

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



На правах рукописи

Озерская Анастасия Витальевна

**«Технологические основы радиофторирования протетических групп для
производства фтор-18 радиофармацевтических лекарственных препаратов»**

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

2.6.10 – Технология органических веществ

Томск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» и Федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный Сибирский научно-клинический центр» Федерального медико-биологического агентства России

Научный руководитель:

Юсубов Мехман Сулейман оглы
доктор химических наук, профессор
главный научный сотрудник, профессор
Исследовательской школы химических и
биомедицинских технологий ФГАОУ ВО
Национального исследовательского Томского
политехнического университета

Официальные оппоненты:

Бакибаев Абдигали Абдиманатович

доктор химических наук, профессор, ведущий
научный сотрудник ФГАОУ ВО Национального
исследовательского Томского государственного
университета

Москалик Михаил Юрьевич

доктор химических наук, заведующий
лабораторией Элементоорганических соединений
ФГБУН Иркутского института химии им. А. Е.
Фаворского Сибирского отделения Российской
академии наук

Защита состоится *12.05.2023* в *14:30* на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.22
ФГАОУ ВО Национального исследовательского Томского политехнического
университета по адресу: 634034, Томск, проспект Ленина 43а.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке
Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-
кода.

Автореферат разослан _____

Ученый секретарь
диссертационного совета ДС.ТПУ.22
д.х.н.



.М.Е. Трусова

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Ранняя диагностика злокачественных новообразований остаётся одной из наиболее актуальных задач современной медицины. Одним из наиболее чувствительных методов диагностики является позитронно-эмиссионная томография с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), использующая радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП). При этом фтор-18 является наиболее распространенным ПЭТ-радионуклидом так как обладает наибольшим периодом полураспада среди ультракороткоживущих радионуклидов (УКЖР), что позволяет проводить сложные многостадийные радиохимические синтезы РФЛП на его основе и осуществлять транспортировку полученных препаратов.

Несмотря на высокую чувствительность метода ПЭТ, используемые РФЛП не проявляют высокую специфичность, поскольку могут накапливаться не только в злокачественных опухолях, но и во всех очагах с высокой метаболической активностью (например, имеющих воспалительный характер). Поэтому в настоящее время активно ведутся работы по созданию РФЛП нового поколения, с более высокой специфичностью. В качестве химических предшественников радиоактивной метки могут быть выбраны различные адресные молекулы - пептидные агенты. В тоже время для связывания адресных молекул с радиоизотопом используются простетические группы, применяемые в настоящее время способы получения которых являются сложными и трудоемкими процессами. Очень важное значение в качестве простетических групп имеют как [¹⁸F]-фторалифатические, так и [¹⁸F]-фторароматические соединения. Поэтому возможность применения соединений поливалентного иода и алициклических кетонов для новых способов синтеза простетических групп, применяемых при введении ¹⁸F в структуру белков и пептидов, представляет высокий интерес.

Таким образом, актуальными являются **исследования синтеза простетических групп, содержащих атом фтора-18** для получения высокоселективных РФЛП.

Цель работы

Целью диссертационного исследования является разработка новых технологий радиосинтеза простетических групп для производства фтор-18- РФЛП для ПЭТ.

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

1. На основе ω-иодпроизводных алифатических карбоновых кислот разработать технологию автоматического радиосинтеза эфиров ω-[¹⁸F]-фторалифатических карбоновых кислот и сукцинимидного эфира (NHS) 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты – простетических групп для РФЛП.

2. На основе арилиодоксолов разработать технологию автоматического радиосинтеза 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты – простетической группы для радиофторирования адресных молекул пептидной и белковой природы.

3. Разработать технологические схемы автоматического радиосинтеза [¹⁸F]-простетических групп для получения новых высокоселективных РФЛП.

Научная новизна работы заключается в следующем:

1. Разработаны новые общие технологические подходы к радиосинтезу сложных эфиров ω-[¹⁸F]-фторалифатических карбоновых кислот как простетических групп, используемых для получения таргетных РФЛП.

2. Впервые разработана технология радиосинтеза простетической группы 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты с использованием соединений поливалентного иода (СПИ) - арилбензоидоксолов.

3. Впервые исследованы особенности технологии синтеза производных [^{18}F]-фторгексановой кислоты через сукцинимидную активацию для ацилирования белков и пептидов, как векторов доставки РФЛП в опухолевые клетки.

4. Разработаны технологические схемы автоматического радиосинтеза ω -[^{18}F]-фторалифатических карбоновых кислот и 2-[^{18}F]-фтор-5-нитробензойной кислоты.

Практическая значимость:

1. Создан алгоритм автоматического радиосинтеза химических предшественников для производства фтор-18-содержащих радиофармацевтических лекарственных препаратов для ПЭТ на модуле Synthra RN+ в программном обеспечении SynthraView («Synthra», Германия).

2. Разработана простая технология радиосинтеза сложных эфиров ω -[^{18}F]-фторалифатических карбоновых кислот с использованием исходных субстратов эфиров ω -иод-замещенных алифатических карбоновых кислот.

3. Предложен эффективный способ автоматического радиосинтеза [^{18}F]-фторбензойной кислоты как простетической группы с использованием соединений поливалентного иода для радиофторирования.

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

1) Технология радиосинтеза сложных эфиров [^{18}F]-фторалифатических карбоновых кислот и сукцинимидного эфира (NHS) 6-[^{18}F]-фторгексановой кислоты для производства фтор-18-содержащих целевых РФЛП.

2) Технология автоматического радиосинтеза 2-[^{18}F]-фтор-5-нитробензойной кислоты, как простетической группы для радиофторирования при получении РФЛП.

Достоверность полученных данных. Анализ содержания продуктов фторирования проводился методом тонкослойной хроматографии на силикагеле (радио-ТСХ).

Апробация результатов работы. Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на конференциях, симпозиумах всероссийского и международного уровней, среди которых “1st International Conference on Aptamers in Russia 2019”, Красноярск; "Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов", Москва; 23rd International Symposium on Radiopharmaceutical sciences, Пекин; «CAFACHEM 2020», Virtual Meeting, Лондон; International Symposium on Radiopharmaceutical sciences, «ISRS-2021» Society of Radiopharmaceutical Sciences ISRS-2021 Virtual Meeting, Paris; «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины», Томск; «Цифровые управляемые лекарства на стыке наук», Красноярск; «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы», Томск; «РАДИОФАРМА-2021» «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов», Переславль-Залесский.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 12 работ, в т.ч. 3 статьи в международных рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных системах цитирования, рекомендованных ВАК РФ для публикации диссертационных исследований, 9 тезисов и материалов докладов на международных и российских конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы из 128 наименований. Работа изложена на 129 страницах, содержит 67 рисунков, 17 таблиц.

Основное содержание работы

В работе нами предложены методы автоматического радиосинтеза фтор-18-содержащих органических соединений, разработаны технологии получения простетических групп из эфиров ω -иодпроизводных алифатических карбоновых кислот (**1a-1g**) и соединений поливалентного иода – арилиодоксолов (**1j,1k**), которые будут применяться для производства фтор-18-РФЛП.

Первая глава (Литературный обзор) содержит анализ литературных данных по теме диссертации. В работе представлены основные принципы диагностического метода ПЭТ/КТ. Рассмотрены УКЖР в методе ПЭТ/КТ. Приведены преимущества использования радионуклида фтора-18 для синтеза РФЛП. Показаны основные методы введения фтора-18 в органическую молекулу. Изложенный материал позволяет заключить то, что поиск доступных субстратов и эффективных способов фторирования является актуальным.

Вторая глава (Исследовательская часть) посвящена разработке методов получения химических предшественников для производства фтор-18-содержащих РФЛП.

Данная работа осуществлялась на базе Циклотронно-радиохимического комплекса центра ПЭТ ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России, который оснащен полной линейкой современного оборудования, с дистанционным управлением, что обеспечивает радиационную защиту персонала. Ввиду быстрого распада радионуклидов, главной задачей в разработке радио-фторированных-препаратов является сокращение времени синтеза, которая достигается максимальной автоматизацией технологического процесса. Радиосинтезы проводились в радиохимической лаборатории на автоматизированном модуле синтеза Synthra RN Plus, находящийся в радиационно-защитном боксе BBS1-SY (Comeser), с помощью разработанных нами программных обеспечений модуля синтеза.

