919.

97. Pathuri, G., Sahoo, K., Awasthi, V., Gali, H. Synthesis and in vivo evaluation of Tc-99m-labeled cyclic CisoDGRC peptide conjugates for targeting

$\alpha\beta 3$  integrin expression // *Bioorganic Med. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 20. – No. 20. – P. 5969–5972.

98. Maresca, K.P., Hillier, S.M., Lu, G., Marquis, J.C., Zimmerman, C.N., Eckelman, W.C., Joyal, J.L., Babich, J.W. Small molecule inhibitors of PSMA incorporating technetium-99m for imaging prostate cancer: Effects of chelate design on pharmacokinetics // *Inorganica Chim. Acta.* – 2012. – Vol. 389. – P. 168–175.

99. Hicks, J.W., Harrington, L.E., Valliant, J.F. Fluorous ligand capture (FLC): A chemoselective solution-phase strategy for isolating  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled compounds in high effective specific activity // *Chem. Commun.* – 2011. – Vol. 47. – No. 26. – P. 7518–7520.

100. Rodpun, K., Blackman, A.G., Gardiner, M.G., Tan, E.W., Meledandri, C.J., Lucas, N.T. Alkyl linker effects on the coordination topology of ditopic di(2-pyridylmethyl)amine carboxylate ligands with  $\text{Zn}^{\text{II}}$  and  $\text{Cu}^{\text{II}}$ : polymers vs. macrocycles. – 2015. – Vol. 17. – No. 15. – P. 2974–2988.

101. Kirin, S.I., Dubon, P., Weyhermuller, T., Bill, E., Metzler-Nolte, N. Amino acid and peptide bioconjugates of copper(II) and zinc(II) complexes with a modified *N,N*-bis(2-picolyl)amine ligand // *Inorg. Chem.* – 2005. – Vol. 44. – No. 15. – P. 5405–5415.

102. Патент International Bureau WO 2016/046793 A2. 31.03.2016.

103. Kluba, C., Mindt, T. Click-to-Chelate: Development of Technetium and Rhenium-Tricarbonyl Labeled Radiopharmaceuticals. – 2013. – Vol. 18. – No. 3. – P. 3206–3226.

104. Mindt, T.L., Müller, C., Melis, M., De Jong, M., Schibli, R. «Click-to-chelate»: In vitro and in vivo comparison of a  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -labeled *N*( $\tau$ )-histidine folate derivative with its isostructural, clicked 1,2,3-triazole analogue // *Bioconjug. Chem.* – 2008. – Vol. 19. – No. 8. – P. 1689–1695.

105. Perk, L.R., Vosjan, M.J.W.D., Visser, G.W.M., Budde, M., Jurek, P., Kiefer, G.E., Van Dongen, G.A.M.S. P-Isothiocyanatobenzyl-desferrioxamine: A new bifunctional chelate for facile radiolabeling of monoclonal antibodies with zirconium-89 for immuno-PET imaging // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* – 2010.

– Vol. 37. – No. 2. – P. 250–259.

106. Adumeau, P., Sharma, S.K., Brent, C., Zeglis, B.M. Site-Specifically Labeled Immunoconjugates for Molecular Imaging—Part 2: Peptide Tags and Unnatural Amino Acids // *Mol. Imaging Biol.* – 2016. – Vol. 18. – No. 2. – P. 153-165.

107. Adumeau, P., Sharma, S.K., Brent, C., Zeglis, B.M. Site-Specifically Labeled Immunoconjugates for Molecular Imaging—Part 1: Cysteine Residues and Glycans // *Mol. Imaging Biol.* – 2016. – Vol. 18. – No. 1. – P. 1-17.

108. Hardcastle, T., Novosjolova, I., Kotikam, V., Cheruiyot, S.K., Mutisya, D., Kennedy, S.D., Egli, M., Kelley, M.L., Smith, A.V.B., Rozners, E. A Single Amide Linkage in the Passenger Strand Suppresses Its Activity and Enhances Guide Strand Targeting of siRNAs // *ACS Chem. Biol.* – 2018. – Vol. 13. – No. 3. – P. 533–536.

109. Mohiuddin, G., Ghosh, S., Begum, N., Debnath, S., Turlapati, S., Rao, D.S.S., Nandiraju, R.V.S. Amide linkage in novel three-ring bent-core molecular assemblies: polar mesophases and importance of H-bonding // *Liq. Cryst.* – 2018. – Vol. 45. – No. 10. – P. 1549–1566.

110. Larenkov, A. Radionuclide Diagnosis of Prostate Cancer: Positron Emission Tomography with <sup>68</sup>Ga-PSMA Inhibitors and Their Pharmaceutical Development // *Medical Radiology and Radiation Safety.* – 2017. – Vol. 62. – No. 6. – P. 58–74.

111. Dai, P.-F., Qu, J.-P., Kang, Y.-B. Organocatalyzed Aerobic Oxidation of Aldehydes to Acids. – 2019. – Vol. 21. – No. 5. – P. 1393-1396.

112. Uyanik, M., Akakura, M., Ishihara, K. 2-iodoxybenzenesulfonic acid as an extremely active catalyst for the selective oxidation of alcohols to aldehydes, ketones, carboxylic acids, and enones with oxone // *J. Am. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 131. – No. 1. – P. 251–262.

113. Osada, S., Sano, S., Ueyama, M., Chuman, Y., Kodama, H., Sakaguchi, K. Fluoroalkene modification of mercaptoacetamide-based histone deacetylase inhibitors // *Bioorganic Med. Chem.* – 2010. – Vol. 18. – No. 2. – P. 605–611.

114. Ichikawa, T., Wako, T., Nemoto, N. Synthesis of polysiloxane-based quaternized imidazolium salts with a hydroxy group at the end of alkyl groups // *React. Funct. Polym.* – 2016. – Vol. 99. – P. 1–8.
115. Zeng, M., Herzon, S.B. Synthesis of 1,3-Amino Alcohols, 1,3-Diols, Amines, and Carboxylic Acids from Terminal Alkynes // *J. Org. Chem.* – 2015. – Vol. 80. – No. 17. – P. 8604-8618.
116. Chaturvedi, D., Chaturvedi, A.K., Mishra, N., Mishra, V. *Organic & Biomolecular Chemistry* An efficient and novel approach for the synthesis of substituted N-aryl lactams. – 2012. – Vol. 9. – P. 8–56.
117. Přech, J., Carretero, M.A., Čejka, J. Baeyer-Villiger Oxidation of Cyclic Ketones by Using Tin-Silica Pillared Catalysts // *ChemCatChem.* – 2017. – Vol. 9. – No. 15. – P. 3063–3072.
118. Paritala, H., Suzuki, Y., Carroll, K.S. Design, synthesis and evaluation of Fe-s targeted adenosine 5'-phosphosulfate reductase inhibitors. – 2015. – Vol. 34. – No. 3. – P. 199–220.
119. Leo A. Paquette. *Organic Reactions*// Wiley– 1993. – V. 43. – C. 832 .
120. ГОСТ Р 50632-93 Водорода пероксид высококонцентрированный. Технические условия (с Изменениями N 1, 2), ГОСТ Р от 30 декабря 1993 года №50632-93 [Электронный ресурс].
121. Schmitz, G. Iodine oxidation by hydrogen peroxide in acidic solutions, Bray-Liebhafsky reaction and other related reactions // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2010. – Vol. 12. – No. 25. – P. 6605–6615.
122. Larkina, M.S., Ozerskaya, A. V., Podrezova, E. V., Belousov, M. V., Tolmachev, V., Zhdankin, V. V., Yusubov, M.S. Efficient Synthesis of  $\omega$ -[18F]Fluoroaliphatic Carboxylic Esters and Acids for Positron Emission Tomography // *European J. Org. Chem.* – 2020. – No. 40. – P. 6375–6381.
123. Pillarsetty, N.V.K., Punzalan, B., Larson, S.M. 2-18F-fluoropropionic acid as a PET imaging agent for prostate cancer // *J. Nucl. Med.* – 2009. – Vol. 50. – No. 10. – P. 1709–1714.
124. Lopaschuk, G.D. The rising tide of cardiotoxicity associated with

cancer chemotherapy // *Heart Metab.* – 2011. – Vol. 51. – P. 3–4.

125. Wei, W., Rosenkrans, Z.T., Liu, J., Huang, G., Luo, Q.Y., Cai, W. ImmunoPET: Concept, Design, and Applications // *Chem. Rev.* – 2020. – Vol. 120. – No. 8. – P. 3787–3851.

126. Kopka, K. Pharmaceuticals-special issue on radiopharmaceutical chemistry between imaging and endoradiotherapy. – 2014. – Vol. 7. – No. 7. – P. 839–849.

127. Valeur, E., Bradley, M. Amide bond formation: Beyond the myth of coupling reagents // *Chem. Soc. Rev.* – 2009. – Vol. 38. – No. 2. – P. 606–631.

128. Chuang, C.-C., Bhurke, S., Chen, S.-Y., Brulais, S., Gabriel, S. Clinical characteristics, treatment patterns, and economic burden in patients treated for neuroendocrine tumors in the United States: a retrospective cohort study // *J. Med. Econ.* – 2015. – Vol. 18. – No. 2. – P. 126–136.

129. Tóth, M. A neuroendokrin tumorok gyógyszeres kezelése // *Orv. Hetil.* – 2013. – Vol. 154. – No. 39. – P. 1556–1564.

130. Tshibangu, T., Cawthorne, C., Serdons, K., Pauwels, E., Gsell, W., Bormans, G., Deroose, C.M., Cleeren, F. Automated GMP compliant production of [18F]AlF-NOTA-octreotide // *EJNMMI Radiopharm. Chem.* – 2020. – Vol. 5. – No. 1. – P. 1–23.

131. Smit Duijzentkunst, D.A., Kwekkeboom, D.J., Bodei, L. Somatostatin receptor 2-targeting compounds // *J. Nucl. Med.* – 2017. – Vol. 58. – No. 2. – P. 54–60.

132. Decristoforo, C., Meléndez, L., Istituto, A., Veneto, O., Sosabowski, J.K., Mary, Q. <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 // *Artic. J. Nucl. Med.* – 2000. – Vol. 41. – No. 6. – P. 1114–1119.

133. Lee, D.E., Hong, Y.D., Choi, K.H., Lee, S.Y., Park, P.H., Choi, S.J. Preparation and evaluation of <sup>99m</sup>Tc-labeled cyclic arginine-glycine-aspartate (RGD) peptide for integrin targeting // *Appl. Radiat. Isot.* – 2010. – Vol. 68. – No. 10. – P. 1896–1902.

134. Morpurgo, M., Monfardini, C., Hofland, L.J., Sergi, M., Orsolini, P., Dumont, J.M., Veronese, F.M. Selective alkylation and acylation of  $\alpha$  and  $\epsilon$  amino groups with PEG in a somatostatin analogue: Tailored chemistry for optimized bioconjugates // *Bioconjug. Chem.* – 2002. – Vol. 13. – No. 6. – P. 1238–1243.
135. ОФС.1.11.0001.15 Радиофармацевтические лекарственные препараты | Фармакопедия РФ [Электронный ресурс].
136. Лишманов Ю. Б. и др. Национальное руководство по радионуклидной диагностике. – 2010. – С. 418.
137. M. S., Krivoshchekov, S. V., Podrezova, E. V., Bragina, O.D., Chernov, V.I., Nesterov, E.A., Bodenko, V. V., Belousov, M. V., Yusubov, M.S. Validation of an Analytical HPLC Method for a New Diagnostic Octreotide Derivative for Neuroendocrine Tumors // *Pharm. Chem. J.* – 2019. – Vol. 53. – No. 9. – P. 865–870.
138. Hillier, S.M., Maresca, K.P., Lu, G., Merkin, R.D., Marquis, J.C., Zimmerman, C.N., Eckelman, W.C., Joyal, J.L., Babich, J.W.  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled small-molecule inhibitors of prostate-specific membrane antigen for molecular imaging of prostate cancer // *J. Nucl. Med.* – 2013. – Vol. 54. – No. 8. – P. 1369–1376.
139. Sardana, G., Dowell, B., Diamandis, E.P. Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer // *Clin. Chem.* – 2008. – Vol. 54. – No. 12. – P. 1951–1960.
140. Saylor, P.J., Mahmood, U., Kunawudhi, A., Smith, M.R., Palmer, E.L., Michaelson, M.D. Multitargeted tyrosine kinase inhibition produces discordant changes between  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP bone scans and other disease biomarkers: Analysis of a phase II study of sunitinib for metastatic castration-resistant prostate cancer // *J. Nucl. Med.* – 2012. – Vol. 53. – No. 11. – P. 1670–1675.
141. Мачулкин А. Э. и др. Синтез конъюгатов лигандов простатического специфического мембранного антигена с доксорубицином для терапии рака предстательной железы и их биологическое тестирование // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2017. – Т. 16. – С. 51.
142. Stumpp, M.T., Binz, H.K., Amstutz, P. DARPins: A new generation of

protein therapeutics // *Drug Discov. Today*. – 2008. – Vol. 13. – No. 15–16. – P. 695–701.

