

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

На правах рукописи

Хасново Лутфи Адитья

**РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ РАДИОИОДИРОВАНИЯ ТАРГЕТНЫХ
МОЛЕКУЛ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ИОД-123 СОДЕРЖАЩИХ
РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

2.6.8 – Технология редких, рассеянных и радиоактивных элементов

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель
доктор фармацевтических наук, доцент
Ларькина Мария Сергеевна

Томск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. Литературный обзор.....	14
1.1. Методы и технологии получения иода-123.....	14
1.1.1. Теоретическая оценка выходов производства иода-123 на циклотроне.....	14
1.1.1.1 Поперечное сечение и выходы продуктов циклотрона	14
1.1.1.2. Тормозная способность (Stopping power)	16
1.1.1.3. Выход «толстой» мишени	17
1.1.2. Код TALYS для расчета ядерных реакций	20
1.1.3. Традиционные методы производства иода-123	22
1.1.3.1. Косвенные (непрямые) методы	23
1.1.3.2. Прямые методы	24
1.1.4. Оценка термодинамики накопления иода-123 при сухой дистилляции.....	26
1.2. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов на основе целевых молекул, меченных иодом-123	29
1.2.1. Методы радиоiodирования малых молекул	30
1.2.1.1. Электрофильное ароматическое замещение	30
1.2.1.2. Ароматическое нуклеофильное замещение	31
1.2.1.3. Реакции, катализируемые переходными металлами	34
1.2.2. Методы радиоiodирования макромолекул	37
1.2.2.1 Прямое радиоактивное iodирование	37
1.2.2.2. Непрямое радиоiodирование с использованием протетических групп	39
1.2.3. Получение лиганда PSMA, меченного радиоактивным иодом-123, для визуализации рака предстательной железы	41
1.2.4. Получение визуализирующих агентов на основе DARPIn, меченных радиоактивным иодом, для выявления рака.....	46
1.2.4.1. Меченный радиоактивным иодом DARPIn E01 для визуализации экспрессии EGFR при раке.....	46
1.2.4.2. Меченный радиоактивным иодом DARPIn G3 для визуализации экспрессии HER2/neu при раке.....	47
1.3. Заключение по главе 1	50
ГЛАВА 2. Экспериментальная часть: программное обеспечение, оборудование, материалы и методы.....	51
2.1. Программное обеспечение и оборудование	51
2.2. Реагенты и материалы	57

2.3. Контроль качества радиофармпрепаратов, меченных иодом-123	63
2.4. Метод исследования функции возбуждения и выхода реакции радиоактивного изотопа иода-123 с использованием кода ядерной реакции TALYS для медицинских применений..	64
2.5. Методика приготовления мишени из обогащенного $^{122}\text{TeO}_2$	64
2.6. Метод исследования сухой дистилляции иода-123 из обогащенной мишени $^{122}\text{TeO}_2$	65
2.7. Методы радиометрического анализа иода-123	65
2.7.1. Определение объемной активности раствора иода-123.....	65
2.7.2. Определение примесей радионуклидов в растворе иода-123.....	66
2.8. Методики синтеза лиганда PSMA на основе мочевины	66
2.9. Методики получения простетических групп	74
2.9.1. Синтез N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата/ N-succinimidyl 4-(trimethylstannyl) benzoate (STMSB)	74
2.9.2 Синтез N-((4-гидроксифенил)-этил)малеимида/ N-((4-hydroxyphenyl)-ethyl)maleimide (HPEM)	74
2.10. Методики получения экспериментальных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123 ...	75
2.10.1. Методика синтеза ^{123}I PSMA-p-IB	75
2.10.2. Методика синтеза DARPin ^{123}I I-(HE) ₃ -E01 и DARPin ^{123}I I-(HE) ₃ -G3.....	76
2.10.3. Методика синтеза радиоактивно меченой простетической группы ^{123}I SIB.....	77
2.10.4. Методика синтеза DARPin ^{123}I I-(HE) ₃ -E01-PIB	77
2.10.5. Методика синтеза радиоактивно меченой простетической группы ^{123}I HPER.....	78
2.10.6. Методика синтеза DARPin ^{123}I I-E01-E ₃ C-HPER и ^{123}I I-E01-G ₃ C-HPER.....	78
2.11. Методика определения липофильности: Log(D) ^{123}I PSMA-p-IB.....	79
2.12. Характеристика in vitro и исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123.....	79
ГЛАВА 3. Исследовательская часть: разработка методов получения иод-123-содержащих радиофармацевтических лекарственных препаратов для медицинской диагностики.....	80
3.1. Усовершенствование способа получения иода-123 из облученной дейтронами мишени $^{122}\text{TeO}_2$	80
3.1.1. Оптимизация разработки дизайна мишени из материала для обогащения теллура-122 и определение условий облучения	80
3.1.2. Изучение сухой дистилляции иода-123 из обогащенной мишени $^{122}\text{TeO}_2$	87
3.2. Разработка и синтез лигандов PSMA на основе мочевины	91
3.3. Разработка способа получения простетических групп	99
3.3.1. Синтез N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB).....	99
3.3.2. Синтез N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида (HPER)	102

3.4. Разработка способов получения радиофармпрепаратов, меченных иодом-123.....	104
3.4.1. Метод получения [^{123}I]PSMA-p-IB.....	104
3.4.1.1. Изучение влияния количества лиганда PSMA на радиохимический выход [^{123}I]PSMA-p-IB.....	105
3.4.1.2. Изучение влияния времени реакции на радиохимический выход [^{123}I]PSMA-p-IB...105	
3.4.1.3. Изучение влияния количества окислителя на радиохимический выход [^{123}I]PSMA-p-IB.....	106
3.4.2. Метод получения DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -E01 и DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -G3.....	110
3.4.3. Метод получения радиоактивно меченой простетической группы [^{123}I]SIB.....	112
3.4.4. Метод получения DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -E01-PIB	114
3.4.4.2. Изучение влияния соотношения между радиоактивно иодированной простетической группой ([^{123}I]SIB) и DARPin на радиохимический выход DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -E01-PIB	115
3.4.5. Метод получения радиоактивно меченой простетической группы [^{123}I]HPHEM	117
3.4.6. Метод получения DARPin [^{123}I]I-E01-E ₃ C-HPHEM и DARPin [^{123}I]I-E01-G ₃ C-HPHEM.....	119
3.5. Характеристика in vitro и исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123.....	123
3.6. Заключение по главе 3	123
ГЛАВА 4. Принципиальные схемы получения простетических групп и радиофармпрепарата, содержащих иод-123.....	126
4.1. Принципиальная схема получения DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -G3 и ее описание	126
4.2. Принципиальная схема получения меченой радиоидом простетической группы N-сукцинимидил-4-[^{123}I]иодбензоата ([^{123}I]SIB) и ее описание	129
4.3 Принципиальная схема получения меченой радиоидом простетической группы 3-[^{123}I]иод-((4-гидроксифенил)этил)-малеимида ([^{123}I]HPHEM) и ее описание	133
4.4. Экономический анализ разработанных технологий.....	135
4.4.1 Экономический анализ разработанной технологии получения простетического DARPin [^{123}I]I-(HE) ₃ -G3.....	135
4.4.2 Экономический анализ разработанной технологии получения меченой радиоидом простетической группы N-сукцинимидил-4-[^{123}I]иодбензоата ([^{123}I]SIB)	136
4.4.3 Экономический анализ разработанной технологии получения меченой радиоидом простетической группы 3-[^{123}I]иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ([^{123}I]HPHEM) .	137
4.5 Заключение по главе 4.....	138
ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ.....	139
БЛАГОДАРНОСТИ.....	141
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ:	142

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	144
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	146
Приложение А. Копия патента № 2815777	163
Приложение Б. Справка об использовании в практике результатов	164
Приложение В. Дополнительная информация.....	165

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Радионуклидная молекулярная визуализация раково-ассоциированных мишеней рассматривается как мощный инструмент для диагностики и стратификации пациентов для целевого лечения [1]. В основе методов молекулярной визуализации лежат методы ядерной медицины - однофотонная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная компьютерная томография (ПЭТ).

В качестве радионуклида для диагностических целей перспективен иод-123 (^{123}I) – гамма-излучатель с оптимальными характеристиками (энергия излучения 159 кэВ, период полураспада $T_{1/2} = 13,2$ ч) для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). Использование ^{123}I в процессах визуализации позволяет получить гораздо меньшую дозу облучения пациента [2]. Кроме того, срок годности этого радионуклида достаточно велик, что позволяет распространять его на большой географической территории [3]. С появлением ОФЭКТ-камер в периферийном оборудовании больниц и их более низкой стоимостью по сравнению с ПЭТ, рынок и полезность радиофармпрепарата, меченного ^{123}I , могут увеличиться.

Разработка радиофармпрепаратов для диагностики и стадирования рака в значительной степени зависит от различных критериев. Большинство ранее разработанных препаратов для радионуклидной молекулярной визуализации опухолей были основаны на моноклональных антителах (mAb) [4-6]. Тем не менее, существуют очевидные проблемы, связанные в первую очередь с размером антитела. В последние годы все большее признание получает потенциал небольших белков-скаффолдов как жизнеспособной альтернативы антителам в лечении и выявлении рака. Рекомбинантные белки с анкириновыми повторами, или designed ankyrin repeat proteins (DARPin), построены с использованием серии близко расположенных повторов, обычно состоящих из 33 аминокислотных остатков. Небольшой размер DARPin может повысить

эффективность доставки радионуклида, способствуя улучшению экстравазации и проникновению в опухоль [7, 8]. Другой стратегией замены антител для диагностики и стадирования некоторых видов рака является использование небольших радиофармацевтических препаратов, которые специфически нацелены на ферменты, регулируемые на поверхности раковых клеток, например, использование простат-специфического мембранного антигена или prostate-specific membrane antigen (PSMA) лиганда для диагностики рака простаты [2, 9].

Определение методов радиоiodирования для DARPin и PSMA-лигандов изначально сложнее из-за их меньших размеров. Физико-химические характеристики веществ значительно изменяются под действием условий радиосинтеза. Выбор технологии радиоiodирования может повлиять на несколько аспектов взаимодействия разработанного таргетного молекулярного соединения с предполагаемой молекулярной мишенью. К ним относятся прочность связывания, способ обработки таргетного соединения внутри клеток, степень удержания радиометаболитов в злокачественных клетках после интернализации, а также возникновение непреднамеренных взаимодействий с незлокачественными тканями [10]. Кроме того, могут быть изменены пути первичного выведения радиоактивного вещества для визуализации, его абсорбция и задержка в органах выделения, а также выведение его радиометаболитов [11]. Поэтому разработка надежных технологий радиоiodирования, их оптимизированные условия для получения эффективного радиофармпрепарата является крайне необходимой.

Объем производства радионуклида ^{123}I и радиофармпрепаратов на основе ^{123}I в России нуждается в совершенствовании из-за отсутствия удобной технологии его количественной и качественной отработки на имеющихся в стране циклотронах среднего размера типа У-120. Кроме того, до настоящего времени в России не существует общего стандарта и технологий, эффективно определяющих наиболее информативный метод синтеза радиофармпрепаратов, меченных этим радионуклидом. Поэтому разработка новых методов получения

иода-123 и технологий радиоiodирования новых таргетных молекул для производства радиофармацевтических лекарственных препаратов на основе иода-123 для медицинской диагностики является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследований

Разработка радиофармпрепаратов на основе ^{123}I продолжается во всем мире. Завод «Медрадиопрепарат» ФМБА имени А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства, Москва (Корсунский В.Н., Халитов Ю.М., Кодина Г.Е. и др.) и Радиевый институт имени В.Г. Хлопина (Куделин Б.К., Алексеев Ф.Е., Гребенщиков Н.Р. и др.), Санкт-Петербург – пионерские предприятия, выполняющие работы по данной тематике в России. В Томском политехническом университете на циклотроне Р-7М на основе реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ изучается получение ^{123}I и препаратов на его основе (Скуридин В.С., Гарапацкий А.А. и др.). Работы по выделению радиоактивного иода из TeO_2 -мишеней были начаты в Дании (Фонслет Дж. и Козиоровски Дж.). Разработкой радиофармацевтических препаратов на основе ПСМА, меченного иодом-123, занимаются также в США (Чен Й., Помпер М.Г. и др.) в Массачусетсе и Мареска К.П., Хиллер С.М. и др. в Иллинойсе. Кроме того, разработкой радиофармпрепаратов на основе DARPin , меченных иодом-123, занимаются ученые из Швеции (Воробьева А., Толмачев В. и др.) совместно с НИЦ «Онкотераностика» ТПУ.

Учитывая вышесказанное, **целью** данной работы является разработка способов радиоiodирования новых таргетных молекул для производства радиофармацевтических лекарственных препаратов на основе иода-123 для диагностики онкологических заболеваний.

Основные задачи исследований:

1. Усовершенствовать способ получения иода-123 на циклотроне типа У-120 Томского политехнического университета с использованием установки для сухой дистилляции иода-123 из мишени оксида теллура-122 обогащенного по ^{122}Te до 99,6 % для производства радиофармпрепаратов на основе иода-123.

2. Провести исследования по синтезу, оптимизации ^{123}I -радиоiodирования и первоначальной оценке новых ингибиторов PSMA на основе мочевины с трибутилстанниловой простетической группой в качестве средств визуализации рака простаты.
3. Разработать способы радиосинтеза иод-123-содержащих простетических групп N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (HPEM) для непрямого мечения таргетных белков.
4. На основе иод-123-содержащих простетических групп STMSB и HPEM разработать способы непрямого радиосинтеза вариантов таргетных белков DARPin E01 для диагностики EGFR-экспрессирующего рака.
5. На основе таргетных белков DARPin разработать способы прямого радиосинтеза иод-123-содержащих DARPin E01 и DARPin G3 с высокими радиохимическими выходами в одностадийном производстве.
6. Разработать принципиальные схемы радиосинтеза ^{123}I -простетических групп и ^{123}I -DARPin G3 для получения новых таргетных радиофармацевтических лекарственных препаратов.

Научная новизна работы

1. Усовершенствование способа получения иода-123 на циклотроне типа У-120 Томского политехнического университета с использованием установки для сухой дистиляции иода-123 из мишени оксида теллура-122, обогащенного по ^{122}Te до 99,6% и обладающей активностью, достаточной для производства радиофармпрепаратов на основе иода-123, включая реализацию функций автоматического контроля температуры камеры и измерение активности иода-123 в процессе сухой дистиляции иода-123 из мишени.
2. Впервые разработаны новые ингибиторы PSMA на основе мочевины с трибутилстанниловой простетической группой, включая оптимизацию ^{123}I -радиоiodирования и первоначальную доклиническую оценку новых ингибиторов PSMA на основе мочевины в качестве агентов визуализации рака простаты.

3. Впервые разработаны основы способов получения двух простетических групп N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (HPEM), меченых иодом-123, с высокими выходами и чистотой для радиоiodирования таргетных белков.
4. Впервые исследованы особенности способов прямого и непрямого радиосинтеза иод-123-содержащих таргетных белков вариантов DARPin, предлагаемых для создания новых таргетных радиофармацевтических лекарственных препаратов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в получении расчетной информации получения ^{123}I с использованием данных сечения реакции $^{122}\text{Te}(\text{d},\text{n})^{123}\text{I}$ с помощью кода TALYS и останавливающей силы для оптимизации конструкции толщины мишени для получения ^{123}I на циклотроне с оптимальным выходом.

Полученные результаты по разработке методов синтеза двух простетических групп N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (HPEM), меченых иодом-123, имеют практическое значение для оптимизации и расширения разработки радиофармпрепаратов на основе белков и пептидов, требующих в процессе мечения наличия простетической группы.

Предложены эффективные способы радиосинтеза ряда иод-123-содержащих таргетных молекул на основе ингибиторов PSMA и белков DARPin, доклинические исследования которых позволят отобрать лучших кандидатов для создания эффективных радиофармпрепаратов для диагностики и стратификации пациентов для терапии.

Получен патент № 2815777 от 08.06.2023 «Способ получения радиохимического соединения на основе меченных иодом-123 рекомбинантных адресных молекул белковой природы с анкириновыми повторами для визуализации рака с гиперэкспрессией HER2/neu»

Проведены в Томском НИМЦ НИИ Онкологии пилотные клинические исследования экспериментального препарата ^{123}I -DARPin G3, полученного по изобретенному способу, для визуализации рака молочной железы с гиперэкспрессией HER2/neu. Применение радиофармпрепарата на основе ^{123}I и DARPin G3 эффективно в визуализации первичных опухолей, регионарных и метастазов рака молочной железы с гиперэкспрессией рецепторов HER2/neu и без их экспрессии. Препарат является функционально пригодным, необходимы дальнейшие исследования (ClinicalTrials.gov ID: NCT05923177, 2023, <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05923177?term=DARPin%20G3&rank=4>).

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования является системный подход к разработке способов получения радиофармацевтических лекарственных препаратов с учетом применяемых в мировой практике стандартизованных требований к контролю качества получаемого радиофармацевтического препарата, содержащего иод-123, по радионуклидной чистоте, радиохимической чистоте, характеристикам *in vitro* и *in vivo* с систематической обработкой полученных результатов.

В ходе работы были использованы различные методы и методики аналитического контроля синтезированных субстратов и радиофармпрепаратов: метод ядерно-магнитно-резонансной спектроскопии, методы высокоэффективной жидкостной и тонкослойной хроматографии, метод масс-спектрометрии высокого разрешения, методы радиометрического анализа и метод определения pH. В проведенных исследованиях использованы следующие методы и методики: методика приготовления мишени, обогащенной $^{122}\text{TeO}_2$, методика изучения сухой дистилляции йода-123 из обогащенной мишени $^{122}\text{TeO}_2$, методика проведения радиометрических измерений йода-123, методика получения простетических групп, методика синтеза лигандов PSMA на основе мочевины, методика радиосинтеза простетических групп, меченных ^{123}I , методика радиосинтеза вариантов DARPin, содержащих иод-123, методика определения *in vitro* характеристик:

липофильности, специфичности связывания с клетками и аффинности связывания с рецепторами, методика определения биораспределения радиофармпрепарата в мышцах, методы статистической обработки результатов.

Положения, выносимые на защиту

По результатам работы сформулированы положения, выносимые на защиту:

1. Усовершенствование получение иода-123 с выходом 94% на циклотроне типа У-120 Томского политехнического университета с использованием установки для сухой дистилляции иода-123 из мишени оксида теллура-122, обогащенного по ^{122}Te до 99,6% и обладающей активностью, достаточной для производства радиофармпрепаратов на основе иода-123, включая реализацию автоматического контроля температуры камеры и измерение активности иода-123 в процессе сухой дистилляции иода-123 из мишени.
2. Получение новых ингибиторов PSMA на основе мочевины с трибутилстанниловой простетической группой, включая оптимизацию ^{123}I -радиодирования и первоначальную доклиническую оценку новых ингибиторов PSMA на основе мочевины в качестве агентов визуализации рака простаты.
3. Способы получения двух простетических групп N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (НРЕМ), меченых иодом-123, с высокими выходами и чистотой для радиоиодирования таргетных белков.
4. Способы прямого и непрямого радиосинтеза иод-123-содержащих таргетных белков вариантов DARPin, перспективных для получения новых радиофармацевтических лекарственных препаратов.

Личный вклад автора

Все основные результаты работы получены лично автором или при его непосредственном участии: обзоре литературы по теме, постановке целей исследования, выборе экспериментальных методов, анализе и интерпретации полученных экспериментальных данных, а также в написании диссертации и подготовке материалов к публикации.

Степень достоверности результатов

Результаты данного исследования не противоречат экспериментальным данным, имеющимся в литературе по синтезу и контролю качества радиофармпрепаратов, и соответствуют общепринятым представлениям о молекулярных принципах и процессах. Анализ полученных данных проводился сертифицированными методами контроля качества с использованием поверенного и сертифицированного аналитического оборудования.

Апробация работы

Результаты работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих конференциях:

1. III Международной Научно-практической Конференции “Научная Инициатива Иностранных Студентов и Аспирантов” (Tomsk, April 25–27, 2023).
2. II Международная Научно-практическая Конференция Разработка Лекарственных Средств – Традиции и Перспективы (Tomsk, October 4–6, 2023).
3. 21st European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals (ESRR) (Coimbra, Portugal, April 18 – 21, 2024).

Публикации

На основе первичных материалов диссертации было опубликовано семь печатных работ, в том числе 1 статья в рецензируемом журнале перечня ВАК, две статьи в журналах Scopus/Web of Science, получен один патент Российской Федерации и опубликовано три тезиса докладов в сборниках российских и международных конференций.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, дополнительных сведений и списка литературы из 128 наименований. Работа изложена на 194 страницах, содержит 81 рисунка, 21 таблицу и 3 приложения.

ГЛАВА 1. Литературный обзор

Начиная с 1900-х годов, с открытия радиоактивных полония и радия Марией и Пьером Кюри в 1898 году [12], радиоактивные изотопы стали использоваться в медицине. Правильное сочетание радиоизотопа и доставляемого соединения позволяет получить радиофармпрепарат, обеспечивающий оптимальную производительность для визуализации в ядерной медицине. Идеальный радиофармпрепарат должен предоставлять адекватную диагностическую информацию и сводить к минимуму радиационное воздействие. Кроме того, радиофармпрепараты также должны быть доступны для обнаружения с помощью процедур ядерной медицины.

Использование радиофармпрепаратов на основе белка для визуализации биохимических изменений, происходящих при любом заболевании, обеспечило всемирное признание применения этих препаратов для диагностики заболеваний в ядерной медицине. Для получения радиофармпрепаратов на основе белка, обладающих уникальными возможностями, упомянутыми ранее, эффективная методология получения радиоактивных изотопов и процесс мечення доставляемого белка радиоактивными веществами (радиомечение) рассматриваются как одна из основных основ разработки лекарственных средств на ядерной основе.

В этой главе представлена необходимая справочная информация по физике, связанной с радиоактивностью и радиоактивными изотопами (особенно иодом-123), проведен обзор и обобщение работ, посвященных методам получения иода-123, а также описаны методы и технологии, связанные с радиоактивным иодированием белков, для получения радиофармпрепаратов на основе белка для выявления рака.

1.1. Методы и технологии получения иода-123

1.1.1. Теоретическая оценка выходов производства иода-123 на циклотроне

1.1.1.1 Поперечное сечение и выходы продуктов циклотрона

Распад радиоактивного нуклида является изначально спонтанным процессом, что делает точное время его радиоактивного перехода

непредсказуемым. Концепция радиоактивного распада основана на принципах вероятности и средних скоростей распада. Средняя скорость распада образца, состоящего из N атомов, может быть выражена как:

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda \cdot N \quad (1.1)$$

где λ представляет собой постоянную распада, которая количественно определяет долю ядер радиоизотопа, подвергающихся распаду в течение заданного периода времени.

Количество активности, генерируемой реакцией во время облучения, определяется интенсивностью пучка частиц, числом ядер мишени в материале и сечением реакции, которое количественно характеризует вероятность этого контакта. Поперечное сечение (σ) можно определить как «репрезентативную область», где больший размер соответствует более высокой вероятности взаимодействия. Единица измерения поперечного сечения эквивалентна единице измерения площади, при этом наиболее часто используемой единицей является барн ($1 \text{ б} = 10^{-28} \text{ м}^2$) или миллибарн ($1 \text{ мб} = 10^{-31} \text{ м}^2$). Рассмотрим сценарий, в котором поток дейтронов ударяет по материалу мишени под прямым углом, с потоком частиц ϕ (частиц в секунду на квадратный сантиметр). Предполагая, что мишень достаточно тонкая, чтобы дейтроны сохраняли энергию при прохождении через нее. Скорость реакции R можно выразить как:

$$R = N_t \cdot \sigma \cdot \phi \quad (1.2)$$

где σ – сечение активации в мб, а N_t – количество ядер-мишеней на единицу площади [см^{-2}].

Когда нуклид, который производится в циклотроне, является радиоактивным, он будет далее распадаться на свои дочерние элементы. Таким образом, объединяя уравнения (1.1) и (1-2), скорость распада можно записать как:

$$\frac{dN}{dt} = R - \lambda \cdot N \quad (1.3)$$

Решая уравнение (1.3), число атомов и активность полученного изотопа составляют:

$$N_t = \frac{R}{\lambda} (1 - e^{-\lambda \cdot t_{irr}}) = \frac{N_t \cdot \sigma \cdot \phi}{\lambda} (1 - e^{-\lambda \cdot t_{irr}}) \quad (1.4)$$

$$A_{EOB}(t_{irr}) = \lambda \cdot N = R(1 - e^{-\lambda \cdot t}) = N_t \cdot \sigma \cdot \phi(1 - e^{-\lambda \cdot t_{irr}}) \quad (1.5)$$

Эту формулу можно изменить следующим образом:

$$A_{EOB}(t_{irr}) = N_t \cdot \sigma \cdot \frac{I}{Z_p \cdot e} (1 - e^{-\lambda \cdot t_{irr}}) \quad (1.6)$$

где I – ток пучка снаряда, Z_p – атомный номер снаряда, e – элементарный заряд.

Очевидно, что выходы (активности или количество атомов) продуктов будут зависеть от времени облучения (t_{irr}). Однако при рассмотрении случая $t_{irr} \rightarrow \infty$, выход продукта достигнет своего значения насыщения. Часть $(1 - e^{-\lambda t_{irr}})$ называется коэффициентом насыщения/saturation factor (SF).

В практических целях целесообразно ограничить время облучения максимум тремя-четырьмя периодами полураспада. К этому моменту объем генерируемой активности достигнет примерно 90% от ее выхода насыщения [13].

1.1.1.2. Тормозная способность (Stopping power)

Замедление заряженной частицы на единицу расстояния называется тормозная способность материала мишени и обозначается как $S(E) = \frac{dE}{dx}$. Величина останавливающей способности зависит от характеристик и энергии бомбардирующих частиц, а также от свойств и плотности материала мишени. Пробег (x) заряженной частицы внутри мишени равен

$$x = \int_0^{E_0} \frac{1}{S(E)} dE \quad (1.7)$$

где E_0 начальная энергия падающих частиц.

Тормозная способность обычно включает в себя две различные формы: электронная тормозная способность, которая относится к замедлению заряженной частицы в результате неупругого взаимодействия со связанными

электронами в материале мишени, и ядерная тормозная способность, которая возникает в результате упругих столкновений между заряженной частицей и ядрами материала мишени. При низкой энергии ядерная тормозная способность может превышать электронную тормозную способность. Тем не менее, когда речь идет о сверхлегких ионах, движущихся через плотные материалы, ядерная тормозная способность неизменно оказывается менее мощной, чем электронная тормозная способность, независимо от задействованной энергии. Рисунок 1.1 иллюстрирует две различные тормозные способности и степень проникновения дейтрона при прохождении через твердый, однородный материал Te-122. Данные были получены с помощью SRIM – программного обеспечения, специально разработанного для оценки тормозной способности [14].

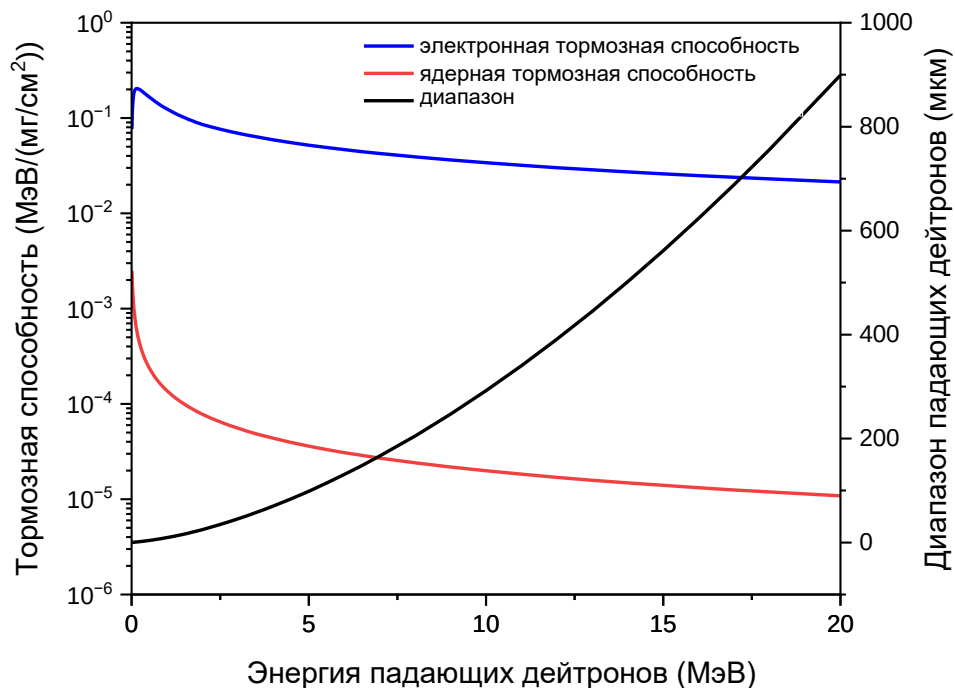


Рисунок 1.1 – Два типа тормозных способностей и пробег дейтронов при прохождении через твердый чистый теллур-122 [14]

1.1.1.3. Выход «толстой» мишени

Соотношение между N_t ядер на единицу площади [см^{-2}], числом n_{stab} стабильных ядер на единицу массы [г^{-1}], толщиной d [см] мишени (фольги) и ее плотностью ρ [$\text{г}/\text{см}^3$] может быть выражено следующим образом:

$$N_t = d \cdot \rho \cdot n_{stab} \quad (1.8)$$

n_{stab} , который представляет собой количество стабильных ядер мишени на единицу массы, рассчитывается путем деления количества таких ядер на моль (константа, N_A) на молярную массу M мишени::

$$n_{stab} = H \cdot \frac{N_A}{M} \quad (1.9)$$

где H представляет собой чистоту целевого материала и распространенность целевого изотопа, соответствующего интересующей ядерной реакции. Например, при облучении теллура в форме такого соединения, как $^{122}\text{TeO}_2$, необходимо учитывать $M = 154$ г/моль, поскольку одно ядро мишени эквивалентно одной молекуле.

Толщина мишени, d , имеет линейную единицу измерения, но лучше выражать ее в поверхностной плотности x [г/см²]:

$$x = d \cdot \rho \quad (1.10)$$

исходя из уравнений 1.8, 1.9 и 1.10, количество ядер на единицу площади можно рассчитать следующим образом:

$$N_t = x \cdot H \cdot \frac{N_A}{M} \quad (1.11)$$

При получении радиоизотопов путем облучения материала мишени с помощью заряженных частиц крайне важно определить эффективность этого процесса для каждого конкретного радиоизотопа и условий облучения. Рассматриваемая метрика называется «Выход мишени» («Target Yield», TY) или «Выход «толстой» мишени» («Thick Target Yield», TTY) в некоторых случаях. Его можно понимать как количество произведенной активности (измеряемой в Бк), деленное на интенсивность пучка (измеряемую в А) и продолжительность облучения (измеряемую в с), следующим образом:

$$TY = \frac{A_{EOB}}{I \cdot t_{irr}} \quad (1.12)$$

Однако это соотношение предполагает, что A_{EOB} пропорционален t_{irr} что неверно, поскольку часть произведенной активности затухает при более

длительном облучении, что приводит к более низкому A_{EOB} . Поэтому следует учитывать коэффициент распада.

Тем не менее, это предположение о пропорциональном соотношении между A_{EOB} и t_{irr} неверно из-за снижения части генерируемой активности в течение более длительных периодов облучения, что приводит к снижению A_{EOB} . Следовательно, необходимо учитывать коэффициент распада, чтобы они были следующими:

$$TY = \frac{A_{EOB} \cdot \lambda}{I \cdot (1 - e^{(-\lambda \cdot t_{irr})})} \quad (1.13)$$

На основе уравнений 1.6, 1.11, 1.12, и останавливающей способности снаряда dE/dx , фактор ТУ для снаряда, охватывающего диапазон энергий $E_{max} \rightarrow E_0$, определяется как:

$$TY = \frac{H \cdot N_A \cdot \lambda}{M \cdot Z_p \cdot e} \cdot \int_{E_0}^{E_{max}} \frac{\sigma(E)}{dE/dx} dE \quad (1.14)$$

Как правило, для получения значительного уровня активности процесс изготовления включает в себя облучение мишеней достаточной толщины, чтобы снизить начальную энергию (E_{max}) снаряда до желаемого порога реакции (E_{thr}). Это оптимизирует генерируемую активность A_{EOB} путем изменения желаемой толщины без учета дополнительных факторов, таких как температурные ограничения, стоимость материала или механическая обработка. В этом случае выход мишени называется «Выход «толстой» мишени» («Thick Target Yield», ТТУ):

$$TTY = \frac{H \cdot N_A \cdot \lambda}{M \cdot Z_p \cdot e} \cdot \int_{E_{thr}}^{E_{max}} \frac{\sigma(E)}{dE/dx} dE \quad (1.15)$$

Единицей измерения ТУ и ТТУ является $[(\text{Кл} \cdot \text{с})^{-1}] = [\text{Бк} \cdot (\text{А} \cdot \text{с})^{-1}]$. Однако более часто используемое выражение – $[\text{МБк} \cdot (\text{мкА} \cdot \text{ч})^{-1}] = [\text{МБк}/\text{мкА} \cdot \text{ч}]$. В ходе этой работы использовалось программное обеспечение под названием «Radionuclide Yield Calculator» для автоматизации расчета ТУ и ТТУ для заданного сценария.

1.1.2. Код TALYS для расчета ядерных реакций

Многие исследователи исследуют функции возбуждения и механизмы ядерных реакций для моделирования производства различных радиоизотопов, используя реакционные коды, такие как TALYS, EMPIRE и ALICE. После этого параметры и различные модели плотности ядерных уровней, которые являются важнейшими компонентами в статистических моделях реакций, корректируются для оптимизации получения желаемых радиоактивных выходов [15]. В дополнение к проверке точности текущих экспериментальных данных, расчеты были необходимы для определения функции возбуждения для диапазонов энергий, в которых экспериментальные данные отсутствовали [16].

В настоящее время код TALYS [17] широко используется для практических оценок сечений реакций как нейтронов, так и заряженных частиц. Эту систему можно использовать для теоретических исследований ядерных реакций и оценки ядерных данных. Код может вычислять сечения для всех каналов реакции, доступных при указанной пользователем энергии падающей частицы. Для определения вклада каждого механизма реакции код использует различные ядерные модели для каждого механизма.

TALYS предлагает гладкое и непрерывное описание ядерных реакций в широком диапазоне масс и энергий. «Back-shifted Fermi gas model» описывает непрерывность уровней при более высокой энергии. Доступные стандартные модели были использованы для рассмотрения прямых, предравновесных и сложных реакций. Локальные и глобальные параметризации обеспечивают потенциалы оптической модели TALYS по умолчанию для дейтрона [18]. Основной целью разработки кода TALYS является анализ процессов ядерных реакций. Модели, основанные на падающих частицах, обладают высокой гибкостью, что приводит к близкому соответствию экспериментальным данным [16]. В коде TALYS структура ядра, оптическая модель, дискретные уровни и параметры деформации были в основном получены из библиотеки входных параметров RIPL-3 МАГАТЭ [19].

Хандакер и др. [20] сообщили о независимых и кумулятивных сечениях образования для ядерных процессов $^{nat}\text{Ti}(p,x)^{48}\text{V}$, $^{43,44m,44g,46,47,48}\text{Sc}$. Теоретические данные из кодов TALYS и ALICE-IPPE критически используются для сравнения экспериментально полученных значений и ранее представленных данных. Результаты этого исследования показали, что данные, полученные с помощью TALYS, показывают функцию возбуждения, аналогичную по форме и величине для реакции $^{nat}\text{Ti}(p,x)^{48}\text{Sc}$. Кроме того, TALYS также показал хорошее соответствие в форме функции возбуждения для процесса реакции $^{nat}\text{Ti}(p,x)^{44g,47}\text{Sc}$. Код модели TALYS также выдает функцию возбуждения, которая лучше согласуется с измеренными данными по сравнению с предсказаниями кода ALICE-IPPE для реакции $^{nat}\text{Ti}(p,x)^{48}\text{V}$ [20].

Занеб и др. (2016) [21] сообщили об оценке данных сечения ядерной реакции для производства ^{87}Y и ^{88}Y посредством трансмутаций, вызванных дейтронными частицами. Литературные данные сравнивались с расчетами ядерной модели с использованием кодов ALICE-IPPE, TALYS 1.6 и EMPIRE 3.2. Результаты показывают, что для реакции $^{nat}\text{Zr}(d,x)^{87}\text{Y}$ сечения, рассчитанные с помощью TALYS, хорошо согласуются с результатами ранее опубликованных экспериментов вплоть до энергии 30 МэВ. Данные, полученные с помощью TALYS, также демонстрируют хорошее сходство с представленными экспериментальными данными для реакции $^{nat}\text{Zr}(d,x)^{88}\text{Y}$ вплоть до энергии 20 МэВ [21].

Амджед и др. (2016) [22] использовали ядерные модельные коды ALICE-IPPE, EMPIRE и TALYS для проверки согласованности экспериментальных данных для реакции $^{54}\text{Fe}(d,n)^{55}\text{Co}$. Однако пик всех теоретических кривых, по-видимому, смещается в сторону более низких энергий, около 2 МэВ.

ALICE, IPPE, TALYS и EMPIRE демонстрируют соответствие друг другу до точки пика своих соответствующих кривых, но после этого имеют различное поведение. Коды обычно переоценивают поперечное сечение до достижения пика, но после достижения пика эта закономерность меняется на противоположную. К сожалению, теоретические предсказания функций

возбуждения, сделанные TALYS, EMPIRE и ALICE-IPPE, демонстрируют недостаточную точность; вероятно, это связано с распадом дейтрона [22].

Здесь следует отметить, что в коде TALYS существует множество различных комбинаций входных параметров, таких как ядерная структура, оптическая модель, дискретные уровни и параметры деформации. Настраиваемые параметры кода ядерной модели необходимо варьировать в рекомендуемых пределах, чтобы точно воспроизвести экспериментальные данные. В экспериментальной работе данной диссертации код TALYS используется для расчета теоретического сечения реакции, индуцированной дейтронами, на обогащенном 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$.

1.1.3. Традиционные методы производства иода-123

Иод-123 является одним из наиболее удобных радионуклидов для проведения ОФЭКТ [23]. ^{123}I имеет относительно низкоэнергетическое гамма-излучение 159 кэВ с высоким выходом 83,6% и коротким периодом полураспада 13,22 часа, ^{123}I очень хорошо подходит для гамма-камер. Внедрение в диагностическую практику ^{123}I вместо ^{131}I с периодом полураспада 8,04 суток позволило снизить дозу облучения пациента в 100 раз [24]. Характеристики ^{123}I представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Характеристики распада иода-123 [25]

Радиоизотоп	$T_{1/2}$	Режим распада	Основная энергия γ -излучения, интенсивность (кэВ)	Интенсивность (%)
Иод-123	13,22 ч	ε : 100%	0,5385	0,27
			0,5290	1,05
			0,5056	0,26
			0,4404	0,35
			0,1591	83,6

На основании известных реакций получения ^{123}I все реакции можно условно разделить на две группы: прямые, в результате которых непосредственно образуется ^{123}I , и непрямые, протекающие через образование короткоживущих предшественников. Примерами косвенных методов являются

$^{127}\text{I}(\text{p},5\text{n})^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$, $^{127}\text{I}(\text{p},5\text{n})^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$ [24], and $^{124}\text{Xe}(\text{p},2\text{n})^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$ [26]. Между тем прямые методы – это $^{124}\text{Te}(\text{p},2\text{n})^{123}\text{I}$, $^{123}\text{Te}(\text{p},\text{n})^{123}\text{I}$, $^{122}\text{Te}(\text{d},\text{n})^{123}\text{I}$ [27-29].

1.1.3.1. Косвенные (непрямые) методы

Непрямой путь реагирования $^{127}\text{I}(\text{p},5\text{n})^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$, использованный в коммерческом синтезе ^{123}I с использованием бомбардировки высокоэнергетическими протонами из природного иода (моноизотопного ^{127}I), основанном на непрямом пути $^{127}\text{I}(\text{p},5\text{n})^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$, требует падающей энергии не менее 37,06 МэВ [24]. Эта косвенная реакция может обеспечить высокую чистоту радионуклида, поскольку образование долгоживущей примеси ^{124}I теоретически предотвращается [30]. Дикшич и др. сообщили, что оптимальная энергия для облучения мишени из KI толщиной 0,5–1,3 г см⁻² для получения ^{123}Xe составляет около 60 МэВ. К сожалению, полученный продукт будет загрязнен из-за присутствия ^{125}Xe (4–6%), ^{122}Xe и ^{127}Xe (менее 1%) [31].

Непрямой путь реагирования $^{124}\text{Xe}(\text{p},\text{pn})^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$. Куренков и др. провели инструментальные измерения функции возбуждения протон-индуцированных ядерных реакций на ^{124}Xe вплоть до энергии протонов ~33 МэВ для получения ^{123}I . Одной из наблюдаемых реакций была $^{124}\text{Xe}(\text{p},\text{pn})^{123}\text{Xe}$, при этом в качестве мишени использовался высокообогащенный газ 99,9% [32]. Хотя ^{121}I был неизбежным загрязнителем, было отмечено, что более длительное время облучения и увеличенное время охлаждения перед разделением резко снизили уровень загрязнения ^{121}I . ^{121}I ($T_{1/2} = 2,12$ ч) распадается на ^{121}Te . Герман и др. сообщили о допустимом уровне загрязнения $^{121}\text{Te}/^{123}\text{I} = 5 \times 10^{-4}$ через 52 ч после разделения $^{121}\text{I}/^{123}\text{I}$, что соответствует 1% загрязнения ^{121}I при разделении [26].

Непрямой путь реагирования $^{124}\text{Xe}(\text{p},2\text{n})^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$. Содержание ^{124}Xe в природном ксеноне составляет всего 0,10%, поэтому в качестве мишени в основном используется обогащенный материал, если требуется высокая чистота. Производство ^{123}I с использованием метода

бомбардировки высокообогащенного ^{124}Xe протонами приведет к образованию загрязняющих веществ ^{121}I . Однако допустимое загрязнение 0,05% $^{121}\text{Te}/^{123}\text{I}$ может быть получено только через 52 часа после процесса разделения $^{121}\text{I}/^{123}\text{I}$, что соответствует загрязнению 1% ^{121}I . К сожалению, необходимо облучать протонами с энергией 20-65 МэВ [33].

Фотоядерные реакции также отмечены как особенно перспективные для крупномасштабного производства иода-123: $^{124}\text{Xe}(\gamma, n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$ и $^{124}\text{Xe}(\gamma, p)^{123}\text{I}$. Например, в Курчатовском институте на основе фотоядерных реакций работает сильноточный ускоритель электронов «Факел». Иод-123 может быть получен с активностью 37 ± 2 ГБк и содержанием радионуклидной примеси 0,02%. Ксеноновая мишень облучается тормозным γ -излучением электронного пучка с энергией 30 МэВ и током пучка 350 мкА. Газовая мишень ксенона находится под высоким давлением, при этом степень обогащения мишени ^{124}Xe достигает 99,8% [34].

В России имеется многолетний опыт производства радиофармпрепаратов на основе ^{123}I , получаемого путем облучения ^{124}Xe на сильноточных ускорителях электронов «Факел». Облучение ^{124}Xe методом $^{124}\text{Xe}(p, 2n)^{123}\text{Cs} \rightarrow ^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$ проводится в стальных баллонах, специально предназначенных для этой цели. После облучения ^{124}Xe процесс экстракции осуществляется потоком гелия, который затем сохраняется для процесса накопления ^{123}I . Образовавшийся радионуклид смывается со стенок цилиндра вместе с 0,02 М раствором гидроксида натрия и добавляется иодид натрия в концентрации 0,5 мкг/л [35].

1.1.3.2. Прямые методы

Прямые ядерные реакции протекают, в отличие от косвенных методов, в основном на мишенях из обогащенного изотопа теллура под действием ускоренных дейтронов и протонов. Эти реакции могут проводиться в циклотронах средней и малой мощности: $^{124}\text{Te}(p, 2n)^{123}\text{I}$, $^{123}\text{Te}(p, n)^{123}\text{I}$, $^{122}\text{Te}(d, n)^{123}\text{I}$ [27-29].

Прямой путь реакции $^{124}\text{Te}(p,2n)^{123}\text{I}$. Реакция $^{124}\text{Te}(p,2n)^{123}\text{I}$ является единственной прямой реакцией, которая производит иод-123 из теллуровых мишеней для крупномасштабного производства. Для этой реакции теоретический выход изотопа иода-123 при начальной энергии протонов $E_p=22,4$ МэВ составляет 240 МБк/мкА·ч [36].

Прямой путь реакции $^{123}\text{Te}(p,n)^{123}\text{I}$. Эту реакцию можно применять на циклотронах с низкими энергиями протонов. Однако, к сожалению, этот метод является дорогостоящим, поскольку содержание изотопа ^{123}Te в природе составляет всего 0,89%. Из нескольких прямых реакций получения ^{123}I из теллуровых мишеней реакция $^{124}\text{Te}(p,2n)^{123}\text{I}$ является популярным путем для крупномасштабного производства. Данная реакция в значительной степени используется в процессе производства иода-123 для синтеза диагностических радиофармпрепаратов в России («Радиевый институт им. В.Г. Хлопина», г. Санкт-Петербург) [37].

Прямой путь реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$. Это производство может быть осуществлено на циклотронных установках с низкоэнергетическим дейтроном. На основе результатов, полученных Такач и др, выход для реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ в оптимальном диапазоне энергий $E_d = 12-7$ МэВ составил 58 МБк/мкА·ч, а для $E_d = 10 - 6,5$ МэВ составил около 34 МБк/мкА·ч [38]. На основе этой реакции в Научной лаборатории радиоактивных веществ и технологий Томского политехнического университета с циклотроном средней мощности типа У-120 разработано несколько радиофармпрепаратов на основе иода-123. Обсуждения, связанные с этой главой, будут подробно рассмотрены в экспериментальной главе.

Основным недостатком использования прямых реакций с теллуровой мишенью является возможное образование примесей ^{124}I , ^{125}I , ^{126}I и ^{130}I , обусловленное изотопными примесями теллура, соответствующими их массам в исходном материале мишени [27-39]. Поэтому к изотопному составу исходной мишени материала должны предъявляться очень жесткие требования.

Радиоактивный ^{123}I выделяют из облученных теллуровых мишеней термической перегонкой при 650-720 °C с последующей абсорбцией паров раствором NaOH. Эти методы подробно описаны в литературе и по сути очень похожи. Средний выход иода-123 по этой технологии составляет 90% [27, 28].

В России рентгенологи по-прежнему ограничены в поставках иода-123. Это связано с необходимостью отработанного метода синтеза иода-123 с использованием большинства известных в России материалов. В связи с этим развитие технологии синтеза и организация производства на ускорителях малой и средней мощности повлияет на доступность радиофармпрепаратов на основе иода-123.

1.1.4. Оценка термодинамики накопления иода-123 при сухой дистиляции

Стандартная технология производства радиоактивного иода включает сухую дистиляцию исходного диоксида теллура. Налаживание производства иода-123 требует длительного процесса оптимизации. Теллуриевая мишень представляет собой стеклянную массу, приготовленную из расплава соответствующего оксида TeO_2 и нанесенную, как правило, на платиновую подложку. При выделении иода-123 из мишеней из оксида TeO_2 сухая дистиляция обычно предпочтительнее мокрой химической обработки, поскольку этот процесс относительно прост и позволяет сразу же повторно использовать мишень [40]. Полученные закономерности могут быть использованы для проведения отдельных процедур температурной хроматографии радиоактивного иода и его очистки от примесей. Соответственно, на первом этапе облученную мишень помещали в отдельную печь и выдерживали при температуре 450 °C в течение 20 мин [41].

Последующее извлечение иода-123 из облучаемой мишени проводят методом сухой дистиляции при температурах от 700 до 730°C с одновременной абсорбцией газообразного продукта щелочным раствором. Опыт показывает, что после процесса дистиляции мишень имеет визуальные признаки плавления материала ($T_m = 734^\circ\text{C}$), хотя и без существенной потери

оксида TeO_2 . Уровень потерь достигает примерно 2% только при повышении температуры печи до 720°C . Облучаемая мишень TeO_2 обычно нагревается в кварцевой трубке, и когда температура превышает критическую температуру иода (546°C), иод начинает диффундировать из теллуриевого стекла. Переносимый воздушным потоком, иод проходит через стеклянную капиллярную трубку снаружи печи, где газообразный продукт одновременно поглощается щелочным раствором (например, 0,01 М раствором NaOH) [41].

Хотя результаты экспериментальных исследований показали, что выход и потери ^{123}I из мишени оксида TeO_2 зависят от многих факторов, таких как условия транспортировки ^{123}I из дистилляционной камеры в приемную колбу, температурный параметр является жизненно важным фактором. Таким образом, чтобы свести к минимуму затраты времени, предотвратить потерю дорогостоящих мишеней материалов и избежать примесей, необходимо строго установить оптимальную температуру дистилляции.

Дозиметр ДРГЗ-03 является одним из наиболее часто используемых бытовых дозиметров в Лаборатории радиоактивных веществ и технологий Томского политехнического университета для измерения мощности дозы. Диапазон измеряемых мощностей от 0 до 1000 мкР/с. Диапазон энергий от 20 до 3000 кэВ. Первичная погрешность измерения $\pm 15\%$ [42]. С метрологической точки зрения погрешность в пятнадцать процентов недопустима при включении параметров, которые могут влиять на качество продукции. Кроме того, дозиметр ДРГЗ-03 является стандартным прибором, не поддерживающим порты, через которые он может быть подключен к компьютеру, а значит, нет возможности автоматизировать измерение мощности дозы излучения с помощью этого дозиметра. Решение этой проблемы заключается в использовании другого прибора для измерения интенсивности мощности.

В общем, устройства и интерфейсы могут использоваться для измерения температуры и активности, подключенные к компьютеру в производстве йода-123. Эта система имеет два канала. Первый канал обменивается данными с METAKON на компьютер (измерение температуры) и с компьютера на

МЕТАКОН (управление настройками МЕТАКОН с помощью компьютера). По второму каналу данные с детектора передаются на компьютер (измерение активности). Детектор состоит из фотоэлектронного умножителя, преобразователя напряжения и интерфейсов RS-232 (Рисунок 1.2)



Рисунок 1.2 – Детектор на корпусе фотоэлектронного умножителя ФЭУ R7400

Для автоматизации измерения температуры дистилляции с помощью компьютера необходим кабельный термоэлектрический преобразователь (термопара типа КТХА 01.02). Прибор имеет класс точности 2 по ГОСТ 6616 [43]. Для измерения и регулирования температуры необходимо использовать контроллер МЕТАКОН-613 (Рисунок 1.3).



Рисунок 1.3 – МЕТАКОН-613

Данный регулятор рекомендуется использовать в случаях, когда предъявляются высокие требования к точности регулирования температуры. Плата сбора данных MSC1210-DAQ-EVM производится компанией Texas Instruments. Программа LabVIEW используется в качестве программной среды

для разработки OPC (OLE for Process Control) – клиента связывания и внедрения объектов (для управления технологическими процессами этого сложного прибора [42].

1.2. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов на основе целевых молекул, меченных иодом-123

Ароматический компонент обычно требуется, когда радиоактивный иод связывается с малыми молекулами или белками. Это происходит потому, что производные с иодом, присоединенным к атому углерода в sp^3 или sp -гибридизации, более восприимчивы к деиодированию. Если эти компоненты отсутствуют, используется альтернативная процедура мечения с помощью простетических групп [44, 45]. Как правило, целевое соединение первоначально связывается с простетической группой, которую затем иодируют в присутствии окислителя с использованием Na^*I . И наоборот, когда соединение, требующее мечение, подвержено окислению, альтернативный подход включает первоначальное радиоактивное мечение простетической группы и присоединение ее к целевому соединению.

1.2.1. Методы радиоиодирования малых молекул

Радиоактивный изотоп иода в форме иодида, используемый в процессе мечения, часто представляет собой раствор Na^*I в NaOH с концентрацией от 0,01 до 0,1 М. Анион иода, участвующий в процессе реакции, обычно действует как нуклеофил или подвергается окислению с образованием I_2 или I^+ , которые затем будут вовлечены в процесс электрофильной реакции. Наиболее часто используемые методы синтеза медицинских радиофармпрепаратов включают реакции электрофильного ароматического замещения, при которых протон или оловосодержащую группу замещают атомом иода с использованием Na^*I и в присутствии окислителя (обычно хлорамина-Т, надкислот/перекиси водорода или иодогена). Также часто используются реакции изотопного обмена в арилиодида с использованием радиоактивного иодида [46].

Иододестаннирование (Рисунок 1.4) в основном используется для электрофильного радиоактивного иодирования. Процесс начинается с получения прекурсора, содержащего олово, и включает использование иодсодержащего реагента, полученного в реакционной смеси из NaI и окислителя. Исходные триалкил(арил)станнаны обычно синтезируют из эквивалентных галогенированных предшественников с использованием процессов металлирования или палладиевой обработки, а затем подвергают мечению с использованием реагентов для иодирования, полученных из NaI, и окислителей [48].

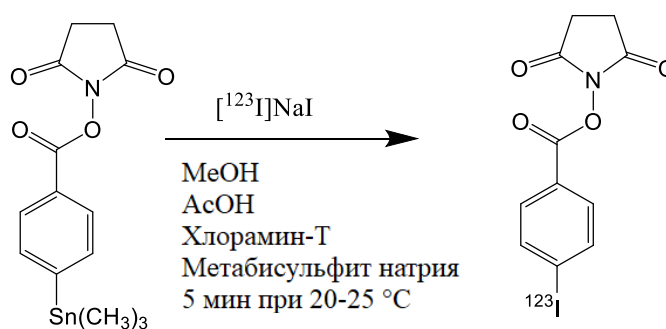


Рисунок 1.4 – Схема электрофильного иододестаннилирования

Иоддесилилирование. Как правило, это достигается в кислой среде за счет использования активированного прекурсора и электрофильного источника иода. Иоддесилилирование обычно приводит к получению продуктов с более низкими реакционными выходами по сравнению с иоддестаннилированием из-за более высокой стабильности связи углерод-кремний. Однако процесс иоддесилилирования в кислых условиях доказал свою эффективность при

получении некоторых радиоактивно йодированных соединений, таких как [^{131}I]МИБГ [49] и [^{123}I]иодометомидат [50], с радиохимическим выходом 85-90%.

Метод йододеборации (Рисунок 1.5), который включает электрофильное радиоактивное йодирование, был признан с 1980-х годов [51]. Преимуществом этого метода является простота получения веществ, содержащих бор. Кроме того, бор также не вызывает токсичности. Реакция деборонирования протекает при низких температурах и не требует жестких условий, поэтому субстрат может содержать различные функциональные группы. Однако объединение аренов с акцепторными группами в ходе реакции приводит к образованию соединений с низкими выходами [52, 53].

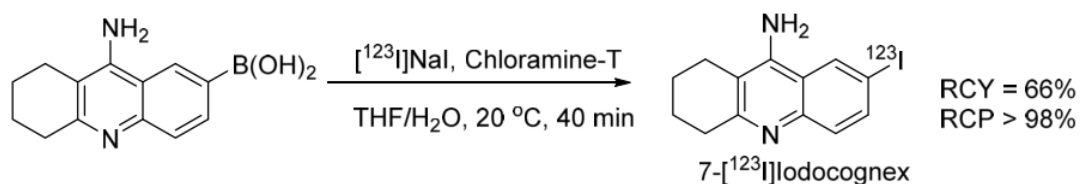


Рисунок 1.5 – Схема электрофильной радиоактивной йододеструкции [46, 53]

Этот метод йододеборации применяется потому, что пустые $2p$ -орбитали бора в связи C-B допускают электрофильную атаку, даже несмотря на высокую энергию связи и низкую полярность. Малый ковалентный радиус бора требует учета пространственных эффектов связанных с ним лигандов. Борная кислота и ее сложные эфиры часто используются в качестве исходных соединений [54, 55].

1.2.1.2. Ароматическое нуклеофильное замещение

Радиоактивный йод может быть химически присоединен к целевой молекуле посредством реакции нуклеофильного замещения. Это может произойти, если измененный субстрат имеет электроноакцепторную группу, подходящую уходящую группу (часто нерадиоактивный йод, бром или хлор), диазогруппу или иодониевую группу. Если исходные соединения не содержат достаточно активной ароматической группы, можно использовать простетические группы. Основной проблемой всех подходов является извлечение радиоактивных веществ из нерадиоактивных исходных химических

веществ. Для решения этой проблемы часто применяется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ или HPLC) [46].

Галогенный обмен – это метод, используемый для замены атома галогена в химическом веществе другим атомом галогена. В этом сценарии процедура галогенного обмена заменяет атом хлора или брома атомом иода (Рисунок 1.6). Для ускорения процесса галогенообмена и повышения выхода реакции в реакционную смесь добавляют либо сульфат аммония, либо соли меди(II).

Процессы галогенного обмена эффективны для получения соединений, содержащих различные изотопы радиоактивного иода. Однако выходы могут различаться для разных радиоизотопов [46]. Использование нерадиоактивных арилиодидов для обмена галогена имеет недостаток, заключающийся в том, что сложно отличить исходное вещество от продукта, меченого радиоактивным изотопом. В качестве альтернативы, например, $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$ можно получить с помощью реакции обмена иод-иод вместо дестаннилирования, если не требуется высокий выход радиоактивности. Процесс обмена галогенов по схеме иод-иодный обмен имеет преимущество: он не требует получения промежуточных продуктов мета-триалкилстаннилбензил-гуанидина [56, 57]. В случае замены брома или хлора радиоактивным иодом скорость удаления брома обычно выше, чем скорость удаления хлора. Реакции часто протекают в тяжелых условиях, особенно при высоких температурах и в течение длительного времени, что приводит как правило, к низким реакционным выходам [46, 58, 59].

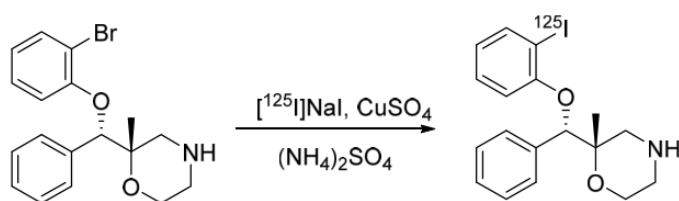


Рисунок 1.6 – Схема синтеза (S,S)- $[^{125}\text{I}]\text{IPBM}$ [46]

Использование солей меди в качестве катализаторов улучшает результаты нуклеофильного радиоактивного иодирования [56]. Этот процесс объясняется созданием переходного комплекса меди-арилгалогенида, в

котором радиоактивный иод оказывает нуклеофильное воздействие на углерод-галогенную связь [60]. Таким образом, MIBG достигал высокого радиохимического выхода в реакции, проведенной при pH 1-4,4 с использованием неокисляющих кислот [61].

Замещение в диазопроизводных и триазенах. Реакции радиоактивного иодирования солей диазония легко протекают путем нуклеофильного ароматического замещения [62]. Чтобы решить проблему нестабильности исходных соединений, можно использовать устойчивые при хранении триазены в качестве их синтетических эквивалентов (Рисунок 1.7). Процесс диазотирования обычно проводят с использованием нитрита натрия в водном растворе соляной или серной кислоты при низкой температуре. Впоследствии полученный раствор соли диазония обрабатывают радиоактивным иодидом натрия [63]. Ожидается, что реакции будут протекать по механизму S_N1 [46]. Существенным недостатком процесса диазотирования является повышенная реакционная способность, проявляемая промежуточными арильными катионами или радикалами. В результате обычно образуется значительное количество побочных продуктов.

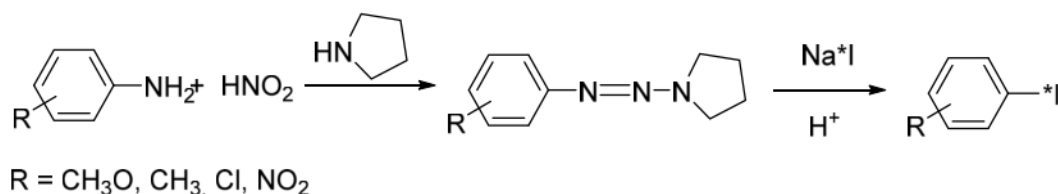


Рисунок 1.7 – Схема синтеза радиоиодированных аренов с промежуточным выделением триазена [46]

Соли иода. Использование тозилата иодония в качестве субстрата позволяет эффективно проводить радиоиодирование в ацетонитриле при температуре 90 °C (Рисунок 1.8) [64].

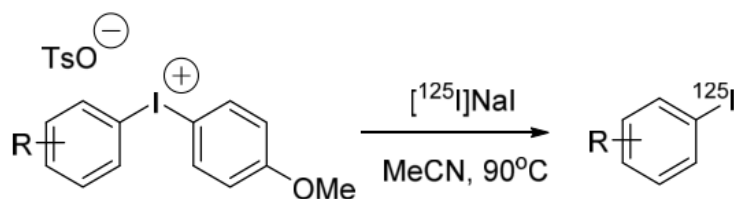


Рисунок 1.8 – Схема радиойодирования с использованием солей иодония [64]

Региоселективность нуклеофильного замещения в несимметричных солях иодония определяется электронным и стерическим влиянием заместителей, присутствующих в бензольных кольцах [64, 65]. N-[^{125}I]сукцинимидил-3-иодбензоат ([^{125}I]SIB) был синтезирован с выходом от 36% до 87% в зависимости от конкретного арильного фрагмента уходящей группы. В 2019 году этот метод был использован для мечения еще двух простетических групп, которые были связаны с биомолекулами с помощью клик-реакций или реакций Дильса-Альдера [65].