Для выполнения поставленных задач нами была осуществлена модификация модуля синтеза Synthra RN Plus, была выстроена последовательная замкнутая цепь из необходимых виал, реакционных сосудов и трубок. Для программной реализации радиосинтезов синтеза, был написан алгоритмический скрипт синтеза с использованием программного обеспечения SynthraView. Созданный скрипт использован нами для проведения радиофторирования простетических групп. Схема автоматизированного программного управления модуля синтеза после модификации представлена на рисунке 1.

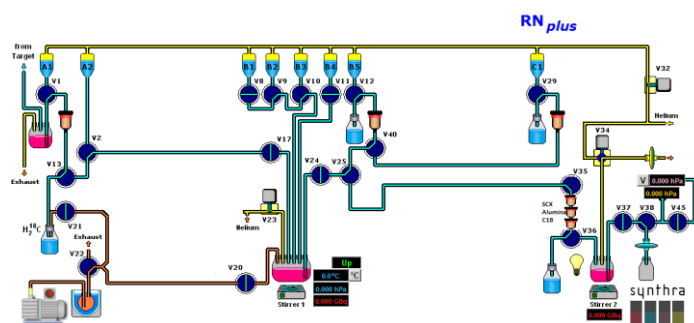


Рисунок 1– Схема модуля синтеза после модификации, где A1-A2, B1-B5, C1 – виалы; V1-V45 – клапаны; Reaction vessel (Stirrer 1, 2) – реакционные сосуды с магнитными мешалками

Наработанный на циклотроне «Cyclone 18/9 ST» ИВА радионуклид фтор-18 поступал в радиохимическую лабораторию в модуль синтеза Synthra RN Plus, согласно выбранному скрипту на модуль подавались команды для установки элементов управления в требуемое состояние. Процесс проходил при визуальном контроле, без непосредственного контакта радиохимика с радиоактивными материалами.

Фтор-18 получали облучением ядер изотопа ^{18}O пучком ускоренных протонов с энергией 18 МэВ по реакции: $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. Образующийся радионуклид ^{18}F стабилизируется в химической форме фторида ($[^{18}\text{F}],\text{F}^-$). Далее $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ элюировали смесью раствора криптана в безводном ацетонитриле с добавлением раствора K_2CO_3 и далее полученный комплекс ($[\text{K}/\text{K}2.2.2]^{+18}\text{F}^-$) транспортировали в реакционный сосуд. После чего проводили азеотропную сушку, на следующей стадии добавляли исходные прекурсоры в безводных растворителях.

Для оценки эффективности протекания реакций измеряли радиохимический выход (РХВ) и радиохимическую чистоту (РХЧ). Анализ содержания продуктов радиофторирования проводился методом тонкослойной хроматографии с радиодетектором (ТСХ) на радио-ТСХ-сканере mini Gita starbeta (Raytest, Германия) в подобранных системах растворителей. Измерение радиоактивности полученных радиофторированных соединений измерялся в дозколизаторе, который встроен в модуль синтеза Synthra RN Plus.

2.1 Разработка технологии получения протетических групп на основе эфиров ω -иодалифатических карбоновых кислот (**1a-1g**)

Ларькиной М.С. (Сибирский государственный медицинский университет) с соавторами была разработана новая, эффективная технология получения ценных иодалифатических кислот и их эфиров из малотоксичных и доступных циклических кетонов действием «зеленого» окислителя – пероксида водорода. Совместно с Ларькиной М.С нами была разработана технология фторирования ω -иодалифатических карбоновых кислот и их эфиров с нерадиоактивным фтором-19. Успешно проведенные модельных синтезов на основе фтора-19 послужило основанием для переноса технологии на радиосинтезы с использованием фтора-18 в условиях «горячих камер».

В данной работе все условия радиофторирования, подобраны с использованием метил 6-иодгексаноата (**1a**) в качестве модельной молекулы с получением в результате синтеза 6- $[^{18}\text{F}]$ -фторгексаноата (**2a**) (схема 1). На основании установленных параметров синтеза проведено фторирование ряда эфиров ω -иодалифатических карбоновых кислот.

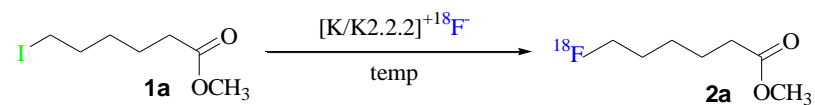


Схема 1 – Схема синтеза метил 6- $[^{18}\text{F}]$ -фторгексаноата (**2a**)

На первом этапе наших исследований был проведен подбор растворителя. При выборе растворителя мы руководствовались доступностью реагентов и тем, что при проведении реакции нуклеофильного замещения, растворитель не должен быть протонным, но в то же время иметь высокую полярность. В качестве растворителей выбраны диметилсульфоксид, ацетонитрил. Нами было установлено, что 1 мг метил 6-иодгексаноата (**1a**) растворяется в течение 5 мин в 1 мл ДМСО/ацетонитриле при комнатной температуре.

Затем, используя выше предложенные растворители, проводили полный синтез метил 6- $[^{18}\text{F}]$ -фторгексаноата (**2a**) (при $t = 80^\circ\text{C}$ и времени синтеза 15 минут). Результаты

радиофторирования приведены в таблице 1. Для оценки протекания реакций измеряли РХВ.

Таблица 1 – Результаты радиофторирования метил 6-иодгексаноата (**1a**) в разных растворителях

Растворитель	РХВ, %
Диметилсульфоксид	52,2±0,5
Ацетонитрил	65,0±1,4

Из полученных данных видно, что лучшим растворителем для проведения радиофторирования является ацетонитрил.

Следующим шагом, был подбор температуры и времени. Синтез проводили при температурах 40 – 90°C и длительности стадии радиофторирования от 2 до 30 минут. Результаты влияния температуры процесса и времени радиофторирования на РХВ метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**) приведены на рисунках 1 и 2 соответственно. Все статистические данные получены в трех параллельных экспериментах.

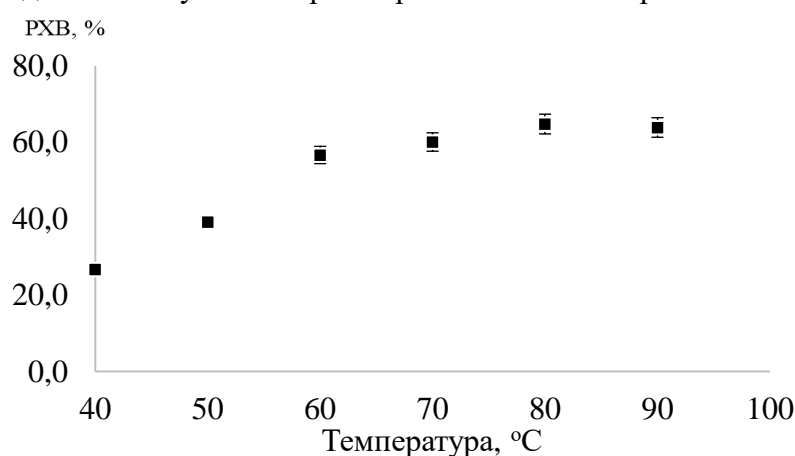


Рисунок 1 – Влияние температуры процесса на РХВ метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**) при длительности радиофторирования 15 минут

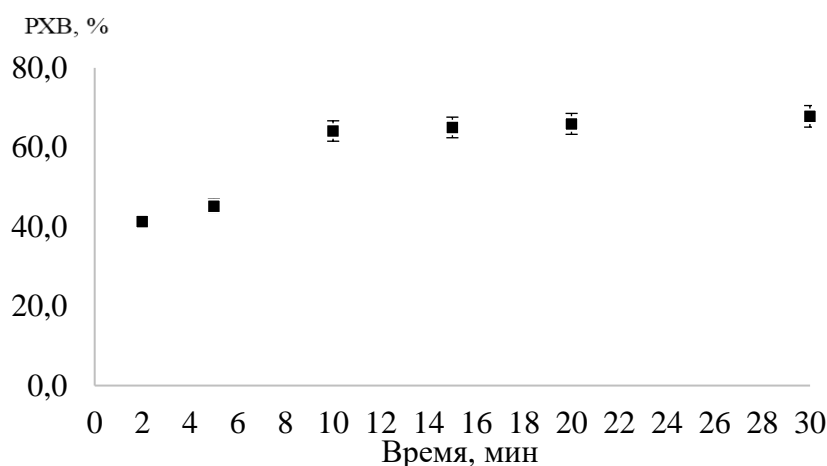


Рисунок 2 – Влияние времени радиофторирования на РХВ метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**) при температуре синтеза 80°C

Таким образом, оптимальными параметрами являются время реакции, равное 15 мин, при температуре реакции 80°C в ацетонитриле, при которых достигается максимальный РХВ, а РХЧ после очистки свыше 95 %.