143. Goldstein, R., Sosabowski, J., Livanos, M., Leyton, J., Vigor, K., Bhavsar, G., Nagy-Davidescu, G., Rashid, M., Miranda, E., Yeung, J., Tolner, B., Plückthun, A., Mather, S., Meyer, T., Chester, K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. – 2015. – Vol. 42. – No. 2. – P. 288–301.

144. Деев, С. М., Лебедево. Е. Н. Современные технологии создания неприродных антител для клинического применения // *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). – 2009. – №. 1. – С. 32–50.

145. Tamaskovic, R., Simon, M., Stefan, N., Schwill, M., Plückthun, A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPin): From research to therapy // *Methods Enzymol*. – 2012. – Vol. 503. – P. 101–134.

146. Simas, A.B.C., Pereira, V.L.P., Barreto, C.B., De Sales, D.L., De Carvalho, L.L. An expeditious and consistent procedure for tetrahydrofuran (THF) drying and deoxygenation by the still apparatus // *Quim. Nova*. – 2009. – Vol. 32. – No. 9. – P. 2473–2475.

147. Wheatley, N.C., Andrews, K.T., Tran, T.L., Lucke, A.J., Reid, R.C., Fairlie, D.P. Antimalarial histone deacetylase inhibitors containing cinnamate or NSAID components // *Bioorganic Med. Chem. Lett*. – 2010. – Vol. 20. – No. 23. – P. 7080–7084.

148. Olah, G.A., Karpeles, R., Narang, S.C. Synthetic methods and reactions; 1071. Preparation of  $\omega$ -haloalkylcarboxylic acids and esters or related compounds from lactones and boron trihalides // *Synth*. – 1982. – Vol. 1982. – No. 11. – P. 963–965.

149. Beaulieu, N., Deslongchamps, P. S N 2 iodide displacement on unsymmetrical cyclic dioxenium salts. A stereoelectronically controlled reaction // *Can. J. Chem*. – 1980. – Vol. 58. – No. 2. – P. 164–167.

150. Khan, I.U., Javed, M., Kalsoom Dar, U. Synthesis, characterization and bioevaluation of technetium-99m labeled N-(2-Hydroxybenzyl)-2-amino-2-deoxy-

D-glucose as a tumor imaging agent Development of infection imaging agents View project Development of copper-64 radiopharmaceuticals for theranostic applications View project Qaisar Nadeem // Pak. J. Pharm. Sci. – 2013. – Vol. 26. – No. 2. – P. 353–357.

151. Abrams, S.R. Isomerization of alkyl branched alkynoic acids // Can. J. Chem. – 1986. – Vol. 64. – No. 3. – P. 457–463.

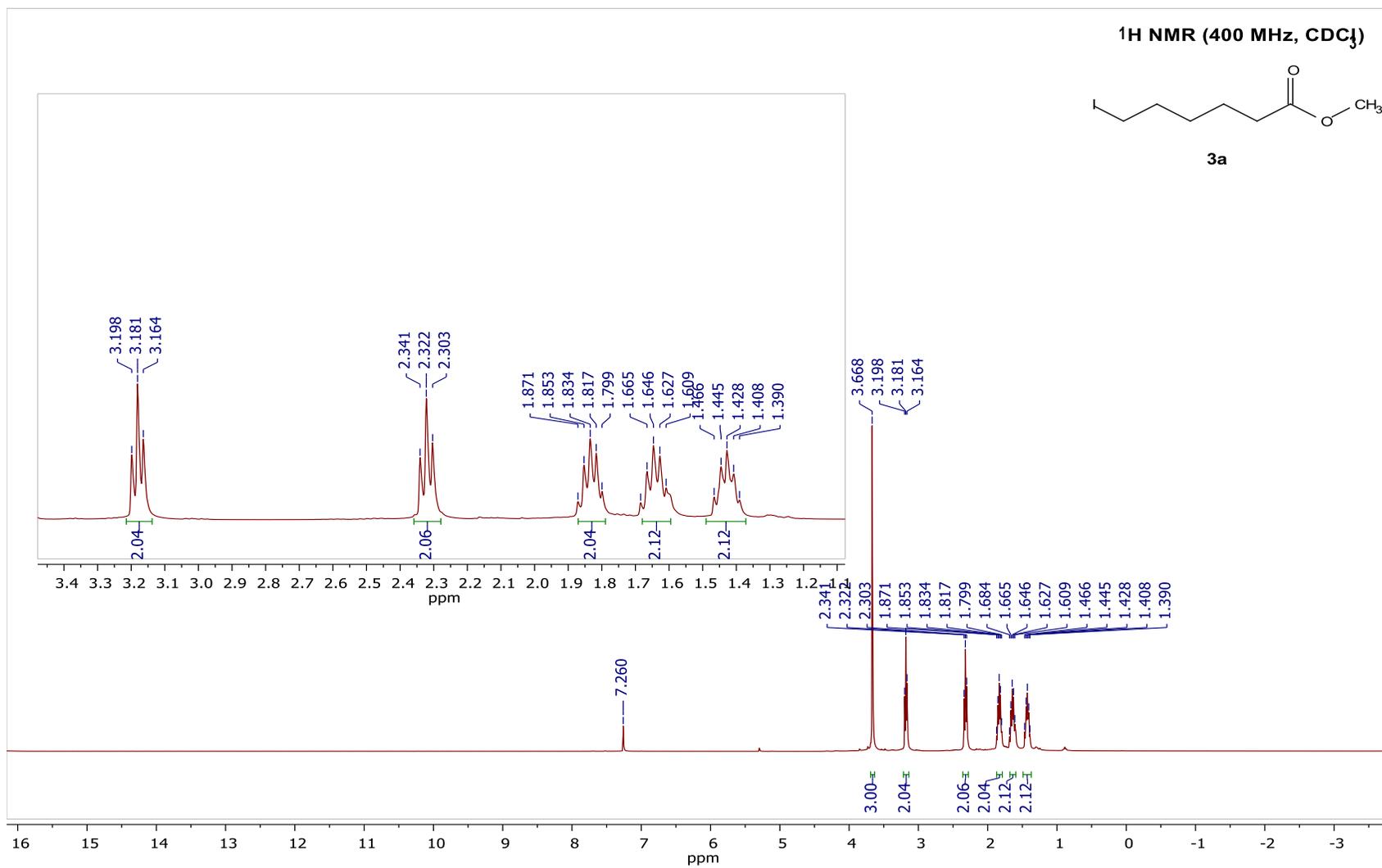
152. Solladié, G., Rubio, A., Carreño, M.C., García Ruano, J.L. Asymmetric synthesis of orsellinic acid type macrolides: The example of lasiodiplodin. – 1990. – Vol. 1. – No. 3. – P. 187–198.

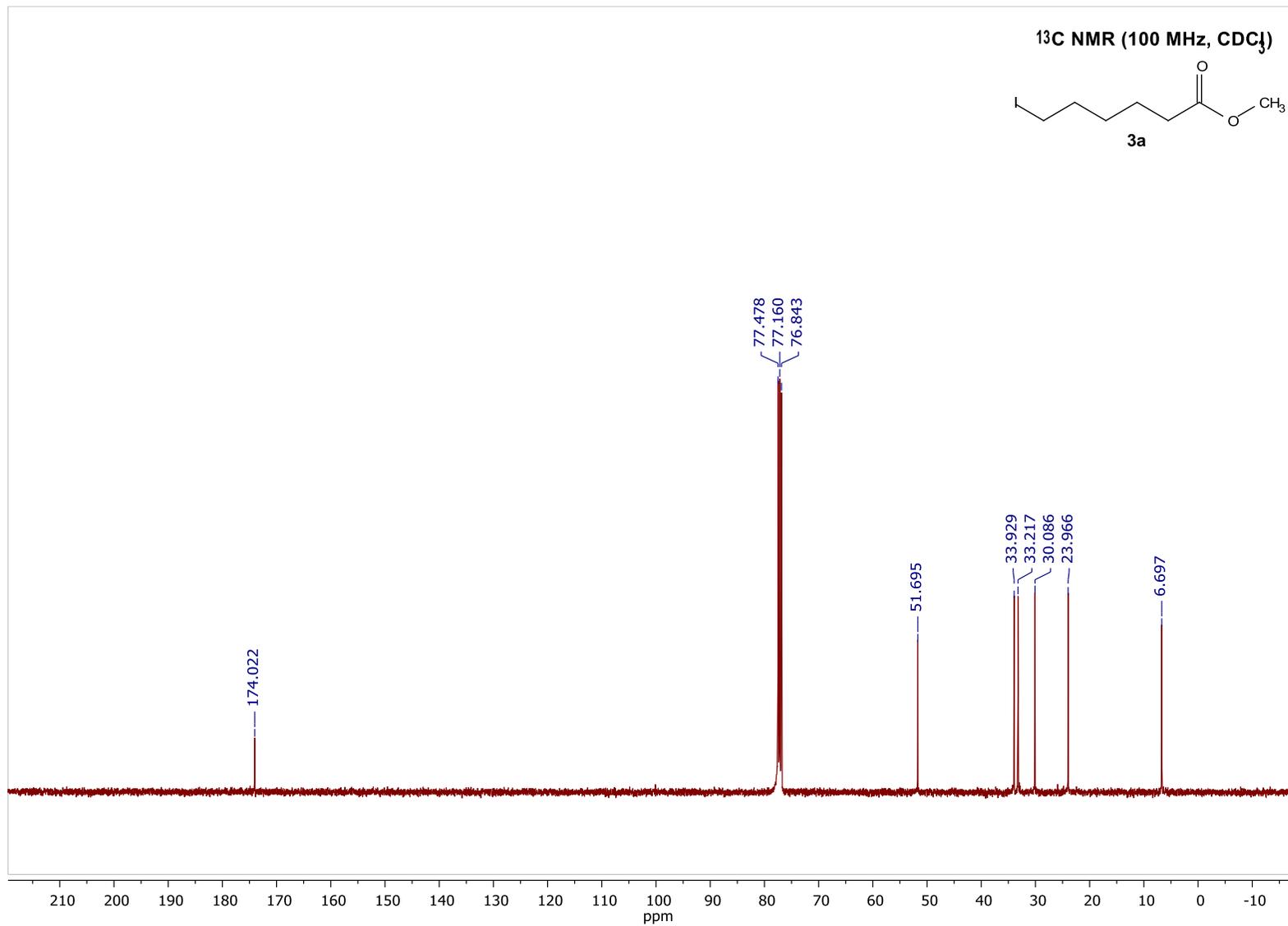
153. Liu, Z., Granata, A., Shen, X., Perlin, A.S. Reactions of hydriodic acid with aldonolactones and n -alkanolactones. Interconversions between lactones and iodocarboxylic acids // Can. J. Chem. – 1992. – Vol. 70. – No. 7. – P. 2081–2088.