1.2.1.3. Реакции, катализируемые переходными металлами

Никель(0)-катализируемый обмен галогенов. Сазерленд и др. (2013) тщательно исследовали галогеновый обмен с использованием никеля(0) в качестве катализатора [66]. Реакции обмена галогенов (Рисунок 1.9) протекают путем окислительного присоединения Ni(0) к связи C–Br с последующим обменом радиоактивного иода и образованием комплекса Ni(II)–Br. Последующее восстановительное удаление продукта, содержащего углерод-иодную связь, позволило синтезировать несколько арильных и гетероарилиодидов с реакционными выходами в диапазоне от 88% до 96%. Процесс присоединения радиоактивных меток к трассерам СПЕКТ [^{125}I]Iniparib и 5-[^{123}I]A85380 привел к радиохимическим выходам 46% и 93% соответственно. Молярная активность полученного 5-[^{123}I]A85380 составила 37 ГБк·мкмоль $^{-1}$. Полученные продукты были исследованы с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии, которая выявила полное отсутствие каких-либо примесей никеля. Таким образом, этот метод имеет практическое преимущество по сравнению с обычной процедурой иододестаннирования.

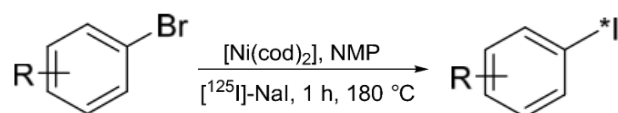


Рисунок 1.9 – Схема катализируемого никелем(0) радиоиодирования [66]

Катализируемое медью(II) радиоактивная иододеструкция. Процесс радиоактивной иододеструкции, катализируемый медью(II) с использованием

механизма Чана-Лама-Эванса, был впервые задокументирован в 2016 году Уилсоном и соавторами [67] (Рисунок 1.10). Эта реакция может быть использована с различными ароматическими соединениями с электронодонорными и электроноакцепторными группами. В результате образуются карбоциклы, замыкающие цикл, с выходом от 13% до 94%. В реакции участвовали как борные кислоты, так и их сложные эфиры. Использование кислот привело к более низким относительным коэффициентам конверсии по сравнению с эфирами [68, 69].

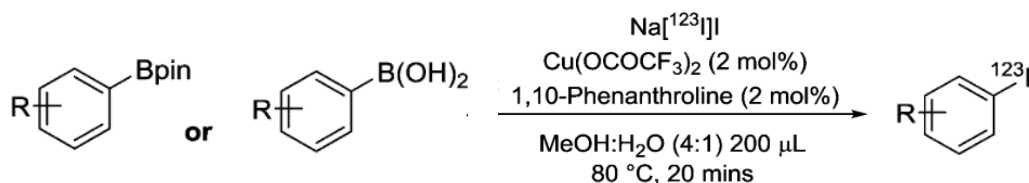


Рисунок 1.10 – Схема катализируемого медью(II) радиоiodирования [67]

Иододоборация, катализируемая золотом(I). В 2018 году Webster и соавт. описали метод, называемый катализируемым золотом(I) иододоборацией, для гомогенного мечения арилбороновых кислот, как показано на рисунке 1.11 [70]. Реакцию можно проводить в присутствии воздуха. Для получения электрофильного иодирующего реагента использовали N-хлорсукцинимид и $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$. Следовательно, оказалось возможным вводить радиоактивную метку в арены, которые имеют либо недостаток, либо избыток электронов, с радиохимическим выходом в диапазоне от 92% до 100%. Этот процесс был успешно использован для производства двух радиофармпрепаратов, $[^{125}\text{I}]\text{MIBG}$ и радиоактивного иодированного аналога Олапариба, с радиохимическим выходом 28% и 41% соответственно. Было измерено, что молярная активность $[^{125}\text{I}]\text{MIBG}$ составляет 2,73 ГБк/мкмоль.

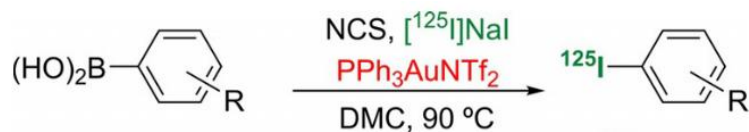


Рисунок 1.11 – Схема катализируемого золотом(I) радиойодирования [70]

C-H–радиоактивное иодирование, катализируемое Pd. Дюбост и др. [71] впервые применили катализируемую палладием активацию C-H связей в процессе радиоактивного иодирования. Реакция включала добавление N-ацилсульфонамида и ацетата палладия, в результате чего образовался палладацикл. Затем этот палладацикл взаимодействовал с $[^{125}\text{I}]\text{NIS}$, полученным из NCS и $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$. Продукты были получены в щадящих условиях радиохимической конверсии с выходом от 44% до 91%. В этих процессах могут также использоваться другие ароматические производные, такие как анилиды и карбоксамиды, анилины, защищенные N-Вос, мочевины, пиразолилкарбоновые кислоты и нитрилы [71]. В 2019 году этот подход был усовершенствован за счет уменьшения количества ацетата палладия при сохранении радиохимической конверсии (Рисунок 1.12) [72].

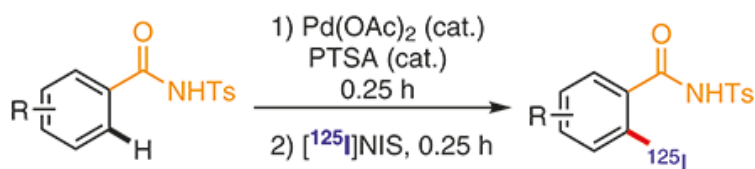


Рисунок 1.12 – Схема катализируемого Pd радиоиодирования [72]

Радиоиодирование с использованием клик-химии. Yan и др. [73] представили методику одновременного радиоактивного иодирования 1,2,3-триазолов. Этот процесс включает катализируемую медью(I) клик-реакцию азиды и алкина в присутствии радиоактивного йодида натрия. Процедура оказалась простой, адаптируемой и эффективной; первоначальные испытания также показали, что 5- $[^{125}\text{I}]$ иод-1,2,3-триазолы не подвержены деиодированию в живых организмах. Благодаря своей метаболической стабильности 5-иод-1,2,3-триазолы обладают большим потенциалом в качестве радиоактивных иодсодержащих фармацевтических препаратов для биомедицинской визуализации и терапевтических целей. Для объяснения протекающей реакции были предложены три возможных механизма (Рисунок 1.13), но ни один из них полностью не объясняет имеющиеся экспериментальные данные.

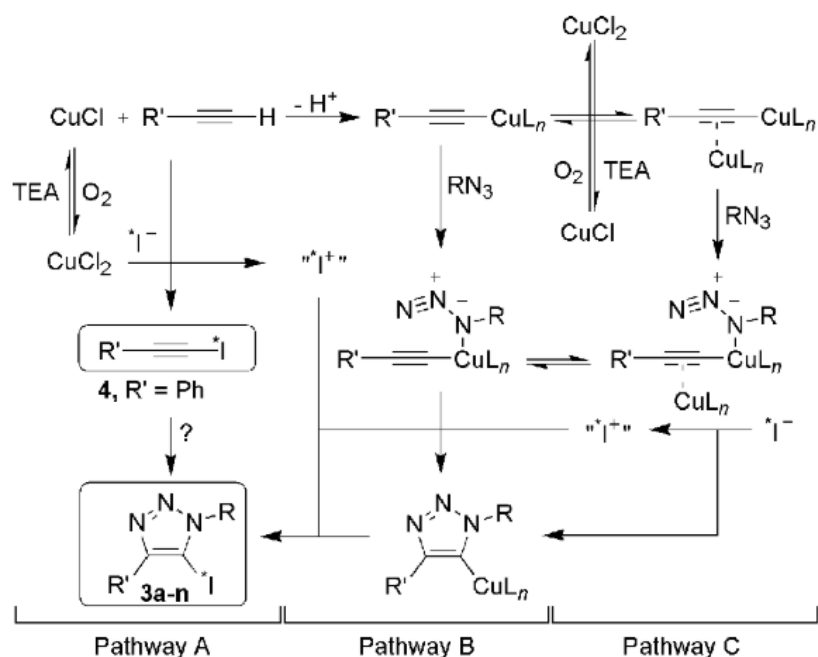


Рисунок 1.13 – Схема механизмов образования 5-¹²⁵I-1,2,3-триазолов в клик-реакциях [73]

1.2.2. Методы радиоiodирования макромолекул

В некоторых случаях при радиоiodировании белков прямое окислительное iodирование может происходить с белками, которые содержат радиоактивные метки или имеют функциональные группы, которые могут быть легко заменены иодом. Для прямого радиоактивного iodирования высокомолекулярных соединений (пептидов, белков, антител и т.д.) в большинстве случаев используются методы окислительного iodирования реагентами [74]. В то же время альтернативные методы радиоiodирования белков, как правило, предполагают использование простетических групп. Иодоген является предпочтительным реагентом для окисления из-за его широкого применения. Он действует как мягкий окислитель и может быть легко отделен от радиоактивно меченого продукта. Использование хлорамина-Т обычно приводит к образованию продуктов хлорирования, окислению атомов серы в цистеине и гидролизу пептидных связей.

1.2.2.1 Прямое радиоактивное iodирование

В отличие от небольших химических молекул, белки, а иногда и пептиды не могут сохранять свою биологическую активность при воздействии

неблагоприятных условий. Из-за определенных ограничений зачастую невозможно непосредственно метить белки и пептиды радиоактивным иодом [46]. Однако некоторые аминокислоты (например, тирозин) можно радиоактивно метить, вводя иод во фрагменты тирозина. Этот процесс иодирования происходит в менее жестких условиях, и полученные фрагменты более устойчивы к неферментативному деиодированию. Кроме того, радиохимический выход радиоактивного иодирования тирозина обычно превышает аналогичный выход гистидина. Радиоактивное иодирование фрагментов тирозина является оптимальным методом прямого мечения пептидов. Этот процесс включает непептидное изменение, которое обычно не изменяет конформацию фармакофора. Однако, если остаток тирозина имеет решающее значение для проявления фармакологических характеристик или если он отсутствует в исходной молекуле, необходимо выбрать альтернативный метод радиоактивного мечения. Когда тирозин недоступен, прямое иодирование может быть достигнуто путем замены фенилаланина в структуре на тирозин или введения тирозина в несущественные участки пептидной последовательности, которые не влияют на ее биологическую функцию [75]. Непосредственное введение радиоактивного иода в соединения, содержащие тирозин, обычно проводят в фосфатном буферном растворе при комнатной температуре в течение 5-10 мин. pH раствора поддерживают на уровне около 7,0-7,5 и используют окислители, такие как хлорамин-Т или иодоген. Реакцию останавливают с помощью восстановителя, такого как бисульфит натрия, а меченые пептиды обычно очищают с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Основным недостатком прямого радиоактивного иодирования является быстрое деиодирование меченых макромолекул в живом организме. В определенных ситуациях этот недостаток можно устранить, заменив L-тирозин на D-тирозин. D-тирозин менее подвержен деиодированию. Однако важно убедиться, что эта замена не повлияет на функцию пептида [75]. Как правило, проблема нестабильности деиодирования решается путем связывания

макромолекул-мишеней с протетическим фрагментом, обладающим улучшенными биологическими свойствами.

1.2.2.2. Непрямое радиоiodирование с использованием протетических групп

Белки и некоторые пептиды, как правило, не выдерживают жестких условий реакции без ущерба для их биологической функциональности. Таким образом, необходимо использовать альтернативный подход, явно используя протетическую группу для их мечения. Преимущества радиоiodирования с использованием протетических групп заключаются в следующем: (1) Макромолекулы устойчивы к воздействию окислителей и, как правило, вступают в реакции в менее жестких условиях. (2) При использовании тщательно подобранных протетических групп макромолекулы, меченные радиоактивными изотопами, остаются стабильными и не подвергаются деiodированию в живых организмах. Тем не менее, реализация этого подхода не лишена ограничений: (1) Перед началом работы необходим синтез протетической группы, что требует использования дополнительных реагентов и времени; (2) Общий выход и активность макромолекул, меченных в конце, обычно ниже по сравнению с макромолекулами, меченными непосредственно; и (3) Важно регулировать нежелательные модификации в определенных областях макромолекулы, которые играют решающую роль в ее биологической функции [46, 76].

Одной из первых предложенных и наиболее широко используемых протетических групп является реагент Болтона–Хантера [77] (Рисунок 1.14), который может быть конъюгирован с N-концевой пептидной последовательностью или аминокеттами боковой цепи (например, лизином).

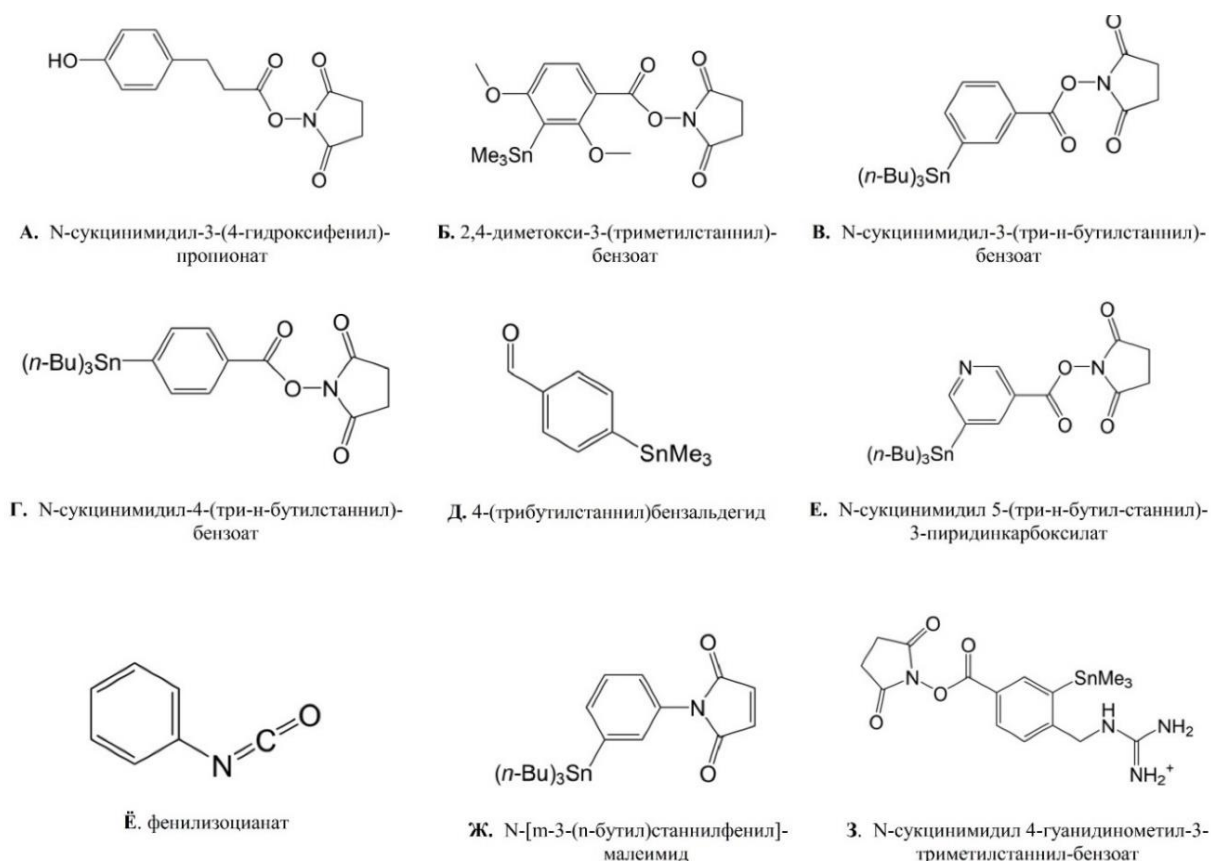


Рисунок 1.14. – Реагенты малых протетических групп для радиоактивного иодирования [2]

По сравнению с продуктами прямого мечения без использования протетических групп, использование реагента Болтона-Хантера положительно влияет на устойчивость макромолекул-мишеней к деиодированию *in vivo*. Наблюдалось значительное снижение поглощения щитовидной железой при непрямом радиоактивном мечении белков с использованием 2,4-диметокси-3-(триметилстаннил)-бензоата [78-80], N-сукцинимидил-3-(три-*n*-бутилстаннил)бензоата [81], N-сукцинимидил-4-(три-*n*-бутилстаннил)-бензоата [82-84], 4-(три-метилстаннил)бензальдегида [85-87], N-сукцинимидил-5-(три-*n*-бутилстаннил)-3-пиридинкарбоксилата [80, 82], и фенилизоцианата [85-87]. Реагенты N-(*m*-3-(*n*-бутил)станнилфенил)малеимид [88] и N-сукцинимидил-4-гуанидинометил-3-[^{*}I]иодобензоат [89] также были предложены в качестве протетических групп для радиоактивного иодирования белка или пептида.

1.2.3. Получение лиганда PSMA, меченного радиоактивным иодом-123, для визуализации рака предстательной железы

Считается, что пептиды обладают рядом преимуществ при использовании для адресной доставки лекарств. Эти преимущества включают низкую молекулярную массу, отличную проницаемость, высокую стабильность, пониженную иммуногенность, простоту синтеза и способность к гибкому химическому конъюгированию [90]. Таким образом, в настоящее время существует множество разработок в области радиофармпрепаратов на основе пептидов, особенно в качестве средств визуализации рака предстательной железы с использованием простат-специфического мембранного антигена в качестве мишени [91-94].

PSMA, альтернативно называемый фолатгидролазой I или глутаматкарбоксипептидазой II, представляет собой гликопротеин II типа, состоящий из 750 аминокислот. Он локализован в клеточной мембране и в основном содержится в нормальных эпителиальных клетках предстательной железы человека. Однако установлено, что его избыточная экспрессия наблюдается при раке предстательной железы, включая случаи метастазирования. PSMA присутствует почти при всех злокачественных новообразованиях предстательной железы, и его уровни еще выше при низкодифференцированных, метастатических и гормонально-резистентных карциномах [9]. Это делает его перспективной мишенью для визуализации и лечения рака предстательной железы. В настоящее время активно разрабатываются лиганды на основе мочевины [95-97]. Лиганды на основе мочевины обладают рядом преимуществ, таких как высокая возможность дальнейших модификаций, лучшая биодоступность по сравнению с лигандами на основе фосфиновой и фосфоновой кислот и большая стабильность по сравнению с лигандами на основе тиола [93].

Прямое мечение – это широко используемый метод радиоактивного йодирования пептидов. Радиоактивный иод подвергается окислению *in situ* с помощью окислителя, в результате чего образуются ионы I^+ . Эти ионы

впоследствии вступают в реакцию с активированным фенольным кольцом аминокислоты тирозина в пептидах, образуя стабильную ковалентную связь. Использование простетических групп для мечения целевых белков или пептидов не представляет проблемы. Подходящим вариантом считается радиоактивное иодирование конъюгата, в котором пептид связан с простетической группой перед иодированием [98]. Также часто используются реакции изотопного обмена в арилиодидах с использованием радиоактивного йодида [46].

Maresca и др. сообщили о двух меченных радиоактивным иодом низкомолекулярных лигандах, которые обладают высоким сродством к PSMA. ^{123}I -(S)-2-(3-((S)-1-карбокси-5-(4-иодобензиламино)пентил)уреидо)пентандиовая кислота и I-(S)-2-(3-((S)-1-карбокси-5-(3-(4-иодфенил)уреидо)пентил)уреидо)пентандиовую кислоту получали иододестаннилизацией предшественников триметилстаннила (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-1-трет-бутоксид-1-оксо-6-(4-(триметилстаннил)бензиламино)гексана-2-ил)уреидо)пентандиоата и (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-1-трет-бутоксид-1-оксо-6-(3-(4-(триметилстаннил)фенил)уреидо)гексана-2-ил)уреидо)пентандиоата, соответственно (Рисунок 1.15) [85].

Меченные радиоактивным иодом соединения были синтезированы с использованием традиционных методов, описанных в литературе [99], начиная с предшественников триметилстаннила. Соединения олова были помечены радиоактивным иодом с радиохимическим выходом не менее 60% и радиохимической чистотой более 95%. Процесс очистки включал обратнотазную жидкостную хроматографию высокого давления. Полученные соединения обладали удельной активностью более 4000 мКи/мкмоль. Радиоактивно иодированные молекулы продемонстрировали высокое сродство и селективность к PSMA на клетках LNCaP [85].

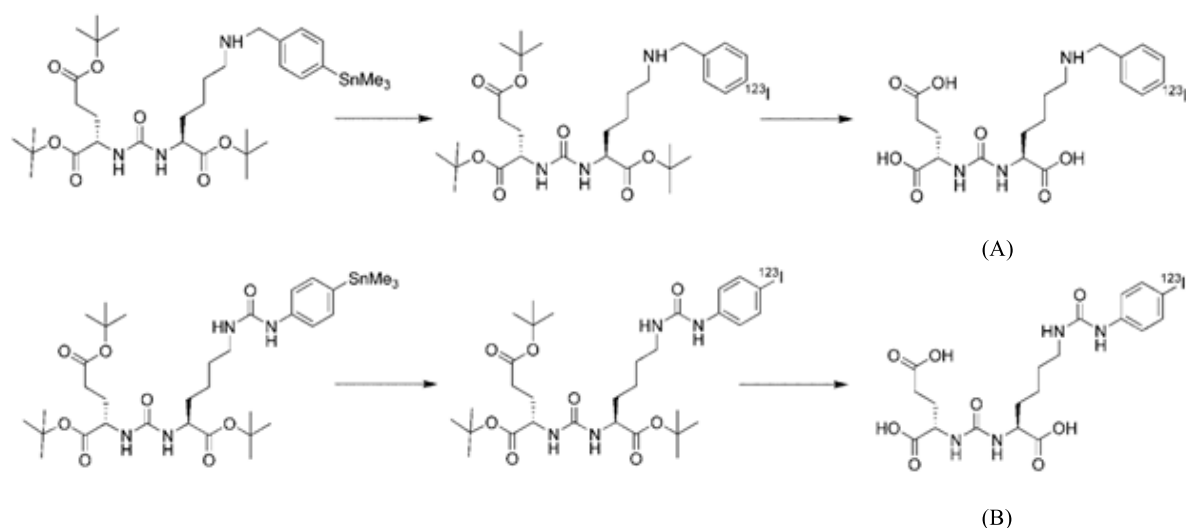


Рисунок 1.15 – Схема иододестаннилирования с образованием (А) ^{123}I -(S)-2-(3-((S)-1-карбокси-5-(4-иодобензиламинопентил)уреидо)пентандиовой кислоты и (Б) ^{123}I -(S)-2-(3-((S)-1-карбокси-5-(3-(4-иодфенил)уреидо)пентил)уреидо)пентандиовая кислота [85]

Ying Chen и др. [82] сообщили о разработке мочевины на основе радиоактивного иодированного простат-специфического мембранного антигена (PSMA) в качестве визуализирующего агента при раке предстательной железы. 2-[3-[1-карбокси-5-(4-[^{125}I]иод-бензоиламино)-пентил]-уреидо]-пентандиовая кислота и 2-(3-[1-карбокси-5-[(5-[^{125}I]иод-пиридин-3-карбонил)-амино]-пентил]-уреидо)-пентандиовая кислота были получены с радиохимическим выходом 65-80% и 59-75% соответственно. N-гидроксисукцинимидил-4-иодбензоат был подвергнут реакции с три-РМВ эфиром Lys-C(O)-Glu для получения соединения 2. N-гидроксисукцинимидил-5-(три-н-бутилстаннил)-3-пиридинкарбоксилат вступал в реакцию с соединением 4, получая соединение 5 (Рисунок 1.16). Затем группа РМВ была удалена с использованием трифторуксусной кислоты (TFA), после чего было проведено иододестаннилирование и расщепление эфира, давая 3 и 6. N-хлорсукцинимид использовался в качестве окислителя в процессе иододестаннилирования. Удельная радиоактивность составила >700 Ки/ммоль (25,9 ГБк/мкмоль) и >2000 Ки/ммоль (74,0 ГБк/мкмоль) для 2-[3-[1-карбокси-5-(4-[^{125}I]иод-бензоиламино)пентил]уреидо]пентандиовой кислоты и 2-(3-[1-

карбокси-5-[(5-[^{125}I]иод-пиридин-3-карбонил)амино]пентил]уреидо)пентандиовой кислоты соответственно.

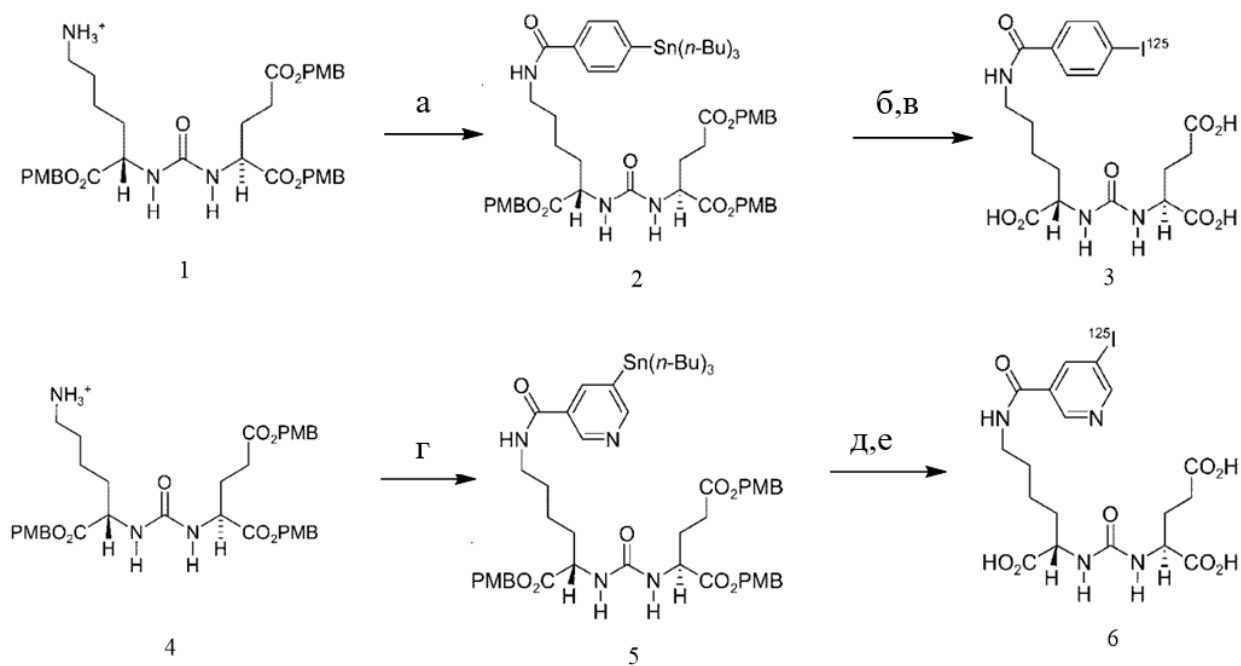


Рисунок 1.16 – Схема иододестаннилирования с образованием 2-[3-[1-карбокси-5-(4-[^{125}I]иод-бензоиламино)-пентил]-уреидо]-пентандиовой кислоты и 2-(3-[1-карбокси-5-[(5-[^{125}I]иодпиридин-3-карбонил)амино]пентил]уреидо)-пентандиовой кислоты. (а) N-гидроксисукцинимидил-4-трибутилстаннилбензоат, триэтиламин, CH₂Cl₂; (б) [^{125}I]NaI, N-хлорсукцинимид, HOAc, MeOH; (в) TFA, анизол; (г) N-гидроксисукцинимидил-5-(три-н-бутилстаннил)-3-пиридинкарбоксилат, триэтиламин; CH₂Cl₂; (д) [^{125}I]NaI, N-хлорсукцинимид, HOAc, MeOH; (е) TFA, CH₂Cl₂ [82]

На основании биологического теста 2-[3-[1-карбокси-5-(4-[^{125}I]иод-бензоиламино)пентил]уреидо]пентандиовая кислота и 2-(3-[1-карбокси-5-[(5-[^{125}I]иодпиридин-3-карбонил)амино]пентил]уреидо)пентандиовая кислота имеют значения K_i 0,010 нМ и 0,351 нМ соответственно. 2-[3-[1-Карбокси-5-(4-[^{125}I]иодбензоиламино)пентил]уреидо]пентандиовая кислота продемонстрировала $8,8 \pm 4,7\%$ введенной дозы на грамм (%ID/г) в положительной PSMA PC-3-PIP опухоли через 30 мин после инъекции, которая сохранялась с четким очертанием опухоли с помощью ОФЭКТ. Аналогичные

значения поглощения опухолью на ранних этапах были продемонстрированы для [2-(3-[1-карбокси-5-[(5-[^{125}I]иодпиридин-3-карбонил)амино]пентил]-уреидо)пентандиовой кислоты [82].

N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизин (DCL) является одним из наиболее разработанных лигандов на основе мочевины для воздействия на PSMA из-за его многообещающего потенциала [96, 97]. Несколько публикаций подтвердили, что модификация структуры лиганда DCL влияет на его сродство к PSMA [100, 101]. Считается, что модификация линкера DCL дипептидным фрагментом, содержащим два остатка фенилаланина, улучшает аффинные свойства лиганда PSMA за счет использования преимуществ гидрофобного взаимодействия с гидрофобным карманом S1 в PSMA [93]. Оптимизации радиоiodирования этих новых лигандов на основе мочевины DCL с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ϵ -атома азота лизина, дипептида, включающего два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 4- или 3-(трибутилстаннил)бензойной кислоты в качестве простетической группы в его структурах, представляет интерес для исследования. Этот вопрос будет более подробно рассмотрен в разделе исследований. Обозначения структурных фрагментов радиоактивно иодированных новых ингибиторов PSMA на основе мочевины с трибутилстанниловой простетической группой в структуре представлены на рисунке 1.17.

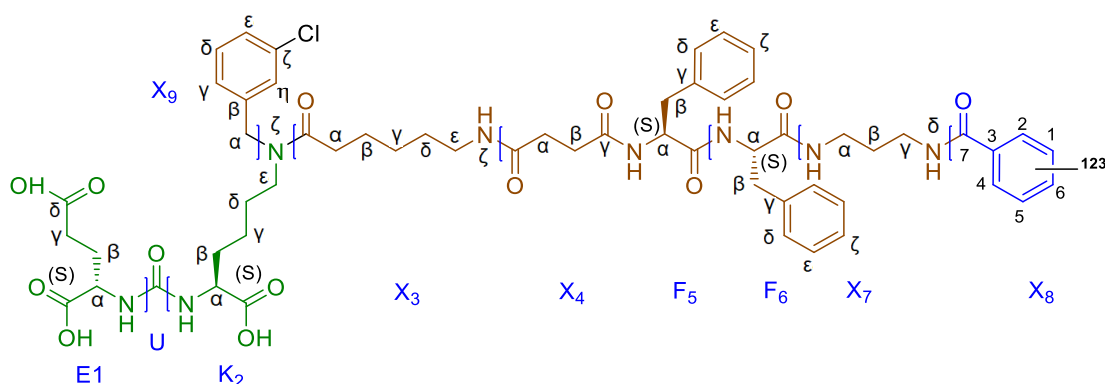


Рисунок 1.17 – Обозначения структурных фрагментов радиоiodированных соединений

1.2.4. Получение визуализирующих агентов на основе DARPIn, меченных радиоактивным иодом, для выявления рака

1.2.4.1. Меченный радиоактивным иодом DARPIn E01 для визуализации экспрессии EGFR при раке

Рекомбинантные белки на основе анкириновых повторов E01, также известные как DARPIn E01, обладают устойчивым сродством к эктодомену III EGFR и, следовательно, представляют огромный исследовательский интерес. Согласно имеющимся данным, уровни экспрессии EGFR являются важным прогностическим показателем для пациентов с раком головы и шеи [102, 103], яичников [104], шейки матки, мочевого пузыря [105, 106] и пищевода [107].

Известные методы радиоiodирования DARPIn заключаются в добавлении Na^*I (3 мкл, 4-5 МБк) к DARPIn в PBS (47 мкл) и NaI (8,25 мкл 0,02 мг/мл в H_2O ; 0,165 мкг, 1,1 нмоль), и перемешивании смеси на вортексе. Хлорамин-Т (20 мкл 1 мг/мл в PBS; 20 мкг, 71 нмоль) добавляли через 5 мин. Через 60 секунд реакцию iodирования останавливали добавлением метабисульфита натрия (20 мкл 2 мг/мл) к смешанному раствору. Радиоiodированные DARPins очищали с использованием колонок NAP-5. Радиохимический выход до очистки составлял 87–98%, а после очистки – более 95% [10, 108]. Воробьева и др. сообщили, что замена гексагистидиновой метки для мечения радиофармпрепаратов HER2-аффинных DARPIn G3 на метку гистидин-глутамат-гистидин-глутамат-гистидин-глутамат ((НЕНЕНЕ- или (НЕ)₃) привела к трехкратному снижению поглощения печенью [109]. Использование этой метки для мечения другого варианта DARPIn Ec1 также снизило поглощение печенью в 2,3 раза [10]. Важно признать, что прямой перенос результатов с одного радиофармпрепарата на основе DARPIn на другой может быть чрезмерно оптимистичным из-за потенциально значительных различий между различными вариантами DARPIn.

Существует два подхода к радиоiodированию DARPins: прямое радиоiodирование и непрямое радиоiodирование. Первичные внутриклеточные радиометаболиты от прямого мечения радиоиодом – это

йодид и йодтирозин. Эти метаболиты поглощаются ферментами и транспортерами, ответственными за метаболизм гормонов щитовидной железы [110]. В результате этого происходит повышенное поглощение радиометаболитов в органах, экспрессирующих симпортер Na/I, а также более высокий уровень радиометаболитов, остающихся в кровотоке [108]. Альтернативным методом введения радиоiodной метки с быстрым выведением ее радиометаболитов является не прямое радиоiodирование с участием простетической группы. Более того, накопление радиокатаболитов в органах, включающих Na/I-симпортеры, как правило, снижается за счет непрямого iodирования [111]. N-сукцинимидил-пара-iodобензоат (SPIB) успешно применяется в качестве простетической группы для мечения молекул моноклональных антител [112, 113], аффибоди [113] и DARPIn [10, 110, 114]. Альтернативной простетической группой для меченных радиоактивным иодом белков является ((4-гидроксифенил)этил)малеимид (HPEM). HPEM обеспечивает сайт-специфическое присоединение метки, позволяя контролировать местоположение и количество меток на каждом белке. Для оценки потенциала меченного радиоактивным иодом DARPIn E01 с различными простетическими группами для агентов визуализации экспрессии EGFR при раке необходимо провести биологические испытания и оптимизировать технологию радиомечения для получения этих меченных радиоактивным иодом экспериментальных препаратов.

1.2.4.2. Меченный радиоактивным иодом DARPIn G3 для визуализации экспрессии HER2/neu при раке

Чрезмерная экспрессия рецептора человеческого эпидермального фактора роста типа 2 (HER2 или ErbB2) приводит к развитию рака. Это связано с более агрессивным прогрессированием нескольких типов карцином. Целевые лекарства, использующие молекулярное распознавание HER2, подавляют рост опухоли и повышают общую выживаемость. Терапия, направленная на злокачественные опухоли молочной железы, желудка и гастроэзофагеального

соединения, экспрессирующие HER2, стала общепринятым и устоявшимся подходом к лечению [115]. Более того, клиническая оценка воздействия на HER2 проводится для лечения карцином легких [116], яичников [117], и матки [117].

Неиммуноглобулиновые каркасные белки DARPIn позволяют идентифицировать крошечные связующие вещества с молекулярной массой от 4 до 19 кДа и сродством ниже 5 нМ [115]. Сконструированные каркасные белки используют неиммуноглобулиновые каркасы для обеспечения структурной стабильности, что является решающим фактором для идентификации высокоаффинных связующих веществ. DARPIn G3 в качестве агента хорошо переносится, не проявляет какой-либо наблюдаемой токсичности и приводит к низкой абсорбированной дозовой нагрузке для пациентов [115].

Известен способ получения радиохимического соединения на основе сконструированного каркасного белка DARPIn (HE)₃-Ec1, меченного иодом-123 [118], для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний. Метод заключается в следующем: к 100 мкг DARPIn (HE)₃-Ec1 добавляют 200 мкл раствора иода-123 (активностью 100 МБк), предварительно нейтрализованного 20 мкл 0,1 М HCl. Затем добавляют 50 мкл раствора хлорамина-Т (2 мг/мл в PBS). Инкубируют при комнатной температуре в течение 120 секунд. Далее добавляют 50 мкл раствора метабисульфита натрия (4 мг/мл в PBS) и очищают с использованием колонок NAP-5. Радиохимический выход составил более 79%, при радиохимической чистоте около 100%. Недостатком данного метода является использование рекомбинантных целевых молекул белка DARPIn (HE)₃-Ec1, имеющего низкое сродство к рецептору HER2/neu.

Известен также способ получения радиохимического соединения на основе рекомбинантных целевых молекул белковой природы с анкириновыми повторами DARPins G3, меченных иодом-123, для визуализации экспрессии HER2/neu при раке [119], в котором используется коммерчески готовая иодирующая трубка Pierce (Thermo Scientific, Runcorn, UK). DARPins

добавляют в стеклянную пробирку с реагентом Pierce TM G3 (5–60 мкг) в PBS и инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре с 10 МБк ^{125}I или 15–20 МБк ^{123}I . Реакцию иодирования останавливают добавлением раствора метабисульфита натрия до конечной концентрации 1 мМ. Радиоиодированные DARPin очищают с использованием колонок NAP-5. Радиохимический выход до очистки составил 60–70 %, после очистки – более 95 %. Недостатками данного метода являются использование коммерчески недоступного реагента для иодирования и длительный процесс окисления, что может привести к нежелательному окислению целевых белков, снижению их срока и низким выходам.

Для радиоиодирования DARPin G3 необходим другой, более эффективный и действенный метод. Хлорамин-Т, окислитель для замены реагента Pierce TM, предлагается как более эффективный в процессе радиоиодирования DARPin G3. Это объяснение будет более подробно рассмотрено в разделе исследований.

1.3. Заключение по главе 1

1. Код TALYS может быть использован для расчета сечения производства радиоизотопов посредством реакции, вызванной заряженными частицами на мишени. С целью оптимизации конструкции мишени для производства радиоизотопов циклотроном с высокой активностью, полученное сечение и тормозная способность мишени используются для оценки выхода радиоизотопа.

2. Наиболее распространенным путем промышленного производства иода в России является не прямой путь $^{124}\text{Xe}(\gamma, n)^{123}\text{Xe} \rightarrow ^{123}\text{I}$ или $^{124}\text{Xe}(\gamma, p)^{123}\text{I}$, который может быть осуществлен только в сильноточном электронном ускорителе. Прямые реакции получения иода-123 могут быть реализованы в небольших циклотронах путем облучения мишеней на основе обогащенных изотопов теллура-122 и теллура-123. Однако, к сожалению, метод с

использованием теллура-123 в качестве мишени является дорогостоящим, поскольку содержание изотопа ^{123}Te в природе составляет всего 0,89%. Между тем, маршрут $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ может обеспечить многообещающий метод получения иода-123. Это производство может быть осуществлено на циклотронных установках с низкоэнергетическими дейтронами. Оценочный выход для реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ в оптимальном диапазоне энергий $E_d = 12\text{--}7$ МэВ составляет 58 МБк/мкАч, а для $E_d = 10\text{--}6,5$ МэВ он составил около 34 МБк/мкАч.

3. Производство и синтез радиофармпрепаратов в России должны соответствовать стандартным методам производства и контроля качества лекарственных средств. Учитывая короткий период полураспада иода-123 (13,3 ч), разработка быстрых и эффективных методов создания и поставок радиофармпрепаратов на основе иода-123 для местных/региональных клинических целей является крайне важной.

4. Иод-123 и радиофармпрепараты на основе иода-123 необходимы для разработки радиофармпрепаратов для диагностики рака. Диагностические радиофармпрепараты на основе лигандов PSMA и DARPins весьма перспективны для разработки меченых радиоактивным иодом агентов визуализации для обнаружения рака.

5. Использование простетической группы для мечения лиганда PSMA, когда лиганд PSMA связан с простетической группой до иодирования, считается подходящим предложением, поскольку это может уменьшить повреждение структуры лиганда PSMA непосредственно из-за иодирования.

6. Процесс радиоиодирования молекулы DARPIn может быть осуществлен напрямую, где радиоиод подвергается окислению *in situ* окислителем, образуя ионы I^+ . Затем эти ионы реагируют с активированным фенольным кольцом аминокислоты тирозина в белке, образуя стабильную ковалентную связь. Второй метод – радиоиодирование DARPIn, которое включает использование простетической группы. Простетическая группа, которая была ранее помечена, затем конъюгируется со структурой DARPIn.

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть: программное обеспечение, оборудование, материалы и методы

2.1. Программное обеспечение и оборудование

Для расчета теоретической функции возбуждения образования радиоактивного иода-123 на теллуровой мишени в реакции, индуцированной дейтронами, в данной работе использовались Microsoft Windows 7, Microsoft Excel, ORIGINPro 2023b (OriginLab, Массачусетс, США) и TALYS-2.0 [17]. Для подготовки мишенного материала для получения иода-123 использовалась муфельная печь для осаждения твердой мишени TeO_2 на платиновую подложку при температуре 700 °С. Получение иода-123 осуществлялось на циклотронной установке типа У-120 Томского политехнического университета.

В таблице 2.1 приведен перечень аналитических приборов, радиометрического оборудования, лабораторных установок и устройств, использованных в данном исследовании. Для определения состава и свойств исходных материалов и полученных радиофармпрепаратов применяют методики, соответствующие стандартам соответствующих фармакопейных статей или оригинальные методики, разработанные в данной работе.

Таблица 2.1 – Аналитические приборы, радиометрическое оборудование, лабораторные установки и устройства.

Инструменты	Компания	Техническая спецификация
Циклотрон У-120	Томский политехнический университет, Россия	Извлеченные ионы: $^2\text{H}^+$ (дейтрон) Энергия: 14 МэВ Система охлаждения: система охлаждения потоком воды в задней части мишени. Мишень: твердая
Радиометр РИС-А1 «Дозкалибратор»	Амплитуда, Санкт-Петербург, Россия	Диапазон $2,0 \times 10^6$ - $1,85 \times 10^{10}$ Бк
Муфельные печи Thermolyne™	ThermoFisher Scientific, США	Настольные муфельные печи Thermolyne™ 1100°C, 0,07 куб. фута, 120 В 50/60 Гц, 12,0 А
Перистальтический насос LOIP LS-301	ЛОИП, Россия	Диапазон 0,1 – 200 об/мин
Вытяжные шкафы для радиофармпрепаратов ШВР-200-01А	Амплитуда, Россия	Толщина свинцовой защиты рабочей камеры 10 – 50 мм

Продолжение таблицы 2.1

Бокс микробиологической и радиационной защиты ЛРБ-02А-01-01-1-2010	Амплитуда, Россия	Система управления нисходящим ламинарным потоком чистого воздуха класса «А», ГОСТ Р52249
Кабельный термоэлектрический преобразователь, термopара типа КТХА 01.02	С 316 - AISI 316 steel, Донские Измерительные Системы, Россия	Диапазон температур: от -40 °С до 900 °С ГОСТ 6616
Программный ПИД-контроллер МЕТАКОН-613	ПриборКомплект, Россия	Выходные сигналы: 2 компаратора Выходной сигнал: открытые коллекторные транзисторы 24 В/150 мА макс. (с оптической изоляцией, все излучатели подключены) Основная погрешность измерения: не более $\pm 0,1\%$ Период опроса входного сигнала: 1 с Скорость обмена RS-485: 2400, 4800, 9600, 19200 бод Вход: 220 В $\pm 10/-15\%$, 50 $\pm 0,5$ Гц, 9 ВА.
Плата сбора данных MSC1210-DAQ-EVM	Texas Instruments, США	Высокоточный 24-разрядный дельта-сигма АЦП, микроконтроллер 8051, флэш-память емкостью 32 КБ, MSC1210 оснащен интерфейсом RS-232
Программный пакет LabVIEW	Microsoft, США	Системные требования: Объем оперативной памяти - 256 МБ, 1 ГБ ; Разрешение экрана - 1024 x 768 пикселей, 1024 x 768 пикселей ; Место на диске - 620 МБ, 5 ГБ (включая драйверы по умолчанию)
Высококчистый детектор Canberra Ge, тип GC1020, диаметр 46,5 мм и длина 32 мм), подключенный к многоканальному анализатору Canberra InSpector 2000 и программному обеспечению сбора и анализа данных Genie 2000	Canberra Industries Inc., Мерилен, Коннектикут, США	Относительная эффективность составляет 10%, а энергетическое разрешение - 2 кэВ для гамма-диапазона 1,332 МэВ стандартного источника ^{60}Co .
Сканер MiniGITA Single Radio-iTLC	Elysia Raytest, Штраубенхардт, Германия	Детектор: сцинтилляционный материал Коллиматор: вольфрамовый коллиматор с автоматическим распознаванием Тип зонда: изотопы ОФЭКТ и ПЭТ.

		Программное обеспечение: GINA X software
Стандартный вытяжной шкаф	Внутренняя поверхность вытяжного шкафа изготовлена из коррозионно-стойких, непористых и негорючих материалов, таких как нержавеющая сталь типа 316, и является гладкой и водонепроницаемой, с закругленными углами. Материалы имеют индекс распространения пламени 25 или менее при испытании в соответствии со Стандартным методом испытания характеристик поверхностного горения строительных материалов.	Скорость воздуха: 0,3~0,8 м/с Максимальное открытие: 520 мм Высота рабочей поверхности: 850 мм Вытяжной воздуховод: ПВХ, стандартная длина: 4 метра Ф300 мм Светодиодная лампа: 12 Вт х 1
Лабораторные весы	Металлическое основание, верхний корпус из АБС-пластика, поддон из нержавеющей стали, стеклянный ветрозащитный экран с боковыми дверцами из двух частей, установленными сверху, и раздвижной верхней дверцей (только для моделей 1 мг), подсвечиваемый индикатор уровня спереди, крюк для взвешивания снизу, защитный кронштейн, калибровочный замок, защитный кожух для всего корпуса. (OHAUS SNG, Россия).	Максимальная вместимость: 120 г Диапазон показаний: 0,1 мг Диапазон показаний (сертифицированный): 1 мг Размер чаши: 3,5 дюйма (90 мм) Внутренняя калибровка: AutoCal™ — автоматическая калибровка.
Автоматизированный гамма-счетчик Wizard ² 2480.	Pelkin Elmer, Уолтем, Массачусетс, США	С детектором на основе иодида натрия (NaI(Tl)), активированного таллием
Мерная пипетка – класс А	3.3 Боросиликатное стекло	Объем от 1 мл до 15 мл
Колба Шленка	Изготовлено из боросиликатного стекла 3.3 (Duran, Германия)	Объем 50 мл
Магнитные мешалки с подогревом	IKA Plate (RCT digital) Круглая столешница из алюминиевого сплава (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия)	Диапазон скоростей: 50 - 1500 об/мин Точность установки скорости: 10 об/мин Длина перемешивающего стержня: 30 - 80 мм

Продолжение таблицы 2.1

		Диапазон температур нагрева: Комнатная температура + самонагрев устройства - 310 °С Диапазон установки температуры: 0 - 310 °С Установка времени мин.: 1 с Установка времени макс.: 143940 мин.
Колоночная бюретка для хроматографии	Изготовлено из боросиликатного стекла 3.3 (Synthware, Китай).	50 мл
Пробирки	Боросиликатное стекло (NAFVSM B.V, Нидерланды)	Пробирки объемом 20 мл, круглодонные, размеры $\varnothing$ 15,65 x 125 x 0,55 мм, трубчатое стекло, тип 3.
Воздушный шар	Изготовлен из латексной резины	Воздушный шар в качестве емкостей для газообразного аргона (125 см ³).
Круглодонные колбы	Боросиликатное стекло (ГОСТ 25336-82, Россия)	Объем 50 мл
Камера для тонкослойной хроматографии	Плоскодонная камера для TLC CAMAG®, для пластин 10 × 10 см, без крышки. (CAMAG, Швейцария)	Для тарелок размером макс. 10 × 10 см
Прозрачные стеклянные флаконы	ГОСТ 13905 – Испытание на водостойкость, Россия	4 мл, завинчивающиеся крышки с покрытием из ПТФЭ
TLC пластины	Алюминиевая пластина TLC, силикагель, покрытый флуоресцентным индикатором F254. Пластины TLC с силикагелем поставляются в количестве 25 штук размером 20x20 см для тонкослойной хроматографии (Merk, Германия)	TLC-пластина разрезается на пластины размером 3x8 см.
Стакан лабораторный	Материал: Боросиликатное стекло ASTM E960-93 (Sigma-Aldrich, Германия)	Размеры: 50 мл - 100 мл
Вакуумный эксикатор	Материал: Боросиликатное стекло 3.3 Цвет: Прозрачный (Cole-Parmer®, Германия)	Приблизительный внутренний диаметр заземляющего фланца: 200 мм Класс/степень качества: Тип I
Микропробирки эппендорф 2 мл	ПанЭко, Россия	2,0 мл

Продолжение таблицы 2.1

Дефлегматор	Материал в контакте со средним боросиликатным стеклом 3.3 DIN ISO 3585 (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия)	Высота: 425 мм Ширина: 80 мм Глубина: 40 мм Номинальная длина: 250 мм Стандартный шлиф NS 29/32
Делительная воронка	Материал: боросиликатное стекло 3.3, пробка пластиковая. (Доминик ДУТШЕР САС, Франция)	Объем: 250 мл Стандартный шлиф: 29/32 Кран с шлифами: 14,5 Ø отверстия: 4 мм
Спектрометр ЯМР Bruker Avance	Bruker Corporation, Биллерика, Массачусетс, США	Базовая конфигурация два канала диапазон частот каждого канала: 5–650 МГц каждый Разрешение по частоте: < 0,005 Гц Разрешение по фазе: < 0,006° Разрешение затухания / диапазон затухания: < 0,1 дБ / 90 дБ Разрешение по времени / мин. длительность: 12,5/ 25 нс.
Масс-спектрометр высокого разрешения Orbitrap Elite	Thermo Fisher Scientific, США	Диапазон масс: m/z 50-2000, m/z 200-4000 Разрешение: 60000 при m/z 400 при частоте сканирования (FWHM) 4 Гц, минимальное разрешение 15000, максимальное разрешение > 240000 при m/z 400 Точность массы: <3 ppm RMS с внешней калибровкой <1 ppm МС/МС: ионизация электрораспылением
Высокоэффективный жидкостный хроматограф с колонкой Shimadzu Prominence LC-20	Shimadzu, Киото, Япония	Phenomenex Luna 3 мкм C18 100 Å
Одноквадрупольный масс-спектрометр Shimadzu LCMS-2020	Shimadzu, Киото, Япония	Диапазон масс: m/z от 10 до 2000 ESI: резерпин 1 пг, S/N > 150 (RMS) APCI: резерпин 1 пг, S/N > 100 (RMS) Разрешение: R=2 М Скорость сканирования: макс. 15 000 ед./сек

Продолжение таблицы 2.1

Хроматограф INTERCHIM puriFlash 430	INTERCHIM, Монлюсон, Франция	Коллектор фракций на 4 стойки, пробирки 176 x 18 мм, полноразмерная клавиатура, устойчивая к растворителям, насос HPLC с истинным четвертичным градиентом 200 мл/мин, 435 фунтов на кв. дюйм/30 бар, УФ-детектор с двойной длиной волны DAD 200–600 нм
Радио-HPLC «Agilent 1200 Series» с радиодетектором «Raytest Gabi Star 20.04.09 Firmw с серийным номером 30685»	Agilent Technologies, Санта- Клара, Калифорния, США. Elysia-Raytest, Бельгия	с колонкой Luna C18(2) 5 мкм, 100 Å, 250 × 4,6 мм
Программное обеспечение GraphPad Prism.	GraphPad Software, Ла-Хойя, Калифорния, США	версия 9.5.0 для windows
Спектрофотометр УФ-ВИД «NanoDrop OneC microvolume»	Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США	Максимальная концентрация: dsDNA: Пьедестал 27500 нг/мкл; BSA (IgG): Пьедестал 820 (400) мг/мл.
Роторный испаритель	Диагональная стеклянная посуда Hei-VAP Core Standard G1 Handlift (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Германия)	Диапазон скоростей: 10–280 об/мин Акустическое давление: <85 дБ(А) (в соответствии с ИЕС 61010) Номинальное напряжение: 30 В 50/60 Гц или 115 В 50/60 Гц Потребляемая мощность: 1400 Вт макс.
Микропробирки эппендорф 2 мл	ПанЭко, Россия	2,0 мл
Фильтр для шприца	GVS Северная Америка, США	(0,22 мкм), стерильный
Стеклянные флаконы	ТУ 9461-025-80007803-2007, Россия	ФО-10-НС-1А
Медицинские резиновые пробки	ТУ 9398-001-44111344-2005, Россия	Тип 1-1
Алюминиевые колпачки для укупорки лекарственных средств	ГОСТ 51314-99, Россия	Тип К 2-20

2.2. Реагенты и материалы

В процессе проведения экспериментальных исследований в рамках данной работы использовались различные химические вещества и материалы. Перечень основных химических веществ и материалов приведен в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Перечень основных реагентов и материалов

Материалы/химикаты	Компания/страна/стандарт	Технические характеристики /сорт
Обогащенный $^{122}\text{TeO}_2$	Сибирский химический комбинат, Северск, Россия	$99,6 \pm 0,1\%$ ^{122}Te
Al_2O_3	Sigma-Aldrich, Германия	99,99%
Платина, диск Ø 24 мм, 0,4 мм	ГОСТ 24718-2014	ПЛ 99,93
Стекланные флаконы	ТУ 9461-02580007803-2007	ФО-10-НС-1А
Пробки резиновые медицинские	ТУ 9398-001-44111344-2005	Тип 1-1
Алюминиевые колпачки для укупорки лекарственных средств	ГОСТ 51314-99	Тип К 2-20
Хлороформ-D (CDCl_3)	Sigma-Aldrich, Германия	99,8 атом % D
Диметилсульфоксид-d6 (ДМСО-D6)	Sigma-Aldrich, Германия	99,8 атом % D
Ацетонитрил (CH_3CN) для градиентной HPLC/суперградиентной УНPLC, ACS	Panreac AppliChem, Испания	99,9%
N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA)	AcroSeal™, Thermo Scientific Chemicals, США	99,5%,
Янтарный ангидрид ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_3$)	Sigma-Aldrich, Германия	$\geq 98,0\%$
Дихлорметан (CH_2Cl_2)	Sigma-Aldrich, Германия	99,8 %
Соляная кислота (HCl)	Sigma-Aldrich, Германия	ACS reagent, 37%
Тионилхлорид (SOCl_2)	Sigma-Aldrich, Германия	$\geq 99\%$
N,N-диметилформамид (DMF)	Sigma-Aldrich, Германия	99,8%
4-метилпиперидин ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}$)	Thermo Scientific Chemicals Inc., США	99%
Гидроксibenзотриазол (HOBt)	Sigma-Aldrich, Германия	$\geq 97\%$
Гексафторфосфат бензотриазола тетраметилурония (HBTU)	Sigma-Aldrich, Германия	$\geq 98\%$
Хлорид натрия (NaCl)	Sigma-Aldrich, Германия	Чистота реагента ACS, $\geq 99,0\%$
Сульфат натрия безводный (Na_2SO_4)	Sigma-Aldrich, Германия	$\geq 99,0\%$
Метанол (CH_3OH)	Baker Analyzed® ACS	$\geq 99,8\%$
Диэтиловый эфир (C_2H_5) ₂ O	Supelco, Inc, Германия	ACS Reagent, $\geq 99.7\%$
N-Гидроксисукцинимид ($\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$)	Sigma-Aldrich, Германия	98%
N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида гидрохлорид (EDC*HCl)	Sigma-Aldrich, Германия	99%

Продолжение таблицы 2.2

Гидроксид натрия (NaOH)	Sigma-Aldrich, Германия	Класс реagenta, ≥98%
N,N'-Дициклогексилкарбодиимид (DCC)	Sigma-Aldrich, Германия	99%
Тетрагидрофуран безводный (THF)	Sigma-Aldrich, Германия	не содержит ингибиторов, 99,9%
Гидропероксид трет-бутила (TBHP)	Sigma-Aldrich, Германия	70 масса % в H ₂ O
Ледяная уксусная кислота (AcOH)	Sigma-Aldrich, Германия	ReagentPlus®, ≥99%
Иодид натрия (NaI)	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥99,5%
Хлорамин-Т	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, 98%
Метабисульфит натрия (Na ₂ S ₂ O ₅)	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥97,0%
Октанол-1	Supelco, Inc, Германия	≥99%
Фосфатно-солевой буфер (PBS)	Sigma-Aldrich, Германия	pH 7.4, liquid, sterile- filtered,
трипсин	Thermo Fisher Scientific, США	0,25%
Вода Milli-Q		
Бычий сывороточный альбумин (BSA)	Sigma-Aldrich, Германия	≥98%
Roswell Park Memorial Institute (RPMI) средний	Sigma-Aldrich, Германия	
Фетальная бычья сыворотка (FBS)	Sigma-Aldrich, Германия	Уровень качества 400
L-глутамин	Sigma-Aldrich, Германия	стерильно- фильтрованный
Пенициллин-Стрептомицин	Biowest, Riverside, МО, США	стерильно- фильтрованный
Дитиотреитол (ДТТ)	Sigma-Aldrich, Германия	97% (реагент Эллмана)
Тирамин (НОС ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂ NH ₂)	Sigma-Aldrich, Германия	≥98,0%
Малеиновый ангидрид (C ₄ H ₂ O ₃)	Sigma-Aldrich, Германия	99%
EtOAc (Этилацетат)	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥99,5%
Бикарбонат натрия (NaHCO ₃)	Sigma-Aldrich, Германия	Чистота реagenta 99%
Ацетон ((CH ₃) ₂ CO)	Экос-1, Russia	≥99,8%
Гексаметилдиستانнан ((CH ₃) ₆ Sn ₂)	Sigma-Aldrich, Германия	99%
п-иодобензойная кислота (IC ₆ H ₄ CO ₂ H)	Sigma-Aldrich, Германия	98%
1,4-диоксан	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, реагент ISO, реагент Ph. Eur., ≥99,5%
н-Гексан	Экос-1, Россия	≥ 99%
N-гидроксисукцинимид (C ₄ H ₅ NO ₃)	Sigma-Aldrich, Германия	98%
Бис(трифенилфосфин)палладий(II) дихлорид ((P(Ph ₃)) ₂ Pd(II)Cl ₂)	Sigma-Aldrich, Германия	98%
Ацетат аммония	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥97%
Безводный сульфат натрия (Na ₂ SO ₄)	Sigma-Aldrich, Германия	Чистота реagenta 99%

Продолжение таблицы 2.2

Силикагель	Labkem, Испания	0,040 - 0,063 мм
Колонка Cytiva NAP-25	Thermo Fisher Scientific, США	Sephadex™ G-25 DNA Grade Gel
Колонка Cytiva NAP-5	Thermo Fisher Scientific, США	колонка NAP-5
Картридж Sep-Pak® C18	Waters, Милфорд, Массачусетс, США	Номер по каталогу WAT036815
Фильтр для шприца	GVS Северная Америка, США	(0,22 мкм), стерильный
Клеточная линия PC-3 PIP	the American Type Culture Collection (ATCC, Манассас, Вирджиния, США).	Клетки, экспрессирующие PSMA
Клеточная линия PC-3	American Type Culture Collection (ATCC; LGC Promochem, Borås, Швеция	PSMA-не экспрессирующие клетки
SKBR-3	ATCC (American Type Culture Collection, Манассас, Вирджиния, США	клетки рака молочной железы человека
SKOV-3	ATCC (American Type Culture Collection, Манассас, Вирджиния, США	клетки рака яичников человека
Мыши CD1	Одобен Комитетом по этике Сибирского государственного медицинского университета, Томск, Россия (код протокола 7715, 20190826)	Самки 6-недельных мышей
Мыши. Иммунодефицитные (Nu/j)	Одобен Комитетом по этике Сибирского государственного медицинского университета, Томск, Россия (код протокола 7715, 20190826)	Самки 6-недельных мышей
DARPin (HE) ₃ -G3	ИБХ, Москва, Россия	Чистота белков была близка к 100%
Иодид натрия (NaI)	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥99,5%
Солевой раствор	ПанЭко, Россия	(0,9% NaCl), стерильный
Раствор [¹²³ I]NaI	Томский политехнический университет, Россия	(приблизительно 500 МБк/мл)
Уксусная кислота ледяная CH ₃ COOH	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥99,7%
Этилацетат/ EtOAc (C ₄ H ₈ O ₂)	Sigma-Aldrich, Германия	Реагент ACS, ≥99,5%
Диэтиловый эфир /Et ₂ O (C ₂ H ₅) ₂ O	Supelco, Inc, Германия	Реагент ACS, ≥99,7%

PSMA-лиганды для радиоактивного йодирования были синтезированы в совместных экспериментах, проведенных с научной группой профессором

Белоглазкиной Е.К. (Лаборатория химии, химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова). В данной работе были синтезированы и использованы следующие соединения:

Вектор PSMA (производное мочевины DCL, модифицированное ε -аминокапроновой кислотой (Ahx) и янтарной кислотой (Suc)/ Соединение 6. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и сконцентрировали при пониженном давлении, получив в итоге это соединение в виде желтого масла (801 мг, выход 97%). Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS **соединения 6** представлены в дополнительной информации.