При использовании для радиохроматографирования системы ацетонитрил-вода (95:5) на линии старта остаются водорастворимые соединения, в частности, $[K/K2.2.2]^{18}F$. Вместе с фронтом подвижной фазы продвигается $[^{18}F]$ -фторированный сложный эфир и другие потенциально возможные фторированные органические продукты (рисунок 3).

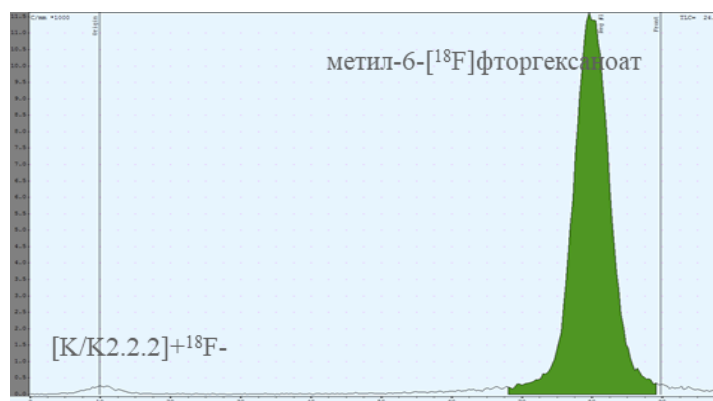


Рисунок 3 – Радиотонкослойная хроматограмма метил 6- $[^{18}F]$ -фторгексаноата (**1a**) ($CH_3CN - H_2O$ (95:5)): 1 пик – $[K/K2.2.2]^{18}F$, 2 пик – метил 6- $[^{18}F]$ -фторгексаноат (**2a**)

При использовании же системы гексан-этилацетат (1:1) на линии старта остаются органические побочные продукты, в частности, $[^{18}F]$ -фторсодержащие карбоновые кислоты, и $[K/K2.2.2]^{18}F$, а на линии финиша – целевой $[^{18}F]$ -фторсодержащий сложный эфир (рисунок 4).

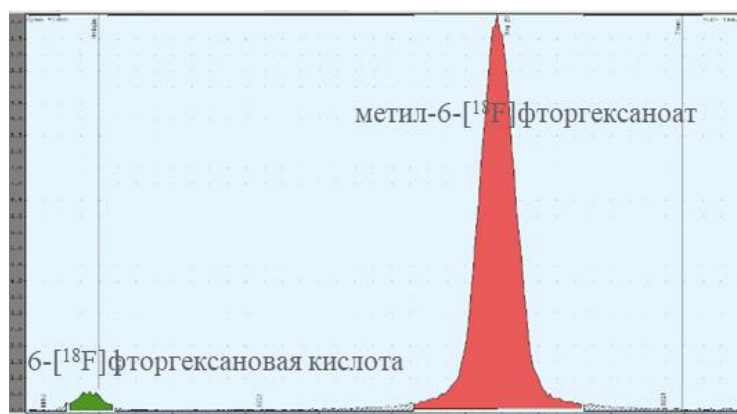


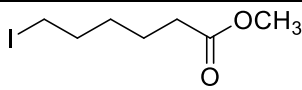
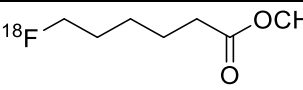
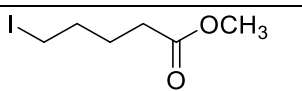
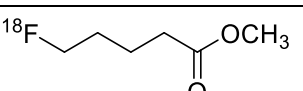
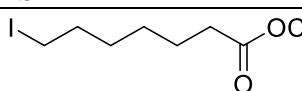
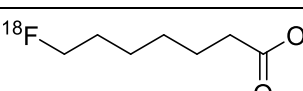
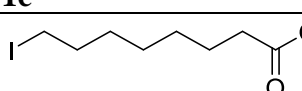
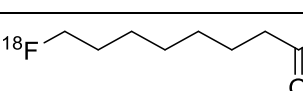
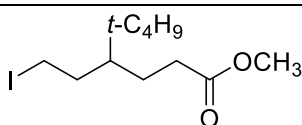
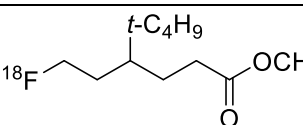
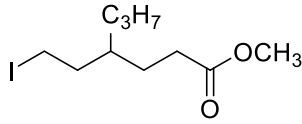
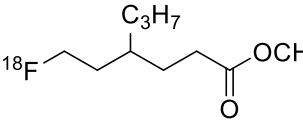
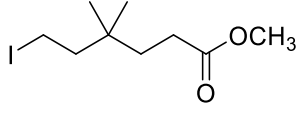
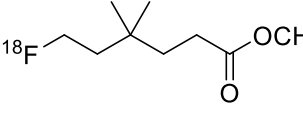
Рисунок 4 – Радиотонкослойная хроматограмма метил-6- $[^{18}F]$ -фторгексаноата (гексан-этилацетат (1:1))
(1 пик – 6- $[^{18}F]$ -фторгексановая кислота и $[K/K2.2.2]^{18}F$, 2 пик – метил-6- $[^{18}F]$ -фторгексаноат (**2a**))
РХЧ = 98,2 %

На основании подобранных оптимальных условий синтеза проведено радиофторирование ряда гомологичных эфиров ω -иодалифатических карбоновых кислот (**1a-1g**) в модуле синтеза Synthra RN Plus, адаптированного под условия синтеза.

Ниже показаны результаты радиохроматографирования двух групп эфиров: нормального и разветвленного строения. Радиотонкослойное хроматографирование

проводилось в обеих средах, на основании чего были установлены величины РХЧ. Для наглядности хроматограммы представлены только в среде CH₃CN – H₂O (95:5).

Таблица 2 – Радиохимический выход и радиохимическая чистота продуктов радиофторирования ряда гомологичных эфиров ω-иодалифатических карбоновых кислот

Исходное вещество	Продукт	РХВ, %	РХЧ, %
 1a	 2a	65,2±0,9	98,4±0,9
 1b	 2b	54,1±1,1	98,5±0,3
 1c	 2c	19,7±2,3	98,7±0,4
 1d	 2d	18,2±1,5	98,3±1,2
 1e	 2e	20,5±1,2	97,8±0,4
 1f	 2f	21,5±0,8	98,5±0,5
 1g	 2g	38,0±0,5	98,3±0,7

Исходя из полученных данных, ввиду наибольшего радиохимического выхода для получения бифункциональных протестических групп был выбран метил 6-иодгексаноат (**1a**).

Следующим этапом в данной работе было проведение радиофторирования 6-иодгексановой кислоты (**1h**) радиосинтеза 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты. Радиофторирование 6-иодгексановой кислоты, как и ожидалось, не было успешным, РХВ 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**2h**) составил менее 10% (схема 2).

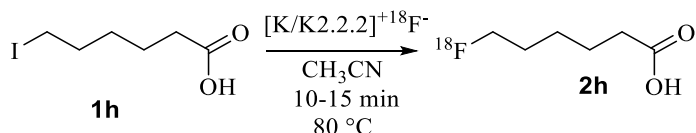


Схема 2 - Радиофторирование 6-иодгексановой кислоты, РХВ=10%

Поэтому для ее синтеза применяли гидролиз выбранного метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**) (схема 3) 6-[¹⁸F]-фторгексановую кислоту (**2h**) получали посредством гидролиза метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**) после его очистки через Sep-Rak C18. РХВ составил 61%, а величина РХЧ – свыше 96%. (рисунок 5).