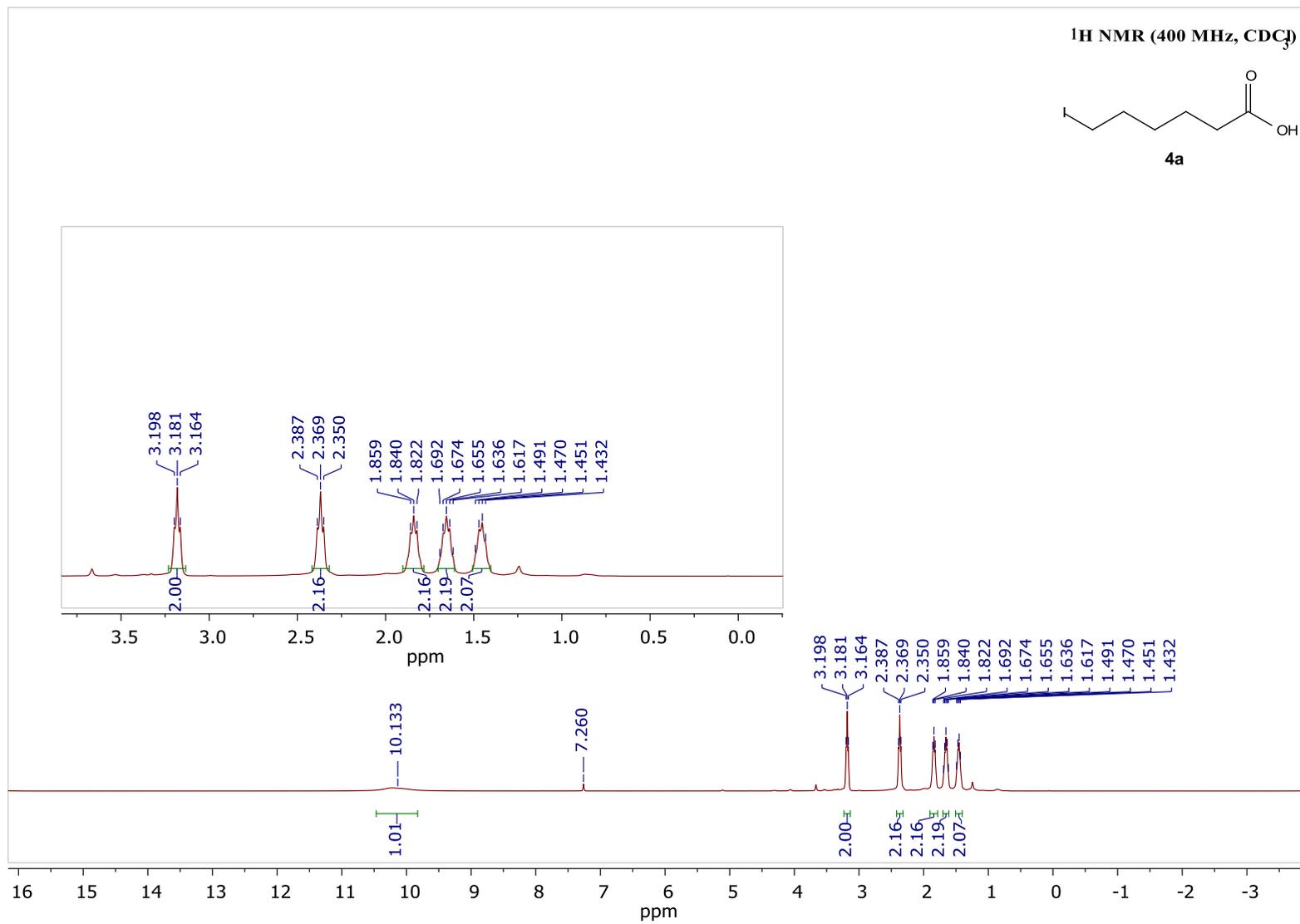
154. Kling, M.R., Easton, C.J., Poulos, A. Synthesis of very long chain fatty acid methyl esters // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. – 1993. – No. 10. – P. 1183–1189.

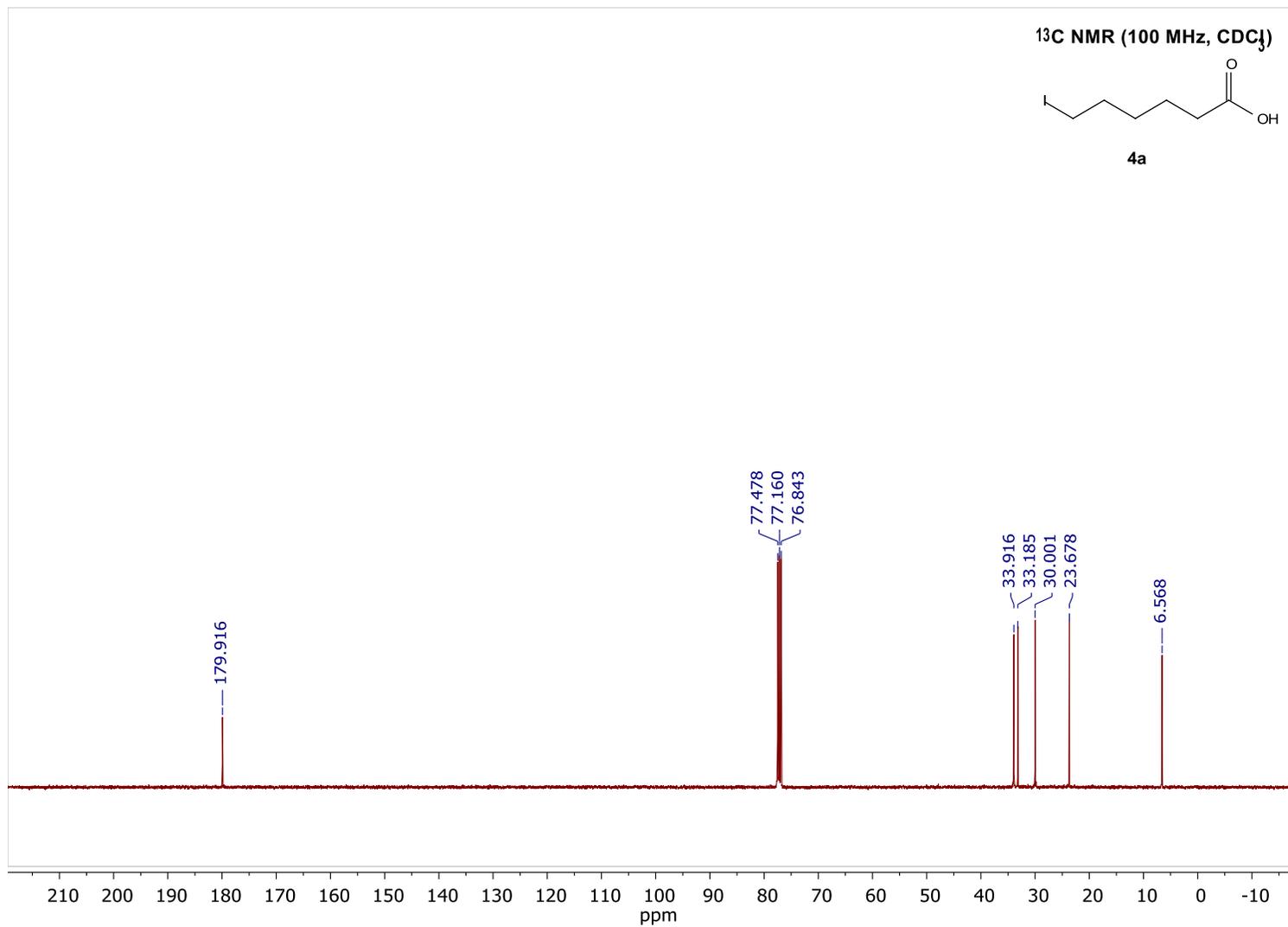
155. Химия и технология основного органического и нефтехимического синтеза (Лебедев Н.Н., 1988) - Нефтехимия - Каталог файлов - Литература по нефтянке [Электронный ресурс].

156. Лесина, Юлия Александровна. Основы проектирования предприятий биотехнологической промышленности : учебное пособие [Электронный ресурс] / Ю. А. Лесина; Томский политехнический университет (ТПУ). — 1 компьютерный файл (pdf; 1241 КВ). — Томск: Изд-во ТПУ, 2009.

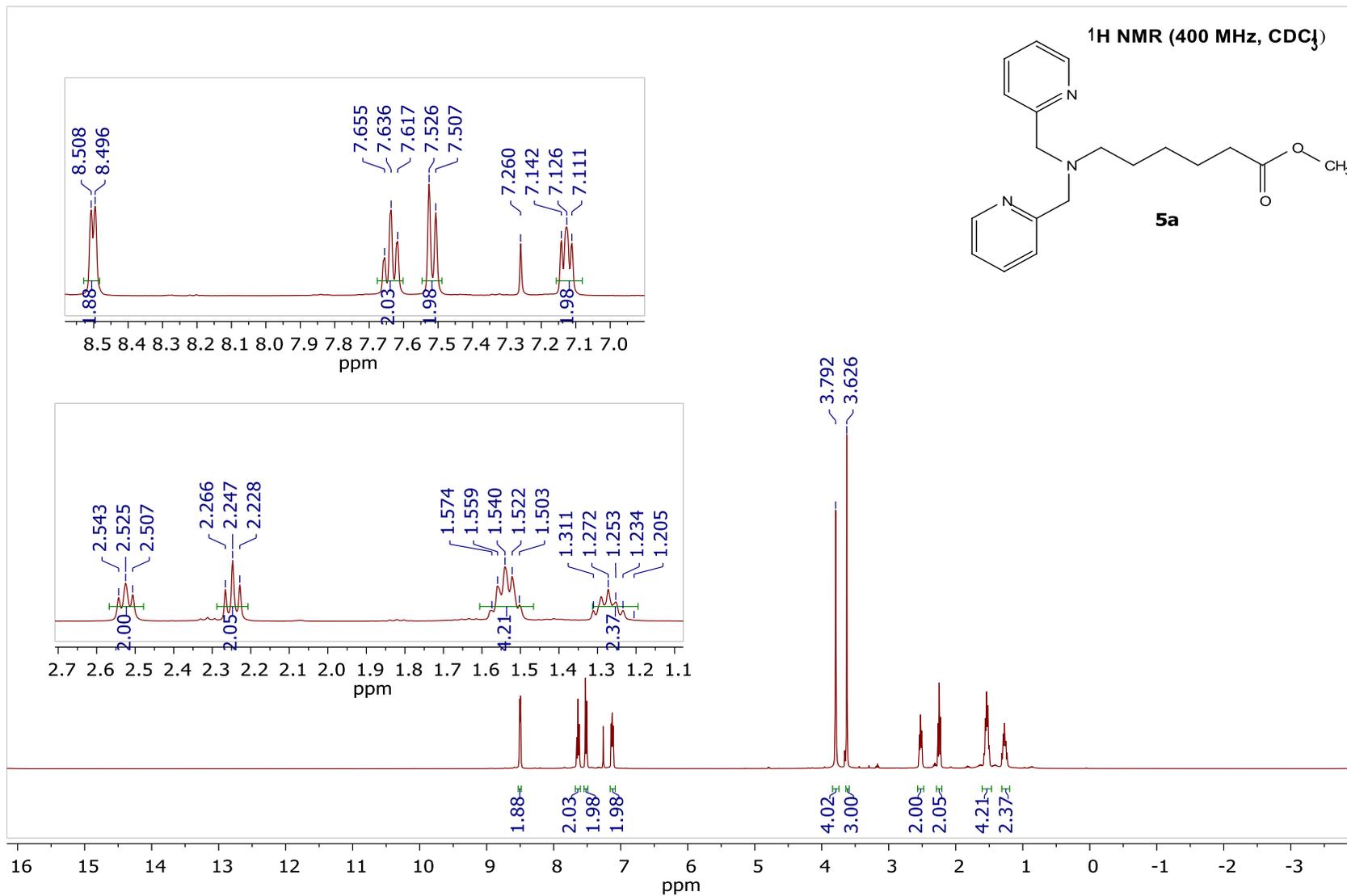
ПРИЛОЖЕНИЕ А1  $^1\text{H}$  спектр стандартного образца (метил 6-иодогексаноата)