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L)/ Соединение 9. Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) был получен в виде белого аморфного вещества (460 мг, выход 76%). Спектры ^1H ЯМР, Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS **соединения 9** представлены в дополнительной информации.

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NHFMoc}$ / Соединение 10. Это соединение было получено в виде бледно-желтого аморфного вещества (330 мг, выход 88%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS **соединения 10** представлены в дополнительной информации.

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3$ / Соединение 11. Это соединение было получено в виде соли *TFA в виде белого аморфного твердого вещества (160 мг, выход 89%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS **соединения 11** представлены в дополнительной информации.

N-сукцинимидил 3-(трибутилстаннил)бензоат/ Соединение 13. Была выделена фракция, которая представляла собой бледно-желтое прозрачное маслянистое вещество ($m = 1729$ мг, 78%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS **соединения 13** представлены в дополнительной информации.

N-сукцинимидил 3-[¹²⁷I]иодбензоат/ Соединение 14. Выделена фракция в виде белого порошка (*m* = 95 мг, 72%), которая и является целевым веществом. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C соединения 14 представлены в дополнительной информации.

N-сукцинимидил 4-(трибутилстаннил)бензоат/ Соединение 16. Была выделена фракция, представляющая собой бледно-желтое прозрачное маслянистое вещество (*m* = 772 мг, 45%). Спектры ЯМР ¹H и ¹³C и данные HRMS соединения 16 представлены в дополнительной информации.

N-сукцинимидил 3-[¹²⁷I]иодбензоат/ Соединение 17. Фракция была выделена в виде белого порошка (*m* = 98,5 мг, 97%), который является целевым веществом. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C соединения 17 представлены в дополнительной информации.

Полипептидная последовательность 18. Индивидуальная полипептидная последовательность 18 была получена в виде белого аморфного твердого вещества (159 мг, выход 80%). Спектры ЯМР ¹H и ¹³C, а также данные ESI-MS и HRMS соединения 18 представлены в дополнительной информации.

Ингибиторы PSMA на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ε-атома азота лизина, дипептид, включающий два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3-(трибутилстаннил)бензойная кислота/ PSMA-m-TBSB. PSMA-m-TBSB был получен в виде белого порошка (28 мг, выход 75%). Спектры ЯМР ¹H и ¹³C, а также данные HRMS PSMA-m-TBSB представлены в дополнительной информации.

Ингибиторы PSMA на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ε-атома азота лизина, дипептидом, включающим два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3-(трибутилстаннил)бензойной кислотой/ PSMA-p-TBSB. PSMA-p-TBSB был получен в виде белого порошка

(30,5 мг, выход 64%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные HRMS **PSMA-p-TBSB** представлены в дополнительной информации.

[^{127}I]PSMA-m-IB/ Соединение 21. Путь А. [^{127}I]PSMA-m-IB был получен в виде белого порошка (28,6 мг, выход 80%). **Путь В.** I_2 Соединение **21** было получено в виде белого порошка (10,5 мг, выход 65%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS **[^{127}I]PSMA-m-IB/ Соединение 21** представлены в дополнительной информации.

[^{127}I]PSMA-p-IB/ Соединение 22. Путь А. [^{127}I]PSMA-p-IB был получен в виде белого порошка (13 мг, выход 59%). **Путь В.** I_2 Соединение **22** было получено в виде белого порошка (11,7 мг, выход 44%). Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS **[^{127}I]PSMA-p-IB/ Соединение 22** представлены в дополнительной информации.

Аминокислотные последовательности DARPin, использованные в этой работе, были биосинтезированы исследователями в лаборатории молекулярной иммунологии Института биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и М. А. Овчинникова Российской академии наук, Россия, г. Москва. Аминокислотные последовательности DARPin, использованные в этой работе, следующие:

Аминокислотная последовательность варианта **DARPin (HE)₃-E01**:
MRGSHEHEHEGSDLGKKLLEAARAGQDDEVRLMANGADVNAADDTWGW
TPLHLAAYQGHLEIVEVLLKNGADVNAIDYIGWTPHLAADGHLEIVEVLL
KNGADVNASDYIGDTPLHLAAHNGHLEIVEVLLKHGADVNAQDKFGKTAF
DISIDNGNEDLAEILQK.

Аминокислотная последовательность для **DARPin E01-E₃C**:
SDLGKKLLEAARAGQDDEVRLMANGADVNAADDTWGWTPHLAAYQGH
LEIVEVLLKNGADVNAIDYIGWTPHLAADGHLEIVEVLLKNGADVNASD
YIGDTPLHLAAHNGHLEIVEVLLKHGADVNAQDKFGKTAFFDISIDNGNEDL
AEILQKLNGEEEC.

Аминокислотная последовательность для **DARPin E01-G₃C**:
SDLGKKLLEAARAGQDDEVRLMANGADVNAADDTWGWTPHLAAYQGH

LEIVEVLLKNGADVNAAYDYIGWTPHLHLAADGHLEIVEVLLKNGADVNASD
YIGDTPLHLAAHNGHLEIVEVLLKHGADVNAQDKFGKTAFDISIDNGNEDL
AEILQKLNGGGGC.

Аминокислотная последовательность варианта **DARPin (HE)₃-G3**:
MRGSHEHEHEGSDLGKKLLEAARAGQDDEVRLMANGADVNAKDEYGLT
PLYLATAHGHLEIVEVLLKNGADVNAVDAIGFTPLHLAAFIGHLEIAEVLLK
HGADVNAQDKFGKTAFDISIGNGNEDLAEILQKLN

2.3. Контроль качества радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

Для определения радиохимических свойств меченых иодом экспериментальных препаратов были проведены тонкослойная радио-хроматография (радио-TLC) и высокоэффективная жидкостная радио-хроматография (радио-HPLC). Радио-TLC проводили с использованием сканера mini Gita starbeta TLC-scanner (Raytest, Германия) на пластинах TLC с силикагелем 60 F 254 (Merck, Германия) в системах растворителей ацетонитрил-вода (95:5) и на хроматографической пластине iTLC из стеклянного микроволокна, пропитанной силикагелем (Agilent Technologies, Inc., Фолсом, Калифорния, США) в системах растворителей этилацетат или ацетон-вода (4:1). Для проведения радио-HPLC использовались системы HPLC Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США). Анализ проводился с использованием колонки Luna C18(2) размерами 250 × 4,6 мм и размером частиц 5 мкм, с размером пор 100 Å. В качестве радиодетектора использовался Raytest Gabi Star 20.04.09 Firmware с серийным номером 30685. Градиент концентрации в различные моменты времени был следующим: в 0 мин концентрация А составляла 95%, а В – 5%; в 5 мин концентрация А составляла 80%, а В – 20%; в 10 мин концентрация А составляла 65%, а В – 35%; в 15 мин концентрация А составляла 50%, а В – 50%; в 25 мин концентрация А составляла 20%, а В – 80%; в 30 мин концентрация А составляла 0%, а В – 100%; в 32 мин концентрация А составляла 95%, а В – 5%. Система А относится к раствору 0,1% TFA в воде, тогда как система В

относится к раствору 0,1% TFA в ацетонитриле. Скорость потока составляла 1 мл/мин.

2.4. Метод исследования функции возбуждения и выхода реакции радиоактивного изотопа иода-123 с использованием кода ядерной реакции TALYS для медицинских применений

При использовании TALYS-2.0 для оценки сечения образования иода-123 на мишени $^{122}\text{TeO}_2$ в реакциях, индуцированных дейтронами, для моделирования механизма реакции в этом коде использовался подход предравновесной эмиссии, описываемый двухкомпонентной экситонной моделью [120]. Формализм Хаузера-Фешбаха, статистическая теоретическая модель, был использован для изучения испускания частиц из составных ядер. Плотности ядерных уровней были вычислены с использованием *ldmodel-6*, микроскопической модели, которая учитывает температурную зависимость и использует метод HFB с силой Гоньи. Плотности уровней были получены из комбинаторных таблиц Хилера. Необходимые наборы данных, включая ядерные массы, плотности ядерных уровней, функции интенсивности гамма-излучения и параметры оптической модели для модельных расчетов, были получены из библиотеки справочных входных параметров (Reference Input Parameter Library/RIPL-3) [19]. Расчеты поперечного сечения дали большой объем данных. Однако только некоторые из полученных изотопов были включены в последующий анализ, что привело к оценкам выхода реакции. Для автоматизации расчета выхода мишени и выхода толстой мишени для заданного сценария в ходе этой работы было использовано программное обеспечение *Radionuclide Yield Calculator*.

2.5. Методика приготовления мишени из обогащенного $^{122}\text{TeO}_2$

Для получения иода-123 с использованием реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ в циклотроне в качестве материала мишени использовался порошок $^{122}\text{TeO}_2$ чистотой 99,6%. Расплав TeO_2 наносился на платиновый диск при температуре

700 °С. Платиновые диски изготавливались из листовых пластин с канавкой в центре. Для улучшения поглощения и равномерного распределения в расплав на поверхности платиновой подложки добавлялся порошок Al_2O_3 (4 мас.%). Подробные методы приготовления мишеней приведены в разделе экспериментальных работ.

2.6. Метод исследования сухой дистиляции иода-123 из обогащенной мишени $^{122}\text{TeO}_2$

Для изучения сухой дистиляции иода-123 из обогащенной мишени $^{122}\text{TeO}_2$ был проведен эксперимент по определению зависимости выхода радионуклида от температуры до 700 °С в дистиляционной установке. При этом газообразный продукт одновременно поглощался щелочным раствором (0,01 М NaOH), также регистрировались температурный режим и активность поглощенного щелочным раствором иода-123. Подробная схема дистиляционной установки приведена в разделе экспериментальной работы (рисунок 3.6).

2.7. Методы радиометрического анализа иода-123

2.7.1. Определение объемной активности раствора иода-123

Объемную активность ^{123}I в щелочных растворах после сухой дистиляции определяли следующим способом. Микропипеткой отбирали 5 мкл раствора иода-123, который затем наносили на фильтровальную бумагу диаметром 15 мм и закрывали липкой лентой. Объемную активность образца определяли с помощью германиевого детектора или High Purity Germanium (HPGe) с энергетическим разрешением 1,8 кэВ для γ -линии 1,332 МэВ типичного источника ^{60}Co . Детектор калибровали с использованием опорных точечных источников ^{60}Co и ^{152}Eu . Расстояние между мишенью и детектором составляло 15 см. Активность образующихся радионуклидов определяли с помощью следующего уравнения::

$$A = A_o \frac{\varepsilon_o P_o}{\varepsilon_i P_i} \frac{S}{S_o} \frac{1}{V} \quad (2.1)$$

Переменные в уравнении определяются следующим образом: A представляет собой активность радионуклидов (измеряется в Бк), образовавшихся в мишени за время измерения, A_o представляет собой активность стандартного источника (также измеряется в Бк), S and S_o представляют собой площади пиков, наблюдаемых в γ -спектрах мишени и стандартного источника, соответственно, при энергиях E_i and E_o , ε_i and ε_o представляют собой эффективности обнаружения гамма-квантов с энергиями E_i and E_o , соответственно. P_i and P_o представляют собой выходы γ -квантов для анализируемых нуклидов и стандартного источника, соответственно. Наконец, V представляет собой объем образца, взятого для измерения, измеренный в мл.

2.7.2. Определение примесей радионуклидов в растворе иода-123

Для определения радионуклидных примесей, образующихся в растворе иода-123, был проведен сравнительный анализ по гамма-спектрам измеренных образцов. Для этого площади пиков основных и примесных радионуклидов измерялись с помощью детектора HPGe по следующей формуле:

$$A = A_o \frac{\varepsilon_o P_o}{\varepsilon_i P_i} \frac{S}{S_o} \quad (2.2)$$

Чистота радионуклида иод-123 оценивается как отношение активности примеси (или суммы активности примеси) к активности основного радионуклида, выраженное в %.

2.8. Методики синтеза лиганда PSMA на основе мочевины

Вектор PSMA (производное мочевины DCL, модифицированное ε -аминокапроновой кислотой (Ahx) и янтарной кислотой (Suc)/ Соединение 6. Раствор соединения 5 (1 экв; 725 мг; 1,0 ммоль) разбавляли DIPEA (1,4 экв; 244 мкл; 1,4 ммоль) и янтарным ангидридом (1,02 экв; 102 мг; 1,02 ммоль) в 20 мл DCM. Смесь перемешивали в течение 12 часов, а затем добавляли MeOH

(2 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 1 часа. Затем растворитель выпаривали при пониженном давлении, остаток растворяли в DCM и экстрагировали 0,1 М HCl (2×30 мл) и рассолом (2×30 мл). Затем органическую фракцию сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, получая соединение 6 в виде желтого масла (801 мг, 97%).

Соединение 8. Активация 2-СТС. Суспензию 2-СТС (1 экв.; 1 г; 1,2–1,4 ммоль/г; 100–200 меш) в DCM (10 мл) перемешивали в течение 10 мин. Затем смесь продували Ar и по каплям добавляли SOCl_2 (3 экв.; 305 мкл; 4,2 ммоль). Добавляли DMF (16 мкл; 5% об./об. по SOCl_2) и перемешивали при 40 °C в течение 4 часов. Затем смолу фильтровали и переносили в полипропиленовый реактор. Ее промывали DMF (3×10 мл, 1 мин) и DCM (3×10 мл, 1 мин).

Добавление FmocPhe(L)-ОН. FmocPhe(L)-ОН (2 экв.; 1,085 г; 2,8 ммоль) и DIPEA (10 экв.; 2,44 мл; 14 ммоль) добавляли к смеси СТС-2 (1 экв.; 1 г; 1,2–1,4 ммоль/г; 100–200 меш) в DMF (10 мл), и смесь оставляли перемешиваться в течение 2 часов. Затем смолу фильтровали и промывали MeOH (3×10 мл, 5 мин), DCM (3×10 мл, 1 мин), DMF (3×10 мл, 1 мин) и DCM (3×10 мл, 1 мин).

Fmoc-снятие защиты. DMF (2×15 мл, 1 мин) использовали для промывки FmocPhe(L) на смоле 2-СТС (1 экв.). Затем к смеси добавляли 4-метилпиперидин в DMF (20%/80% об./об., 15 мл), затем перемешивали в течение 15 мин. После этого смолу отфильтровывали и промывали DMF (3×15 мл, 1 мин). После этого добавляли 4-метилпиперидин в DMF (20%/80% об./об., 15 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин. Смолу промывали DMF (3×15 мл, 1 мин) и DCM (3×15 мл, 1 мин) после того, как ее отфильтровывали.

Добавление FmocPhe(L)-ОН. FmocPhe(L)-ОН (2 экв.; 1,085 г; 2,8 ммоль), NOBt (0,5 экв.; 95 мг; 0,7 ммоль), HBTU (2 экв.; 1,062 г; 2,8 ммоль) и DIPEA (3 экв.; 0,73 мл; 4,2 ммоль) были добавлены к смеси $\text{NH}_2\text{-Phe(L)}$ на смоле СТС-2 (1 экв.) в DMF (15 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 2 часов.

Затем смолу отделяли фильтрованием и промывали DMF (3×15 мл, 1 мин) и DCM (3×15 мл, 1 мин).

Фмос- снятие защиты. Fmoc-Phe(L)Phe(L) на смоле CTC-2 (1 экв.) промывали DMF (2 × 15 мл, 1 мин). Затем добавляли 4-метилпиперидин в DMF (20%/80% об./об., 15 мл) и смесь перемешивали в течение 15 мин. Затем смолу отфильтровывали и промывали DMF (3 × 15 мл, 1 мин). Добавляли 4-метилпиперидин в DMF (20%/80% об./об., 15 мл) и смесь перемешивали в течение 15 мин. После того, как смолу отфильтровывали, ее промывали DMF (3 × 15 мл, 1 мин) и DCM (3 × 15 мл, 1 мин). Таким образом, на смоле 2-CTC (~1,4 ммоль) получали дипептид NH₂-Phe(L)Phe(L).

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L)/Соединение 9. В 7 мл DMF соединение 6 (1,2 экв.; 535 мг; 0,648 ммоль), HOBt (0,5 экв.; 37 мг; 0,27 ммоль), HBTU (2 экв.; 410 мг; 1,08 ммоль) и DIPEA (3 экв.; 282 мкл; 1,62 ммоль) добавляли к дипептиду NH₂-Phe(L)Phe(L) на смоле 2-CTC (1 экв.; 0,54 ммоль). Смесь перемешивали в течение 4 часов. Растворитель удаляли фильтрацией, а смолу промывали три раза DMF (7 мл) и три раза DCM (7 мл). Затем смолу высушивали для удаления остатков растворителя. Смесь DCM/TFA (99,25%/0,75%, 11 мл) вводили в смолу и перемешивали в течение 15 мин. Затем смолу отфильтровывали от раствора. Растворитель извлекали при пониженном давлении, а остаток повторно выпаривали с DCM. Остаток затем очищали колоночной хроматографией на колонке PF-15C18AQ-F0025 (15 мкм, 40 г) с использованием Puriflash: H₂O (80%)/MeCN (20%) → H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 15 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 9 выделяли в виде белого аморфного вещества (460 мг, выход 76%).

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом NH₂(CH₂)₃NHFmoc/Соединение 10. TFA^{*}NH₂(CH₂)₃NHFmoc (1,1 экв.; 121 мг; 0,294 ммоль), DIPEA (2,5 экв.; 117 мкл; 0,67 ммоль) в 10 мл DMF, HOBt (1 экв.; 36 мг; 0,268 ммоль) и HBTU (1,5 экв.; 152 мг; 0,402 ммоль) добавляли к раствору соединения 9 (1 экв.; 300 мг; 0,268 ммоль) в 10 мл DMF. Смесь перемешивали в течение 12 часов в инертной атмосфере. Остаток

дважды выпаривали с DCM, а затем растворяли в 30 мл DCM. Затем экстракцию проводили с использованием двух отдельных растворов: H_2O (2×30 мл) и насыщенного раствора NaCl (2×30 мл). Органическую фракцию затем высушили над Na_2SO_4 . Растворитель удалили, а остаток очистили с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash на колонке (15 мкм, 40 г) следующим образом: DCM (100%)/MeOH (0%) => DCM (90%)/MeOH (10%) в течение 30 мин, затем MeOH (100%) в течение 5 мин. Соединение 10 было выделено в виде бледно-желтого аморфного вещества (330 мг, выход 88%).

Вектор PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3$ / Соединение 11. Соединение 10 (1 экв; 200 мг; 0,143 ммоль) растворяли в смеси Et_2NH /DMF (20 экв Et_2NH , 10 мл DMF) и перемешивали в течение 20 мин. Затем растворитель удаляли при пониженном давлении, а остаток повторно выпаривали с DCM три раза. Продукт осаждали Et_2O и дважды промывали Et_2O (2 мл). Остаток очищали методом обращенно-фазовой колоночной хроматографии (Puriflash PF-15C18AQ-F0025 (15 мкм, 35 г): $\text{H}_2\text{O}^*\text{TFA}$ (0,1%) (80%)/MeCN (20%) => $\text{H}_2\text{O}^*\text{TFA}$ (0,1%) (0%)/MeCN (100%) в течение 30 мин после MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 11 получали в виде соли $^*\text{TFA}$ в виде белого аморфного твердого вещества (160 мг, выход 89%).

N-сукцинимидил 3-(трибутилстаннил)бензоат/ Соединение 13. Соединение 12 (1 экв.; 1800 мг; 4,376 ммоль) растворяли в 40 мл сухого DCM. Затем к смеси по каплям добавляли NHS (1,2 экв.; 604 мг; 5,25 ммоль), DMAP (0,1 экв.; 53 мг; 0,438 ммоль) и EDC $^*\text{HCl}$ (1,1 экв.; 924 мг; 4,82 ммоль) в DMF (4 мл). Смесь перемешивали в течение ночи. После завершения реакции растворитель удаляли с помощью роторного испарителя, а остаток растворяли в DCM (100 мл). Затем раствор переносили в делительную воронку, где дважды промывали H_2O , а затем насыщенным раствором NaCl . Органический слой сушили над Na_2SO_4 . Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (Puriflash на колонке (40–60 μ 120 г)): P.E. (97%)/E.A. (3%) в течение 7 мин, затем P.E. (97%)/E.A.

(3%) => Р.Е. (60%)/Е.А. (40%) в течение 40 мин, затем Р.Е. (60%)/Е.А. (40%) => Р.Е. (0%)/Е.А. (100%) в течение 5 мин, затем Е.А. (100%) в течение 10 мин. В результате выделяли фракцию, представлявшую собой бледно-желтое прозрачное маслянистое вещество ($m = 1729$ мг, 78%).

N-сукцинимидил 3-[^{127}I]иодбензоат/ Соединение 14. I_2 (1 экв; 97,5 мг; 0,384 ммоль) растворяют в 0,1N NaOH (2300 мкл = V1), затем к смеси добавляют AcOH (3%) в CHCl_3 (2300 мкл = V2) ($V1 = V2$). Гидропероксид трет-бутила (ТВНР) в CHCl_3 (этот раствор готовят заранее, добавляя 1800 мкл 70% ТВНР в воде к 11209 мкл CHCl_3 , после чего к приготовленной смеси добавляют Na_2SO_4 для связывания воды) (11513 мкл). Затем добавляют соединение 13 (1 экв; 195 мг; 0,383 ммоль) в CHCl_3 (3900 мкл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт осаждали H_2O и дважды промывали H_2O (2 мл) и дважды Р.Е. (2 мл). Остаток очищали обращенно-фазовой колоночной хроматографией (Puriflash PF-15C18AQ-F0025 (15 μ 40g): H_2O (90%)/MeCN (10%) => H_2O (0%)/MeCN (100%) в течение 30 мин, затем MeCN (100%) в течение 15 мин. В результате была выделена фракция в виде белого порошка ($m = 95$ мг, 72%), которая и является целевым веществом.

N-сукцинимидил 4-(трибутилстанил)бензоат/ Соединение 16. Соединение 15 (1 экв.; 1380 мг; 3,35 ммоль) растворяли в 15 мл безводного THF. Затем по каплям добавляли NHS (1,2 экв.; 463 мг; 4,02 ммоль) и DCC (1 экв.; 691 мг; 3,35 ммоль) в THF (15 мл). Смесь перемешивали в течение ночи. Осажденную дициклогексилмочевину удаляли фильтрованием через воронку с пористым дном. Осадок промывали 2×6 мл THF, а затем растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (Puriflash на колонке (40–60 μ 120 г)): Р.Е. (97%)/Е.А. (3%) в течение 7 мин, затем Р.Е. (97%)/Е.А. (3%) => Р.Е. (60%)/Е.А. (40%) в течение 40 мин, затем Р.Е. (60%)/Е.А. (40%) => Р.Е. (0%)/Е.А. (100%) в течение 5 мин, затем Е.А. (100%) в течение 10 мин. В результате была выделена фракция,

представляющая собой бледно-желтое прозрачное маслянистое вещество ($m = 772$ мг, 45%).

N-сукцинимидил 3-[^{127}I]иодбензоат/ Соединение 17. I_2 (1 экв.; 75 мг; 0,295 ммоль) растворяют в 0,1N NaOH (1770 мкл = V1), затем добавляют AcOH (3%) в CHCl_3 (1770 мкл = V2) ($V1 = V2$). Гидропероксид трет-бутила (ТВНР) в CHCl_3 готовят заранее, добавляя 1264 мкл 70% ТВНР в воде к 7872 мкл CHCl_3 , после чего к приготовленной смеси добавляют Na_2SO_4 для связывания воды (8856 мкл). Затем добавляют соединение 16 (1 экв.; 150 мг; 0,295 ммоль) в CHCl_3 (3000 мкл). Смесь перемешивают в течение 30 мин, и растворитель удаляют при пониженном давлении.. Продукт осаждали H_2O и дважды промывали H_2O (2 мл) и дважды Р.Е./Е.А. (80/20) (2 мл). В результате была выделена фракция в виде белого порошка ($m = 98,5$ мг, 97%), которая и является целевым веществом.

Полипептидная последовательность 18/ Соединение 18. Соединение 11 (1 экв.; 228,5 мг; 177,1 ммоль) растворяли в смеси DCM/TFA/TIPS/ H_2O (46,25%/46,25%/2,5%/5%; об./об. соответственно, 8 мл). Смесь перемешивали в течение 3 ч. Затем растворитель удаляли при пониженном давлении, а остаток повторно выпаривали с DCM три раза. Продукт осаждали Et_2O и дважды промывали Et_2O (1 мл). После этого соединение очищали методом колоночной хроматографии (Puriflash на колонке PF-15C18HP-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H_2O (90%)/MeCN (10%) => H_2O (0%)/MeCN (100%) в течение 30 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Индивидуальное соединение 18 получали в виде белого аморфного твердого вещества (159 мг, выход 80%).

Ингибиторы PSMA на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ϵ -атома азота лизина, дипептид, включающий два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3-(трибутилстаннил)бензойную кислоту/ PSMA-m-TBSB or Compound 19. Соединение 18 (1 экв.; 30 мг; 26,75 мкмоль) и DIPEA (6 экв.; 28 мкл; 160,5 мкмоль) растворяли в DMF (2 мл). К полученной

смеси добавляли соединение 13 (1 экв.; 14 мг; 26,75 мкмоль), и систему продували аргоном. Смесь перемешивали в течение 6 ч, и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Затем остаток очищали методом колоночной хроматографии (Puriflash на колонке PF-15C18HP-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 20 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 19 получали в виде белого порошка (28 мг, выход 75%).

Ингибиторы PSMA на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ε-атома азота лизина, дипептид, включающий два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3-(трибутилстаннил)бензойную кислоту/ PSMA-p-TBSB or Compound 20. Соединение 18 (1 экв.; 38 мг; 34 мкмоль) и DIPEA (6 экв.; 30 мкл; 174,36 мкмоль) растворяли в DMF (2 мл). К полученной смеси добавляли соединение 16 (1 экв.; 17,3 мг; 34 мкмоль), систему продували аргоном, и смесь перемешивали в течение 6 часов. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, а остаток затем очищали с помощью колоночной хроматографии (Puriflash на колонке PF-15C18HP-F0012 (15 мк 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 20 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 20 получали в виде белого порошка (30,5 мг, выход 64%).

[¹²⁷I]PSMA-m-IB/ Соединение 21. Путь А. Соединение 18 (1 экв.; 32,5 мг; 29 мкмоль) и DIPEA (6 экв.; 30 мкл; 174,36 мкмоль) растворяли в DMF (4 мл). К полученной смеси добавляли соединение 14 (1 экв.; 10 мг; 29 мкмоль), и систему продували аргоном. Смесь перемешивали в течение 6 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, а остаток затем очищали с помощью колоночной хроматографии (Puriflash на колонке PF-15C18HP-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 20 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 21 получали в виде белого порошка (28,6 мг, выход 80%).

[¹²⁷I]PSMA-m-IB/ Соединение 21. Путь В. I₂ (1 экв; 3,4 мг; 13,136 мкмоль) растворяли в 0,1N NaOH (79 мкл = V1), затем добавляли AcOH (3%) в CHCl₃ (79 мкл = V2) (V1 = V2), а затем трет-бутилгидропероксид (TBHP) в CHCl₃. Затем добавляли соединение 19 (1 экв; 18,4 мг; 13,136 мкмоль L) в DMF (131 мкл). Смесь перемешивали в течение 30 мин. Затем растворитель удаляли при пониженном давлении, а остаток очищали с помощью обращенно-фазовой колоночной хроматографии (Puriflash PF-15C18AQ-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 30 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 21 получали в виде белого порошка (10,5 мг, выход 65%).

[¹²⁷I]PSMA-p-IB/ Соединение 22. Путь А. Соединение 18 (1 экв.; 20 мг; 18 мкмоль) и DIPEA (6 экв.; 19 мкл; 107 мкмоль) растворяли в DMF (4 мл). К полученной смеси добавляли соединение 17 (1 экв.; 6,1 мг; 18 мкмоль), и систему продували аргоном. Смесь перемешивали в течение 6 ч, а затем растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (Puriflash на колонке PF-15C18HP-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение 20 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 22 получали в виде белого порошка (13 мг, выход 59%).

[¹²⁷I]PSMA-p-IB/ Соединение 22. Путь В. I₂ (1 экв.; 5,4 мг; 21,42 мкмоль) растворяли в 0,1N NaOH (129 мкл = V1), и добавляли AcOH (3%) в CHCl₃ (129 мкл = V2) (V1 = V2), а затем трет-бутилгидропероксид (TBHP) в CHCl₃ (этот раствор готовят заранее, добавляя 1800 мкл 70% TBHP в воде к 11209 мкл CHCl₃, после чего к приготовленной смеси добавляют Na₂SO₄ для связывания воды) (643 мкл). Затем добавляли соединение 20 (1 экв.; 30 мг; 21,42 мкмоль.л) в DMF (214 мкл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали методом обращенно-фазовой колоночной хроматографии (Puriflash PF-15C18AQ-F0012 (15 мкм, 20 г), элюент: H₂O (90%)/MeCN (10%) => H₂O (0%)/MeCN (100%) в течение

30 мин, затем MeCN (100%) в течение 5 мин. Соединение 22 получали в виде белого порошка (11,7 мг, выход 44%).

2.9. Методики получения простетических групп

2.9.1. Синтез N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата/ N-succinimidyl 4-(trimethylstannyl)benzoate (STMSB)

Сначала был проведен синтез 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты. Один мл гексаметилдистаннана $((\text{CH}_3)_6\text{Sn}_2$, 4,8 ммоль) и 20 мг бис-(трифенилфосфин)-палладий(II)-дихлорида $((\text{P}(\text{Ph}_3))_2\text{Pd}(\text{II})\text{Cl}_2$, 0,03 ммоль) были добавлены в колбу Шленка, содержащую раствор 4-иодбензойной кислоты (0,5 г, 2 ммоль) в дегазированных 10 мл 1,4-диоксана. Раствор перемешивали при 60 °C в течение 4 ч в атмосфере аргона. После выпаривания сырую смесь наносили на хроматографическую колонку и элюировали градиентом EtOAc: гексан (от 100% гексана до 60% гексана: 40% EtOAc) с получением твердой 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты.

Во-вторых, был выполнен синтез STMSB. 388,1 мг 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты (1,36 ммоль), 313,24 мг гидрохлорида 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (1,63 ммоль) и 188,2 мг N-гидроксисукцинимид (1,63 ммоль) были добавлены в колбу Шленка, содержащую 5 мл дихлорметана. Смесь перемешивали в течение 8 часов при комнатной температуре в атмосфере аргона, а затем выпаривали досуха. После этого сырой продукт наносили на хроматографическую колонку и элюировали градиентом EtOAc: гексан (20% EtOAc: 80% гексан до 50% EtOAc: 50% гексан) с получением белого кристаллического твердого вещества STMSB.

2.9.2 Синтез N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида/ N-((4-hydroxyphenyl)-ethyl)maleimide (HPEM)

HPEM был синтезирован с использованием метода, модифицированного нами из ранее опубликованного метода [121]. Во-первых, тирамин (274 мг, 2,0 ммоль) и малеиновый ангидрид (220,5 мг, 1,9 ммоль) были разбавлены в

ледяной уксусной кислоте (3 мл). Смесь кипятили с обратным холодильником при 120 °C в течение 1,5 ч. Затем реакционную смесь оставляли охлаждаться при комнатной температуре. Добавляли H₂O (15 мл), и водную фазу несколько раз экстрагировали EtOAc. Органические слои подвергали процессу промывки с использованием раствора 1 М NaHCO₃. После этого смесь сушили с использованием Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом для получения неочищенных продуктов. Полученный неочищенный продукт очищали с использованием колоночной хроматографии (100% CH₂Cl₂:0% Et₂O до 90% CH₂Cl₂:10% Et₂O) в качестве подвижной фазы для получения белых кристаллов (выход 60%).

2.10. Методики получения экспериментальных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

2.10.1. Методика синтеза [¹²³I]PSMA-p-IB

¹²³I был доступен в 0,01 М NaOH со средней активностью партии приблизительно 732 МБк/мл. Средняя активность ¹²³I, использованная для каждого эксперимента, составляла 25 МБк. Раствор PSMA (1 мг/мл, предварительно растворенный в CH₃OH/CH₃COOH; 95/5 (об./об.)) был добавлен к раствору ¹²³I. В качестве окислителя использовался хлорамин-Т (10 мкл в воде Milli-Q). Реакция проводилась при комнатной температуре. Время реакции рассчитывалось, когда хлорамин-Т добавлялся к смешанному раствору и тщательно перемешивался. Для гашения реакции в реакционную смесь добавлялось 10 мкл раствора метабисульфита натрия. Количество использованного метабисульфита натрия в 2 раза превышало количество окислителя. После этого в реакционную смесь добавляли 5 мкл раствора NaI с концентрацией 10 мг/мл. Для проверки выхода радиомечения проводили радио-iTLC, нанося 2 мкл на хроматографическую пластину из стеклянного микроволокна iTLC, пропитанную силикагелем (пластина волокна iTLC-SG), и элюировали раствором CH₃CN/H₂O, 95/5 (об./об.). В этих условиях [¹²³I]PSMA-p-IB имел R_f = 0,1–0,3, в то время как свободный радиоiod перемещался с

фронтом системы элюентов ($R_f \geq 0,75$). Был рассчитан процент эффективности радиомечения радиолиганда. Все данные выражены как среднее значение $\pm$ SD.

Для того чтобы исследовать оптимальные условия радиомечения, исследование было проведено путем варьирования количества пептида, времени реакции и количества окислителя. Влияние количества лиганда PSMA (PSMA-р-TBSB) (0,73 нмоль, 3 нмоль, 5 нмоль, 10 нмоль и 50 нмоль) было исследовано при фиксированном времени реакции 5 мин и количестве окислителя 40 мкг. Влияние времени реакции было изучено путем применения временных вариаций 0,5 мин, 5 мин, 10 мин и 30 мин к процессу реакции, при этом количество используемого пептида и окислителя было зафиксировано на уровне 5 нмоль и 40 мкг соответственно. Между тем, исследование влияния количества окислителя на оптимизацию радиомечения проводилось с использованием 10 мкг, 40 мкг, 80 мкг и 150 мкг в вариации с фиксированным временем реакции 5 мин и количеством пептида 5 нмоль. Все реакции проводились при комнатной температуре, а pH доводился до 5–6 путем добавления 1% раствора CH_3COOH до одной десятой объема к раствору $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$.

2.10.2. Методика синтеза DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ и DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$

Прямое мечение DARPin $(\text{HE})_3\text{-E01}$ иодом-123 проводилось с использованием хлорамина-Т [108]. К раствору $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$ (50 мкл, 25–30 МБк) добавляли 0,1 М раствор HCl (5 мкл). Затем к реакционной смеси добавляли DARPin $(\text{HE})_3\text{-E01}$ (2,7 нмоль, 50 мкг, 10 мкл 4,96 мг/мл в 0,02 М фосфатном буфере) и раствор NaI (1,4 нмоль, 0,2 мкг, 2 мкл 0,1 мг/мл), и смесь встряхивали. Через пять мин добавляли хлорамин-Т (40 мкг, 10 мкл 4 мг/мл в PBS). Реакцию проводили при комнатной температуре в течение двух мин. Чтобы остановить реакцию, в реакционную смесь добавляли раствор метабисульфита натрия (80 мкг, 10 мкл, 8 мг/мл в воде).

В то время как DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ синтезируется посредством добавления 2–20 мкг йодида натрия (2 мг/мл в воде) и раствора ^{123}I с

активностью 280–1200 МБк к флакону, содержащему 500–4000 мкг белка DARPin (HE)₃-G3. pH реакционной смеси доводили до pH = 5,5–7,5 раствором 0,1 М соляной кислоты и инкубировали в течение 3–7 мин. Затем в реакционную смесь добавляли 40–120 мкг хлорамина-Т (2 мг/мл в PBS) и продолжали перемешивание и инкубацию при комнатной температуре в течение 60–240 секунд. Для остановки реакции в реакционную смесь добавляли 80–240 мкг метабисульфита натрия (4 мг/мл в PBS).

Оба DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-E01 и DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-G3 были очищены с помощью гель-хроматографии на одноразовых колонках NAP-5, предварительно уравновешенных и элюированных PBS. Радиохимический выход и чистота обоих радиомеченых DARPin были определены с помощью анализа радио-*i*TLC в системе 4:1 ацетон:вода.

2.10.3. Методика синтеза радиоактивно меченой простетической группы [¹²³I]SIB

На первом этапе раствор [¹²³I]NaI (приблизительно 500 МБк/мл) был доведен до pH 5-6 путем добавления 0,1% раствора CH₃COOH (10-30 мкл). Затем к раствору ¹²³I был добавлен STMB (8 нмоль, 4 мкг, предварительно растворенный в 4 мкл смеси CH₃OH/CH₃COOH; 95/5 (об./об.)). Время реакции отсчитывали, когда хлорамин-Т (40 мкг, 10 мкл, 4 мг/мл в воде) добавляли к смешанному раствору и затем осторожно встряхивали. Для гашения реакции к реакционной смеси добавляли раствор метабисульфита натрия (60 мкг, 10 мкл, 6 мг/мл в воде). Затем радиохимический выход измеряли с помощью радио-*i*TLC с этилацетатом в качестве подвижной фазы.

2.10.4. Методика синтеза DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-E01-PIB

DARPin (HE)₃-E01 (с молярной вариацией 2,7 - 10,94 нмоль, 40 мкл в 0,02 М фосфатном буфере) и 120 мкл 0,07 М боратного буфера (pH 9,3) добавляли к свежему [¹²³I]SIB (без предварительной очистки). После 30 мин инкубации при комнатной температуре радиоактивно меченый конъюгат очищали с помощью гель-хроматографии на одноразовых колонках NAP-5,

предварительно уравновешенных и элюированных PBS. Еще одна инкубация в течение 60 мин при комнатной температуре была проведена для исследования влияния времени реакции на радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$. Радиохимический выход и чистота $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ были измерены с помощью анализа радио-iTLC в системе ацетон:вода (4:1). Был рассчитан процент эффективности радиомечения радиолиганда. Все данные выражены как среднее значение $\pm$ SD.

2.10.5. Методика синтеза радиоактивно меченой простетической группы

$[^{123}\text{I}]\text{IHPeM}$

Сначала раствор $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$ (приблизительно 1000 МБк/мл) довели до pH 5-6 с помощью 0,1% раствора CH_3COOH . Затем к раствору $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$ добавляли ((4-гидроксифенил)этил)малеимид (23 нмоль, 5 мкг, 5 мкл, предварительно растворенный в смеси $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$; 95/5 (об./об.)). Для начала реакции к реакционной смеси добавляли раствор хлорамина-Т (40 мкг, 10 мкл, 4 мг/мл в воде). После того, как реакция протекала в течение 5 мин при комнатной температуре, к реакционной смеси добавляли раствор метабисульфита натрия (60 мкг, 10 мкл, 6 мг/мл в воде). Радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{IHPeM}$ измеряли с помощью радио-iTLC с этилацетатом в качестве подвижной фазы. Рассчитывали процентную эффективность радиомечения радиолиганда. Схема радиоидинирования 3-иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ($[^{123}\text{I}]\text{IHPeM}$) представлена на рисунке 3.42.

2.10.6. Методика синтеза DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-IHPeM}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-IHPeM}$

Непрямое мечение DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-IHPeM}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-IHPeM}$ осуществляли путем конъюгации $[^{123}\text{I}]\text{IHPeM}$ с DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-IHPeM}$ или DARPin-E01-G₃C. DARPin-E01-E₃C (с молярной вариацией) или DARPin-E01-G₃C (с молярной вариацией) в 100 мкл 0,2 М уксусно-аммонийного буфера pH=6,0 добавляли к свежей $[^{123}\text{I}]\text{IHPeM}$ (без предварительной очистки). После

30 мин инкубации при температуре 40°C радиоактивно меченые конъюгаты очищали с помощью гель-хроматографии на одноразовых колонках NAP-5, предварительно уравновешенных и элюированных PBS. Также был проведен процесс инкубации в течение 60 мин при температуре 40°C для исследования влияния времени реакции на радиохимические выходы. Радиохимические выходы и чистота DARPin [^{123}I]I-E01-E₃C-HPeM и DARPin [^{123}I]I-E01-G₃C-HPeM измерялись с помощью анализа радио-TLC в системе ацетон:вода (4:1). Рассчитан процент эффективности радиомечения радиолиганда.

2.11. Методика определения липофильности: Log(D) [^{123}I]PSMA-p-IB

Для оценки липофильности [^{123}I]PSMA-p-IB рассчитывали логарифм коэффициента распределения между н-октанолом и водой [122]. Пробирку Эппендорфа заполняли 500 мкл н-октанола и добавляли равный объем воды Milli-Q, затем добавляли 10 пмоль [^{123}I]PSMA-p-IB. Смесь интенсивно перемешивали с помощью вихревого миксера в течение 3 мин, после чего проводили процесс центрифугирования в течение 5 мин. Гамма-счетчик использовали для измерения активности в 100 мкл обеих фаз. Измерение проводили три раза.

2.12. Характеристика in vitro и исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных йодом-123

Характеристика in vitro и исследования на животных экспериментальных радиофармпрепаратов, меченых йодом-123, состояли из теста на специфичность связывания, теста на аффинность связывания, теста на биораспределение у нормальных мышей и целевых свойств in vivo у иммунодефицитных мышей Nu/j. Методы, использованные в этом исследовании, описаны в дополнительной информации к диссертации.

ГЛАВА 3. Исследовательская часть: разработка методов получения иод-123-содержащих радиофармацевтических лекарственных препаратов для медицинской диагностики

3.1. Усовершенствование способа получения иода-123 из облученной дейтронами мишени $^{122}\text{TeO}_2$

В данном подразделе научно-исследовательской части работы были сосредоточены на усовершенствовании способа получения иода-123 на циклотроне типа У-120 посредством ядерной реакции $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$. Исследование также включало оптимизацию конструкции мишени с использованием обогащенного теллура-122, определение необходимых условий его облучения и схемы установки для облучения и последующего выделения иода-123 из облученной мишени, а также выбор наиболее эффективного метода получения ^{123}I методом сухой дистилляции.

3.1.1. Оптимизация разработки дизайна мишени из материала для обогащения теллура-122 и определение условий облучения

Изначально работа заключалась в определении фактической энергии первичного пучка дейтронов циклотрона типа У-120 Томского политехнического университета. В качестве монитора пучка использовался $^{\text{nat}}\text{Cu}$ для исследования первичной энергии дейтронов из циклотрона У-120. Фактическая энергия первичного пучка дейтронов оценивалась на основе результатов ядерных реакций, индуцированных дейтронами, на образце-мониторе $^{\text{nat}}\text{Cu}$, которые известны и рекомендованы Международным агентством по атомной энергии (МАГАТЭ). Полученное отношение сечений $\sigma(^{63}\text{Zn})/\sigma(^{65}\text{Zn})$ на образце-мониторе $^{\text{nat}}\text{Cu}$ составило 0,9361. Сравнивая полученное отношение сечений ($\sigma(^{63}\text{Zn})/\sigma(^{65}\text{Zn})$ на фольге $^{\text{nat}}\text{Cu}$) с отношением, рекомендованным МАГАТЭ для тех же радиоизотопов (рисунок 3.1), была получена эффективная энергия, соответствующая сечениям на фольге $^{\text{nat}}\text{Cu}$, равная 13,05 МэВ. Эффективная энергия – это средняя энергия (E_{eff})

первичной (E^{IN}) и исходящей (E^{OUT}) энергии частиц в мишени, $E_{eff} = \frac{E^{in} + E^{out}}{2}$.

Исходя из этого значения эффективной энергии и учитывая толщину мишени, первичная энергия дейтрона была оценена кодом SRIM как $13,45 \pm 0,10$ МэВ.

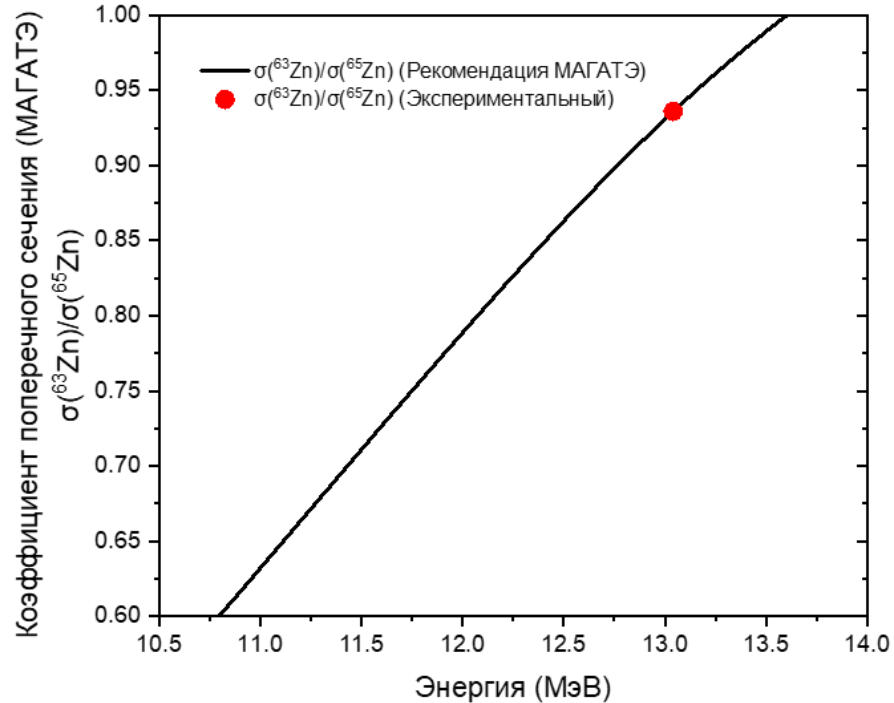


Рисунок 3.1 – Экспериментальное отношение сечений $\sigma(^{63}\text{Zn})/\sigma(^{65}\text{Zn})$ на мониторе $^{\text{nat}}\text{Cu}$ в сравнении с отношениями сечений, рекомендованными МАГАТЭ

Для решения задачи снижения радионуклидных примесей в виде других изотопов иода, образующихся при облучении теллуровой мишени дейтронами и получения «чистого» иода-123 в работе использовался оксид теллура-122 с обогащением более 99%. С целью разработки конструкции мишени из обогащенного теллура-122 и определения условий ее облучения с использованием кода ядерных реакций TALYS-2.0 были рассчитаны сечения и выходы реакций продукта из обогащенной теллуровой мишени-122, облученной дейтронами [17]. В качестве мишени в расчетах использовался обогащенный 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$. Учитывая, что в данной работе использовался $^{122}\text{TeO}_2$ производства Сибирского химического комбината (г. Северск) с обогащением ^{122}Te - $99,6 \pm 0,1\%$, аттестованное содержание изотопов теллура и других элементов в этом материале приведено в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Изотопный состав мишени из оксида теллура-122.

	^{120}Te	^{122}Te	^{123}Te	^{124}Te	$^{125}\text{Te}, ^{126}\text{Te}$	^{130}Te
%	< 0,01	99,6±0,1	0,1±0,03	0,2±0,01	< 0,01	0,05±0,01

Радионуклид ^{123}I ($T_{1/2} = 13,22$ ч) может быть, возможно, получен при различных энергиях, рассмотренных в этом исследовании, из 99,6% мишени $^{122}\text{TeO}_2$ через основную реакцию $^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$. Расчеты поперечного сечения привели к большому объему данных. Однако только некоторые из полученных изотопов были включены в последующий анализ, что привело к оценке выхода реакции и примесей. Радиоактивные продукты, исследованные в облученной мишени из диоксида теллура, перечислены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Данные о распаде некоторых продуктов ядерных реакций, используемые в измерениях поперечного сечения [25, 123].

Радиоизотоп	Радиоизотоп	Режим распада (% разветвления)	Вносящая вклад реакция	Порог (кэВ)
^{120}I	81,6 мин	EC (31,8) β^+ (68,2)	$^{120}\text{Te}(d,2n)^{120}\text{I}$	8756(15)
^{121}I	2,12 ч	EC (89,4) β^+ (10,6)	$^{120}\text{Te}(d,n)^{121}\text{I}$ $^{122}\text{Te}(d,3n)^{121}\text{I}$	0 15378(5)
^{122}I	3,63 мин	EC (22) β^+ (78)	$^{120}\text{Te}(d,\gamma)^{122}\text{I}$ $^{122}\text{Te}(d,2n)^{122}\text{I}$ $^{123}\text{Te}(d,3n)^{122}\text{I}$	0 7352(5) 14385 (5)
^{123}I	13,22 ч	EC (100)	$^{122}\text{Te}(d,n)^{123}\text{I}$ $^{123}\text{Te}(d,2n)^{123}\text{I}$ $^{124}\text{Te}(d,3n)^{123}\text{I}$	0 4300(4) 13866 (4)
^{124}I	4,17 д	EC (77,3) β^+ (22,7)	$^{122}\text{Te}(d,\gamma)^{124}\text{I}$ $^{123}\text{Te}(d,n)^{124}\text{I}$ $^{124}\text{Te}(d,2n)^{124}\text{I}$ $^{125}\text{Te}(d,3n)^{124}\text{I}$	0 0 6259(3) 12926 (3)
^{125}I	59,41 д	EC (100)	$^{123}\text{Te}(d,\gamma)^{125}\text{I}$ $^{124}\text{Te}(d,n)^{125}\text{I}$ $^{125}\text{Te}(d,2n)^{125}\text{I}$ $^{126}\text{Te}(d,3n)^{125}\text{I}$	0 0 3240,4(19) 12488,5(19)
^{126}I	12,93 д	EC (51) β^+ (1,0) β^- (47,3)	$^{124}\text{Te}(d,\gamma)^{126}\text{I}$ $^{125}\text{Te}(d,n)^{126}\text{I}$ $^{126}\text{Te}(d,2n)^{126}\text{I}$	0 0 5237(4)
^{130}I	12,36 ч	IT (84) β^- (16)	$^{130}\text{Te}(d,2n)^{130}\text{I}$	3473(3)
^{131}I	8,03 д	β^- (100)	$^{130}\text{Te}(d,n)^{131}\text{I}$	0
^{121g}Te	19,17 д	EC (100)	$^{120}\text{Te}(d,p)^{121g}\text{Te}$ $^{122}\text{Te}(d,n+d)^{121g}\text{Te}$ $^{122}\text{Te}(d,2n+p)^{121g}\text{Te}$	0 9990(3) 12250(3)

Продолжение таблицы 3.2

			$^{123}\text{Te}(\text{d},\text{n}+\text{t})^{121\text{g}}\text{Te}$	10670(3)
$^{121\text{m}}\text{Te}$	165,1 д	IT (90,2) EC (9,8)	$^{120}(\text{d},\text{p})^{121\text{m}}\text{Te}$ $^{122}\text{Te}(\text{d},\text{n}+\text{d})^{121\text{m}}\text{Te}$ $^{122}\text{Te}(\text{d},2\text{n}+\text{p})^{121\text{m}}\text{Te}$ $^{123}\text{Te}(\text{d},\text{n}+\text{t})^{121\text{m}}\text{Te}$	0 9990(3) 12250(3) 10670(3)

Сечения всех исследованных радиоактивных продуктов в реакциях, вызванных дейтронами на $^{122}\text{TeO}_2$, нормализованы к целевой распространенности каждого стабильного изотопа в 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ (таблица 3.2). Рассчитанные сечения для производства иода-123 и других радиоактивных изотопов в реакциях, вызванных дейтронами на 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$, представлены в таблице 3.3. По сравнению с ранее полученными экспериментальными данными Такас и др. (1999) [38], поперечное сечение, полученное с помощью TALYS-2.0, показывает хорошее согласие (рисунок 3.2).

Таблица 3.3 – Теоретически рассчитанные сечения образования радиоактивных изотопов в реакциях, вызванных дейтронами, на мишени 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$

Энергия дейтрона [МэВ]	Сечение реакции образования [мб]										
	^{120}I	^{121}I	^{122}I	^{123}I	^{124}I	^{125}I	^{126}I	^{130}I	^{131}I	$^{121\text{g}}\text{Te}$	$^{121\text{m}}\text{Te}$
5	0	0	0	5,63	0,01	0,013	0	0,003	0,001	0	0
6	0	0	0	37,64	0,03	0,084	0,001	0,021	0,006	0,002	0,002
7	0	0,01	0	123,17	0,08	0,257	0,004	0,069	0,014	0,008	0,007
8	0	0,03	14,2	302,97	0,41	0,457	0,013	0,184	0,018	0,011	0,010
9	0	0,05	143,1	388,78	0,90	0,462	0,025	0,303	0,017	0,012	0,013
10	0,007	0,06	357,4	363,91	1,36	0,392	0,036	0,407	0,015	0,013	0,015
11	0,023	0,05	572,6	301,20	1,72	0,320	0,045	0,482	0,014	0,013	0,028
12	0,043	0,05	756,3	237,13	1,99	0,266	0,051	0,506	0,013	0,012	0,133
13	0,060	0,04	900,1	184,63	2,19	0,228	0,057	0,475	0,012	0,012	0,476

14	0,075	0,03	1017,8	146,14	2,37	0,203	0,060	0,419	0,011	0,012	1,129
15	0,087	0,03	1114,0	118,42	2,50	0,186	0,058	0,358	0,010	0,029	2,086

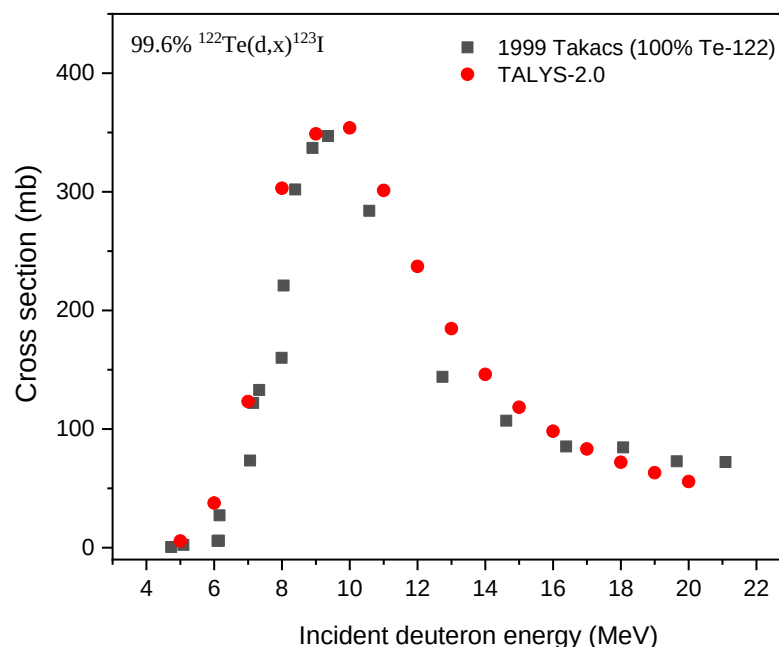


Рисунок 3.2 – Поперечное сечение $99,6\% \text{ }^{122}\text{TeO}_2(d,x)^{123}\text{I}$, полученное с помощью TALYS-2.0 и предыдущих экспериментальных данных Такач и др. [38]

На основании поперечного сечения и тормозной способности был определен физический выход образования ^{123}I в реакции, индуцированной дейтронами, на $99,6\% \text{ }^{122}\text{TeO}_2$ (рисунок 3.3), а также был оценен оптимальный энергетический диапазон (рисунок 3.4). Результаты оптимизации выхода реакции на $99,6\% \text{ }^{122}\text{TeO}_2(d,x)^{123}\text{I}$ выявили оптимальный диапазон энергий $E_d = 13,45 \rightarrow 8 \text{ МэВ}$ с величиной выхода ^{123}I , составляющей 62,65 МБк/мкА·ч. Определено, что для покрытия этого диапазона энергий оптимальная поверхностная плотность мишени $^{122}\text{TeO}_2$ должна составлять 145,1 мг/см² при минимальной толщине 0,26 мм. Этот результат показывает согласие с предыдущей рекомендацией относительно диапазона энергий дейтронов, подходящего для оптимального получения ^{123}I [124].

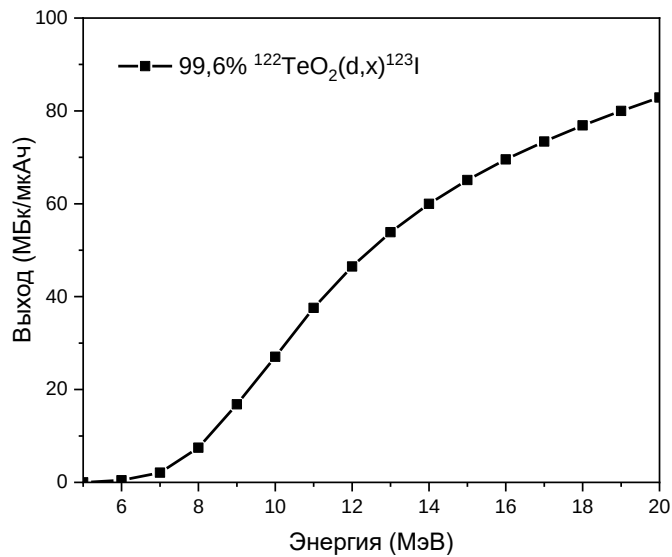


Рисунок 3.3 – Расчетный физический выход производства ^{123}I при облучении 99,6% мишени $^{122}\text{TeO}_2$ дейтронами

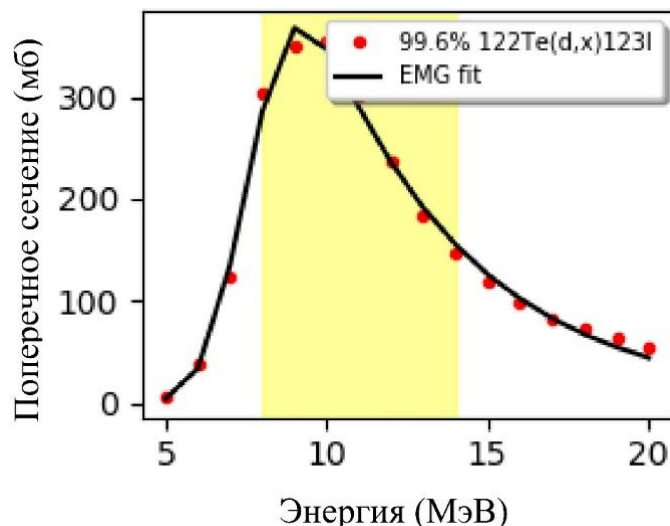


Рисунок 3.4 – Расчетный оптимальный диапазон энергии для производства ^{123}I путем облучения 99,6% мишени $^{122}\text{TeO}_2$ с использованием дейтронов

Для повышения низкой механической прочности оксида теллура с целью повышения его температурной стойкости и интенсивности теплопередачи при излучении в работе обычно используют платиновую подложку толщиной 0,4 мм с канавкой в центре. Расплав TeO_2 наносили на платиновую подложку при температуре 700 °С. Для улучшения его усвоения и равномерного распределения в расплав на поверхности платиновой подложки добавляли

порошок оксида Al_2O_3 (4 мас.%). Схематическая (немасштабная) диаграмма расположения мишени на держателе мишени в циклотроне показана на рисунке 3.5.

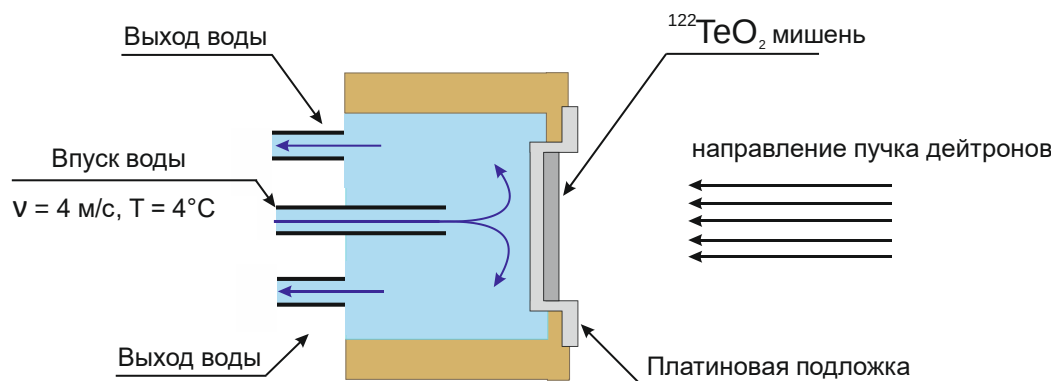


Рисунок 3.5 – Схема (немасштабная) расположения мишени на держателе мишени в циклотроне

Учитывая сравнительно небольшой выход иода-123 по реакции (d,n), для получения высокой активности мишени из теллура-122 можно использовать ток эмиссии дейтронов не менее 10 мкА и время экспозиции 3-4 часа. Для описанных условий нами рассчитан ожидаемый примесный состав различных радионуклидов иода после облучения дейтронами «толстых» обогащенных мишеней с $^{122}\text{TeO}_2$ (таблица 3.4). Используя обогащенный 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ и расчетно-теоретически оптимизированные нами параметры, можно добиться высокой чистоты иода-123. Срок хранения препаратов на его основе будет составлять более 50 часов. Иод-123 выделяют из облученных мишеней $^{122}\text{TeO}_2$ термической перегонкой при температуре до 700 °С с последующей абсорбцией паров 0,01 М раствором NaOH.