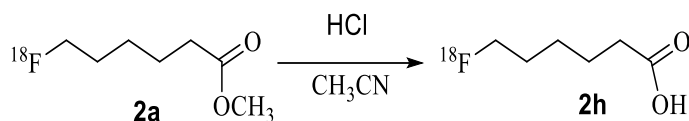


Схема 3 – Гидролиз метил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2a**), РХВ=61%

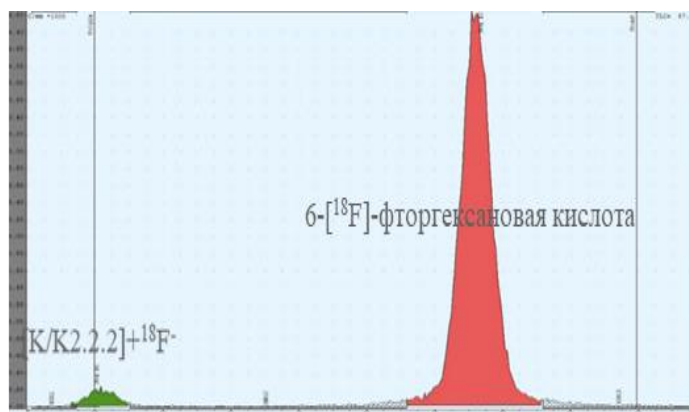


Рисунок 5 – Радиотонкослойная хроматограмма 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**2h**) (CH₃CN – H₂O (95:5)): 1 пик – [K/K2.2.2]⁺¹⁸F⁻, 2 пик – 6-[¹⁸F]-фторгексановая кислота (**2h**); РХЧ = 96,1%

Следующей технологической задачей было получение активированной 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**2h**) сукцинимидным эфиром (NHS). Установлено, что радиофторирование сукцинимид-1-ил 6-иодгексаноата (**1l**) (схема 4), аналогично методике радиофторирования метил 6-иодгексаноата (**1a**), проходит с РХВ менее 10%.

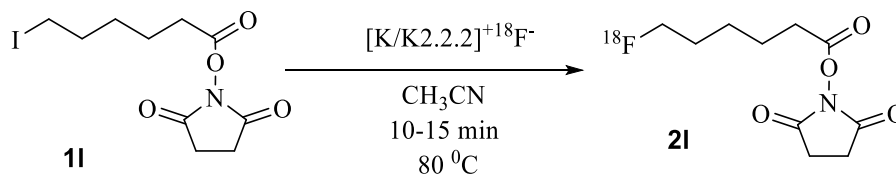


Схема 4 – Схема радиосинтеза сукцинимид-1-ил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2l**) РХВ=10%

В виду низкого РХВ сукцинимид-1-ил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (**2h**) (схема 4), был проведен радиосинтез в три этапа, через стадию гидролиза метил 6-иодгексаноата (**1a**) с получением 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**1h**). На третьей стадии проводилась активация 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**1h**) с использованием NHS в ацетонитриле при 80⁰С 10 минут (схема 5). На схеме 5 в последней стадии нами представлены варианты дальнейшего использования полученной простетической группы, например, с октреодидом для создания РФЛП, тропного к нейроэндокринным опухолям. Также при связи, активированной простетической группы с дарпинами (DARPin) возможно создание РФЛП, применяемого для диагностики рака молочной железы.

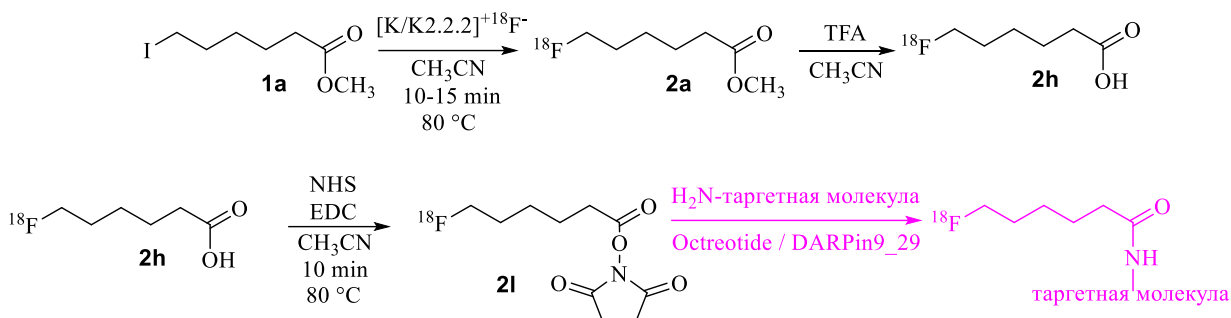


Схема 5 – Общая схема синтеза сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноата (**21**)
 РХВ = 45%, РХЧ = 95,0±0,2 %

Радиотонкослойные хроматограммы сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноата (**21**) представлены на рисунках 6 и 7.

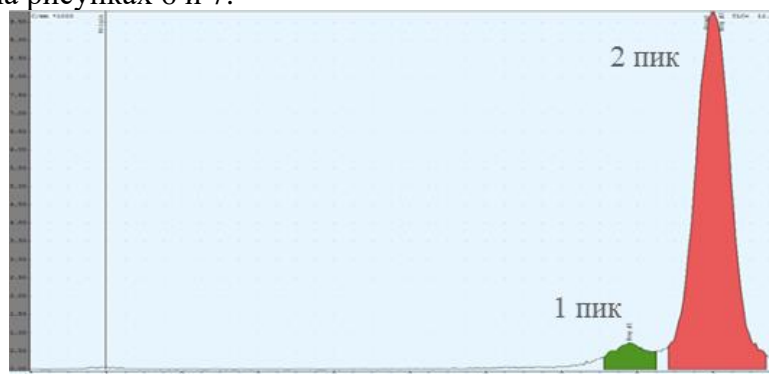


Рисунок 6 – Радиотонкослойная хроматограмма сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноата (**21**) ($\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$ (95:5)): 1 пик – метил 6- ^{18}F -фторгексановая кислота (**2a**), 2 пик – сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноат (**21**)



Рисунок 7 – Радиотонкослойная хроматограмма сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноата (**21**) (гексан – этилацетат (1:1)): 1 пик – метил 6- ^{18}F -фторгексановая кислота (**2a**), 2 пик – сукцинимид-1-ил 6- ^{18}F -фторгексаноат (**21**)

Таким образом, нами создана новая технология радиосинтеза сложных эфиров ^{18}F -фторалифатических карбоновых кислот и сукцинимидного эфира (NHS) 6- ^{18}F -фторгексановой кислоты для производства фтор-18-содержащих целевых РФЛП.

2.2 Разработка технологии получения протетических групп на основе арилбензоидоксолов, как соединений поливалентного иода (СПИ)

В данном разделе показана возможность использования иодоксолов, содержащих в структуре нитрогруппу, для селективного синтеза фторпроизводных - в частности - [^{18}F]-фторбензойной кислоты, которая является известной простетической группой для введения ^{18}F в структуру пептидов или белковых молекул. Необходим поиск новых СПИ, например, производных арилиодоксолов, для синтеза ароматических простетических групп как незаменимых инструментов для меченья целевых молекул.

Исследование возможности получения [^{18}F]-фторбензойных кислот из иодоксолов базировалось на совместных экспериментах, проведенных группой Юсубова М.С. с использованием фтора-19. В качестве исходных субстратов для изучения эффективности фторирования иодониевых солей по реакции взаимодействия с F^- (в качестве фторирующих агентов применялись TBAF, CsF, KF), использовались соли разного строения. Юсубовым М.С. (Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий Томского Политехнического Университета) с соавторами отмечено, что введение в структуру иодоксола нитрогруппы значительно повышает его растворимость в ДМСО и ацетонитриле. На основании полученных с фтором-19 результатов, в данной работе нами было проведено радиофторирование представителя нитроидоксола: 5-нитро-1-(2,4,6-триметилфенил)-1*H*-1 λ^3 -бензо[*b*]иодо-3(2*H*)-она (2,4,6-триметил-ДФИК-5- NO_2) (**1j**) с получением 5-нитро-2-[^{18}F]-фторбензойной кислоты (**3**) (схема 6). Для проведения радиофторирования иодоксолов нами создана новая технологическая схема синтеза в модуле синтеза Synthra RN Plus с использованием программного обеспечения SynthraView.

