

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ИМ. Н.П. БЕХТЕРЕВОЙ РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК  
(ИМЧ РАН)

*На правах рукописи*



**Орловская Виктория Владимировна**

**Новый алгоритм радиотрирования алифатических субстратов с  
использованием нейтрального межфазного катализатора в  
автоматизированном синтезе радиофармпрепаратов для позитронной  
эмиссионной томографии**

Специальность 1.4.13– радиохимия

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата технических наук

Научный руководитель:  
Кандидат химических наук  
Красикова Раиса Николаевна

Санкт-Петербург 2025

## Оглавление

<b>Введение</b> .....	4
<b>Глава 1. Литературный обзор</b> .....	15
1.1. Позитронная эмиссионная томография, принцип метода.....	15
1.2. ПЭТ радионуклиды.....	17
1.2.1. Циклотронные ПЭТ радионуклиды.....	18
1.2.2. Генераторные ПЭТ радионуклиды.....	22
1.3. Фтор-18 – основной ПЭТ радионуклид.....	25
1.4. Методы получения фтора-18.....	26
1.5. Синтез РФЛП методом электрофильного радиофторирования.....	27
1.6. Синтез РФЛП методом нуклеофильного радиофторирования.....	31
1.6.1. Нуклеофильное ароматическое радиофторирование.....	36
1.6.2. Нуклеофильное алифатическое радиофторирование.....	39
1.7. Заключение.....	47
<b>Глава 2. Экспериментальная часть</b> .....	48
2.1. Реагенты и материалы.....	48
2.2. Оборудование.....	50
2.3. Получение [ <sup>18</sup> F]фторида в водной мишени циклотрона.....	53
2.4. Синтез [ <sup>18</sup> F]1а-[ <sup>18</sup> F]4а, [ <sup>18</sup> F]6а и [ <sup>18</sup> F]7а на Модуле ИМЧ РАН.....	53
2.4.1. Получение активированного комплекса Вu <sub>4</sub> N[ <sup>18</sup> F]F на модуле ИМЧ РАН .....	53
2.4.2. Радиофторирование 1-4, 6 и 7.....	53
2.5. Синтез РФЛП на модуле TRACERlab FX N Pro.....	54
2.5.1. Получение активированного комплекса Вu <sub>4</sub> N[ <sup>18</sup> F]F на модуле TRACERlab FX N Pro.....	54
2.5.2. Получение [ <sup>18</sup> F]ФЭТ.....	54
2.5.3. Получение [ <sup>18</sup> F]ФЭС.....	55
2.5.4. Получение [ <sup>18</sup> F]ФЛТ.....	56

2.6. Определение радиохимической конверсии, радиохимического выхода, радиохимической и химической чистоты.....	57
2.7. Определение эффективности элюирования.....	59
<b>Глава 3. Результаты и их обсуждение.....</b>	<b>61</b>
3.1. Выбор межфазного катализатора для получения активированного комплекса фтора-18.....	61
3.2. Получение активированного комплекса $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ на модуле ИМЧ РАН.....	63
3.2.1. Метод А - «обратное элюирование».....	64
3.2.2. Метод Б - «прямое элюирование».....	69
3.3. Синтез РФЛП на модуле TRACERlab FX N Pro при использовании Метода Б.....	72
3.3.1. Получение активированного комплекса $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ на модуле TRACERlab FX N Pro.....	76
3.3.2. Разработка синтеза $^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ .....	77
3.3.3. Разработка синтеза $^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$ .....	82
3.3.4. Разработка синтеза $^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ .....	90
<b>Выводы.....</b>	<b>99</b>
<b>Список используемых сокращений и условных обозначений.....</b>	<b>102</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>103</b>
<b>Приложение А.....</b>	<b>120</b>
<b>Приложение Б.....</b>	<b>125</b>

## Введение

### Актуальность темы

Ранняя диагностика заболеваний и выявление критических состояний, предшествующих их развитию, а также понимание процессов, лежащих в основе различных патологий, является важнейшей задачей современной медицины. Для ее решения идеально подходит позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) - наиболее информативный метод медицинской визуализации, входящий в группу методов ядерной медицины (радионуклидной диагностики). ПЭТ представляет огромные возможности для *in vivo* изучения важнейших биохимических и физиологических процессов, таких, как метаболизм, перфузия, нейротрансмиттерные и рецепторные взаимодействия в норме и патологии за счёт использования высокоспецифичных радиотрейсеров (радиофармацевтических лекарственных препаратов - РФЛП), в состав которых входят короткоживущие радионуклиды с позитронным типом распада. Современный этап развития ПЭТ характеризуется интенсивным использованием РФЛП на основе наиболее долгоживущего из циклотронных ПЭТ радионуклидов, фтора-18 ( $T_{1/2}$  110 мин), ядерно-физические характеристики которого практически идеально подходят для ПЭТ. В случае фтора-18 достигается наиболее высокое пространственное разрешение, что обусловлено низкой энергией испускаемых позитронов (0,635 МэВ) и, соответственно, их минимальным пробегом в клетке (2,4 мм). Относительно большой по сравнению с другими циклотронными ПЭТ радионуклидами ( $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$  и  $^{11}\text{C}$ ) период полураспада фтора-18 позволяет осуществлять сложные радиохимические синтезы и доставлять РФЛП на достаточно большие расстояния в центры, не оборудованные собственным циклотроном и радиохимической лабораторией. В настоящее время число устанавливаемых в мире (и в России) ПЭТ сканнеров превышает число устанавливаемых циклотронов, и в данной ситуации именно РФЛП на основе фтора-18 наиболее востребованы в клинической практике.

Важную роль играет и удобный способ получения фтора-18 по реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  при облучении воды- $^{18}\text{O}$  в водной мишени циклотрона протонами средних энергий. Радионуклид стабилизируется в химической форме  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$ , используемой в синтезе радиотрейсеров методом нуклеофильного радиофторирования алифатических и ароматических субстратов. Первой и важнейшей стадией синтеза является выделение  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$  из облученной воды- $^{18}\text{O}$  и образование реакционноспособного комплекса с межфазным катализатором (МФК) для участия в реакции нуклеофильного радиофторирования в апротонных растворителях. Для этого  $[^{18}\text{F}]\text{фторид}$  удерживают на анионообменном сорбенте с последующим элюированием раствором МФК в водно-органических смесях. Критичным для нуклеофильного радиофторирования является максимально полное удаление воды в составе элюента, что достигается азеотропной отгонкой с ацетонитрилом. В последние годы активно ведутся исследования по использованию новых МФК и органических растворителей в протоколах сорбции/элюирования, с целью увеличения эффективности радиофторирования, а также сокращения времени синтеза за счет исключения стадии азеотропной сушки и, в конечном итоге, оптимизации процесса автоматизации. Большинство клинически значимых РФЛП на основе фтора-18 получают методом нуклеофильного замещения «уходящей» группы алифатических субстратов, которое обычно проводится в присутствии аминополиэфира криптофикса (K222) и карбоната калия, образующих с  $[^{18}\text{F}]\text{фторидом}$  реакционноспособный комплекс  $[\text{K}/\text{K222}]^{+}[^{18}\text{F}]\text{F}^{-}$ . Несмотря на широкое использование данного МФК, предложенного в 80-е годы прошлого века, щелочные условия реакции радиофторирования рассматриваются в качестве причины разложения алифатического предшественника за счет протекания побочного процесса элиминирования «уходящей» группы и, в итоге, снижения эффективности радиофторирования. Для достижения высокого радиохимического выхода (РХВ) приходится использовать неоправданно большие количества дорогостоящих предшественников, что снижает экономическую эффективность производства РФЛП. Более того, для чувствительных к присутствию основания субстратов и

соответствующих радиотрейсеров отмечается образование как радиоактивных, так и нежелательных нерадиоактивных примесей, удаление которых требует более сложных методов очистки и автоматизации на конечной стадии синтеза РФЛП. Таким образом, использование новых типов МФК, обеспечивающих близкие к нейтральным условия введения метки в алифатические субстраты, и разработка на этой основе новых алгоритмов радиофторирования с применением в автоматизированных технологиях производства, наиболее востребованных РФЛП для ПЭТ, является актуальным.

### **Цель и задачи работы**

С учётом сказанного выше, целью настоящей работы являлась разработка алгоритма введения фтора-18 в алифатические группы молекул предшественников для синтеза РФЛП методом нуклеофильного фторирования с использованием нового МФК.

Для достижения данной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. На основе анализа литературных данных выбрать МФК, обеспечивающий близкие к нейтральным условия реакции алифатического нуклеофильного замещения «уходящей» группы в составе биологически активных молекул – предшественников в синтезе РФЛП для ПЭТ;
2. Изучить процессы элюирования  $[^{18}\text{F}]$ фторида, сорбированного на анионообменном картридже, с целью разработки протокола, обеспечивающего десорбцию радионуклида растворами выбранного МФК в неводных растворителях и последующее получение реакционноспособного комплекса с  $[^{18}\text{F}]$ фторидом, минуя традиционную стадию азеотропной отгонки растворителей, исследовать влияние количества МФК на эффективность элюирования;
3. Предложить варианты адаптации нового протокола сорбции/элюирования в модули автоматизированного синтеза с различными конструкционными особенностями;

4. Изучить влияние количеств реагентов в реакции алифатического нуклеофильного радиофторирования модельных соединений и предшественников для синтеза важнейших РФЛП, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС и [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ, с выбранным МФК на радиохимический выход и определить оптимальные условия синтеза для каждого РФЛП;

5. Адаптировать новый разработанный алгоритм синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС и [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ в автоматизированный модуль GE TRACERlab FX N Pro в ИМЧ РАН, разработав для каждого РФЛП экспресс методы очистки на одноразовых картриджах для твердофазной экстракции.

### **Научная новизна работы**

1. Впервые в качестве нейтрального МФК для введения фтора-18 в биологически активные молекулы методом алифатического нуклеофильного радиофторирования предложено использовать тетра-н-бутиламмоний тозилат,  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ . Разработан новый эффективный протокол элюирования [ $^{18}\text{F}$ ]фторида, сорбированного на анионообменной смоле, спиртовым раствором  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ , для получения реакционноспособного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ , минуя традиционные стадии азеотропной отгонки растворителей;

2. Впервые показано, что использование  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  и полученного  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  в реакции алифатического нуклеофильного замещения с различными уходящими группами позволяет существенно снизить исходные количества субстрата (0,5-1,1 мкмоль в сравнении с 3-80 мкмоль по литературным данным) при сохранении высокой радиохимической конверсии (РХК) (70 - 95%);

3. Эффективность нового алгоритма введения фтора-18 на основе нейтрального МФК в алифатические субстраты подтверждена в реакции радиофторирования семи предшественников, для каждого из которых определены оптимальные для достижения высокой РХК количества реагентов;

4. Разработанные подходы положены в основу создания автоматизированных методов получения трех РФЛП  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  и  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  на широко применяемой в России и за рубежом платформе TRACERLab FX N Pro (GE Health care);

5. За счет использования минимальных количеств предшественников, и, соответственно, снижения количества химических примесей, в автоматизированные технологии синтеза трех РФЛП успешно внедрены методы очистки с помощью твердофазной экстракции, позволившие сократить время синтеза и упростить процесс автоматизации.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

1. Разработаны два подхода к процессу десорбции фтора-18 спиртовыми растворами  $\text{Cu}_4\text{NOTs}$ , учитывающие конструкторские особенности различных автоматизированных модулей синтеза. Один из них адаптирован к современному автоматизированному модулю синтеза TRACERlab FX N Pro (General Electric, США), тем самым обеспечивая возможность его использования в автоматизированном синтезе РФЛП, получаемых реакцией алифатического нуклеофильного радиофторирования;

2. На основе протокола сорбции/элюирования  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$  разработан соответствующий алгоритм радиохимического синтеза в применении к трем важнейшим РФЛП для онкодиагностики:  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ ;

3. Ввиду использования малых количеств реагентов (как предшественника, так и МФК) для выделения конечного продукта из реакционной смеси применены методы твердофазной экстракции (ТФЭ) на одноразовых картриджах, что дает преимущества при автоматизации процесса синтеза вышеперечисленных РФЛП;

4. Разработаны и утверждены лабораторные регламенты автоматизированного синтеза двух РФЛП -  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  и  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  – на модуле TRACERlab FX N Pro (General Electric, США); данные РФЛП производились в клинически значимых

дозах и использовались при проведении ПЭТ исследований пациентов в ИМЧ РАН в рамках клинических испытаний.

### **Методология и методы исследования**

В работе использован комплекс представленных ниже физико-химических методов и подходов, традиционно применяемых для радиохимического анализа меченых соединений. Радиохимическая конверсия определялась методом радиотонкослойной хроматографии (радиоТСХ) на сканере Scan-RAM (LabLogic, Sheffield, Великобритания). Идентификация и оценка радиохимической чистоты осуществлялась с помощью аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Dionex ISC-5000 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA), снабженном краном-дозатором Rheodyne 7125, УФ-детектором (254 нм) и последовательно соединенным с ним детектором по радиоактивности Carrol and Ramsey Associates, CA, USA, модель 105-S. Все реакции радиофторирования проводились на сконструированном в ИМЧ РАН полуавтоматическом модуле с дистанционным управлением. Внедрение разработанной технологии осуществляли в модуль синтеза для нуклеофильного радиофторирования - TRACERlab FX N Pro (GE Healthcare).

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Методика десорбции фтора-18 с анионообменных сорбентов с помощью спиртовых растворов нового МФК,  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ , с эффективностью элюирования  $>90\%$ .
2. Методика получения реакционноспособного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ , сокращающая время синтеза РФЛП на 5-10 мин за счет исключения традиционные стадии азеотропной отгонки растворителей.
3. Методика алифатического нуклеофильного радиофторирования предшественников реакционноспособным комплексом  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ , позволяющая

существенно снизить исходные количества субстрата (0,5-1,1 мкмоль в сравнении с 3-80 мкмоль по литературным данным) при сохранении высокой радиохимической конверсии (70 - 95%).

4. Автоматизированные технологии синтеза трех важнейших РФЛП для онкодиагностики: [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ на модуле TRACERlab FX N Pro – с использованием  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  в качестве МФК, позволяющего существенно снизить количества предшественников и, таким образом, химических примесей, и применить на стадии очистки экспресс метод твердофазной экстракции, обеспечивающий высокую химическую и радиохимическую чистоту препаратов и соответствие с требованиями Фармакопеи.

### **Личный вклад автора**

Заключается в анализе литературных данных, планировании и постановке эксперимента. Автор принимал непосредственное участие в интерпретации экспериментальных данных и подготовке всех публикаций.

### **Апробация работы**

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в виде 6 научных статей в журналах, рекомендованных ВАК; разработанные методики внедрены в рутинный синтез РФП в ИМЧ РАН с подготовкой лабораторного регламента производства; результаты работы были представлены на российских и международных конференциях в виде стендовых и устных докладов:

1. II Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов» Радиофарма-2017» (г. Москва, 2017).
2. Международная конференция «Радиофарма 2019: Актуальные проблемы разработки производства и применения радиофармацевтических препаратов» (г. Москва, 2019).

3. International Symposium on Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2019, Vienna, Austria).
4. International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS 2019, Beijing, China, 2019).
5. МОБИ-ХимФарма 2020: VI Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (г. Нижний Новгород, 2020).
6. X российская конференция с международным участием “Радиохимия 2022” (г. Санкт-Петербург, 2022).

#### Список работ, опубликованных автором по теме диссертации:

1. **В.В. Орловская**, О.С. Федорова, Р.Н. Красикова. Методы синтеза меченных фтором-18 ароматических аминокислот, радиотрейсеров для позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) // Известия Академии наук, серия химическая 2015. № 7, С. 1518-1535.
2. **Orlovskaya V**, Fedorova O, Nadporojskii M, Krasikova R. A fully automated azeotropic drying free synthesis of *O*-(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine ([<sup>18</sup>F]FET) using tetrabutylammonium tosylate // Appl. Radiat. Isot. 2019. Vol. 152, P. 135-139.  
<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.07.006>
3. **V. Orlovskaya**, D. Antuganov, O. Fedorova, V. Timofeev, R. Krasikova. Tetrabutylammonium tosylate as inert phase-transfer catalyst: The key to high efficiency S<sub>N</sub>2 radiofluorinations // Appl. Radiat. Isot. 2020. Vol. 163, 109195.  
<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109195>
4. O. Fedorova, **V. Orlovskaya**, M. Nadporojskii, R. Krasikova. Automated synthesis of the 16 $\alpha$ -[<sup>18</sup>F]fluoroestradiol ([<sup>18</sup>F]FES): minimization of precursor amount and resulting benefits // Radiochimica Acta. 2020. Vol. 108, № 12, P. 979-988.  
<https://doi.org/10.1515/ract-2020-0058>

5. Fedorova O.S., **Orlovskaya V.V.**, Krasikova R.N. Automated Optimized Synthesis of [<sup>18</sup>F]FLT. Using Non-Basic Phase-Transfer Catalyst with Reduced Precursor Amount // *Molecules* 2022. Vol. 27, № 23 P. 8323-8332. <https://doi.org/10.3390/molecules27238323>

6. Krasikova R.N., **Orlovskaya V.V.** Phase transfer catalysts and role of reaction environment in nucleophilic radiofluorinations in automated synthesizers // *Applied Sciences* 2022. Vol. 12, № 1, P. 321. <https://doi.org/10.3390/app12010321>

#### **Тезисы докладов:**

1. О.С. Федорова, **В.В. Орловская**, Р.Н. Красикова. Синтез 16α-[<sup>18</sup>F]фтор-17β-эстрадиола, радиотрейсера для ПЭТ диагностики рака молочной железы. II Международной научно-практической конференции «Радиофарма-2017», секция «Производство радиофармпрепаратов в клинических ПЭТ-центрах», 27-29 июня 2017 г, г. Москва Сборник тезисов: Стр.54.

2. **В.В. Орловская**, О.С. Федорова, Р.Н. Красикова. Простой и эффективный синтез [<sup>18</sup>F]FET на модуле TRACERlab FX N Pro с использованием нового межфазного катализатора. Международная конференция «Радиофарма 2019: Актуальные проблемы разработки производства и применения радиофармацевтических препаратов», 18-21 июня 2019 г, г. Москва. Сборник тезисов: С. 14.

3. **V. Orlovskaya**, O. Fedorova, R. Krasikova. Use of tetrabutylammonium tosylate in conjunction with chiral Ni<sup>II</sup> complex precursor for automated synthesis of [<sup>18</sup>F]FET. International Symposium on Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2019), IAEA Headquarters Vienna, Austria, 28.10. – 01.11.2019, P. 196.

4. **V. Orlovskaya**, O. Fedorova, D. Antuganov, R. Krasikova. The use of methanolic solution of tetrabutylammonium tosylate in the preparation of reactive [<sup>18</sup>F]fluoride and

aliphatic radiofluorinations. J Label Compd Radiopharm 2019: 62 (Suppl. 1): S207–S208.

5. Д.О. Антуганов, В.В. Тимофеев, Р.Н. Красикова, О.С. Федорова, **В.В. Орловская**. Новый межфазный катализатор для синтеза РФП методом алифатического нуклеофильного радиофторирования. Международная конференция «Радиофарма 2019: Актуальные проблемы разработки производства и применения радиофармацевтических препаратов», 18-21 июня 2019 г, г. Москва. Сборник тезисов: С. 15.