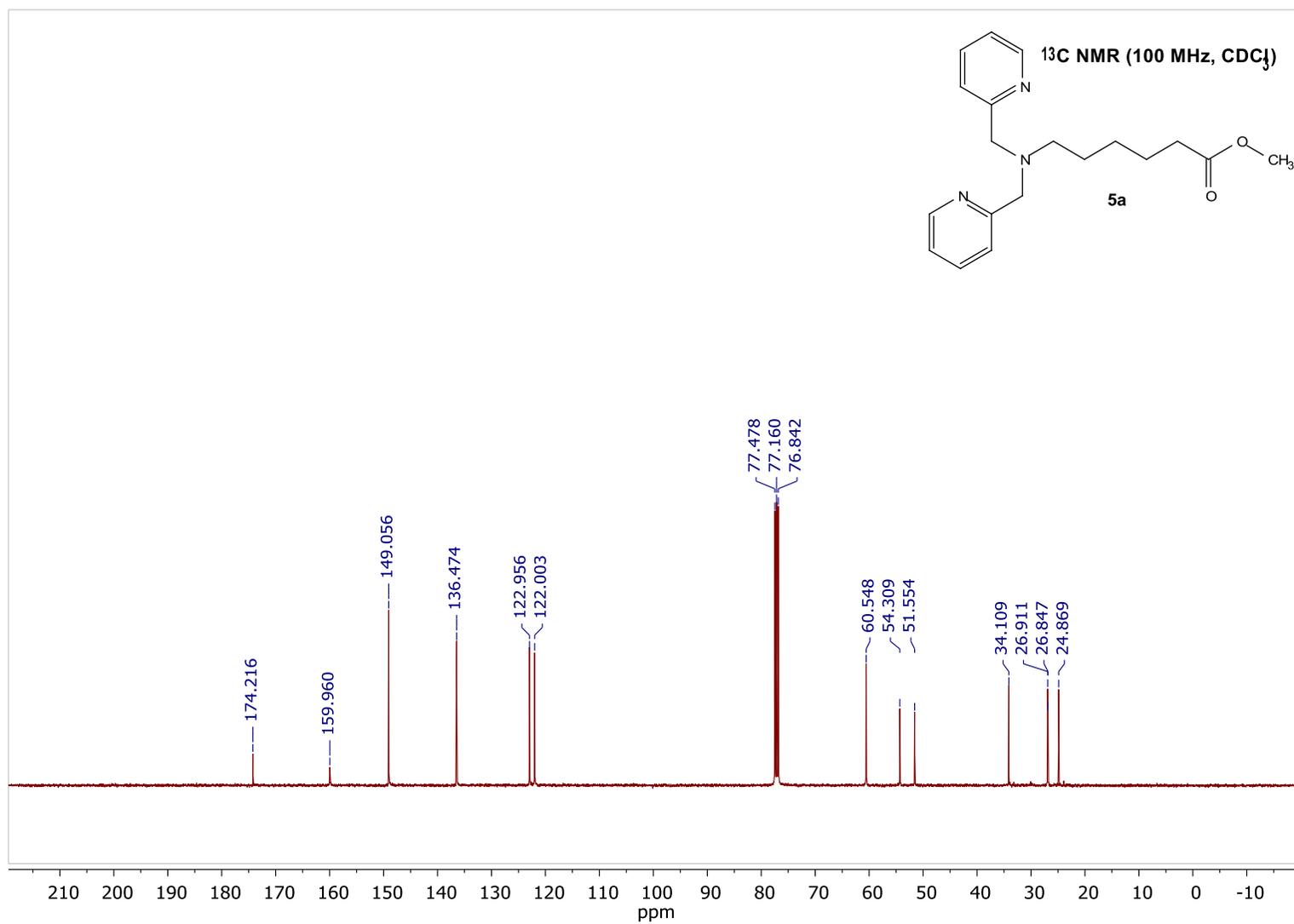
ПРИЛОЖЕНИЕ А2  $^{13}\text{C}$  спектр стандартного образца (метил 6-иодогексаноата)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б1  $^1\text{H}$  спектр стандартного образца (6-иодгексановой кислоты)

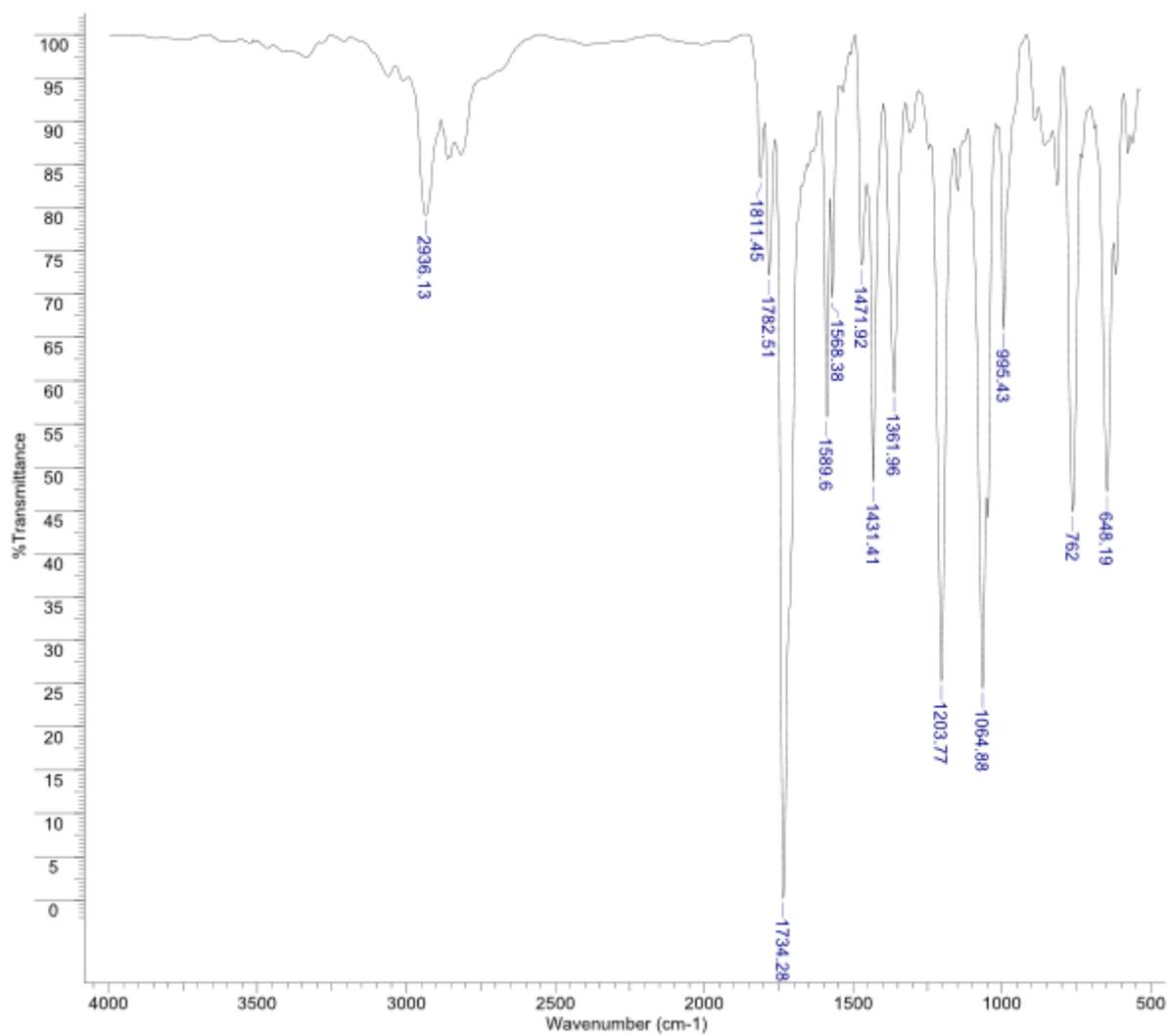
ПРИЛОЖЕНИЕ Б2  $^{13}\text{C}$  спектр стандартного образца (6-иодгексановой кислоты)

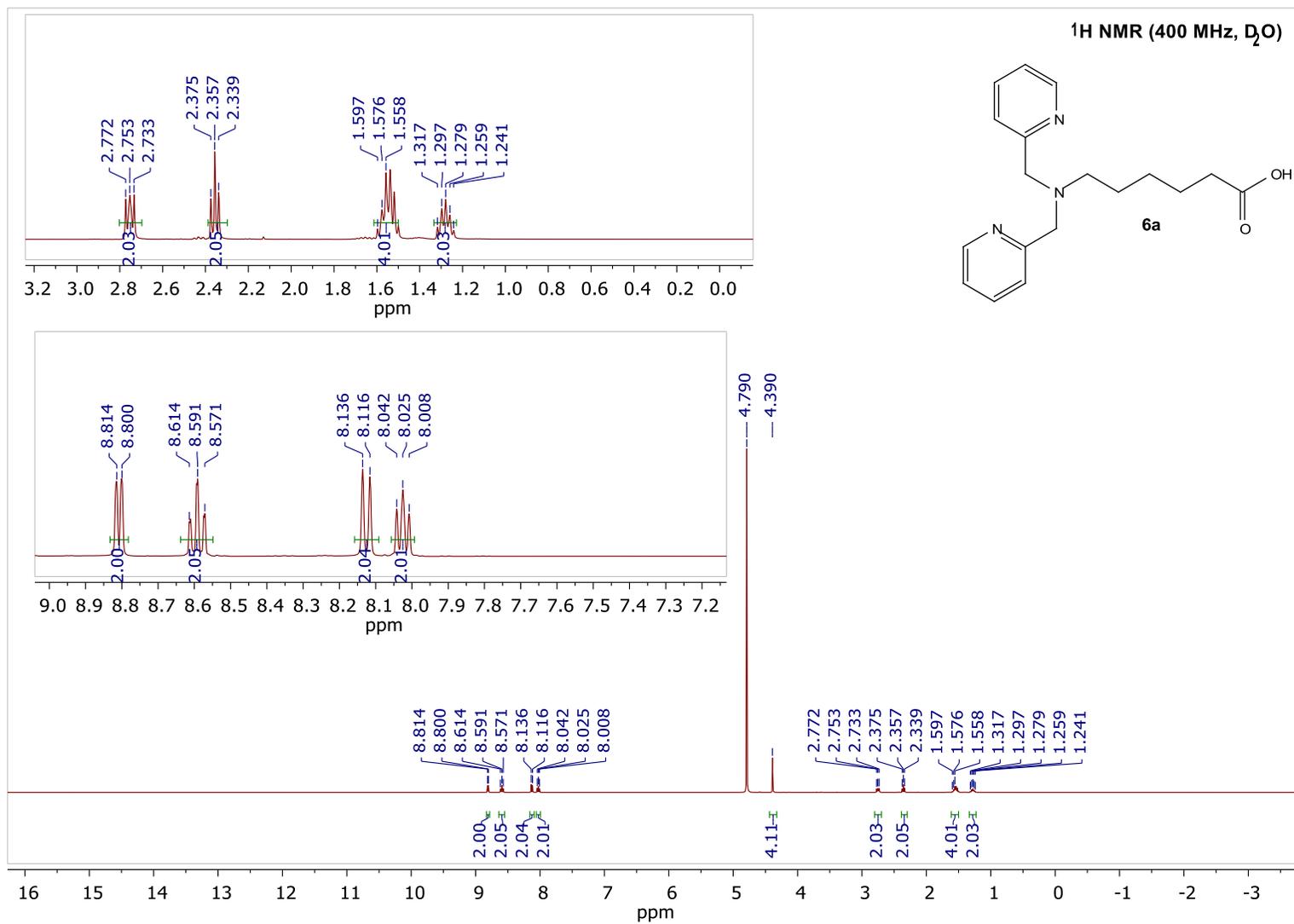
ПРИЛОЖЕНИЕ В1  $^1\text{H}$  спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