Таблица 3.4 – Ожидаемый примесный состав различных радионуклидов иода после облучения 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ дейтронами.

Радионуклид	Содержание, %	
	20 мин после окончания облучения (Во время изоляции)	50 часов после окончания облучения
^{120}I	0,0265	-
^{121}I	0,0444	-
^{124}I	0,0501	0,7825
^{125}I	0,0006	0,0141
^{126}I	0,0003	0,0076

^{130}I	0,1005	0,1253
^{131}I	0,0005	0,0062
$^{121\text{g}}\text{Te}$	0,0001	0,0002
$^{121\text{m}}\text{Te}$	0,0012	0,0032

3.1.2. Изучение сухой дистиляции иода-123 из обогащенной мишени



Для исследования сухой дистиляции иода-123 использована описанная ранее Скуридиным В.С. и др. [41] схема установки, но включающая предлагаемые нами блоки, разработанные для контроля и мониторинга температурного режима и активности иода-123 в процессе сухой дистиляции иода-123 из мишени $^{122}\text{TeO}_2$. Более подробно модернизация установки сухой перегонки описана в дополнительной информации. Эксперимент проводился с целью определения зависимости выхода радионуклидов от температуры до 700 °С в дистиляционной установке. При этом газообразный продукт одновременно поглощался щелочным раствором (0,01 М NaOH). Регистрировался температурный режим и активность поглощенного щелочным раствором иода-123. Схема устройства установки приведена на рисунке 3.6.

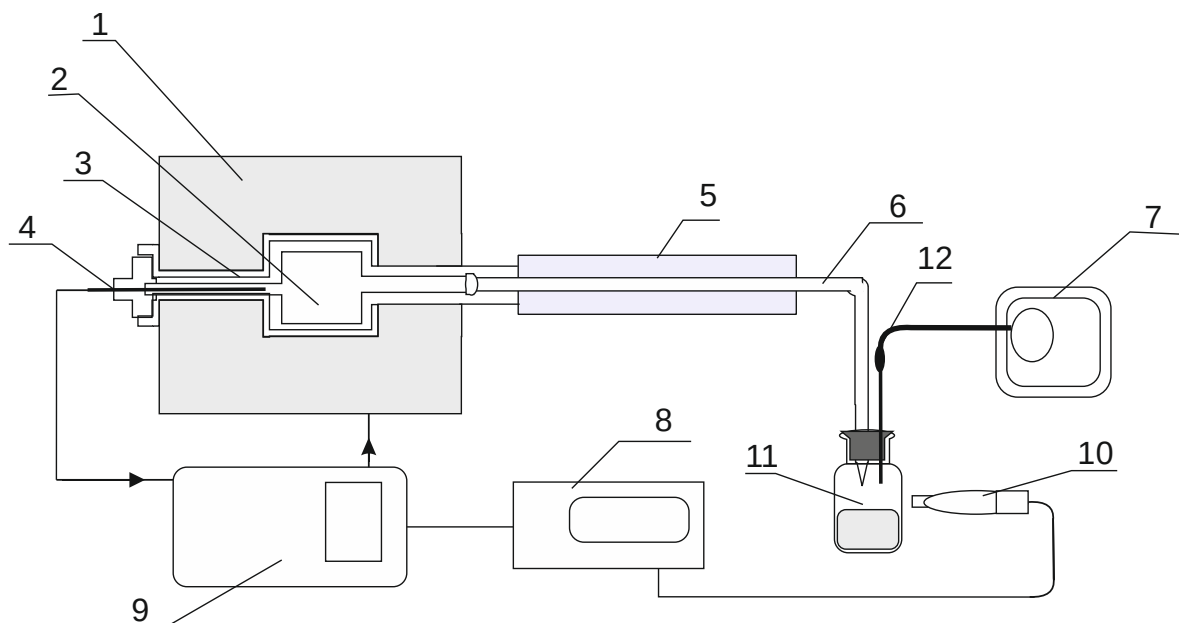


Рисунок 3.6 – Схема разработанной установки для сухой дистиляции иода-123 из мишени $^{122}\text{TeO}_2$

По представленной схеме в состав установки входят: 1 – электронагреватель с термоизоляционным кожухом, 2 – держатель мишени, 3 – кварцевый дистиллятор, 4 – термopapa, 5 – трубчатый нагреватель, 6 – трубка для транспортировки паров иода-123; 7 – перистальтический насос, 8 – сложная система детектирования температуры и активности, 9 – регулятор температуры, 10 – ФЭУ R7400 детектор, 11 – приемный флакон с поглотителем (0,01 М раствор NaOH), 12 – силиконовая трубка.

Экспериментальные исследования показали, что на величину выделения ^{123}I из мишени и количество теряемой мишени оксида TeO_2 влияют температура сухой дистилляции и условия транспортировки ^{123}I из камеры дистиллятора в приемную колбу. Величина потерь материала зависит от различных факторов, в том числе геометрических размеров пути, распределения температуры по его длине и состояния поверхности [41]. Для переноса извлеченного ^{123}I через поток воздуха со скоростью 30 мл/мин потребовался перистальтический насос. Дистилляционный путь имеет диаметр трубки 9 мм и общую длину 120 мм.

В процессе сухой дистилляции температура в дистилляторе и активность иода-123 в приемной колбе с поглотителем (NaOH 0,01 М) измерялись с помощью разработанного в данной работе программно-аппаратного комплекса с детектором, имеющим фотоэлектронный умножитель ФЭУ R7400. С помощью данной установки автоматически контролировались условия в камере и активность иода-123 в процессе сухой дистилляции. Скорость повышения температуры в начальный период процесса извлечения составляла 1,5 °C/с. Полученные результаты представлены на рисунке 3.7.

На рисунке 3.7 показано, что активность в приемной колбе с раствором в процессе работы постоянно поддерживается на уровне, близком к фоновому, особенно в диапазоне температур 450-500 °C. Активность иода-123 в приемном растворе заметно возрастает только при превышении температурой 500 °C. Диссоциация I_2 на свободные радикалы составляет 18% при 460 °C [40], что указывает на то, что это довольно устойчивый вид при высоких температурах. Продолжительность, необходимая для диффузии иода-123 из мишени TeO_2 ,

можно определить от начала кривой до точки, где активность начинает увеличиваться в приемной колбе.

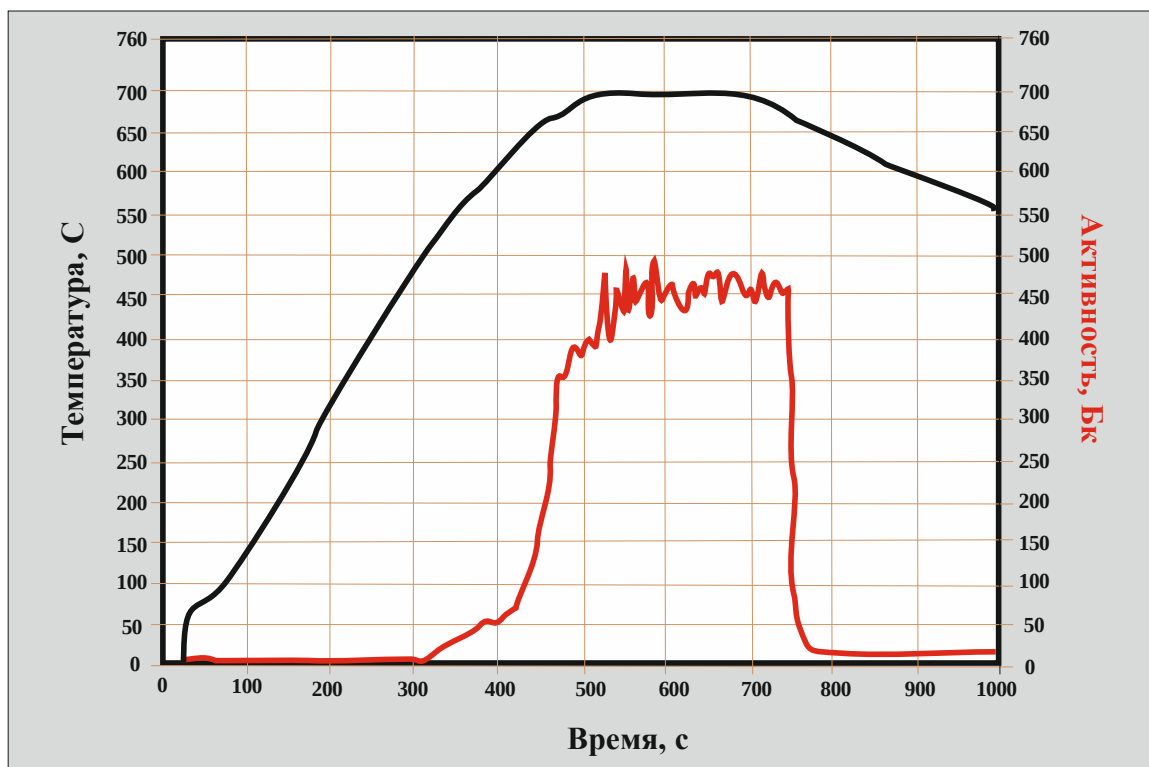


Рисунок 3.7 – На графике показаны две кривые – изменение температуры и активность йода-123 в поглотителе в зависимости от времени дистилляции

При повышении температуры свыше 650 °C активность йода-123 в приемной колбе была зафиксирована как значительно возросшая. При этой температуре начинается интенсивное выделение йода из облученной мишени. Наконец, при температуре 700 °C активность йода-123 достигала оптимальной точки и выше. В той части кривой активности, где значение достигает одного и того же уровня, это говорит о том, что выделение йода прекратилось, и процесс сублимации должен быть завершен. В той части кривой активности, где значение достигает одного и того же уровня, можно увидеть, что показания нестабильны. Причина в том, что во время выделения йода раствор в приемнике барботируется потоком газа.

Для очистки выделяемого из мишени йода-123 от посторонних радиоактивных примесей, процесс выделения проводили в два этапа. На первом этапе мишень TeO_2 была помещена в отдельную печь. Начальная фаза мишени

TeO₂ после облучения была помещена в отдельную печь и поддерживалась при постоянной температуре 450 °С в течение 20 мин. Цель состоит в том, чтобы термически очистить переднюю стенку мишени во время облучения, чтобы удалить любые потенциальные побочные загрязнения, такие как органические примеси и фтор-18, которые могут образоваться из-за охлаждения атмосферным воздухом. На втором этапе мишень перемещается в кварц (2) основного блока (рисунок 3.6). На этом этапе для успешного извлечения иода нами было предложено температуру печи повышать до максимального значения 700 °С. Процесс сублимации нами предлагается проводить в течение 13 мин. В предлагаемых оптимизированных условиях средний выход иода-123 из мишени составляет 94%. Достаточно возгонять чуть выше температуры плавления, т. е. при 700 °С. Повышение температуры выше 700 °С связано с увеличением потерь материала мишени. Явление потери материала мишени происходит очень быстро при температурах выше 720 °С. [40]. Потеря материала мишени не только обходится дорого, но и может привести к нестабильной производительности из-за истончения мишени. Спектральная характеристика гамма-излучения иода-123 через 1 ч после разделения представлена на рисунке 3.8 (радионуклидная чистота >99,9%).

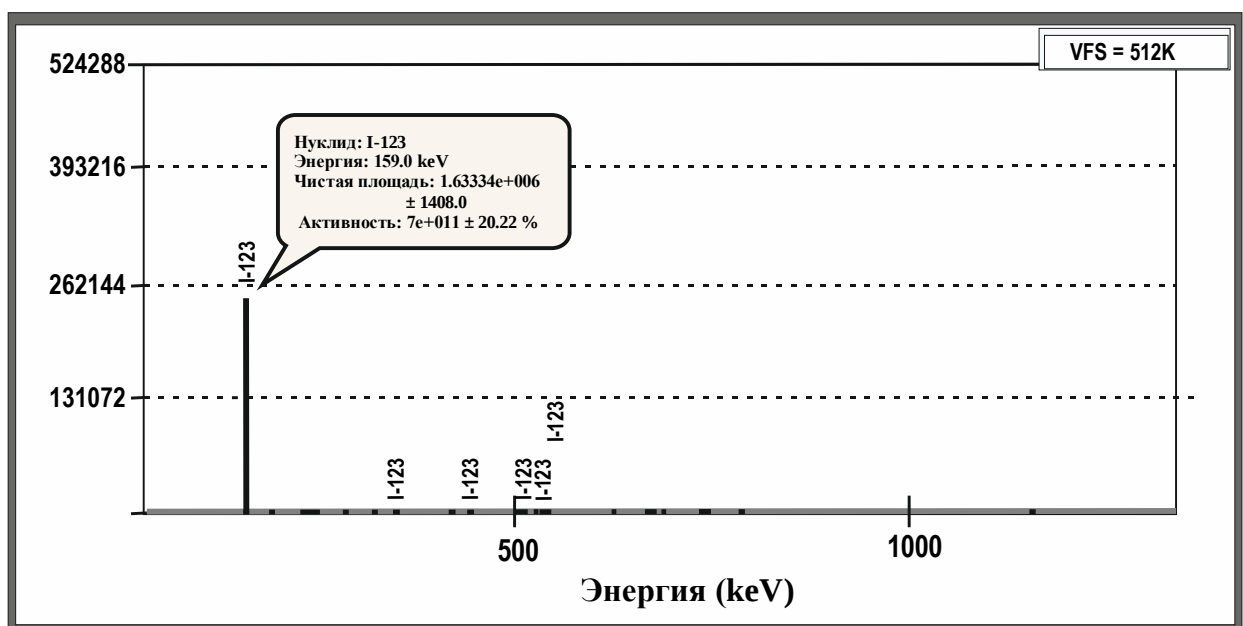


Рисунок 3.8 – Спектральная характеристика гамма-излучения иода-123 через 1 ч после сухой дистилляции

3.2. Разработка и синтез лигандов PSMA на основе мочевины

Проведена разработка и синтез новых ингибиторов PSMA на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизина (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ε -атома азота лизина, дипептидом, включающим два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3- или 4-(трибутилстаннил)бензойной кислотой в качестве простетической группы в их структурах для радиомечения. Соединения [^{127}I]PSMA-m-IB и [^{127}I]PSMA-p-IB, которые использовались для сравнительных и характеристических исследований, изначально были получены с использованием двух различных методов синтеза.

Для синтеза целевых соединений **19–22** (PSMA-m-TBSB, PSMA-p-TBSB, [^{127}I]PSMA-m-IB, и [^{127}I]PSMA-p-IB) были выбраны три схемы (Рисунок 3.9–3.11), включающие последовательное решение пяти синтетических задач. (1) Синтезирован вектор PSMA **6**, модифицированный вариант мочевины DCL с ε -аминокапроновой кислотой (Ahx) и янтарной кислотой (Suc) (Рисунок 3.9). (2) Синтез пептидного линкера (соединение **8**) с использованием твердофазного пептидного синтеза (SPPS) (Рисунок 3.10) и последующее присоединение векторного фрагмента (соединение **6**) используют дипептидный линкер (Рисунок 3.10). (3) С-концевая часть полипептидной последовательности (соединение **11**) будет модифицирована для ее связывания с простетическими группами N-сукцинимидил 3-(трибутилстаннил)бензоата (m-STBSB)/соединения **13** и N-сукцинимидил 4-(трибутилстаннил)бензоата p-STBSB/соединения **16** (Рисунок 3.10). (4) Процесс включает получение NHS-активированных эфиров простетических групп m-STBSB (соединение **13**) и p-STBSB (соединение **16**), как показано на рисунке 3.11. (5) Лиганд PSMA может быть объединен с простетическими группами m-STBSB или p-STBSB. Кроме того, для синтеза конъюгатов [^{127}I]PSMA-m-IB (соединение **21**) или [^{127}I]PSMA-p-IB (соединение **22**) можно использовать два различных метода, как показано на рисунке 3.12.

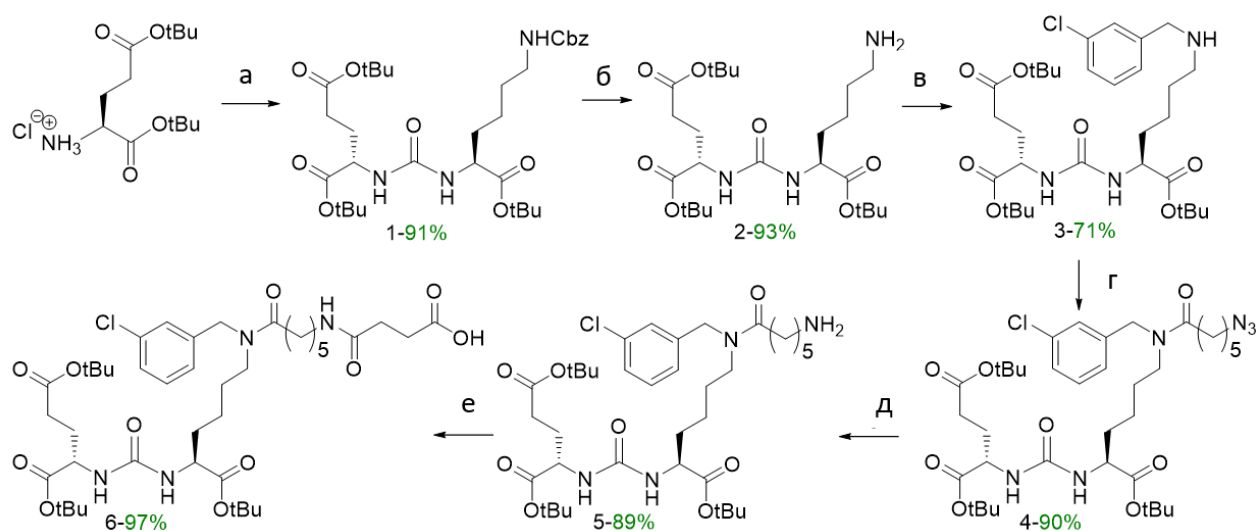


Рисунок 3.9 – Схема синтеза фрагмента PSMA-вектора **6**. Реагенты и условия: **(а)** (1) трифосген, DCM, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$; (2) H-Lyz(Cbz)-O-tBu·HCl, Et₃N, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$; **(б)** H₂, Pd/C (10%), MeOH; **(в)** (1) 3-Cl-C₆H₄-CHO, DCM; (2) NaBH₄; **(г)** PyBOP, DIPEA, DMF, N₃(CH₂)₅COOH; **(д)** THF/H₂O, Ph₃P, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$; **(е)** (1) Янтарный ангидрид, DCM, DIPEA; (2) MeOH; (3) HCl (0.1 M). Все аминокислоты имеют L-конфигурацию

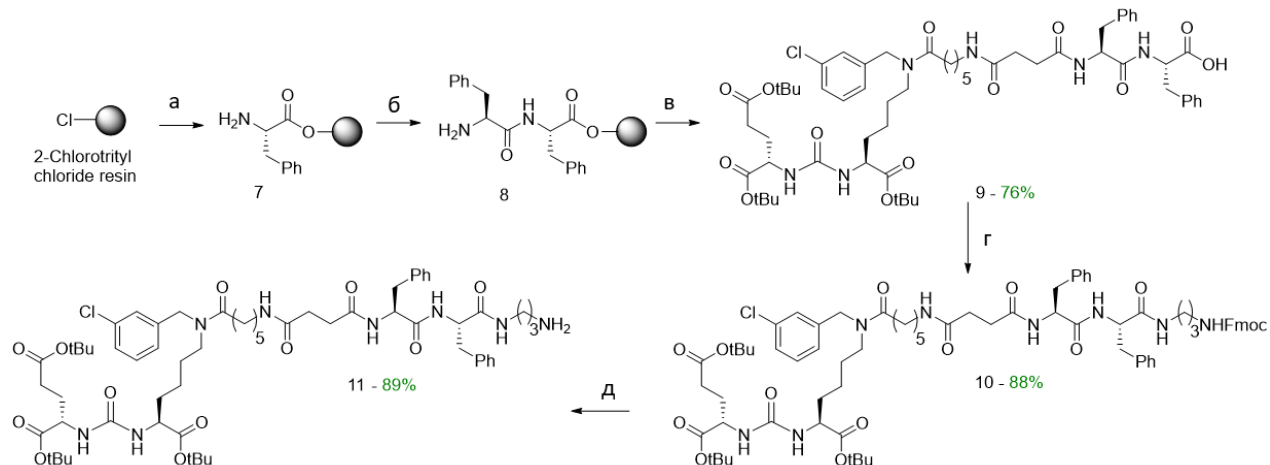


Рисунок 3.10 – Схема синтеза полипептидной последовательности **11**. **(а)** (1) FmocPhe-OH(L), DIPEA, DMF; (2) 4-метилпиперидин/DMF; **(б)** (1) FmocPhe-OH(L), HBTU, HOBT, DIPEA; (2) 4-метилпиперидин/DMF. **(в)** (1) соединение **6**, HBTU, HOBT, DIPEA, DMF; (2) DCM/TFA (99,25%/0,75%; в/в); **(г)** FmocNH(CH₂)₃NH₃⁺TFA⁻, HBTU, HOBT, DIPEA, DMF; **(д)** Et₂NH/DMF

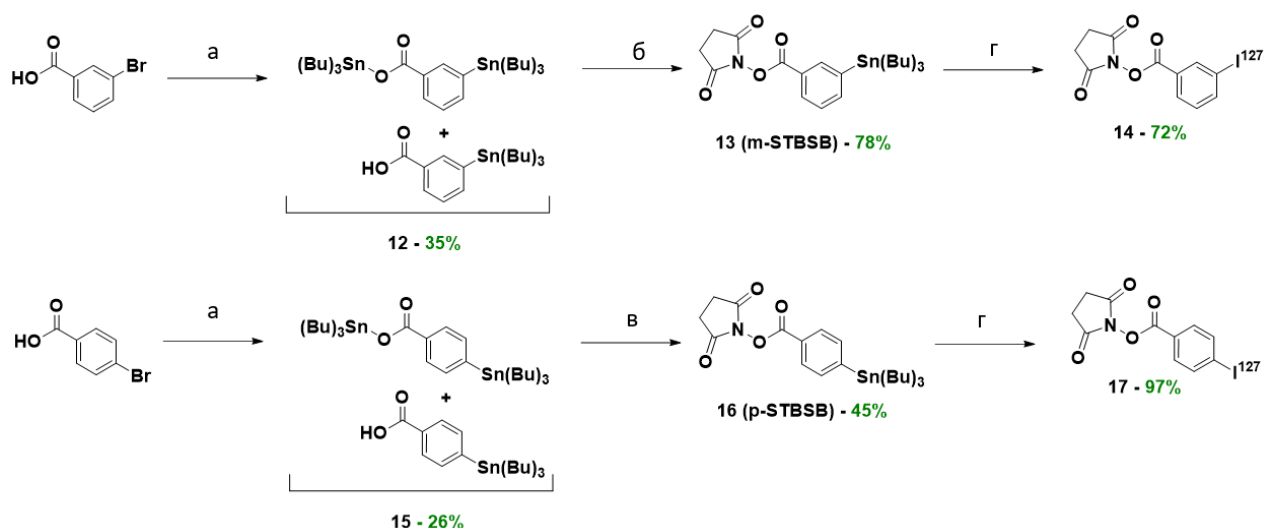


Рисунок 3.11 – Схема синтеза простетических групп (соединения **13**, **14**, **16**, and **17**). (a) (1) BuLi, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, Ar; (2) $(\text{Bu})_3\text{SnCl}$, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, Ar; (б) NHS, EDC $\cdot\text{HCl}$, DMAP, DCM, Ar, r.t.; (в) NHS, DCC, THF, Ar, r.t.; (г) (1) I_2 in 0.1 NaOH V_1 ; (2) AcOH (3%) in CHCl_3 V_2 ; $\text{V}_1 = \text{V}_2$; (3) TBHP/ CHCl_3 (10% м/о).

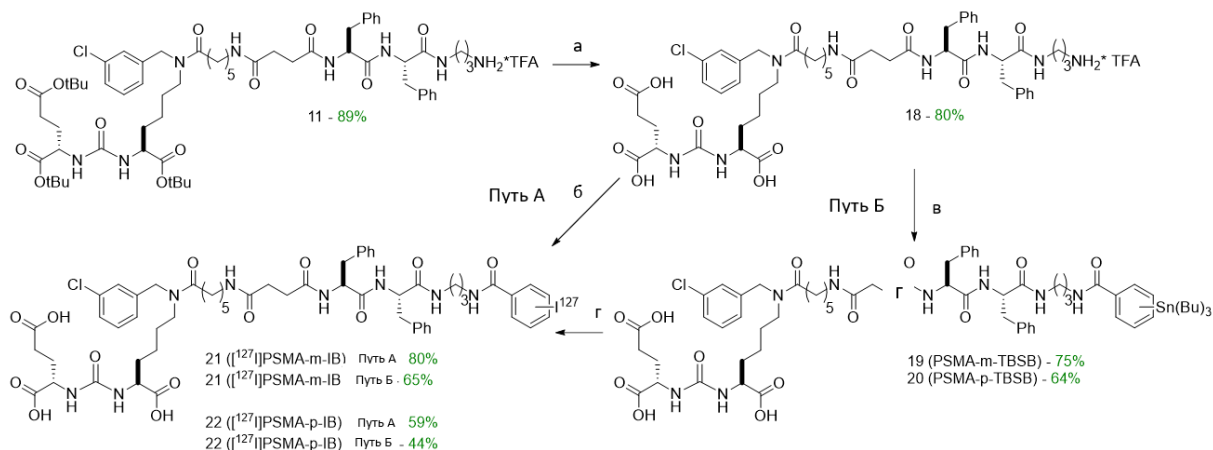


Рисунок 3.12 – Схема синтеза PSMA-m-TBSB (**19**), PSMA-p-TBSB (**20**); ^{127}I PSMA-m-IB (**21**), and ^{127}I PSMA-p-IB (**22**). (a) соединение 14 или 17 DCM/TFA/TIPS/ H_2O (46.25%/46.25%/5%/2.5% м/о); (б) 14/17, DIPEA, DMF (в) м-STBSB или p-STBSB, 13/16, DIPEA, DMF (г) (1) I_2 in 0.1 NaOH V_1 , (2) AcOH (3%) in CHCl_3 V_2 ; $\text{V}_1 = \text{V}_2$, (3) TBHP/ CHCl_3 (10% м/о)

Самые ранние этапы синтеза векторного фрагмента **6** (Рисунок 3.9) были проведены с использованием процедур, о которых сообщалось ранее [125]. Соединение **6** было синтезировано путем объединения янтарного ангидрида с

трет-бутилированным соединением **5** (Рисунок 3.9). Полученные продукты содержали несвязанную карбоксильную группу, которая была пригодна для последующего включения пептидного фрагмента.

На втором этапе синтеза пептидная последовательность Phe(L)-Phe(L) была собрана для получения вектора PSMA (соединение **11**) с высокой специфичностью. Это было достигнуто путем использования твердофазного пептидного синтеза (SPPS) на сшитой матрице сополимера стирола-дивинилбензола (1%), известной как смола 2-СТС (Рисунок 3.10). Выбранная последовательность реакций соответствовала традиционному подходу к синтезу пептидов: закрепление N-замещенной аминокислоты на твердофазном субстрате; ликвидация защитных групп; изменяется NH_2 -группа аминокислоты (этапы 2 и 3 выполняются столько раз, сколько необходимо для создания желаемой пептидной последовательности); и устранение измененной аминокислотной последовательности из смолы 2-СТС [126].

Применение смолы 2-СТС позволяет сохранить кислотоустойчивые функциональные группы за счет мягкого удаления аминокислотной последовательности из смолы. Этот процесс проводится в мягких условиях с использованием смеси DCM/TFA (99,25%/0,75% по объему). Важно отметить, что эта реакция не влияет на кислотолабильные группы COO^tBu [127].

Затем сегмент вектора соединяли с дипептидом **8**, который прикрепляли к 2-СТС-смоле, используя $\text{NOB}^t/\text{HBTU}/\text{DIPEA}$ в качестве активирующих агентов. Впоследствии измененный пептид экстрагировали из полимерной матрицы с использованием обработки DCM/TFA (99,25–0,75%, в/в). Соединение **9** было получено в виде единственного стереоизомера, и его идентичность была подтверждена с использованием данных спектров ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР, LCMS и HRMS.

Ожидалось, что на третьем этапе часть $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH-Fmoc}$ будет включена в соединение **9** в результате реакции синтеза пептида в соответствии с оптимизированным подходом [125]. Впоследствии это вещество будет использовано для получения соединения **11** путем Fmoc-депротекции. В ходе

синтеза соединения **10** было обнаружено, что включение в молекулу фрагмента Phe-Phe-(CH₂)₃-Fmoc приводит к развитию у конечного соединения способности к гелеобразованию. Это значительно затрудняет выделение и очистку соединения [46]. Однако продукт **10** был получен в виде единственного стереоизомера с выходом 88%. Затем защитная группа Fmoc была удалена, выход продукта **11** указан по рисунку 3.10. На четвертом этапе, NHS-активированных сложных эфиров простетическими группами p-STBSB и P-STBSB были подготовлены по рисунку 3.11.

На последнем этапе защитные трет-бутильные группы молекулы **11** были удалены с помощью TFA (Рисунок 3.12). В ходе синтеза эффективность получения желаемых конъюгатов **21** и **22** оценивали путем сравнения двух различных методов синтеза (Рисунок 3.12, таблица 3.5). Первоначальный способ состоял в конъюгировании полипептидной последовательности **18** с NHS-активируемыми сложными эфирами m-S[¹²⁷I]IB (**14**) и p-S[¹²⁷I]IB (**17**) простетических групп (обозначаемых как способ А). Во втором способе полипептидная последовательность **18** взаимодействовала с активированными NHS сложными эфирами соединений m-STBSB (**13**) и p-STBSB (**16**). За этим последовала замена группы Sn(Bu)₃ на ¹²⁷I (способ Б). В таблице 3.5 показаны преимущества и недостатки каждой методики, а также общий выход по сравнению с соединением **18**. На основании представленных данных очевидно, что выход ¹²⁷I-содержащих соединений полученных по пути А немного выше, чем по пути Б. Однако, важно подчеркнуть, что способ Б имеет существенное преимущество перед способом А, поскольку радионуклид вводится на заключительном этапе синтеза, что сокращает время работы с ¹²³I. Поэтому для радиоiodирования лигандов PSMA нами предлагаются химические предшественники PSMA-m-TBSB (**19**) и PSMA-p-TBSB (**20**) и способы их синтеза. Также в диссертации представлены данные спектров ЯМР ¹H и ¹³C, LCMC и HRMS синтезированных ингибиторов PSMA на основе мочевины DCL с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ε-атома азота лизина, дипептидным линкером L-Phe-L-Phe и 3- или 4-(трибутилстаннил)бензойной

кислотой в качестве простетических групп для радиоiodирования (рис. 3.13–3.18).

Таблица 3.5 – Сравнение альтернативных методов получения конъюгата 21 (Рисунок 3.12).

Параметры	Путь А	Путь Б
Выход иодированного продукта по простетическим группам (в пересчете на м-STBSB)	57,6%	48,8%
Количество стадий с пептидомиметиком/количество стадий с ^{123}I	1/2	2/1

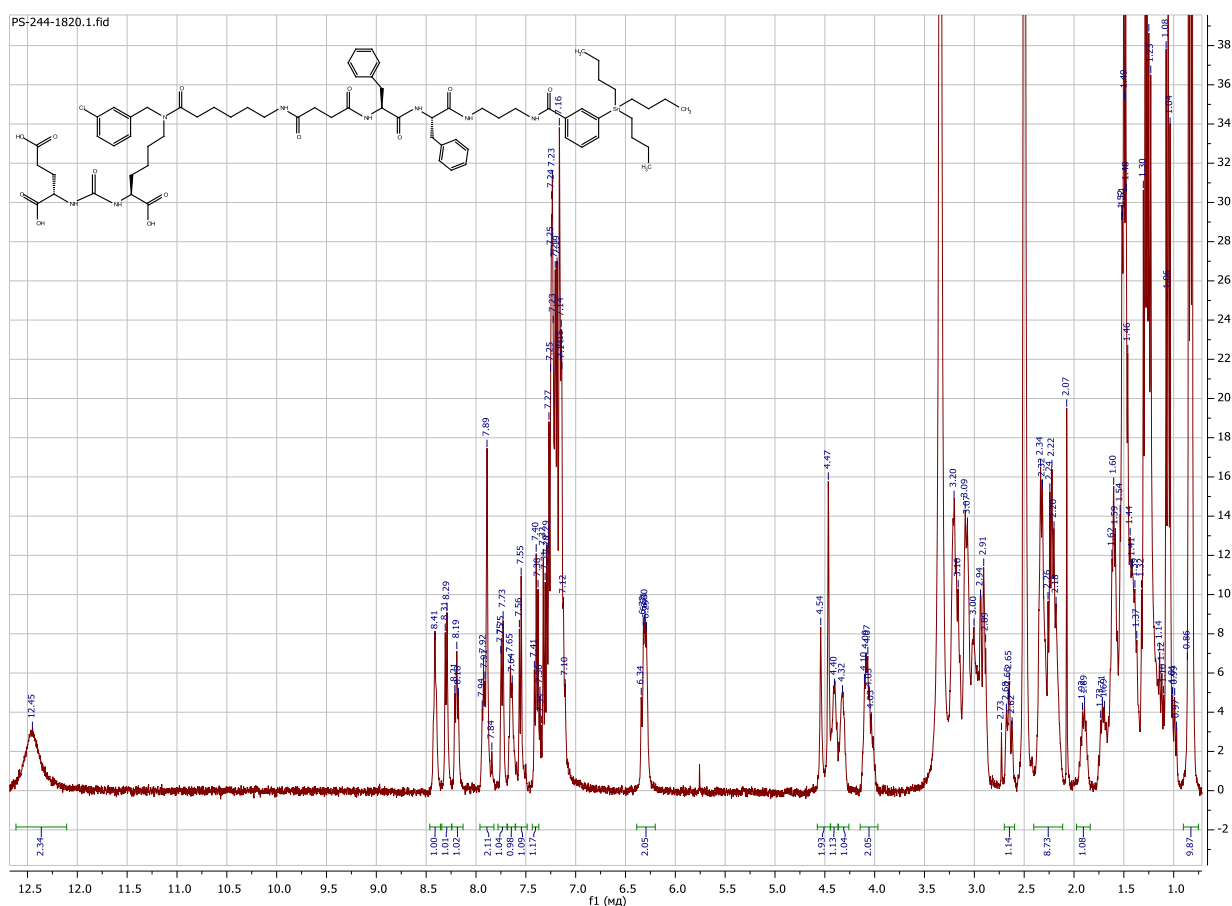


Рисунок 3.13 – Спектр ^1H ЯМР PSMA-m-TBSB в $\text{DMSO}-d_6$

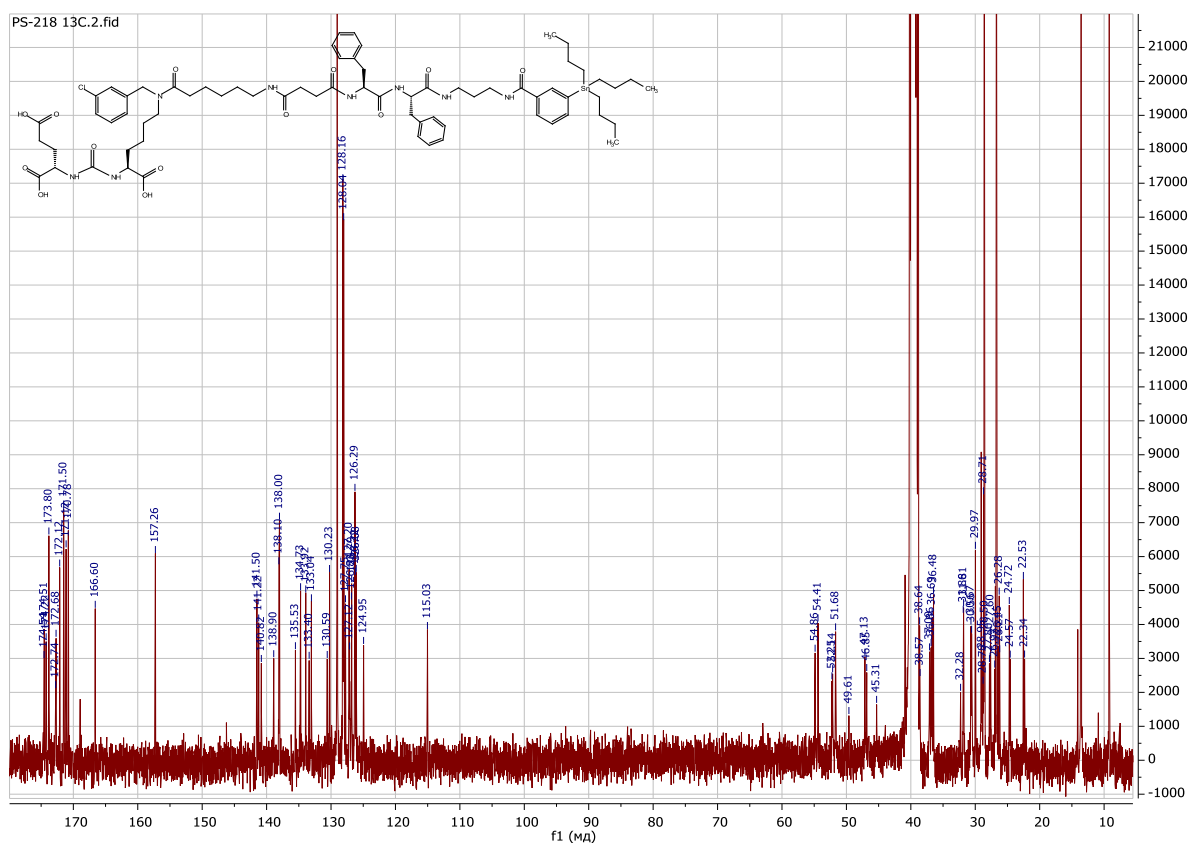


Рисунок 3.14 – Спектр ^{13}C ЯМР PSMA-m-TBSB в ДМСО-d6

PS_218_pos #3-36 RT: 0.04-0.50 AV: 34 NL: 4.61E4
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

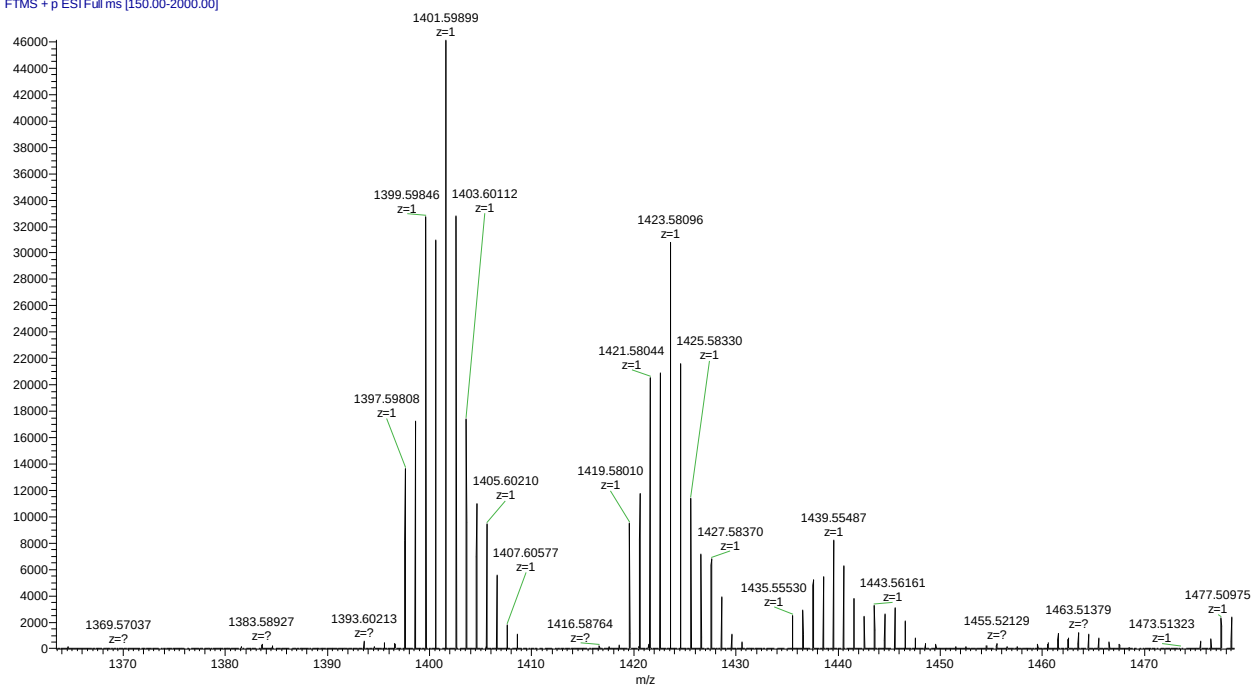


Рисунок 3.15 – Масс-спектр высокого разрешения (m/z, ESI) PSMA-m-TBSB

PS-221-13C.2.fid

Chemical structure of compound 13c is shown above the spectrum. The structure is a complex molecule featuring a central benzene ring substituted with a 4-ethoxyphenyl group, a 4-methoxyphenyl group, and a 4-(2-methoxyethyl)phenyl group. It also contains a 4-ethoxyphenyl group and a 4-methoxyphenyl group. The structure is a complex molecule featuring a central benzene ring substituted with a 4-ethoxyphenyl group, a 4-methoxyphenyl group, and a 4-(2-methoxyethyl)phenyl group. It also contains a 4-ethoxyphenyl group and a 4-methoxyphenyl group.

13C NMR spectrum (f1 (MA)) showing chemical shifts (ppm) and corresponding intensities (Y-axis, 0 to 23000). The spectrum displays several peaks, including aromatic and aliphatic regions.

Key peaks (Chemical Shift in ppm):

- 173.85
- 172.17
- 171.66
- 166.50
- 157.29
- 145.70
- 140.41
- 138.02
- 137.29
- 136.10
- 130.68
- 129.06
- 128.09
- 126.36
- 124.37
- 54.89
- 49.96
- 49.05
- 46.88
- 45.33
- 39.95
- 39.94
- 31.87
- 30.91
- 29.62
- 28.63
- 26.71
- 24.97
- 22.36
- 22.55
- 13.59
- 9.23

Рисунок 3.17 – Спектр ^{13}C ЯМР PSMA-р-TBSB в ДМСО-d6

PS 221_pos #3-35 RT: 0.07-0.57 AV: 33 NL: 5.62E4
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

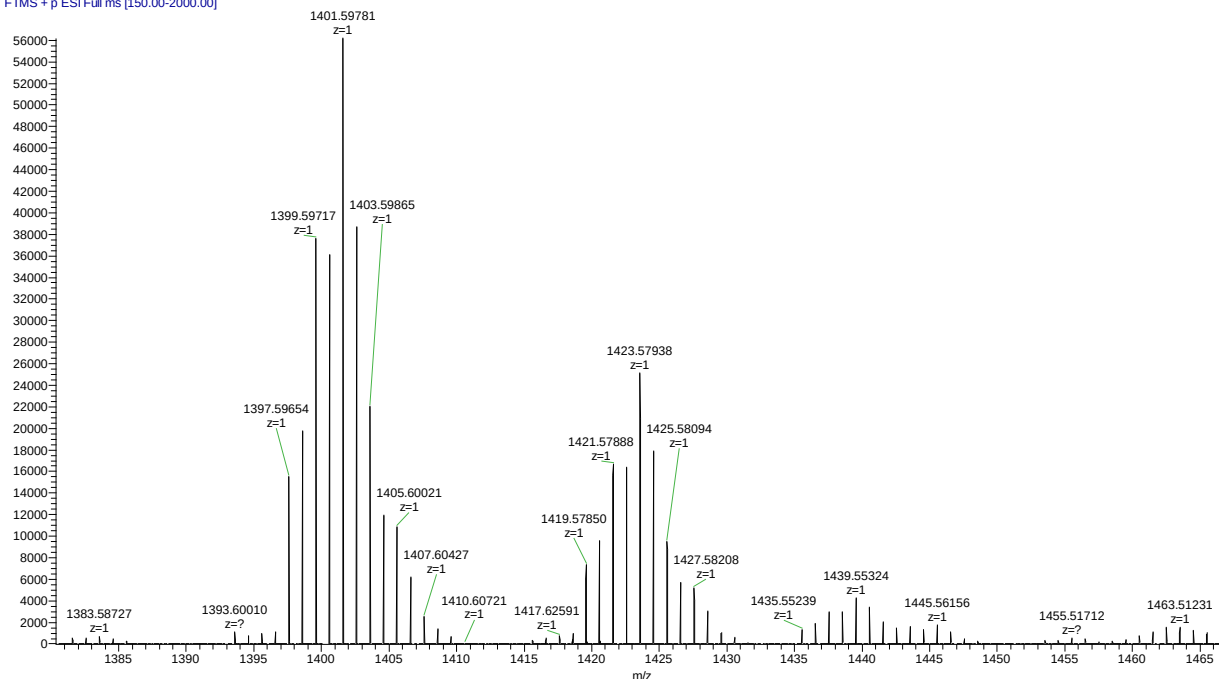


Рисунок 3.18 – Масс-спектр высокого разрешения (m/z, ESI) PSMA-p-TBSB

3.3. Разработка способа получения простетических групп

3.3.1. Синтез N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB)

Синтез N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) осуществляли как показано на рисунке 3.19. STMSB был получен из соответствующей иодбензойной кислоты в два этапа посредством катализируемого палладием станилирования и последующего введения сукцинимидной группы с использованием гидрохлорида 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида.

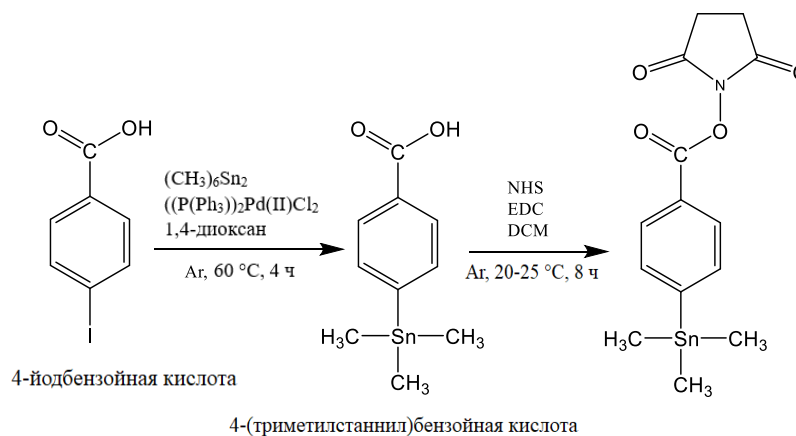


Рисунок 3.19 – Схема синтеза N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB)

Это исследование отличается от подхода [128], в котором в качестве предшественника сукцинимид использовался ди(N-сукцинимидил)карбонат, тогда как в текущем исследовании использовали N-гидроксисукцинимид (NHS). Показанная структура полностью согласуется со спектральными данными. Спектры ЯМР ^1H 4-(триметилстаннил)бензоата, а затем ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C STMSB представлены на рисунках 3.20 - 3.22. На основе этого метода выход STMSB составил 88%. Этот новый путь оказался эффективным в качестве альтернативного метода синтеза STMSB.

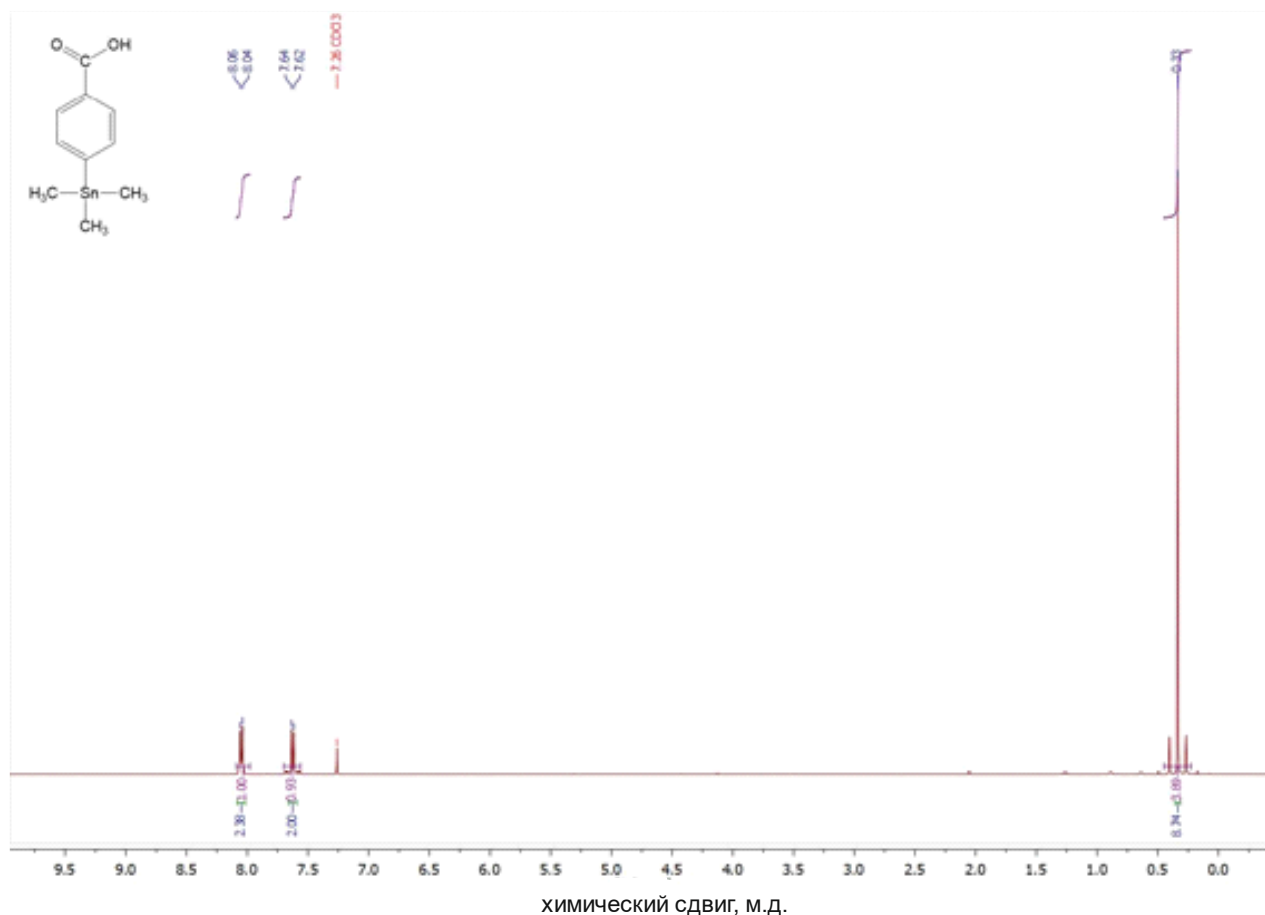


Рисунок 3.20 – Спектр ^1H ЯМР 4-(триметилстаннил)бензоата

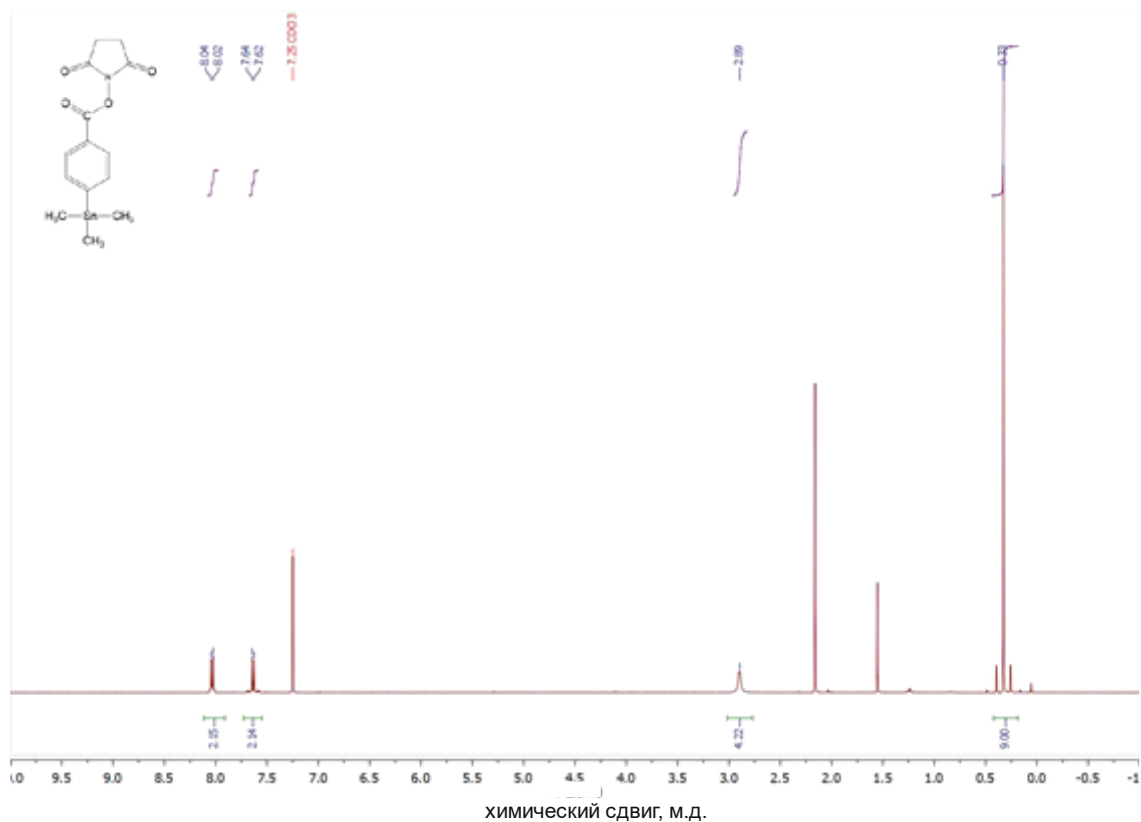


Рисунок 3.21 – Спектр ^1H ЯМР N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата

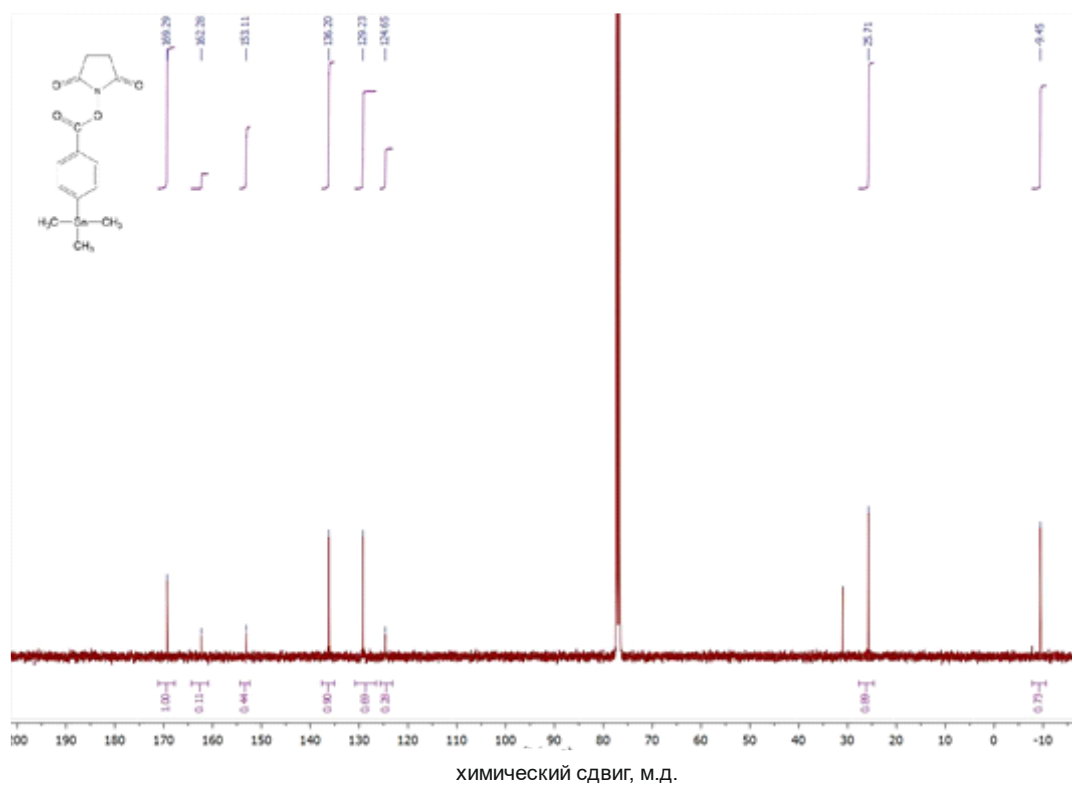


Рисунок 3.22 – Спектр ^{13}C ЯМР N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата

3.3.2. Синтез N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида (НРЕМ)

((4-Гидроксифенил)этил)малеимид был синтезирован из тирамина и малеинового ангидрида путем конденсации с помощью АсОН (Рисунок 3.23). Этапы были заимствованы из метода Оружени [121] и импровизированы с процессом очистки с использованием колоночной хроматографии (от 100% CH_2Cl_2 :0% Et_2O до 90% CH_2Cl_2 :10% Et_2O) в качестве подвижной фазы для получения белых кристаллов.

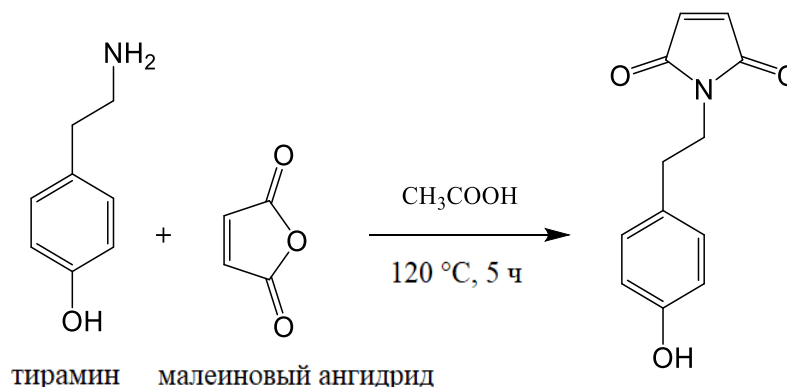


Рисунок 3.23 – Схема синтеза ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (НРЕМ)

Полученный сырой продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, как описано в разделе «Материалы и методы», чтобы получить белые кристаллы. Спектры ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C НРЕМ представлены на рисунках 3.24 – 3.25 с выходом 60%. Продукт, полученный в этой работе, имеет высокую чистоту по сравнению с НРЕМ, полученным другими опубликованными методами без очистки.