6. О.С. Федорова, **В.В. Орловская**, М.А. Надпорожский, Р.Н. Красикова. Новый высокопроизводительный синтез 16- $\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]фтор-17 $\beta$ -эстрадиола ([ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС), радиофармпрепарата для диагностики рака молочной железы методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ). МОБИ-ХимФарма 2020: VI Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии», 27-30 сентября 2020 г, г. Нижний Новгород. Сборник тезисов: С. 109.

7. Федорова О.С., **Орловская В.В.**, Красикова Р.Н. Автоматизированный синтез 3'-дезоксидезокси-3'-[ $^{18}\text{F}$ ]фтортимидина ([ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ) с ультрамалым количеством предшественника. X российская конференция с международным участием «Радиохимия 2022», 26-30 сентября 2022 г, г. Санкт-Петербург. Сборник тезисов: С. 528.

### **Структура и объём работы**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературных данных, трех глав, содержащих основные результаты работы и выводов. Работа изложена на 126 страницах и включает 26 рисунков, 24 таблицы и 150 литературных источников.

**Диссертационная работа была выполнена** в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой Российской академии наук (ИМЧ РАН) под руководством к.х.н. Р. Н. Красиковой.

## Глава 1. Литературный обзор

### 1.1. Позитронная эмиссионная томография, принцип метода

Позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) - наиболее информативный метод медицинской визуализации, входящий в группу методов ядерной медицины (радионуклидной диагностики). Метод ПЭТ предоставляет огромные возможности для *in vivo* изучения важнейших биохимических и физиологических процессов, таких, как метаболизм, перфузия, нейротрансмиттерные и рецепторные взаимодействия в норме и патологии за счёт использования высокоспецифичных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП), в состав которых входят короткоживущие радионуклиды с позитронным типом распада. Как и другие диагностические агенты, в России РФЛП для ПЭТ отнесены к группе лекарственных средств. В сравнении с традиционными методами радионуклидной диагностики (планарная сцинтиграфия, однофотонная эмиссионная компьютерная томография - ОФЭКТ), ПЭТ обладает более высокой чувствительностью и является единственным методом, позволяющим не только выявлять локализацию патологического очага, но и определять количественные характеристики процессов с использованием фармакокинетических моделей. В современном варианте ПЭТ используется в комбинации с морфологическими методами (КТ, МРТ) [1,2] при этом “молекулярное” ПЭТ изображение накладывается на анатомическую картину структуры мозга, существенно увеличивая информативность полученных данных. Предложенный в 1975 г. для научных исследований [3,4] метод ПЭТ быстро зарекомендовал себя в качестве передовой технологии клинической диагностики [5]. В настоящее время как в мировой практике [6], так и в России [7] ПЭТ является общепризнанным диагностическим методом исследования пациентов с различными онкологическими заболеваниями. На основании данных ПЭТ проводится дифференциация злокачественных и доброкачественных новообразований и уточнение стадии роста опухоли, выявляемые рецидивы и метастазы, области некроза крайне важны при планировании и оценке

эффективности противоопухолевой терапии. В кардиологии ПЭТ является единственным методом оценки жизнеспособности миокарда, важного критерия для отбора пациентов для операций по замене кровеносных сосудов [8]. В диагностике социально значимых нейродегенеративных заболеваний (болезни Паркинсона и Альцгеймера, депрессия и др.) огромную роль играют рецепторные ПЭТ исследования мозга, где метод не имеет конкурентов благодаря исключительно высокой чувствительности и возможности получения радиотрейсеров с высокой мольной (удельной) активностью [8,9]. ПЭТ эффективно используется при разработке новых лекарственных средств, позволяя сократить как сроки клинических испытаний, так и финансовые расходы [10].

Наиболее распространённые ПЭТ-радионуклиды (кислород-15, азот-13, углерод-11 –  $T_{1/2}$  от 2 до 20 мин) являются короткоживущими изотопами биогенных элементов, а четвёртый из них - фтор-18 ( $T_{1/2}$  110 мин) - замещает в молекулах атом водорода или гидроксила. Благодаря этому число возможных РФЛП для ПЭТ практически не ограничено, что открывает огромные перспективы для диагностики. Уникальные возможности метода основаны на использовании позитронных эмиттеров: позитронный распад сопровождается образованием двух высокоэнергичных гамма-квантов аннигиляции (0,511 МэВ), испускаемых под углом  $180^\circ$ , которые регистрируются внешней системой детекторов, объединённых в систему колец томографа (Рисунок 1). Регистрация осуществляется за счёт электронной схемы совпадений (электронная коллимация) и в отличие от ОФЭКТ не требует использования свинцовых коллиматоров. Реконструкция полученных данных с помощью математического аппарата позволяет получить псевдотрёхмерное (разделённое на трансаксиальные, т.е. параллельные плоскостям колец датчиков - срезы) изображение распределения радиоактивности. Толщина среза, а также минимальная величина элементарной точки изображения (пиксела) зависят от геометрических размеров и плотности упаковки детекторов ПЭТ-камеры. Дальнейшая обработка результатов с упаковки детекторов ПЭТ-камеры. Дальнейшая обработка результатов с использованием

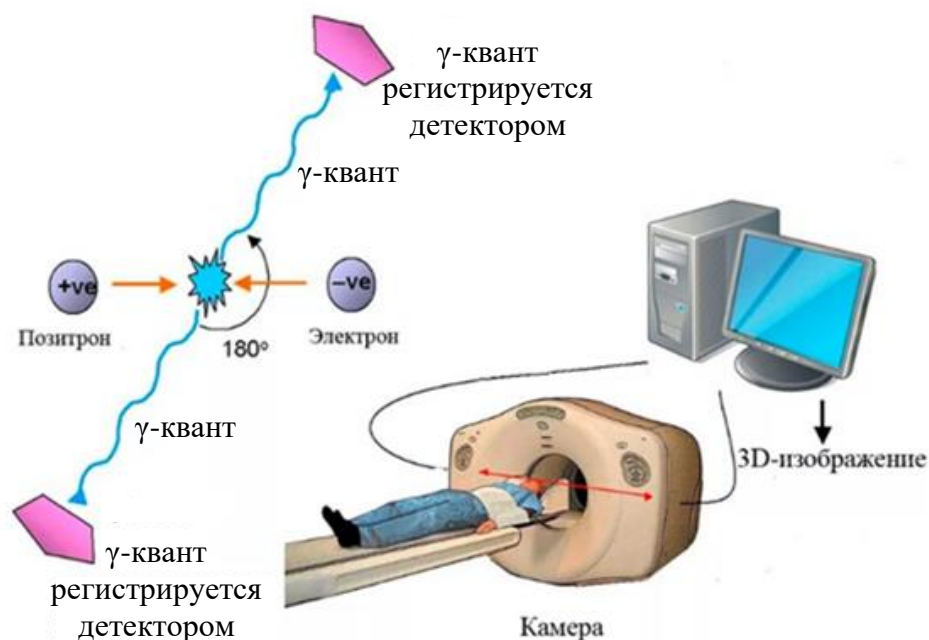


Рисунок 1- Принцип метода ПЭТ.

фармакокинетических моделей позволяет получить и количественные характеристики важнейших процессов (гликолиза, перфузии, рецепторных взаимодействий). Однако в онкодиагностике для постановки диагноза зачастую достаточно использования готовых программных пакетов обработки данных.

## 1.2. ПЭТ радионуклиды

Эффективность применения РФЛП в ПЭТ диагностике определяется с одной стороны ядерно-физическими характеристиками радионуклида и, с другой стороны, химическими и биохимическими характеристиками соединения, в состав которого вводится радионуклид. Огромную роль играют и методы получения ПЭТ радионуклидов в мишени медицинского циклотрона или изотопном генераторе, рассмотренные ниже.

### 1.2.1. Циклотронные ПЭТ радионуклиды

Традиционно в ПЭТ используются четыре короткоживущих циклотронных ПЭТ-радионуклида, основные ядерные реакции получения которых представлены в Таблице 1 [11]. Для получения ПЭТ изотопов налажено серийное производство медицинских циклотронов [12,13], большинство из которых работает по принципу ускорения отрицательных ионов. Для экстракции пучка ускоряемый поток отрицательных ионов направляется через углеродную фольгу (stripping foil), при этом теряются два электрона, и отрицательно заряженные ионы превращаются в протоны или дейтоны, инициирующие ядерные реакции в мишени циклотрона. Большинство моделей выпускается с радиационной защитой (self-shielded), и для их установки не нужны большие помещения, толстые стены и специальные коридоры-лабиринты, используемые ранее для защиты от нейтронов, выделяющихся при ядерных реакциях. Крупнейшими компаниями производителями медицинских циклотронов являются General Electric Co (США), Ion Beam Applications SA (Бельгия), ALCEN (Франция), Advanced Cyclotron Systems, Inc. (ACSI) (Канада), Ionetix Corp. (США) и др. В России разработкой и производством циклотронов занимается акционерное общество «НИИЭФА им. Д.В. Ефремова».

Таблица 1 - Ядерно-физические характеристики основных циклотронных ПЭТ-радионуклидов

Радио нуклид	T <sub>1/2</sub> , мин	Тип распада, (%)	Ядерная реакция получения	E <sub>max</sub> β <sup>+</sup> , МэВ	Максимальный пробег в ткани, мм
<sup>11</sup> C	20,4	β <sup>+</sup> (99,8%), ЭЗ (0,22%)	<sup>14</sup> N(p,α) <sup>11</sup> C	0,9	4,1
<sup>15</sup> O	2,04	β <sup>+</sup> (99,9%), ЭЗ (0,1%)	<sup>15</sup> N(p,n) <sup>15</sup> O <sup>14</sup> N(d,n) <sup>15</sup> O	1,72	8,2
<sup>13</sup> N	9,96	β <sup>+</sup> (99,8%), ЭЗ (0,2%)	<sup>16</sup> O(p,α) <sup>13</sup> N	1,19	5,4
<sup>18</sup> F	109,7	β <sup>+</sup> (96,9 %) ЭЗ (3,1%)	<sup>18</sup> O(p,n) <sup>18</sup> F <sup>20</sup> Ne(d,α) <sup>18</sup> F	0,63	2,4

Химическая форма стабилизации радионуклидов, представленных в Таблице 1, зависит от состава облучаемого вещества (материала мишени) и играет определяющую роль при выборе метода синтеза. Ввиду малых периодов полураспада азот-13 и кислород-15 применяются в составе простых соединений, синтез которых осуществляется непосредственно в мишени циклотрона или в режиме *on-line*. На раннем этапе развития ПЭТ огромное внимание уделялось применению меченых кислородом-15 радиоактивных газов -  $[^{15}\text{O}]\text{O}_2$ ,  $[^{15}\text{O}]\text{CO}$ ,  $[^{15}\text{O}]\text{CO}_2$  [14], однако в настоящее время используется только  $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  - радиотрейсер для количественной оценки скорости мозгового кровотока [7]. Для получения  $[^{13}\text{N}]\text{NH}_3$  - основного РФЛП на основе азота-13, используемого при оценке перфузии миокарда [15], наиболее эффективным является ядерно-химический метод синтеза. При облучении 5 мМ водного раствора этанола [16] или воды под давлением метана [17] образующийся по реакции  $^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$  радионуклид стабилизируется в форме  $[^{13}\text{N}]\text{NH}_3$ , непосредственно в мишени циклотрона. Наибольшее применение в клинической диагностике получили изотопы углерод-11 и фтор-18. Также как кислород-15 и азот-13, углерод-11 относится к биогенным элементам, входящим в состав большинства биомолекул, что позволяет получить меченые аналоги с практически идентичными химическими и биохимическими характеристиками. Это крайне важно в случае радиотрейсеров метаболизма, таких, как L- $[^{11}\text{C}$ -метил]метионин – РФЛП класса аминокислот, в диагностике церебральных глиом [18]. Многочисленные примеры  $^{11}\text{C}$ -радиотрейсеров на основе аминокислот, сахаров и других эндогенных и природных экзогенных соединений, и методов их получения можно найти в недавнем обзоре [19]. Радионуклид, образующийся по ядерной реакции  $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ , стабилизируется в форме  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  или  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ , в зависимости от состава облучаемой газовой смеси (азот + 1%  $\text{O}_2$  или азот + 5%  $\text{H}_2$ , соответственно) и участвуют непосредственно в синтезе РФЛП реакцией карбоксилирования ( $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ ) или могут быть переведены в другие химические формы, так называемые вторичные радиоактивные предшественники (радиоактивные синтоны), с помощью которых можно вводить радиоактивную метку в различные

функциональные группы [20]. В синтезе более 90% радиотрейсеров, включая многочисленные рецепторные радиолиганды, используется  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ , метилирующий агент, который может быть получен как из  $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$  [21], так и из  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$  [22] с дальнейшей конверсией в более реакционноспособный  $[^{11}\text{C}]$ метил трифлат [23]. Наряду с классическими методами карбоксилирования и метилирования для введения метки углерод-11 в различные соединения разрабатываются и новые подходы [11, 24]. Четвёртый радионуклид, фтор-18, не входит в число элементов-органогенов, однако легко встраивается в молекулы различных соединений путём замещения атома водорода с близким Ван-дер-ваальсовым радиусом (1.35 Å и 1.20 Å, соответственно) или близкой по электроотрицательности гидроксильной группы с минимальными структурными изменениями. В то же время метаболизм фторированных аналогов блокируется на определенной стадии, как это было показано на примере 2- $[^{18}\text{F}]$ -фтор-2-дезоксид-глюкозы ( $[^{18}\text{F}]$ ФДГ) - уникального радиотрейсера гликолиза, применяемого в 90% всех ПЭТ исследований [25]. В зависимости от выбора облучаемого вещества (материала мишени) фтор-18 стабилизируется в двух химических формах -  $[^{18}\text{F}]$ фторида - при облучении обогащенной  $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  в водной мишени по реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  или  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  - по той же ядерной реакции, но при облучении газовой мишени [26]. Классическим, но менее распространенным в последние годы, методом получения  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  является ядерная реакция  $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ ; в обоих случаях для полного извлечения радионуклида из газовой мишени необходимо добавление не менее 1% газообразного фтора. Полученный с добавлением носителя радионуклид используют в реакциях электрофильного радиофторирования ароматических субстратов, однако ввиду известных ограничений метод не получил широкого распространения [27]. Основным методом синтеза РФЛП на основе фтора-18 был и остаётся метод нуклеофильного радиофторирования с использованием  $[^{18}\text{F}]$ фторида без добавления носителя [28], подробно рассмотренный в следующих разделах.

В последние годы в связи с бурным развитием таргетной радионуклидной терапии опухолей все большее значение приобретают ПЭТ изотопы металлов

(Таблица 2), в особенности те, которые образуют тераностические пары с радиотерапевтическими изотопами. Производство изотопов металлов требует более сложных технологий изготовления твердых мишеней и регенерации дорогостоящего обогащенного материала мишени. Однако для ряда радионуклидов ( $^{89}\text{Zr}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{86}\text{Y}$  и др.) современные медицинские циклотроны уже укомплектованы твердотельными мишенями, автоматическими системами доставки мишеней и выделения ПЭТ радионуклидов [29,30]. В сравнении с традиционными ПЭТ радионуклидами (Таблица 1) изотопы металлов отличаются меньшим выходом позитронов и более высокой энергией последних, что в целом приводит к снижению качества ПЭТ изображения и пространственного разрешения (в разной степени для разных изотопов). Решение данной проблемы возможно с применением специальных алгоритмов обработки ПЭТ-изображения [31]. Кроме того, наличие сопутствующего гамма-излучения высокой энергии (а в случае меди-64 и бета) излучений приводит к нежелательной дозовой нагрузке на пациента, что приходится учитывать при расчёте вводимой клинической дозы.

Таблица 2 - Ядерно-физические характеристики циклотронных ПЭТ-радионуклидов металлов и иода-124

Радио нуклид	$T_{1/2}$ , ч	Ядерная реакция получения	Тип распада, (%)	$E_{\max}\beta^+$ , кэВ	$E_{\gamma}$ , кэВ
$^{44}\text{Sc}$	3,9	$^{44}\text{Ca}(p,n)^{44}\text{Sc}$	$\Xi\Xi$ (5,7) $\beta^+$ (94,3)	1470	1157,0
$^{64}\text{Cu}$	12,7	$^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$	$\Xi\Xi$ (43,8) $\beta^+$ (17,8) $\beta^-$ (38,4)	653 571	1346,0
$^{86}\text{Y}$	14,7	$^{86}\text{Sr}(p,n)^{86}\text{Y}$	$\Xi\Xi$ (67) $\beta^+$ (33)	6335	627,8 1076,7 1153,2
$^{68}\text{Ga}$	1,1	$^{68}\text{Zn}(p,n)^{68}\text{Ga}$	$\beta^+$ (90) $\Xi\Xi$ (10)	1899	1345,8
$^{89}\text{Zr}$	78,4	$^{89}\text{Y}(p,n)^{89}\text{Zr}$	$\beta^+$ (22,3) $\Xi\Xi$ (76,6)	897	909
$^{152}\text{Tb}$	17,5	$^{152}\text{Gd}(p,n)^{152}\text{Tb}$	$\Xi\Xi$ (82) $\beta^+$ (18)	2500	344,3
$^{124}\text{I}$	100,3	$^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$	$\Xi\Xi$ (78) $\beta^+$ (22)	2137	602,7 722,8

Использование пар радионуклидов - диагностического и терапевтического - в рамках концепции тераностики, предложенной более 20 лет назад [32], в настоящее время считается наиболее эффективным, хотя и очень дорогостоящим, подходом к лечению онкологических заболеваний. В идеальном варианте тераностическую пару образуют изотопы одного и того же элемента, как, например,  $^{44}\text{Sc}/^{47}\text{Sc}$ ,  $^{64}\text{Cu}/^{67}\text{Cu}$ ,  $^{124}\text{I}/^{131}\text{I}$ ,  $^{86}\text{Y}/^{90}\text{Y}$ ,  $^{152}\text{Tb}/^{161}\text{Tb}$  [33]. В некоторых случаях изотоп может обладать одновременно свойствами диагностического и терапевтического радионуклидов ( $^{64}\text{Cu}$ ). Наибольшее применение получил изотоп  $^{68}\text{Ga}$ , не имеющий собственной «терапевтической пары», но используемый в комбинации с терапевтическими изотопами трехвалентных металлов, прежде всего с бета эмиттером  $^{177}\text{Lu}$ , а также альфа эмиттерами -  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$  и др. [34,35]. Так, ПЭТ исследование с РФЛП на основе галлия-68 необходимо для расчета дозовой нагрузки перед пептид-рецепторной радиотерапией (DOTA хелатированные комплексы), радиолигандной терапией (PSMA агенты) и радиоиммунотерапией (ингибиторы тирокиназы, моноклональные антитела и др.), тогда как посттерапевтические ПЭТ сканы выполняют для оценки эффективности радиотерапии. Отдельное место в этой группе (Таблица 2) занимает изотоп  $^{124}\text{I}$ , образующий тераностическую пару с одним из первых терапевтических бета-эмиттеров,  $^{131}\text{I}$ . РФЛП на основе иода-124 применяют для оценки дозиметрической нагрузки при радиотерапии опухолей щитовидной железы (в составе  $^{124}\text{I}/^{131}\text{I}$  NaI), нейроэндокринных опухолей (в составе  $^{124}\text{I}/^{131}\text{I}$  MIBG) и других злокачественных новообразований [35].