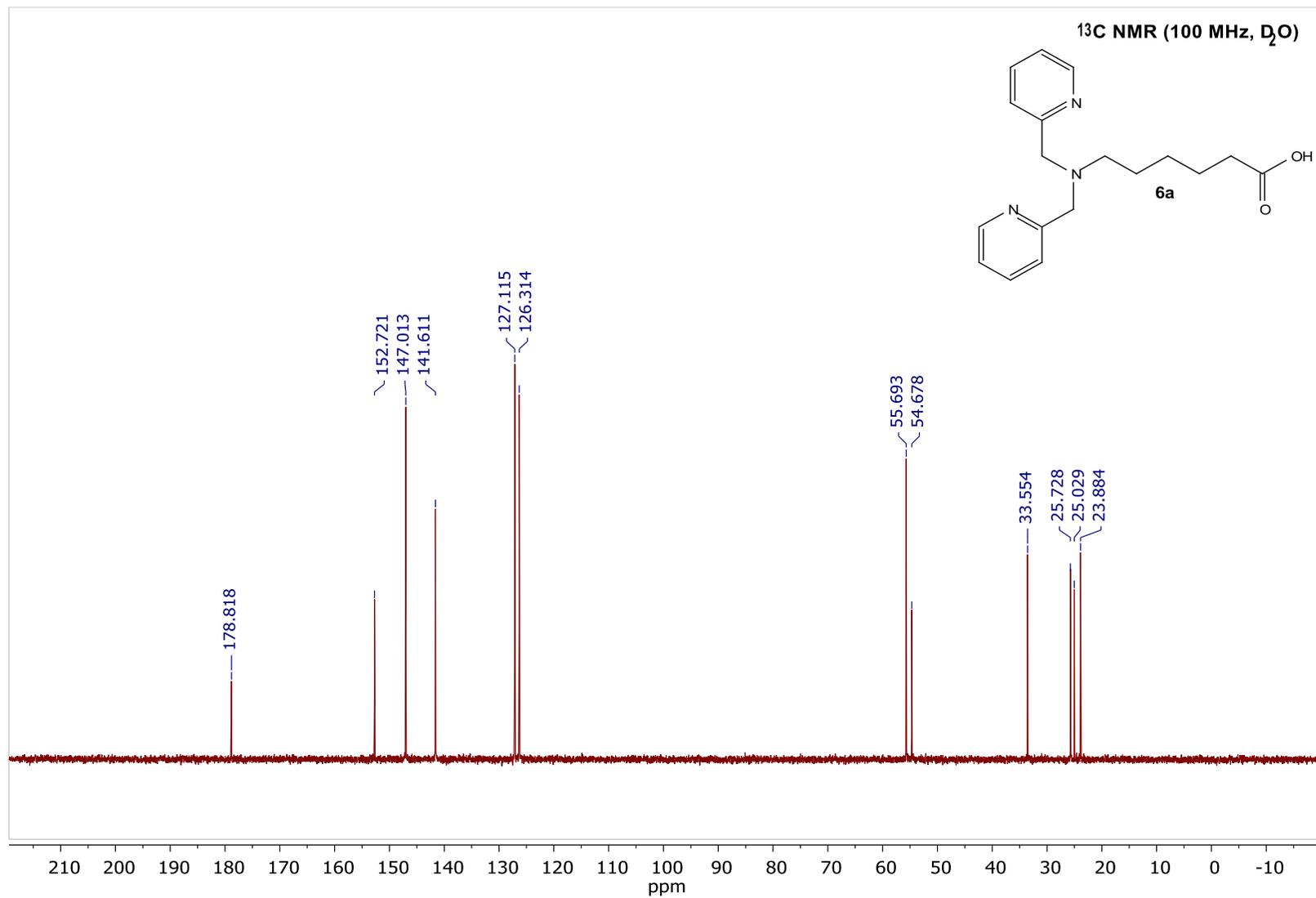


ПРИЛОЖЕНИЕ В2  $^{13}\text{C}$  спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

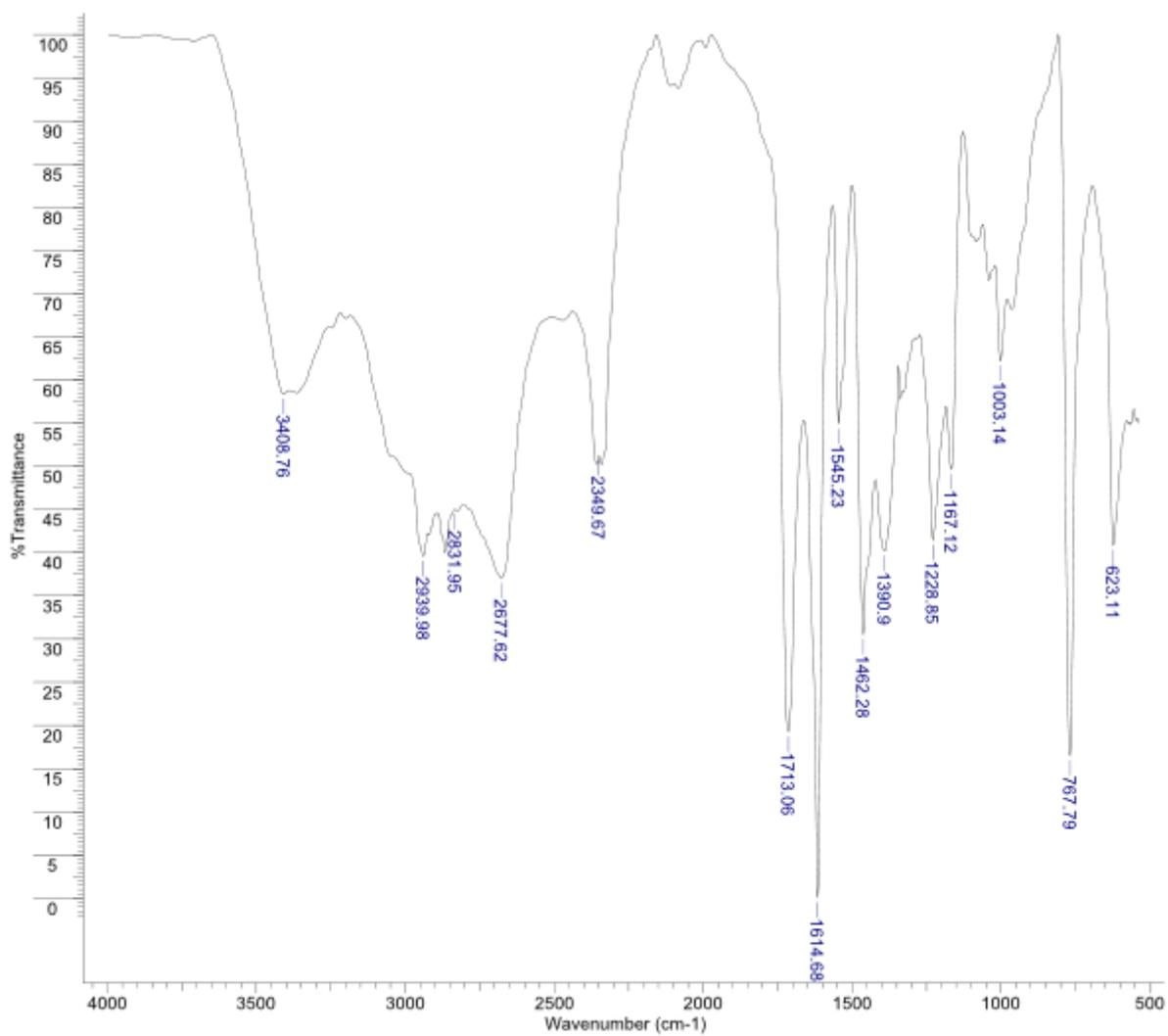
ПРИЛОЖЕНИЕ В3 ИК-спектр метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата



ПРИЛОЖЕНИЕ Г1  $^1\text{H}$  спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

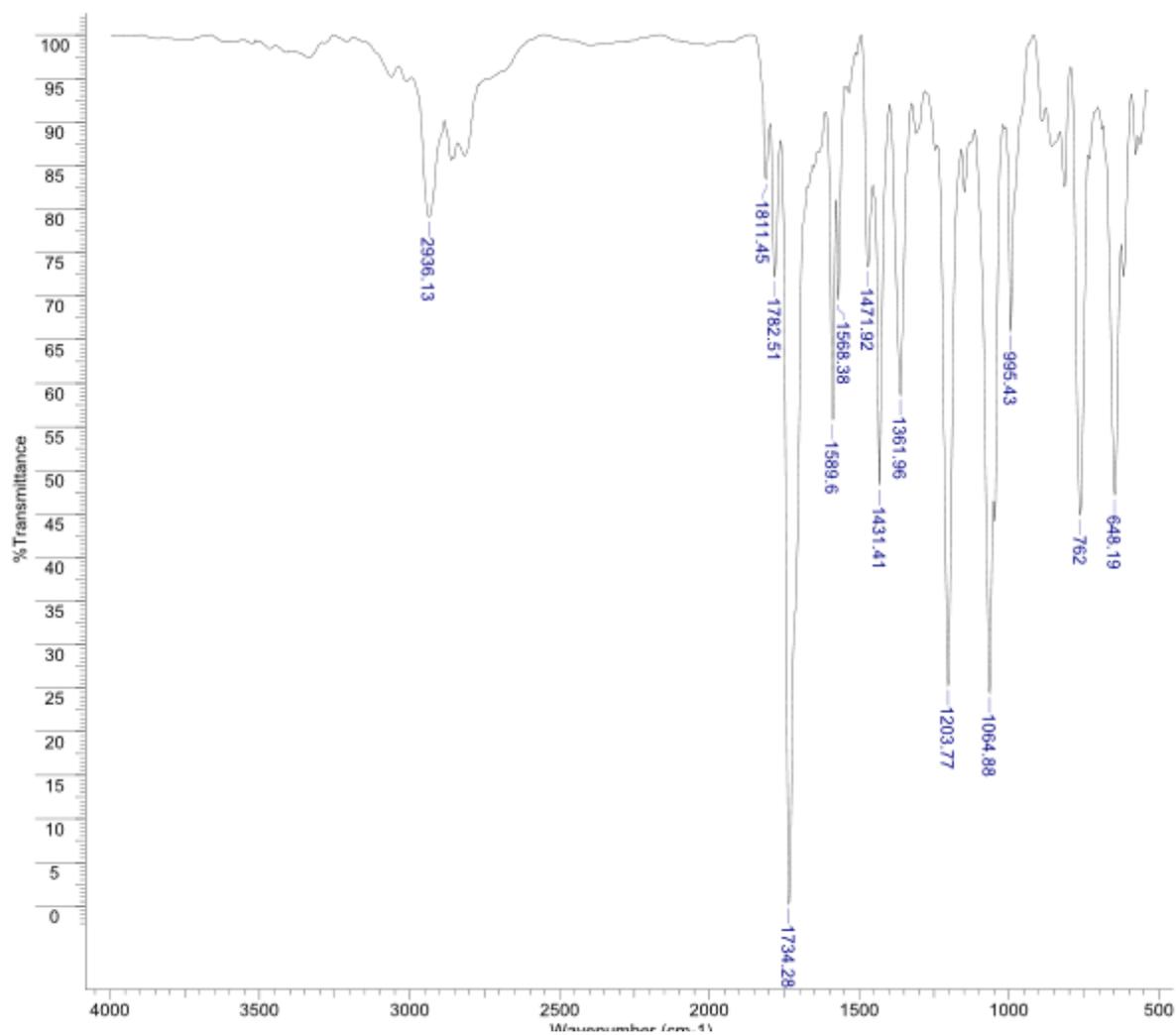
ПРИЛОЖЕНИЕ Г2  $^{13}\text{C}$  спектр стандартного образца (метил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата