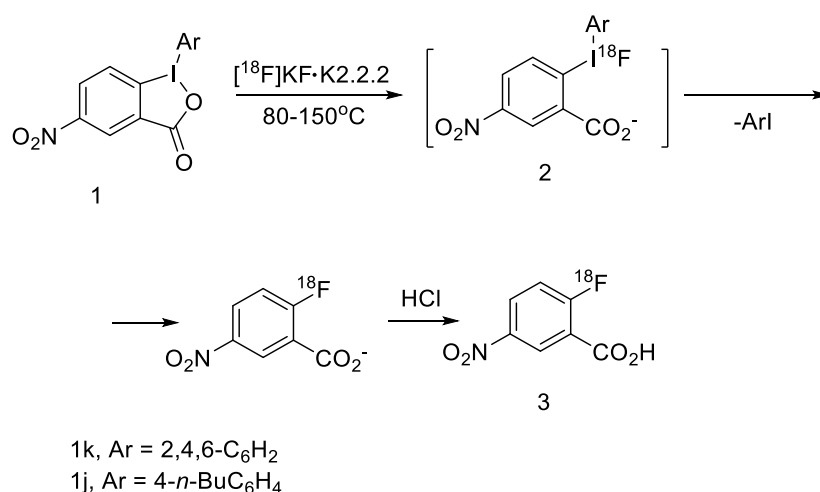


Схема 6 – Схема синтеза 2-[^{18}F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**)

Для проведения успешного радиофторирования были определены потенциально подходящие растворители, а именно диметилсульфоксид и ацетонитрил. Нами установлено, что для растворения 10 мг 2,4,6-триметил-ДФИК-5- NO_2 (**1j**) в 1 мл ДМСО и ацетонитриле требует интенсивное и длительном перемешивание при нагревании в течение 30 минут. Однако введение в структуру нитроидоксола *n*-бутильного фрагмента (липофильный фрагмент) в значительной степени повышало растворимость соединения во всех представленных растворителях. На этом основании для проведения радиофторирования был также использован 5-нитро-1-(4-бутилфенил)-1*H*-1 λ^3 -бензо[*b*]иодо-3(2*H*)-она (4-Бу-ДФИК-5- NO_2) (**1k**) (рисунок 8).

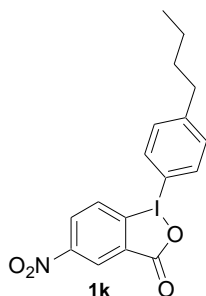


Рисунок 8 – Структурная формула 4-Бу-ДФИК-5-NO₂ (**1k**)

Далее проводили радиосинтез нитроидоксолов (**1j,1k**) в ацетонитрил и диметилсульфоксиде при 150°C в течение 30 минут в закрытом реакционном сосуде

Таблица 3 – Результаты радиофторирования иодоксолов **1j, 1k** в разных растворителях

Иодоксол	РХВ, %	
	ДМСО	Ацетонитрил
2,4,6-триметил-ДФИК-5-NO ₂ (1j)	12,4±0,3	17,1±0,4
4-Бу-ДФИК-5-NO ₂ (1k)	39,0±0,5	39,5±0,4

Из полученных данных видно, что подходящими для проведения радиофторирования являются оба исследованных растворителя.

Для установления оптимальных условий синтез 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) проводили при температурах 80-200°C и длительности стадии радиофторирования от 15 до 45 минут в ацетонитриле и диметилсульфоксиде. Влияние температуры процесса на РХВ 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) исследовали в интервале от 80 до 200 °C в течение 30 мин в ацетонитриле и диметилсульфоксиде. Как видно из таблиц 4-5, наибольшие выходы кислоты (**3**), достигались при температуре 150°C. Снижение выхода целевого продукта при 200°C мы объясняем протеканием побочных процессов с образованием интермедиатов.

Таблица 4 – Влияние температуры процесса на РХВ 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) (длительность стадии радиофторирования – 30 мин, растворитель - ацетонитрил).

Иодоксол	РХВ*, %			
	80°C	100°C	150°C	200°C
2,4,6-триметил-ДФИК-5-NO ₂ (1j)	7,1±0,3	11,3±0,1	17,1±0,4	16,8±0,2
4-Бу-ДФИК-5-NO ₂ (1k)	11,8±0,4	24,2±0,1	39,5±0,4	36,5±0,4

*Реакцию проводили в ацетонитриле течение 30 минут в закрытом реакционном сосуде. Все статистические данные получены в трех параллельных экспериментах.

Таблица 5 – Влияние температуры процесса на РХВ 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) (длительность стадии радиофторирования – 30 мин, растворитель диметилсульфоксид)

Иодоксол	РХВ*, %			
	80°C	100°C	150°C	200°C
2,4,6-триметил-ДФИК-5-NO ₂ (1j)	6,9±0,3	6,3±0,1	12,4±0,4	10,8±0,2
4-Бу-ДФИК-5-NO ₂ (1k)	9,7±0,4	24,0±0,1	37,0±0,4	31,0±0,4

*Реакцию проводили в диметилсульфоксиде течение 30 минут в закрытом реакционном сосуде. Все статистические данные получены в трех параллельных экспериментах.

Влияние продолжительности процесса на РХВ мы исследовали в интервале 15-45 мин. Как видно из результатов, приведенных в таблицах 6-7, во всех случаях оптимальным является 30 мин. При увеличении продолжительности реакции более чем 30 мин, нами не наблюдалось увеличение РХВ.

Таблица 6 – Влияние длительности радиофторирования иодоксолов **1j**, **1k** на РХВ 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) (растворитель - ацетонитрил, при 150°C)

Соединение	РХВ*, %				
	15 мин	20 мин	25 мин	30 мин	45 мин
2,4,6-триметил- ДФИК-5-NO ₂ (1j)	8,3±0,2	13,1±0,3	15,7±0,2	17,1±0,4	16,8±0,3
4-Бу-ДФИК-5-NO ₂ (1k)	18,7±0,3	24,0±0,5	31,1±0,4	39,5±0,4	37,4±0,4

*Реакцию проводили в ацетонитриле при 150°C в закрытом реакционном сосуде. Все статистические данные получены в трех параллельных экспериментах.

Таблица 7 – Влияние длительности радиофторирования иодоксолов **1j**, **1k** на РХВ 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) (растворитель - диметилсульфоксид, при 150°C)

Соединение	РХВ*, %				
	15 мин	20 мин	25 мин	30 мин	45 мин
2,4,6-триметил- ДФИК-5-NO ₂ (1j)	6,3±0,2	8,1±0,3	12,0±0,2	12,4±0,4	9,8±0,3
4-Бу-ДФИК-5-NO ₂ (1k)	17,0±0,3	20,0±0,5	31,1±0,4	37,0±0,4	30,4±0,4

*Реакцию проводили в диметилсульфоксиде при 150°C в закрытом реакционном сосуде. Все статистические данные получены в трех параллельных экспериментах.

Таким образом, в соответствии с результатами оптимальными параметрами выбраны температура и время радиофторирования, которые составили 150°C и 30 минут соответственно.

Далее в работе была разработана технология очистки фторированного продукта. К полученному, после проведения радиофторирования, раствору добавляли порционно воду и пропускали смесь через картридж Ser-Pak C18. Фторированный продукт улавливался на картридже Ser-Pak C18, а растворители, не прореагировавшие фторид-ионы, криптофикс 222 и побочные продукты смывались в емкость для отходов. После чего Ser-Pak картридж C18 промывали 2 мл ацетонитрила и элюировали готовый фторированный продукт. Анализ содержания продуктов фторирования проводили методом радио-ТСХ в системе ацетонитрил-вода (95:5). Было установлено, что наибольшие значения РХЧ отмечались при пропускании через картридж 40 мл воды и при элюировании 2 мл ацетонитрила.

Радиотонкослойная хроматограмма продуктов радиофторирования 2,4,6-триметил-ДФИК-5-NO₂ (**1j**) и 4-Бу-ДФИК-5-NO₂ (**1k**) после очистки представлена рисунках 9 и 10 соответственно.