### 1.2.2. Генераторные ПЭТ радионуклиды

Альтернативным методом получения ПЭТ радионуклидов является производство в изотопных генераторах [36]. Принцип работы изотопного генератора основан на использовании двух генетически связанных между собой радионуклидов долгоживущего материнского и дочернего короткоживущего. Ввиду существенного различия химических свойств разделение дочернего и

материнского радионуклидов легко достигается хроматографическими (реже экстракционными и мембранными) методами [37]. Использование генераторных изотопов не требует дорогостоящего циклотрона и экономически более эффективно.

Основные генераторные системы получения ПЭТ радионуклидов представлены в Таблице 3. Недостатком изотопных генераторов является ограниченный срок их использования и снижение элюирующей способности со временем, а также ограниченная активность дочернего радионуклида. Так, срок использования наиболее широко используемого генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  составляет около года. Элюирование  $^{68}\text{Ga}$  проводится два-три раза в день (каждые 4 часа), при этом за одно элюирование можно в среднем получить 2-3 клинических дозы РФЛП. Для сравнения – с использованием циклотронного фтора-18 можно получить более 50 доз [ $^{18}\text{F}$ ]ФДГ за одно облучение мишени.

Таблица 3 - Генераторные ПЭТ-радионуклиды

Материнский радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада, %	Дочерний радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада, %	$E_{\gamma}$ , кэВ
$^{44}\text{Ti}$	47,3 лет	ЭЗ(100)	$^{44}\text{Sc}$	3,9 ч	$\beta^+(95)$ , ЭЗ(5)	1157
$^{52}\text{Fe}$	8,2 ч	$\beta^+(56)$ , ЭЗ(44)	$^{52m}\text{Mn}$	21,1 мин	$\beta^+(98)$ , ЭЗ(2)	1434
$^{62}\text{Zn}$	9,1 ч	$\beta^+(7)$ , ЭЗ(93)	$^{62}\text{Cu}$	9,7 мин	$\beta^+(98)$ , ЭЗ(2)	нет
$^{68}\text{Ge}$	271 сут.	ЭЗ(100)	$^{68}\text{Ga}$	68,1 мин	$\beta^+(90)$ , ЭЗ(10)	1077
$^{82}\text{Sr}$	25,5 сут.	ЭЗ(100)	$^{82}\text{Rb}$	1,3 мин	$\beta^+(96)$ , ЭЗ(4)	776
$^{118}\text{Te}$	6,0 сут.	ЭЗ(100)	$^{118}\text{Sb}$	3,6 мин	$\beta^+(76)$ , ЭЗ(24)	1229
$^{122}\text{Xe}$	20,1 ч	ЭЗ(100)	$^{122}\text{I}$	3,6 мин	$\beta^+(77)$ , ЭЗ(23)	564
$^{128}\text{Ba}$	2,4 сут.	ЭЗ(100)	$^{128}\text{Cs}$	3,9 мин	$\beta^+(61)$ , ЭЗ(39)	443

В связи с этим в последние годы активно ведутся работы по созданию методов получения  $^{68}\text{Ga}$  в водной мишени циклотрона по реакции  $^{68}\text{Zn}(p,n)^{68}\text{Ga}$ ,

однако по своей производительности и экономической эффективности они пока не могут конкурировать с производством в радиоизотопном генераторе. Более высокие активности  $^{68}\text{Ga}$  можно нарабатывать при облучении твердой мишени, однако работа с твердыми мишенями является технически сложной для рутинного применения [38,39]. Тем не менее, учитывая большое количество уже работающих медицинских циклотронов (в том числе и в России), циклотронный метод получения галлия-68 в будущем может оказаться экономически выгодным.

Кроме галлия-68, занимающего лидирующие позиции в ряду ПЭТ изотопов металлов, большой интерес представляют более долгоживущие радионуклиды ( $^{86}\text{Y}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{89}\text{Zr}$ ), период полураспада которых соизмерим с временем циркуляции в крови биологически активных молекул – пептидов и протеинов, и, в особенности, моноклональных антител, меченые аналоги которых используются в радиоиммунодиагностике [34].

Введение изотопов металлов в молекулы РФЛП основано на связывании (инкорпорировании) радионуклида бифункциональным хелатирующим агентом (БХА), способным в свою очередь образовывать ковалентные связи с различными биомолекулами (векторами), с высокой специфичностью и селективностью к определенным мишеням. Традиционно в качестве БХА для пептидных и других РФЛП используется DOTA (1,4,7,10-тетраазамаклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота) и другие циклические БХА - NOTA (1,4,7-триазамаклононан-1,4,7-триуксусная кислота) и NODAGA (1,4,7-триазамаклононан-N-глутаминовая кислота-N',N''-диуксусная кислота), характеристики которых можно найти в ряде обзоров [40]. Простой и удобный метод введения ПЭТ изотопов металлов в сложные биологически активные молекулы обеспечивает доступ к широкому кругу диагностических РФЛП - меченых пептидов, протеинов, интактных моноклальных антител и их фрагментов и других [34,41,42].

### 1.3. Фтор-18 – основной ПЭТ радионуклид

До настоящего времени фтор-18 по праву считается основным ПЭТ радионуклидом, наиболее востребованным в клинической диагностике. В молекуле радиотрейсера фтор-18 может замещать атом водорода с близким Ван-дер-ваальсовым радиусом (1,35 Å и 1,20 Å, соответственно) или близкую по электроотрицательности гидроксильную группу [43], что не сопровождается большими структурными изменениями, но существенно влияет на биохимические характеристики меченого аналога [44]. Несмотря на такой казалась бы неблагоприятный фактор, РФЛП на основе фтора-18 широко применяются в онкодиагностике в рамках концепции «блокированного метаболизма» [45], впервые предложенной для фторированного аналога глюкозы, 2- $^{18}\text{F}$ -фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы ( $^{18}\text{F}$ ФДГ) - уникального радиотрейсера гликолиза, применяемого в 90% всех ПЭТ исследований [25].

За годы развития и применения ПЭТ в дополнение к  $^{18}\text{F}$ ФДГ создан целый ряд РФЛП для оценки нарушений других процессов, ассоциирующихся со злокачественностью опухоли (транспорта аминокислот, уровня гипоксии, пролиферации, апоптоза и ангиогенеза, экспрессии определенного типа рецепторов и др.) на молекулярном уровне [46,47]. Кроме того, фтор входит в структуру более 20% всех лекарственных средств и многих рецепторных лигандов; их радиофторированные аналоги, а также фторпроизводные многих других биологически активных соединений составляют огромный арсенал ПЭТ радиотрейсеров.

Благодаря своим ядерно-физическим (Таблица 1) и химическим свойствам фтор-18 часто называют «идеальным» ПЭТ радионуклидом:

- низкая энергия позитронов (0,635 МэВ) и, соответственно, минимальный пробег позитронов в ткани обеспечивает наиболее высокое из всех ПЭТ радионуклидов пространственное разрешение ПЭТ изображения;
- относительно большой период полураспада (109,8 мин) совместим с длительными

(при необходимости) протоколами ПЭТ исследований, а также достаточен для проведения сложных многостадийных синтезов;

-в случае фтора-18 возможна (и реализована в том числе и в России) поставка РФЛП на сравнительно большие расстояния в рамках «сателлитной концепции», обеспечивая работу нескольких ПЭТ отделений с использованием одного циклотронно-радиохимического комплекса;

-удобный высокопроизводительный метод получения радионуклида по ядерной реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  в водной мишени циклотрона в виде  $[^{18}\text{F}]$ фторида без добавления носителя;

-уникальная возможность получения РФЛП высокой мольной (удельной) активности для рецепторных исследований;

-высокая реакционная способность фтора и возможность получения широкого спектра меченых фторорганических соединений в качестве ПЭТ радиотрейсеров;

-высокая прочность связи фтор-углерод, обеспечивающая получение радиотрейсеров, устойчивых к потере метки в результате метаболизма.

#### 1.4. Методы получения фтора-18

Из более 20 известных методов получения фтора-18 практическое применение получили две ядерные реакции, приведённые в Таблице 4 и реализуемые в водной или газовой мишенях медицинских циклотронов средних энергий (12-18 МэВ).

Простой и удобный метод получения высоких (вплоть до 925 ГБк) активностей радионуклида по ядерной реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ , протекающей при облучении водной мишени циклотрона протонами, делает  $^{18}\text{F}$  особенно привлекательным для получения мультидозовых количеств РФЛП в клинической диагностике. Доступность изотопа в двух химических формах -  $[^{18}\text{F}]$ фторида и  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  - в сочетании с относительно большим периодом полураспада (110 мин) и разнообразием фторорганических соединений открывает большие возможности для синтеза различных классов РФЛП. Радионуклид в форме  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  (Таблица 4)

Таблица 4 – Характеристики основных ядерных реакций получения фтора-18

Ядерная реакция	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$
Облучаемое вещество	$[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$	$[^{18}\text{O}]\text{O}_2$	Ne (0,5-1% $\text{F}_2$ )
Форма $^{18}\text{F}$	$[^{18}\text{F}]\text{фторид}$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$
$\sigma_{\text{max}}^b \cdot 10^{-31}/\text{M}^2$	700	700	115
$A_{\text{max}}^c \cdot 10^9/\text{Бк}$	$<925^d$	48	11
<sup>a</sup> Добавление носителя $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ <sup>b</sup> Максимальное значение сечения ядерной реакции <sup>c</sup> Максимальная активность <sup>d</sup> Реакция проводится при одновременном облучении двух мишеней током пучка 80 мкА в течение 2 ч протонами 16,5 МэВ [48]			

используется в синтезе РФЛП в качестве электрофильного фторирующего агента. Соответственно,  $[^{18}\text{F}]\text{фторид}$  используется для введения метки фтор-18 реакцией нуклеофильного замещения (нуклеофильного радиофторирования).

### 1.5. Синтез РФЛП методом электрофильного радиофторирования

Электрофильное радиофторирование является эффективным методом введения фтора-18 в органические молекулы, в том числе и электронно обогащенные ароматические субстраты [27]. Исторически именно этот метод был использован в первом синтезе такого важнейшего РФЛП, как  $[^{18}\text{F}]\text{ФДГ}$ . В качестве фторирующего агента чаще всего используется газообразный  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ , который получают в результате ядерной реакции  $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$  при облучения дейтонами смеси неона с 0,5-2%  $\text{F}_2$  в газовой мишени циклотрона [49]. Альтернативой является ядерная реакция  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  с большим сечением (Таблица 4), которая протекает при облучении протонами молекулярного кислорода-16, обогащенного кислородом-18 [50]. В обоих случаях для эффективного извлечения  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  из газовой мишени необходимо добавление атомарного фтора в качестве носителя, что приводит к получению радиотрейсеров с низкой удельной мольной активностью. Высокая мольная активность является «краеугольным камнем» в

использовании ПЭТ в рецепторных исследованиях, где количество вводимого нерадиоактивного аналога в составе РФЛП, конкурирующего в процессах связывания с исследуемыми рецепторами, должно быть минимальным (на уровне нано и пикомолей). Кроме того, ввиду низкой удельной мольной активности метод электрофильного радиофторирования не может применяться в синтезе потенциально токсичных фторпроизводных, например, 3- $^{18}\text{F}$ фтор-L-тирозина.

Как видно из Таблицы 4, по своей производительности методы получения  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> в газовой мишени сильно уступают методам получения радионуклида в водной мишени. Более высокая активность нарабатывается при облучении  $^{18}\text{O}$ O<sub>2</sub> протонами, однако для полной десорбции радионуклида со стенок мишени необходимо применение двухступенчатого протокола облучения (double-shot), в результате чего общее время получения  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> существенно увеличивается. Кроме того, дополнительные технические меры для предотвращения потерь дорогостоящего кислорода-18, осложняют применение метода при рутинном производстве РФЛП.

В целом электрофильный метод необходим в случае РФЛП, где введение фтора-18 в молекулу нуклеофильным методом невозможно или требует очень сложного многостадийного синтеза. Классическим примером является синтез фторированных аналогов аминокислот, содержащих радиоактивную метку в ароматическом фрагменте [27], таких как радиофторированный аналог L-ДОФА (L-3,4-дигидроксифенилаланина), эндогенного предшественника дофамина. 6-L- $^{18}\text{F}$ ФДОФА ((S)-3-[3,4-дигидрокси-6- $^{18}\text{F}$ фторфенил]-2-аминопропионовая кислота) - один из первых рецепторных радиолигандов, предложенных для ПЭТ исследований дофаминергической системы и патогенеза болезни Паркинсона. Кроме того, 6-L- $^{18}\text{F}$ ФДОФА доказал свою эффективность в ПЭТ диагностике церебральных глиом, нейроэндокринных и других опухолей.

В первых работах по синтезу 6-L- $^{18}\text{F}$  ФДОФА использовался метод прямого электрофильного радиофторирования «незащищенной» L-ДОФА в качестве предшественника. Реакция сопровождалась образованием смеси трех стереоизомеров 2-, 5- и 6-L- $^{18}\text{F}$ ФДОФА (Рисунок 2) с радиохимическими

выходами 12%, 1,7% и 21%, соответственно [51], лишь один из которых - 6-L-[<sup>18</sup>F]-ФДОФА накапливался в субстанции Нигра (черном теле), отделе мозга с максимальной плотностью дофаминергических нейронов. Разделение стереоизомеров требовало сложной и длительной процедуры полупрепаративной радиоВЭЖХ, что в итоге приводило к низкому выходу целевого продукта.

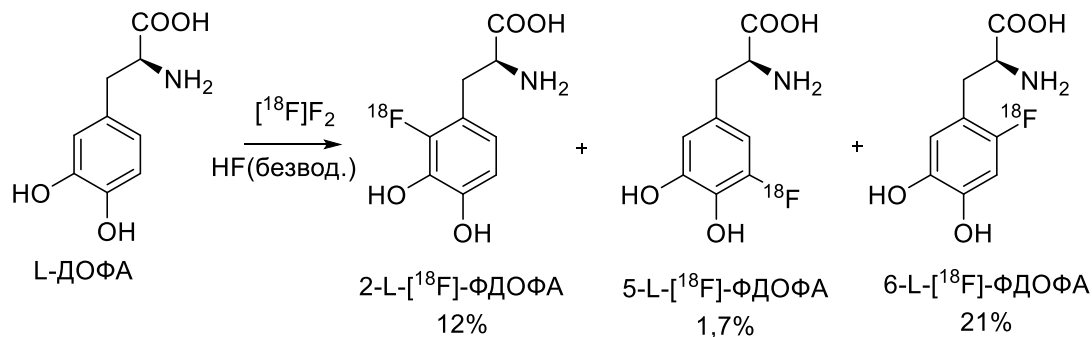
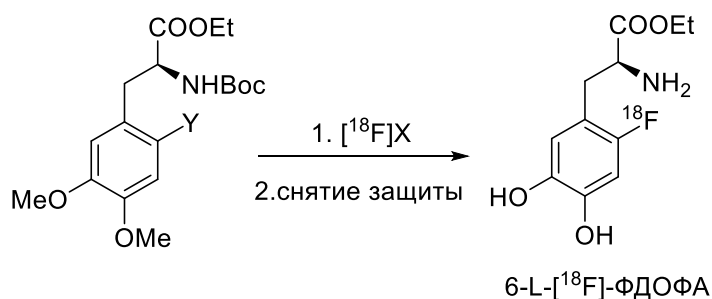


Рисунок 2 – Схема синтеза 6-L-[<sup>18</sup>F]ФДОФА методом прямого электрофильного радиофторирования [51].

Для повышения стереоселективности реакций электрофильного радиофторирования было предложено использовать менее реакционноспособные фторирующие агенты, чаще всего ацетилгипофторид [<sup>18</sup>F]AcOF [52]. Широкий спектр таких агентов с различной реакционной способностью в реакциях электрофильного радиофторирования обсуждается в обзоре [27], однако их применение ограничено сложностью методов получения. На практике наибольшее применение получили реакции <sup>18</sup>F-фтордеметаллирования предшественников, содержащих реакционноспособную группу в положении электрофильной атаки, такие как <sup>18</sup>F-фтордестанилирование [53] и <sup>18</sup>F-фтордемеркурирование [54] (Рисунок 3). Региоселективность введения метки увеличивается вследствие перераспределения электронной плотности кольца из-за образования связи металл-углерод. Из предложенных региоселективных методов в рутинном синтезе 6-L-[<sup>18</sup>F]ФДОФА используется реакция <sup>18</sup>F-фтордестанилирования коммерчески доступного предшественника 6-триметилстаннил L-ДОФА с использованием [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> [53]. Двухстадийный метод относительно прост в автоматизации и обеспечивает практически 100% энантиомерную чистоту полученного РФЛП, что крайне важно



Y=SnMe<sub>3</sub>; HgOCOCF<sub>3</sub>

X=F<sub>2</sub>; AcOF

Рисунок 3 – Схема синтеза 6-L-[<sup>18</sup>F]ФДОФА методом региоселективного электрофильного радиофторирования.

для использования радиотрейсеров класса аминокислот в ПЭТ, поскольку в метаболизме принимает участие лишь L-изомер. Метод включает две стадии - радиофторирование и удаление защиты катехольных групп кислотным гидролизом (обычно с использованием 43% HBr). Однако, при кажущейся простоте процесса электрофильный метод синтеза включает ряд промежуточных стадий, что в сочетании с низкой производительностью газовой мишени, длительным временем облучения и доставки радионуклида из мишени приводит к очень большому общему времени получения РФЛП и невысокой общей активности продукта (3-4 клинических дозы). К недостаткам можно отнести и необходимость контроля за содержанием олова в конечном продукте, что не всегда возможно в условиях типовой лаборатории радиохимии в составе ПЭТ центра.

В итоге, метод электрофильного радиофторирования не получил широкого распространения в рутинном синтезе РФЛП, где предпочтение отдается нуклеофильным методам синтеза с использованием [<sup>18</sup>F]фторида, с простым и удобным методом получения в водной мишени циклотрона без добавления носителя.

## 1.6. Синтез РФЛП методом нуклеофильного радиофторирования

Нуклеофильное радиофторирование – наиболее распространённый метод получения различных классов РФЛП на основе фтора-18. Данный метод позволяет вводить фтор-18 в молекулу предшественника методом алифатического  $S_N2$  и ароматического  $S_NAr$  нуклеофильного замещения уходящей группы. Принципиально важно, что получение радионуклида по ядерной реакции  $^{18}O(p,n)^{18}F$ , реализуемой при облучении протонами водной мишени циклотрона (объем  $[^{18}O]H_2O$  от 1 до 2,5 мл), приводит к образованию  $[^{18}F]$ фторида без добавления носителя с исключительно высокой мольной активностью (до 740 ГБк/мкмоль). Высокая исходная активность (до 925 ГБк [48]) радионуклида, генерируемого в водной мишени высокого давления, в сочетании с подходящим периодом полураспада 110,8 мин дает возможность проводить сложные химические синтезы и транспортировать РФЛП на достаточно большие расстояния.