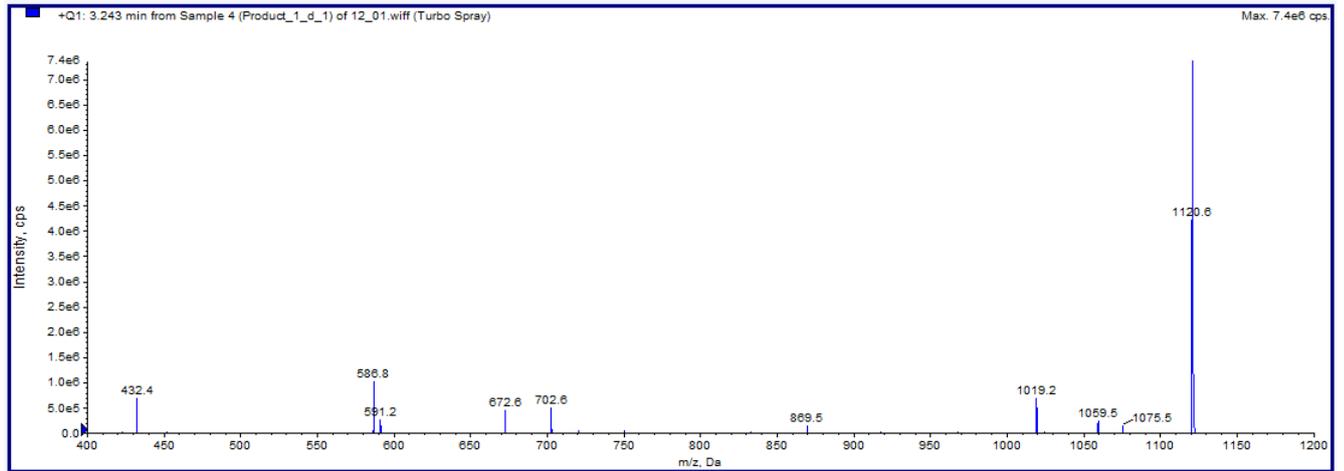
**ПРИЛОЖЕНИЕ ГЗ ИК-спектр 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексановой кислоты**



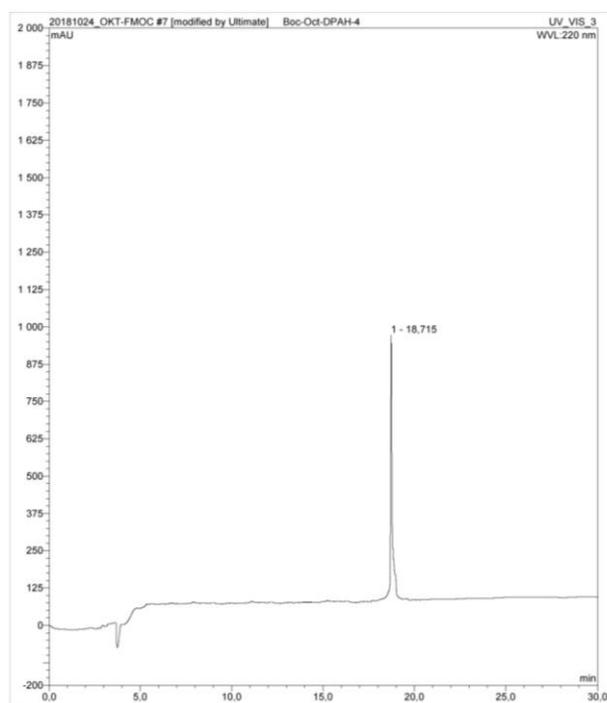


ПРИЛОЖЕНИЕ Д2 ИК-спектр сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-  
2илметил)аминогексаноата

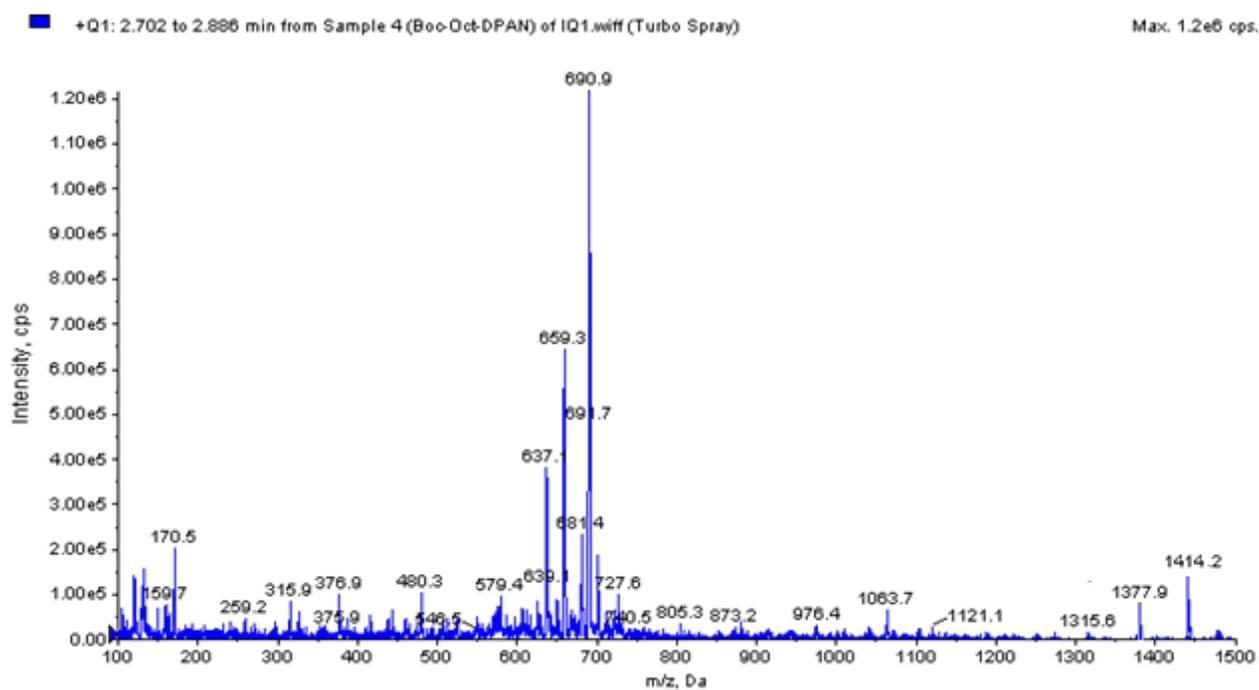


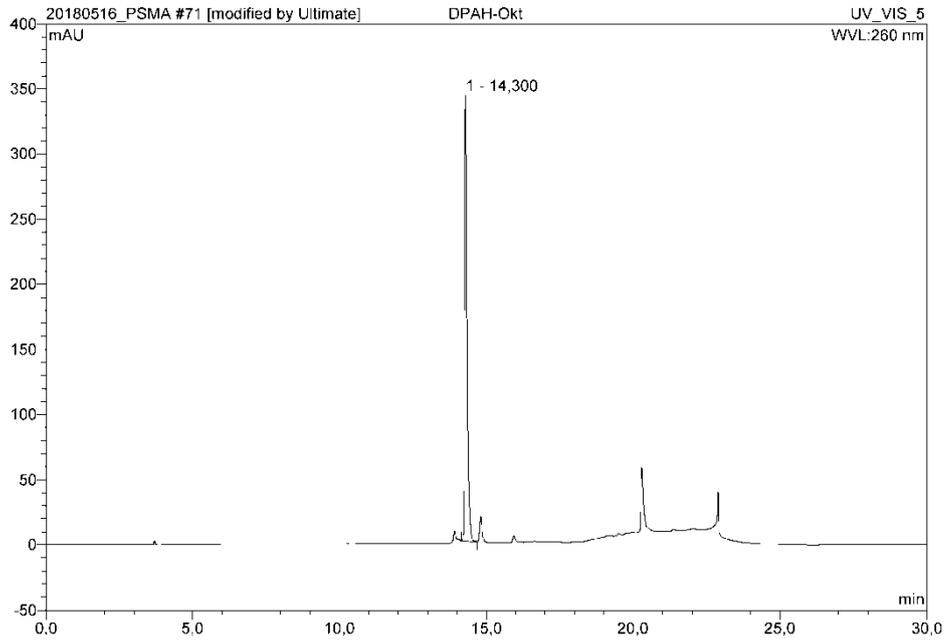
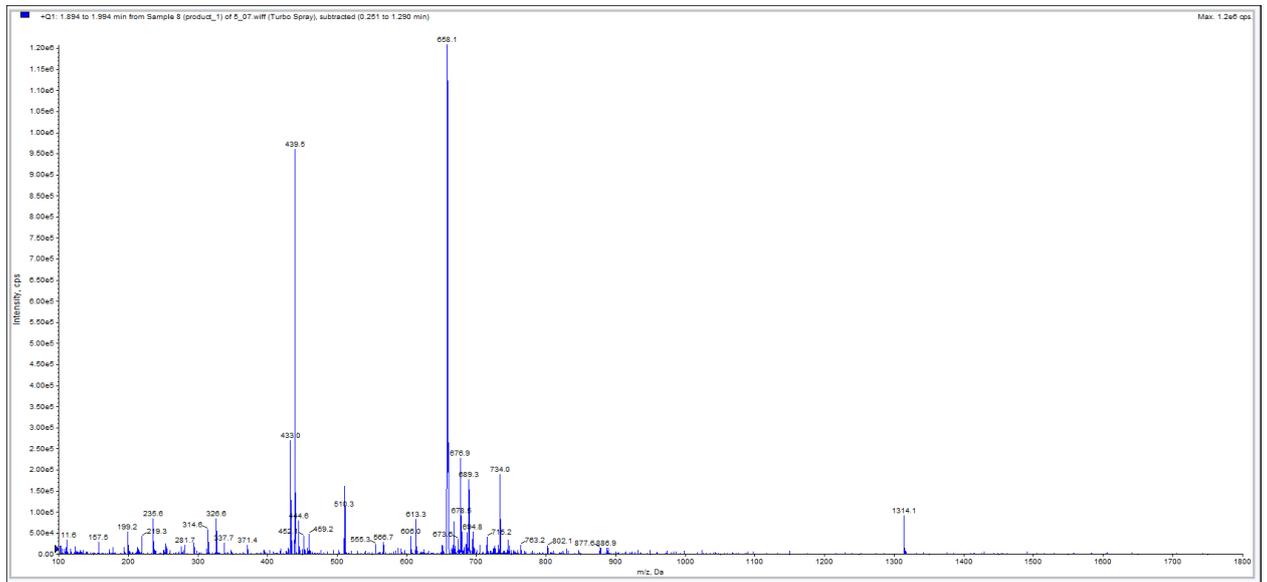
**ПРИЛОЖЕНИЕ Е Масс-спектр Вос-(L-Lys)-Октреотида**

## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж1 Хроматограмма ДРАН-(D-Phe)- Вос-(L-Lys)- Октреотида