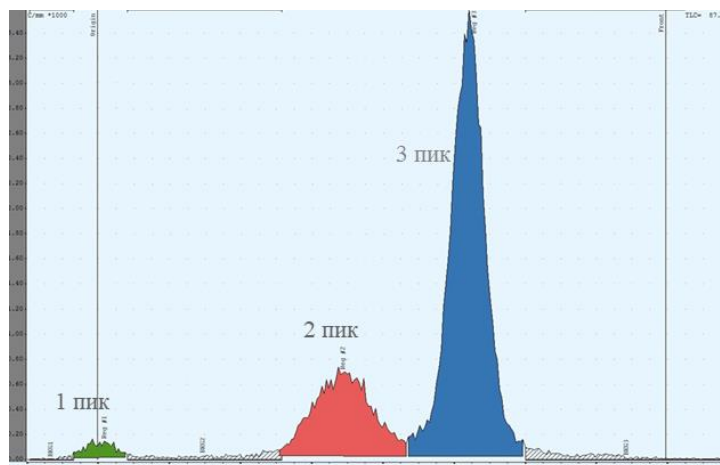


Рисунок 9 – Радиотонкослойная хроматограмма продуктов радиофторирования 2,4,6-триметил-ДФИК-5-NO₂ (**1j**) (CH₃CN – H₂O (95:5)) после очистки: 1 пик – [K/K2.2.2]⁺¹⁸F, 2 пик - иодониевая соль с противоионом F⁻(**2**), 3 пик – 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**); РХЧ = 75%; РХВ = 17,1±0,4%

В случае радиофторирования соединения **1j** в обоих растворителях отмечено появление пика второго вещества, также поднимающегося с фронтом подвижной фазы (рисунок 9). На основании приведенных исследований со стабильным фтором мы предположили, что второй пик возможно относится к промежуточному продукту, а именно иодониевой соли с противоионом F⁻(**2**), (схема 6).

В отличие от нитроидоксола **1j** в случае **1k** не было обнаружено образование второго продукта, что безусловно повлияло на РХЧ (рисунок 10). В аналогичных условиях была проведена очистка 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты, полученной радиофторированием 4-Бу-ДФИК-5-NO₂. Так, очисткой получилось достигнуть РХЧ продукта 98,4% (рисунок 10).

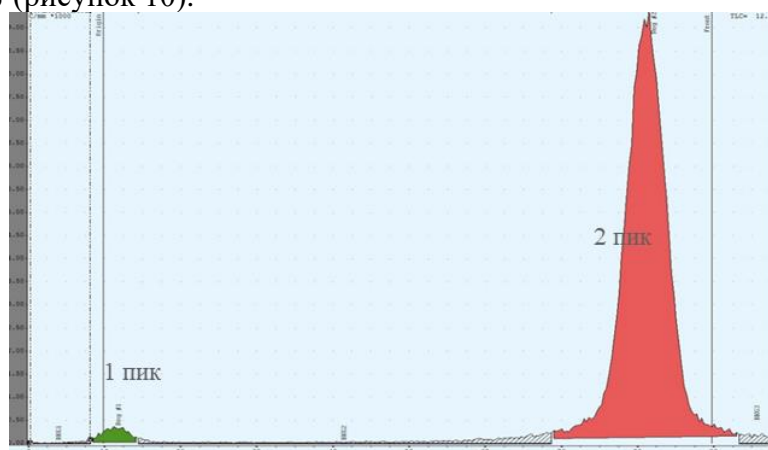


Рисунок 10 – Радиотонкослойная хроматограмма продуктов радиофторирования 4-Бу-ДФИК-5-NO₂ (**1k**) (CH₃CN – H₂O (95:5)) после очистки: 1 пик – [K/K2.2.2]⁺¹⁸F, 2 пик - 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**); РХЧ = 98,4%; РХВ = 39,5±0,4%

Проведенный нами анализ показал, что оптимальными параметрами синтеза являются 30 минут радиофторирования при температуре 150°C. Установлено, что для проведения радиосинтеза подходит использование как диметилсульфоксида, так и ацетонитрила. Также отмечено, что радиосинтез 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**), полученной радиофторированием 4-Бу-ДФИК-5-NO₂ (**1k**), проходит с

радиохимическим выходом до 39% с превосходной радиохимической чистотой более 98%.

Таким образом, нами была разработана технология автоматического радиосинтеза 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты, как ароматической простетической группы для получения РФЛП, с использованием в качестве прекурсоров – арилбензоидоксолов.

В главе 3 (Экспериментальная часть) описано оборудование и реактивы, используемые для проведения радиофторирования с целью получения 18-фторсодержащих простетических групп. Представлен разработанный алгоритм синтеза на модуле Synthra RN+ в программном обеспечении SynthraView. Описаны методики синтеза эфиров ω-[¹⁸F]-фторалифатических карбоновых кислот (**2a-2g**) и сукцинимидного эфира (NHS) 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (**2l**) и методика получения 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты (**3**) из арилбензоидоксолов.

В главе 4 (Принципиальные технологические схемы) представлены спецификации оборудования и реактивов, используемые для проведения радиофторирования с целью получения 18-фторсодержащих простетических групп. Представлены технологические схемы получения [¹⁸F]-содержащих химических предшественников (рисунки 11-14).

Процесс радиофторирования простетических групп включает в себя следующие основные стадии

ВР: Стадии вспомогательного технологического процесса

ВР1: Подготовка выделительных и очистительных картриджей

ВР2: Подготовка растворов

ВР3: Подготовка модуля синтеза

ТП: Стадии основного технологического процесса

ТП1: Нарботка радионуклида фтор-18

ТП2: Извлечение ¹⁸F-фторид-иона

ТП3: Азеотропная сушка массы

ТП4: Радиофторирование, согласно представленным методикам

ТП5: Очистка, согласно представленным методикам

ТП6: Элюирование готового продукта

Вспомогательные стадии ВР 1 – ВР 3 и технологические процессы ТП 1 – ТП 3 является одинаковыми для всех ниже представленных процессов, поэтому указаны только в первой технологической схеме (рисунок 11).