К использованию фтора-18, полученного вышеописанным методом, в реакциях нуклеофильного радиофторирования предъявляются определенные требования.  $[^{18}F]$ Фторид, образующийся в водной мишени циклотрона в форме фторид-иона, окружен сольватной оболочкой (энергия сольватации 439 кДж/моль) и неактивен в реакциях нуклеофильного фторирования: для проведения реакции замещения прежде всего необходимо удаление воды. Перевод  $[^{18}F]$ фторида из водной в органическую фазу осуществляется с помощью катализаторов межфазного переноса (краунэфиров или криптандов) в комбинациях с различными основаниями, а также четвертичных аммониевых солей в водно-органических растворителях. Растворители удаляют дистилляцией в токе азота и получают реакционноспособный комплекс МФК с  $[^{18}F]$ фторидом, являющийся фторирующим агентом (Рисунок 4).

Реакцию нуклеофильного радиофторирования проводят путем замещения уходящей группы в составе молекулы предшественника на фтор-18 в безводных диполярных апротонных растворителях (ДМСО, ДМФА, MeCN и др.), так как

присутствие следовых количеств воды снижает конверсию фтора-18. При этом в молекуле предшественника функциональные группы с подвижными атомами водорода должны быть защищены для предотвращения атаки нуклеофила в нежелательное положение.

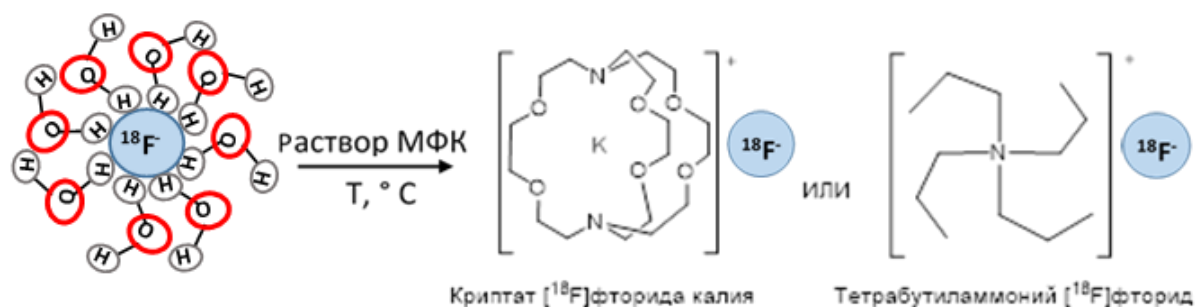


Рисунок 4 – Схема образования реакционноспособного комплекса МФК/ $[^{18}\text{F}]$ фторид.

После удаления защитных групп в результате гидролиза целевой продукт выделяют из реакционной смеси методами полупрепаративной ВЭЖХ или твердофазной экстракции (ТФЭ). Ввиду временных ограничений при работе с короткоживущим фтором-18 предпочтение отдается простому и быстрому методу ТФЭ на одноразовых картриджах, легко поддающемуся автоматизации [55].

Процесс производства РФЛП для ПЭТ методом нуклеофильного радиофторирования включает следующие основные этапы: получение радионуклида в мишени циклотрона и перевод его в реакционно способную форму; радиофторирование предшественника; при наличии в молекуле предшественника защитных групп - кислотный или щелочной гидролиз; выделение целевого продукта из смеси методами ТФЭ или полупрепаративной ВЭЖХ; корректировка pH (регламентированные значения pH 4,5-8,5) и изотоничности; мембранная стерилизация в режиме *on-line*. Перед введением пациенту проводят контроль качества РФЛП, включая определение радиохимической, радионуклидной, химической чистоты, содержания остаточных органических растворителей, pH, изотоничности, уровня эндотоксинов и стерильности.

Все этапы синтеза РФЛП требуют высокого уровня автоматизации, что определяется требованиями радиационной безопасности и современными нормами

GMP (Good Manufacturing Practice, Надлежащая Производственная Практика). Нормы GMP предусматривают поэтапный автоматический контроль процесса синтеза как основной фактор, гарантирующий качество полученного РФЛП. Кроме того, для обеспечения ПЭТ исследований чрезвычайно важным является высокий и хорошо воспроизводимый радиохимический выход РФЛП, что также может достигаться при проведении синтеза в автоматическом режиме на специализированных модулях синтеза. Автоматизированные модули синтеза помещаются в свинцовые боксы («горячие» камеры) с толщиной защитного слоя свинца не менее 60 мм; стадию мембранной стерилизации проводят в защитном боксе класса А (асептические условия). Вопросам автоматизации посвящено много обзоров и отдельных работ, из которых стоит отметить обзоры [55-58].

Современные коммерчески доступные модули, используемые в рутинном синтезе РФЛП для ПЭТ, можно разделить на две основные категории: стационарные модули и модули кассетного типа. В модулях стационарного типа основными компонентами являются реакционный сосуд (иногда - два), сосуды или шприцы с реагентами и растворителями, картриджи или колонки для очистки, стерильный сосуд для получения инъекционной формы РФЛП и др. Все компоненты соединены между собой тефлоновыми или другими трубками через систему электронно-управляемых двух- и трехходовых вентилей (клапанов), что позволяет переносить реагенты на разных этапах синтеза током инертного газа. Загрузка реагентов, подготовка картриджей, промывка всех линий переноса реагентов перед синтезом (и после синтеза) осуществляется опытным радиохимиком-оператором. Основные разработки модулей синтеза выполнены на примере автоматизации синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФДГ}$  как наиболее востребованного РФЛП для ПЭТ. Стратегия двухстадийного синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФДГ}$  методом алифатического нуклеофильного радиофторирования применима к синтезу многих клинически значимых РФЛП. Поэтому один и тот же стационарный автоматизированный модуль, где возможно гибкое изменение конфигурации клапанов и других компонентов, может использоваться (и используется) для рутинного синтеза нескольких РФЛП, а также при разработке новых радиотрейсеров. В большинстве

ПЭТ центров (в том числе и в России) установлены модули фирмы General Electric Healthcare (США) - TRACERlab FX<sub>FN</sub> и TRACERlab FX N Pro. Модули других фирм более позднего производства, такие как SynthraRN Plus (Synthra, Германия) или iPhase Flexlab (Австралия) дают больше возможностей для выполнения сложных многостадийных методов синтеза РФЛП и новых разработок ввиду большего количества клапанов, современного дизайна реакторов, встроенных систем ВЭЖХ очистки и других.

Альтернативной концепцией в автоматизации является проведение всех стадий синтеза в одноразовой сменной кассете реагентов (reagents kits), установленной в модуль кассетного типа. Одноразовая кассета представляет собой литой пластиковый каркас со встроенными сосудами с реагентами, соединительными трубками, шприцами и вентилями, которые при установке кассеты в модуль соединяются с поворотными и приводными механизмами. Кассеты поставляются в стерильной упаковке и содержат все необходимые реагенты, картриджи, буферы и другие стерильные компоненты. Установка кассеты занимает несколько минут, время синтеза сокращено по сравнению с аналогичным процессом в стационарном модуле. Промывка линий модуля синтеза не требуется. Несмотря на единую концепцию, модули кассетного типа сильно различаются по конструкции как самого модуля, так и по форме и комплектации кассеты. Кассетные модули разрабатываются как производителями циклотронов (GE FASTlab, GE HEALTH Care, США; SYNTHERA, IBA, Бельгия), так и специализированными фирмами (модуль AllInOne, Trasis, Бельгия; NEPTIS RS, ORA, Бельгия). Подробный обзор современных кассетных модулей синтеза представлен в недавнем обзоре [58]. К их преимуществам относятся простота в эксплуатации без необходимости привлечения радиохимиков высокой квалификации, сокращение времени синтеза и подготовки, возможность безопасной работы с очень высокими уровнями активности, соответствие требованиям GMP. Единственным недостатком является высокая стоимость одноразовой кассеты реагентов, а также доступность кассет для ограниченного числа РФЛП. Тем не менее при использовании так называемой «открытой» версии

модуля возможно создание собственной кассеты (на базе пустой кассеты) и программы синтеза для новых РФЛП.

Важным направлением в автоматизации процессов синтеза РФЛП является использование так называемых микрореакторных технологий (microfluidics) [59], позволяющие проводить химические синтезы за существенно более короткое время за счет применения ничтожно малых количеств реагентов и их быстрого переноса. Радиохимический выход реакции возрастает благодаря повышенному давлению в микрореакторных капиллярах (рабочее давление 22 атм, возможно повышение давления до 50 атм). Микрореактор представляет собой пластину площадью несколько квадратных сантиметров, сделанную из твердого вещества (стекла, пластика и др.) с микроканалами в 10-300 микрон, соединенными с ячейками для реагентов, фильтрами и колонками для очистки. Заполнение капилляров и перемещение реагентов с заданной скоростью осуществляется посредством прецизионных автоматических шприцевых насосов. Наиболее известен капиллярный модуль «NanoTek Microfluidic Synthesis System» (Advion, США). В последние годы огромный интерес вызывают так называемая Droplet технология, вариант микрореакторного синтеза, реализуемого на микрочипах различной конструкции [60]. В последние годы огромный интерес вызывают так называемая Droplet технология, вариант микрореакторного синтеза, реализуемого на микрочипах различной конструкции [60].

Однако эти методы оперируют небольшими количествами радиоактивности, достаточными для исследовательских целей или для наработки РФЛП для ПЭТ исследований малых животных. Нерешенной проблемой их применения в производстве клинически значимых активностей РФЛП являются процессы радиолиза, протекающие при концентрировании высоких активностей радионуклида в малом объеме каналов микрореактора.

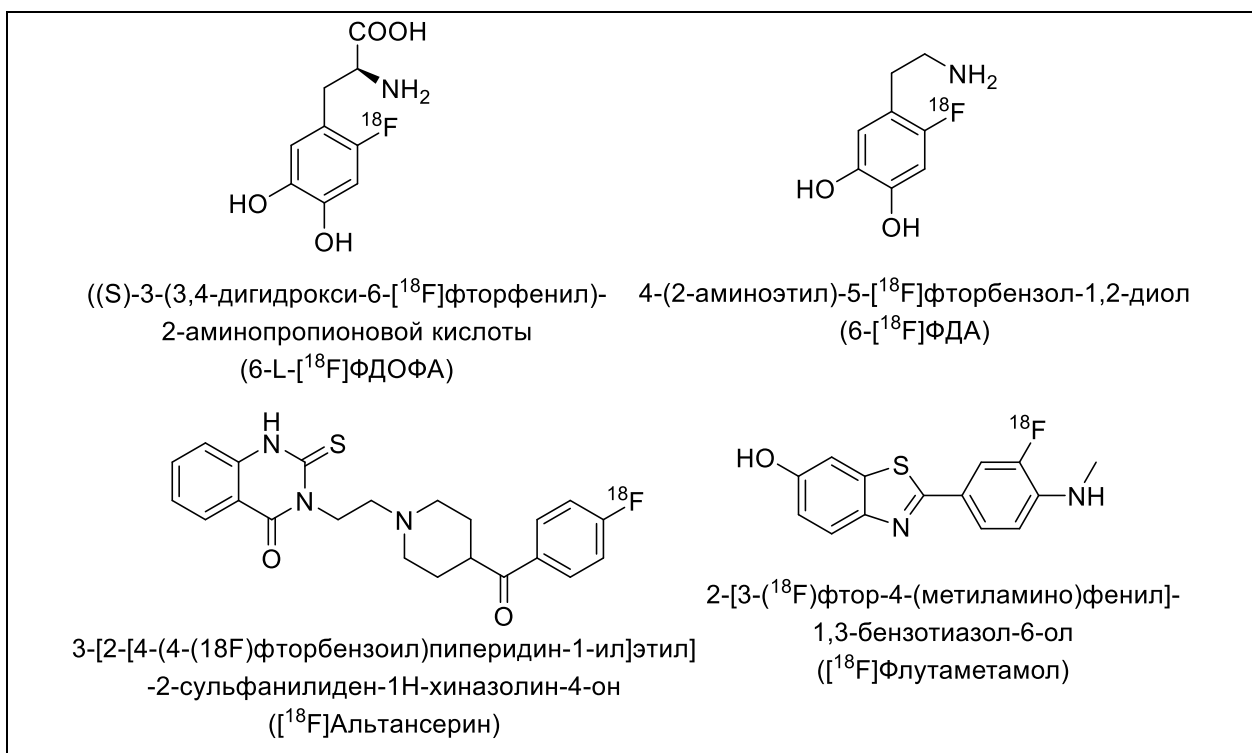
Ведущие зарубежные и отечественные радиохимические лаборатории в составе ПЭТ центров успешно конструируют собственные автоматические модули для синтеза радиотейсеров. Преимуществами “home-made” аппаратов являются более низкая стоимость и возможность поддержания сервиса собственными

силами при минимальных временных и финансовых затратах. В ИМЧ РАН создано два модуля синтеза для синтеза РФЛП на основе фтора-18 методом нуклеофильного радиофторирования. Один из них с успехом используется для производства [ $^{18}\text{F}$ ]ФДГ для пациентов [61], на втором – полуавтоматическом дистанционно управляемом модуле проводятся исследовательские синтезы (Модуль ИМЧ РАН) [62].

### 1.6.1. Нуклеофильное ароматическое радиофторирование

Образование связи F-C с помощью реакции нуклеофильного замещения в ароматических субстратах представляет огромный интерес, так как ароматическое кольцо является распространённым структурным фрагментом биологически активных молекул и лекарственных средств [63]. Радиотрейсеры на основе таких соединений позволяют выявлять нарушения важнейших процессов, лежащих в основе патологии определенных заболеваний, таких, как рецепторные взаимодействия (примеры РФЛП представлены в Таблице 6).

Таблица 6 – Примеры РФЛП, содержащих фтор-18 в ароматическом кольце



6-L-[ <sup>18</sup> F]ФДОФА	Диагностика нейродегенеративных заболеваний (например, болезнь Паркинсона), а также выявление глиом и нейроэндокринных опухолей
6[ <sup>18</sup> F]ФДА	Диагностика нейродегенеративных заболеваний и нейроэндокринных опухолей
[ <sup>18</sup> F]Альтансерин	Диагностика нейродегенеративных заболеваний (количественная оценка серотониновых 5-НТ <sub>2А</sub> рецепторов в головном мозге)
[ <sup>18</sup> F]Флутаметамол	Диагностика болезни Альцгеймера

Радиотрейсеры с фтором-18 в ароматическом кольце отличаются высокой стабильностью в отношении потери метки в результате метаболизма. В отличие от алифатических субстратов, для введения метки в ароматическое кольцо наряду с уходящей группой (Y) необходимо присутствие сильных электроноакцепторных заместителей (X = NO<sub>2</sub>, CHO, COR, CN и др.), находящихся в *орто*- или *пара*-положении к уходящей группе. Основные закономерности фторирования изучены [64-66] на примере простых ароматических соединений (замещенных бензальдегидов, бензонитрилов), где в большинстве случаев реализуется классический механизм ароматического нуклеофильного замещения S<sub>N</sub>Ar, включающий две стадии (Рисунок 5). На первой (лимитирующей) стадии нуклеофил присоединяется к субстрату с образованием анионного интермедиата (σ-анионного комплекса, получившего название комплекса Мейзенгеймера), а на второй (быстрой) стадии происходит отщепление нуклеофуга.

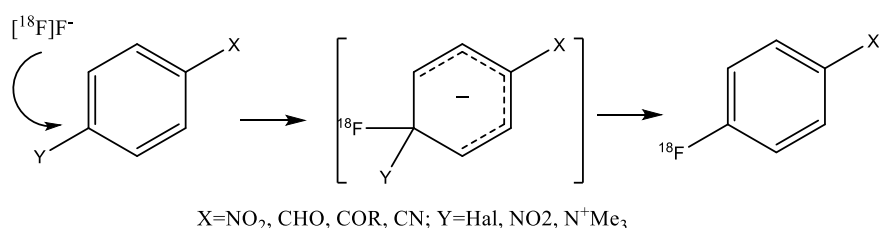


Рисунок 5 – Механизм ароматического нуклеофильного замещения S<sub>N</sub>Ar.



классам РФЛП, таким как радиофторированные аналоги ароматических аминокислот (долгое время получаемых методом электрофильного радиофторирования), меченым аналогам лекарственных препаратов и многим другим [62,71,72].

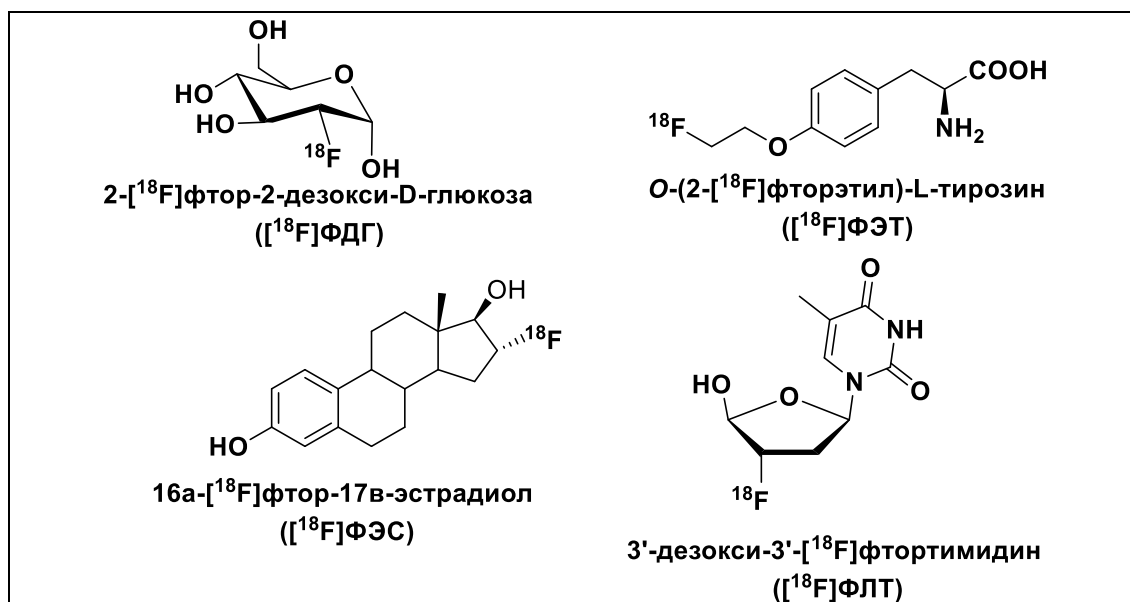
### 1.6.2. Нуклеофильное алифатическое радиофторирование

Большинство клинически значимых РФЛП на основе фтора-18 синтезируют методом прямого нуклеофильного алифатического замещения ( $S_N2$ ) уходящей группы в соответствующем предшественнике [11,73,74]. Наиболее востребованные РФЛП для онкодиагностики представлены в Таблице 7.