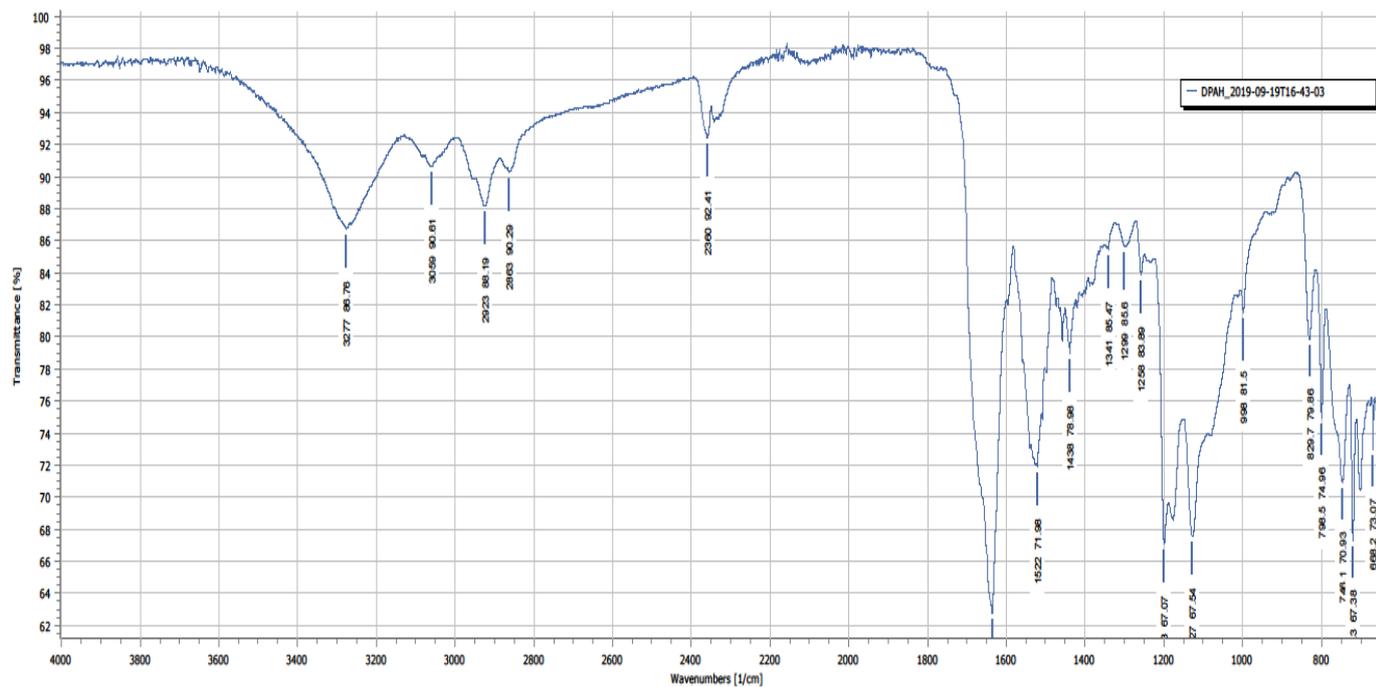


## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж2 Масс-спектр (M+H<sup>+</sup>) ДРАН-(D-Phe)- Вос-(L-Lys)- Октреотида

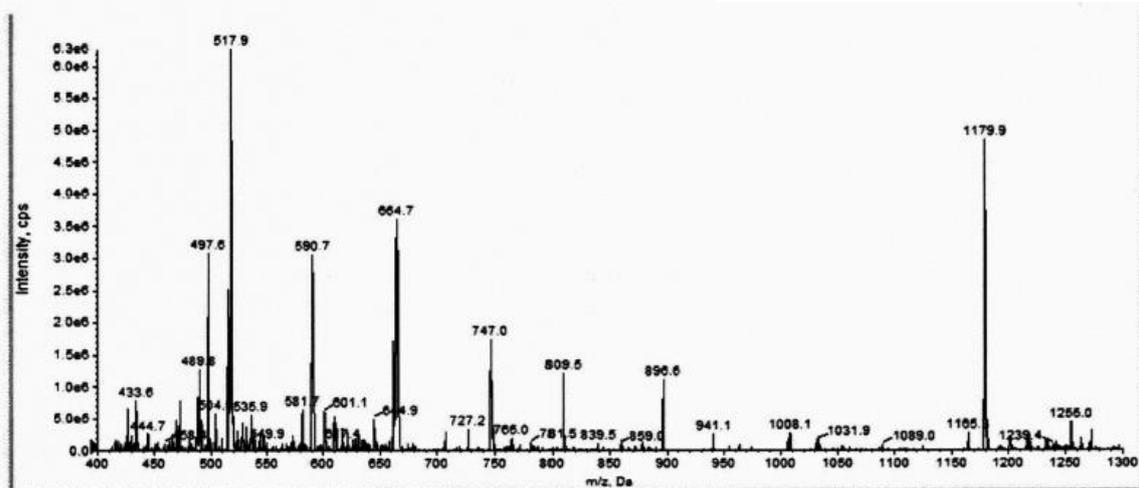
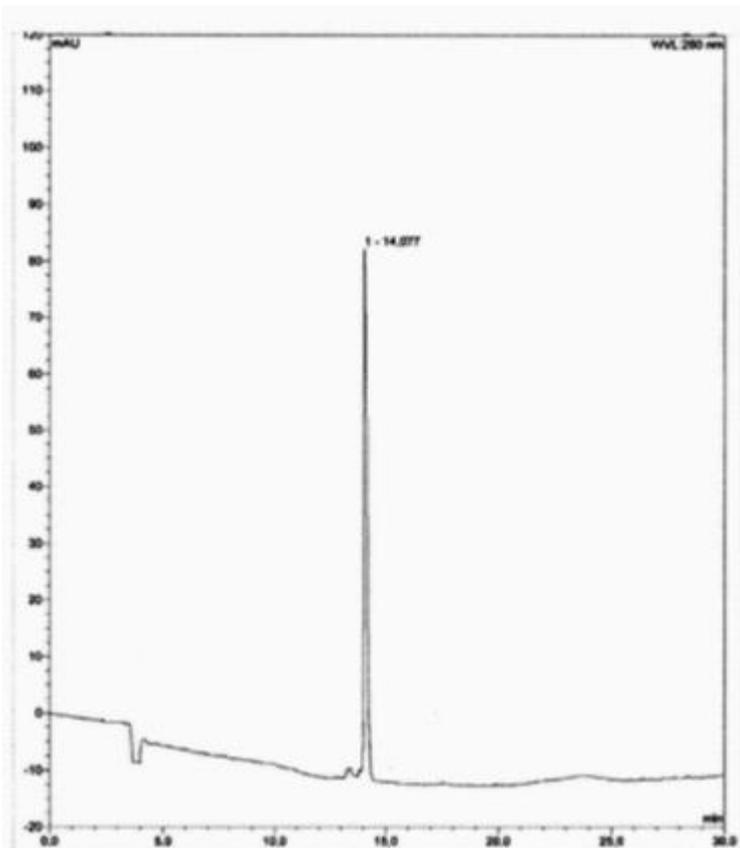


**ПРИЛОЖЕНИЕ И1** Хроматограмма ДРАН-(D-Phe)-Октреотида**ПРИЛОЖЕНИЕ И2** Масс-спектр ДРАН-(D-Phe)-Октреотида

## ПРИЛОЖЕНИЕ ИЗ ИК-спектр ДРАН-Октреотида



## ПРИЛОЖЕНИЕ К Хроматограмма и масс-спектр ДРАН-ПСМА



## ПРИЛОЖЕНИЕ Л Патент №2 616 974

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU<sup>(11)</sup> 2 616 974<sup>(13)</sup> C1(51) МПК  
C07D 21338 (2006.01)  
C07D 21355 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2016101473, 19.01.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
19.01.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 19.01.2016

(45) Опубликовано: 19.04.2017 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, ГБОУ  
ВПО СибГМУ Минздрава России, отдел ИС и  
В, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Юсубов Мехман Сулейманович (RU),  
Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
Кулибаба Екатерина Владимировна (RU),  
Скуридин Виктор Сергеевич (RU),  
Стасюк Елена Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования "Сибирский  
государственный медицинский университет"  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ  
Минздрава России) (RU),  
федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Национальный  
исследовательский Томский  
политехнический университет" (ФГАОУ ВО  
НИ ТПУ) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: H. ZENG ET AL., Synthesis,  
characterization and biodistribution of new  
fatty acids conjugates bearing N,N,N-donors  
incorporated [ 99m Tc/Re(CO) 3 ] + ,  
DALTON TRANS., 2013, 42, pp.2894-2901.  
S.I. KIRIN ET AL., Amino Acid and Peptide  
Bioconjugates of Copper(II) and Zinc(II)  
Complexes with a Modified N,N-Bis(2-  
picolylyl)amine Ligand, INORG. CHEM., 2005,  
44(15), pp.5405-5415. F.J. FEMIA ET AL.,  
Synthesis and Evaluation of a Series of 99m  
Tc(CO) 3 + Lisinopril Complexes for In Vivo  
Imaging of Angiotensin-Converting Enzyme  
Expression, J. NUCL. MED., 2008, 49(6),  
pp.970-977. RU 2494087 C1, 27.09.2013.

(54) Способ получения ω-(бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот - прекурсоров с хелатными центрами для связывания металлов

## (57) Формула изобретения

Способ получения ω-(бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот, включающий получение эфиров ω-производных алифатических кислот с последующим

## ПРИЛОЖЕНИЕ М Патент №2 684 289

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) **2 684 289** (13) C1

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
(51) МПК  
[A61K 51/04 \(2006.01\)](#)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 16.04.2019)

(21)(22) Заявка: [2018110029](#), 21.03.2018(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
21.03.2018Дата регистрации:  
05.04.2019Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 21.03.2018(45) Опубликовано: [05.04.2019](#) Бюл. № 10(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2537175 C2, 27.12.2014. RU  
2294897 C2, 10.03.2007. RU 2512595 C1,  
10.04.2014.Адрес для переписки:  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5,  
Томский НИМЦ, отдел интеллектуальной  
собственности, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Чернов Владимир Иванович (RU),  
Зельчан Роман Владимирович (RU),  
Медведева Анна Александровна (RU),  
Брагина Ольга Дмитриевна (RU),  
Синилькин Иван Геннадьевич (RU),  
Скуридин Виктор Сергеевич (RU),  
Стасюк Елена Сергеевна (RU),  
Тагирова Екатерина Алексеевна (RU),  
Юсубов Мехман Сулеймановлы (RU),  
Белоусов Михаил Валерьевич (RU),  
Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
**Подрезова** Екатерина Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Томский  
национальный исследовательский  
медицинский центр Российской академии  
наук" (Томский НИМЦ) (RU)

(54) Способ получения комплекса технеция-99м с рекомбинантными адресными молекулами белковой природы для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER-2/neu

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, онкологии и химической технологии. Способ получения комплекса технеция-99м с рекомбинантными адресными молекулами белковой природы для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER-2/neu заключается в том, что на первой стадии получают аквакарбонильный технеций-99м  $[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ , используя лиофилизат натрия тетрабората декагидрата, натрия карбоната, динатрия боранокарбоната, который также может содержать калия натрия тартрата тетрагидрат или натрия цитрата моногидрат, далее к лиофилизату добавляют 1-3 мл раствора натрия пертехнетата,

## ПРИЛОЖЕНИЕ Н Патент №2 655 965

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) **2 655 965** (13) C2

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
(51) МПК  
[G01N 33/534 \(2006.01\)](#)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 30.05.2018)

(21)(22) Заявка: [2016140287](#), 12.10.2016(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
12.10.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.10.2016

(43) Дата публикации заявки: 12.04.2018 Бюл. №  
**11**(45) Опубликовано: [30.05.2018](#) Бюл. № **16**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2537175 C2, 27.12.2014. WO 2008/049866 A1, 02.05.2008. HOFSTROM C. et al. Use of a HENENE purification tag instead of a hexahistidine tag improves biodistribution of affibody molecules site-specifically labeled with (99m)Tc, (111) In, and (125)I. J Med Chem. 2011 Jun 9;54(11):3817-26. doi: 10.1021/jm200065e. Epub 2011 May 12. MIRONOVA KE. et al. Highly specific hybrid protein DARPIn-mCherry for fluorescent visualization of cells overexpressing tumor marker HER2/neu. Biochemistry (Mosc). 2014 Dec; 79(12):1391-6. doi: 10.1134/S0006297914120141.

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, Московский тракт, 2,  
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России,  
отдел ИС и В, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Юсубов Мехман Сулейман Оглы (RU),  
Белоусов Михаил Валерьевич (RU),  
Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
Гурьев Артем Михайлович (RU),  
**Подрезова** Екатерина Владимировна (RU),  
Скуридин Виктор Сергеевич (RU),  
Стасюк Елена Сергеевна (RU),  
Чернов Владимир Иванович (RU),  
Брагина Ольга Дмитриевна (RU),  
Деев Сергей Михайлович (RU),  
Зельчан Роман Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (RU),  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Томский политехнический университет" (ФГАОУ ВО НИ ТПУ) (RU),  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук" (Томский НИМЦ) (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА ТЕХНЕЦИЯ-99М С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ СПЕЦИФИЧНЫМИ МИНИ-АНТИТЕЛАМИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2/NEU

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и касается способа получения комплекса технеция-99м с модифицированными специфичными мини-антителами DARPIn для диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER2/neu,

## ПРИЛОЖЕНИЕ П Патент №2 655 392

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) **2 655 392** (13) C1

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

[C07K 7/06 \(2006.01\)](#)[C07F 13/00 \(2006.01\)](#)[A61K 51/08 \(2006.01\)](#)[A61K 103/10 \(2006.01\)](#)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 28.05.2018)

(21)(22) Заявка: [2017106820](#), 02.03.2017(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
02.03.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.03.2017

(45) Опубликовано: [28.05.2018](#) Бюл. № [16](#)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: MELERO LAURA T.U.H. et al. Preliminary studies of EDDA-Tricine-Hynic-Tyr 3 -octreotide labeled with technetium-99m: radiopharmaceutical development for the diagnostic of neuroendocrine tumours, Atoms for Peace - An International Journal, 2010, v. 3, no. 1, p. 56-64. MISHRA A.K. et al. 99mTc Labelled Peptides for Imaging of Peripheral Receptors, IAEA, VIENNA, 2001, p. 49-55. US 5650134 A1, 22.07.1997. RU 2360701 C2, 10.07.2009.