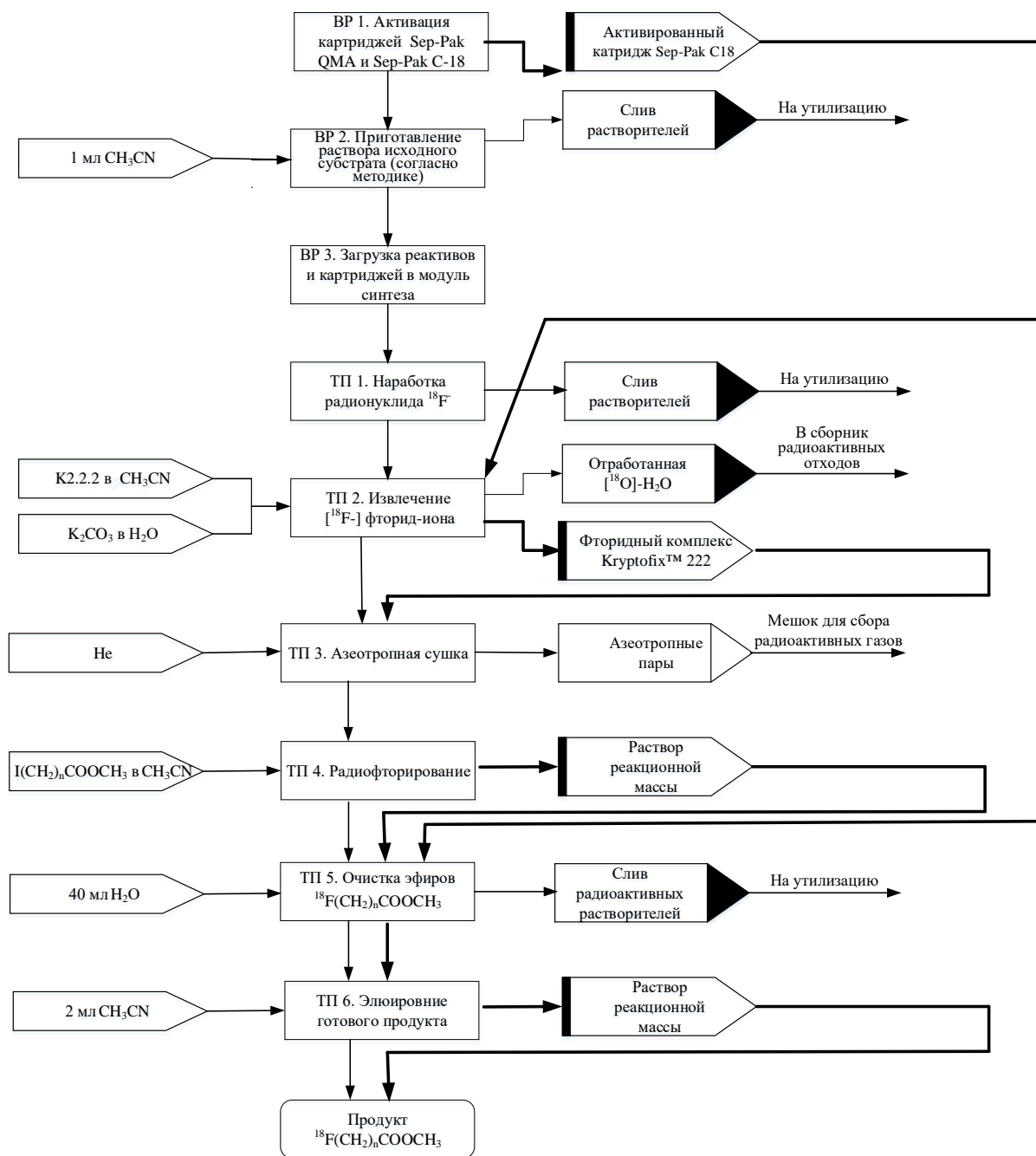


Рисунок 11 – Технологическая схема радиофторирования сложных эфиров ω-[¹⁸F]-фторалифатических карбоновых кислот (**1a-1g**)

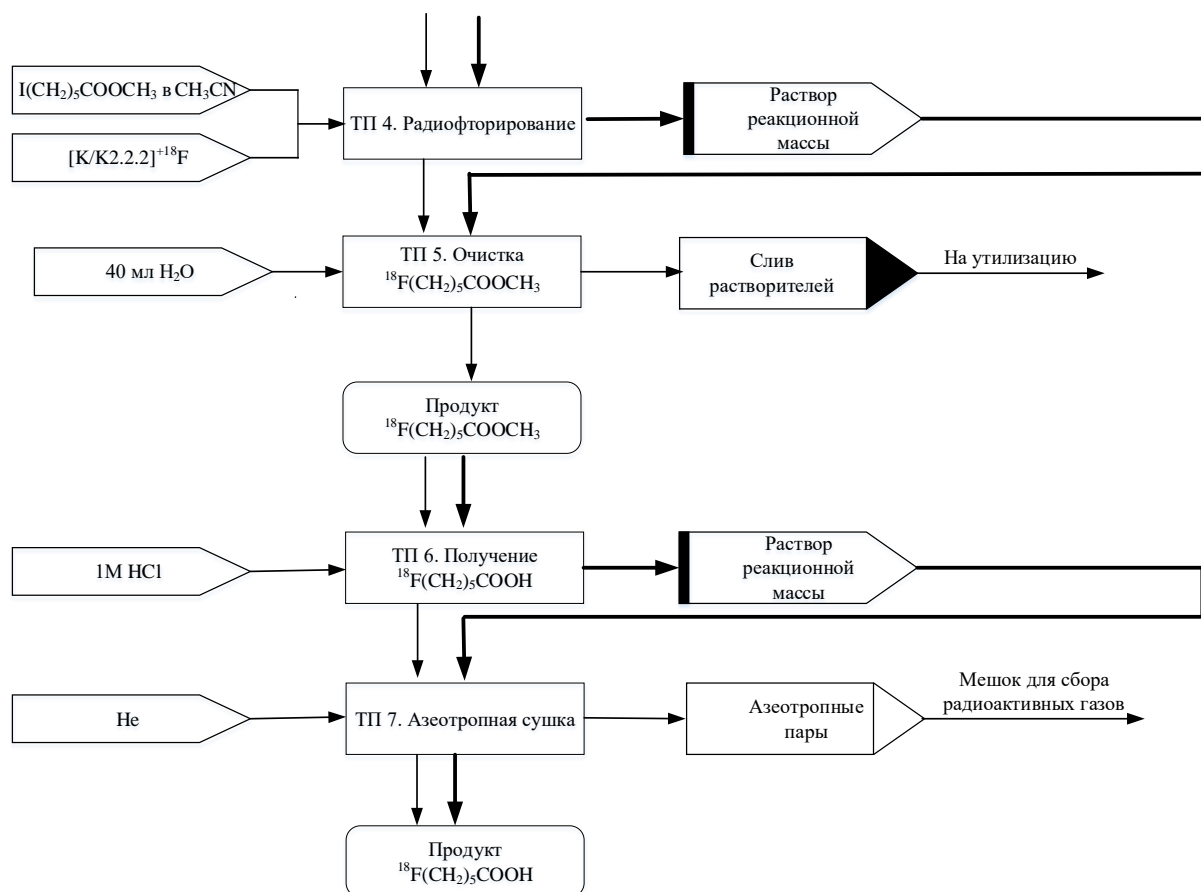


Рисунок 12 – Технологическая схема получения 6-[¹⁸F]-фторгексановой кислоты (2h)

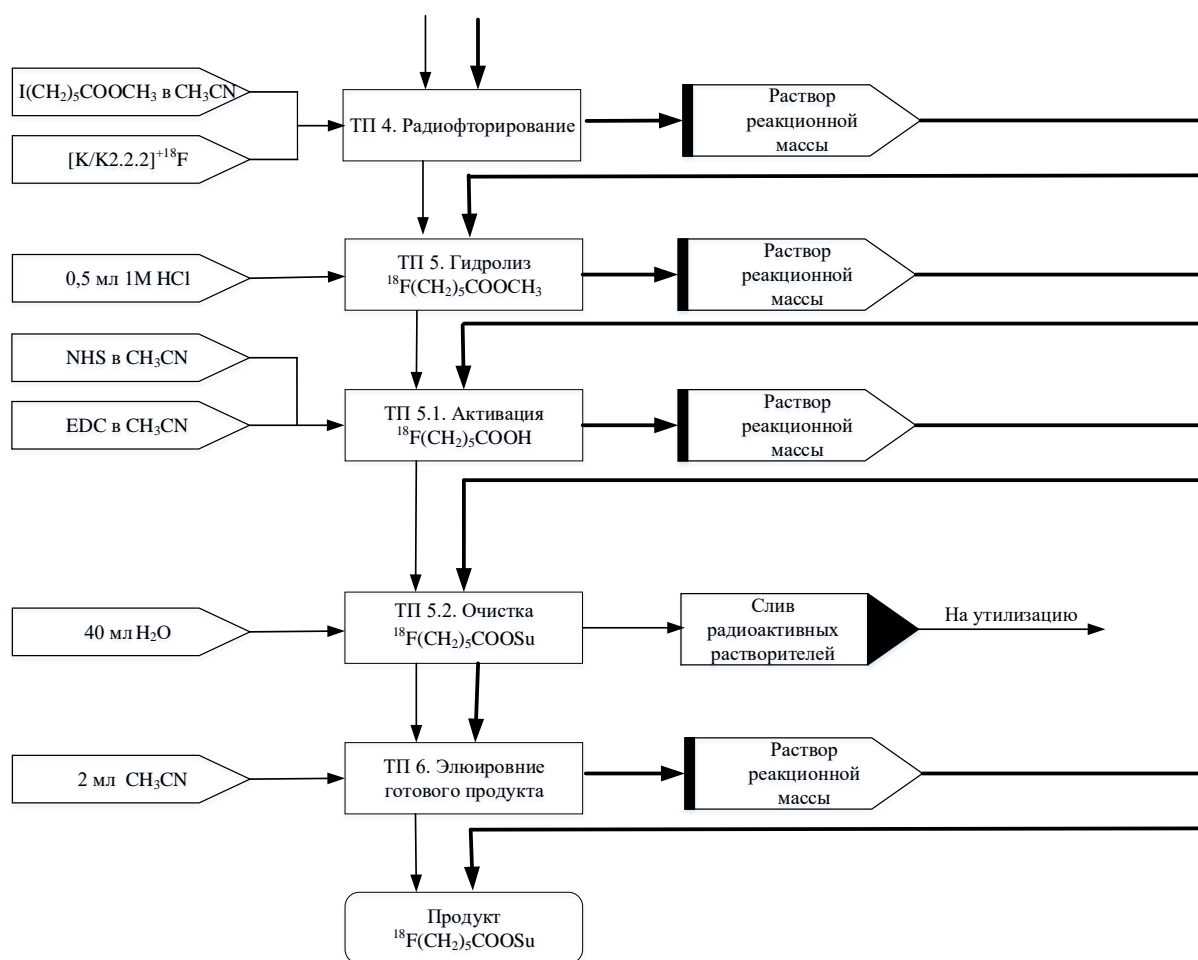


Рисунок 13 – Технологическая схема получения сукцинимид-1-ил 6-[¹⁸F]-фторгексаноата (21)