Алифатическое радиофторирование в большинстве случаев протекает с высокой радиохимической конверсией (РХК), требует умеренных температур (80-100 °С) и относительно короткого времени реакции (5-15 мин). В качестве растворителя чаще всего используется ацетонитрил.

В случае оптически активных соединений алифатическое радиофторирование проходит стереоспецифично с обращением конфигурации

Таблица 7 - РФЛП для онкодиагностики, синтезируемые методом алифатического нуклеофильного радиофторирования



РФЛП	Применение
2-[ <sup>18</sup> F]фтор-2-дезоксид-D-глюкоза ([ <sup>18</sup> F]ФДГ)	Диагностика злокачественных опухолей, характеризующихся высокой скоростью гликолиза
O-(2-[ <sup>18</sup> F]фторэтил) L-тирозин([ <sup>18</sup> F]ФЭТ)	Диагностика глиальных опухолей мозга
16α-[ <sup>18</sup> F]фтор-17β-эстрадиол ([ <sup>18</sup> F]ФЭС)	Диагностика эстроген-позитивного (ER+) рака молочной железы
3'-дезоксид-3'-[ <sup>18</sup> F]фтортимидин ([ <sup>18</sup> F]ФЛТ)	Диагностика злокачественных опухолей, характеризующихся повышенной скоростью пролиферации клеток

(инверсия Вальдена), например, в синтезе [<sup>18</sup>F]ФДГ, [<sup>18</sup>F]ФЭС и [<sup>18</sup>F]ФЛТ. В качестве уходящих групп наиболее часто используют сульфонаты (OTf, OTs, ONs и др.).

В качестве МФК чаще всего используют 4,7,13,16,21,24-гексаокса-1,10-дiazобикакло[8,8,8]гексакозан (криптофикс, K222) и карбонат калия (K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Эффективность использования K222 в качестве МФК впервые показана в пионерских работах группы немецких учёных в 90-е годы на примере синтеза меченых фтором-18 жирных кислот [75]. Последующее успешное применение криптофикса в синтезе [<sup>18</sup>F]ФДГ [76] в огромной степени способствовало широкому применению этого уникального радиотрейсера гликолиза в онкодиагностике [25] (Рисунок 7):

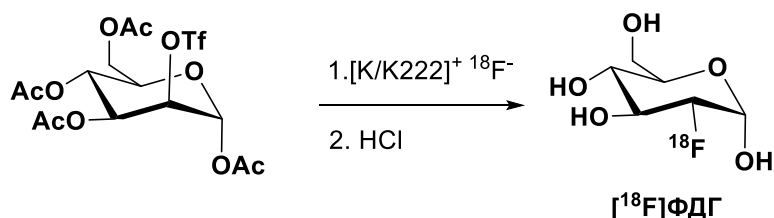


Рисунок 7 - Схема синтеза [<sup>18</sup>F]ФДГ в присутствии криптофикса K222 [76].

Методика синтеза заключалась в следующем: облучённую воду-<sup>18</sup>O, содержащую [<sup>18</sup>F]фторид, переносили из мишени током гелия в реакционный сосуд, содержащий K222 (0,06 ммоль) и K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,03 ммоль) в растворе

ацетонитрила и воды (86:14, v/v). Далее растворители упаривали досуха путем нагревания реакционной массы на масляной бане при 105 °С в токе гелия с последующим дополнительным нагреванием сухого остатка в течение трех минут. Этот подход к активации фтора-18 к реакциям нуклеофильного замещения подтвердил свою эффективность при радиофторировании большого числа как алифатических, так и ароматических субстратов, используемых в синтезе различных классов РФЛП [11,77-79].

Другим широко используемым МФК является тетрабутиламмоний гидроксид ( $\text{Bu}_4\text{NOH}$ ) [80]; процедура получения соответствующего реакционноспособного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  включает те же стадии, что и для  $\text{K222}/\text{K}_2\text{CO}_3$ . Несмотря на высокую эффективность радиофторирования, использование обоих подходов требует упаривания достаточно большого объема водного раствора  $^{18}\text{F}$ фторида. В зависимости от объема водной мишени (1-3 мл) этот процесс занимает от 10 до 15 мин, что сказывается на общем времени синтеза и приводит к потере активности за счет радиоактивного распада фтора-18. Кроме того, процесс упаривания сопровождается потерей активности ввиду неконтролируемой адсорбции радионуклида на внутренних стенках сосуда.

В 1990 г. для выделения радионуклида из облученной воды- $^{18}\text{O}$  и получения реакционноспособного комплекса МФК/ $^{18}\text{F}$ фторид Шлиером и соавторами [81] было предложено использовать более эффективный метод анионообменной хроматографии. В этом случае водный раствор  $^{18}\text{F}$ фторида пропускали через стеклянную колонку, заполненную анионообменной смолой Dowex 1X-10 (сополимер дивинилбензола и стирола с привитой четвертичной аммониевой солью в хлоридной форме, Рисунок 8). При этом более 99% активности фтора-18 удерживалось на сорбенте, тогда как вода- $^{18}\text{O}$  собиралась в отдельный сосуд для последующей регенерации. Для предотвращения возможной конкуренции хлорид иона и  $^{18}\text{F}$ фторида в дальнейшей реакции радиофторирования сорбент предварительно переводили в карбонатную форму пропусканием через него раствора 0,2 М  $\text{K}_2\text{CO}_3$ .

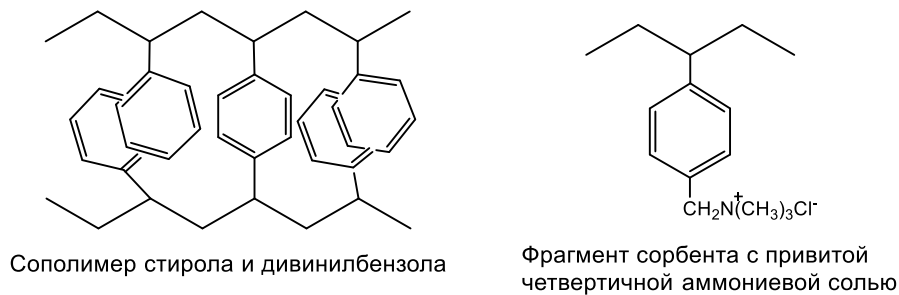


Рисунок 8 - Структурная формула фрагментов сорбента Dowex 1X-10.

Сорбированный на смоле  $[^{18}\text{F}]$ фторид элюировали раствором МФК в смеси ацетонитрила и воды, а элюат, содержащий комплекс МФК/ $[^{18}\text{F}]$ фторид упаривали досуха. Данный метод позволил существенно сократить время получения сухого реакционноспособного комплекса и обеспечивал более полное удаление остаточной воды- $^{18}\text{O}$ . В последующих работах метод был реализован на коммерчески доступных одноразовых анионообменных картриджах для ТФЭ и интегрирован в технологию получения РФЛП методом нуклеофильного радиофторирования на всех автоматизированных модулях синтеза [55-57]. В рутинном синтезе большинства РФЛП используются картриджи Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge фирмы Waters Corporation (США), заполненные анионообменным сорбентом (Рисунок 9).



Рисунок 9 - А: схема выделения фтора-18 на анионообменном картридже Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge; Б: структурная формула анионообменного сорбента.

Изготовленный из полиэтилена картридж размерами 3×2 см с удобными для включения в линию модуля коннекторами (Luer) (Рисунок 9, А) заполнен

анионообменным сорбентом (130 мг) на основе силикагеля с четвертичной аммониевой солью в хлоридной форме (Рисунок 9, Б). Как отмечалось выше, для перевода сорбента из хлоридной формы перед использованием картридж промывают последовательно 0,5 М  $K_2CO_3$  и водой. Традиционно для элюирования, адсорбированного на картридже  $[^{18}F]$ фторида, используют раствор, содержащий  $K_2CO_3/K_2CO_3$  в смеси MeCN/ $H_2O$ . При этом для достижения высокой эффективности элюирования (>95%) требуется достаточно большое количество основания (15-25 мкмоль  $K_2CO_3$ ). Эффективность реакции алифатического нуклеофильного замещения в присутствии такого количества основания снижается вследствие протекания побочной реакции элиминирования [82-84]. В результате для обеспечения высоких значений РХВ необходимо использовать неоправданно большое количество предшественников (3-80 мкмоль). Более того, для чувствительных к присутствию основания субстратов и соответствующих радиотрейсеров наблюдается образование как радиоактивных, так и нерадиоактивных примесей, удаление которых требует более сложных методов очистки и схем автоматизации на конечной стадии синтеза. Другим недостатком данной методики элюирования фтора-18 является необходимость использования воды (0,08-1,5 мл) для растворения  $K_2CO_3$ , входящего в состав элюента. Отгонку основной порции растворителей (ацетонитрил/вода) проводят при  $\geq 110$  °С в течение 10 мин в токе азота, тогда как удаление остаточной воды достигается в результате дополнительной азеотропной сушки с ацетонитрилом. Для этого в реакционный сосуд с сухим остатком реакционной массы последовательно добавляют порциями ацетонитрил (2 или три раза по 0,1-1 мл) с удалением образуемого азеотропа при нагревании. Проведение дополнительной стадии азеотропной сушки увеличивает время синтеза на 5-10 мин и сопровождается потерями радиоактивности за счет распада изотопа. Кроме того, многократное нагревание реакционной массы приводит к неспецифической сорбции  $[^{18}F]$ фторида на стенках реактора. По некоторым оценкам потери радиоактивности на стадии азеотропной осушки могут достигать 10-30 % [78].

В течение последнего десятилетия значительные усилия были направлены на разработку более эффективных протоколов получения реакционноспособного комплекса МФК с [ $^{18}\text{F}$ ]фторидом, не требующих дополнительной стадии азеотропной сушки и с возможностью проведения радиофторирования в мягких слабоосновных условиях. Обсуждение основных факторов, влияющих на эффективность элюирования радионуклида с использованием различных анионообменных картриджей и составов элюентов приводится в недавнем обзоре [85].

Однако в большинстве случаев новые протоколы сорбции/элюирования разрабатывались в применении к предложенным недавно методам прямого введения фтора-18 в неактивированные ароматические субстраты, где в качестве катализаторов используются чувствительные к основности среды трифлатные комплексы меди (II) с пиридином [70-72, 86, 87].

Что касается алифатического радиофторирования, то проблеме контроля основности среды и, таким образом, снижения количества предшественника в этих процессах уделяется не так много внимания [88]. Так в работах [89, 90] сообщалось о существенном снижении количества предшественника и других реагентов при проведении реакции алифатического радиофторирования в малом объеме с использованием микрореакторных или так называемых «микрофлюидных» технологий [90,91]. Однако эти методы оперируют небольшими радиоактивностями фтора-18, достаточными для исследовательских целей, тогда как при работе клинически значимыми активностями радионуклида неизбежны процессы радиолиза, ввиду концентрирования высокой активности в малом объеме каналов.

В отсутствие универсального метода для введения фтора-18 в алифатические субстраты были предложены различные подходы к снижению основности лишь для конкретных РФЛП. При радиофторировании с использованием в качестве МФК криптофiksa была предложена замена основной соли  $\text{K}_2\text{CO}_3$  на менее основную -  $\text{KHCO}_3$  в синтезе [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ [91], [ $^{18}\text{F}$ ]ФМИСО [92] и [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ [93]. В результате низкоосновных условий реакции радиофторирования авторам этих

работ удалось существенно снизить количество предшественников, что, в свою очередь, послужило основой разработки более простых и эффективных методов ТФЭ очистки на одноразовых картриджах. Вместе с тем, в рамках этих исследований крайне важная для автоматизации проблема азеотропной сушки осталась нерешенной.

Другим подходом, предложенным в работе [94], является замена традиционных МФК на основе криптофiksa или  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  менее основным  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$ . Для элюирования  $^{18}\text{F}$ фторида с картриджа QMA использовали достаточно большое количество МФК (15 мг) в апротонном растворителе ( $\text{MeCN}$ , ДМФ, ДМСО), содержащем до 5% воды. При элюировании в направлении, противоположном направлению нанесения активности на картридж (так называемое «обратное» элюирование), десорбция фтора-18 была почти количественной. Полученный элюат использовался напрямую на стадии радиофторирования, минуя стадию испарения растворителей и азеотропной сушки. Радиофторирование в смеси элюата (0,05 – 0,1 мл) и ацетонитрила (0,4 мл) обеспечивало высокие значения РХК (от 65 до 87%) на первой стадии синтеза  $^{18}\text{F}$ ФДГ и двух известных рецепторных радиолигандов,  $^{18}\text{F}$ фаллиприда и  $^{18}\text{F}$ ФЕДАА1106. Однако, использование так называемого «аликвотного» подхода снижает ценность данной методики, так и не нашедшей своего применения в рутинном синтезе РФЛП реакцией алифатического замещения. Тем не менее,  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  как низкоосновный МФК оказался эффективным в реакциях ароматического радиофторирования борорганических предшественников, катализируемых чувствительными к основности среды комплексами меди с пиридином [70, 87]. Реакционноспособный комплекс  $^{18}\text{F}$  $\text{Et}_4\text{NF}$  в этом случае получали также методом «обратного» элюирования  $^{18}\text{F}$ фторида раствором МФК в метаноле с последующей сменой растворителя (*трет*-бутанол/DMA) для проведения радиофторирования.

Перспективным подходом оказалось и использование нейтральных сульфоновых солей тетрабутиламмония, впервые предложенное корейскими учеными [95], которые, как было показано, могут служить эффективными МФК в

реакции  $S_N2$  радиофторирования. Так, использование раствора  $Bu_4NOMs$  в метаноле обеспечивало высокую эффективность элюирования радионуклида ( $>90\%$ ), сорбированного на картридже Chromafix® PS  $HCO_3^-$ , и также высокую РХК в реакции радиофторирования модельного алифатического субстрата в *tert*-бутаноле. Важно, что использование неводного раствора МФК на стадии элюирования [95] позволяло исключить традиционную стадию азеотропной сушки. Однако при переходе от модельных соединений к алифатическим предшественникам для синтеза РФЛП метод оказался не столь эффективным [96] и нуждается в дополнительных исследованиях. Кроме того, необходимость проведения фторирования в протонных растворителях накладывает ограничения для использования в автоматизированных модулях синтеза РФЛП, где традиционно применяют ацетонитрил и другие апротонные растворители.

В дополнение к  $Bu_4NOMs$  [95] в недавней работе [97] в качестве МФК были исследованы соли тетрабутиламмония с другими противоионами -  $Bu_4NOTf$  и  $Bu_4NH_2PO_4$ . В реакции радиофторирования простого модельного алифатического субстрата в присутствии  $Bu_4NH_2PO_4$  были получены сравнимые или более высокие РХК, как и для  $Bu_4NOMs$ . Причем для всех трех МФК эффективность фторирования сложным образом зависела от условий «прекондиционирования» - обязательной процедуры промывки анионообменного картриджа перед сорбцией  $[^{18}F]$ фторида для замены хлорид аниона QMA сорбента другим (обычно карбонатным) анионом. Так, например, при сравнении четырех анионов ( $CO_3^{2-}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$  и  $HPO_4^{2-}$ ) наиболее высокое значение ЭЭ (97%), равно как и РХК (76% для модельного субстрата) было получено при использовании на стадии «прекондиционирования» фосфат аниона  $PO_4^{3-}$  и на стадии элюирования - раствора  $Bu_4NOMs$  в 50% MeCN/ $H_2O$  [97]. Результаты этой работы применены в автоматизированном синтезе  $[^{18}F]$ ФЕПЕ2И [98], важнейшего радиолиганда для оценки транспортеров дофамина при болезни Паркинсона. В этом синтезе [98] были апробированы два МФК,  $Bu_4NOMs$  и  $Bu_4NH_2PO_4$ , продемонстрировавшие одинаково высокую эффективность радиофторирования (РХК 72%), что вдвое выше по сравнению с данными для традиционного МФК на основе криптофикса.

Следует отметить, что при переходе к большим активностям  $^{18}\text{F}$  авторы столкнулись с проблемой радиолиза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЕПЕ2И}$ , в связи с чем метод нуждается в дальнейшей оптимизации.

### 1.7. Заключение

Большинство методов синтеза клинически значимых РФЛП на основе фтора-18 основано на реакции прямого нуклеофильного алифатического замещения ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) уходящей группы в молекуле соответствующего предшественника. В случае чувствительных к основанию предшественников проведение радиофторирования в присутствии щелочных МФК, традиционно применяемых в ПЭТ радиохимии, сопровождается образованием радиоактивных и химических примесей за счёт протекания нежелательной побочной реакции элиминирования уходящей группы. Для обеспечения высоких радиохимических выходов необходимо большее количество предшественника (3-80 мкмоль), что приводит к увеличению количества примесей и в свою очередь необходимости использования сложных методов очистки и схем автоматизации с увеличением общего времени радиоактивного синтеза. Несмотря на успешные подходы к синтезу отдельных РФЛП и перспективные разработки, направленные на снижение основности реакции радиофторирования и, таким образом, уменьшение количества чувствительных к щелочным условиям предшественников, до настоящего времени не было предложено единого протокола, который мог бы легко адаптирован в современные модули автоматизированного синтеза большинства РФЛП, подобно хорошо известному методу радиофторирования на основе критофикса-карбоната калия. В связи с вышесказанным, цель настоящей работы заключалась в разработке единого алгоритма введения фтора-18 в алифатическую группу предшественников с различными уходящими группами с использованием нового нейтрального МФК, обеспечивающего мягкие условия радиофторирования, и подтверждении эффективности нового протокола, интегрированного в автоматизированный синтезе клинически значимых РФЛП.