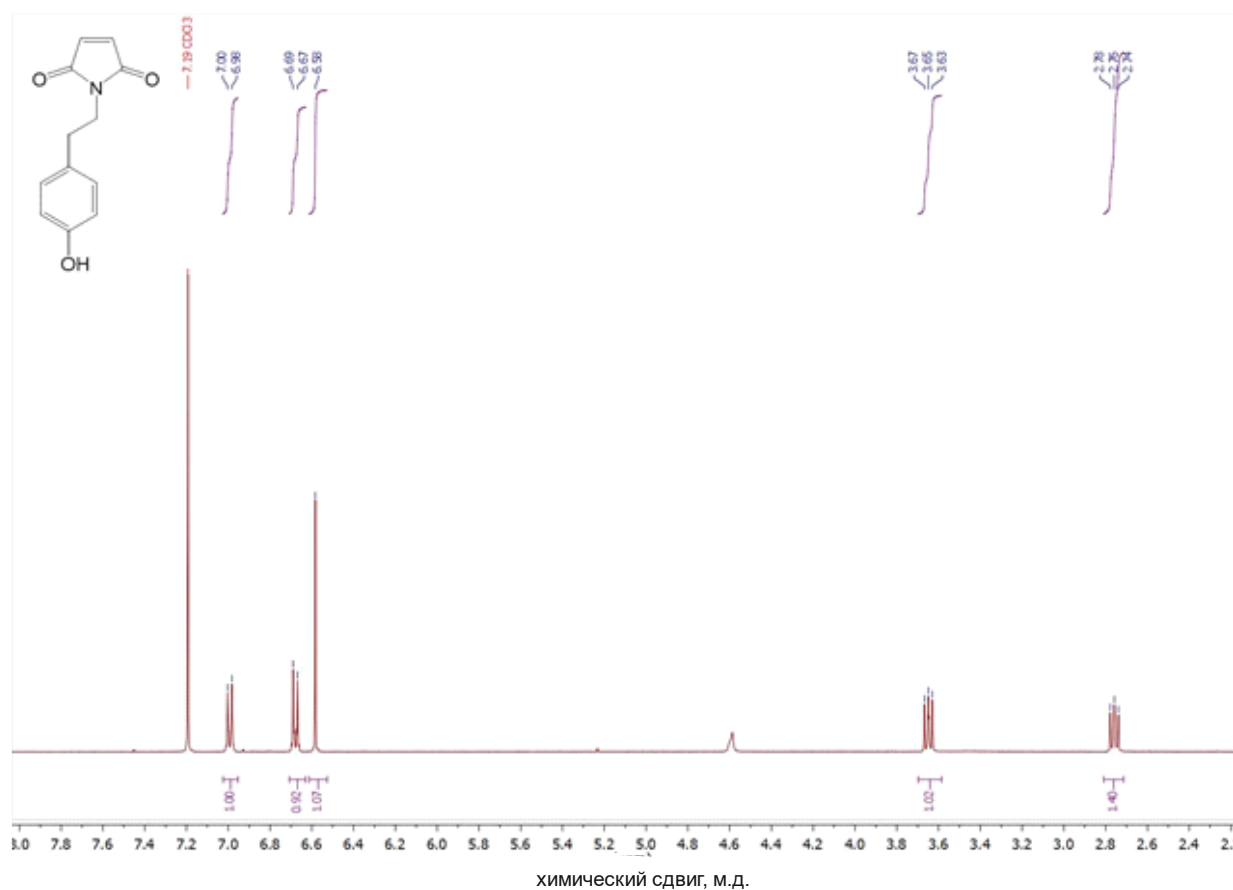


Рисунок 3.24 – Спектр ЯМР ^1H ((4-гидроксифенил)этил)малеимида

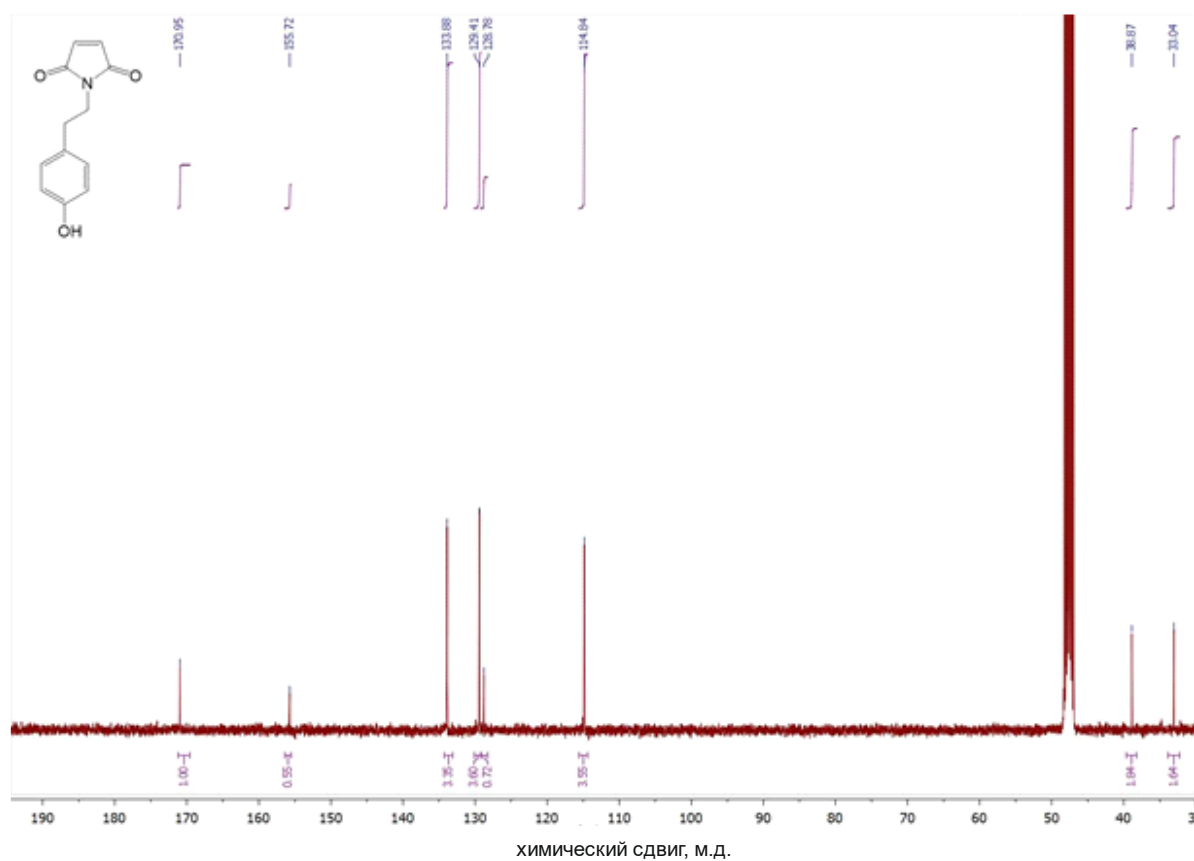


Рисунок 3.25 – Спектр ЯМР ^{13}C ((4-гидроксифенил)этил)малеимида

3.4. Разработка способов получения радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

3.4.1. Метод получения [^{123}I]PSMA-p-IB

Новые лиганды на основе мочевины N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизин или N-[N-[(S)-1,3-dicarboxypropyl]carbamoyl]-(S)-L-lysine (DCL) с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ϵ -атома азота лизина, дипептид, включающий два остатка фенилаланина в L-конфигурации в качестве пептидного фрагмента линкера, и 3-(трибутилстаннил)бензоат (лиганд PSMA-p-TBSB) были использованы в качестве прототипа для исследования оптимизации радиомечения с помощью ^{123}I и проведения первоначальной доклинической оценки этих инновационных лигандов, нацеленных на PSMA. Новый лиганд, нацеленный на PSMA, был радиоактивно помечен с использованием ^{123}I посредством реакции электрофильного радиоиодирования. Это было достигнуто путем инкубации лиганда с [^{123}I]NaI и хлорамином-Т, который действовал как окислитель. Реакция радиомечения привела к образованию [^{123}I]PSMA-p-IB. Рисунок 3.26 иллюстрирует схему реакции радиомечения. Было проведено исследование для оптимизации радиомечения этого нового PSMA-таргетного лиганда с ^{123}I . Исследование было сосредоточено на определении оптимальных количеств лиганда PSMA, времени реакции и окислителя.

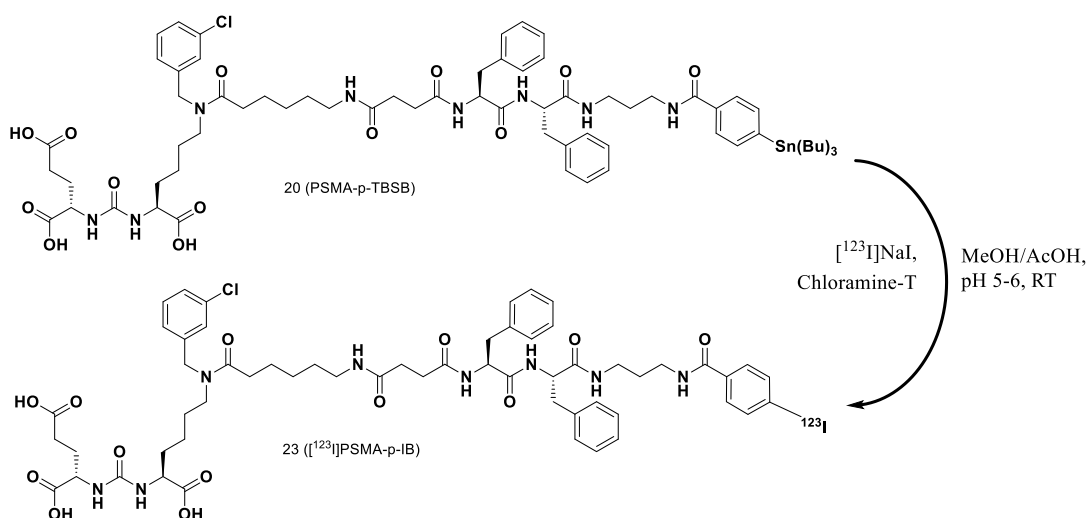


Рисунок 3.26 – Схема радиомечения лиганда PSMA-p-TBSB с помощью ^{123}I для получения [^{123}I]PSMA-p-IB

3.4.1.1. Изучение влияния количества лиганда PSMA на радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$

Для исследования влияния количества лиганда PSMA на радиохимический выход использовали постоянную продолжительность реакции 5 мин и количество окислителя 40 мкг. Радиохимические выходы, полученные с помощью радио-iTLC, показаны на рисунке 3.27 в зависимости от количества лиганда PSMA. Процесс показал высокую эффективность при использовании небольших количеств лиганда PSMA, в диапазоне от 0,73 до 5 нмоль (1–7 мкг). В целом, по-видимому, увеличение количества лиганда PSMA в процедуре радиомечения увеличивает выход меченя. Вопреки ожиданиям, не наблюдалось никакого увеличения, а лишь заметное падение ($p = 0,0072$) PXB при увеличении количества лиганда PSMA с 10 нмоль до 50 нмоль. Радиохимический выход, полученный при использовании 10 нмоль лиганда PSMA, составил $75,9 \pm 1,0\%$.

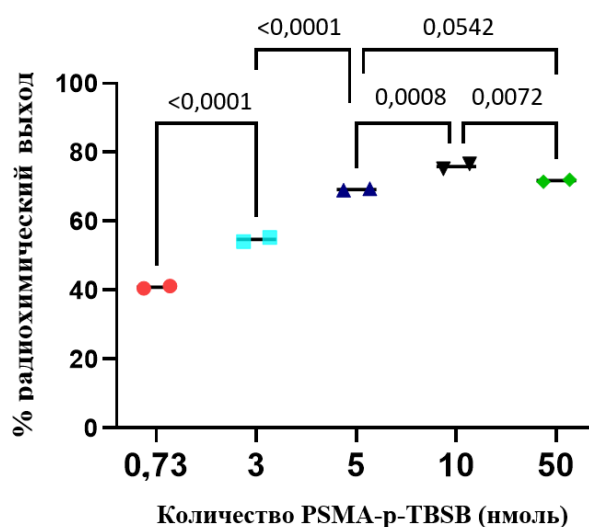


Рисунок 3.27 – Зависимость радиохимического выхода от количества PSMA-лиганда. Сравнительное исследование проводилось с помощью ANOVA-теста и post hoc-анализа Тьюки (95% доверительный интервал)

3.4.1.2. Изучение влияния времени реакции на радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$

Время реакции процесса радиомечения было исследовано с использованием заранее определенных количеств лиганда PSMA (7 мкг;

5 нмоль) и окислителя (40 мкг; 176 нмоль). Процедура реакции, которая длилась 30 секунд, привела к радиохимическому выходу $61,9 \pm 0,4\%$. Радиохимический выход увеличивался с увеличением времени реакции, достигая максимума в $71,7 \pm 0,3\%$ при использовании 10-минного периода реакции. Радиохимический выход показал скромное падение при увеличении продолжительности реакции до 30 мин. На рисунке 3.28 показана связь между радиохимическим выходом и продолжительностью реакции.

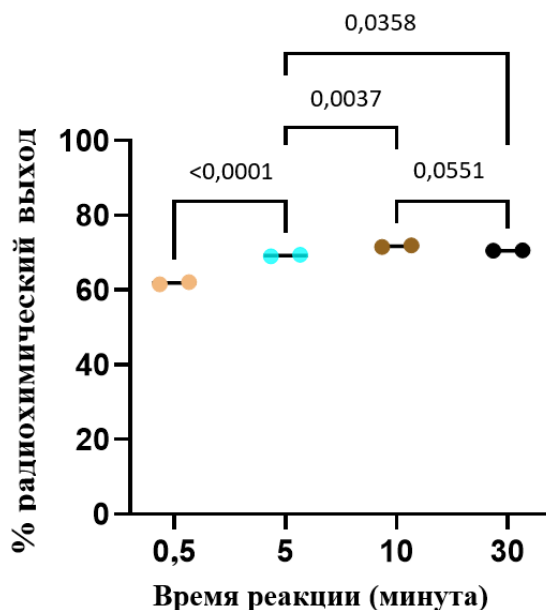


Рисунок 3.28 – Радиохимический выход как функция времени реакции.

Сравнительное исследование было проведено с помощью теста ANOVA с пост-анализом Тьюки (95% доверительный интервал)

3.4.1.3. Изучение влияния количества окислителя на радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$

Влияние количества окислителя на производство радиоактивной метки $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ было исследовано, как показано на рисунке 3.29. Реакции проводились с постоянным количеством лиганда PSMA (5 нмоль) и фиксированной продолжительностью 5 мин. Полученные данные однозначно свидетельствуют о том, что увеличение дозировки хлорамина-Т в качестве окислителя с 10 мкг до 40 мкг привело к существенному повышению выхода: с $61,3 \pm 0,5\%$ до $69,2 \pm 0,2\%$. Добавление 80 мкг хлорамина-Т не улучшило

результаты радиомечения. Более того, добавление до 150 мкг привело к заметному снижению результатов радиомечения. Результаты процесса радиомечения лигандов PSMA-p-TBSB с ^{123}I представлены в таблице 3.6, показывающей соответствующие выходы для каждого условия.

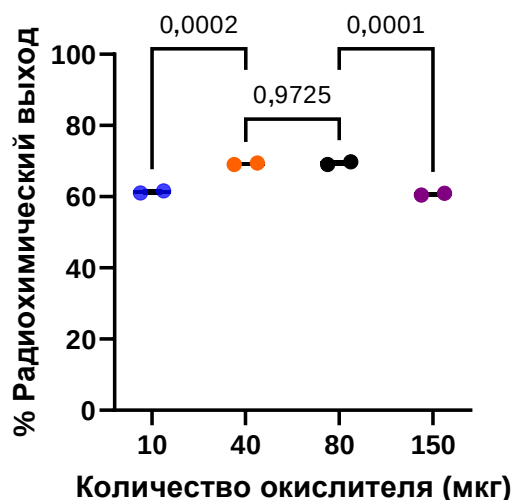


Рисунок 3.29 – Радиохимический выход как функция количества окислителя.

Сравнительное исследование было проведено с помощью теста ANOVA с пост-анализом Тьюки (95% доверительный интервал)

Таблица 3.6 – Радиохимический выход из исследований оптимизации радиомечения лиганда [^{123}I]PSMA-p-IB.

Изменение количества PSMA-p-TBSB*		Изменение времени реакции**		Изменение количества окислителя***	
Количество пептида (нмоль)	(РХВ) (%)	Время (мин)	(РХВ) (%)	Количество хлорамина-Т (мкг)	(РХВ) (%)
0,73	40,9 ± 0,5	0,5	61,9 ± 0,4	10	61,3 ± 0,5
3	54,7 ± 0,8	5	69,2 ± 0,2	40	69,2 ± 0,2
5	69,2 ± 0,2	10	71,7 ± 0,3	80	69,4 ± 0,5
10	75,9 ± 1,0	30	70,6 ± 0,1	150	60,7 ± 0,4
50	72,8 ± 0,4				

*Реакции проводились с использованием фиксированного количества хлорамина-Т (40 мкг) и в течение фиксированного времени 5 мин. **Реакции проводились с использованием фиксированного количества PSMA-p-TBSB (5 нмоль) и хлорамина-Т (40 мкг). ***Реакции проводились с использованием фиксированного количества PSMA-p-TBSB (5 нмоль) и в течение фиксированного времени 5 мин.

По результатам исследования по оптимизации радиоактивного мечения были определены следующие наиболее подходящие условия для мечения:

количество лиганда PSMA-p-TBSB 10 нмоль, количество окислителя 40 мкг и продолжительность реакции 5 мин. Эффективность радиомечения [^{123}I]PSMA-p-IB, достигнутая в этих условиях, составила $75,9 \pm 1,0\%$. Кроме того, мы провели анализ радио-ВЭЖХ для сравнения радиохимического выхода с оптимальным радиохимическим выходом, установленным с помощью стекловолоконной пластины радио-iTLC-SG. На рисунке 3.30 представлены хроматограммы радио-ВЭЖХ [^{123}I]PSMA-p-IB без какого-либо процесса очистки.

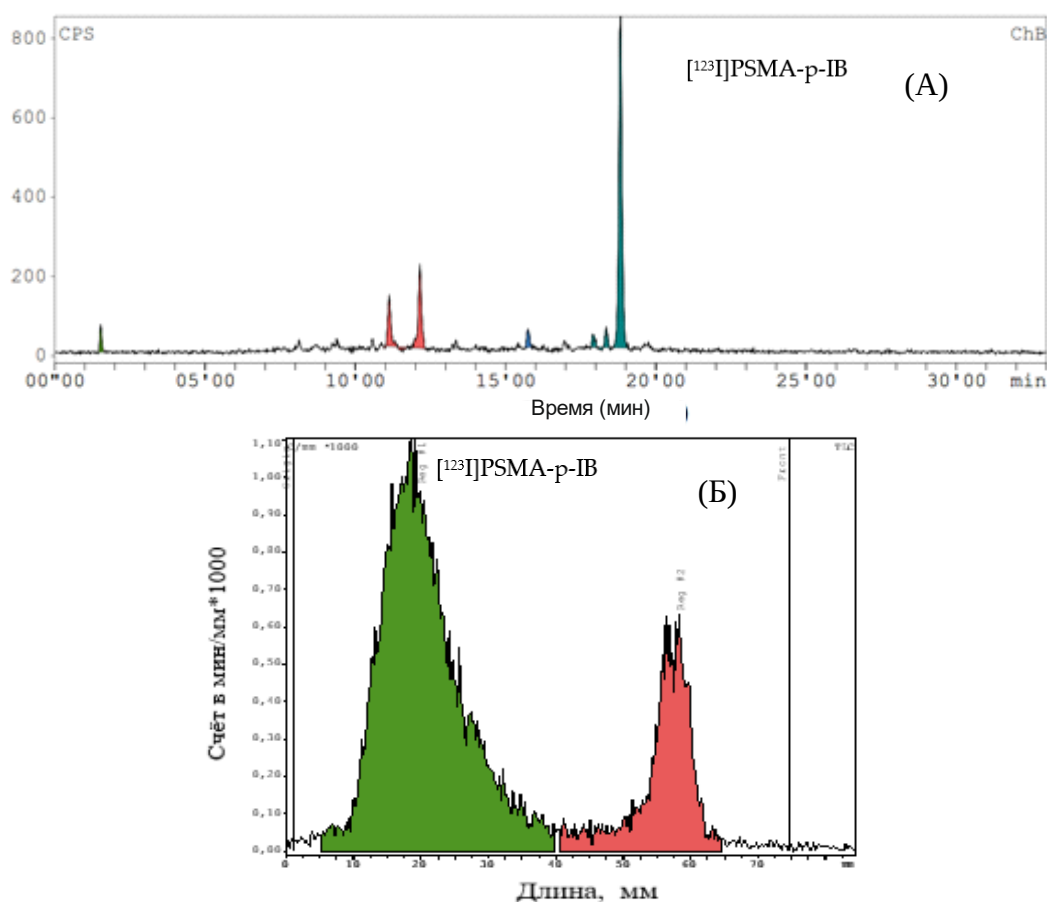


Рисунок 3.30 – (А) Радио-ВЭЖХ хроматограммы [^{123}I]PSMA-p-IB, полученные на основе результатов оптимизации радиоактивного мечення с $t_R = 18,9$ мин, и (Б) Радио-iTLC хроматограммы [^{123}I]PSMA-p-IB с $R_f = 0,27$, в то время как свободный радиоактивный иод перемещался с фронтом проявляющего раствора ($R_f \geq 0,75$)

После процедуры радиомечения [^{123}I]PSMA-p-IB был выделен из примесей, присутствующих в реакционной смеси с использованием картриджа

Sep-Pak® C18. Радиохимическая чистота [^{123}I]PSMA-p-IB была оценена с использованием методов радио-iTLC и радио-ВЭЖХ для контроля качества. На рисунке 3.31 показаны хроматограммы радио-iTLC и радио-ВЭЖХ очищенного [^{123}I]PSMA-p-IB. Радиохимическая чистота [^{123}I]PSMA-p-IB, определенная методами радио-iTLC и радио-ВЭЖХ, была $100 \pm 0,0\%$ и $99,50 \pm 0,50\%$, соответственно.

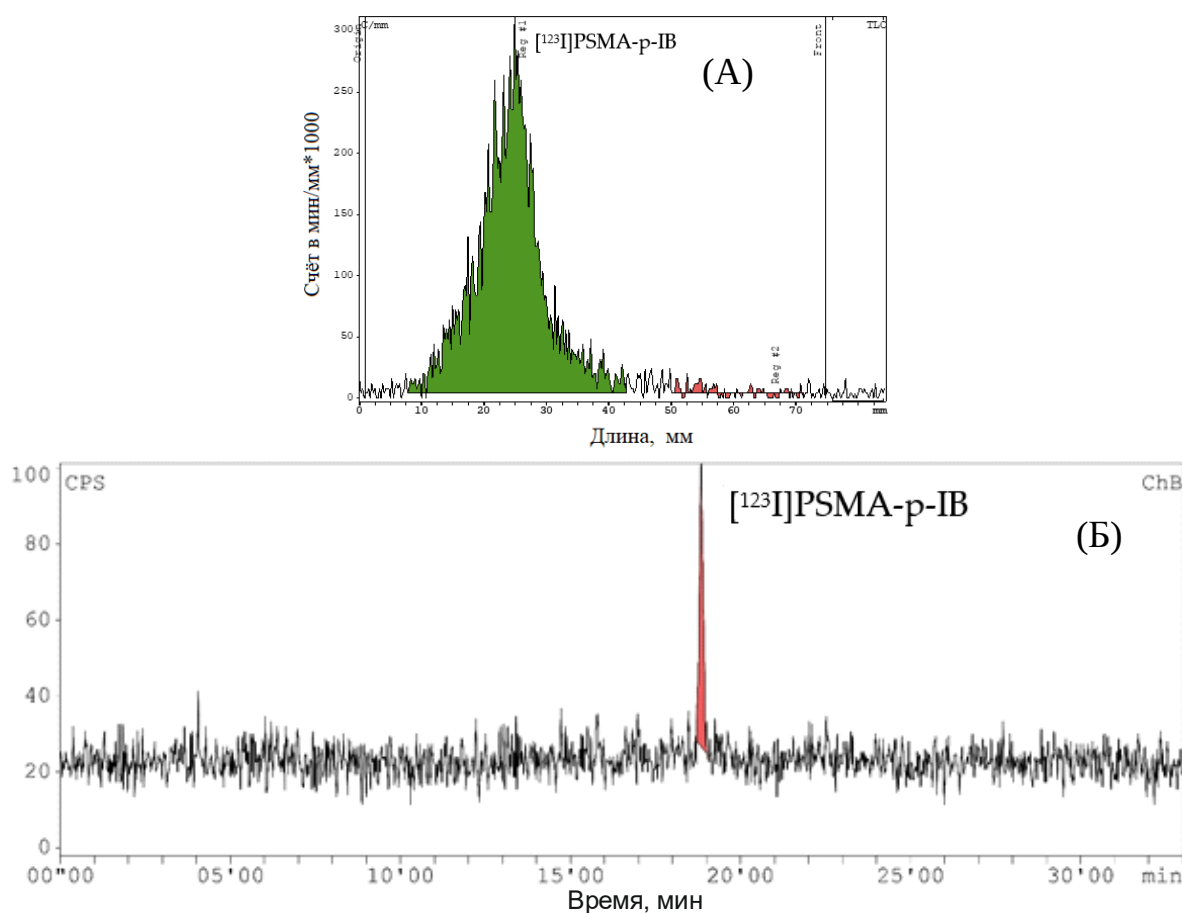


Рисунок 3.31 – Хроматограммы [^{123}I]PSMA-p-IB после очистки, проанализированные с помощью (А) радио-TLC с $R_f = 0,27$ и (Б) радио-HPLC с $t_R = 18,9$ мин

Анализ липофильности: $\log(D)$ of [^{123}I]PSMA-p-IB

Липофильность [^{123}I]PSMA-p-IB оценивали путем измерения его равновесного распределения в двухфазном растворе, содержащем н-октанол и воду, после интенсивного встряхивания. Небольшие образцы из обеих фаз были собраны и обработаны с использованием автоматического гамма-счетчика для определения коэффициентов распределения $\log(D)$. Коэффициент

распределения $\log(D)$ соединения $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ составил 0,99. Полученные данные свидетельствуют о том, что этот меченый лиганд проявляет липофильные свойства. На гидрофобные свойства этого лиганда влияет структура линкера, состоящего из дипептидного фрагмента, содержащего изотоп ^{123}I , двух остатков фенилаланина в L-конфигурации и наличия заместителей хлора на ароматической группе ε -аминогруппы лизина [91].

3.4.2. Метод получения DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ и DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$

Прямое мечение DARPin $(\text{HE})_3\text{-E01}$ и $(\text{HE})_3\text{-G3}$ йодом-123 проводили методом хлорамина-Т. ^{123}I был включен в фенольное кольцо тирозина DARPin. Схематический обзор структур вариантов DARPin, радиоактивно меченых йодом-123, представлен на рисунке 3.32.

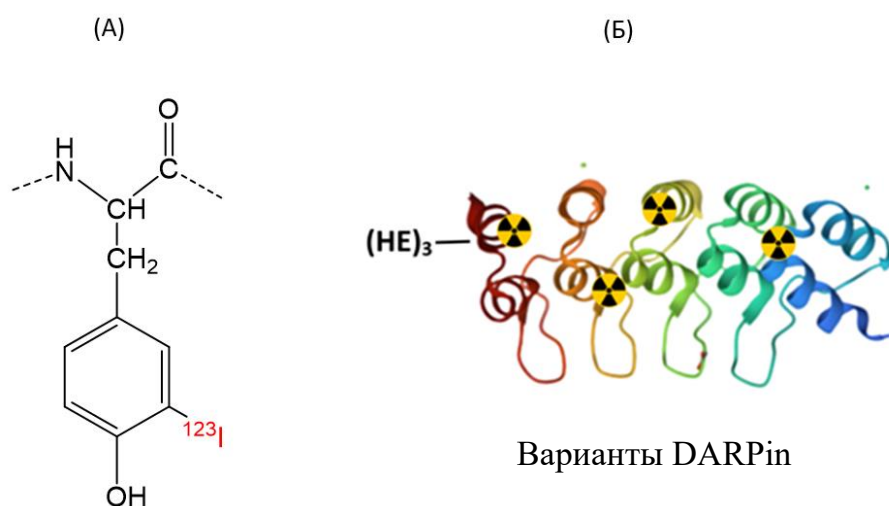


Рисунок 3.32 – Схематический обзор (А) фенольного кольца тирозина DARPin, напрямую меченого ^{123}I , и (Б) ^{123}I , случайным образом включенного в фенольное кольцо 4 тирозинов DARPin

Радиохимический выход и чистота DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ определялись с помощью анализа радио-*i*TLC в системе ацетон:вода 4:1. Радиохимический выход DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ по данным радио-*i*TLC представлен на рисунке 3.33. Радиохимические выходы для DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ составили $83 \pm 2\%$ ($n = 2$) и $97,4 \pm 1,3\%$ ($n = 15$) соответственно.

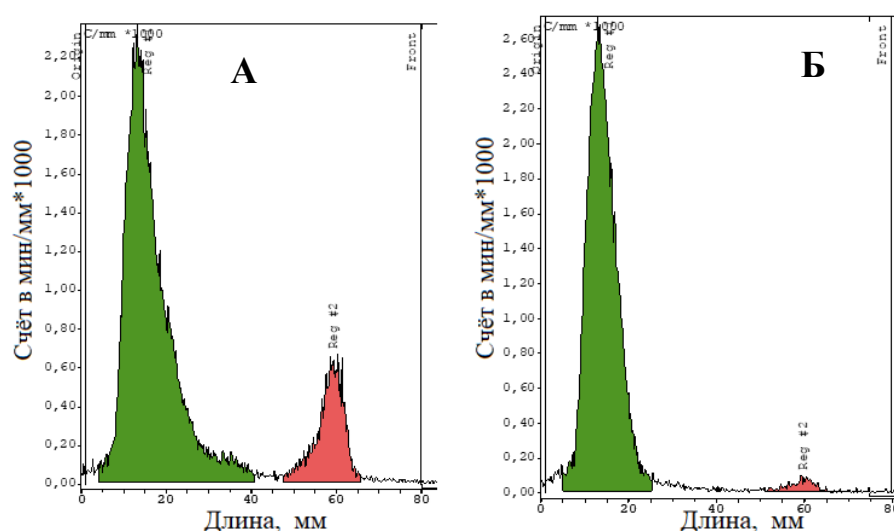


Рисунок 3.33 – Радиохимический выход (А) DARPin [^{123}I]I-(HE) $_3$ -E01 и (Б) [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 определяли с помощью анализа радио-*i*TLC в системе ацетон:вода 4:1. DARPin [^{123}I]I-(HE) $_3$ -E01 и [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 имели $R_f = 0,2 - 0,3$, в то время как свободный радиоактивный иод перемещался с фронтом проявляющего раствора ($R_f = 0,70 - 0,85$)

После очистки с использованием колонки NAP-5 радиохимическая чистота для всех вариантов была близка к 100% (рисунок 3.34). Характеристики процедур мечения DARPin [^{123}I]I-(HE) $_3$ -E01 и [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 представлены в Таблице 3.7 и Таблице 3.8 соответственно.

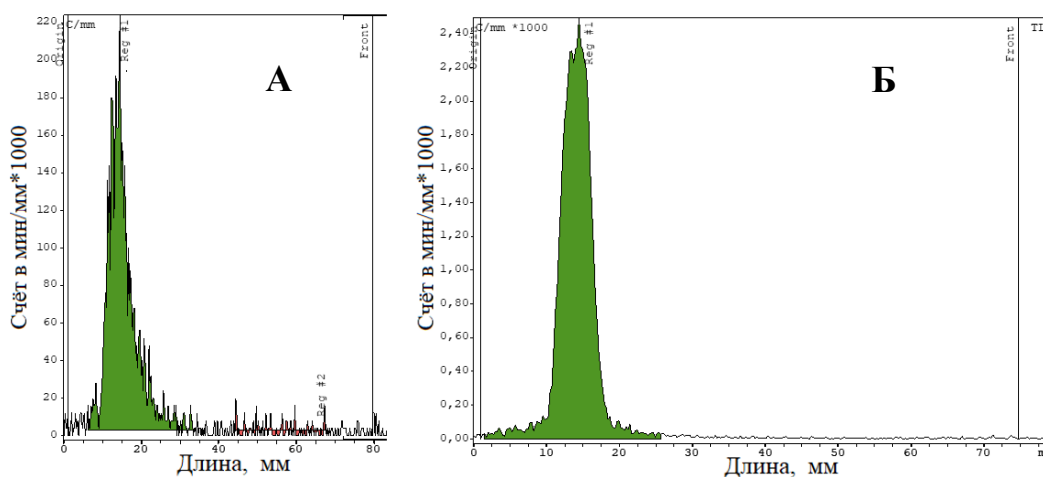


Рисунок 3.34 – Радиохимическую чистоту (А) [^{123}I]I-(HE) $_3$ -E01 и (Б) [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 определяли с помощью анализа радио-*i*TLC в системе ацетон:вода 4:1. [^{123}I]I-(HE) $_3$ -E01 и [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 имели $R_f = 0,2 - 0,3$

Таблица 3.7 – Характеристики радиомечения [^{123}I]I-(HE)₃-E01

Вариант	РХВ, %	Изолированный выход, %	РХЧ, %	Максимальная удельная активность, МБк/мк
1-е испытание	81	74	100	0,33
2-е испытание	84	76	100	0,51
Среднее значение $\pm$ SD	83 ± 2	74 ± 3	100 ± 0	0,51*

*максимальная удельная активность.

Таблица 3.8 – Характеристики радиомечения [^{123}I]I-(HE)₃-G3.

№	Количество белка DARPin G3, мкг	Содержание натрия иодида, мкг	Активность ^{123}I , МБк	Время, в течение которого ведут инкубирование, t, мин	pH, при котором ведут инкубирование	Содержание хлорамина Т, мкг	Время, в течение которого ведут инкубирование с хлорамин-ом-Т, с	Содержание натрия метаби-сульфита, мкг	Радиохи-мический выход, %
1	500	2	600	5	6,5	100	120	200	96,0
2	3400	16	600	5	6,5	100	120	200	98,0
3	4000	19	600	5	6,5	100	120	200	98,7
4	3400	2	600	5	6,5	100	120	200	95,1
5	3400	20	600	5	6,5	100	120	200	98,4
6	3400	16	280	5	6,5	100	120	200	98,2
7	3400	16	1200	5	6,5	100	120	200	98,9
8	3400	16	600	3	6,5	100	120	200	98,0
9	3400	16	600	7	6,5	100	120	200	98,9
10	3400	16	600	5	6,5	100	120	200	98,2
11	3400	16	600	5	5,5	100	120	200	97,8
12	3400	16	600	5	7,5	100	120	200	96,4
13	3400	16	600	5	7,5	100	240	200	95,4
14	3400	16	600	5	6,5	40	60	80	95,5
15	3400	16	600	5	6,5	120	60	240	97,5

3.4.3. Метод получения радиоактивно меченой простетической группы

[^{123}I]SIB

Активированный NHS эфир, хорошо известный как простетическая группа N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоата, был иодирован в N-сукцинимидил-4-[^{123}I]иодбензоат ([^{123}I]SIB). [^{123}I]NaI окислялся хлорамин-ом-Т как окислителем с образованием электрофильных соединений (HO^*I , $\text{H}_2\text{O}^*\text{I}$). Затем электрофильные частицы будут реагировать непосредственно с ароматическим фрагментом простетической группы (Рисунок 3.35).

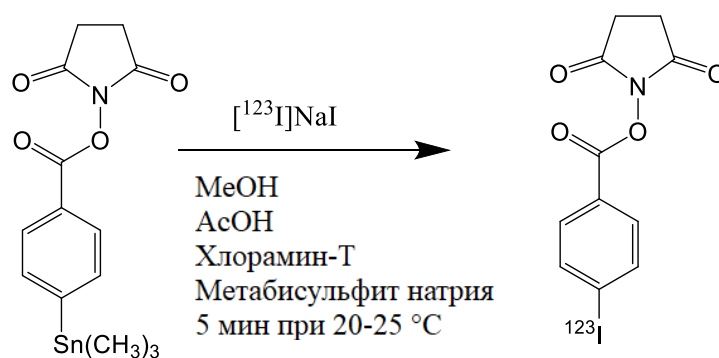


Рисунок 3.35 – Схема радиодинирования N-сукцинимидил 4- $[^{123}\text{I}]$ иодбензоата ($[^{123}\text{I}]\text{SIB}$)

Радиоохимический выход радиоiodированной простетической группы был получен с помощью анализа радио-iTLC с этилацетатом в качестве подвижной фазы (рисунок 3.36). Радиоохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$ был высоким, как показано в Таблице 3.9. Соответствующий описанный метод позволил быстро образовать радиоактивно меченые производные с PXB $82,4 \pm 9,3\%$.

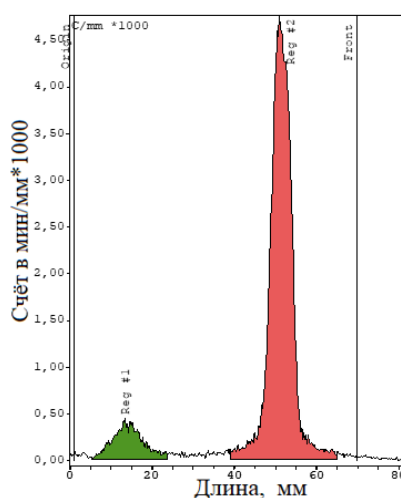


Рисунок 3.36 – Профиль радио-TLC радиоохимического выхода свежего $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$ в системе этилацетата. Свободный радиоактивный иод имел $R_f = 0,15 - 0,2$, тогда как $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$ перемещался с фронтом подвижной фазы ($R_f \geq 0,70$)

Таблица 3.9 – Радиоохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$

Испытания	PXB, %
1-е испытание	92,0
2-е испытание	81,5

Продолжение таблицы 3.9

3-е испытание	86,0
4-е испытание	70,0
Среднее значение $\pm$ SD, %	$82,4 \pm 9,3$

3.4.4. Метод получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB

Методом получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB было конъюгирование радиоактивно иодированной простетической группы [^{123}I]SIB с DARPin (HE)₃-E01. [^{123}I]SIB был конъюгирован с каркасными белками DARPin E01 для эффективной демонстрации их способности радиоактивно метить биомолекулы. [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB был получен путем конъюгации свежего [^{123}I]SIB с DARPin (HE)₃-E01 в условиях pH 9,3, как показано на рисунке 3.37.

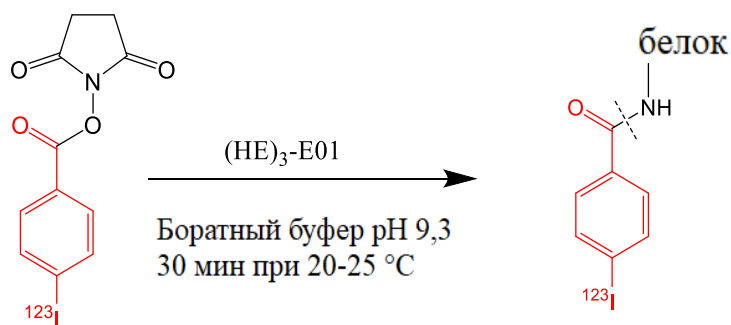


Рисунок 3.37 – Схема конъюгации DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB

[^{123}I]SIB был присоединен сайт-неспецифически и случайным образом к 8 лизиновым аминогруппам DARPin (HE)₃-E01 (рисунок 3.38). Профиль радио-TLC выхода [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB представлен на рис. 3.39.



Рисунок 3.38 – Схематический обзор [^{123}I]SIB, присоединенного сайт-неспецифически и случайным образом к 8 лизиновым аминогруппам DARPin (HE)₃-E01

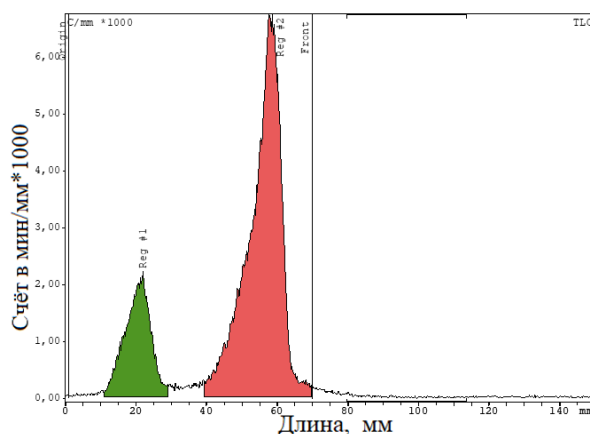


Рисунок 3.39 – Профиль радио-TLC выхода $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ в системе ацетон:вода (4:1). $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ имел $R_f = 0,15 - 0,3$, в то время как свободный радиоактивный иод перемещался с фронтом проявляющего раствора ($R_f = 0,70 - 0,85$)

3.4.4.1. Изучение влияния времени реакции и температуры на радиохимический выход DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$

Влияние времени реакции и температуры на конъюгацию DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ изучалось двумя различными методами, как показано в таблице 3.10. На основании полученного результата радиохимический выход DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ не зависел от времени и температуры инкубации. Не было выявлено существенной ($p > 0,05$) разницы между радиохимическим выходом $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01}$ при использовании различных методов.

Таблица 3.10 – Радиохимический выход DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ при изменении параметров инкубации.

Испытания	PXB (30 мин при комнатной температуре), %	PXB (60 мин при 50 °C), %
Испытание 1-е	5,73	6,01
Испытание 2-е	6,86	7
Среднее значение, $\pm$ SD, %	$6,30 \pm 0,80$	$6,51 \pm 0,70$

3.4.4.2. Изучение влияния соотношения между радиоактивно йодированной протетической группой ($[^{123}\text{I}]\text{SIB}$) и DARPin на радиохимический выход DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$

Следует отметить, что исходя из количества радиоактивности иода-123 и использованных молей протетической группы, число атомов протетической

группы было в 800 раз больше, чем у иода-123. Не все молекулы простетических групп были помечены после процесса радиоiodирования. Помеченные молекулы простетических групп будут конкурировать с более значительным количеством немеченых молекул простетических групп за доступ к активному сайту белка. Таким образом, для получения высокого радиохимического выхода необходима оптимизация соотношения между радиоактивно-iodированной простетической группой и белком.

Для изучения влияния молярного соотношения между DARPin (HE)₃-E01 и [¹²³I]SIB на радиохимический выход были использованы вариации молярного соотношения от 1 : 0,73 до 1 : 2,96. Это исследование показало, что эффективность радиомечения [¹²³I]I-(HE)₃-E01-PIB варьировалась от 6,40% до 22,48% и зависела от молярного соотношения DARPin (HE)₃-E01 к [¹²³I]SIB. Более высокие радиохимические выходы наблюдались, когда число молей использованного (HE)₃-E01 было больше, чем [¹²³I]SIB. Наибольший радиохимический выход в этом эксперименте был достигнут при молярном соотношении (HE)₃-E01: [¹²³I]SIB, равном 1 : 0,73. Радиохимические выходы [¹²³I]I-(HE)₃-E01-PIB в зависимости от молярного соотношения представлены на рисунке 3.40.

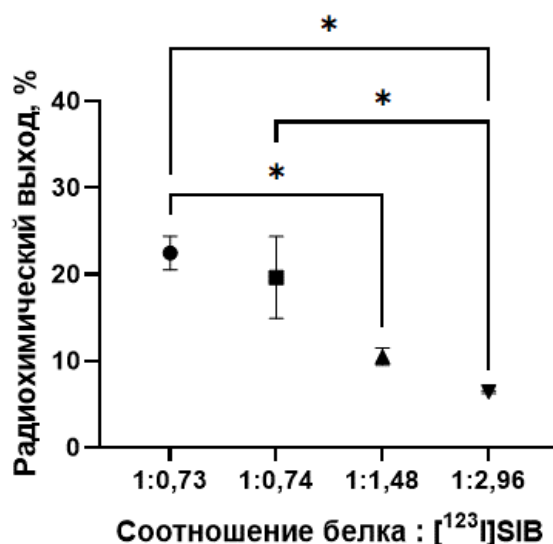


Рисунок 3.40 – Радиохимический выход [¹²³I]I-(HE)₃-E01-PIB при различном соотношении DARPin (HE)₃-E01 к [¹²³I]SIB

После процесса очистки с использованием колонки NAP-5 радиохимическая чистота $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ составила более 95% (рисунок 3.41). Характеристики мечения $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ представлены в таблице 3.11.

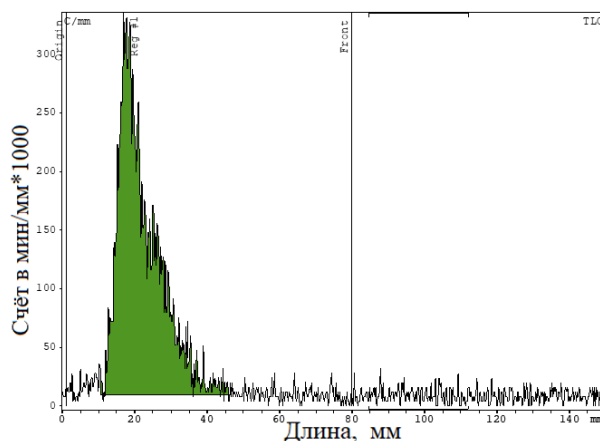


Рисунок 3.41 – Профили радио-TLC радиохимической чистоты $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ в системе ацетон:вода (4:1). $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ имел $R_f = 0,3$.

Радиохимическая чистота радиоконъюгата составила более 95%

Таблица 3.11 – Радиохимические выходы $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-E01-PIB}$ при изменении молярного соотношения.

Соотношение DARPin E01-(HE) ₃ : [¹²³ I]SIB	PXB %	PXЧ %	Максимальная удельная активность, МБк/мкг
1 : 0,73	22,48 ± 1,94	99 ± 2	0,4
1 : 0,74	19,65 ± 4,74		
1 : 1,48	10,50 ± 0,99		
1 : 2,96	6,40 ± 0,15		

3.4.5. Метод получения радиоактивно меченой простетической группы $[^{123}\text{I}]\text{IHPM}$

3-Иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимид ($[^{123}\text{I}]\text{IHPM}$) был получен реакцией электрофильного радиоiodирования (Рисунок 3.42). Электрофильное ароматическое замещение является очень популярной стратегией для проведения радиоiodирования. В этом исследовании IHPM использовался в

качестве предварительно функционализированного прекурсора. Электрофильные радиоактивные иодиды были получены из $[^{123}\text{I}]\text{NaI}$ и хлорамина-Т в качестве сильного окислителя.

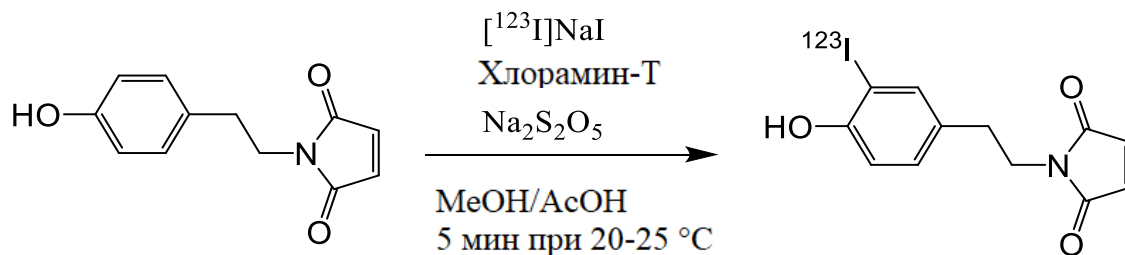


Рисунок 3.42 – Схема радиоидинирования 3-иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ($[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$)

Радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ был получен с помощью анализа радио-*i*TLC с этилацетатом в качестве подвижной фазы (рисунок 3.43). Радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ был высоким, как показано в Таблице 3.12. Соответствующий описанный метод позволил быстро образовать радиоактивно меченые производные с РХВ 67% - 96% для $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$.

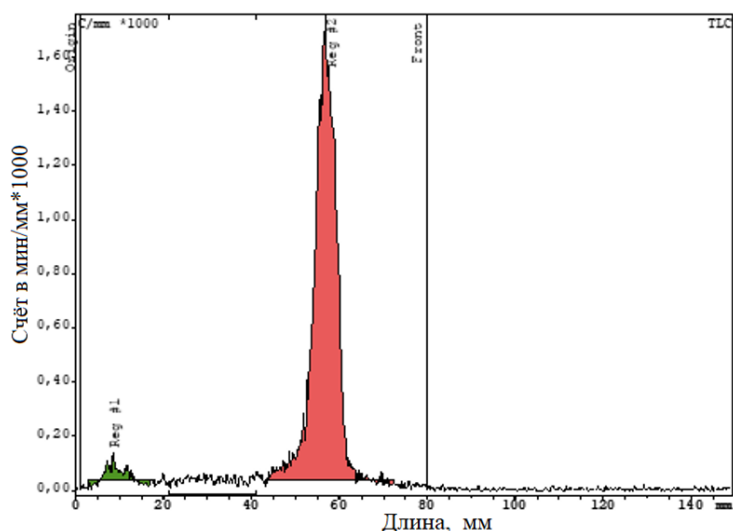


Рисунок 3.43 – Профили радио-TLC радиохимического выхода свежего $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ в системе этилацетата. Свободный радиоактивный иод имел $R_f = 0,15 - 0,2$, в то время как $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ перемещался вместе с фронтом проявляющего раствора ($R_f \geq 0,70$)

Таблица 3.12 – Радиохимический выход [^{123}I]ИНРЕМ

Испытания	PXB, %
1-е испытание	88,48
2-е испытание	88,96
3-е испытание	67,03
4-е испытание	95,96
5-е испытание	89,11
Среднее значение $\pm$ SD, %	$85,91 \pm 9,83$

3.4.6. Метод получения DARPin [^{123}I]I-E01-E₃C-НРЕМ и DARPin [^{123}I]I-E01-G₃C-НРЕМ

Свежий ^{123}I -НРЕМ был конъюгирован с вариантами DARPin E01-E₃C и DARPin E01-G₃C, которые имеют цистеинсодержащий линкер с использованием малеимид-тиоловой связи на С-конце, как показано на рисунке 3.44. Для обеспечения доступности цистеина для конъюгации было проведено восстановление DARPin E01-E₃C и DARPin E01-G₃C дитиотреитолом (ДТТ). 150-кратный молярный избыток ДТТ (4,1 мкл 1 М раствора; 632 мкг; 4,1 нмоль) добавляли к раствору E01-E₃C (1000 мкг; 57 нмоль) или E01-G₃C (1000 мкг; 57,8 нмоль). После инкубации при температуре 40°C в течение 1 ч DARPin [^{123}I]I-E01-E₃C-НРЕМ и DARPin [^{123}I]I-E01-G₃C-НРЕМ очищали с использованием колонки NAP-5 для гель-фильтрации и предварительно уравнивали дегазированным 0,2 М NH₄OAc (pH 6,0). [^{123}I]ИНРЕМ был специфически присоединен к аминок группам цистеина вариантов DARPin E01 (рисунок 3.45).

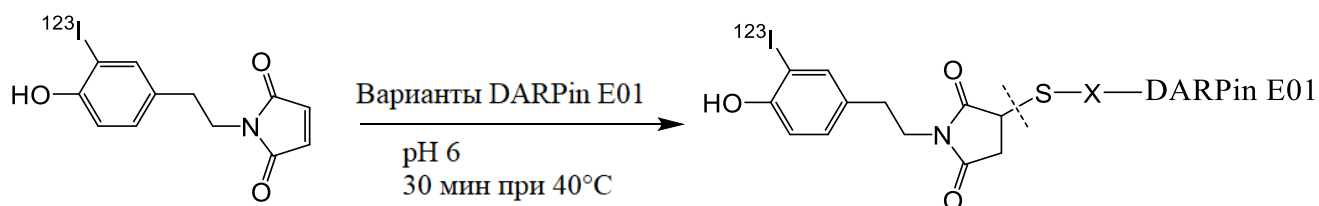


Рисунок 3.44 – Схема конъюгации вариантов DARPin [^{123}I]I-E01. X – E₃C (EEEC или триглутамил-цистеин) или G₃C (GGGC или триглицил-цистеин)

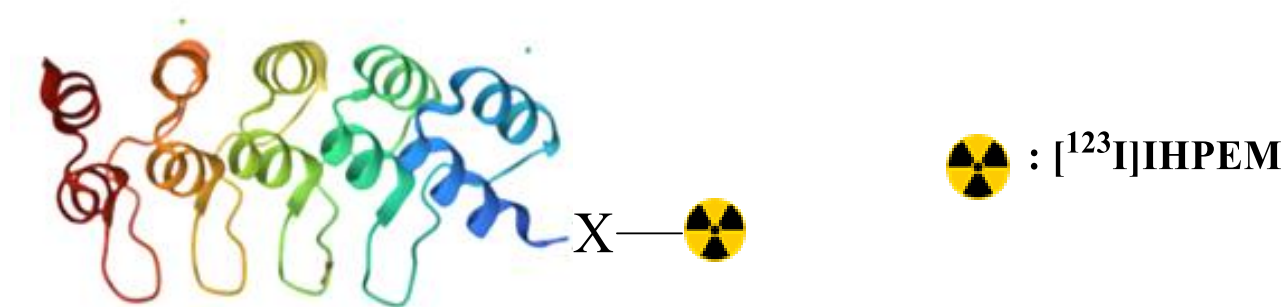


Рисунок 3.45 – Схематический обзор $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$, прикрепленного специально к аминокислоте цистеина вариантов DARPin E01. X – E_3C или G_3C

Профили радио-iTLC выхода $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ представлены на рисунке 3.46. Было изучено влияние молярного соотношения между прекурсорами на выход $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$, как показано на рисунке 3.47. Реакции для $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ проводились с использованием молярного соотношения $\text{E01-E}_3\text{C} : [^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ от 1 : 0,87 до 1 : 3,51. Реакции для получения $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ проводились с использованием вариаций молярного соотношения $\text{E01-G}_3\text{C} : [^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ от 1 : 0,94 до 1 : 2,52. Наибольший радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ ($9,13 \pm 0,20\%$) был получен при проведении реакции с использованием молярного соотношения 1 : 1,78 для $\text{E01-E}_3\text{C} : [^{123}\text{I}]\text{INPEM}$. В случае $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$, чем больше молей $[^{123}\text{I}]\text{INPEM}$ использовано, тем выше полученный радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$. Наибольший радиохимический выход $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ ($19,88 \pm 2,23\%$) был получен при проведении реакции с использованием молярного соотношения 1 : 2,52 для $\text{E01-G}_3\text{C} : [^{123}\text{I}]\text{INPEM}$.

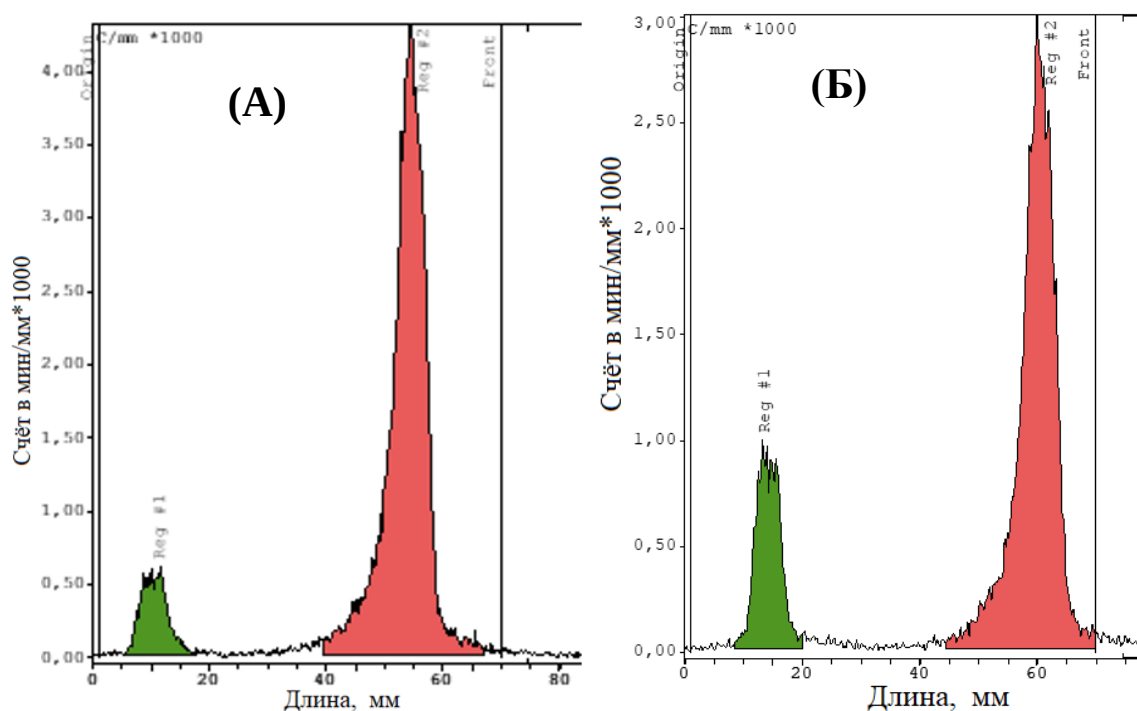


Рисунок 3.46 – Профили радиохимического выхода (А) $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-NPEM}$ и (Б) $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-NPEM}$ в системе 4:1 ацетон : вода. $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-NPEM}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-NPEM}$ имели $R_f = 0,15 - 0,2$, в то время как свободный радиоактивный йод перемещался с фронтом проявляющего раствора ($R_f \geq 0,75$)

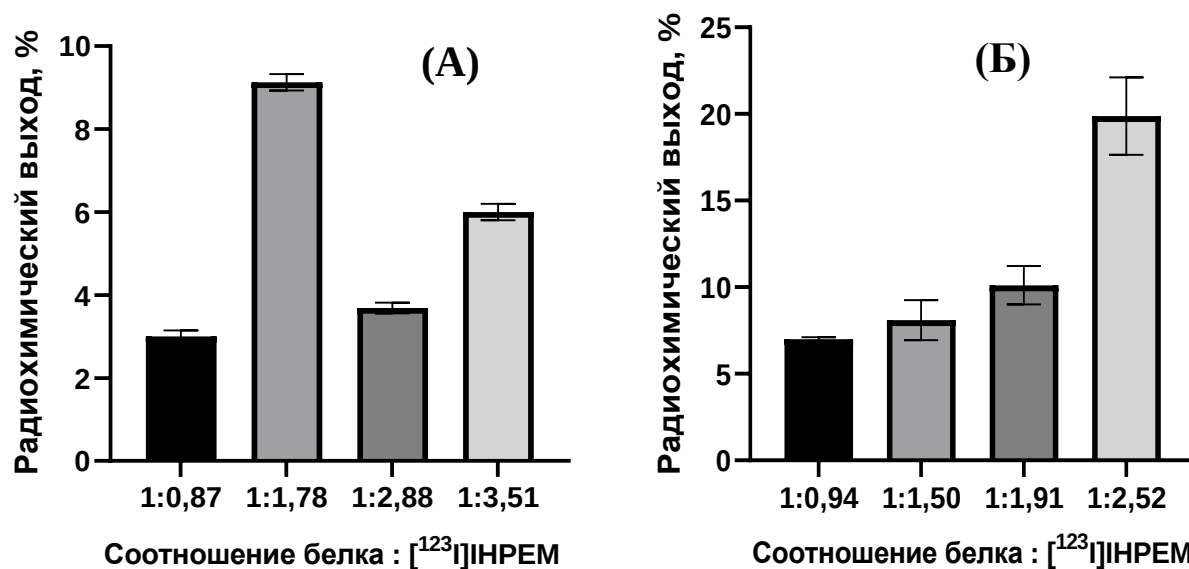


Рисунок 3.47 – Радиохимический выход (А) $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-NPEM}$ и (Б) $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-NPEM}$ с различным соотношением DARPin E01-E₃C или DARPin E01-G₃C к $[^{123}\text{I}]\text{I-NPEM}$

После процесса очистки с использованием эксклюзионной колонки NAP-5 радиохимическая чистота $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ составила более 95 % (рисунок 3.48). Характеристики мечения представлены в таблице 3.13.

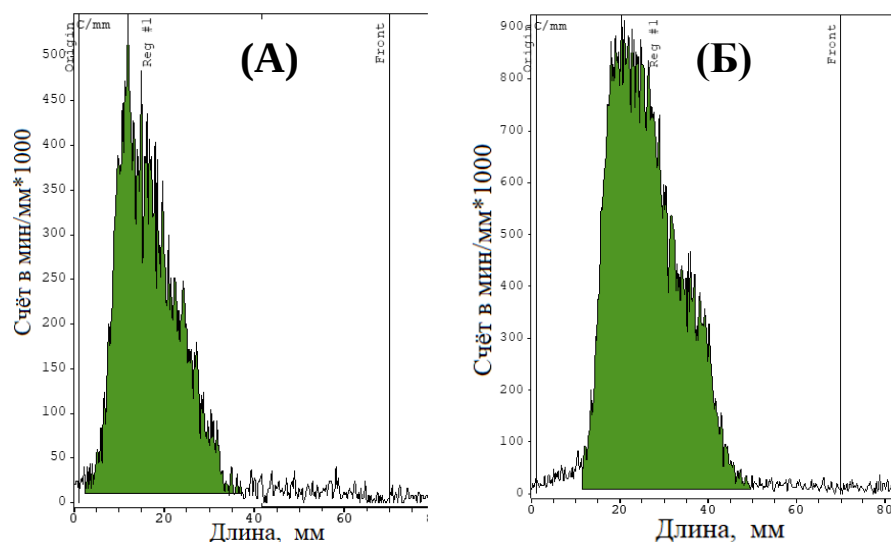


Рисунок 3.48 – Профили радиохимической чистоты $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ по радио-TLC в системе ацетон:вода (4:1). $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ имели $R_f = 0,15\text{--}0,2$. Радиохимическая чистота всех радиоконъюгатов составила более 95 %

Таблица 3.13 – Радиохимические выходы $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$ при изменении молярного соотношения.

Радиоактивно меченные варианты DARP _{in} E01	Соотношение DARP _{in} : $[^{123}\text{I}]\text{IНРЕМ}$	(PXB) %	(PXЧ) %	Maximum Specific Activity MBq/ μg
$[^{123}\text{I}]\text{I-E01-E}_3\text{C-НРЕМ}$	1 : 0,87	$3,00 \pm 0,15$	98 ± 2	0,17
	1 : 1,78	$9,13 \pm 0,20$		
	1 : 2,88	$3,69 \pm 0,13$		
	1 : 3,51	$6,00 \pm 0,20$		
$[^{123}\text{I}]\text{I-E01-G}_3\text{C-НРЕМ}$	1 : 0,94	$7,00 \pm 0,12$	98 ± 2	0,28
	1 : 1,50	$8,10 \pm 1,16$		
	1 : 1,91	$10,11 \pm 1,11$		
	1 : 2,52	$19,88 \pm 2,23$		

3.5. Характеристика *in vitro* и исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

Характеристика *in vitro* и исследования на животных экспериментальных радиофармпрепаратов $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ и $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ описаны в дополнительной информации к диссертации.

3.6. Заключение по главе 3

1. Результаты расчетно-экспериментальных исследований по оптимизации способа получения иода-123 показывают возможность его получения на циклотроне типа У-120 Томского политехнического университета с использованием модернизированной установки для сухой дистиляции иода-123 из оксидной мишени теллура-122, обогащенной на 99,6% и обладающей активностью, достаточной для производства радиофармпрепаратов на основе иода-123. По расчетам, оптимальная энергия для получения иода-123 на циклотроне типа У-120 составляет $E_d = 13,45 \rightarrow 8$ МэВ. Для покрытия этого диапазона энергий оптимальная поверхностная плотность мишени 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ составляет 145,1 мг/см² при минимальной толщине 0,26 мм.