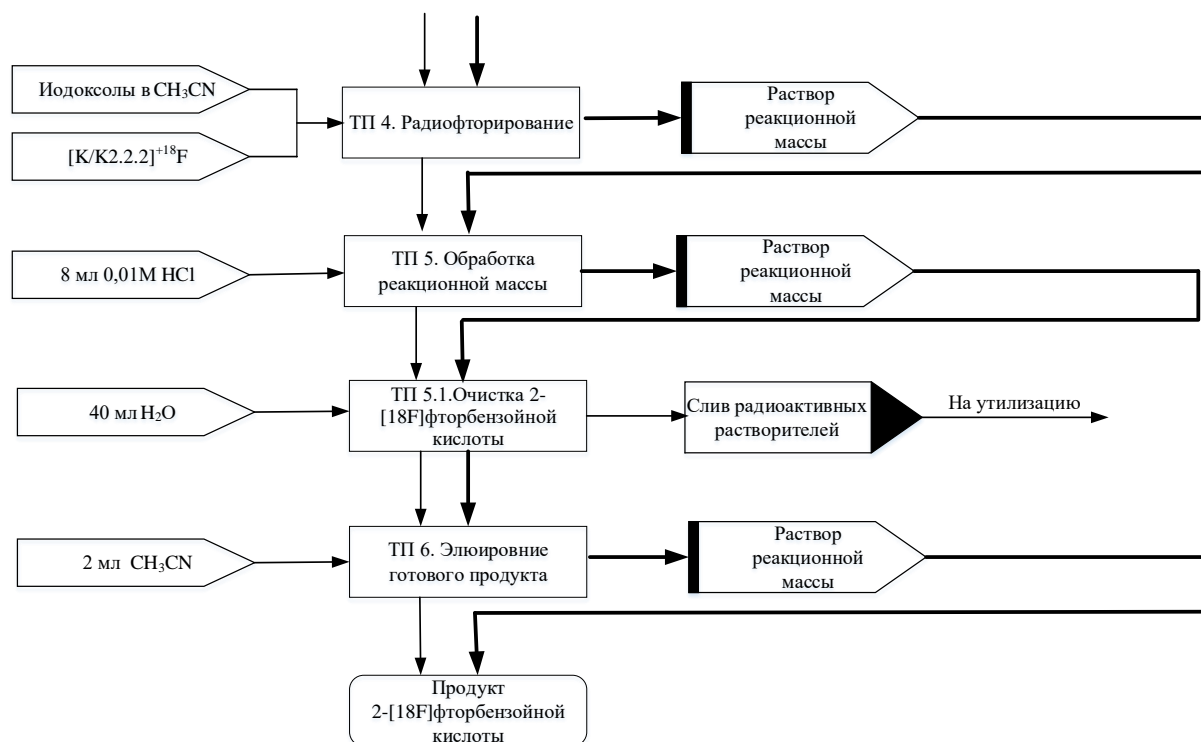


Рисунок 14 – Технологическая схема получения 2-[¹⁸F]фтор-5-нитробензойной кислоты из СПИ (3)

ВЫВОДЫ

- 1) Разработана технология радиофторирования эфиров ω-иодалифатических карбоновых кислот, с целью получения 18-фторсодержащих простетических групп.
- 2) Для радиофторирования ω-иодпроизводных алифатических карбоновых кислот разработаны алгоритмические скрипты для радиосинтеза [¹⁸F]-фторгексановой кислоты и сукцинимид-1-ил-6-[¹⁸F]-фторгексаноата, как простетических групп для получения РФЛП.
- 3) Разработана технология радиофторирования эфиров арилиодоксолов с целью получения 18-фторсодержащих ароматических карбоновых кислот, простетических групп.
- 4) Для радиофторирования арилбензоидоксолов разработаны алгоритмические скрипты автоматического радиосинтеза 2-[¹⁸F]-фтор-5-нитробензойной кислоты, как простетическая группа для получения РФЛП.

Основное содержание диссертации представлено в работах:

1. Larkina, M. S. Efficient Synthesis of ω - ^{18}F -Fluoroaliphatic Carboxylic Esters and Acids for Positron Emission Tomography / Larkina M. S., **Ozerskaya A. V.**, Podrezova (Kulibaba) E. V., Belousov M. V., Tolmachev V. M., Zhdankin V. V., Yusubov M. S. // European Journal of Organic Chemistry. – 2020. – Vol. 2020 – №40 – p. 6375-6380 DOI: <https://doi.org/10.1002/ejoc.202000934>.
2. **Озерская, А.В.** Методы радиофторирования: исторический очерк и современное состояние / Озерская А.В., Липайкин С.Ю., Белугин К.В., Токарев Н.А., Чанчикова Н.Г., Ларькина М.С., Подрезова Е.В., Белоусов М.В., Юсубов М.С. // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2022. – Т. 67. – № 3. – С. 59–66. DOI:10.33266/1024-6177-2022-67-3-59-66.
3. **Anastasia, V. Ozerskaya** «Synthesis of 2-fluorobenzoic acids by nucleophilic fluorination of 1- 3 arylbenziodoxolones» / Anastasia V. Ozerskaya, Mariia S. Larkina, Ekaterina V. Podrezova, Dmitrii Yu. Svitich, Roza Ya. Yusubova, Viktor V. Zhdankin, Mekhman S. Yusubov// Arkivoc. – 2022. – P.108-125. DOI: org/10.24820/ark.5550190.p011.868.
4. **Озерская, А.В.** Использование простетических групп для синтеза адресных молекул радиофармацевтических лекарственных препаратов для позитронной эмиссионной томографии / Озерская А.В., Белугин К.В., Бадмаев О.Н. // Сибирское медицинское обозрение. – 2021 – №128 – С.84-86. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-84-86.
5. **Озерская А.В.** Radiopharmaceutical Production Technology at the Nuclear Medicine Centre Siberian Research Clinical/ Озерская А.В., Белугин К.В., Токарев Н.А., Чанчикова Н.Г. Ларькина М.С., Подрезова Е.В., Белоусов М.В., Юсубов М.С. // Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals. – 2019 – Том 62. – выпуск S1. –С.407.
6. **Озерская А.В.** Radiofluorination of ω -iodoaliphatic carboxylic esters / Озерская А.В., Белугин К.В., Ларькина М.С., Подрезова Е.В.// Abstracts of virtual Summer School on Organic and Halogen Radiochemistry «CAFACHEM 2020» –2020.
7. **Озерская А.В.** Development of new aptamers labeled radiopharmaceuticals / Озерская А.В., Белугин К.В., Токарев Н.А., Чанчикова Н.Г. // Nuclear Medicine and Biology. Abstracts of the Society of Radiopharmaceutical Sciences eSRS 2021. Virtual Meeting. ISSN 0969-8051. – 2021. – том 96-97– С.543.
8. **Озерская А.В.** Разработка методов синтеза радиофармацевтических лекарственных препаратов, меченных радионуклидом фтор-18/ Озерская А. В., Белугин К. В., Бадмаев О. Н., Ларькина М. С., Подрезова (Кулибаба) Е. В. // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых, Томск. – 2020. – С. 505-507.
9. **Озерская А. В.** Разработка новых радиофармацевтических лекарственных препаратов в центре ядерной медицины ФГБУ ФСНКЦ ФМБА РОССИИ/ А.В. Озерская, К.В. Белугин // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: сборник материалов конференции: Томск: Изд-во СибГМУ. – 2021. – С.260.
10. Podrezova E. V. Cyclic ketones as important precursors for creating 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.
11. Podrezova E. V. Synthesis of ω -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.

12. Подрезова (Кулибаба) Е. В. Синтез β -фторзамещенных жирных кислот и их эфиров с использованием циклических кетонов / Подрезова (Кулибаба) Е. В. , Ларькина М. С. , Юсубов М. С. , **Озерская А. В.** , Белоусов М. В., Боденко В. В. // Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней: сборник тезисов научной конференции, Красновидово, 18-21 января 2019. - Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2019 - С. 149.