## Глава 2. Экспериментальная часть

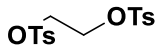
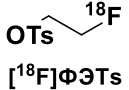
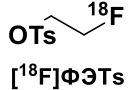
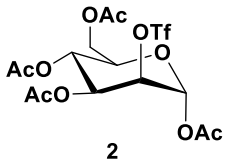
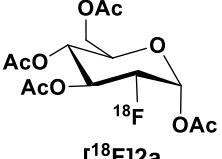
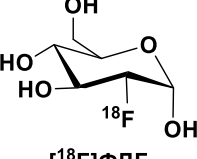
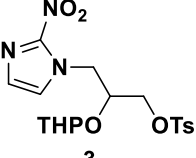
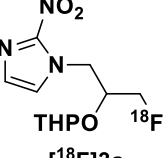
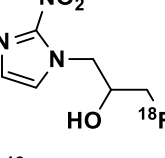
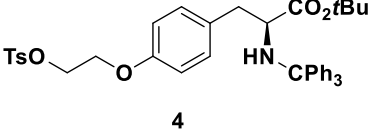
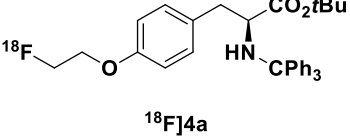
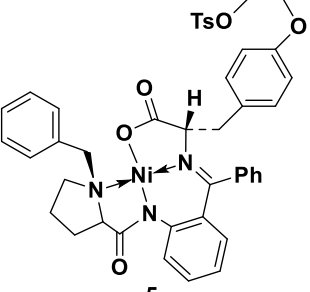
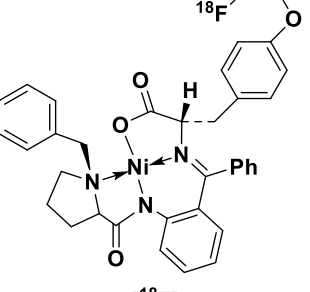
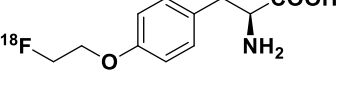
### 2.1. Реагенты и материалы

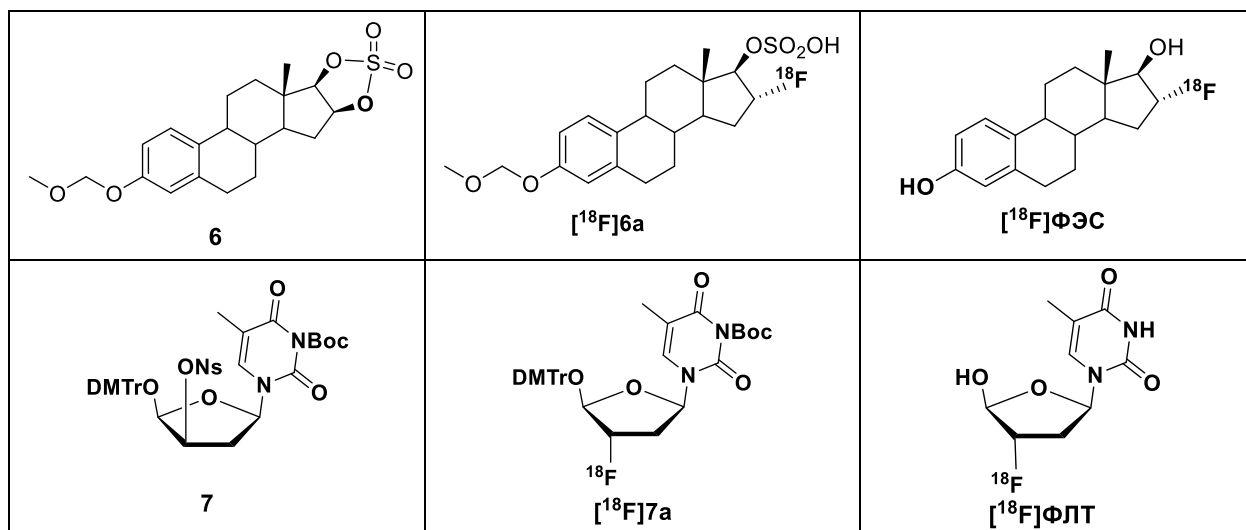
Все реактивы для выполнения диссертационной работы были получены из коммерчески доступных источников и использовались без предварительной очистки.

Структурные формулы исходных реагентов – предшественников, их радиофторированных производных и РФЛП представлены в Таблице 8. Предшественники - 1,2-этиленгликольбистозилат (**1**); 1,3,4,6-тетра-О-ацетил-2-О-трифторметансульфонил-β-D-маннопираноза (**2**, для синтеза [<sup>18</sup>F]ФДГ); 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)-2-[(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси]пропил 4-метилфенилсульфонат (**3**, предшественник для [<sup>18</sup>F]ФМИСО); О-[2-[[4-метилфенил)сульфонил]окси]этил]-N-(трифенилметил)-L-тирозин 1,1-диметилэтиловый эфир (**4**, предшественник для [<sup>18</sup>F]ФЭТ); 3-метоксиметил-16α,17β-эпистриол-О-циклический сульфен (**6**, предшественник для [<sup>18</sup>F]ФЭС); 1-(2H)-пиримидинкарбоновая кислота, 3-[2-дезоксид-3-О-[(4-нитрофенил)сульфонил]-5-О-(диметокситритил)-β-D-трео-пентафуранозил]-3,6-дигидро-5-метил-2,6-диоксо-1(2H)-пиримидинкарбоновой кислоты 1,1-диметилэтиловый эфир (**7**, предшественник для [<sup>18</sup>F]ФЛТ) и все стандарты закуплены в АВХ GmBH (Германия), Huayi Isotopes Co (Китай), Toronto Research Chemicals (Канада). Хиральный Ni<sup>II</sup> комплекс алкилированного (S)-тирозина основания Шиффа (**5**, предшественник для [<sup>18</sup>F]ФЭТ) и стандарт - ФЭТ синтезированы в Институте элементоорганических соединений Российской Академии наук им. А. Н. Несмеянова (ИНЭОС РАН), Москва. Для получения фтора-18 использовали [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O (≥97%, ЗАО «Глобальные научные технологии», Сосновый Бор, Россия). Все картриджи и сорбенты (LC-SCX cation-exchange resin; LC Alumina N neutral alumina) приобретены в Waters Corporation (США). Картриджи для выделения фтора-18 из мишенной воды - Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge (130 мг, QMA) и Sep-Pak Plus Light QMA Carbonate Cartridge

(46 мг, QMAcarb), кондиционированы 0,5 М NaHCO<sub>3</sub> (10 мл) с последующей промывкой водой (10 мл). Картриджи для очистки РФЛП: Oasis HLB 6cc Extraction Cartridge (200 мг), OASIS WAX 3cc (60 мг), Sep-Pak tC18 Plus Light Cartridge (400 мг), Sep-Pak C18 Plus Short Cartridge (360 мг) кондиционированы EtOH (5 мл) с последующей промывкой водой (10 мл); Sep-Pak Alumina N Plus Cartridge (280 мг) и Sep-Pak Light Waters Accell™ Plus CM Cartridge (360 мг) кондиционированы водой (3 мл).

Таблица 8 - Структурные формулы предшественников **1-7**, их радиофторированных производных и радиотрейсеров

Предшественник	Радиофторированный предшественник	Радиотрейсер
 <p>1</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]ФЭТs</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]ФЭТs</p>
 <p>2</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]2a</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]ФДГ</p>
 <p>3</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]3a</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]ФМИСО</p>
 <p>4</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]4a</p>	
 <p>5</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]5a</p>	 <p>[<sup>18</sup>F]ФЭТ</p>



## 2.2. Оборудование

[<sup>18</sup>F]Фторид получали на циклотроне PETtrace 4 (GE Healthcare, Швеция) по ядерной реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  облучением [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O в водной мишени (серебро, объем 1.4 мл) с использованием пучка протонов 16,4 МэВ.

Радио-ТСХ анализ проводили на сканере Scan-RAM (LabLogic, Sheffield, Великобритания) (Carrol&Ramsey Associates, USA); на пластинах силикагеля (60 Сорбфил, Ленхром, Россия).

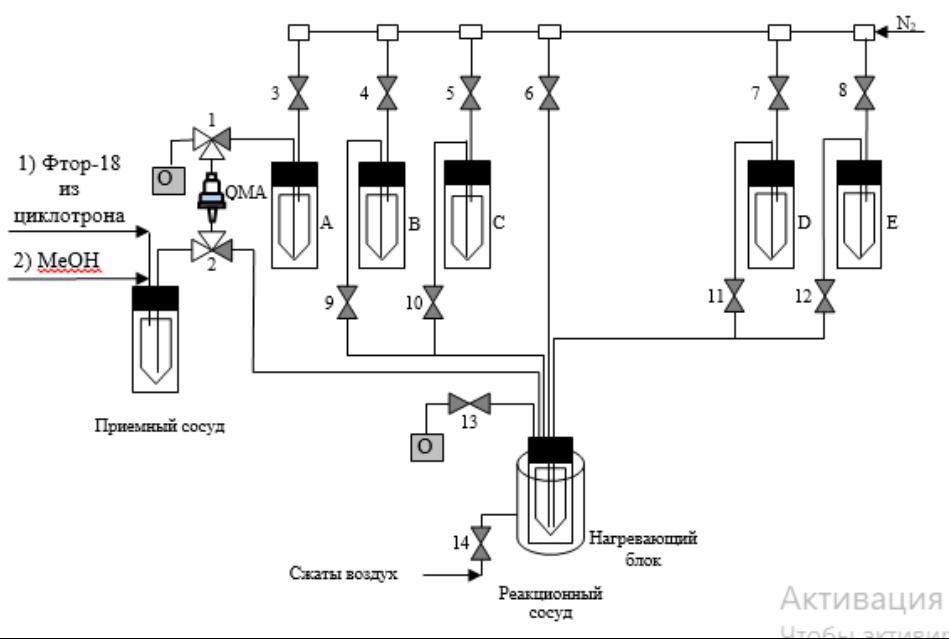
Радио-ВЭЖХ анализ проводили на хроматографе Dionex ISC-5000 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA), снабженном краном дозатором Rheodyne 7125, УФ-детектором (254 нм) и последовательно соединенным с ним детектором по радиоактивности model 105-S (Carrol and Ramsey Associates, CA, USA) с разницей во времени регистрации пиков детекторами в 0,1 мин.

ГЖХ анализ проводили на газовом хроматографе «Хроматек-Кристалл 5000», оснащённом ионизационно-плазменным детектором (ПВД) и автосамплером ДАЖ-2М, с использованием встроенных программ «Хроматэк Аналитик 3». Применялись газы высокой чистоты: гелий (99,999%) и водород (водородный генератор входит в комплектацию хроматографа). Сжатый воздух подавался промышленным компрессором Atlas Corso, установленным в ИМЧ РАН.

Использовалась колонка Porapak QS 80/100, длиной 2 м, диаметром 3 мм (Scientific, США). Объем анализируемой пробы составлял 1 мкл.

Количество никеля определяли с помощью капиллярного электрофореза на системе «Капель-105М» (Люмэкс, Россия).

Для разработки метода нуклеофильного алифатического радиофторирования предшественников **1-4, 6 и 7** был использован полуавтоматический модуль синтеза собственной разработки с дистанционным управлением (далее Модуль ИМЧ РАН, Рисунок 10) [62]. Все эксперименты проводились минимум в трех повторах, если не указано иное.



Позиция	Наименование
A	Сосуд для раствора элюента
B	Сосуд для раствора предшественника
C, D, E	Сосуды не использовались
Приемный сосуд	Сосуд для облученной воды/MeOH
Реакционный сосуд	Реакционный сосуд (нагрев и охлаждение)
QMA	Картридж с анионообменной смолой QMA
—	Трубка тефлоновая, диам.1/16"
—	Вентили двух- и трехходовые с электрическим актуатором
O	Сосуды для отходов
N <sub>2</sub>	Газ для переноса реагентов и удаления растворителей; скорость потока устанавливается вручную с помощью регулятора потока

Позиция	Наименование
Сжатый воздух	Газ, используемый для охлаждения реакционного сосуда

Рисунок 10 - Схема модуля синтеза РФЛП, разработанного в ИМЧ РАН (Модуль ИМЧ РАН); перечень компонентов модуля.

Для автоматизации синтеза радиотрейсеров  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  и  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  использовали модуль синтеза TRACERlab FX N Pro (GE Healthcare, США; Рисунок 11).

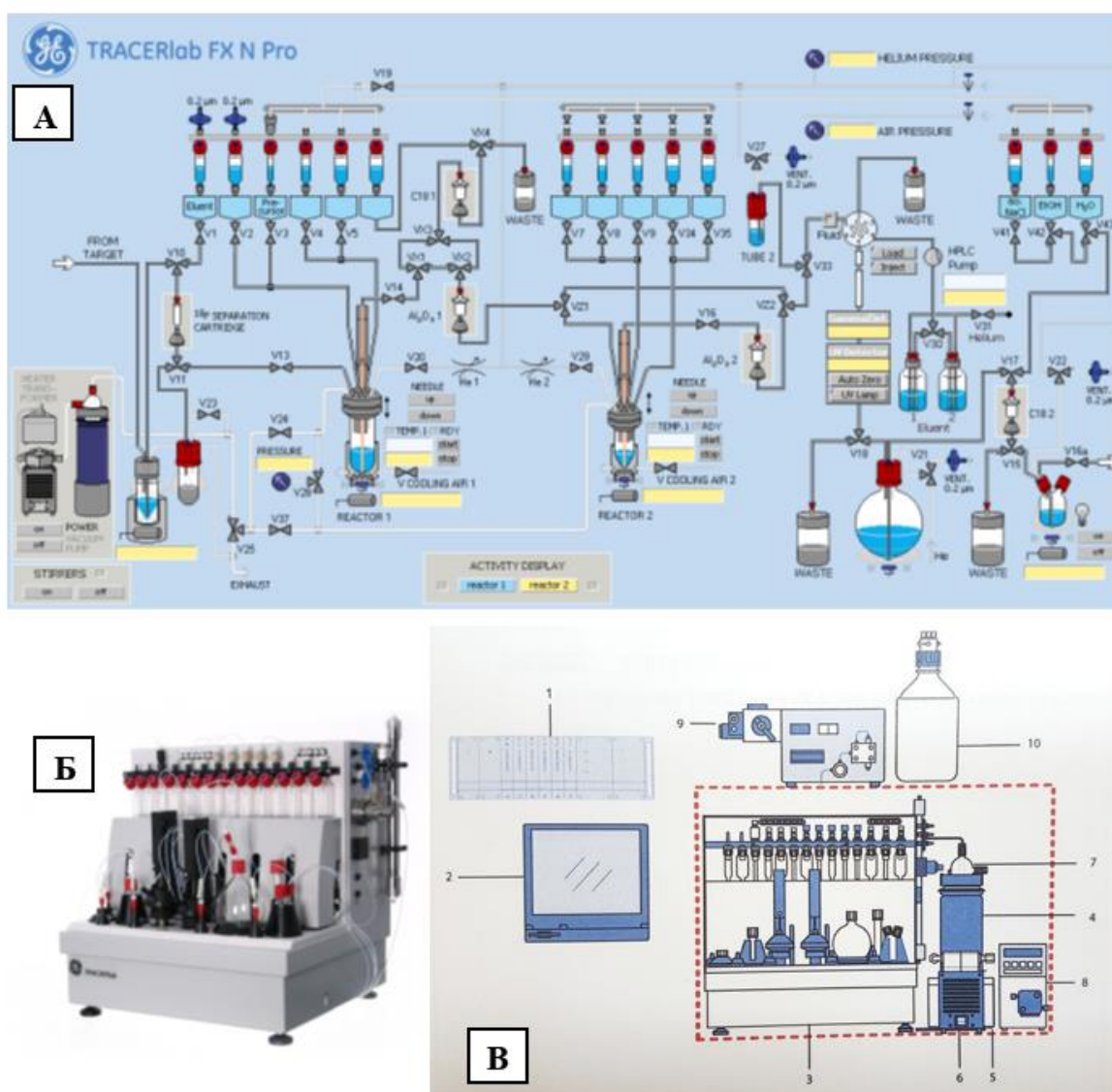


Рисунок 11 - Модуль синтеза TRACERlab FX N Pro. А: схема модуля; Б: внешний вид модуля; В: блок-схема модуля (1- блок управления, 2- компьютер с управляющей программой, 3- модуль для синтеза, 4- сосуд Дьюара, 5- трансформатор, 6- вакуумный насос, 7- ловушка, охлаждаемая жидким азотом).

### 2.3. Получение [ $^{18}\text{F}$ ]фторида в водной мишени циклотрона

[ $^{18}\text{F}$ ]Фторид получали на циклотроне PETtrace 4 (GE Healthcare, США) по ядерной реакции  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  облучением [ $^{18}\text{O}$ ]H<sub>2</sub>O протонами 16,4 МэВ в водной мишени (серебро, объем 1,4 мл). Облученную воду- $^{18}\text{O}$  переносили из мишени с помощью тока гелия в приемный сосуд модуля.

### 2.4. Синтез [ $^{18}\text{F}$ ]1a-[ $^{18}\text{F}$ ]4a, [ $^{18}\text{F}$ ]6a и [ $^{18}\text{F}$ ]7a на Модуле ИМЧ РАН

#### 2.4.1. Получение активированного комплекса $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ на Модуле ИМЧ РАН

*Метод А.* Облученную воду- $^{18}\text{O}$  с [ $^{18}\text{F}$ ]фторидом (0,7-0,9 ГБк) из приёмного сосуда модуля переносили током гелия на картридж QMA в течение 3-х минут. В приемный вайл в ручную шприцом добавляется 2 мл MeOH, который затем током гелия направляли через картридж в течение 3 мин. [ $^{18}\text{F}$ ]Фторид элюировали с картриджа раствором элюента из сосуда А в реакционный сосуд током азота (20 мл/мин). Состав элюента: 2,5 мкмоль  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  в 1 мл MeOH. Растворитель удаляли при 85 °С, 5 мин в токе азота. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 50 °С.

*Метод Б.* Облученную воду- $^{18}\text{O}$  с [ $^{18}\text{F}$ ]фторидом (0,7-0,9 ГБк) из приёмного сосуда модуля переносили током гелия на картридж QMAcarb в течение 3-х минут. [ $^{18}\text{F}$ ]Фторид элюировали с картриджа раствором элюента из сосуда А в реакционный сосуд током азота (20 мл/мин). Состав элюента: 2,5 мкмоль  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  в 2 мл EtOH. Растворитель удаляли при 100 °С, 5 мин в токе азота. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 50 °С.

#### 2.4.2. Радиофторирование 1-4, 6 и 7

К охлаждённому сухому комплексу  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  в реакционный сосуд добавляли раствор предшественника 1-4, 6 и 7 (0,5-25 мкмоль) в 0,8 мл MeCN.

Реакционную смесь нагревали в течение 5 минут при 80 °С. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. Последовательность управления этапами получения  $[^{18}\text{F}]\mathbf{1a-4a}$ ,  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  и  $[^{18}\text{F}]\mathbf{7a}$  на Модуле ИМЧ РАН представлена в Приложение А, Таблица А.1.

## 2.5. Синтез РФЛП на модуле TRACERlab FX N Pro

### 2.5.1. Получение активированного комплекса $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ на модуле TRACERlab FX N Pro

Облученную воду- $^{18}\text{O}$ , содержащую 6-7 ГБк  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$ , переносили из приемного сосуда модуля под действием вакуумного насоса через картридж QMAcarb в течение 3-х минут в сосуд для отходов.  $[^{18}\text{F}]\text{Фторид}$  элюировали с картриджа раствором элюента из сосуда №1 в реакционный сосуд током азота. Состав элюента: 2,5-9,6 мкмоль  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  в 2 мл EtOH. Растворитель удаляли при 65 °С, 5 мин под действием вакуума. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 50 °С. Последовательность управления этапами получения активированного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  на модуле TRACERlab FX N Pro представлена в Приложение А, Таблица А.2.