2. Усовершенствована установка для сухой дистиляции иода-123 из $^{122}\text{TeO}_2$, позволяющая оптимизировать процесс автоматического регулирования условий в камере и активности иода-123 в процессе сухой дистиляции иода-123 из мишени, транспорта иода-123 по каналу дистиляции и процесса поглощения поглотителем (NaOH 0,01 М).

3. Предложена усовершенствованная установка, которая может обеспечить автоматический контроль температуры и активности иода-123 в процессе сухой дистиляции иода-123 из мишени. Установлено, что после предварительной очистки мишени оптимальным режимом, выбранным для сухой дистиляции ^{123}I , является последующее извлечение ^{123}I в условиях температуры дистиляции до 700 °С до тех пор, пока активность ^{123}I в поглотителе не станет постоянной.

4. Впервые разработаны новые способы получения двух новых ингибиторов PSMA на основе мочевины DCL с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ϵ -атома азота лизина, дипептидным линкером L-Phe-L-Phe и 3- или 4-(трибутилстаннил)бензойной кислотой в качестве простетических групп для радиоiodирования.

5. Впервые разработана методология получения лиганда [^{123}I]PSMA-p-IB в качестве средства визуализации рака простаты. Лиганд [^{123}I]PSMA-p-IB был протестирован в ходе первоначальной доклинической оценки. Новый лиганд [^{123}I]PSMA-p-IB, нацеленный на PSMA, продемонстрировал значительную аффинность и специфическое связывание с клетками, экспрессирующими PSMA *in vitro*. Низкое накопление в нормальных органах во время испытаний *in vivo* позволяет предположить, что этот новый ингибитор PSMA может быть потенциально перспективным новым радиолигандом, нацеленным на PSMA, и требует дальнейших исследований.

6. Впервые разработана методика получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01. На основании проведенного эксперимента радиохимический выход DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01, полученного предложенным способом, оказался высоким ($83 \pm 2\%$). Радиохимическая чистота DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01 после очистки составила 100%.

7. Впервые разработаны способы получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 для визуализации рака с повышенной экспрессией HER2/neu. DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 специфически и с высокой аффинностью связывается с опухолевыми клетками с экспрессией HER2/neu (константа диссоциации $3,2 \pm 0,5$ нмоль). Заявленный способ получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 осуществляется в короткие сроки, давая высокий выход - более 95%.

8. Разработаны способы получения двух простетических групп: N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (НРЕМ). N-гидроксисукцинимид был эффективно использован в качестве предшественника сукцинимидной группы в синтезе STMSB через новый альтернативный маршрут. Выход НРЕМ,

полученный с помощью предложенной методологии, был выше, чем у существующего способа.

9. Впервые разработана методика получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB. Во-первых, простетическая группа (STSMB) была иодирована ^{123}I , чтобы получить [^{123}I]SIB. Во-вторых, [^{123}I]SIB был конъюгирован с DARPin (HE)₃-E01. Наибольший радиохимический выход [^{123}I]I-(HE)₃-E01-PIB ($22,48 \pm 1,94$) был получен при проведении реакции с использованием молярного соотношения 1 : 0,73 для DARPin (HE)₃-E01 : [^{123}I]SIB. Радиохимическая чистота радиоконъюгата составила более 95%.

10. Впервые с использованием разработанного способа получен DARPin-E01-E₃C с линкером, содержащим цистеин, сайт-специфически меченым ^{123}I в два этапа. Во-первых, простетическая группа с активированным фенольным кольцом и малеимидной частью (HPEM) была иодирована ^{123}I . Во-вторых, ^{123}I -HPEM был конъюгирован с вариантом DARPin E01-E₃C с использованием малеимид-тиоловой связи на С-конце DARPin-E01-E₃C. Наибольший радиохимический выход [^{123}I]I-E01-E₃C-HPEM ($9,13 \pm 0,20\%$) был получен при проведении реакции с использованием молярного соотношения 1 : 1,78 для E01-E₃C : [^{123}I]HPEM. Радиохимическая чистота радиоконъюгата составила более 95%.

11. Впервые аналогично получению [^{123}I]I-E01-G₃C-HPEM разработан способ получения [^{123}I]I-E01-G₃C-HPEM. Наибольший радиохимический выход [^{123}I]I-E01-G₃C-HPEM ($19,88 \pm 2,23\%$) был получен при проведении реакции с использованием молярного соотношения 1 : 2,52 для E01-G₃C : [^{123}I]HPEM. Радиохимическая чистота радиоконъюгата составила более 95%.

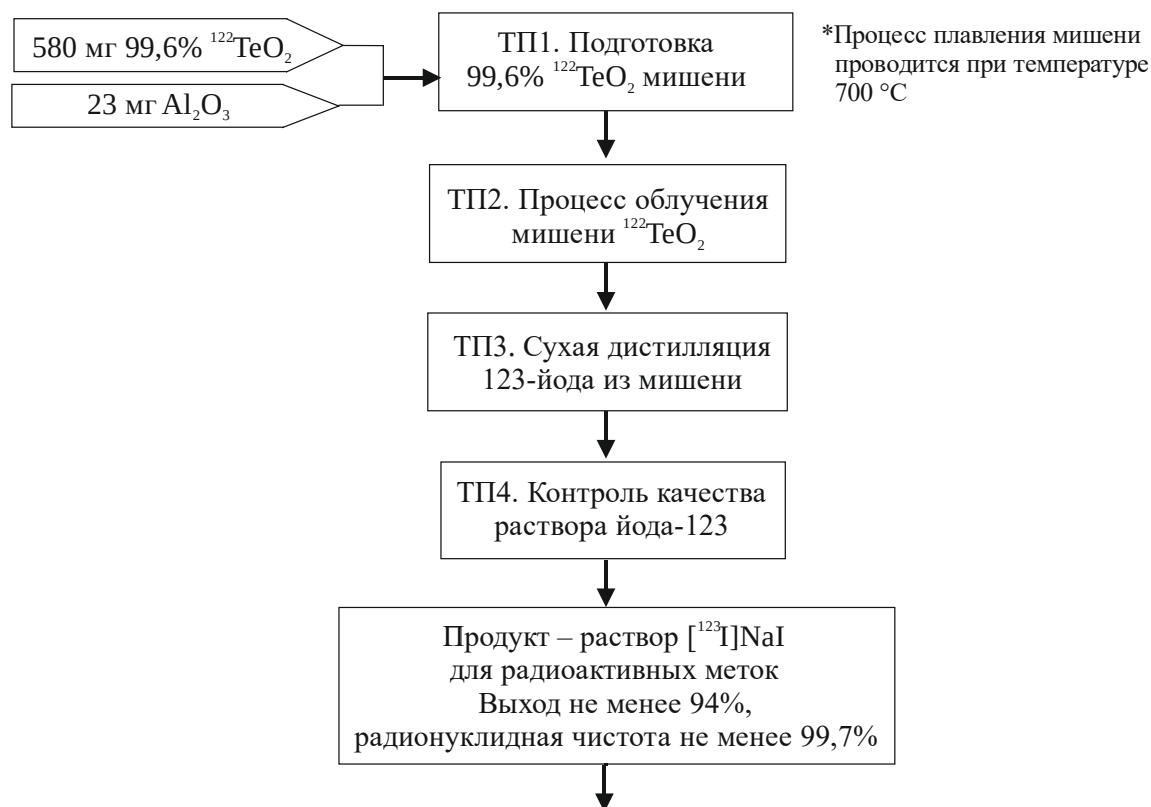
ГЛАВА 4. Принципиальные схемы получения протетических групп и радиофармпрепарата, содержащих иод-123

В данной работе разработаны способы получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3, меченых радиоиодом протетических групп N-сукцинимидил-4- ^{123}I иодбензоата ([^{123}I]SIB) и 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ([^{123}I]ИРЕМ). Ниже приведены принципиальные схемы, описывающие все технологические процессы.

Технологии приготовления раствора [^{123}I]NaI, который используется в данной работе, одинаковы для всех представленных ниже процессов, поэтому они указаны только на первой принципиальной схеме в разделе 4.1.

4.1. Принципиальная схема получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 и ее описание

Принципиальная схема получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 для клинического применения представлена на рисунке 4.1.



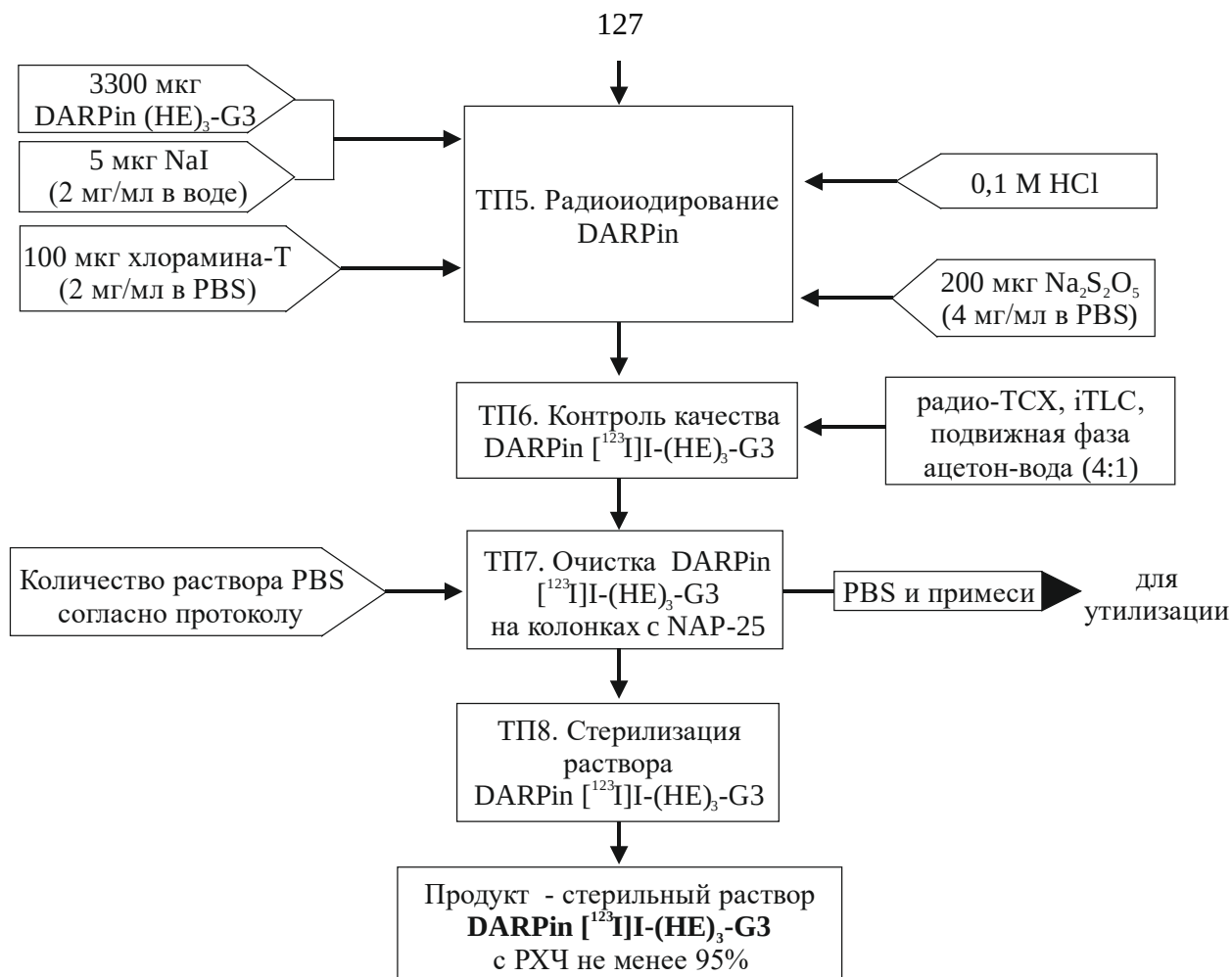


Рисунок 4.1 – Принципиальная схема получения DARPin [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 для клинического применения

Описание принципиального процесса получения DARPin [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3

Первый этап (ТП1) – подготовка мишени $^{122}\text{TeO}_2$. Для изготовления мишени толщиной 145,1 мг/см 2 и площадью поверхности 3,8 см 2 необходимо расплавить на поверхности платиновой подложки 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ массой 580 мг и 23 мг Al_2O_3 . Процесс плавки мишени проводится при температуре 700 °С.

Второй этап (ТП2) – облучение мишени $^{122}\text{TeO}_2$ пучком дейтронов с использованием оптимизированных параметров.

Третий этап (ТП3) - Сухая дистиляция 123-иода из мишени. После облучения мишени подвергаются начальной экспозиционной обработке при температуре 450°С в течение 20 мин для термической очистки от загрязнений. После этого происходит сухая дистиляция иода-123 из обогащенной мишени

$^{122}\text{TeO}_2$. В ходе этого процесса газообразный продукт (иод-123) одновременно поглощается щелочным раствором (0,01 М NaOH). Выделение ^{123}I проводится в условиях температурной перегонки до 700 °С до достижения постоянной активности иода-123 в поглотителе (± 13 мин).

Четвертый этап (ТП4) – контроль качества раствора иода-123. С помощью микропипетки извлекают 5 мкл раствора иода-123, который затем наносят на кусочек фильтровальной бумаги диаметром 15 мм и заклеивают липкой лентой. Объемная активность образца определяется с помощью германиевого детектора (HPGe). Активность полученных радионуклидов определяется по уравнению 2.1 (в главе 2). Площади пиков первичных и примесных радионуклидов измеряются с помощью германиевого детектора (HPGe) по уравнению 2.2 (в главе 2). Чистота радионуклида иод-123 оценивается как отношение активности примеси (или суммы активности примеси) к активности основного радионуклида, выраженное в %. Затем раствор иода-123 расфасовывают в специальные флаконы для медицинских препаратов типа 1-1. Объемная активность раствора иода-123 не менее 200 МБк/мл на указанную дату и время поставки. Флакон плотно закрыт и обжат алюминиевым колпачком. Флакон снабжен бумажной этикеткой в соответствии с идентичностью его содержимого. Каждый флакон, содержащий раствор иода-123, всегда снабжен сертификатом.

Пятый этап (ТП5) – радиоiodирование DARPin. Во флакон, содержащий 3300 мкг белка DARPin (HE)₃-G3, добавляют 5 мкг иодида натрия (2 мг/мл в воде) и раствор ^{123}I активностью 170–180 МБк. pH-состояние реакционной смеси доводят до pH = 5,5–7,5 раствором 0,1 М соляной кислоты и затем инкубируют в течение 5 мин. К реакционной смеси добавляют 100 мкг хлорамина-Т (2 мг/мл в PBS) и продолжают перемешивание и инкубацию при комнатной температуре в течение 120 с. Для остановки реакции в реакционную смесь добавляют 200 мкг метабисульфита натрия (4 мг/мл в PBS).

Шестой этап (ТП6) – контроль качества DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3. Эффективность метода получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 оценивается по

радиохимическому выходу, который определяется методом тонкослойной радиохроматографии с использованием стекловолоконной полоски со слоем силикагеля iTLC и системы ацетон-вода (4:1) в качестве подвижной фазы.

Седьмой этап (ТП7) – очистка DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3. DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 очищают с использованием гель-фильтрационной колонки Sephadex G25. Раствор отбирают с помощью микропипетки и помещают в фильтрующую колонку, затем добавляют раствор PBS таким образом, чтобы общий объем смеси и раствора PBS составил 2500 мкл. Объем, стекающий с колонки, собирается как мертвый объем. Затем в фильтрующую колонку добавляют еще 3400 мкл PBS, и объем раствора, вышедший из нижней части колонки, собирают в виде чистого раствора DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3.

Восьмой этап (ТП8) – это процесс стерилизации DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3. К очищенному раствору DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 добавляют стерильный 0,9% раствор хлорида натрия до общего объема 10 мл. После смешивания полученный раствор с помощью шприца пропускают через стерилизующий фильтр (0,22 мкм) в стерильный флакон. Флакон снабжен этикеткой в соответствии с идентификацией DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3. Каждый флакон, содержащий раствор DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3, снабжен сертификатом.

4.2. Принципиальная схема получения меченной радиоидом простетической группы N-сукцинимидил-4- ^{123}I иодбензоата (^{123}I SIB) и ее описание

Принципиальная схема получения меченной радиоактивным иодом простетической группы N-сукцинимидил-4- ^{123}I иодбензоата (^{123}I SIB) представлена на рисунке 4.2.

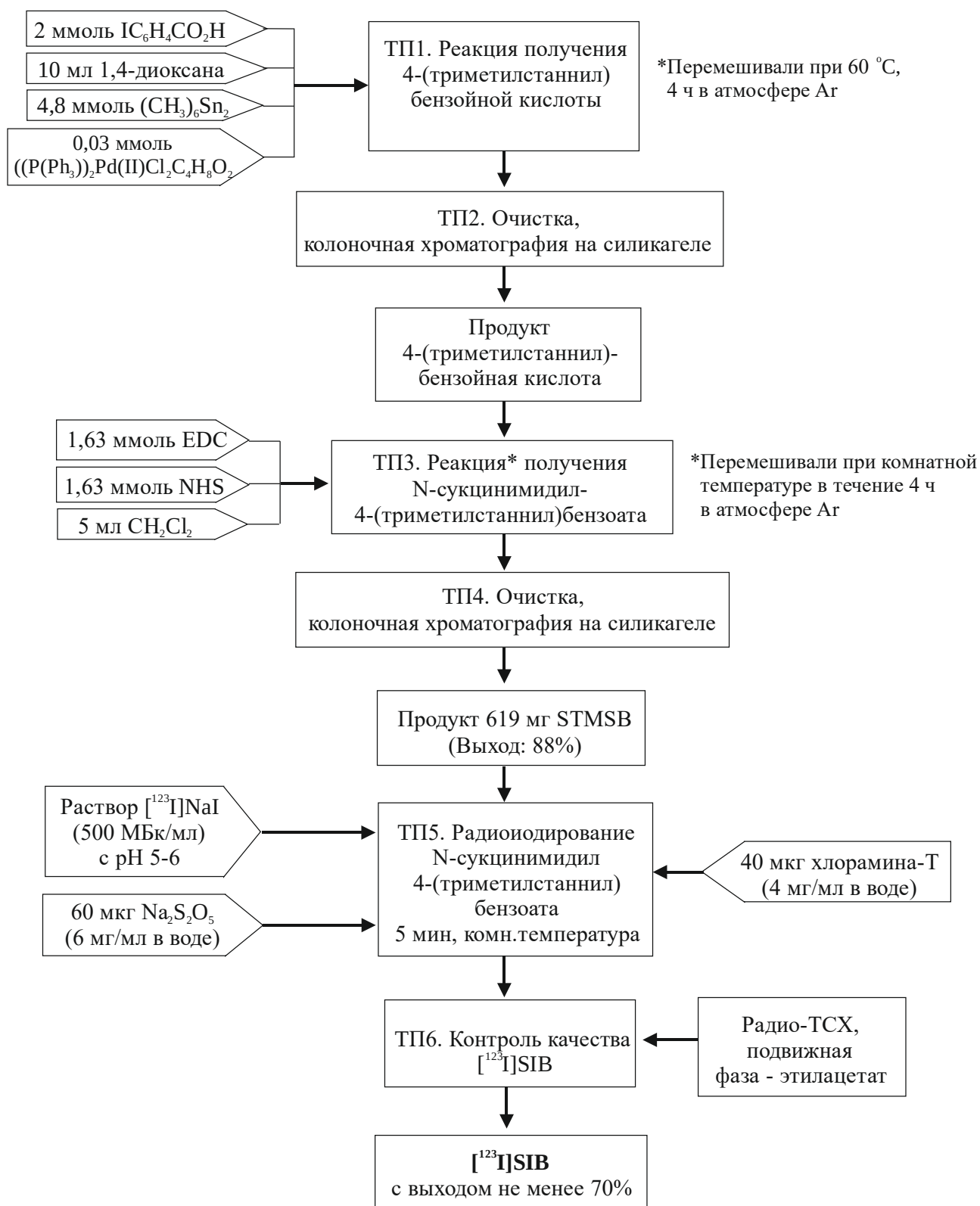


Рисунок 4.2 – Принципиальная схема получения N-сукцинимидил-4-
[¹²³I]иодбензоата ([¹²³I]SIB) для непрямого сайт-неспецифического
радиоiodирования таргетных белков

**Описание принципиального процесса получения меченой
радиоактивным иодом простетической группы N-сукцинимидил-4-
[¹²³I]иодбензоата ([¹²³I]SIB)**

Первый этап (ТП1) – реакция получения 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты. В колбу Шленка, содержащую раствор 4-иодбензойной кислоты (0,5 г, 2 ммоль) в 10 мл дегазированного 1,4-диоксана, добавляют 1 мл гексаметилдистаннана ((CH₃)₆Sn₂, 4,8 ммоль) и 20 мг бис-(трифенилфосфин)-палладий(II)-дихлорида ((P(Ph₃))₂Pd(II)Cl₂, 0,03 ммоль). Раствор перемешивают при температуре 60 °С в течение 4 ч в атмосфере аргона.

Второй этап (ТП2) – очистка, колоночная хроматография на силикагеле. Силикагель добавляют в колбу Шленка, если реакция завершена. Растворитель выпаривают в роторном испарителе при температуре 40 °С и давлении 100 мбар, в результате чего весь растворитель испаряется, а сырая смесь продуктов абсорбируется на силикагеле. Неочищенную смесь наносят на хроматографическую колонку и элюируют градиентом EtOAc:гексан (от 100% гексана до 60% гексана: 40% EtOAc) для получения 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты. Элюент собирают в несколько пробирок. Каждую фракцию элюента анализируют методом ТСХ с использованием системы (EtOAc:гексан/3:7). R_f 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты составляет 0,35. Соберите фракции с R_f 0,35 в круглодонную колбу. Растворитель испаряется с помощью роторного испарителя. Остаток высушивают и выдерживают в эксикаторе для получения твердой 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты. ¹H ЯМР 4-(триметилстаннил)бензоата представлен на рисунке 3.20.

Третий этап (ТП3) – реакция получения N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата. В колбу Шленка, содержащую 5 мл дихлорметана, добавляют 388,1 мг 4-(триметилстаннил)бензойной кислоты (1,36 ммоль), 313,24 мг 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (1,63 ммоль) и 188,2 мг N-гидроксисукцинимидида (1,63 ммоль). Смесь перемешивают в течение 8 часов при комнатной температуре в атмосфере аргона. Реакционную смесь

проверяют методом ТСХ, чтобы убедиться в завершении реакции. R_f N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата составляет 0,23 (система EtOAc:гексан/3:7).

Четвертый этап (ТП4) – очистка, колоночная хроматография на силикагеле. Силикагель добавляется в колбу Шленка, если реакция завершена. Растворитель выпаривают в роторном испарителе при температуре 40 °С и атмосферном давлении, так что весь растворитель испаряется, а сырая смесь продуктов абсорбируется на силикагеле. Неочищенную смесь наносят на хроматографическую колонку и элюируют градиентом EtOAc: гексан (от 20% EtOAc: 80% гексана до 50% EtOAc: 50% гексана). Элюент собирают в несколько пробирок. Каждую фракцию элюента анализируют методом ТСХ в системе (EtOAc/гексан 3:7). Фракцию с R_f 0,23 собирают в круглодонную колбу. Растворитель испаряется с помощью роторного испарителя при температуре 40 °С и давлении 230 мбар. Остаток сушат и выдерживают в эксикаторе до получения белого кристаллического вещества N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата.

Пятый этап (TP5) – радиоiodирование N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата «STMSB». STMSB (8 нмоль, 4 мкг) растворяют в 4 мкл $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$; 95/5 (об./об.). Раствор ^{123}I с концентрацией около 500 МБк/мл добавляют во флакон, содержащий STMSB (8 нмоль, 4 мкг). Раствор $^{123}\text{I}]\text{NaI}$ предварительно доводят до pH 5-6 путем добавления 0,1% раствора CH_3COOH (10-30 мкл). К реакционной смеси добавляют 40 мкг хлорамина-Т (4 мг/мл в воде), продолжают перемешивание и инкубацию при комнатной температуре в течение 5 мин. Для остановки реакции в реакционную смесь добавляют 60 мкг метабисульфита натрия (6 мг/мл в воде).

Шестой этап (TP6) – контроль качества $^{123}\text{I}]\text{SIB}$. Эффективность метода получения $^{123}\text{I}]\text{SIB}$ оценивают по радиохимическому выходу, который определяют методом тонкослойной радиохроматографии с использованием стекловолоконной полоски со слоем силикагеля iTLC и этилацетата в качестве подвижной фазы.

4.3 Принципиальная схема получения меченой радиоидом простетической группы 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида (^{123}I ИНРЕМ) и ее описание

Принципиальная схема получения меченой радиоактивным иодом простетической группы 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида (^{123}I ИНРЕМ) представлена на рисунке 4.3.

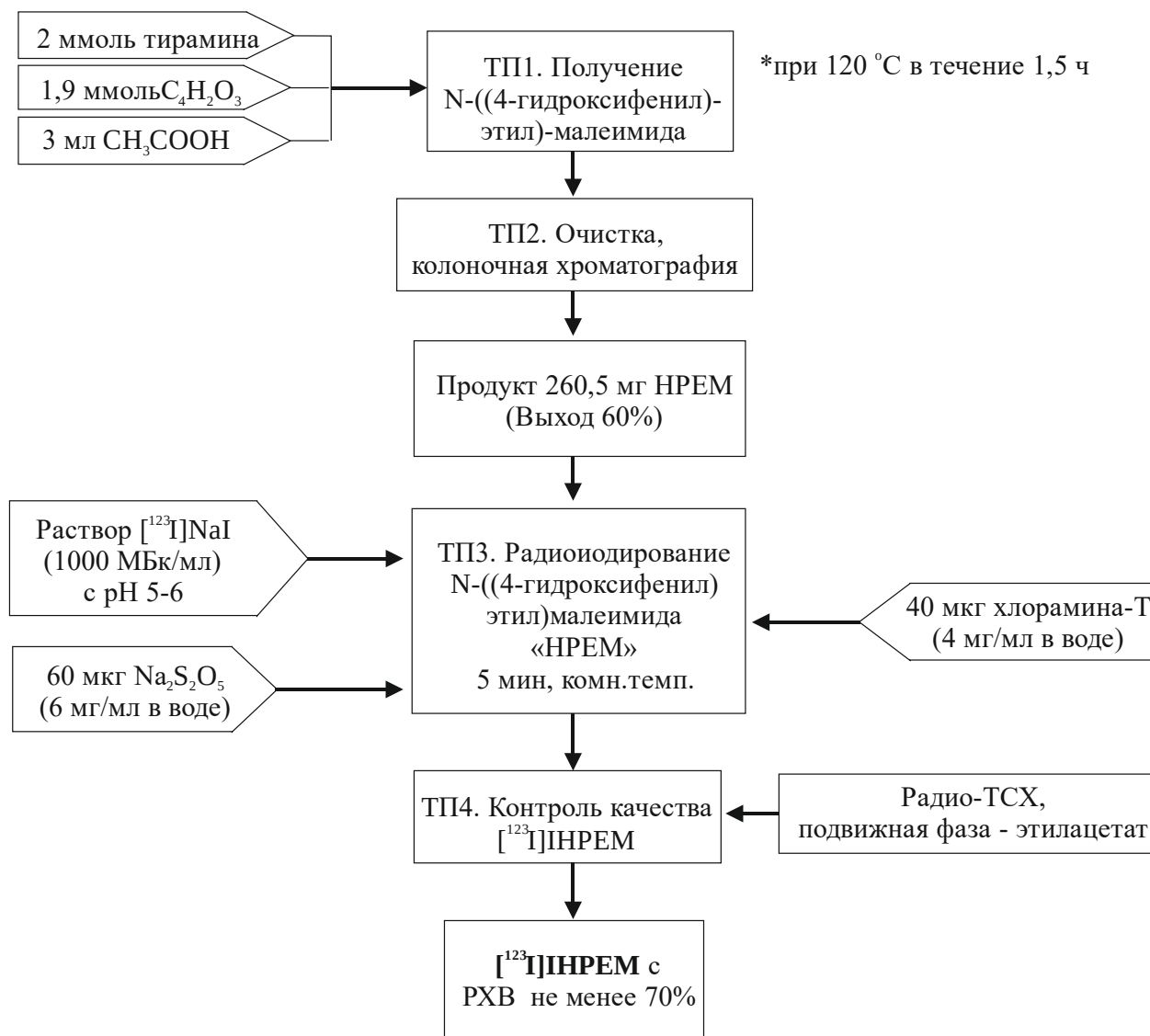


Рисунок 4.3 – Принципиальная схема получения 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида (^{123}I ИНРЕМ) для непрямого сайт-специфического радиоидирования целевых белков

Описание принципиального процесса получения меченой радиоактивным иодом простетической группы 3-[¹²³I]иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ([¹²³I]НРЕМ)

Первый этап (ТП1) – это реакция получения N-((4-гидроксифенил)этил)-малеимида. Тирамин (274 мг, 2,0 ммоль) и малеиновый ангидрид (220,5 мг, 1,9 ммоль) разбавляют в ледяной уксусной кислоте (3 мл). Смесь кипятят с обратным холодильником при 120 °С в течение 1,5 ч.

Вторая этап (ТП2) – очистка, колоночная хроматография на силикагеле. Реакционную смесь оставляют охлаждаться при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляют 15 мл H₂O, затем водную фазу несколько раз экстрагируют EtOAc. Органические слои подвергали промывке с использованием раствора 1 М NaHCO₃. Затем смесь абсорбируют с помощью Na₂SO₄ и концентрируют под вакуумом для получения сырых продуктов. Растворитель выпаривают с помощью роторного испарителя. Полученный сырой продукт очищают с использованием колоночной хроматографии (от 100% CH₂Cl₂:0% Et₂O до 90% CH₂Cl₂:10% Et₂O) в качестве подвижной фазы или элюента. Каждую фракцию элюента анализируют методом ТСХ в системе CH₂Cl₂:Et₂O/9:1. Собирают фракции с R_f 0,6 в круглодонную колбу. Растворитель испаряется с помощью роторного испарителя при температуре 40°С и атмосферном давлении. Остаток сушат и выдерживают в эксикаторе, получая белое кристаллическое вещество N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида.

Четвертый этап (ТП3) – радиоиодирование N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида «НРЕМ». НРЕМ (23 нмоль, 5 мкг) растворяют в 5 мкл CH₃OH/CH₃COOH; 95/5 (об./об.). Раствор ¹²³I с концентрацией около 500 МБк/мл добавляется во флакон, содержащий НРЕМ (23 нмоль, 5 мкг). Раствор [¹²³I]NaI предварительно доводили до pH 5-6 путем добавления 0,1% раствора CH₃COOH (10-30 мкл). К реакционной смеси добавляют 40 мкг хлорамина-Т (4 мг/мл в воде), продолжают перемешивание и инкубацию при

комнатной температуре в течение 5 мин. Для остановки реакции в реакционную смесь добавляют 60 мкг метабисульфита натрия (6 мг/мл в воде).

Пятый этап (ТП4) – контроль качества [^{123}I]ИНРЕМ. Эффективность метода получения [^{123}I]ИНРЕМ оценивают по радиохимическому выходу, который определяют методом тонкослойной радиохроматографии с использованием стекловолоконной полоски со слоем силикагеля ТСХ и этилацетата в качестве подвижной фазы.

4.4. Экономический анализ разработанных технологий

4.4.1 Экономический анализ разработанной технологии получения протетического DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3

Таблица 4.1 – Затраты на приобретение реагентов для проведения одного синтеза для получения DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 для одного пациента (± 3000 мкг).

№	Сырьевой компонент	Количество на синтез, единица измерения (мкл, мкг, шт и т.д.)	Цена за ед./мл/г, руб	Количество, руб.
1	Обогащенный 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$	5,8 мг	300000	1740
2	Al_2O_3	0,23 мг	493,92	0,12
3	Стерилизованный NaOH 0,01 М	1 мл	3	3
4	DARPin (HE) ₃ -G3	3,3 мг	1000000	3300
5	Иодид натрия (NaI)	6 мкг	114	0,0007
6	HCl	100 мкл	3,7	0,37
7	Хлорамин-Т	100 мкг	59,2	0,006
8	Метабисульфит натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)	200 мкг	9,39	0,0002
9	Фосфатно-солевой буфер (PBS)	25 мл	6,2	155
10	Ацетон ($(\text{CH}_3)_2\text{CO}$)	5 мл	0,075	0,375
11	Колонка Cytiva NAP-25	1 шт	1252	1252
12	Солевой раствор	10 мл	0,5	5
13	Фильтр шприцевой (0,22 мкм)	1 шт	188,5	188,5
ОБЩИЙ:				6644,37

Цены на растворители и химические реагенты, принятые для получения DARPin $[^{123}\text{I}]\text{I}-(\text{HE})_3\text{-G3}$, соответствуют закупкам, произведенным у поставщиков в ходе работ, и соответствуют 2022-2024 годам.

4.4.2 Экономический анализ разработанной технологии получения меченной радиоидом простетической группы N-сукцинимидил-4- $[^{123}\text{I}]$ иодбензоата ($[^{123}\text{I}]\text{SIB}$)

Таблица 4.2 – Затраты на приобретение реагентов для проведения одного синтеза с получением 619 мг N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата

№	Сырьевой компонент	Количество на синтез, единица измерения (мкл, мкг, шт и т.д.)	Цена за ед./мл/г, руб	Количество, руб.
1	4-иодобензойная кислота ($\text{IC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}$)	0,5 г	180	90
2	Гексаметилдиستانнан ($(\text{CH}_3)_6\text{Sn}_2$)	1,57 г	1828,65	2871
3	бис-(трифенилфосфин)-палладий(II)-дихлорид ($(\text{P}(\text{Ph}_3))_2\text{Pd}(\text{II})\text{Cl}_2$)	20 мг	3023,15	60,46
4	1,4-диоксан ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)	10 мл	0,818	81,8
5	Этилацетат ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)	150 мл	0,5	75
6	н-Гексан (C_6H_{14})	200 мл	1	200
7	1-Этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3$)	313,24 мг	975	305,41
8	N-гидроксисукцинимид ($\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$)	188,2 мг	128,6	24,20
9	Дихлорметан (CH_2Cl_2)	5 мл	2	10
10	Сульфат натрия безводный (Na_2SO_4)	5 г	28,24	141,2
11	Silica gel	100 г	15	1500
ОБЩИЙ:				5359,07

619 мг N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоата можно использовать для проведения радиосинтеза, чтобы получить 4 мкг $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$ приблизительно в 150000 раз. Затраты на приобретение реагентов для проведения радиосинтеза с целью получения 4 мкг $[^{123}\text{I}]\text{SIB}$ представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Затраты на приобретение реагентов для проведения одного синтеза с получением 4 мкг [^{123}I]SIB

№	Сырьевой компонент	Количество на синтез, единица измерения (мкл, мкг, шт и т.д.)	Цена за ед./мл/г, руб	Количество, руб.
1	N-сукцинимидил 4-(триметилстаннил)бензоат	4 мкг	8657,63	0.035
2	Обогащенный 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$	5,8 мг	300000	1740
3	Al_2O_3	0,23 мг	493,92	0,12
4	Стерилизованный NaOH 0,01 М	1 мл	3	3
5	Метанол (CH_3OH)	4 мкл	48	0,192
6	Уксусная кислота (CH_3COOH)	35 мкл	45,7	1,5995
7	Этилацетат ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)	5 мл	0,5	2,5
8	Хлорамин-Т	40 мкг	59,2	0,0024
9	Метабисульфит натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)	60 мкг	9.39	0.0006
Итого:				1747,45

Цены на полученные растворители и химические реагенты соответствуют закупкам, произведенным у поставщиков в период проведения работ, и соответствуют 2022-2024 годам.

4.4.3 Экономический анализ разработанной технологии получения меченной радиоидом простетической группы 3-[^{123}I]иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимида ([^{123}I]ИНРЕМ)

Таблица 4.4 – Затраты на приобретение реагентов для проведения одного синтеза с получением 260,5 мг N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида.

№	Сырьевой компонент	Количество на синтез, единица измерения (мкл, мкг, шт и т.д.)	Цена за ед./мл/г, руб	Количество, руб.
1	Тирамин ($\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$)	274 мг	1070,8	293,5
2	Малеиновый ангидрид ($\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3$)	220,5 мг	7598	1675,4
3	Уксусная кислота ледяная (CH_3COOH)	3 мл	3,5	10,5
4	Этилацетат ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)	50 мл	0,5	25
5	Бикарбонат натрия (NaHCO_3)	12,6 г	8,5	107,1
6	Сульфат натрия безводный (Na_2SO_4)	5 г	28,24	141,2
7	Силикагель	50 г	15	750

Продолжение таблицы 4.4

8	Дихлорметан (CH ₂ Cl ₂)	200 мл	2	400
9	Диэтиловый эфир (C ₂ H ₅) ₂ O	40 мл	8	320
ОБЩИЙ:				3722,7

260,5 мг N-((4-гидроксифенил)этил)малеимида можно использовать для проведения радиосинтеза, чтобы получить 5 мкг [¹²³I]ИПРЕМ приблизительно в 52000 раз. Затраты на приобретение реагентов для проведения радиосинтеза с целью получения 5 мкг [¹²³I]ИПРЕМ представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Затраты на приобретение реагентов для проведения одного синтеза с получением 5 мкг [¹²³I]ИПРЕМ.

№	Сырьевой компонент	Количество на синтез, единица измерения (мкл, мкг, шт и т.д.)	Цена за ед./мл/г, руб	Количество, руб.
1	N-((4-гидроксифенил)этил)-малеимид	5 мкг	14291	0,072
2	Обогащенный 99,6% ¹²² TeO ₂	5,8 мг	150000	1740
3	Al ₂ O ₃	0,23 мг	493,92	0,12
4	Стерилизованный NaOH 0,01 М	1 мл	3	3
5	Метанол (CH ₃ OH)	5 мкл	48	0,24
6	Уксусная кислота (CH ₃ COOH)	35 мкл	45,7	1,5995
7	Этилацетат (C ₄ H ₈ O ₂)	5 мл	0,5	2,5
8	Хлорамин-Т	40 мкг	59,2	0,0024
9	Метабисульфит натрия (Na ₂ S ₂ O ₅)	60 мкг	9,39	0,0006
ОБЩИЙ:				1747,53

Цены на полученные растворители и химические реагенты соответствуют закупкам, произведенным у поставщиков в период проведения работ, и соответствуют 2022-2024 годам.

4.5 Заключение по главе 4

1. Разработана принципиальная схема и экономический анализ получения DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-G3, позволяющие получать DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-G3 в короткие сроки и с высоким выходом – более 95%.

2. Разработаны принципиальные схемы и экономический анализ получения двух меченных радиоiodом простетических групп [¹²³I]SIB и [¹²³I]ИПРЕМ с высокими радиохимическими выходами (более 82%).

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Результаты расчетно-экспериментальных исследований по усовершенствованию способа получения ^{123}I показывают, что оптимальная энергия для получения ^{123}I на циклотроне типа У-120 составляет $E_d = 13,48 \rightarrow 8$ МэВ. Для покрытия этого диапазона энергий оптимальная поверхностная плотность мишени 99,6% $^{122}\text{TeO}_2$ составляет 145,1 мг/см² при минимальной толщине 0,26 мм. Предложена оптимизация установки, которая может обеспечить автоматический контроль температуры и активности в процессе сухой дистилляции ^{123}I из мишени. Установлено, что после предварительной очистки мишени оптимальным режимом, выбранным для сухой дистилляции ^{123}I , является последующее извлечение ^{123}I в условиях температуры дистилляции до 700 °С до тех пор, пока активность ^{123}I в поглотителе не станет постоянной.

2. Предложены способы синтеза двух новых ингибиторов PSMA на основе мочевины DCL с хлорзамещенным ароматическим фрагментом у ϵ -атома азота лизина, дипептидным линкером L-Phe-L-Phe и 3- или 4-(трибутилстаннил)бензойной кислотой в качестве простетических групп для радиоiodирования. Эти ингибиторы были изучены в качестве новых лигандов PSMA путем оптимизации радиоактивного мечения иодом-123 и первоначальной доклинической оценки. Новый PSMA-таргетный радиолиганд [^{123}I]PSMA-p-IB потенциально может стать перспективным новым PSMA-таргетным радиолигандом.

3. Разработаны новые эффективные способы синтеза иод-123-содержащих простетических групп 4-(триметилстаннил)бензоата (STMSB) и ((4-гидроксифенил)этил)малеимида (HPEM) для радиоiodирования скаффолд-белков.

4. На основе иод-123-содержащих простетических групп разработаны способы непрямого радиосинтеза вариантов таргетных белков DARPin E01 для диагностики EGFR-экспрессирующего рака. Предложен способ сайт-

неспецифического радиоiodирования DARPin (HE)₃-E01 путем конъюгации белка с иод-123-содержащей STMSB (радиохимический выход - $22,48 \pm 1,94\%$). DARPin-E01-E₃C и DARPin E01-G₃C с цистеин-содержащими линкерами, сайт-специфически меченные ¹²³I, впервые получены по разработанным методикам посредством конъюгации белков с НРЕМ с помощью малеимид-тиоловой связи на С-конце. Наибольший радиохимический выход [¹²³I]I-E01-E₃C-НРЕМ ($9,13 \pm 0,20\%$) был получен при использовании молярного соотношения 1 : 1,78 для E01-E₃C : [¹²³I]НРЕМ. Радиохимический выход [¹²³I]I-E01-G₃C-НРЕМ составил $19,88 \pm 2,23\%$ при молярном соотношении 1 : 2,52 для E01-G₃C : [¹²³I]НРЕМ. Радиохимическая чистота всех радиоконъюгатов составила более 95 %.

5. На основе таргетных белков DARPin разработаны одностадийные способы прямого радиосинтеза иод-123-содержащих DARPin E01 и DARPin G3, позволяющие получить DARPin [¹²³I]I-E01 и DARPin [¹²³I]I-G3 с высокими радиохимическими выходами ($83 \pm 2\%$ и $\geq 95\%$ соответственно) и чистотой (более 99%). Показано, что DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-G3 специфично и с высокой аффинностью связывается с опухолевыми клетками с экспрессией HER2/neu (константа диссоциации $3,2 \pm 0,5$ нмоль) и позволяет дифференцировать опухоли с экспрессией целевого рецептора от опухолей без экспрессии.

6. Разработаны принципиальные схемы радиосинтеза ¹²³I-простетических групп и DARPin [¹²³I]I-(HE)₃-G3 для получения новых таргетных радиофармацевтических лекарственных препаратов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю особую благодарность своим научным руководителям д.фарм.н. Ларькиной М.С. (кафедра фармацевтического анализа Сибирского государственного медицинского университета) и д.х.н. Юсубову М.С. (ИШХБМТ Томского политехнического университета) за помощь в планировании экспериментов и консультации при написании диссертационной работы.

Автор выражает искреннюю благодарность инженеру Гарапацкому А.А. (Научная лаборатория радиоактивных веществ и технологий (ИЯТШ Томского политехнического университета)) и сотрудникам лаборатории Научного центра «Онкотераностики» Научной школы химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета за помощь в проделанной работе.

Автор также выражает искреннюю благодарность сотрудникам химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и сотрудникам лаборатории молекулярной иммунологии Института биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН за помощь в получении белков, использованных в работе.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ:

1. **Hasnowo, L.A.** The Development of Cyclotron-Based Radiopharmaceuticals: A Comprehensive Review of ^{64}Cu and ^{123}I -Radiolabeled Urea-Based Small Molecule PSMA Ligands / L.A. Hasnowo, M.S. Larkina, A.A. Garapatski, M.S. Yusubov // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2023. – Vol. 332. – P. 3523–3546.
2. **Hasnowo, L.A.** Synthesis, ^{123}I -Radiolabeling Optimization, and Initial Preclinical Evaluation of Novel Urea-Based PSMA Inhibitors with a Tributylstannyl Prosthetic Group in Their Structures / L.A. Hasnowo, M.S. Larkina, E. Plotnikov, V. Bodenko, F. Yuldasheva, E. S. Stasyuk, S.A. Petrov, N.Y. Zyk, A.E. Machulkin, N.I. Vorozhtsov, et al. // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – V. 24. № 15. – P. 12206.
3. **Хасново Л.А.** Новые способы синтеза двух простетических групп (^{123}I SIB и ^{123}I ИНРЕМ) для радиоiodирования каркасных белков. Бутлеровские сообщения / Л.А. Хасново, М.С. Ларькина, Г.Е. Янович, Р.Н. Варвашеня, Е.В. Плотников, А.А. Шульга, Е.В. Коновалова, А.М. Большаков, А.А. Гарапацкий, С.М. Деев, М.С. Юсубов // Бутлеровские сообщения. – 2024. – Т. 79. – № 7. – С. 67–80.
4. Патент № 2815777, 08.06.2023 «Способ получения радиохимического соединения на основе меченных иодом-123 рекомбинантных адресных молекул белковой природы с анкириновыми повторами для визуализации рака с гиперэкспрессией HER2/neu». В.М. Толмачев, М.С. Ларькина, Е.В. Плотников, А.Г. Воробьева, А.М. Орлова, М.В. Белоусов, С.М. Деев, А.А. Шульга, Е.В. Коновалова, В.И. Чернов, М.С. Юсубов, Зельчан Р.В., О.Д. Брагина, **Л.А. Хасново**, Р.Н. Варвашеня.
5. **Hasnowo L.A.** Radioiodination of small molecule PSMA ligand / L.A. Hasnowo, M.S. Yusubov // Материалы конференции «III Международной Научно-практической Конференции “Научная Инициатива Иностраннных Студентов и Аспирантов”». Томск, 25–27 апреля, ТПУ. – 2023. – С. 647–648.

6. **Hasnowo L.A.** Synthesis and initial preclinical evaluation of novel urea-based PSMA inhibitors / L.A. Hasnowo, M.S. Larkina, E. Plotnikov, V. Bodenko., F. Yuldasheva, E. Stasyuk, S.A. Petrov, N.Y. Zyk, A.E. Machulkin, N.I. Vorozhtsov, E.K. Beloglazkina, V.G. Nenajdenko, V. Tolmachev, A. Orlova, A.G. Majouga, and M.S. Yusubov // Материалы конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» Томск, 04-06 октября, СибГМУБ. – 2023. – С. 109–111.

7. Tolmachev V. Molecular Imaging of HER2 Expression in Breast Cancer Using DARPIn [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3. From mice to Phase I / V. Tolmachev, O. Bragina, R. Zelchan, M. Larkina, R. Varvashenya, **L.A. Hasnowo**, A. Orlova, A. Schulga, A. Vorobyeva, E. Konovalova, S. Deyev, V. Chernov // Meeting abstracts from the 21st European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. – 2024. – V. 9, (Suppl 1). – P. 65.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

PSMA – простатспецифический мембранный антиген

DARPin – рекомбинантный сконструированный белок с анкириновыми повторами

ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография

ПЭТ – позитронно-эмиссионная компьютерная томография

^{123}I – иод-123

^{123}I PSMA-p-IB – PSMA, который мечен с помощью 4- ^{123}I иодбензоата

^{123}I I-(HE)₃-E01 – DARPin (HE)₃-E01, меченый иодом-123

^{123}I I-(HE)₃-E01-PIB – DARPin (HE)₃-E01, который конъюгирован 4- ^{123}I иодбензоатом

^{123}I I-E01-E₃C-HPEM – DARPin E01-E₃C, который конъюгирован 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимидом

^{123}I I-E01-G₃C-HPEM – DARPin E01-G₃C, который конъюгирован 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимидом

^{123}I I-(HE)₃-G3 – DARPin (HE)₃-G3, меченый иодом-123

^{123}I PSMA-m-IB – PSMA, который метится с помощью 3- ^{123}I иодбензоатом

^{123}I IHPHEM) – 3- ^{123}I иод-((4-гидроксифенил)этил)малеимид

^{123}I SIB) – N-сукцинимидил 4- ^{123}I иодбензоат

MAb – моноклональное антитело

STMSB – N-сукцинимидил-4-(триметилстаннил)бензоат

STBSB – N-сукцинимидил-(трибутилстаннил)бензоат

TBSB – трибутилстаннил)бензоат

HPHEM – ((4-гидроксифенил)этил)малеимид

DCL – N-[N-[(S)-1,3-дикарбоксипропил]карбамоил]-(S)-L-лизин

TY – Target yield или целевой выход

TTY – Tick target yield или толстый целевой выход

HPLC – High-performance liquid chromatography или Высокоэффективная жидкостная хроматография

PXB – радиохимический выход

PXЧ – радиохимическая чистота

NCS – N-хлорсукцинимид

TLC – Thin layer chromatography или Тонкослойная хроматография

TFA – Трифторуксусная кислота

PIB – *p*-иодобензоат

ЯМР – Ядерный магнитный резонанс

HPGe – high-purity germanium или высокочистый германий

EGFR – epidermal growth factor receptor или рецептор эпидермального фактора роста

HER2: Human epidermal growth factor receptor 2 или рецептор эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER-2)

K_D – диссоциация констант

NHS – N-гидроксисукцинимид

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

ДМСО – диметилсульфоксид

DMF– N,N-Диметилформамид

ВР – вспомогательные работы

ТП – технологический процесс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Deyev S. M. Influence of the Position and Composition of Radiometals and Radioiodine Labels on Imaging of Epcam Expression in Prostate Cancer Model Using the DARPin Ec1 / S. M. Deyev, T. Xu, Y. Liu, A. Schulga, E. Konovalova, J. Garousi, S. S. Rinne, S. M. Larkina, H. Ding, T. Gräslund, et al. // *Cancers (Basel)*. – 2021. – V. 13. – P. 1–20.
2. Hasnowo L. A. The Development of Cyclotron-Based Radiopharmaceuticals: A Comprehensive Review of ^{64}Cu and ^{123}I -Radiolabeled Urea-Based Small Molecule PSMA Ligands / L. A. Hasnowo, M. S. Larkina, A. A. Garapatski, M. S. Yusubov // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* – 2023. – V. 332. – P. 3523–3546.
3. Eersels J. L. H. Manufacturing I-123-Labelled Radiopharmaceuticals. Pitfalls and Solutions / J. L. H. Eersels, M. J. Travis, J. D. M. Herscheid // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2005. – V. 48. – P. 241–257.
4. Aerts H. J. W. L. Disparity between in Vivo EGFR Expression and ^{89}Zr -Labeled Cetuximab Uptake Assessed with PET / H. J. W. L. Aerts, L. Dubois, L. Perk, P. Vermaelen, G. A. M. S. Van Dongen, B. G. Wouters, P. Lambin // *J. Nucl. Med.* – 2009. – V. 50. – P. 123–131.
5. Even A. J. G. Quantitative Assessment of Zirconium-89 Labeled Cetuximab Using PET/CT Imaging in Patients with Advanced Head and Neck Cancer: A Theragnostic Approach / A. J. G. Even, O. Hamming-Vrieze, W. van Elmpt, V. J. L. Winnepenninckx, J. Heukelom, M. E. T. Tesselaar, W. V. Vogel, A. Hoeben, C. M. L. Zegers, D. J. Vugts, et al. // *Oncotarget*. 2017. – V. 8. – P. 3870–3880.
6. Huhtala T. In Vivo SPECT/CT Imaging of Human Orthotopic Ovarian Carcinoma Xenografts with ^{111}In -Labeled Monoclonal Antibodies / T. Huhtala, P. Laakkonen, H. Sallinen, S. Ylä-Herttuala, A. Närvänen // *Nucl. Med. Biol.* – 2010. – V. 37. – P. 957–964.
7. Xu T. Feasibility of Co-Targeting HER3 and EpCAM Using Seribantumab and DARPin – Toxin Fusion in a Pancreatic Cancer Xenograft Model / T. Xu, A. Schulga, E. Konovalova, S. S. Rinne, H. Zhang, O. Vorontsova, A. Orlova, S. M. Deyev, V. Tolmachev, A. Vorobyeva // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24. – P. 1–17.

8. Pluëckthun A. Designed Ankyrin Repeat Proteins (DARPins): Binding Proteins for Research Diagnostics , and Therapy / A. Pluëckthun // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2015. – V. 55. – P. 489–511.
9. Barrett J. A. First-in-Man Evaluation of 2 High-Affinity PSMA-Avid Small Molecules for Imaging Prostate Cancer / J. A. Barrett, R. E. Coleman, S. J. Goldsmith, S. Vallabhajosula, N. A. Petry, S. Cho, T. Armor, J. B. Stubbs, K. P. Maresca, M. G. Stabin, et al. // J. Nucl. Med. – 2013. – V. 54. – P. 380–387.
10. Deyev S. M. Effect of a Radiolabel Biochemical Nature on Tumor-Targeting Properties of EpCAM-Binding Engineered Scaffold Protein DARPIn Ec1 / S. M. Deyev, A. Vorobyeva, A. Schulga, A. Abouzayed, T. Günther, J. Garousi, E. Konovalova, H. Ding, T. Gräslund, A. Orlova, et al. // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. – V. 145. – P. 216–225.
11. Tolmachev V. Influence of Labelling Methods on Biodistribution and Imaging Properties of Radiolabelled Peptides for Visualisation of Molecular Therapeutic Targets / V. Tolmachev, A. Orlova // Curr. Med. Chem. – 2010. – V. 17. – P. 2636–2655.
12. Brucer M. Nuclear Medicine Begins with a Boa Constrictor / M. Brucer // J. Nucl. Med. Technol. – 1996. – V. 24. – P. 280–290.
13. Trace M. Batch Isotopic Composition of Mo-100 / M. Trace // Richmond Hill ON: Canada. – 2011.
14. Ziegler J. F. SRIM – The Stopping and Range of Ions in Matter (2010) / J. F. Ziegler, M.D. Ziegler, J. P. Biersack // Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater and Atoms. – 2010. – V. 268. – P. 1818–1823.
15. Usman I. Theoretical Calculations of Excitation Function of Cobalt and Manganese Isotopes Using Empire Nuclear Reaction Code for Medical Applications / Usman, I.; Rufai, U.A.; Muhammad, G. // International Journal of Innovative Science and Research Technology. – 2023. – V. 8. – P. 1722–1726.
16. Amjed N. Evaluation of Nuclear Reaction Cross Sections for Optimization of Production of the Important Non-Standard Positron Emitting Radionuclide ^{89}Zr Using Proton and Deuteron Induced Reactions on ^{89}Y Target / N. Amjed, A. M. Wajid,

- N. Ahmad, M. Ishaq, M. N. Aslam, M. Hussain, S. M. Qaim // *Appl. Radiat. Isot.* – 2020. – V. 165. – P. 109338.
17. Koning A. TALYS: Modeling of Nuclear Reactions / A. Koning, S. Hilaire, S. Goriely // *Eur. Phys. J. A.* – 2023. – V. 59. – P. 1–85.
18. Bojowald J. Elastic Deuteron Scattering and Optical Model Parameters at Energies up to 100 MeV / J. Bojowald, H. Machner, H. Nann, W. Oelert, M. Rogge, P. Turek // *Phys. Rev. C.* – 1988. – V. 38. – P. 1153–1163.
19. Capote R. RIPL - Reference Input Parameter Library for Calculation of Nuclear Reactions and Nuclear Data Evaluations / R. Capote, M. Herman, P. Obložinský, P. G. Young, S. Goriely, T. Belgia, A. V. Ignatyuk, A. J. Koning, S. Hilaire, V. A. Plujko, et al. // *Nucl. Data Sheets.* – 2009. – V. 110. – P. 3107–3214.
20. Khandaker M. U. Investigations of the $^{Nat}\text{Ti}(p,x)^{43,44m,44g,46,47,48}\text{Sc}, ^{48}\text{V}$ Nuclear Processes up to 40 MeV / M. U. Khandaker, K. Kim, M. W. Lee, K. S. Kim, G. N. Kim, Y. S. Cho, Y. O. Lee // *Appl. Radiat. Isot.* – 2009. – V. 67. – P. 1348–1354.
21. Zaneb H. Evaluation of Nuclear Reaction Cross Section Data for the Production of ^{87}Y and ^{88}Y via Proton, Deuteron and Alpha-Particle Induced Transmutations / H. Zaneb, M. Hussain, N. Amjad, S. M. Qaim // *Appl. Radiat. Isot.* – 2016. – V. 112. – P. 69–79.
22. Amjed N. Evaluation of Nuclear Reaction Cross Sections for Optimization of Production of the Emerging Diagnostic Radionuclide ^{55}Co / N. Amjed, M. Hussain, M. N. Aslam, F. Tárkányi, S. M. Qaim // *Appl. Radiat. Isot.* – 2016. – V. 108. – P. 38–48.
23. International Commission on Radiological Protection (ICRP). Radiation Dose to Patients from Radiopharmaceuticals / International Commission on Radiological Protection (ICRP) // Addendum.; Pergamon Press: Oxford. – 1987.
24. Zaitseva N. G. Cross Sections for the 100 MeV Proton-Induced Nuclear Reactions and Yields of Some Radionuclides Used in Nuclear Medicine / N. G. Zaitseva, C. Deptula, O. Knotek, K. S. Khan, S. Mikolaewski, P. Mikec,

- E. Rurarz, V. A. Khalkin, V. A. Konov, L. M. Popinenkova // *Radiochim. Acta.* – 1991. – V. 54. – P. 57–72.
25. National Nuclear Data Center IAEA Nuclear Data Services Available online: <https://www.nndc.bnl.gov/nudat3/> (accessed on 20 May 2024).
26. Hermanne A. Limitation of the Long-Lived ^{121}Te Contaminant in Production of ^{123}I through the $^{124}\text{Xe}(p,x)$ Route / A. Hermanne, F. Tarkanyi, S. Takacs, R. Adam Rebeles, A. Ignatyuk, S. Spellerberg, R. Schweikert // *Appl. Radiat. Isot.* – 2011. – V. 69. – P. 358–368.
27. Scholten B. Excitation Functions of Proton Induced Nuclear Reactions on Natural Tellurium and Enriched ^{123}Te : Production of ^{123}I via the $^{123}\text{Te}(p, n)^{123}\text{I}$ -Process at a Low-Energy Cyclotron / B. Scholten, S. M. Qaim, G. Stöcklin // *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part.* – 1989. – V. 40. – P. 127–132.
28. Silvester D. J. Preparation of Iodine-123 by α -Particle Bombardment of Natural Antimony / D. J. Silvester, J. Sugden, I. A. Walson // *Radiochemical Radioanal. Lett.* – 1969. – V. 2. – P. 17–20.
29. Hassan K.F. Alpha-Particle Induced Reactions on $^{\text{nat}}\text{Sb}$ and ^{121}Sb with Particular Reference to the Production of the Medically Interesting Radionuclide ^{124}I / K. F. Hassan, S. M. Qaim, Z. A. Saleh, H. H. Coenen // *Appl. Radiat. Isot.* – 2006. – V. 64. – P. 101–109.
30. Paans A. M. J. Excitation Function for the Production of via the $^{127}\text{I}(p,5n)^{123}\text{Xe}$ Reaction / A. M. J. Paans, W. Vaalburg, G. van Her, M. G. Woldring // *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* – 1976. – V. 27. – P. 465–467.
31. Dikšić M. A Study of $^{127}\text{I}(p,xn)$ and $^{127}\text{I}(p,pxn)$ Reactions with Special Emphasis on Production of ^{123}Xe / M. Dikšić, L. Yaffe // *J. Inorg. Nucl. Chem.* – 1977. – V. 39. – P. 1299–1302.
32. Kurenkov N. Y. Excitation Functions of Proton-Induced Nuclear Reactions on ^{124}Xe : Production of ^{123}I / N. Y. Kurenkov, A. B. Malinin, A. A. Sebyakin, N. I. Venikov // *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.* – 1989. – V. 135. – P. 39–50.
33. Ключников А. А. Способ получения иода-123 / А. А. Ключников, В. А. Агеев, С. Л. Выречек, И. Др. // А.с. 1510595 SU. МКИ G21G 1/00 Заявл.