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 30, ФГАОУ  
ВО "Национальный исследовательский  
Томский политехнический университет",  
отдел правовой охраны результатов  
интеллектуальной деятельности

(72) Автор(ы):

Стасюк Елена Сергеевна (RU),  
Нестеров Евгений Александрович (RU),  
Скуридин Виктор Сергеевич (RU),  
Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
Брагина Ольга Дмитриевна (RU),  
Юсубов Мехман Сулейман оглы (RU),  
Варламова Наталья Валерьевна (RU),  
Садкин Владимир Леонидович (RU),  
Ильина Екатерина Алексеевна (RU),  
Рогов Александр Сергеевич (RU),  
**Подrezова** Екатерина Владимировна (RU),  
Чернов Владимир Иванович (RU),  
Зельчан Роман Владимирович (RU),  
Белюсов Михаил Валерьевич (RU),  
Кривошеков Сергей Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Национальный  
исследовательский Томский  
политехнический университет" (RU)

(54) Способ получения комплекса технеция-99m с октреотидом для диагностики  
нейроэндокринных опухолей

(57) Реферат:

Изобретение относится к области фармацевтической химии, в частности к способу получения комплекса технеция-99m с октреотидом, который применяется для диагностики нейроэндокринных опухолей. Способ включает использование октреотида, модифицированного хелатирующим агентом, добавление олова(II) дихлорида дигидрата, связывание полученного реагента с технецием-99m. Октреотид модифицируют хелатирующим агентом сукцинимид-1-ил-6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноатом в среде диметилформамида в присутствии триэтиламина при комнатной температуре в течение не менее 24 ч при перемешивании. Полученный раствор очищают полупрепаративно, используя жидкостную хроматографию, методом

## ПРИЛОЖЕНИЕ Р Патент №2 692 126

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 692 126** (13) **C1**(51) МПК  
C07D 401/12 (2006.01)  
C07C 275/24 (2006.01)  
A61K 51/04 (2006.01)  
A61K 103/10 (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C07D 401/12 (2019.02); A61K 51/0455 (2019.02); C07C 275/24 (2019.02)

(21)(22) Заявка: 2018105277, 13.02.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
13.02.2018Дата регистрации:  
21.06.2019Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 13.02.2018

(45) Опубликовано: 21.06.2019 Бюл. № 18

Адрес для переписки:  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5,  
Томский НИМЦ, отдел интеллектуальной  
собственности, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
Юсубов Мехман Сулейманоглы (RU),  
Белуосов Михаил Валерьевич (RU),  
Подrezова Екатерина Владимировна (RU),  
Кривошеков Сергей Владимирович (RU),  
Яновская Елена Анатольевна (RU),  
Гурто Роман Владимирович (RU),  
Мажуга Александр Георгиевич (RU),  
Мачулкин Алексей Эдуардович (RU),  
Чернов Владимир Иванович (RU),  
Зельчан Роман Владимирович (RU),  
Медведева Анна Александровна (RU),  
Брагина Ольга Дмитриевна (RU),  
Синилкин Иван Геннадьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Томский национальный  
исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук" (Томский  
НИМЦ) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO 2009002529 A2, 31.12.2008, WO  
2010065899 A2, 10.06.2010, RU 2616974 C1,  
19.04.2017, RU 2532912 C2, 20.11.2014.

(54) Способ получения производного мочевины с хелатным центром, тропного к простат-специфичному мембранному антигену для связывания технеция-99m/рения для диагностики/лечения рака предстательной железы

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения производного мочевины с хелатным центром, тропного к простат-специфичному мембранному антигену для связывания технеция-99m/рения 188/186 для диагностики рака предстательной железы. Способ включает получение конъюгата ингибитора простат-специфичного мембранного антигена (ПСМА) с хелатирующим агентом на основе сукцинимидного эфира ω-бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот. В качестве

ингибитора ПСМА используют (3S,7S,25S,28S)-33-амино-2,5,28-добензил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,29,24,27,30-гептаазатриоктан-1,3,7-трикарбоновую кислоту. В качестве хелатирующего агента используют сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат. Присоединение хелатирующего агента к ингибитору проводят при мольном соотношении 1:1,2-5,0 в 10-200 ммоль фосфатном, или боратном, или карбонатном буфере с pH 6,5-9,0,

Стр.: 1

RU 2 6 9 2 1 2 6 C 1

RU 2 6 9 2 1 2 6 C 1

## ПРИЛОЖЕНИЕ С Патент №2 708 076

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 708 076**<sup>(13)</sup> **C1**

(51) МПК  
C07K 7/06 (2006.01)  
C07F 13/00 (2006.01)  
A61K 51/08 (2006.01)  
A61K 103/10 (2006.01)  
A61K 38/08 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

### (12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(52) СПК  
A61K 51/083 (2019.08); C07F 13/005 (2019.08); C07K 7/06 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019128377, 10.09.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
10.09.2019

Дата регистрации:  
04.12.2019

Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 10.09.2019

(45) Опубликовано: 04.12.2019 Бюл. № 34

Адрес для переписки:  
634050, Российская Федерация, Томская обл.,  
г. Томск, пр-кт Ленина, 30, Отдел правовой  
охраны результатов интеллектуальной  
деятельности, ФГАОУ ВО "Национальный  
исследовательский Томский политехнический  
университет", Агафонникова Елена  
Викторовна

(72) Автор(ы):

Ларькина Мария Сергеевна (RU),  
Нестеров Евгений Александрович (RU),  
Юсубов Мехман Сулейман оглы (RU),  
Белоусов Михаил Валерьевич (RU),  
Стасюк Елена Сергеевна (RU),  
Варламова Наталья Валерьевна (RU),  
Скуридин Виктор Сергеевич (RU),  
Садкин Владимир Леонидович (RU),  
Рогов Александр Сергеевич (RU),  
Шелихова Елена Александровна (RU),  
Ларионова Людмила Александровна (RU),  
Подрезова Екатерина Владимировна (RU),  
Чернов Владимир Иванович (RU),  
Яновская Елена Анатольевна (RU),  
Кривошеков Сергей Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(я):  
федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования «Национальный  
исследовательский Томский  
политехнический университет» (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2655392 C1, 28.05.2018. RU  
2537175 C2, 27.12.2014. RU 2294897 C2,  
10.03.2007. NZ 337303 A, 22.12.2000.

(54) Способ получения комплекса технеция-99m с производным октреотида для диагностики  
нейроэндокринных опухолей

#### (57) Формула изобретения

Способ получения комплекса технеция-99m с производным октреотида для  
диагностики нейроэндокринных опухолей, включающий модификацию октреотида  
хелатирующим агентом сукцинимид-1-ил-6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноатом  
в среде диметилформамида в присутствии триэтиламина при перемешивании при  
комнатной температуре, очистку полученного раствора полупрепаративно, используя  
жидкостную хроматографию, проведение методом лиофилизации отгонки летучих  
растворителей и высушивание, связывание полученного реагента с технецием-99m с  
концентрацией 1 ГБк/мл и инкубирование, отличающийся тем, что смешивают фосфатно-

## ПРИЛОЖЕНИЕ Т Акт внедрения результатов диссертационной работы в учебный процесс кафедры фармацевтического анализа СИБГМУ

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СИБГМУ Минздрава России)  
 Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050  
 Телефон (3822) 53 04 23;  
 Факс (3822) 53 33 09  
 e-mail: office@ssmu.ru  
 http://www.ssmu.ru  
 ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251  
 ИНН 7018013613 КПП 701701001

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

д-р мед. наук, профессор

А.Р. Мирошниченко

2020



№ \_\_\_\_\_  
 На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### АКТ

внедрения в учебный процесс кафедры фармацевтического анализа результатов диссертационной работы Подрезовой Екатерины Владимировны на тему «Технологические основы получения ω-дипиридил замещенных кислот для производства радиофармпрепаратов на основе технеция-99м», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 05.17.04 – Технология органических веществ.

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя - заведующего кафедрой фармацевтического анализа, д-ра фарм. наук Белоусова М.В. и членов: доцента кафедры фармацевтического анализа, канд. фарм. наук Каминский И.П., доцента кафедры фармацевтического анализа, канд. фарм. наук Ларькиной М.С. удостоверяем, что предложенные Подрезовой Е.В. в проекте нормативные документации методики количественного определения ДРАН-октреотид и ДРАН-ПСМА методом ВЭЖХ-УФ внедрены и используются в процессе обучения ординаторов кафедры фармацевтического анализа в разделе «Хроматографические методы анализа».

Председатель  
 заведующий кафедрой фармацевтического анализа,  
 д-р фарм. наук

Белоусов М.В.

Члены комиссии  
 доцент кафедры фармацевтического анализа,  
 канд. фарм. наук  
 доцент кафедры фармацевтического анализа,  
 канд. фарм. наук

Каминский И.П.

Ларькина М.С.

## ПРИЛОЖЕНИЕ У Акт внедрения результатов диссертационной работы в синтез новых отечественных радиофармпрепаратов ДРАН-octreotide и ДРАН-DARPin9\_29



Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
«Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук»

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ  
(НИИ онкологии)**

Кооперативный пер., д. 5, Томск, 634009  
Тел./ факс (3822) 51 10 39 / 51 33 06  
E-mail: [onco@nime.ru](mailto:onco@nime.ru)

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568  
ИНН / КПП 7019011979 / 701745014

25.12.2020 № 02-2235

### АКТ

внедрения результатов диссертационной работы Подрезовой Екатерины Владимировны на тему: «Технологические основы получения ω-дипиридил замещенных кислот для производства радиофармпрепаратов на основе технеция-99m», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности: 05.17.04 «Технология органических веществ».

Методики получения и состав меченных технецием-99m препаратов на основе ω-дипиридил замещенных кислот, разработанные в процессе выполнения диссертационной работы, используются при синтезе новых отечественных радиофармацевтических препаратов «ДРАН-octreotide» и «ДРАН- DARPin9\_29». Доклинические испытания препаратов проводятся в Томском НИИ онкологии в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (Государственный контракт № 14. N08.11.0163 от «31» августа 2017 г.) по темам:

1. Доклинические исследования радиофармацевтического препарата, на основе меченного <sup>99m</sup>Tc октреотида для радионуклидной диагностики нейроэндокринных опухолей. ГК № 14.N08.11.0166 от 05 августа 2017 г.
2. Доклинические исследования радиофармацевтического препарата на основе меченных <sup>99m</sup>Tc рекомбинантных адресных молекул для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией HER-2/neu» ГК № 14.N08.11.0163 от «31» августа 2017 г.

Одним из важнейших результатов внедрения считаем создание стабильных радиофармпрепаратов на основе ω-дипиридил замещенных кислот с уровнем накопления в сочетании с его высокими выходами меченных продуктов и радиохимической чистотой. Все это делает препараты конкурентоспособными по сравнению с зарубежными. В Российской Федерации подобные препараты отсутствуют.

Начало использования объекта внедрения с 2020года

Заместитель директора по научной и инновационной работе НИИ онкологии Томского НИМЦ, заведующий отделением радионуклидной диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ,  
доктор медицинских наук, профессор



Чернов В.И.