### 2.5.2. Получение $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$

К охлажденному сухому комплексу  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  в реакционный сосуд из сосуда №2 добавляли раствор **5** (0,6 мкмоль) в 0,9 мл MeCN. Реакционную смесь нагревали в закрытом реакторе в течение 5 минут при 100 °С при перемешивании и в течение 2 мин с открытым вентилем V24 (удаление MeCN). Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. К реакционной массе из сосуда №3 добавляли смесь 0,5 N HCl (0,5 мл) и EtOH (0,2 мл), гидролиз проводили при температуре 125 °С в течение 5 мин. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. Полученный раствор нейтрализовали добавлением из сосуда

№5 смесь 10 мл H<sub>2</sub>O и 0,1 N NaOH (3,4 мл), содержимое перемешивали 1 мин. Полученную суспензию (pH 8,5–9,0) направляли током азота из реактора через цилиндрическую колонку объемом 1 мл (Supelco), снабженную полиэтиленовой микропористой прокладкой (Supelco, кат. № 57244), для удаления осадка. Отфильтрованную реакционную смесь пропускали через три, соединенных последовательно, картриджа Sep-Pak tC18 light. Картриджи промывали 7 мл воды из сосуда №6. [<sup>18</sup>F]ФЭТ элюировали с картриджем раствором 5 мМ ацетата натрия (pH 4; 10 мл) содержащего 3% этанола из сосуда №7 через катионообменный картридж Sep Pak Accell Plus CM Plus Light и стерильный фильтр (0,22 мкм) в стерильный флакон объемом 20 мл, предварительно заполненный 5 мл водного раствора ацетата натрия (5,4%, pH 11). Конечный продукт представлял из себя стерильный изотонический раствор с pH 5,5 с общим объемом 15 мл, содержащий 2% EtOH. Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза [<sup>18</sup>F]ФЭТ, а также последовательность управления этапами синтеза представлена в Приложение А, Таблица А.3.

### 2.5.3. Получение [<sup>18</sup>F]ФЭС

К охлаждённому сухому комплексу **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F** в реакционный сосуд из сосуда №3 добавляли раствор **6** (0,8 мкмоль) в 1 мл MeCN. Реакционную смесь нагревали в закрытом реакторе в течение 5 минут при 100 °С при перемешивании и 3 мин с открытым вентилем V24 (удаление MeCN). Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. К реакционной массе из сосуда №4 добавляли смесь 1N HCl/MeCN (0,15/0,35 мл), гидролиз проводили при температуре 100 °С в течение 5 мин. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 50 °С. В полученный раствор добавляли 10 мл H<sub>2</sub>O из сосуда №5, реакционную смесь перемешивали 1 мин. Полученный раствор передавливали током азота из реактора через картридж OASIS WAX 3cc в сосуд для отходов. Картридж промывали раствором 40% водного EtOH (1 мл) из сосуда № 6 в сосуд для отходов. [<sup>18</sup>F]ФЭС элюировали с картриджа 1 мл 95 %-ного EtOH из сосуда №

7 в 2-х горлый сосуд предварительно заполненный 0,9 % NaCl (19 мл). После перемешивания раствор переносили током азота через стерильный фильтр в стерильный флакон объемом 20 мл. Конечный продукт представлял из себя стерильный изотонический раствор общим объемом 20 мл, содержащий 5 % EtOH. Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ , а также последовательность управления этапами синтеза представлена в Приложение А, Таблица А.4.

#### 2.5.4. Получение $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЛТ}$

К охлаждённому сухому комплексу  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  в реакционный сосуд из сосуда №3 добавляли раствор 7 (4,8 мкмоль; 4 мг) в 1 мл MeCN. Реакционную смесь нагревали в закрытом реакторе в течение 3 минуты при 110 °С при перемешивании и 3 мин с открытым вентилем V24 (удаление MeCN до ~0,2 мл). Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. К реакционной массе из сосуда №4 добавляли 1N HCl (1 мл), гидролиз проводили при температуре 100 °С в течение 10 мин. Реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 40 °С. В полученный раствор добавляли смесь H<sub>2</sub>O (10 мл) и 0,3N NaOH (2,6 мл) из сосуда №5, реакционную смесь перемешивали 1 мин. Полученный раствор (pH 6,5-7,0) направляли током азота из реактора через картридж Oasis HLB бсс в сосуд для отходов. Картридж промывали H<sub>2</sub>O (5 мл) из сосуда № 6 в сосуд для отходов.  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЛТ}$  элюировали с картриджа водным раствором 10% EtOH (8мл) из сосуда № 7 через картридж Sep-Pak Alumina N Plus Light Cartridge и стерильный фильтр в стерильный флакон (20 мл), предварительно заполненный 0,9 % NaCl (8 мл). Конечный продукт представлял из себя стерильный изотонический раствор (pH 7,0) общим объемом 16 мл, содержащий 5 % EtOH. Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЛТ}$ , а также последовательность управления этапами синтеза представлена в Приложение А, Таблица А.5.

## 2.6. Определение радиохимической конверсии, радиохимического выхода, радиохимической и химической чистоты

Определение радиохимической конверсии (РХК) реакции радиофторирования **1-7** проводили методом радио-ТСХ. После проведения реакции радиофторирования в реакционную смесь добавляли 95% этанол (1 мл), перемешивали и аликвоту (2-3 мкл) продукта радиофторирования наносили на пластину силикагеля. Пластины помещали в предварительно насыщенную элюентом хроматографическую камеру. Расстояние от линии старта до линии фронта для всех хроматограмм составляло 75 мм. Распределение активности по пластине устанавливали с помощью радио-ТСХ-сканера Scan-RAM. РХК определяли, как отношение площади пика продукта к общей площади пиков на ТСХ. Для определения  $R_f$  промежуточных продуктов радиофторирования **[<sup>18</sup>F]1a**, **[<sup>18</sup>F]2a**, **[<sup>18</sup>F]3a**, **[<sup>18</sup>F]4a**, **[<sup>18</sup>F]5a**, **[<sup>18</sup>F]6a** и **[<sup>18</sup>F]7a** и РХК в реакции радиофторирования использовали следующие ТСХ системы:

*Метод 1* для **[<sup>18</sup>F]1a**, **[<sup>18</sup>F]2a**, **[<sup>18</sup>F]3a**, **[<sup>18</sup>F]4a**, **[<sup>18</sup>F]7a**: элюент – ацетонитрил/вода (9:1);

*Метод 2* для **[<sup>18</sup>F]5a**: элюент – этилацетат/хлороформ/уксусная кислота(4/1/1);

*Метод 3* для **[<sup>18</sup>F]6a**: элюент – хлористый метилен/метанол (4/1).

Коэффициенты подвижности  $R_f$  радиофторированных продуктов установленные с помощью радио-ТСХ *Методами 1-3* представлены в Таблице 9. Примеры хроматограмм представлены в Приложение Б.

Таблица 9 - Значение  $R_f$  для радиофторированных продуктов

Метод	Значение $R_f$							
	<b>[<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup></b>	<b>[<sup>18</sup>F]1a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]2a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]3a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]4a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]5a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]6a</b>	<b>[<sup>18</sup>F]7a</b>
1	0,05	0,74	0,67	0,75	0,76	-	-	0,74
2	0,05	-	-	-	-	0,70	-	-
3	0,05	-	-	-	-	-	0,65	-

Для определения радиохимического выхода РФЛП  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  и  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  измеряли активность облученной  $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ , содержащей  $[^{18}\text{F}]\text{фторид}$ , после облучения и активность продукта после проведения очистки. РХВ рассчитывали по формуле:

$$\text{РХВ} = \frac{A_1}{A_0} \times 100\%$$

где  $A_0$  - начальная активность облученной воды- $^{18}\text{O}$  с  $[^{18}\text{F}]\text{фторидом}$ , Бк;  $A_1$  - активность продукта после очистки (с РХЧ  $\geq 95\%$ ). Коррекцию на распад рассчитывали по формуле:

$$A_t = A_0 \times e^{-\lambda t}$$

$$\lambda = \ln(2) / T_{1/2}$$

где  $A_0$  - активность в конкретный момент времени  $t$ , Бк;  $\lambda$  - постоянная распада,  $t$  - прошедшее время,  $T_{1/2}$  - период полураспада.

Определение радиохимической (РХЧ) и химической чистоты проводили методом радио-ВЭЖХ на хроматографе Dionex ISC-5000 с использованием колонки X-Bridge C18 (150 × 4.6 мм; Waters). Для определения компонентов реакционной смеси использовали различные ВЭЖХ системы:

*Метод 4* для определения **5**, ФЭТ и  $\text{Bu}_4\text{NOH}$ : элюент - смесь 0,1% трифторуксусной кислоты и MeCN в градиентном режиме, скорость потока 2,0 мл/мин, УФ 280 нм: 0-2 мин - 2 % MeCN; 2-13 мин - 2-95% ацетонитрила, линейный градиент; 13,0-13,5 мин - 95-2 % - линейное уменьшение содержания MeCN; 13,5-20,0 мин - 2 % MeCN;

*Метод 5* для определения ФЭС и **6**: элюент смесь MeCN и  $\text{H}_2\text{O}$  в градиентном режиме, скорость потока 2,0 мл/мин, УФ 280 нм: 0-1,0 мин 20% MeCN; 1,0-9,0 мин - линейное увеличение с 20 до 90% MeCN; 9,0-9,2 мин - линейное уменьшение с 90 до 20% MeCN; 9,2-15,0 мин - 20% MeCN;

*Метод 6* для определения ФЭС и **6**: элюент -  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  (40/60, v/v), скорость потока 1,5 мл/мин, УФ 280 нм;

*Метод 7* для определения **7**, ФЛТ и примесей тимина, тимидина, ставудина: элюент - смесь водного раствора  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 10 мМ (рН 3 регулируется с помощью

H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) с MeCN в градиентном режиме: 0-5,0 мин 1% MeCN; 5,0-15,0 мин - линейное увеличение с 1 до 95% MeCN; 15,0-20,0 мин -1% MeCN;

*Метод 8* для определения энантиомерной чистоты [<sup>18</sup>F]ФЭТ: колонка Chirobiotic T (Astec), скорость потока 1,0 мл/мин; элюент: 0,1 % ацетат триэтиламина/этанол (80/20).

Время удерживания R<sub>t</sub> предшественников, радиофторированных продуктов и нерадиоактивных примесей, определенные описанными выше методом радио-ВЭЖХ (*Методы 4-8*) представлены в Таблице 10.

Таблица 10 - Значения R<sub>t</sub> для различных компонентов реакционной смеси

№	R <sub>t</sub>	Метод				
		4	5	6	7	8
1	<b>5</b>	10,9	-	-	-	-
2	<b>6</b>	-	8,7	7,1	-	-
3	<b>7</b>	-	-	-	14,9	-
4	<b>ФЭТ</b>	5,4	-	-	-	-
5	<b>ФЭС</b>	-	5,7	1,7	-	-
6	<b>ФЛТ</b>	-	-	-	7,9	-
7	тимин	-	-	-	2,6	-
8	тимидин	-	-	-	6,9	-
9	ставудин	-	-	-	7,4	-
10	<b>L-[<sup>18</sup>F]ФЭТ</b>	-	-	-	-	5,3
11	<b>D-[<sup>18</sup>F]ФЭТ</b>	-	-	-	-	6,7
12	Bu <sub>4</sub> NOH	4,0	-	-	-	-

## 2.7. Определение эффективности элюирования

Для определения эффективности элюирования (ЭЭ) [<sup>18</sup>F]фторида с картриджа с анионообменным сорбентом (QMA и QMAcarb) измеряли активность картриджа после нанесения на него облучённой воды-<sup>18</sup>O, содержащей [<sup>18</sup>F]фторид, и после элюирования раствором МФК. ЭЭ рассчитывали по формуле:

$$\text{ЭЭ} = \frac{(A_1 - A_0)}{A_1} \times 100\%$$

где  $A_0$  – активность картриджа после элюирования с него [ $^{18}\text{F}$ ]фторида, Бк;  $A_1$  – активность картриджа после нанесения на него облучённой воды- $^{18}\text{O}$  с [ $^{18}\text{F}$ ]фторидом. Коррекция на радиоактивный распад не проводилась.

## Глава 3. Результаты и обсуждение

### 3.1. Выбор межфазного катализатора для получения активированного комплекса фтора-18

В настоящее время для выделения [ $^{18}\text{F}$ ]фторида из облучённой воды- $^{18}\text{O}$  используют метод твердофазной экстракции (ТФЭ). Облучённую в мишени циклотрона воду- $^{18}\text{O}$ , содержащую радионуклид, пропускают через анионообменный сорбент, на котором происходит адсорбция [ $^{18}\text{F}$ ]фторида. В автоматизированных модулях синтеза используют одноразовые коммерчески доступные картриджи: PS- $\text{HCO}_3$  (Chromafix, Германия), Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge (QMA) и Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate Plus Light Cartridge ((QMAcarb); Waters Corporation, США), заполненные высокоосновным анионообменным сорбентом с привитой к силикагелю или сополимеру дивинилбензола и стирола четвертичной аммониевой солью. Эффективность удерживания [ $^{18}\text{F}$ ]фторида на данных сорбентах составляет  $>97\%$ .

Десорбцию радионуклида проводят растворами МФК. В большинстве случаев используют комплекс  $\text{K}_2\text{CO}_3$  с криптофиксом 222 ( $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$ ), растворенный в смеси воды и ацетонитрила. Для эффективного элюирования ( $>95\%$ ) используют 15-72 мкмоль  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 30-66 мкмоль K222, 1-2 мл MeCN и 0,08-1 мл воды [99-104]. Элюат, содержащий комплексы  $[\text{K}222/\text{K}]^+ [^{18}\text{F}]\text{F}^-$ ,  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$  в смеси MeCN и воды, упаривают при 110-120 °C для удаления растворителей. Сухой остаток подвергают 2-х или 3-х кратной азеотропной сушке с MeCN (2-3 порции по 0,5-1 мл) для полного удаления воды. Полученный комплекс [ $^{18}\text{F}$ ]фторида с K222 в присутствии  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$  далее используют в реакциях алифатического нуклеофильного радиофторирования. Вторым по частоте использования в ПЭТ радиохимии МФК является высокоосновный тетрабутиламмоний гидроксид, который переводят в гидрокарбонатную форму ( $\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$ ) пропусканием через его водный раствор  $\text{CO}_2$  до pH=8-9. Для элюирования используют, как правило, 35 мкмоль МФК в 0,3-0,5 мл воды [91,105-

107]. Получение активированного комплекса фтора-18 с  $\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$  проводят по той же методике, что и с комплексом  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$ . Оба подхода имеют ряд недостатков: 1) относительно высокое содержание основания ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ :  $\text{pK}_{\text{a}1}=6,35$  и  $\text{pK}_{\text{a}2}=10,25$ ) в реакционной смеси может приводить к разложению дорогостоящего предшественника и снижению эффективности радиофторирования; 2) проведение азеотропной сушки приводит к потере до 30% радиоактивности в результате неспецифического взаимодействия со стенками реакционного сосуда [108]; 3) процедура азеотропной осушки увеличивает время процесса синтеза РФЛП на 5-10 мин.

В настоящей работе было предложено заменить широко используемый высокоосновный комплекс  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$ , а также  $\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$ , на МФК нейтральной природы. В качестве таких МФК могут быть использованы четвертичные алкиламмониевые соли, образованные взаимодействием соответствующего сильного основания (четвертичный алкиламмоний гидроксид) с сильной кислотой. При этом среди четвертичных аминов - тетраметиламмония, тетраэтиламмония и тетрабутиламмония - выбор был остановлен на последнем, поскольку этот катион обладает наибольшей липофильностью, что в свою очередь обеспечивает наибольшую эффективность переноса  $^{18}\text{F}$ фторида в органическую фазу для прохождения реакции радиофторирования. Для введения фтора-18 методом алифатического нуклеофильного замещения в качестве уходящей группы в предшественниках для РФЛП используются сульфатные группы (OTs, OMs, OTf, ONs) – анионы сильных кислот. При этом наиболее часто используемой группой является толуолсульфонатная (OTs) – этот анион и был выбран. Использование этого аниона в составе тетрабутиламмониевой соли позволяет использовать нейтральный МФК (NOTs:  $\text{pK}_{\text{a}}=0,7$ ). Кроме того, в отличие от  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$ ,  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  хорошо растворим в спиртах, которые могут быть использованы в качестве растворителя для приготовления раствора элюента. Возможность замены воды на спирт в составе элюирующего растворителя позволяет исключить стадию азеотропной сушки, необходимую для удаления воды в случае элюентов на водной основе.  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  представляет из себя белый

кристаллический порошок, удобный в использовании, недорогой и коммерчески доступный. Для использования в синтезе РФЛП методом алифатического радиофторирования предложен впервые. В настоящей работе показана возможность использования **Bu<sub>4</sub>NOTs** для введения фтора-18 в молекулы-предшественники **1-7** методом алифатического нуклеофильного радиофторирования (Таблица 8).

### 3.2. Получение активированного комплекса Bu<sub>4</sub>N<sup>[18F]F</sup> на Модуле ИМЧ РАН

В настоящей работе для выделения фтора-18 из облучённой воды были выбраны наиболее часто используемые анионообменные картриджи QMA и QMAcarb. На входе и выходе картриджи, изготовленные из полиэтилена и имеющие размер 3×2 см (Рисунок 12), снабжены специальными коннекторами

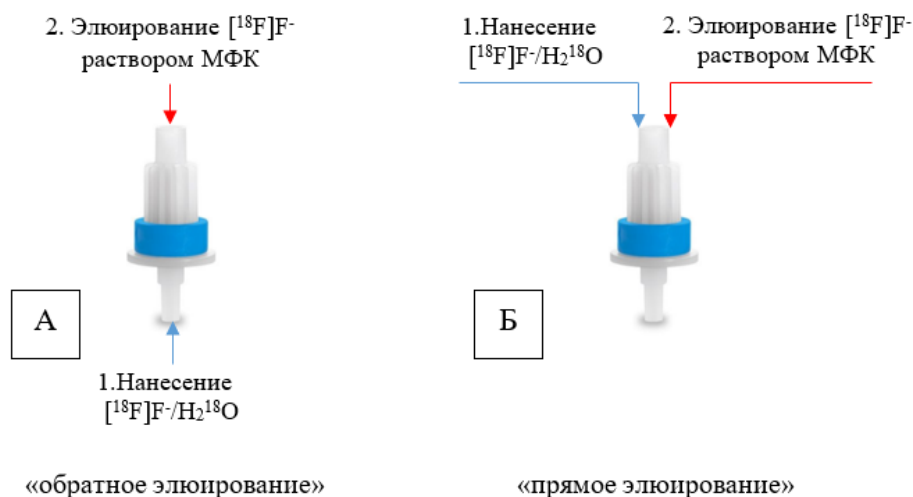


Рисунок 12 - Схемы протоколов нанесения облученной воды-<sup>18</sup>O с  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  и его элюирования с картриджа раствором МФК.

(Luer connectors) для герметичного соединения с тефлоновыми трубками для переноса реагентов или пластиковыми шприцами. Картриджи заполнены анионообменным сорбентом – привитой к силикагелю четвертичной аммониевой солью с анионом хлора (130 мг; QMA) или карбоната (46 мг; QMAcarb) (Рисунок 9).

Процедура нанесения на картридж облученной воды- $^{18}\text{O}$  с  $^{18}\text{F}$ фторидом и его элюирования растворами МФК может быть реализована двумя способами, в зависимости от конструкции модуля синтеза (Рисунок 12). Так, например, в модулях GE FASTlab предусмотрено так называемое «обратное элюирование»: нанесение облученной воды с  $^{18}\text{F}$ фторидом и его элюирование производят с противоположных концов картриджа (Рисунок 12, А).

В модуле синтеза TRACERlab FX N Pro напротив предусмотрено нанесение и элюирование реагентов на картридж в одном направлении, так называемое «прямое элюирование» (Рисунок 12, Б).