34. Балашов К. И. О Возможности получения иода-123 на ускорителе электронов «Факел» / К. И. Балашов, В. С. Зенкевич, Н. В. Куренков // Препринт ИАЭ-6046/14. – М. – 1997.
35. Скуридин В. С. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов: учебное пособие / В. С. Скуридин. // – Томск: Изд-во Томского политехнического университета. – 2012. – С. 43-53.
36. Friedheim S. Verfahren und Vorrichtung zur Erzeugung eines Jodisotopes / S. Friedheim, S. Reiner // Deutsches Patent 2707390 C 2. G21 G1/10 – Anmeld. 21.02.77. Offenleg. 24.08.78.
37. Тихомиров, А.В.; Халкин, В.А. Способ получения радионуклида иод-123. А.с. 1597005 SU. МКИ G21G 1/00. Заявл. 01.02.88. ДСП.
38. Takács S. Excitation Function of $^{122}\text{Te}(d, n)^{123}\text{I}$ Nuclear Reaction: Production of ^{123}I at a Low Energy Cyclotron / S. Takács, A. Azzam, M. Sonck, F. Szelecsényi, Z. Kovács, A. Hermanne, F. Tárkányi // Appl. Radiat. Isot. – 1999. – V. 50. – P. 535–540.
39. Алексеев Ф.Е. Производство ^{123}I с помощью малогабаритного циклотрона и синтез радиофармпрепарата Na^{123}I / Ф. Е. Алексеев, Н. Р. Гребенщиков, Ю. А. Селицкий, и др // РИАН им. В.Г. Хлопина. – М. – 1991.
40. Fonslet J. Dry Distillation of Radioiodine from TeO_2 Targets / J. Fonslet, J. Koziorowski // Appl. Sci. – 2013. – V. 3. – P. 675–683.
41. Skuridin V. S. Thermal Desorption of Iodine-123 from Tellurium-122 Oxide Irradiated by Deuterons / V. S. Skuridin, A. Garapatski, I. Slamkulov, A. Semenov, Y. Ermakova // Adv. Mater. Res. – 2015. – V. 1084. – P. 593–597.
42. Солонкова В.В. Автоматизация измерений для контроля качества производства радиофармацевтических препаратов / В. В. Солонкова // Национальный Исследовательский Томский Политехнический Университет. – 2013.
43. ГОСТ 6616 - 94 Преобразователи термоэлектрические. общие технические условия – М.: ИПК Издательство Стандартов, 1994. – 12с.

44. Coenen H. H. Radioiodination Reactions for Radio Pharmaceuticals / H. H. Coenen, J. Mertens, B. Mazieère, P. Bläuenstein, P. Emond, Y. Frangin, D. Guilloteau, M. Gysemans, M. Holschbach, C. Loc'H, et al. // Springer: Dordrecht, The Netherlands. – 2006. – V. 128.
45. Starovoitova V. N. Production of Medical Radioisotopes with Linear Accelerators / V. N. Starovoitova, L. Tchelidze, D. P. Wells // Appl. Radiat. Isot. – 2014. – V. 85. – P. 39–44.
46. Petrov S. A. Synthesis of Radioiodinated Compounds. Classical Approaches and Achievements of Recent Years / S. A. Petrov, M. S. Yusubov, E. K. Beloglazkina, V. G. Nenajdenko // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – V. 23. – P. 1-41.
47. Dubost E. Recent Advances in Synthetic Methods for Radioiodination / E. Dubost, H. McErlain, V. Babin, A. Sutherland, T. Cailly // J. Org. Chem. – 2020. – V. 85. – P. 8300–8310.
48. Adam M. J. Synthesis of L-6-[¹²³I]Iodo-m-Tyrosine a Potential Spect Brain Imaging Agent / M. J. Adam, Y. Z. Ponce, J. M. Berry // J. Label. Compd. Radiopharm. – 1990. – V. 28. – P. 1065–1072.
49. Vaidyanathan G. No-Carrier-Added Synthesis of Meta-[¹³¹I]Iodobenzylguanidine / G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky // Appl. Radiat. Isot. – 1993. – V. 44. – P. 621–628.
50. Nakagawa C. Synthesis of [¹²³I]-Iodometomidate from a Polymer-Supported Precursor with a Large Excluded Volume / C. Nakagawa, M. Toyama, R. Takeuchi, T. Takahashi, H. Tanaka // RSC Adv. – 2016. – V. 6. – P. 12215–12218.
51. Srivastava P. C. Potential Cerebral Perfusion Agents: Synthesis and Evaluation of a Radioiodinated Vinylalkylbarbituric Acid Analog / P. C. Srivastava, A. P. Callahan, E. B. Cunningham, F. F. Knapp // J. Med. Chem. – 1983. – V. 26. – P. 742–746.
52. Yong L. Syntheses and Characterization of Polymer-Supported Organotrifluoroborates: Applications in Radioiodination Reactions / L. Yong, M. L. Yao, J. F. Green, H. Kelly, G. W. Kabalka // Chem. Commun. – 2010. – V. 46. – P. 2623–2625.

53. Akula M. R. [^{123}I]Iodocognex, a Potent Spect Agent to Map Acetylcholinesterase Via a Boronic Acid Precursor / M. R. Akula, J. H. Zhang, G. W. Kabalka // *J. Label. Compd. Radiopharm.* – 2001. – V. 44. – P. S260–S261.
54. Molloy J. J. Mechanism of Cu-Catalyzed Aryl Boronic Acid Halodeboronation Using Electrophilic Halogen: Development of a Base-Catalyzed Iododeboronation for Radiolabeling Applications / J. J. Molloy, K. M. O'rourke, C. P. Frias, N. L. Sloan, M. J. West, S. L. Pimlott, A. Sutherland, A. J. B. Watson // *Org. Lett.* – 2019. V. – 21. – P. 2488–2492.
55. Akula M. R. Triolborates: Water-Soluble Complexes of Arylboronic Acids as Precursors to Iodoarenes / M. R. Akula, M. L. Yao, G. W. Kabalka // *Tetrahedron Lett.* – 2010. – V. 51. – P. 1170–1171.
56. Wafelman A. R. Synthesis, Radiolabelling and Stability of Radioiodinated m-Iodobenzylguanidine, a Review / A. R. Wafelman, M. C. P. Konings, C. A. Hoefnagel, R. A. A. Maes, J. H. Beijnen // *Appl. Radiat. Isot.* – 1994. – V. 45– P. 997–1007.
57. Chattopadhyay S. Stabilisation of [^{131}I]Meta-Iodobenzylguanidine at Room Temperature as Organic Extract in Ethyl Acetate/Chloroform / S. Chattopadhyay, M. K. Das, B. R. Sarkar, G. Prabhakar, K. S. Mehra, N. Ramamoorthy // *Appl. Radiat. Isot.* – 2001. – V. 54. – P. 241–244.
58. Kuge Y. Synthesis and Evaluation of Radioiodinated Cyclooxygenase-2 Inhibitors as Potential SPECT Tracers for Cyclooxygenase-2 Expression / Y. Kuge, Y. Katada, S. Shimonaka, T. Temma; H. Kimura, Y. Kiyono, C. Yokota, K. Minematsu, K. I. Seki, N. Tamaki, et al. // *Nucl. Med. Biol.* – 2006. – V. 33. – P. 21–27.
59. Kiyono Y. Evaluation of Radioiodinated (2S,AS)-2-(α -(2-Iodophenoxy)Benzyl)Morpholine as a Radioligand for Imaging of Norepinephrine Transporter in the Heart / Y. Kiyono, T. Sugita, M. Ueda, H. Kawashima, N. Kanegawa, Y. Kuge, Y. Fujibayashi, H. Saji // *Nucl. Med. Biol.* – 2008. – V. 35. – P. 213–218.

60. Eersels J. L. H. Optimization of the Labeling Yield by Determination of the Cu^+ -Acetonitrile Complex Constant in Cu^+ -Catalyzed Nucleophilic Exchange Reactions in Mixed Solvent Conditions / J. L. H. Eersels, J. Mertens, J. D. M. Herscheid // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* – 2011. – V. 288. – P. 291–296.
61. Eersels J. L. H. The Cu^+ -Assisted Radioiodination Kit: Mechanistic Study of Unexplored Parameters Concerning the Acidity and Redox Properties of the Reaction Medium / J. L. H. Eersels, J. Mertens, J. D. M. Herscheid // *Appl. Radiat. Isot.* – 2010. – V. 68. – P. 309–313.
62. Foster N. I. A Condition Variation Study for Radioiodination via Triazene Intermediates / N. I. Foster, R. Dannals, H. D. Burns, N. D. Heinde // *J. Radioanal. Chem.* – 1981. – V. 65. – P. 95–105.
63. Yang Z. Crystallization Behavior of Poly(ϵ -Caprolactone)/Layered Double Hydroxide Nanocomposites / Z. Yang, H. Peng, W. Wang, T. Liu // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2010. – V. 116. – P. 2658–2667.
64. Navarro L. Prosthetic Groups for Radioiodination and Astatination of Peptides and Proteins: A Comparative Study of Five Potential Bioorthogonal Labeling Strategies / L. Navarro, M. Berdal, M. Chérel, F. Pecorari, J. F. Gestin, F. Guérard // *Bioorganic Med. Chem.* – 2019. – V. 27. – P. 167–174.
65. Rajerison H. Ionic Liquid Supported Organotin Reagents to Prepare Molecular Imaging and Therapy Agents / H. Rajerison, D. Faye, A. Roumesy, N. Louaisil, F. Boeda, A. Faivre-Chauvet, J. F. Gestin, S. Legoupy // *Org. Biomol. Chem.* – 2016. – V. 14. – P. 2121–2126.
66. Alastair A. C. Nickel-Mediated Radioiodination of Aryl and Heteroaryl Bromides: Rapid Synthesis of Tracers for SPECT Imaging / A. C. Alastair, S. Champion, R. Bhalla, S. L. Pimlott, A. Sutherland // *Angew. Chemie Int. Ed.* – 2013. – V. 52. – P. 7829–7832.
67. Wilson T. C. Radiosynthesis of SPECT Tracers: Via a Copper Mediated ^{123}I Iodination of (Hetero)Aryl Boron Reagents / T. C. Wilson, G. McSweeney, S. Preshlock, S. Verhoog, M. Tredwell, T. Cailly, V. Gouverneur // *Chem. Commun.* – 2016. – V. 52. – P. 13277–13280.

68. Zhang P. A Highly Efficient Copper-Mediated Radioiodination Approach Using Aryl Boronic Acids / P. Zhang, R. Zhuang, Z. Guo, X. Su, X. Chen, X. Zhang // *Chem. – A Eur. J.* – 2016. – V. 22. – P. 16693–17046.
69. Reilly S.W. Rapid Cu-Catalyzed [^{211}At] Astatination and [^{125}I]Iodination of Boronic Esters at Room Temperature / S. W. Reilly, M. Makvandi, K. Xu, R. H. Mach // *Org. Lett.* – 2018. – V. 20. – P. 1752–1755.
70. Webster S. Rapid Iododeboronation with and without Gold Catalysis: Application to Radiolabelling of Arenes / S. Webster, K. M. O'Rourke, C. Fletcher, S. L. Pimlott, A. Sutherland, A. L. Lee // *Chem. - A Eur. J.* – 2018. – V. 24. – P. 937–943.
71. Dubost E. Palladium-Mediated Site-Selective C-H Radio-Iodination / E. Dubost, V. Babin, F. Benoist, A. Hébert, P. Barbey, C. Chollet, J. P. Bouillon, A. Manrique, G. Pieters, F. Fabis, et al. // *Org. Lett.* – 2018. – V. 20. – P. 6302–6305.
72. Dubost E. Improvements of C-H Radio-Iodination of N-Acylsulfonamides toward Implementation in Clinics / E. Dubost, V. Babin, F. Benoist, A. Hébert, G. Pigrée, J. P. Bouillon, F. Fabis, T. Cailly // *Synth.* – 2019. – V. 51. – P. 4393–4400.
73. Yan R. A One-Pot Three-Component Radiochemical Reaction for Rapid Assembly of ^{125}I -Labeled Molecular Probes / R. Yan, K. Sander, E. Galante, V. Rajkumar, A. Badar, M. Robson, E. El-Emir, M. F. Lythgoe, R. B. Pedley, E. Årstad // *J. Am. Chem. Soc.* – 2013. – V. 135. – P. 703–709.
74. Wilbur D. S. Radiohalogenation of Proteins: An Overview of Radionuclides, Labeling Methods, and Reagents for Conjugate Labeling / D. S. Wilbur // *Bioconjugate Chemistry.* – 1992. – V. 3. – P. 433–470.
75. Oliveira M. C. Biomedical Applications of Radioiodinated Peptides / M. C. Oliveira, J. D. G. Correia // *Eur. J. Med. Chem.* – 2019. – V. 179. – P. 56–77.
76. Cavina L. Design of Radioiodinated Pharmaceuticals: Structural Features Affecting Metabolic Stability towards in Vivo Deiodination / L. Cavina, D. van der Born, P. H. M. Klaren, M. C. Feiters, O. C. Boerman, F. P. J. T. Rutjes // *European J. Org. Chem.* – 2017. – V. 2. – P. 3387–3414.

77. Bolton A. E. The Labelling of Proteins to High Specific Radioactivities by Conjugation to a ^{125}I Containing Acylating Agent. Application to the Radioimmunoassay / A. E. Bolton, W. M. Hunter // *Biochem. J.* – 1973. – V. 133. – P. 529–538.
78. Russell J. Iodination of Annexin V for Imaging Apoptosis / J. Russell, J. A. O'Donoghue, R. Finn, J. Kozirowski, S. Ruan, J. L. Humm, C. C. Ling // *J. Nucl. Med.* – 2002. – V. 43. – P. 671–677.
79. Zalutsky M. R. Enhanced Tumor Localization and in Vivo Stability of a Monoclonal Antibody Radioiodinated Using N-Succinimidyl 3-(Tri-n-Butylstannyl)Benzoate / M. R. Zalutsky, M. A. Noska, P. K. Garg, E. V. Colapinto, D. D. Bigner // *Cancer Res.* – 1989. – V. 49. – P. 5543–5549.
80. Garg S. N-Succinimidyl 5-(Trialkylstannyl)-3-Pyridinecarboxylates: A New Class of Reagents for Protein Radioiodination / S. Garg, P. K. Garg, M. R. Zalutsky // *Bioconjug. Chem.* – 1991. – V. 2. – P. 50–56.
81. Vaidyanathan G. Radioiodination of Antibodies via N-Succinimidyl 2,4-Dimethoxy-3-(Trialkylstannyl)Benzoates / G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky // *Bioconjug. Chem.* – 1990. – V. 1. – P. 387–393.
82. Chen Y. Radiohalogenated Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Based Ureas as Imaging Agents for Prostate Cancer / Y. Chen, C. A. Foss, Y. Byun, S. Nimmagadda, M. Pullambhatla, J. J. Fox, M. Castanares, S. E. Lupold, J. W. Babich, R. C. Mease, et al. // *J. Med. Chem.* – 2008. – V. 51. – P. 7933–7943.
83. Kiess A. P. Auger Radiopharmaceutical Therapy Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen / A. P. Kiess, I. Minn, Y. Chen, R. Hobbs, G. Sgouros, C. Ronnie, M. Pullambhatla, C. J. Shen, C. A. Foss, G. Martin // *J. Nucl. Med.* – V. 2015. – P. 56. – V. 1401–1407.
84. Wilbur S. D. Development of a Stable Radioiodinating Reagent to Label Monoclonal Antibodies for Radiotherapy of Cancer / S. D. Wilbur, S. W. Hadley, M. D.; Hylarides, P. G. Abrams, P. A. Beaumier, A. C. Morgan, J. M. Reno, A. R. Fritzberg // *J. Nucl. Med.* – 1989. – V. 30. – P. 216–226.

85. Maresca K. P. A Series of Halogenated Heterodimeric Inhibitors of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) as Radiolabeled Probes for Targeting Prostate Cancer / K. P. Maresca, S. M. Hillier, F. J. Femia, D. Keith, C. Barone, J. L. Joyal, C. N. Zimmerman, A. P. Kozikowski, J. A. Barrett, W. C. Eckelman, J. W. Babich // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2009. – V. 52. – P. 347-357.
86. Hillier S. M. Preclinical Evaluation of Novel Glutamate-Urea-Lysine Analogues That Target Prostate-Specific Membrane Antigen as Molecular Imaging Pharmaceuticals for Prostate Cancer / S. M. Hillier, K. P. Maresca, F. J. Femia, J. C. Marquis, C. A. Foss, N. Nguyen, C. N. Zimmerman, J. A. Barrett, W. C. Eckelman, M. G. Pomper, et al. // *Cancer Res.* – 2009. – V. 69. – P. 6932–6940.
87. Hillier S. M. ^{123}I -MIP-1072, a Small-Molecule Inhibitor of Prostate-Specific Membrane Antigen, is Effective at Monitoring Tumor Response to Taxane Therapy / S. M. Hillier, A. M. Kern, K. P. Maresca, J. C. Marquis, W. C. Eckelman, J. L. Joyal, J. W. Babich // *J. Nucl. Med.* – 2011. – V. 52. – P. 1087–1093.
88. Khawli L. A. N-(m-[^{125}I]iodophenyl)Maleimide: An Agent for High Yield Radiolabeling of Antibodies / L. A. Khawli, D. A. Annick, V. D. Abeelee, A. I. Kassis // *Int. J. Radiat. Appl. instrumentation. Part B; Nucl. Med. Biol.* – 1992. – V. 19. – P. 289–295.
89. Vaidyanathan G. Synthesis of N-Succinimidyl 4-Guanidinomethyl-3-[$^{*}\text{I}$]iodobenzoate: A Radio-Iodination Agent for Labeling Internalizing Proteins and Peptides / G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky // *Nat. Protoc.* – 2007. – V. 2. – P. 282–286.
90. Jin W. Discovery of PSMA-Specific Peptide Ligands for Targeted Drug Delivery / W. Jin, B. Qin, Z. Chen, H. Liu, A. Barve, K. Cheng // *Int. J. Pharm.* – 2016. – V. 513. – P. 138–147.
91. Zyk N. Y. Synthesis and Initial in Vitro Evaluation of PSMA-Targeting Ligands with a Modified Aromatic Moiety at the Lysine ϵ -Nitrogen Atom / N. Y. Zyk, A. P. Ber, E. A. Nimenko, R. R. Shafikov, S. A. Evteev, S. A. Petrov,

- A. A. Uspenskaya, N. S. Dashkova, Y. A. Ivanenkov, D. A. Skvortsov, et al. // *Bioorganic Med. Chem. Lett.* – 2022. – V. 71. – P. 128840.
92. Debnath S. PSMA-Targeting Imaging and Theranostic Agents—Current Status and Future Perspective / S. Debnath, N. Zhou, M. McLaughlin, S. Rice, A. K. Pillai, G. Hao, X. Sun // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – V. 23. – P. 1-19.
93. Hasnowo L. A. Synthesis, ^{123}I -Radiolabeling Optimization, and Initial Preclinical Evaluation of Novel Urea-Based PSMA Inhibitors with a Tributylstannyl Prosthetic Group in Their Structures / L. A. Hasnowo, M. S. Larkina, E. Plotnikov, V. Bodenko, F. Yuldasheva, E. Stasyuk, S. A. Petrov, N. Y. Zyk, A. E. Machulkin, N. I. Vorozhtsov, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24. – P. 1-30.
94. Dos Santos J.C. Development of Novel PSMA Ligands for Imaging and Therapy with Copper Isotopes / J. C. dos Santos, B. Beijer, U. Bauder-Wüst, M. Schäfer, K. Leotta, M. Eder, M. Benešová, C. Kleist, F. Giesel, C. Kratochwil, et al. // *J. Nucl. Med.* – 2019. – V. 61. – P. 70–79.
95. Zyk N. Y. Synthesis and Initial in Vitro Evaluation of PSMA-Targeting Ligands with a Modified Aromatic Moiety at the Lysine ϵ -Nitrogen Atom / N. Y. Zyk, A. P. Ber, E. A. Nimenko, R. R. Shafikov, S. A. Evteev, S. A. Petrov, A. A. Uspenskaya, N. S. Dashkova, Y. A. Ivanenkov, D. A. Skvortsov, et al. // *Bioorganic Med. Chem. Lett.* – 2022. – V. 71. P. 128840.
96. Kozikowski A. P. Design of Remarkably Simple, Yet Potent Urea-Based Inhibitors of Glutamate Carboxypeptidase II (NAALADase) / A. P. Kozikowski, F. Nan, P. Conti, J. Zhang, E. Ramadan, T. Bzdega, B. Wroblewska, J. H. Neale, // *J. Med. Chem.* – 2001. – V. 44. – P. 298–301.
97. Maresca K. P. A Series of Halogenated Heterodimeric Inhibitors of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) as Radiolabeled Probes for Targeting Prostate Cancer / K. P. Maresca, S. M. Hillier, F. J. Femia, D. Keith, C. Barone, J. L. Joyal, C. N. Zimmerman, A. P. Kozikowski, J. A. Barrett, W. C. Eckelman, et al. // *J. Med. Chem.* – 2009. – V. 52. – P. 347–357.
98. Wilbur D. S. Reagents for Astatination of Biomolecules. 2. Conjugation of Anionic Boron Cage Pendant Groups to a Protein Provides a Method for Direct

- Labeling That Is Stable to in Vivo Deastatination / D. S. Wilbur, M. K. Chyan, D. K. Hamlin, R. L. Vessella, T. J. Wedge, M. F. Hawthorne // *Bioconjug. Chem.* – 2007. – V. 18. – P. 1226–1240.
99. McBride B. J. A Simple Method for the Preparation of ^{123}I and ^{125}I Labeled Iodobenzodiazepines / B. J. McBride, R. M. Baldwin, J. M. Kerr, J. L. Wu // *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part.* – 1991. – V. 42. – P. 173–175.
100. Kuo H. T. Effects of Linker Modification on Tumor-to-Kidney Contrast of ^{68}Ga -Labeled PSMA-Targeted Imaging Probes / H. T. Kuo, J. Pan, Z. Zhang, J. Lau, H. Merkens, C. Zhang, N. Colpo, K. S. Lin, F. Bénard // *Mol. Pharm.* – 2018. – V. 15. – P. 3502–3511.
101. Uspenskaya A. A. Influence of the Dipeptide Linker Configuration on the Activity of PSMA Ligands / A. A. Uspenskaya, A. E. Machulkin, E. A. Nimenko, R. R. Shafikov, S. A. Petrov, D. A. Skvortsov, E. K. Beloglazkina, A. G. Majouga // *Mendeleev Commun.* – 2020. – V. 30. – P. 756–759.
102. Rikimaru K. Amplification and Overexpression of Epidermal Growth Factor Receptor in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck / K. Rikimaru, K. Tadokoro, T. Yamamoto, S. Enomoto, N. G. Tsuchida // *Head Neck.* – 1992. – V. 14. – P. 8–13.
103. Santini, J. Characterization, Quantification, and Potential Clinical Value of the Epidermal Growth Factor Receptor in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas / J. Santini, J. L. Formento, M. Francoual, G. Milano, M. Schneider, O. Dassonville, F. Demard // *Head Neck.* – 1991. – V. 13. – P. 132–139.
104. Psyrrri A. Effect of Epidermal Growth Factor Receptor Expression Level on Survival in Patients with Epithelial Ovarian Cancer / A. Psyrrri, M. Kassir, Z. Yu, A. Bamias, P. M. Weinberger, S. Markakis, D. Kowalski, R. L. Camp, D. L. Rimm, M. A. Dimopoulos // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – V. 11. – P. 8637–8643.
105. Sauter G. Epidermal-growth-factor-receptor Expression Is Associated with Rapid Tumor Proliferation in Bladder Cancer / G. Sauter, J. Haley, K. Chew, R. Kerschmann, D. Moore, P. Carroll, H. Moch, F. Gudat, M. J. Mihatsch, F. Waldman // *Int. J. Cancer.* – 1994. – V. 57. – P. 508–514.

106. Gårdmark T. Analysis of HER2 Expression in Primary Urinary Bladder Carcinoma and Corresponding Metastases / T. Gårdmark, K. Wester, M. De La Torre, J. Carlsson, P. U. Malmström // *BJU Int.* – 2005. – V. 95. – P. 982–986.
107. Friedman M. Directed Evolution to Low Nanomolar Affinity of a Tumor-Targeting Epidermal Growth Factor Receptor-Binding Affibody Molecule / M. Friedman, A. Orlova, E. Johansson, T. L. J. Eriksson, I. Höidén-Guthenberg, V. Tolmachev, F. Y. Nilsson, S. Ståhl // *J. Mol. Biol.* – 2008. – V. 376. – P. 1388–1402.
108. Deyev S. Comparative Evaluation of Two DARPin Variants: Effect of Affinity, Size, and Label on Tumor Targeting Properties / S. Deyev, A. Vorobyeva, A. Schulga, G. Proshkina, R. Güler, J. Löfblom, B. Mitran, J. Garousi, M. Altai, J. Buijs, et al. // *Mol. Pharm.* – 2019. – V. 16. – P. 995–1008.
109. Vorobyeva A. Optimal Composition and Position of Histidine-Containing Tags Improves Biodistribution of ^{99m}Tc-Labeled DARPin G3 / A. Vorobyeva, A. Schulga, E. Konovalova, R. Güler, J. Löfblom, M. Sandström, J. Garousi, V. Chernov, O. Bragina, A. Orlova, et al. // *Sci. Rep.* – 2019. – V. 9. – P. 1–11.
110. Vorobyeva A. Indirect Radioiodination of Darpin G3 Using N-Succinimidyl-Para-Iodobenzoate Improves the Contrast of Her2 Molecular Imaging / A. Vorobyeva, A. Schulga, S. S. Rinne, T. Günther, A. Orlova, S. Deyev, V. Tolmachev // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – V. 20. – P. 1–15.
111. Vorobyeva A. Comparison of Tumor - Targeting Properties of Directly and Indirectly Radioiodinated Designed Ankyrin Repeat Protein (DARPin) G3 Variants for Molecular Imaging of HER2 / A. Vorobyeva, A. Schulga, E. Konovalova, R. Güler, B. Mitran, J. Garousi, S. Rinne, J. Löfblom, A. Orlova, S. Deyev, et al. // *Int. J. Oncol.* – 2019. – V. – P. 1–12.
112. Tolmachev V. Comparative Biodistribution of Potential Anti-Glioblastoma Conjugates [¹¹¹In]DTPA-HEGF and [¹¹¹In]Bz-DTPA-HEGF in Normal Mice. *Cancer Biother* / V. Tolmachev, A. Orlova, Q. Wei, A. Bruskin, J. Carlsson, L. Gedda // *Radiopharm.* – 2004. – V. 19. – P. 491–501.

113. Orlova A. On Then Selection of a Tracer for PET Imaging of HER2-Expressing Tumors: Direct Comparison of ^{124}I -Labeled Affibody Molecule and Trastuzumab in a Murine Xenograft Model / A. Orlova, H. Wållberg, S. Stone-Elander, V. Tolmachev // *J. Nucl. Med.* – 2009. – V. 50. – P. 417–425.
114. Vorobyeva A. Feasibility of Imaging Epcam Expression in Ovarian Cancer Using Radiolabeled Darpin Ec1 / A. Vorobyeva, E. Konovalova, T. Xu, A. Schulga, M. Altai, J. Garousi, S. S. Rinne, A. Orlova, V. Tolmachev, S. Deyev // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – V. 21. – № 9. – P. 3310.
115. Tolmachev V. Direct In Vivo Comparison of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Labeled Scaffold Proteins, DARPin G3 and ADAPT6, for Visualization of HER2 Expression and Monitoring of Early Response for Trastuzumab Therapy / V. Tolmachev, V. Bodenko, M. Oroujeni, S. Deyev, E. Konovalova, A. Schulga, S. Lindbo, S. Hober, O. Bragina, A. Orlova, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – V. 23. – № 23. – P. 15181.
116. Li B. T. Trastuzumab Deruxtecan in HER2 -Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer / B. T. Li, E. F. Smit, Y. Goto, K. Nakagawa, H. Udagawa, J. Mazières, M. Nagasaka, L. Bazhenova, A. N. Saltos, E. Felip, et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2022. – V. 386. – P. 241–251.
117. Lorusso D. Patient-Reported Outcomes and Final Overall Survival Results from the Randomized Phase 3 PENELOPE Trial Evaluating Pertuzumab in Low Tumor Human Epidermal Growth Factor Receptor 3 (HER3) MRNA-Expressing Platinum-Resistant Ovarian Cancer / D. Lorusso, F. Hilpert, A. González Martin, J. Rau, P. Ottevanger, E. Greimel, H. J. Lück, F. Selle, N. Colombo, J. R. Kroep, et al. // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2019. – V. 29. – P. 1141–1147.
118. Боденко, В.В.; Белоусов, М.В. Разработка метода введения метки иода-123 в молекулу DARPin(HE)3-Ec1 прямым способом. Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического униве; Изд-во ТПУ: Томск, 2021; P. 344–345.

119. Goldstein, R. Development of the Designed Ankyrin Repeat Protein (DARPin) G3 for HER2 Molecular Imaging / R. Goldstein, J. Sosabowski, M. Livanos, J. Leyton, K. Vigor, G. Bhavsar, G. Rashid, M. Nagy-Davidescu, E. Miranda, J. Yeung, et al. // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. – 2015. – V. 42. – P. 288–301.
120. Presser A. Synthesis of Jacaranone-Derived Nitrogenous Cyclohexadienones and Their Antiproliferative and Antiprotozoal Activities / A. Presser, G. Lainer, N. Kretschmer, W. Schuehly, R. Saf, M. Kaiser, M. M. Kalt // *Molecules*. – 2018. – V. 23. – P. 4–10.
121. Oroujeni M. Evaluation of Tumor-Targeting Properties of an Antagonistic Bombesin Analogue RM26 Conjugated with a Non-Residualizing Radioiodine Label Comparison with a Radiometal-Labelled Counterpart / M. Oroujeni, A. Abouzayed, F. Lundmark, B. Mitran, A. Orlova, V. Tolmachev, U. Rosenström // *Pharmaceutics*. 2019. – V. 11. – № 8. – P. 380.
122. Velikyan I. Preparation and Evaluation of ^{68}Ga -DOTA-HEGF for Visualization of EGFR Expression in Malignant Tumors / I. Velikyan, Å. L. Sundberg, O. Lindhe, U. Hoglund, O. Eriksson, E. Werner, J. Carlsson, M. Bergstrom, B. Långstrom, V. Tolmachev // *J. Nucl. Med.* – 2005. – V. 46. – P. 1881–1888.
123. Jörg G. Transient Radioactive Equilibrium of $^{121\text{m}}\text{Te}$ and ^{121}Te and Determination of Their Half-Lives / G. Jörg // *Appl. Radiat. Isot.* – 2019. – V. 148. – P. 262–269.
124. Zaidi J. H. Excitation Functions of Deuteron Induced Nuclear Reactions on Natural Tellurium and Enriched ^{122}Te : Production of ^{123}I via the $^{122}\text{Te}(\text{d},\text{n})^{123}\text{I}$ -Process / J. H. Zaidi, S. M. Qaim, G. Stöcklin // *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* – 1983. – V. 34. – P. 1425–1430.
125. Petrov S. A. Polypeptide-Based Molecular Platform and Its Docetaxel/Sulfo-Cy5-Containing Conjugate for Targeted Delivery to Prostate Specific Membrane Antigen / S. A. Petrov, A. E. Machulkin, A. A. Uspenskaya, N. Y. Zyk, E. A. Nimenko, A. S. Garanina, R. A. Petrov, V. I. Polshakov, Y. K. Grishin, V. A. Roznyatovsky, et al. // *Molecules*. – 2020. – V. 25. – P. 1–21.

126. Bollhagen R. A New Reagent for the Cleavage of Fully Protected Peptides synthesised on 2-Chlorotrityl Chloride Resin / R. Bollhagen, M. Schmiedberger, K. Barlos, E. Grell // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* – 1994. – P. 2559–2560.
127. Behrendt R. Advances in Fmoc Solid-phase Peptide Synthesis / R. Behrendt, P. White, J. Offer // *J. Phys. Chem. C.* – 2015. – V. 22. – P. 4–27.
128. Koziorowski J. A New Convenient Route to Radioiodinated N-Succinimidyl 3- and 4- Iodobenzoate, Two Reagents for Radioiodination of Proteins / J. Koziorowski, C. Henssen, R. Weinreich, // *Appl. Radiat. Isot.* – 1998. – V. 49. – P. 955–959.

Приложение А

Копия патента № 2815777



Авторы: *Толмачев Владимир Максимилианович (RU), Ларькина Мария Сергеевна (RU), Плотников Евгений Владимирович (RU), Воробьева Анжелика Григорьевна (SE), Орлова Анна Марковна (RU), Белоусов Михаил Валерьевич (RU), Деев Сергей Михайлович (RU), Шульга Алексей Анатольевич (RU), Коновалова Елена Валерьевна (RU), Чернов Владимир Иванович (RU), Юсубов Мехман Сулейман оглы (RU), Зельчан Роман Владимирович (RU), Брагина Ольга Дмитриевна (RU), Хасново Лютфи Адитья (ID), Варвашеня Руслан Николаевич (RU)*

Приложение Б

Справка об использовании в практике результатов

УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора НИИ онкологии Томского
НИМЦ, академик РАН



Е.Л.Чойнзонов

27 ноября 2024 года.

Справка

об использовании в практике НИИ онкологии Томского НИМЦ
результатов диссертационной работы Лютфи Адитья Хасново

«Разработка способов радиоiodирования таргетных молекул для производства иод-123
содержащих радиофармацевтических лекарственных препаратов для медицинской
диагностики»

1. Наименование учреждения, где используются результаты работы: НИИ онкологии Томского НИМЦ
2. Наименование и сущность используемых результатов работы: Способ получения экспериментального препарата на основе меченных иодом-123 рекомбинантных адресных молекул белковой природы с анкириновыми повторами DARPin G3 для визуализации рака с гиперэкспрессией HER2/neu у больных с раком молочной железы. Принципиальная схема получения экспериментального препарата на основе меченных иодом-123 рекомбинантных адресных молекул белковой природы с анкириновыми повторами DARPin G3. Методика для оценки радиохимической чистоты экспериментального препарата меченного иодом-123 DARPin G3 методом тонкослойной радиохроматографии.
3. Форма использования: для проведения пилотных клинических исследований экспериментального препарата ^{123}I -DARPin G3, полученного по изобретенному способу, для визуализации рака молочной железы с гиперэкспрессией HER2/neu (ClinicalTrials.gov ID: NCT05923177, 2023, <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05923177?term=DARPin%20G3&rank=4>).
4. Использование проводилось с 2023 г.
5. Ответственный за использование и исполнитель: Хасново Л.А.
6. Эффективность от использования: радиохимический выход при получении экспериментального препарата ^{123}I -DARPin G3 свыше 94% и радиохимическая чистота – свыше 98%. Методика для оценки радиохимической чистоты экспериментального препарата меченного иодом-123 DARPin G3 методом тонкослойной радиохроматографии экспрессная, специфичная и воспроизводимая.
7. Предложения, замечания учреждения, осуществляющего использование результатов работы: с применением способа получения экспериментального препарата ^{123}I -DARPin G3 появилась возможность провести клиническую апробацию экспериментального препарата. Методика анализа чистоты ^{123}I -DARPin G3 увеличила эффективность оценки качества препарата.

Подписи ответственного за использование:

Лютфи Адитья Хасново

Председатель комиссии

Чернов В.И.

Члены комиссии

Зельчан Р.В.

Рыбина А.Н.

Приложение В

Дополнительная информация

1. Модернизация установки сухой дистилляции

Модернизация приборно-технологического оборудования заключается в реализации интерактивного взаимодействия между устройствами автоматического регулирования температуры печи и измерения активности в приёмном растворе с радиоизотопом. Для регулирования и контроля температуры применяют контроллер МЕТАКОН-613. Активность измеряют с помощью детектора ФЭУ R7400 и платы сбора данных MSC1210-DAQ-EVM. Для обмена данными используют сервер Object Linking and Embedding (OLE) for Process Control (OPC). В качестве программной среды для разработки OPC-клиентов этих приборов используется программа LabView, где проводят мониторинг процесса сухой дисстиляции.

1.1. Канал управления и обмена данными с контроллером МЕТАКОН

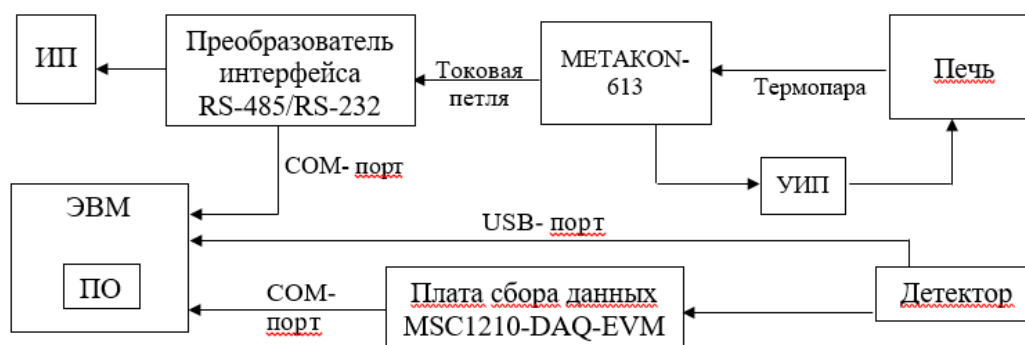
Задача управления и обмена данными с регулятором МЕТАКОН решается с помощью стандарта OPC. Стандарт OPC позволяет провести разделительную линию между задачами создания нового оборудования и задачами создания программного обеспечения для отображения данных и управления этим оборудованием через компьютер. OPC-сервер - это универсальный драйвер для связи с устройствами, который предоставляет широкие возможности для интеграции с любым программным пакетом, поддерживающим OPC.

1.2. Построение локальных систем на основе регуляторов МЕТАКОН

Задача управления и отображения данных с контроллера МЕТАКОН решается в рамках архитектуры клиент-сервер. Развертывание системы на одной локальной рабочей станции решается путем выполнения нескольких последовательных шагов:

- подключение устройства к компьютеру;
- установка программного обеспечения: OPC-сервер метакон и клиентская программа;
- конфигурирование МЕТАКОН;
- настройка OPC-клиента и запуск OPC-клиента, мониторинг и управление технологическим процессом с его помощью.

Конфигурация МЕТАКОН-613 с компьютером показана на рисунке Д1. Первым шагом для запуска OPC-сервера был выбор COM-порта, который будет использоваться для обмена данными. Затем из списка существующих устройств был выбран МЕТАКОН-613 и добавлен к используемым устройствам. После этого OPC-сервер был сохранен и закрыт. На рисунке Д2 показана конфигурация МЕТАКОН с OPC-сервером.



УИП – управляющий источник питания;

ИП – источник питания;

ПО – программное обеспечение

Рисунок Д1 - Блок-схема подключения устройств к компьютеру

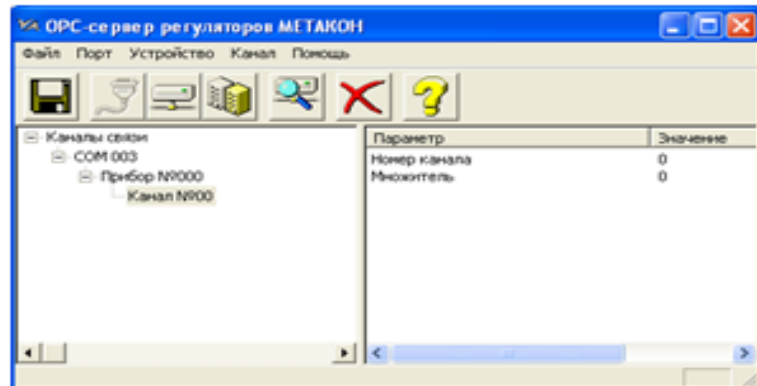
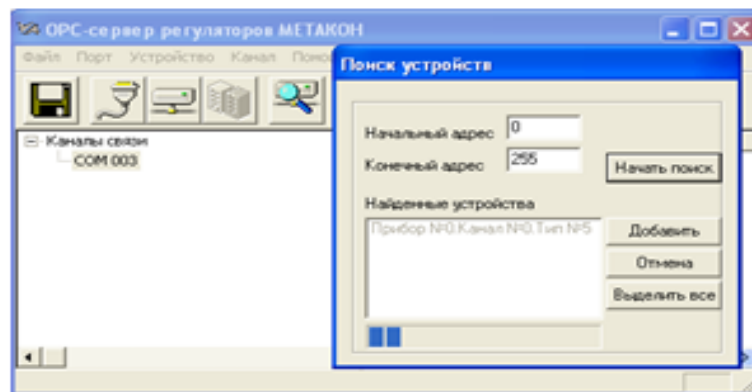
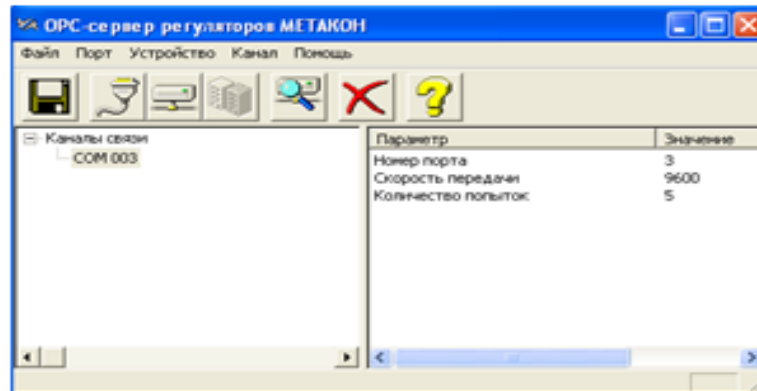


Рисунок Д2. Конфигурирование МЕТАКОН с OPC-сервером

1.3. Разработка OPC-клиента в LabVIEW

В качестве программной среды для разработки OPC-клиента была выбрана LabVIEW. Важнейшим критерием выбора LabVIEW стало наличие функций, обеспечивающих решение различных типов задач, необходимых для автоматизации технологического процесса производства, а также графический язык программирования и дизайн передней панели.

Для создания OPC-клиента необходимо определить задачи, которые будет решать эта программа:

- формирование запроса к выбранному OPC-серверу;
- управление настройками регулятора с компьютера;
- отображение результатов измерений;
- запись результатов измерений.

1.4. Доступ OPC-клиента к выбранному OPC-серверу

LabVIEW имеет специальные инструменты для работы с OPC-серверами, основанные на технологии DataSocket. Эти инструменты используются при необходимости обмена данными между несколькими программами по сети, то есть предоставляют возможность публикации (записи) и подписки (чтения) на данные, отформатированные LabVIEW. Одним из ключевых компонентов DataSocket является сервер DataSocket, и клиентской программе не нужно управлять соединениями или следить за скоростью выполнения. Сервер DataSocket - это отдельная программа, которая запускается на компьютере и управляет клиентскими соединениями. Клиентские соединения могут записывать данные на сервер или считывать их из любого источника. Сервер DataSocket автоматически управляет сетевыми соединениями и передачей пакетов данных. Таким образом, эти инструменты позволяют клиентской программе обращаться к OPC-серверу и получать через него необходимые данные. С помощью DataSocket формируется URL, в соответствии с которым открывается окно для подключения к OPC-серверу. В этом окне необходимо выбрать имя тега. Приходилось одновременно считывать или записывать несколько параметров, что делало повторный выбор тегов неудобным, тогда для DataSocket были сформированы константы с полными URL-адресами, и сервер обращался к ним автоматически.

URL был сформирован следующим образом: `opc://название_opc-сервера.COM-порт.Прибор№.Канал№.Название_тега`. URL-адрес для чтения

данных о температуре из МЕТАКОН:
 opc://localhost/Krug.OPCMetakonSrv/COM2.Прибор№0.Канал№0.Измерение.
 Возможные значения параметров для контроллера МЕТАКОН-613,
 предоставляемые сервером OPC, приведены в таблице 1.

Таблица 1. Возможные значения параметров для контроллера МЕТАКОН-613

Имя параметра	Имя тега OPC-сервера	Тип доступа
Результат измерения	Измерение	Чтение
Уставка ПИД регулятора	Уставка ПИД	Чтение/Запись
Зона пропорциональности	Зона пропорциональности	Чтение/Запись
Постоянная интегрирования	Постоянная инт	Чтение/Запись
Постоянная дифференцирования	Постоянная дифф	Чтение/Запись
Выходная мощность	Выходная мощность	Чтение/Запись
Выход ШИМ+	Выход ШИМ+	Чтение
Выход ШИМ-	Выход ШИМ-	Чтение
Уставка Н	Уставка Н	Чтение/Запись
Ширина гистерезиса Н	Ширина гистерезиса Н	Чтение/Запись
Выход Н	Выход Н	Чтение/Запись
Уставка L	Уставка L	Чтение/Запись
Ширина гистерезиса L	Ширина гистерезиса L	Чтение/Запись
Выход L	Выход L	Чтение/Запись
Режим работы	Режим работы	Чтение/Запись
Номер циклограммы	Номер циклограммы	Чтение/Запись
Номер участка циклограммы	Номер участка циклограммы	Чтение/Запись
Начальное значение циклограммы	Начальное значение циклограммы	Чтение/Запись
Условие начала циклограммы	Условие начала циклограммы	Чтение/Запись
Время текущего участка	Время текущего участка	Чтение/Запись
Значение текущего участка	Значение текущего участка	Чтение/Запись
Состояние выходов d текущего участка	Состояние выходов d	Чтение/Запись
Выход d0	Выход d0	Чтение
Выход d1	Выход d1	Чтение
Выход d2	Выход d2	Чтение

1.5. Канал обмена данными с детектором

Обмен данными с детектором был реализован с помощью платы сбора данных MSC1210-DAQ-EVM. Вместе с платой производитель предоставляет готовую программу «MSC1210ADC», написанную в LabVIEW, которая измеряет напряжение. Лицевая панель программы показана на рисунке ДЗ.

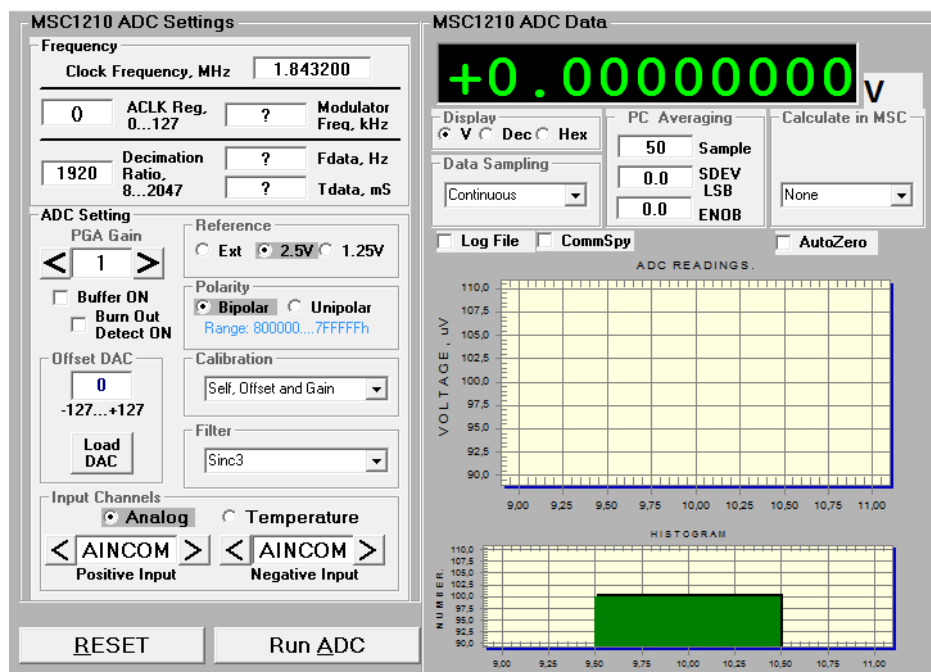


Рисунок Д3. Передняя панель программы

Для реализации задач данной работы в качестве сервера был использован «MSC1210ADC». Запуск «MSC1210ADC» осуществлялся параллельно с программой блока технолога. «MSC1210ADC» загружался в память компьютера, но пользователь не видел его лицевой панели. Назначение «MSC1210ADC» - непрерывное измерение по аналоговому каналу 1.

1.6. Структура программы для измерения параметров процесса для йода-123

Создан программно-аппаратный комплекс для интегрированной системы измерения параметров процесса дистилляции йода-123. Программа имеет следующую структуру:

- главное меню;
- блок оператора;
- блок технолога.

Лицевая панель главного меню показана на рисунке Д4. Главное меню позволяет выбрать пользователя и выйти из программы.

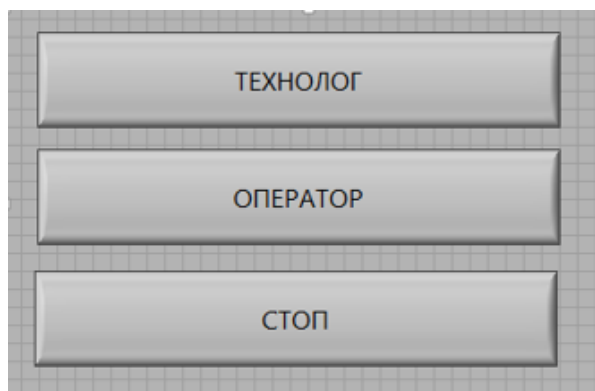


Рисунок Д4. Лицевая панель главного меню

Операторский блок позволяет произвести все необходимые настройки и регулировки, необходимые для подготовки к началу технологического процесса производства радиофармпрепарата. В частности:

- установите необходимые температурные условия;
- записать циклограмму в контроллер МЕТАКОН.

При нажатии кнопки «Запись циклограммы» циклограмма записывается в контроллер МЕТАКОН-613 и сохраняется в его памяти. При нажатии кнопки «Считать циклограмму» циклограмма записывается в файл. Это позволяет оператору проверить параметры циклограмм, которые уже были записаны в контроллер. Передняя панель блока управления показана на рисунке Д5.

 Интерфейс передней панели блока управления, titled «БЛОК ОПЕРАТОР». Он разделен на две основные части.

 Левая часть, titled «ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ», содержит:

- Поле «Номер циклограммы» со значением 0 и ползунок.
- Кнопку «Записать циклограмму».
- Кнопку «Считать циклограмму».
- Кнопку «STOP».

 Правая часть, titled «Циклограмма», содержит:

- Поле «Режим работы» со значением 0.
- Поле «Номер циклограммы» со значением 0.
- Поле «Начальная уставка» со значением 0.
- Поле «Условие начала циклограммы» со значением 0.
- Таблицу «Циклограмма» с тремя столбцами: «Номер участка», «Время (мин)» и «Температура, С».

 Таблица имеет 10 пустых строк для ввода данных.

Рисунок Д5. Передняя панель блока управления

Блок технолога позволяет контролировать технологический процесс производства радиофармпрепарата. При запуске программы технолог выбирает номер циклограммы и устанавливает необходимые параметры. При нажатии кнопки «Пуск» запускается технологический процесс. Индикатор «PROG» сигнализирует о начале выполнения программы. При этом технолог видит данные измерений на экране монитора в режиме реального времени. Программа останавливается, если циклограмма дошла до конца или если технолог нажимает кнопку «Стоп». Передняя панель блока технолога показана на рисунке Д6.

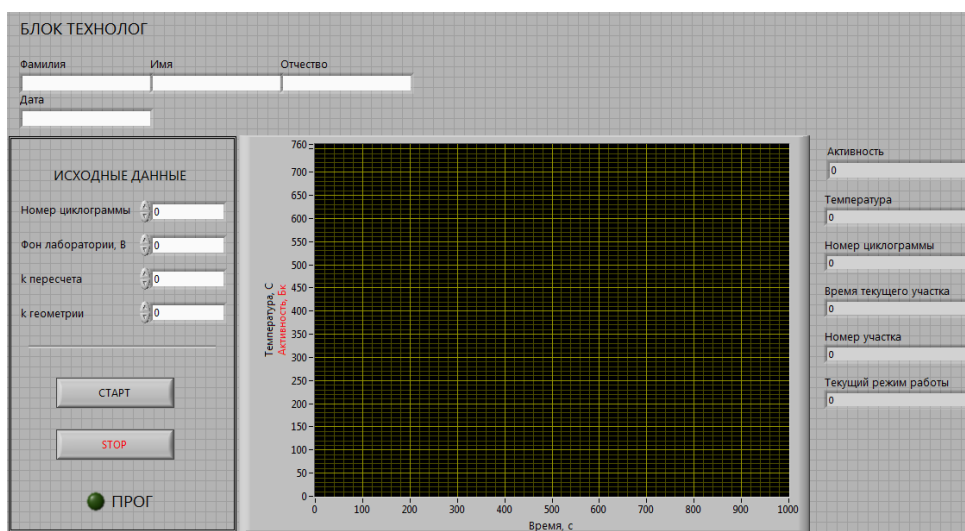


Рисунок Д6. Передняя панель блока технолога

1.7. Регистрация результатов измерений

Результаты измерений записывались с помощью NI LabVIEW Report Generation Toolkit for Microsoft Office - библиотеки гибких и простых в использовании функций для программного создания и редактирования отчетов LabVIEW в Microsoft Word и Excel. Эта библиотека позволяет нам:

- создавать пользовательские отчеты с помощью экспресс-функций Microsoft Office Report Express VI

- автоматическая отправка отчетов по электронной почте и печать отчетов сразу после их сохранения;
- позволяет вставлять, форматировать, редактировать текст, таблицы, изображения и графики.

Программа для измерения параметров технологического процесса по йоду-123 разработана таким образом, что при ее запуске предлагается выбрать документ, в который будут сохранены результаты измерений. Это позволяет автоматизировать работу по документообороту на предприятии, так как программа готовит готовый отчет в программе Microsoft Excel, содержащий полученные результаты измерений и график. Благодаря этому в процессе производства нет необходимости записывать результаты измерений и составлять отчеты вручную. Отчет представлен на рисунке Д7.

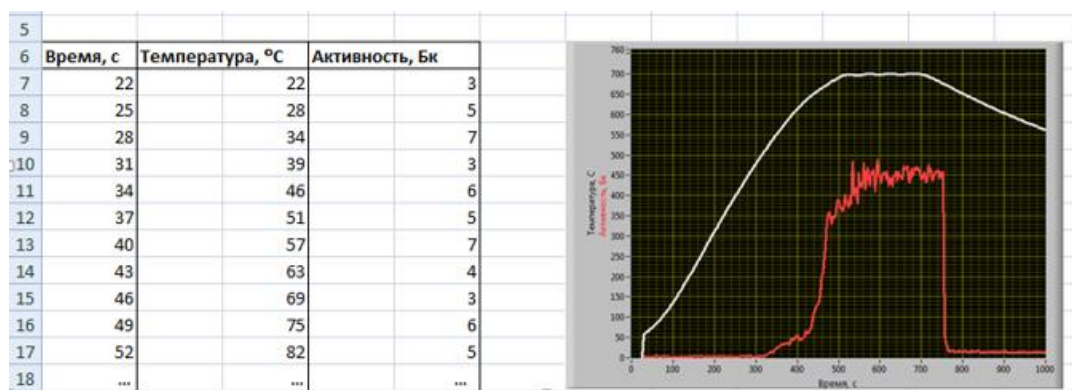


Рисунок Д7. Отчет об измерениях

Результаты измерений записываются в глобальную переменную, к которой может обратиться программа блока технолога. Считывая состояние глобальных переменных и выполняя расчеты по формуле 1.1, программа блока технолога оперативно отображает величину активности источника излучения в режиме реального времени.

$$A = (U - U_{\text{фон}}) \cdot k_{\text{пересчета}} \cdot k_{\text{геометрии}} \quad (1.1)$$

где U – напряжение на выходе детектора, $U_{\text{фон}}$ – напряжение в лаборатории перед началом технологического процесса, $k_{\text{пересчета}}$ – коэффициент пересчета напряжения (мВ) в активность (Бк), $k_{\text{геометри}}$ и – коэффициент расстояния, на котором детектор находится от источника излучения. Когда детектор прижат вплотную к источнику, $k_{\text{геометри}} = 1$; чем детектор дальше от источника, тем коэффициент меньше

2. Характеристика нескольких соединений, синтезированных и использованных в данном исследовании

2.1. Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS вектора PSMA (производное мочевины DCL, модифицированное ε -аминокапроновой кислотой (Ahx) и янтарной кислотой (Suc)/Соединение 6.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6 , δ): 12,06 (уш.с., 1H, X4C(O)OH), 7,81 (т, $J = 5,2$ Гц, м) и 7,77 (т, $J = 5,2$ Гц, н) (1H, X3NHk , м + н, м/н = 3/2), 7,40 (т, $J = 7,7$ Гц, X8He , н), 7,37–7,27 (м, $\text{X8Hd} + \text{X8He(m)}$), 7,26–7,21 (м, 1H, X8Ht , м + н), 7,19–7,10 (м, 1H, X8Hg , м + н), 6,34–6,20 (м, 2H, $\text{K2NH} + \text{E1NH}$, м + н), 4,56 (с, н) и 4,48 (с, м) (2H, X8Ha , м + н, м/н = 3/2), 4,07–4,00 (м, 1H, E1Ha , м + н), 4,00–3,90 (м, 1H, K2Ha , м + н), 3,22 (т, $J = 7,3$ Гц, н) и 3,19 (т, $J = 7,3$ Гц, м) (2H, K2He , м + н, м/н = 3/2), 3,01 (кв, $J = 6,4$, 12,7 Гц, м) и 2,96 (кв, $J = 6,4$, 12,7 Гц, н) (2H, X3He , м + н, м/н = 3/2), 2,44–2,38 (м, 2H, X4Hb , м + н), 2,36 (т, $J = 7,4$ Гц, X3Ha , м), 2,31–2,25 (м, 2H, X4Ha , м + н), 2,25–2,15 (м, $\text{E1Hg} + \text{X3Ha(n)}$), 1,91–1,80 (м, ^1H , E1Hb(a)), 1,72–1,63 (м, 1H, E1Hb(b)), 1,63–1,56 (м, 1H, K2Hb(a)), 1,40–1,35 (м, 27H, tBu), 1,56–1,15 (м, 11H, $\text{K2Hb(b)} + \text{X3Hb} + \text{X3Hd} + \text{K2Hd} + \text{K2Hg} + \text{X3Hg}$, м + н). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO-d_6 , δ): 173,93 (X4Cg), 172,26 (K2C(n)), 172,23 (K2C(m)), 172,22 (X3C(n)), 172,19 (X3C(m)), 171,95 (E1C), 171,47 (E1Cg), 170,76 (X4C(m)), 170,73 (X4C(n)), 157,18 (U(m)), 157,16 (U(n)), 141,20 (X9Cb(m)), 140,80 (X9Cb(n)), 133,45 (X9Ce(n)), 133,10 (X9Ce(m)), 130,63 (X9Cd(n)), 130,26 (X9Cd(m)), 127,24 (X9Ct(m)), 127,17 (X9Ck(n)), 126,88

(X9Ck(m)), 126,34 (X9Ct(n)), 126,08 (X9Cg(m)), 124,99 (X9C) g(n)), 80,59 (E1tBu), 80,42 (K2tBu(m)), 80,33 (K2tBu(n)), 79,77 (E1dtBu), 53,01 (K2Ca(n)), 52,88 (K2Ca(m)), 52,20 (E1Ca(m)), 52,18 (E1Ca(n)) 49,6 3 (X9Ca(н)), 47,11 (X9Ca(м)), 46,83 (K2Ce(м)), 45,20 (K2Ce(н)), 38,49 (X3Ce(м)), 38,43 (X3Ce(н)), 32,34 (X3Ca(н)), 31,95 (X3Ca(м)), 31,83 (K2Cb), 30,93 (E1Cg), 30,06 (X4Ca), 29,25 (X4Cb), 29,13 (X3Cd(м)), 29,04 (X3Cd(н)), 27,75 (tBuE1), 27,69 (K2Cd(м)), 27,66 (tBuK2), 27,64 (tBuE1g + E1Cb), 26,72 (K2Cd(н)), 26,23 (X3Cg(м)), 26,15 (X3Cg(н)), 24,76 (X3Cb(м)), 24,63 (X3Cb(н)), 22,45 (K2Cg(н)), 22,27 (K2Cg(м)) ESI-MS $C_{41}H_{65}ClN_4O_{11}$: м/з вычислено для $[M + H]^+$: 825,44; найдено: 825,45.

2.2. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS и и HRMS вектора PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L)/ Соединение 9.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 12,71 (уш.с., 1H, F6COOH), 8,30–8,22 (уш.д., 1H, F5NHmn), 8,09–8,03 (уш.д., 1H, F6NHmn), 7,79 (т, J = 5,4 Гц, м) и 7,75 (т, J = 5,4 Гц, н) (1H, X3NHk), 7,40 (т, J = 7,7 Гц, X8Hdn), 7,36–7,29 (м, X8Hen + X8Hdm + X8Hem), 7,29–7,08 (м, 12H, F6He + F6Hd + X8Htmn + F5He + F6Hk + F5Hk + F5Hd + X8Hgmn), 6,37–6,18 (м, 2H, K2NH + E1NH, м + н), 4,55 (с, X8Han), 4,53–4,44 (м, F6Ha + X8Ham), 4,44–4,36 (м, 1H, F5Ha), 4,08–3,99 (м, 1H, E1Ha), 3,99–3,90 (м, 1H, K2Ha), 3,22 (т, J = 7,3 Гц, н) и 3,17 (т, J = 7,3 Гц, м) (2H, K2He), 3,11–3,02 (м, 1H, F6Hb(a)), 3,02–2,90 (м, 4H, F6Hb(b) + X3Hemn + F5Hb(a)), 2,71–2,60 (м, 1H, F5Hb(b)), 2,35 (т, J = 7,4 Гц, X3Ham), 2,30–2,10 (м, X4Hbmн + E1Hg + X4Hamн + X3Han), 1,92–1,80 (м, 1H, E1Hb(a)), 1,71–1,62 (м, 1H, E1Hb(b)), 1,62–1,54 (м, 1H, K2Hb(a)), 1,54–1,10 (м, 11H, X3Hb + K2Hb(b) + X3Hd + K2Hd + K2Hg + X3Hg, м + н), 1,40–1,34 (м, 27H, tBu). ^{13}C ЯМР (100 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 172,77 (F6C), 172,25 (K2C(n)), 172,21 (K2C(m)), 172,14 (X3C(n)), 172,12 (X3C(m)), 171,93 (E1C), 171,45 (E1Cd), 171,42 (X4Cg(mn)), 171,37 (F5C(mn)), 171,16 (X4C(m)), 171,15 (X4C(n)) 157,15 (U(m)), 157,14 (U(n)), 141,19 (X8Cb(m)), 140,78 (X8Cb(n)), 138,13 (F5Cg), 137,57 (F6Cg), 133,44 (X8Ck(n)), 133,09 (X8Ck(m)), 130,61 (X8Cd(n)), 130,25 (X8Cd(m)), 129,18 (F6Cd + F5Cd), 128,23 (F6Ce), 127,99 (F5Ce), 127,22 (X8Ct(m)), 127,16 (X8Ce(n)),

126,87 (X8Ce(m)), 126,45 (F6Ck), 126,32 (X8Ct(n)), 126,18 (F5Ck), 126,07 (X8Cg(m)), 124,96 (X8Cg(n)), 80,58 (E1tBu), 80,41 (K2tBu(m)), 80,32 (K2tBu(n)), 79,76 (E1dtBu), 53,67 (F5Ca), 53,63 (F6Ca), 53,00 (K2Ca(n)), 52,87 (K2Ca(m)), 52,19 (E1Ca), 49,61 (X8Ca(n)), 47,10 (X8Ca(m)), 46,80 (K2Ce(m)), 45,20 (K2Ce(n)), 38,53 (X3Ce(m)), 38,47 (X3Ce(n)), 37,34 (F5Cb), 36,61), 32,33 (X3Ca(n)), 31,95 (X3Ca(m)), 31,83 (K2Cb), 30,93 (E1Cg), 30,82 (X4Ca), 30,75 (X4Cb), 29,12 (X3Cd(m)), 29,02 (X3Cd(n)), 27,75 (tBuE1), 27,66 (tBuK2 + K2Cd(m)), 27,63 (tBuE1d + E1Cb), 26,72 (K2Cd(n)), 26,29 (X3Cg(m)), 26,19 (X3Cg(n)), 24,76 (X3Cb(m)), 24,62 (X3Cb(n)), 22,44 (K2Cg(n)) 22,27 (K2Cg(m)). ESI-MS C₅₉H₈₃ClN₆O₁₃: m/z вычислено для [M + H]⁺: 1119,58; найдено: 1119,45. HRMS (m/z, ESI): вычислено для C₅₉H₈₃ClN₆O₁₃–[M + H]⁺: 1119,5779; найдено: 1119,5746.

2.3. Спектры ¹H и ¹³C ЯМР и данные ESI-MS и HRMS вектора PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом

NH₂(CH₂)₃NHFmoc/ Соединение 10

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆, δ): 8,35–8,25 (уш.д., 1H, F5NHmn), 8,22–8,13 (м, 1H, F6NHmn), 7,93 (т, J = 5,4 Гц, X3NHkm), 7,91–7,84 (м, X3NHkn + FmocHt), 7,67 (д, J = 7,5 Гц, 2H, FmocHd), 7,60–7,52 (м, 1H, X7NH), 7,45–7,35 (м, FmocHk + X8Hdn), 7,35–7,08 (м, X8Hen + FmocHe + X8Hdm + X8Hem + X7NHd + F6He + F6Hd + X8Htmn + F5He + F6Hk + F5Hk + F5Hd + X8Hgmn), 6,36–6,21 (м, 2H, K2NH + E1NH, м + н), 4,54 (с, н) и 4,47 (с, м) (2H, X8Ha, м + н), 4,44–4,36 (м, 1H, F6Ha), 4,36–4,25 (м, 3H, F5Ha + FmocHa), 4,20 (т, J = 6,9 Гц, 1H, FmocHb), 4,08–3,99 (м, 1H, E1Ha), 3,99–3,90 (м, 1H, K2Hamn), 3,21 (т, J = 7,3 Гц, н) и 3,16 (т, J = 7,3 Гц, м) (2H, K2He, м + н), 3,11–2,84 (м, 9H, F6Hb(a) + X7Hg + X7Ha + X3He(mn) + F6Hb(b) + F5Hb(a)), 2,70–2,60 (м, 1H, F5Hb(b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3Ham + X4Hbm + E1Hg + X4Hamn + X3Han), 1,92–1,80 (м, 1H, E1Hb(a)), 1,72–1,62 (м, 1H, E1Hb(б)), 1,62–1,55 (м, 1H, K2Hb(a)), 1,54–1,10 (м, 13H, X7Hb + X3Hb + K2Hb(b) + X3Hd + K2Hd + K2Hg + X3Hg, м + н), 1,40–1,34 (м, 27H, tBu). ¹³C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d₆, δ): 172,79 (X4Cg(n)), 172,76

(X4Cg(m)), 172,24 (K2C(n)), 172,20 (K2C(m)), 172,15 (X3C(n)), 172,13 (X3C(m)), 171,92 (E1C), 171,57 (X4C(мн)), 171,45 (E1Cd), 171,11 (F5C), 170,67 (F6C) 157,15 (U(мн)), 156,12 (C(O)Fmoc), 143,94 (FmocCg), 141,16 (X8Cb(m)), 140,77 (X8Cb(n) + FmocCte), 138,12 (F6Cg), 138,02 (F5Cg), 133,44 (X8Ck(n)), 133,09 (X8Ck(m)), 130,59 (X8Cd(n)), 130,23 (X8Cd(m)), 129,04 (F6Cd + F5Cd), 128,16 (F6Ce), 128,06 (F5Ce), 127,63 (FmocCk), 127,21 (X8Ct(m)), 127,15 (X8Ce(н)), 127,09 (FmocCt), 126,86 (X8Ce(м)), 126,29 (F6Ck + X8Ct(n)), 126,24 (F5Ck), 126,05 (X8Cg(m)), 125,17 (FmocCe), 124,95 (X8Cg(n)), 120,13 (FmocCd), 80,59 (E1tBu), 80,42 (K2tBu(m)), 80,33 (K2tBu(n)), 79,77 (E1dtBu), 65,32 (FmocCa), 54,94 (F5Ca), 54,40 (F6Ca), 53,01 (K2Ca(n)), 52,87 (K2Ca(m)), 52,20 (E1Ca), 49,62 (X8Ca(n)), 47,11 (X8Ca(m)), 46,80 (FmocCb + K2Ce(м)), 45,19 (K2Ce(н)), 38,65 (X3Ce(м)), 38,60 (X3Ce(н)), 37,90 (X7Cg), 37,11 (F5Cb), 36,82 (F6Cb), 36,39 (X7Ca), 32,32 (X3Ca(н)), 31,95 (X3Ca(м)), 31,82 (K2Cb), 30,93 (E1Cg), 30,69 (X4Ca), 30,58 (X4Cb), 29,20 (X7Cb), 29,05 (X3Cd(м)), 28,96 (X3Cd(n)), 27,74 (tBuE1), 27,65 (tBuK2 + K2Cd(м)), 27,62 (tBuE1d + E1Cb), 26,69 (K2Cd(н)), 26,31 (X3Cg(м)), 26,22 (X3Cg(н)), 24,73 (X3Cb(м)), 24,60 (X3Cb(n)), 22,43 (K2Cg(n)) 22,25 (K2Cg(m)). ESI-MS $C_{77}H_{101}ClN_8O_{14}$: m/z расч. для $[M + H]^+$: 1397,72: 1397,65. HRMS (m/z , ESI): расч. для $C_{77}H_{101}ClN_8O_{14}-[M + H]^+$ 1397,7199: 1397,7210.

2.4. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS и HRMS вектора PSMA с пептидной последовательностью Phe(L)-Phe(L) и фрагментом $NH_2(CH_2)_3/$

Соединение 11

1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6 , δ): 8,37 (д, $J = 7,3$ Гц, 1H, F5NHmn), 8,23–8,15 (уш.д, 1H, F6NHmn), 8,00 (т, $J = 5,4$ Гц, м) и 7,97 (т, $J = 5,4$ Гц, н) (1H, X3NHk, м + н), 7,82 (уш.с, 3H, X7NHd), 7,77–7,69 (м, 1H, X7NH), 7,42–7,09 (м, 14H, X8Hdn + X8Hen + X8Hdm + X8Hem + F6He + F6Hd + X8Htmn + F5He + F6Hk + F5Hk + F5Hd + X8Hgmn), 6,39–6,23 (м, 2H, K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn), 4,55 (с, н) и 4,47 (с, м) (2H, X8Ha, м + н), 4,43–4,33 (м, 1H, F6Ha), 4,33–4,23 (м, 1H, F5Ha), 4,08–3,99 (м, 1H, E1Ha), 3,99–3,90 (м, 1H, K2Ham +

K2Han), 3,26–3,11 (м, 3H, K2Hemn + X7Hg(a)), 3,11–2,85 (м, 6H, F6Hb(a) + X7Hg(b) + X3He(mn) + F6Hb(b) + F5Hb(a)), 2,78–2,61 (м, 3H, X7Ha + F5Hb(b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3Ham + X4Hbm + E1Hg + X4Hamn + X3Han), 1,92–1,80 (м, 1H, E1Hb(a)), 1,73–1,61 (м, 3H, X7Hb + E1Hb(b)), 1,62–1,55 (м, 1H, K2Hb(a)), 1,54–1,10 (м, 11H, X3Hb + K2Hb(b) + X3Hd + K2Hd + K2Hg + X3Hg, m + n), 1,40–1,34 (м, 27H, tBu). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 172,91 (X4Cg(n)), 172,88 (X4Cg(m)), 172,24 (K2C(n)), 172,20 (K2C(m)), 172,15 (X3C(n)), 172,13 (X3C(m)), 171,92 (E1C), 171,61 (X4C(mn)), 171,46 (E1Cd), 171,23 (F5C), 171,09 (F6C), 157,18 (U(m)), 157,16 (U(n)), 141,18 (X8Cb(m)), 140,78 (X8Cb(n)), 138,08 (F6Cg), 138,02 (F5Cg), 133,41 (X8Ck(n)), 133,07 (X8Ck(m)), 130,61 (X8Cd(n)), 130,25 (X8Cd(m)), 129,05 (F6Cd + F5Cd), 128,20 (F6Ce), 128,07 (F5Ce), 127,20 (X8Ct(m)), 127,15 (X8Ce(n)), 126,86 (X8Ce(m)), 126,34 (F6Ck), 126,31 (X8Ct(n)), 126,25 (F5Ck), 126,06 (X8Cg(m)), 124,97 (X8Cg(n)), 80,55 (E1tBu), 80,38 (K2tBu(m)), 80,30 (K2tBu(n)), 79,77 (E1dtBu), 55,10 (F5Ca), 54,53 (F6Ca), 53,01 (K2Ca(n)), 52,88 (K2Ca(m)), 52,19 (E1Ca), 49,62 (X8Ca(n)), 47,10 (X8Ca(m)), 46,81 (K2Ce(m)), 45,22 (K2Ce(n)), 38,64 (X3Ce(m)), 38,58 (X3Ce(n)), 36,92 (F5Cb), 36,79), 36,58 (X7Cg), 35,81 (X7Ca), 32,33 (X3Ca(n)), 31,95 (X3Ca(m)), 31,79 (K2Cb), 30,92 (E1Cg), 30,66 (X4Ca), 30,57 (X4Cb), 29,05 (X3Cd(m)), 28,97 (X3Cd(n)), 27,75 (tBuE1), 27,66 (tBuK2 + K2Cd(m)), 27,63 (tBuE1d), 27,57 (E1Cb), 27,09 (X7Cb), 26,70 (K2Cd(n)), 26,32 (X3Cg(m)), 26,23 (X3Cg(n)), 24,74 (X3Cb(m)), 24,60 (X3Cb(n)), 22,45 (K2Cg(n)), 22,26 (K2Cg(m)). ESI-MS $\text{C}_{62}\text{H}_{91}\text{Cl}_1\text{N}_8\text{O}_{12}$: m/z вычислено для $[\text{M} + \text{H}]^+$: 1175,65: 1175,6. HRMS (m/z , ESI): вычислено для $\text{C}_{62}\text{H}_{91}\text{Cl}_1\text{N}_8\text{O}_{12}-[\text{M} + \text{H}]^+$ 1175,6518: 1175,6520.

2.5. Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР и данные ESI-MS и HRMS вектора N-сукцинимида 3-(трибутилстаннил)бензоат/ Соединение 13

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 8,18–8,06 (м., 1H, 2), 8,05–7,97 (м, 1H, 4), 7,96–7,82 (м, 1H, 6), 7,65–7,55 (м, 1H, 5), 2,89 (s, 4H, 9), 1,63–1,39 (м, 6H, 11), 1,35–1,21 (м, 6H, 12), 1,20–1,00 (м, 6H, 10), 0,84 (t, $J = 7,3$ Hz, 9H, 13). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 170,33 (8), 162,14 (7), 143,46 (6), 143,24 (1), 137,05

(2), 129,64 (3), 128,84 (4), 124,07 (5), 28,52 (11), 26,67 (12), 25,57 (9), 13,48 (10), 9,36 (13). ESI-MS $C_{23}H_{35}NO_4^{118}Sn$: m/z calcd. for $[M + Na^+]^+$: 530,15: 530,10. HRMS (m/z , ESI): вычислено для $C_{23}H_{35}NO_4^{120}Sn$ – $[M + Na^+]^+$ 532,1480: 532,1487.

2.6. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР N-сукцинимирил 3- $[^{127}I]$ иодбензоат/

Соединение 14

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 8,34 (t, $J = 1,7$ Hz, 1H, 2), 8,21 (ddd, $J = 7,9, 1,7, 1,0$ Hz, 1H, 6), 8,10 (ddd, $J = 7,9, 1,7, 1,0$ Hz, 1H, 4), 7,45 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, 5), 2,90 (s, 4H, 9). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 170,22 (8), 160,60 (7), 144,11 (6), 137,87 (2), 131,62 (3), 129,30 (5), 126,41 (4), 95,53 (1), 25,57 (9).

2.7. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР и данные HRMS вектора N-сукцинимирил 4-(трибутилстаннил)бензоат/ Соединение 16

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 8,05–7,93 (m, 1H, 3), 7,82–7,66 (m, 1H, 4), 2,89 (s, 4H, 7), 1,65–1,39 (m, 6H, 9), 1,36–1,21 (m, 6H, 10), 1,20–1,00 (m, 6H, 8), 0,84 (t, $J = 7,3$ Hz, 9H, 11). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 170,33 (6), 162,10 (5), 153,06 (1), 137,16 (2), 128,53 (3), 124,01 (4), 28,52 (9), 26,67 (10), 25,56 (7), 13,51 (8), 9,37 (11). HRMS (m/z , ESI): вычислено для $C_{23}H_{35}NO_4^{120}Sn$ – $[M + Na^+]^+$ 532,1480; 532,1485.

2.8. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР вектора N-сукцинимирил 3- $[^{127}I]$ иодбензоат/

Соединение 17

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 8,06 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, 3), 7,83 (d, $J = 8,5$ Гц, 1H, 2), 2,89 (s, 4H, 7). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 170,28 (6), 161,69 (5), 138,65 (2), 131,39 (3), 123,88 (4), 105,01 (1), 25,58 (7).

2.9. Спектры ЯМР 1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS соединения

18

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 8,36 (д, $J = 7,3$ Гц, 1H, F5NHmn), 8,24–8,16 (м, 1H, F6NHm + F6NHn), 7,96 (т, $J = 5,4$ Гц, м) и 7,93 (т, $J = 5,4$ Гц, н) (1H, X3NHk, м + н), 7,75–7,58 (м, 4H, X7NH + X7NH3+d), 7,42–7,09 (м, 14H, X8Hdn

+ X8Hen + X8Hdm + X8Hem + F6He + F6Hd + X8Htmn + F5He + F6Hk + F5Hk + F5Hd + X8Hgmn), 6,39–6,25 (м, 2H, K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn), 4,55 (с, н) и 4,47 (с, м) (2H, X8Ha, м + н), 4,42–4,33 (м, 1H, F6Ha), 4,33–4,23 (м, 1H, F5Ha), 4,14–3,98 (м, 2H, E1Ha + K2Ham + K2Han), 3,25–3,10 (м, 3H, K2Hemn + X7Hg(a)), 3,10–2,85 (м, 6H, F6Hb(a) + X7Hg(b) + X3He(mn) + F6Hb(b) + F5Hb(a)), 2,78–2,58 (м, 3H, X7Ha + F5Hb(b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3Ham + X4Hbm + E1Hg + X4Hamn + X3Han), 1,97–1,85 (м, 1H, E1Hb(a)), 1,76–1,56 (м, 4H, E1Hb(b) + X7Hb + K2Hb(a)), 1,56–1,11 (м, 11H, X3Hb + K2Hb(b) + X3Hd + K2Hd + K2Hg + X3Hg, м + н). ¹³C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d₆, δ): 174,61 (K2C(n)), 174,57 (K2C(m)), 174,27 (E1C(mn)), 173,84 (E1Cd), 173,06 (X4Cg(n)), 173,03 (X4Cg(m)), 172,23 (C), 171,70 (X4C(mn)), 171,33 (F5C), 171,24 (F6C), 159,03 (C(O)TFA), 158,66 (C(O)TFA), 158,30 (C(O)TFA), 157,92 (C(O)TFA), 157,36 (U), 141,27 (X8Cb(м)), 140,87 (X8Cb(н)), 138,09 (F6Cg), 138,03 (F5Cg), 133,46 (X8Ck(н)), 133,11 (X8Ck(м)), 130,66 (X8Cd(н)), 130,30 (X8Cd(м)), 129,07 (F6Cd + F5Cd), 128,28 (F6Ce), 128,16 (F5Ce), 127,24 (X8Ct(м)), 127,19 (X8Ce(н)), 126,90 (X8Ce(м)), 126,44 (F6Ck), 126,34 (X8Ct(н) + F5Ck), 126,14 (X8Cg(м)), 125,02 (X8Cg(н)), 117,00 (CF₃), 114,17 (CF₃), 55,15 (F5Ca), 54,58 (F6Ca), 52,33 (K2Ca(н)), 52,20 (K2Ca(м)), 51,72 (E1Ca), 49,67 (X8Ca(н)), 47,21 (X8Ca(м)), 46,93 (K2Ce(м)), 45,39 (K2Ce(н)), 38,72 (X3Ce(м)), 38,65 (X3Ce(н)), 36,94 (F5Cb), 36,82 (F6Cb), 36,72 (X7Cg), 35,79 (X7Ca), 32,34 (X3Ca(n)), 31,93 (X3Ca(м)), 31,85 (K2Cb), 30,72 (X4Ca), 30,59 (X4Cb), 29,97 (E1Cg), 29,11 (X3Cd(м)), 29,01 (X3Cd(н)), 27,85 (K2Cd(м)), 27,59 (E1Cb), 27,23 (X7Cb), 26,80 (K2Cd(н)), 26,34 (X3Cg(м)), 26,26 (X3Cg(н)), 24,77 (X3Cb(м)), 24,63 (X3Cb(н)), 22,56 (K2Cg(н)), 22,40 (K2Cg(м)). ESI-MS C₅₀H₆₇C₁N₈O₁₂: m/z вычислено для [M + H]⁺: 1007,46; 1007,55. HRMS (m/z, ESI): вычислено для C₅₀H₆₇C₁N₈O₁₂–[M + H]⁺ 1007,4640; 1007,4622.

2.10. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C, а также данные HRMS PSMA-m-TBSB

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ): 13,30–11,30 (br.s, 3H, COOH), 8,45–8,36 (м, 1H, X7NHδ), 8,33–8,25 (м, 1H, F5NHmn), 8,24–8,14 (м, 1H, F6NHm +

$F6NHn$), 7,97–7,83 (m, 2H, $X3NH\zeta mn + 2$), 7,78–7,70 (m, 1H, 6), 7,69–7,59 (m, 1H, $X7NH$), 7,59–7,50 (m, 1H, 4), 7,45–7,08 (m, 15H, 5 + $X8H\delta n + X8H\epsilon n + X8H\delta m + X8H\epsilon m + F6H\epsilon + F6H\delta + X8H\eta mn + F5H\epsilon + F6H\zeta + F5H\zeta + F5H\delta + X8H\gamma mn$), 6.38–6.24 (m, 2H, $K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn$), 4,54 (s, n) and 4,47 (s, m) (2H, $X8H\alpha$, $m + n$), 4,44–4,37 (m, 1H, $F6H\alpha$), 4,37–4,27 (m, 1H, $F5H\alpha$), 4,14–3,98 (m, 2H, $E1H\alpha + K2H\alpha m + K2H\alpha n$), 3,26–2,84 (m, 11H, $K2H\epsilon mn + X7H\gamma(a) + F6H\beta(a) + X7H\gamma(b) + X3H\epsilon(mn) + F6H\beta(b) + X7H\alpha + F5H\beta(a)$), 2,70–2,60 (m, 1H, $F5H\beta(b)$), 2,40–2,10 (m, 8H, $X3H\alpha m + X4H\beta mn + E1H\gamma + X4H\alpha mn + X3H\alpha n$), 1,97–1,85 (m, 1H, $E1H\beta(a)$), 1,76–1,67 (m, 1H, $E1H\beta(b)$), 1,67–1,13 (m, 26H, $X7H\beta + K2H\beta(a) + 8 + X3H\beta + K2H\beta(b) + X3H\delta + 9 + K2H\delta + K2H\gamma + X3H\gamma$, $m + n$), 1,13–0,95 (m, 6H, 10), 0,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 9H, 11). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 174,54 ($K2C(n)$), 174,51 ($K2C(m)$), 174,22 ($E1C(mn)$), 173,80 ($E1C\delta$), 172,74 ($X4C\gamma(n)$), 172,68 ($X4C\gamma(m)$), 172,12 ($X3C$), 171,50 ($X4C(mn)$), 171,12 ($F5C$), 170,78 ($F6C$), 166,60 (7), 157,26 (U), 141,50 (6), 141,22 ($X8C\beta(m)$), 140,80 ($X8C\beta(n)$), 138,90 (1), 138,10 ($F6C\gamma$), 138,00 ($F5C\gamma$), 135,53 (2), 134,73 (3), 133,92 (5), 133,40 ($X8C\zeta(n)$), 133,04 ($X8C\zeta(m)$), 130,59 ($X8C\delta(n)$), 130,23 ($X8C\delta(m)$), 129,04 ($F6C\delta + F5C\delta$), 128,16 ($F6C\epsilon$), 128,04 ($F5C\epsilon$), 127,75 (4), 127,20 ($X8C\eta(m)$), 127,12 ($X8C\epsilon(n)$), 126,83 ($X8C\epsilon(m)$), 126,29 ($F6C\zeta + X8C\eta(n)$), 126,22 ($F5C\zeta$), 126,08 ($X8C\gamma(m)$), 124,95 ($X8C\gamma(n)$), 54,86 ($F5C\alpha$), 54,41 ($F6C\alpha$), 52,25 ($K2C\alpha(n)$), 52,14 ($K2C\alpha(m)$), 51,68 ($E1C\alpha$), 49,61 ($X8C\alpha(n)$), 47,13 ($X8C\alpha(m)$), 46,85 ($K2C\epsilon(m)$), 45,31 ($K2C\epsilon(n)$), 38,64 ($X3C\epsilon(m)$), 38,57 ($X3C\epsilon(n)$), 37,09 ($F5C\beta$), 36,86 ($F6C\beta$), 36,69 ($X7C\gamma$), 35,48 ($X7C\alpha$), 32,28 ($X3C\alpha(n)$), 31,86 ($X3C\alpha(m)$), 31,81 ($K2C\beta$), 30,67 ($X4C\alpha$), 30,56 ($X4C\beta$), 29,97 ($E1C\gamma$), 29,07 ($X3C\delta(m) + X7C\beta$), 28,95 ($X3C\delta(n)$), 28,60 (9), 27,80 ($K2C\delta(m)$), 27,60 ($E1C\beta$), 26,70 ($K2C\delta(n) + 10$), 26,28 ($X3C\gamma(m)$), 26,21 ($X3C\gamma(n)$), 24,72 ($X3C\beta(m)$), 24,57 ($X3C\beta(n)$), 22,53 ($K2C\gamma(n)$), 22,34 ($K2C\gamma(m)$), 13,58 (8), 9,20 (11). HRMS (m/z , ESI): calcd. for $C_{69}H_{97}ClN_8O_{13}Sn-[M + H]^+$ 1401,5958; 1401,5990.

2.11. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные HRMS PSMA-p-TBSB

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 12,95–11,50 (br.s, 3H, COOH), 8,44–8,34 (м, 1H, X7NH δ), 8,34–8,26 (м, 1H, F5NHmn), 8,25–8,15 (м, 1H, F6NHm + F6NHn), 7,92 (т, J = 5,4 Гц, м) и 7,89 (т, J = 5,4 Гц, н) (1H, X3NH ζ , м + н), 7,75 (д, J = 7,5 Гц, 2H, 3), 7,70–7,60 (м, 1H, X7NH), 7,51 (д, J = 7,5 Гц, 2H, 2), 7,41–7,07 (м, 14H, X8H δ n + X8H ϵ n + X8H δ m + X8H ϵ m + F6H ϵ + F6H δ + X8H η mn + F5H ϵ + F6H ζ + F5H ζ + F5H δ + X8H γ mn), 6,39–6,22 (м, 2H, K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn), 4,54 (с, н) и 4,46 (с, м) (2H, X8H α , м + н), 4,44–4,37 (м, 1H, F6H α), 4,37–4,27 (м, 1H, F5H α), 4,14–3,98 (м, 2H, E1H α + K2H α m + K2H α n), 3,25–2,84 (м, 11H, K2H ϵ mn + X7H γ (a + F6H β (a) + X7H γ (b) + X3H ϵ (mn) + F6H β (b) + X7H α + F5H β (a)), 2,70–2,60 (м, 1H, F5H β (b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3H α m + X4H β mn + E1H γ + X4H α mn + X3H α n), 1,96–1,84 (м, 1H, E1H β (a)), 1,77–1,67 (м, 1H, E1H β (b)), 1,67–1,13 (м, 26H, X7H β + K2H β (a) + 6 + X3H β + K2H β (b) + X3H δ + 7 + K2H δ + K2H γ + X3H γ , м + н), 1,13–0,95 (м, 6H, 8), 0,83 (т, J = 7,1 Гц, 9H, 9).

^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6 , δ): 174,56 (K2C(mn)), 174,26 (E1C(mn)), 173,85 (E1C δ), 172,77 (X4C γ (n)), 172,72 (X4C γ (m)), 172,16 (X3C), 171,53 (X4C(mn)), 171,18 (F5C), 170,81 (F6C), 166,50 (5), 157,29 (U), 145,70 (4), 141,23 (X8C β (m)), 140,83 (X8C β (н)), 138,12 (F6C γ), 138,02 (F5C γ), 136,10 (3), 134,29 (1), 133,42 (X8C ζ (н)), 133,06 (X8C ζ (м)), 130,60 (X8C δ (н)), 130,25 (X8C δ (м)), 129,06 (F6C δ + F5C δ), 128,19 (F6C ϵ), 128,06 (F5C ϵ), 127,21 (X8C η (м)), 127,13 (X8C ϵ (н)), 126,84 (X8C ϵ (м)), 126,36 (2), 126,31 (F6C ζ + X8C η (н)), 126,23 (F5C ζ), 126,10 (X8C γ (м)), 124,97 (X8C γ (н)), 54,89 (F5C α), 54,47 (F6C α), 52,29 (K2C α (н)), 52,20 (K2C α (м)), 51,76 (E1C α), 49,65 (X8C α (н)), 47,16 (X8C α (м)), 46,88 (K2C ϵ (м)), 45,33 (K2C ϵ (н)), 38,65 (X3C ϵ (м)), 38,59 (X3C ϵ (н)), 37,09 (F5C β), 36,87 (F6C β), 36,71 (X7C γ), 35,48 (X7C α), 32,30 (X3C α (н)), 31,89 (X3C α (м)), 31,83 (K2C β), 30,69 (X4C α), 30,58 (X4C β), 30,08 (E1C γ), 29,07 (X3C δ (м)), 29,01 (X7C β), 28,97 (X3C δ (н)), 28,62 (7), 27,82 (K2C δ (м)), 27,73 (E1C β), 26,71 (K2C δ (н) + 8), 26,29 (X3C γ (м)), 26,22 (X3C γ (н)), 24,74 (X3C β (м)), 24,59 (X3C β (н)), 22,55 (K2C γ (н)) 22,36 (K2C γ (м)), 13,59 (6), 9,23 (9). HRMS (м/з, ESI): вычислено для $\text{C}_{69}\text{H}_{97}\text{Cl}_1\text{N}_8\text{O}_{13}\text{Sn}-[\text{M} + \text{H}]^+$ 1401; 5958; 1401, 5978.

2.12. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS [^{127}I]PSMA-m-IB/ Соединение 21

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 12,74–11,94 (уш.с, 3H, COOH), 8,55–8,47 (м, 1H, X7NH δ), 8,29 (д, $J = 7,4$ Гц, 1H, F5NH), 8,22–8,13 (м, 1H, F6NHmn + 2), 7,93–7,80 (м, 3H, X3NH ζ mn + 4 + 6), 7,67–7,58 (м, 1H, X7NH), 7,42–7,08 (м, 15H, X8H δ n + 5 + X8H ϵ n + X8H δ m + X8H ϵ m + F6H ϵ + F6H δ + X8H η mn + F5H ϵ + F6H ζ + F5H ζ + F5H δ + X8H γ mn), 6,37–6,23 (м, 2H, K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn), 4,55 (с, н) и 4,47 (с, м) (2H, X8H α , м + н), 4,44–4,37 (м, 1H, F6H α), 4,37–4,28 (м, 1H, F5H α), 4,14–3,98 (м, 2H, E1H α + K2H α m + K2H α n), 3,26–2,84 (м, 11H, K2H ϵ mn + X7H γ (a)) + F6H β (a) + X7H γ (b) + X3H ϵ (mn) + F6H β (b) + X7H α + F5H β (a)), 2,70–2,60 (м, 1H, F5H β (b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3H α m + X4H β mn + E1H γ + X4H α mn + X3H α n), 1,97–1,85 (м, 1H, E1H β (a)), 1,76–1,67 (м, 1H, E1H β (b)), 1,67–1,11 (м, 14H, X7H β + K2H β (a) + X3H β + K2H β (b) + X3H δ + K2H δ + K2H γ + X3H γ , м + н). ^{13}C ЯМР (100 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 174,56 (K2C(n)), 174,53 (K2C(m)), 174,25 (E1C(mn)), 173,81 (E1C δ), 172,82 (X4C γ (n)), 172,77 (X4C γ (m)), 172,16 C), 171,55 (X4C(mH)), 171,16 (F5C), 170,75 (F6C), 164,71 (7), 157,30 (U), 141,24 (X8C β (m)), 140,82 (X8C β (n)), 139,68 (6), 138,13 (F6C γ), 138,02 (F5C γ), 136,59 (3), 135,63 (2), 133,42 (X8C ζ (n)), 133,07 (X8C ζ (m)), 130,61 (X8C δ (n)), 130,54 (5), 130,25 (X8C δ (m)), 129,06 (F6C δ + F5C δ), 128,19 (F6C ϵ), 128,08 (F5C ϵ), 127,21 (X8C η (m)), 127,14 (X8C ϵ (n)), 126,85 (X8C ϵ (m)), 126,64 (4), 126,31 (F6C ζ + X8C η (n)), 126,25 (F5C ζ), 126,09 (X8C γ (m)), 124,97 (X8C γ (n)), 94,74 (1), 54,96 (F5C α), 54,45 (F6C α), 52,29 (K2C α (n)), 52,16 (K2C α (m)), 51,68 (E1C α), 49,65 (X8C α (n)), 47,17 (X8C α (m)), 46,89 (K2C ϵ (m)), 45,33 (K2C ϵ (n)), 38,67 (X3C ϵ (m)), 38,60 (X3C ϵ (n)), 37,09 (F5C β), 36,97 (X7C γ), 36,86 (F6C β), 36,55 (X7C α), 32,28 (X3C α (n)), 31,86 (X3C α (m)), 31,81 (K2C β), 30,67 (X4C α), 30,56 (X4C β), 29,97 (E1C γ), 29,07 (X3C δ (m)), 28,95 (X3C δ (n)), 28,87 (X7C β), 27,80 (K2C δ (m)), 27,60 (E1C β), 26,70 (K2C δ (n)), 26,28 (X3C γ (m)), 26,21 (X3C γ (n)), 24,72 (X3C β (m)), 24,57 (X3C β (n)), 22,53 (K2C γ (n)), 22,34 (K2C γ (m)). ESI-MS $\text{C}_{57}\text{H}_{70}\text{ClIN}_8\text{O}_{13}$: m/z расч. для $[\text{M} + \text{H}]^+$: 1237,38; 1237,55. HRMS (m/z , ESI): расч. для $\text{C}_{57}\text{H}_{70}\text{ClIN}_8\text{O}_{13}$ – $[\text{M} + \text{H}]^+$ 1237,3868; 1237,3873.

2.13. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также данные ESI-MS и HRMS [^{127}I]PSMA- p-IB/ Соединение 22

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6 , δ): 12,74–11,94 (уш.с, 3H, COOH), 8,54–8,45 (м, 1H, X7NH δ), 8,38–8,28 (м, 1H, F5NH), 8,26–8,15 (м, 1H, F6NHmn + 2), 7,93 (т, J = 5,4 Гц, м) и 7,90 (т, J = 5,4 Гц, н) (1H, X3NH ζ , м + н), 7,86–7,81 (м, 2H, 3), 7,68–7,58 (м, 3H, X7NH + 2), 7,41–7,09 (м, 14H, X8H δ n + X8H ϵ n + X8H δ m + X8H ϵ m + F6H ϵ + F6H δ + X8H η mn + F5H ϵ + F6H ζ + F5H ζ + F5H δ + X8H γ mn), 6,37–6,23 (м, 2H, K2NHm + K2NHn + E1NHm + E1NHn), 4,54 (с, н) и 4,47 (с, м) (2H, X8H α , м + н), 4,44–4,35 (м, 1H, F6H α), 4,35–4,27 (м, 1H, F5H α), 4,14–3,98 (м, 2H, E1H α + K2H α m + K2H α n), 3,26–2,84 (м, 11H, K2H ϵ mn + X7H γ (a)) + F6H β (a) + X7H γ (b) + X3H ϵ (mn) + F6H β (b) + X7H α + F5H β (a)), 2,70–2,60 (м, 1H, F5H β (b)), 2,40–2,10 (м, 8H, X3H α m + X4H β mn + E1H γ + X4H α mn + X3H α n), 1,97–1,85 (м, 1H, E1H β (a)), 1,76–1,11 (м, 15H, E1H β (b) + X7H β + K2H β (a) + X3H β + K2H β (b) + X3H δ + K2H δ + K2H γ + X3H γ , м + н). ^{13}C ЯМР (100 МГц, ДМСО- d_6 , δ): 174,57 (K2C(n)), 174,54 (K2C(m)), 174,25 (E1C(mn)), 173,82 (E1C δ), 172,80 (X4C γ (n)), 172,75 (X4C γ (m)), 172,16 C), 171,53 (X4C(mn)), 171,17 (F5C), 170,76 (F6C), 165,51 (5), 157,28 (U), 141,23 (X8C β (м)), 140,83 (X8C β (н)), 139,68 (6), 138,11 (F6C γ), 138,01 (F5C γ), 137,19 (3), 133,97 (2), 133,42 (X8C ζ (н)), 133,07 (X8C ζ (м)), 130,61 (X8C δ (н)), 130,25 (X8C δ (м)), 129,06 (F6C δ + F5C δ), 128,19 (F6C ϵ), 128,08 (F5C ϵ), 127,21 (X8C η (м)), 127,14 (X8C ϵ (н)), 126,85 (X8C ϵ (м)), 126,31 (F6C ζ + X8C η (н)), 126,25 (F5C ζ), 126,09 (X8C γ (м)), 124,97 (X8C γ (н)), 98,73 (1), 54,96 (F5C α), 54,45 (F6C α), 52,29 (K2C α (н)), 52,16 (K2C α (м)), 51,68 (E1C α), 49,65 (X8C α (н)), 47,17 (X8C α (м)), 46,89 (K2C ϵ (м)), 45,33 (K2C ϵ (н)), 38,67 (X3C ϵ (м)), 38,60 (X3C ϵ (н)), 37,09 (F5C β), 36,88 (X7C γ + F6C β), 36,55 (X7C α), 32,28 (X3C α (н)), 31,86 (X3C α (м)), 31,81 (K2C β), 30,67 (X4C α), 30,56 (X4C β), 30,01 (E1C γ), 29,07 (X3C δ (м)), 28,95 (X3C δ (н)), 28,87 (X7C β), 27,80 (K2C δ (м)), 27,60 (E1C β), 26,70 (K2C δ (н)), 26,28 (X3C γ (м)), 26,21 (X3C γ (н)), 24,72 (X3C β (м)), 24,57 (X3C β (н)), 22,53 (K2C γ (н)) 22,34 (K2C γ (м)).

ESI-MS $C_{57}H_{70}ClIN_8O_{13}$: m/z вычислено для $[M + H]^+$: 1237,38; 1237,55. HRMS (m/z , ESI): вычислено для $C_{57}H_{70}ClIN_8O_{13}-[M + H]^+$ 1237,3868; 1237,3890.

3. Характеристика *in vitro* и исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

3.1. Методы

3.1.1. Специфичность связывания радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

В этой работе тест на специфичность связывания был проведен в отношении экспериментальных радиофармпрепаратов $[^{123}I]PSMA-p-IB$ и $DARPin [^{123}I]I-(HE)_3-G3$. Тест на специфичность связывания $[^{123}I]PSMA-p-IB$ был проведен с использованием двух линий клеток рака простаты человека, PSMA-положительных PC-3 PIP и PSMA-отрицательных PC-3. Между тем, тест на специфичность связывания $DARPin [^{123}I]I-(HE)_3-G3$ был проведен с использованием линий клеток опухоли человека с различными уровнями экспрессии HER2/neu: SK-BR-3 (клетки рака молочной железы), SKOV-3 (клетки рака яичников человека), PC-3 (клетки рака предстательной железы).

Тест на специфичность связывания обоих радиофармпрепаратов проводился следующим образом: за один день до эксперимента засевали чашки, содержащие приблизительно $0,7 \times 10^6$ клеток на чашку. Для каждой клеточной линии использовали наборы чашек. К одному набору чашек (три чашки) для каждой клеточной линии добавляли 100–500-кратный молярный избыток немеченого белка для насыщения активных рецепторов за 30 мин до добавления радиофармпрепаратов. Равный объем полной среды добавляли в другой набор чашек для каждой клеточной линии. Затем клетки инкубировали с несколькими молями $[^{123}I]PSMA-p-IB$ или $DARPin [^{123}I]I-(HE)_3-G3$ в течение 1 ч при 37 °C. После инкубации собирали среду и 1 мл раствора PBS, использованного для промывки чашки. Клетки отделяли обработкой 500 мкл трипсина и инкубировали в течение 10 мин при 37 °C, а затем собирали в пробирки.

Радиоактивность, связанную с клетками, измеряли с помощью гамма-счетчика и отображали в виде процента от активности, связанной с клетками.

3.1.2. Сродство связывания радиофармпрепаратов, меченных иодом-123, с рецепторами

В этой работе сродство связывания [^{123}I]PSMA-p-IB с клетками PC-3 PIP и DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 с клетками SKOV-3 измерялось с помощью константы равновесной диссоциации (K_D) с использованием экспериментов по связыванию с насыщением, которые были ранее описаны [125]. В этом эксперименте использовались несколько концентраций в диапазоне от $\sim 0,1 \times K_D$ до $\sim 10 \times K_D$. Для каждой концентрации использовались три чашки для исследования специфического связывания и одна чашка с клеточной культурой использовалась для оценки неспецифического связывания через процесс блокирования рецепторов. После 4-часовой инкубации при 4 °C из каждой чашки извлекали среду, содержащую радиоактивный раствор. Затем чашки промывали PBS пять раз. Затем клетки трипсинизировали 500 мкл на чашку трипсина-ЭДТА (10 мин при 37 °C), и в каждую чашку добавляли 1 мл среды. Объем образца 40 мкл собирали и помещали в счетчик клеток, в то время как в оставшемся растворе образца измеряли радиоактивность с помощью гамма-счетчика.

3.1.3. Методы исследования на животных радиофармпрепаратов, меченных иодом-123

Исследования на животных были спланированы и проведены в соответствии с рекомендациями Российской Федерации по содержанию и использованию животных. Описанные процедуры были одобрены Этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета, Томск, Россия (код протокола 2, 20220927).

Биораспределение [^{123}I]PSMA-p-IB у здоровых мышей оценивалось у самок мышей линии CD1 через 4 часа после инъекции (p.i.). Для этого 4 самкам

мышей CD1 (возрастом 6 недель) внутривенно (в хвостовую вену) вводили 40 кБк (80 пмоль) [^{123}I]PSMA-p-IB в 100 мкл PBS с 10% этанола. Во время эксперимента средний вес мышей составлял $31,8 \pm 3,6$ г. Перед вскрытием мышей подвергали эвтаназии путем смещения шейных позвонков. Органы и ткани собирали и взвешивали, а активность измеряли с помощью автоматического гамма-спектрометра. Поглощение активности рассчитывали как процент от введенной дозы на грамм образца (%ID/г).

3.1.4. Целевые свойства [^{123}I]I-(HE)₃-G3 in vivo у иммунодефицитных мышей Nu/j

Для подтверждения целевых свойств [^{123}I]I-(HE)₃-G3 in vivo использовались иммунодефицитные мыши линии Nu/j, которым были привиты опухоли человека SKOV-3 с высокой экспрессией HER2/neu и Ramos с отрицательной экспрессией HER2/neu. Самкам мышей подкожно вводили 10^6 клеток SKOV-3 или Ramos в 100 мкл культуральной среды. Исследование проводили через 4 часа после инъекции (п.и.). После эвтаназии с помощью техники цервикальной дислокации органы собирали и взвешивали, а активность измеряли с помощью автоматического гамма-спектрометра. Активность поглощения рассчитывали как процент дозы, введенной на грамм образца (%ID/г).

3.2. Результаты и обсуждение

3.2.1. Изучение радиофармпрепарата [^{123}I]PSMA-p-IB

Специфичность связывания [^{123}I]PSMA-p-IB с клетками in vitro

В лабораторных условиях был проведен анализ связывания с клетками для оценки сродства [^{123}I]PSMA-p-IB к линиям клеток PC-3 PIP (PSMA-положительным) и PC-3 (PSMA-отрицательным). Результаты показаны на рисунке Д8. Сродство связывания [^{123}I]PSMA-p-IB с PC-3 PIP было значительно выше ($p < 0,0001$; непарный двухсторонний t-тест) по сравнению с клетками PC-3. Чтобы изучить селективность [^{123}I]PSMA-p-IB по отношению к

рецептору, мы провели эксперимент, в котором блокировали рецепторы путем добавления избытка немеченого лиганда PSMA, который был в 500 раз больше по молярной концентрации. Когда активный сайт PSMA был частично заполнен лигандом PSMA, который не был помечен, клетки PC-3 PIP, экспрессирующие PSMA, показали значительное снижение ($p = 0,0002$) накопления [^{123}I]PSMA-p-IB. Однако, не было никакой статистически значимой разницы ($p < 0,05$) между неблокированными и блокированными отрицательными PSMA-экспрессирующими клетками PC-3. Это указывает на то, что [^{123}I]PSMA-p-IB показал незначительное неспецифическое накопление в отрицательных PSMA-экспрессирующих клетках PC-3.

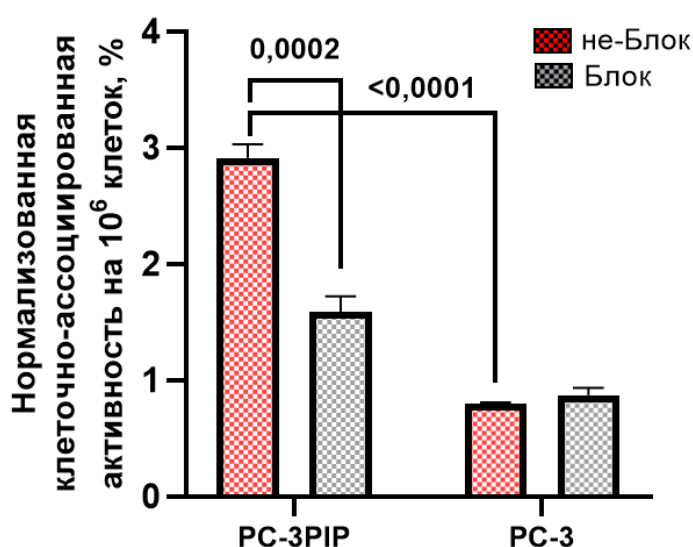


Рисунок Д8 – Специфичность связывания [^{123}I]PSMA-p-IB. Для блокирования рецепторов к блокируемым группам добавляли 500-кратный молярный избыток немеченого лиганда PSMA. Конечная концентрация радиоактивно меченого соединения составила 1 нМ.

Сродство [^{123}I]PSMA-p-IB к связыванию рецепторов *in vitro*

Сродство связывания [^{123}I]PSMA-p-IB оценивали с использованием клеток PC-3 PIP. На рисунке Д9 представлен эксперимент по насыщению [^{123}I]PSMA-p-IB на клетках PC-3 PIP. Константа равновесной диссоциации (K_D) для [^{123}I]PSMA-p-IB была определена как 103 ± 30 нМ. Константа равновесной диссоциации оставалась в наномолярном диапазоне. Измерение аффинности

показало, что $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ демонстрирует значительное связывание с клетками, экспрессирующими PSMA.

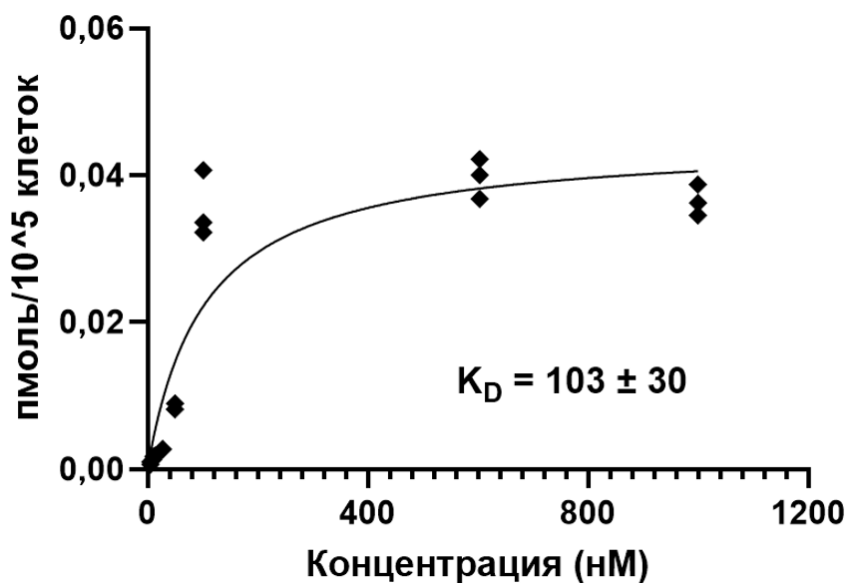


Рисунок Д9 – Средство связывания $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ на клетках PC-3 PIP

Биораспределение $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ у здоровых мышей

Поскольку $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-PSMA-617}$ продемонстрировал обнадеживающие результаты в клинических испытаниях, биораспределение $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ у здоровых мышей сравнивалось с биораспределением $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-PSMA-617}$. На рисунке Д10 показано прямое сравнение распределения $[^{123}\text{I}]\text{PSMA-p-IB}$ и $[^{177}\text{Lu}]\text{Lu-PSMA-617}$ у здоровых мышей.

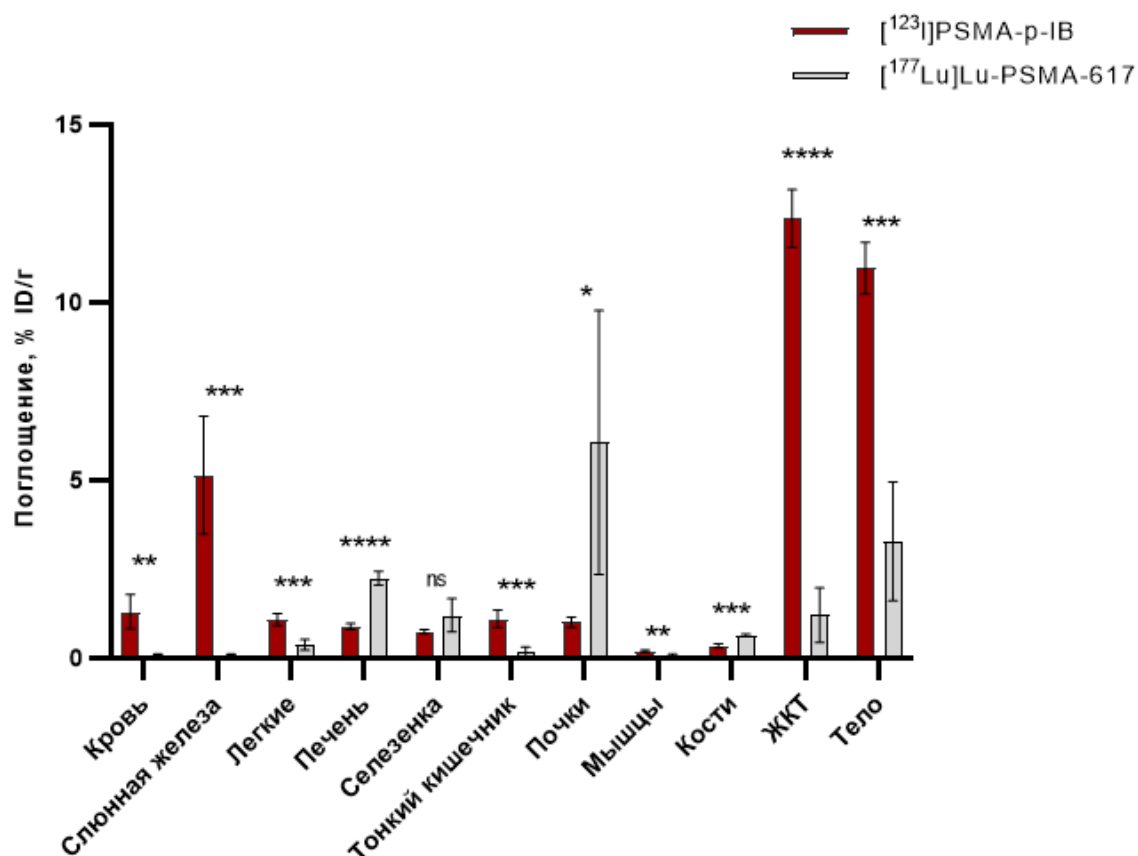


Рисунок Д10 – Биораспределение [¹²³I]PSMA-p-IB и [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 у мышей линии CD1 через 4 часа после инъекции (p.i.). Данные по желудочно-кишечному тракту (включая содержимое) и телу представлены как %ID на весь образец. ns обозначает $p > 0,05$, * обозначает $p \leq 0,05$, ** обозначает $p \leq 0,01$, *** обозначает $p \leq 0,001$ и **** обозначает $p \leq 0,0001$. Сравнительное исследование проводилось с помощью непарных двусторонних t-критериев (95% доверительный интервал).

Биораспределение [¹²³I]PSMA-p-IB через 4 часа после инъекции мышам CD1 демонстрирует минимальное накопление в большинстве нормальных органов, за исключением слюнных желез, желудочно-кишечного тракта и остальных тканей организма. Были отмечены заметные изменения в абсорбции [¹²³I]PSMA-p-IB и [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 в нескольких здоровых органах. Минимальные уровни обоих лигандов наблюдались в мышцах и костях. Тем не менее, было показано, что абсорбция [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 в мышцах ($0,1 \pm 0,1$ %ID/g) была значительно снижена по сравнению с абсорбцией [¹²³I]PSMA-p-IB ($0,2 \pm 0,0$ %ID/g). С другой стороны, накопление [¹²³I]PSMA-p-IB в костях

было заметно ниже по сравнению с накоплением [^{177}Lu]Lu-PSMA-617, со значениями $0,3 \pm 0,1$ и $0,6 \pm 0,1$ %ID/г соответственно. Активность [^{123}I]PSMA-p-IB в крови составила $1,3 \pm 0,5$ %ID/г. Поглощение этого вещества было значительно больше, чем поглощение [^{177}Lu]Lu-PSMA-617, которое составило $0,1 \pm 0,0$ %ID/г.

Активность крови в эксперименте [^{123}I]PSMA-p-IB была обусловлена наличием PSMA-p-TBSB, меченого ^{123}I . Эта меченая не является остаточной и, как полагают, вызывает быстрое выведение радиометаболитов. Более того, липофильная природа этого лиганда может привести к его сродству к связыванию с белками в кровотоке. Было отмечено накопление в слюнных железах $5,2 \pm 1,7$ %ID/г [^{123}I]PSMA-p-IB. Значение было намного больше, чем накопление [^{177}Lu]Lu-PSMA-617 в том же органе, которое составило $0,1 \pm 0,0$ %ID/г. Накопление [^{123}I]PSMA-p-IB может быть связано с присутствием катаболитов радиоактивного иода. Общая активность в желудочно-кишечной системе, включая ее содержимое, для [^{123}I]PSMA-p-IB составила $12,4 \pm 0,8$ %ID/г. Напротив, активность в тонком кишечнике составила $1,1 \pm 0,2$ %ID/г. Между тем, присутствие [^{177}Lu]Lu-PSMA-617 во всем желудочно-кишечном тракте (включая его содержимое) составило $1,2 \pm 0,8$ %ID/г, тогда как в тонком кишечнике оно составило $0,2 \pm 0,1$ %ID/г.

Исследование показало, что накопление [^{123}I]PSMA-p-IB в печени ($0,9 \pm 0,1$ %ID/г) было значительно ниже, чем у [^{177}Lu]Lu-PSMA-617 ($2,3 \pm 0,2$ %ID/г), что дало замечательные результаты. Кроме того, наблюдалось несоответствие в накоплении радиолигандов в почках, при этом поглощение [^{123}I]PSMA-p-IB ($1,0 \pm 0,1$ %ID/г) было намного ниже, чем поглощение [^{177}Lu]Lu-PSMA-617 ($6,1 \pm 3,7$ %ID/г).

3.2.2. Изучение радиофармпрепарата [^{123}I]I-(HE)₃-G3

Специфичность связывания клеток *in vitro* [^{123}I]I-(HE)₃-G3

Оценка специфичности связывания [^{123}I]I-(HE)₃-G3 с рецептором HER2/neu проводилась на линиях опухолевых клеток человека с различным

уровнем экспрессии HER2/neu: SK-BR-3 (клетки рака молочной железы), SKOV-3 (клетки рака яичников человека), PC-3 (клетки рака предстательной железы) по ранее описанной методике [132]. Эксперимент проводился путем блокирования рецепторов немеченым DARPIn G3. Исследование специфичности [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 показало, что связывание происходит на высоком уровне и пропорционально уровню экспрессии HER2/neu в клетках, тогда как при блокировке рецепторов избытком немеченого белка наблюдается статистически значимое снижение связывания в клетках (Рисунок Д11).

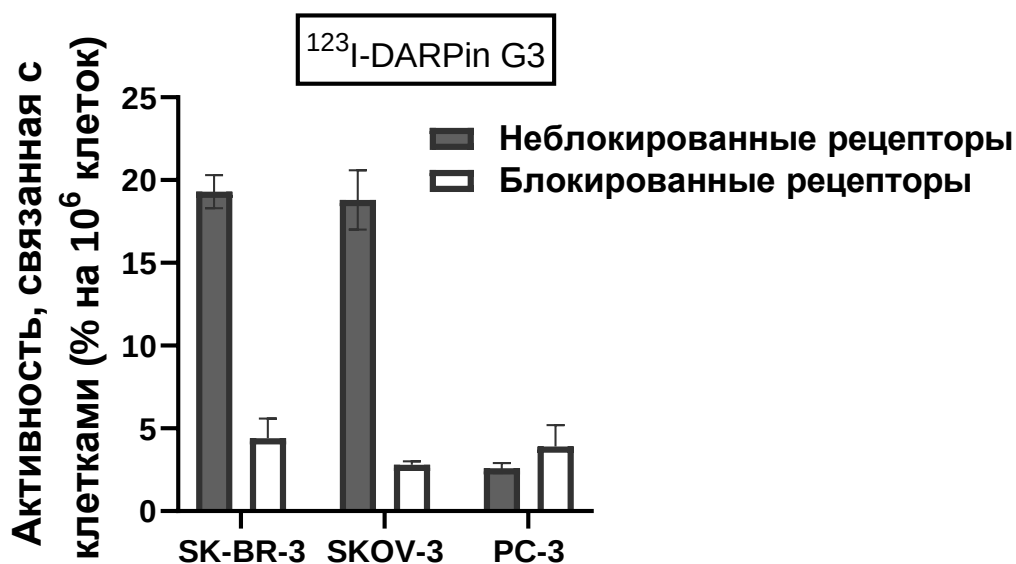


Рисунок Д11 – Специфичность связывания DARPIn [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3. Для блокирования к блокируемым группам добавляли молярный избыток немеченого DARPIn G3.

Сродство DARPIn [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 к рецептору, связывающему его *in vitro*

Определение аффинности связывания с рецепторами HER2/neu DARPIn [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 проводили методом насыщения [125] в диапазоне от 0,2 до 40 нМ. Было установлено, что DARPIn [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 связывается с рецепторами HER2/neu на поверхности клеток SKOV-3 с константой диссоциации в наномолярном значении ($3,2 \pm 0,5$ нмоль) (рисунок Д12).

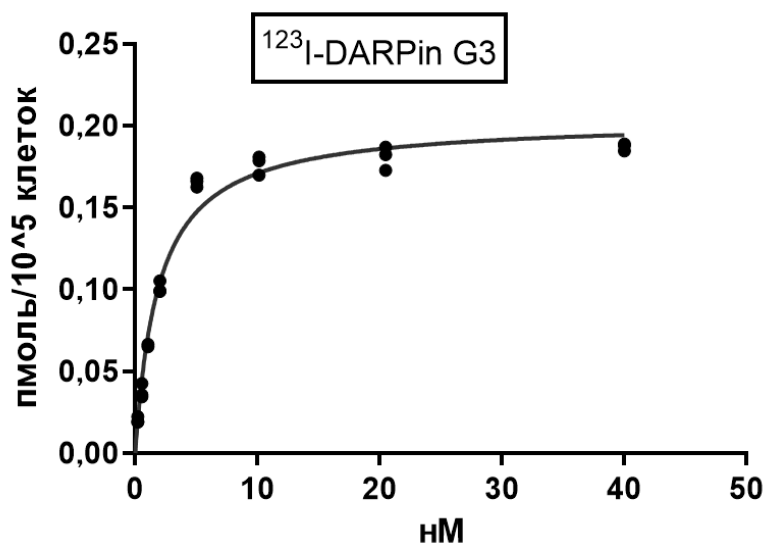


Рисунок Д12 – Сродство связывания DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 в SKOV-3

Целевые свойства [^{123}I]I-(HE)₃-G3 in vivo у мышей с иммунодефицитом линии Nu/j

Для подтверждения целевых свойств DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 in vivo использовались иммунодефицитные мыши Nu/j с привитыми человеческими опухолями SKOV-3 с высокой экспрессией HER2/neu и Ramos с отрицательной экспрессией HER2/neu.

Результаты исследования DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 in vivo на ксенотрансплантатах SKOV-3 и Ramos представлены на рисунке Д13. Поглощение DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 в опухолях SKOV-3 было значительно ($p < 0,005$) выше, чем в опухолях Ramos. Это подтверждает, что DARPin [^{123}I]I-(HE)₃-G3 функционально пригоден для диагностики опухолей с экспрессией HER2/neu.

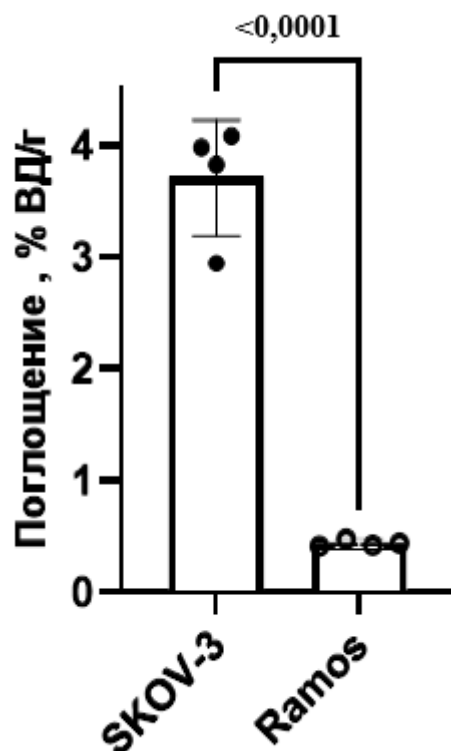


Рисунок Д13 – Целевые свойства [^{123}I]I-(HE) $_3$ -G3 in vivo в отношении опухолей человека SKOV-3 с высокой экспрессией HER2/neu и Ramos с отрицательной экспрессией HER2/neu.

Таким образом, предлагаемый способ получения радиохимического соединения на основе меченных иодом-123 рекомбинантных целевых молекул белковой природы с анкириновыми повторами позволяет расширить арсенал технических средств для получения радиохимических соединений на основе целевых молекул белковой природы с анкириновыми повторами для визуализации рака со сверхэкспрессией HER2/neu.