В целях дальнейшего применения разработанного алгоритма алифатического нуклеофильного радиофторирования с помощью **Bu<sub>4</sub>NOTs** в различных модулях синтеза в настоящей работе были предложены оба протокола сорбции/элюирования для выделения фтора-18 из облученной воды- $^{18}\text{O}$ . Первоначальная разработка была осуществлена на Модуле ИМЧ РАН, где может быть реализован, как вариант «обратного элюирования», так и «прямого элюирования». Оба подхода были использованы для разработки алгоритма радиофторирования предшественников **1-4, 6 и 7** (Таблица 8).

### 3.2.1. Метод А - «обратное элюирование»

Процедура «обратного элюирования» имеет ряд особенностей. Данный протокол выделения фтора-18 из облученной воды- $^{18}\text{O}$  используется для снижения количества МФК/основания в синтезе радиотрейсеров методом ароматического нуклеофильного замещения под действием катализа [87]. В таких реакциях используют чувствительные к основанию медные комплексы, и для достижения высокой РХК необходимо минимизировать количество высокоосновных МФК, таких как  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K}_2\text{CO}_3$  или  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$ . Из литературы известно, что при нанесении облученной воды с  $^{18}\text{F}$ фторидом на анионообменный картридж QMA радионуклид адсорбируется в верхних слоях сорбента [109]. Zlatopolskiy и др. установили, что при элюировании в обратном направлении требуется существенно

меньшее количество МФК/основания, чем при использовании протокола «прямого элюирования». Таким образом авторам удалось снизить количество МФК -  $\text{Et}_4\text{NHSO}_3$  с 21 до 5 мкмоль при сохранении высокой эффективности элюирования ( $\text{ЭЭ} > 90\%$ ). Методика «обратного элюирования» была применена в синтезе большого числа радиотрейсеров методом ароматического радиофторирования [71,72,87,110]. Данный подход впервые был использован в настоящей работе для разработки алгоритма алифатического радиофторирования при использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs** в качестве МФК.

*Выбор растворителя.* При приготовлении элюентов на основе традиционных МФК,  $[\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3]$  и  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  для растворения компонентов необходимо использовать воду. Это, как уже отмечено выше, приводит к сложностям в автоматизации, потере части радиоактивности и увеличению времени синтеза. В отличие от этих МФК **Bu<sub>4</sub>NOTs** хорошо растворим в спиртах. Преимуществом использования низших спиртов ( $\text{C}_1\text{-C}_3$ ) является более низкая температура кипения, что позволяет уменьшить время испарения растворителя, а также исключить традиционную стадию азеотропной сушки ввиду отсутствия в составе элюента воды. Одним из главных требований, предъявляемых к растворителю, используемому для приготовления элюента является возможность десорбции фтора-18 с высокой эффективностью  $> 90\%$ .

В настоящей работе была проведена серия экспериментов для выбора спирта, с наиболее подходящими свойствами. Как видно из Таблицы 13, максимальная эффективность элюирования, как и предполагалось, достигается при использовании метанола, благодаря его большей полярности и меньшей вязкости. Данный спирт обладает сравнительно низкой температурой кипения. Единственным недостатком использования метанола является отсутствие способности образовывать азеотропную смесь с водой. В процессе элюирования  $[\text{F}^{18}]$ фторида в элюат неизбежно попадают следы сорбированной на картридже облученной в мишени воды- $^{18}\text{O}$ . В случае метанола последующее его испарение при  $85\text{ }^\circ\text{C}$  не может обеспечить удаления остаточной воды, которая затем попадает в реакционную смесь на стадии радиофторирования. Из литературы известно, что

для решения этой проблемы предложено перед стадией элюирования удалять остатки облученной воды- $^{18}\text{O}$  дополнительным промыванием сорбента сухим метанолом [110]. Метанол хорошо смешивается с водой, и такая промывка обеспечивает её эффективное удаление перед стадией элюирования.

Таблица 11 -Эффективность элюирования [ $^{18}\text{F}$ ]фторида спиртовыми растворами **Bu<sub>4</sub>NOTs** с картриджа QMA; физико-химические свойства спиртов и воды

	<b>Bu<sub>4</sub>NOTs</b> (2,5 мкмоль)/ спирт (1 мл)					
	MeOH	EtOH	PrOH	2-PrOH	BuOH	H <sub>2</sub> O
ЭЭ, %	96±2	90±5	90±4	73±5	63±8	-
T <sub>кип</sub> , °C	64,7	78,3	97,4	82,3	117,7	100
μ·10 <sup>3</sup> , Па·с, при T=20, °C	0,597	1,200	2,234	2,239	2,950	1,002

В результате в данной работе был разработан следующий алгоритм получения активированного комплекса **Bu<sub>4</sub>N[ $^{18}\text{F}$ ]F** (Рисунок 13, *Метод А*). Облученную воду- $^{18}\text{O}$ , содержащую [ $^{18}\text{F}$ ]фторид, из приемного сосуда модуля

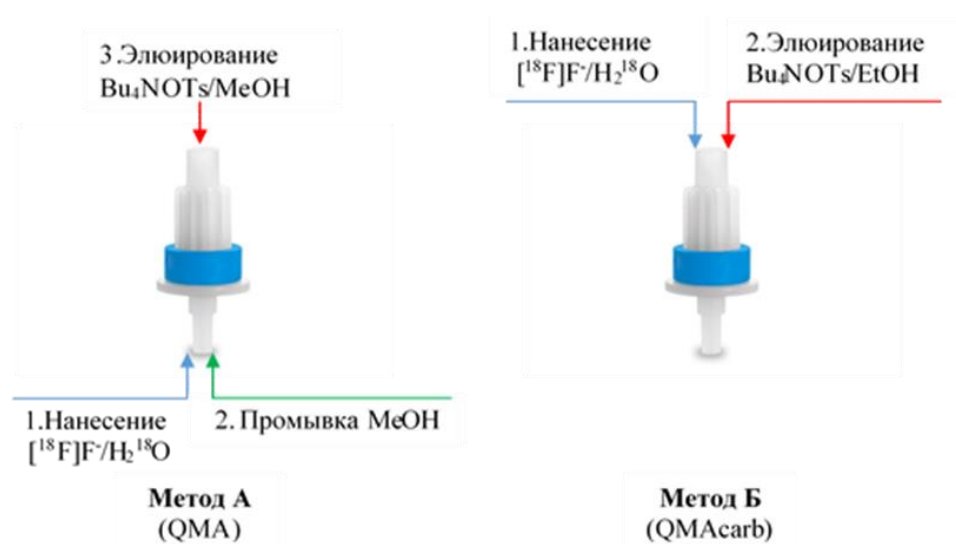


Рисунок 13 - Схемы протоколов выделения [ $^{18}\text{F}$ ]фторида из облученной воды- $^{18}\text{O}$  (направления сорбции и элюирования с картриджа раствором **Bu<sub>4</sub>NOTs**).

перемещали током мишенного газа (He) на картридж QMA, который продували в течение трех минут. Картридж промывали 3 мл MeOH в том же направлении с последующей продувкой током азота. [ $^{18}\text{F}$ ]Фторид элюировали в обратном направлении раствором **Bu<sub>4</sub>NOTs** в 1 мл MeOH. Растворитель удаляли в течение 3

мин в потоке газа при температуре 85 °С, а комплекс [<sup>18</sup>F]фторида с МФК - **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F** использовали в реакции радиофторирования. В качестве модельного субстрата для проведения алифатического нуклеофильного радиофторирования был выбран 1,2-этиленгликольдитозилат (**1**) (Таблица 8). Данный предшественник применяют для получения [<sup>18</sup>F]фторэтилтозилата ([<sup>18</sup>F]FEOTs) - широко используемого синтона ([<sup>18</sup>F]FEOTs) для введения метки фтора-18 в алкильную цепочку различных молекул реакцией <sup>18</sup>F-фторэтилирования [111]. Реакцию радиофторирования **1** проводили в 0,8 мл MeCN при 85 °С в течение 5 мин. Эффективность элюирования (ЭЭ) и результаты радиофторирования **1** (по данным радиоТСХ) представлены в Таблице 12.

Таблица 12 - ЭЭ [<sup>18</sup>F]фторида и РХК в реакции радиофторирования **1** (Метод А)

№	<b>Bu<sub>4</sub>NOTs</b> , МКМОЛЬ	<b>1</b> , МКМОЛЬ	ЭЭ, %	РХК, %
1	2,5	40	95	88
2	2,5	10	92	97
3	2,5	5	95	97
4	2,5	2,5	96	94
5	2,5	1,25	93	96
6	2,5	0.5	94±1 (n=3)	85±2 (n=3)

Целью данных экспериментов являлся выбор минимального количества субстрата **1**, обеспечивающего высокое значение эффективности радиофторирования. В качестве исходной позиции было выбрано достаточно большое (40 мкмоль ~15 мг) количество **1**, используемое при получении [<sup>18</sup>F]**1a** в присутствии K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (30 мг K222) [112]. В наших условиях для обеспечения высокой РХК (88%, Таблица 12, №1) было достаточно 2,5 мкмоль (~1 мг) **Bu<sub>4</sub>NOTs**. Более того, высокая эффективность радиофторирования наблюдалась и при снижении количества **1** вплоть до 0,5 мкмоль (Таблица 12, № 2-6). При этом потеря радиоактивности на внутренней поверхности реакционного сосуда составляла не более 10%. На основании этих данных значение в 2,5 мкмоль было выбрано как

оптимальное в реакции радиофторирования с данным МФК для всех исследуемых алифатических субстратов.

В Таблице 13 представлены результаты радиофторирования серии предшественников **1-4, 6** и **7** с использованием *Метода А* (там же приведены и данные для описанного в следующем разделе *Метода В*). Из них видно, что использование **Bu<sub>4</sub>NOTs** и полученного **Bu<sub>4</sub>N<sup>[18F]F</sup>** в реакции алифатического

Таблица 13 - РХК в реакции радиофторирования **1-4, 6** (*Метод А* и *Метод В*); РХК – без поправки на распад

Предшественник	Данная работа			Литературные данные	
	Предшест венник, мкмоль	РХК, %		Предшест венник, мкмоль	Источник литературы
		<i>Метод А</i>	<i>Метод В</i>		
<b>1</b>	0,5	85±2	93±3	5-40	112 <sup>a</sup> ,113 <sup>a</sup> ,114 <sup>a</sup>
<b>2</b>	2,5	98±1	93±2	20-80	76 <sup>a</sup> ,99 <sup>a</sup> ,100 <sup>a</sup>
<b>3</b>	0,5	69±2	73±5	3-24	92 <sup>b</sup> ,101 <sup>a</sup> ,102 <sup>a</sup>
<b>4</b>	0,6	93±3	88±6	7-18	91 <sup>b</sup> ,103 <sup>a</sup> ,105 <sup>a</sup>
<b>6</b>	0,5	98±2	93±2	3-5	106 <sup>c</sup> ,115 <sup>a</sup> ,116 <sup>a</sup>
<b>7</b>	1,1	68±2	61±6	24-48	107 <sup>c</sup> ,117 <sup>a</sup> ,118 <sup>a</sup>
<sup>a</sup> - K222/K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> <sup>b</sup> - K222/KNHCO <sub>3</sub> <sup>c</sup> - Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub>					

нуклеофильного замещения различных уходящих групп позволяет достичь высокой радиохимической конверсии (70 - 98%) при снижении исходных количеств субстрата в 5-10 раз, в сравнении с приведенными в литературе значениями РХК для традиционно используемых МФК – K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и Bu<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub>. Следует отметить, что сравнение значений РХК правомерно лишь в рамках одной и той же методологии синтеза, поскольку на эффективность радиофторирования могут влиять различные факторы, как, например, размер и форма реакционного сосуда, способ отгонки растворителей (вакуум или нагревание в токе газа) и другие особенности. Тем не менее при сравнении с литературными данными явно прослеживается тенденция к снижению количеств предшественников в реакциях с использованием нейтрального **Bu<sub>4</sub>NOTs** в сравнении с высокоосновными МФК.

### 3.2.2. Метод Б - «прямое элюирование»

Особенности адаптации протоколов сорбции/элюирования к модулю TRACERlab FX N Pro. Как отмечалось выше, протокол сорбции/элюирования Методом А (Рисунок 12, Б) дает определенные преимущества, однако «обратное элюирование» может быть реализовано не во всех коммерчески доступных модулях синтеза РФЛП, в том числе и в модулях фирмы GE Healthcare (США) для нуклеофильного радиофторирования серии TRACERlab FX<sub>FN</sub>, установленных во многих ПЭТ центрах России. В ИМЧ РАН используется модуль TRACERlab FX N Pro с двумя реакционными сосудами, что позволяет автоматизировать сложные многоступенчатые синтезы радиотрейсеров (Рисунок 11). Отличительной конструктивной особенностью TRACERlab FX N Pro является то, что блок выделения фтора-18 из облученной воды-<sup>18</sup>O (Рисунок 14, выделен красным) предназначен для использования только протокола «прямого элюирования».



Рисунок 14 - Блок выделения фтора-18 из облученной воды в модуле TRACERlab FX N Pro.

В этом случае по окончании облучения водный раствор [<sup>18</sup>F]фторида переносится из мишени циклотрона в приемный сосуд модуля током гелия, после чего под действием вакуума содержимое пропускается через анионообменный картридж.

Для десорбции [ $^{18}\text{F}$ ]фторида через картридж пропускают раствор элюента из сосуда 1 в том же направлении, а элюат собирают в реакционный сосуд (Reactor 1, Рисунок 14). Следует отметить, что в отличие от дистанционно-управляемого модуля (Модуль ИМЧ РАН) в TRACERlab FX N Pro нет возможности дополнительной промывки картриджа для удаления остаточной воды ввиду отсутствия дополнительных линий на вход картриджа. Это было учтено при разработке алгоритма алифатического нуклеофильного радиофторирования предшественников **1-4**, **6** и **7** с использованием **Bu<sub>4</sub>NOTs** в качестве МФК. В отсутствие дополнительной промывки анионообменного картриджа метанолом для удаления остаточной воды (*Метод А*), в качестве растворителя в элюенте на основе **Bu<sub>4</sub>NOTs**, было предложено использовать этанол, который, в отличие от метанола, образует азеотроп с водой. Таким образом, остатки воды в составе элюата при десорбции фтора-18 с картриджа могут быть удалены на стадии упаривания этанола в виде азеотропной смеси. Кроме того, при использовании Метода Б был выбран другой коммерчески доступный картридж QMAcarb с меньшим количеством гидрофильного анионообменного сорбента (46 мг против 130 мг в стандартном QMA картридже), который, соответственно, задерживает меньшее количество воды.

Первоначально для оптимизации параметров процесса радиофторирования в комбинации с методом «прямого элюирования» был использован дистанционно управляемый Модуль ИМЧ РАН (Рисунок 10) с последующим включением в автоматизированную технологию синтеза РФЛП на модуле TRACERlab FX N Pro. Протокол «прямого элюирования» (Рисунок 13, *Метод Б*) включал следующие этапы. Облучённую воду- $^{18}\text{O}$ , содержащую [ $^{18}\text{F}$ ]фторид, из приёмного сосуда модуля переносили током гелия на картридж QMAcarb. [ $^{18}\text{F}$ ]Фторид элюировали с картриджа раствором элюента (2,5 мкмоль **Bu<sub>4</sub>NOTs** в 2 мл этанола) из сосуда А (Рисунок 10), элюат собирали в реакционный сосуд. Растворитель удаляли при 100 °С в течение 5 мин в токе азота, после чего реакционный сосуд охлаждали сжатым воздухом до 50 °С. Полученный сухой реакционноспособный комплекс **Bu<sub>4</sub>N[ $^{18}\text{F}$ ]F** использовали в последующей реакции радиофторирования соединений **1-4**, **6** и **7**.

В итоге, использование 2,5 мкмоль **Bu<sub>4</sub>NOTs** в 2 мл этанола в качестве элюента и метода «прямого элюирования» позволило добиться высокой ( $\geq 95\%$ ) ЭЭ [<sup>18</sup>F]фторида, сорбированного на картридже QMAcarb, что сравнимо с значениями ЭЭ, полученными с использованием *Метода А*. Что касается результатов радиофторирования предшественников **1-4**, **6** и **7**, представленных в Таблице 13, для *Методов Б* и *А* также продемонстрированы сопоставимые значения РХК.

Сравнительные параметры *Методов А* и *Б* приведены в Таблице 14. Оба подхода позволяют добиться высокой ЭЭ фтора-18 с анионообменного сорбента и позволяют получить реакционноспособный комплекс **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F**, минуя традиционную стадию азеотропной отгонки растворителей, в течение  $\leq 10$  мин.

Таблица 14. Сравнительные характеристики *Методов А* и *Б*

	<i>Метод А</i>	<i>Метод Б</i>
Тип элюирования [ <sup>18</sup> F]фторида с анионообменного сорбента	«обратное элюирование»	«прямое элюирование»
Картридж	QMA	QMAcarb
Промывка картриджа перед элюирование	1 мл MeOH	-
Состав элюента	2,5 мкмоль <b>Bu<sub>4</sub>NOTs</b> / 1 мл MeOH	2,5 мкмоль <b>Bu<sub>4</sub>NOTs</b> / 2 мл EtOH
ЭЭ, %	>95	>95
Температура испарения элюента, °C/время, мин	85	100
Азеотропная сушка, мин	-	-
Общее время получения активированного комплекса [ <sup>18</sup> F] <b>Bu<sub>4</sub>NF</b> , мин	10	9,5

Суммируя результаты проведенного исследования (Таблица 13), можно утверждать, что использование предложенного в данной работе **Bu<sub>4</sub>NOTs** в качестве МФК в реакции алифатического нуклеофильного замещения различных уходящих групп в молекулах-предшественников для синтеза РФЛП позволяет существенно снизить исходные количества субстрата в 5-10 раз при сохранении высокой радиохимической конверсии (70 - 95%).

*Метод Б* в дальнейшем использован при разработке автоматизированных технологий синтеза трех РФЛП, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС и [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ, на модуле синтеза TRACERlab FX N Pro; особенности синтеза и автоматизации для каждого из них подробно описаны в соответствующих разделах 3.3.1 – 3.3.3.

### **3.3. Синтез РФЛП на модуле TRACERlab FX N Pro при использовании *Метода Б***

Процесс автоматизированного производства РФЛП для ПЭТ методом нуклеофильного радиофторирования включает следующие основные этапы:

1. получение радионуклида в водной мишени циклотрона и перевод его в реакционноспособную форму;
2. радиофторирование предшественника;
3. удаление защитных групп в результате гидролиза (при необходимости);
4. выделение и очистка целевого продукта методами твердофазной экстракции или полупрепаративной ВЭЖХ.

Первые два этапа подробно рассмотрены в разделе 3.2. Для большинства предшественников, используемых в синтезе РФЛП вслед за стадией радиофторирования необходимо удаление защитных групп («снятие защиты») путем кислотного и реже щелочного гидролиза. Введение защитных групп в молекулу предшественника необходимо при наличии в ней функциональных групп с подвижными атомами водорода, для предотвращения атаки нуклеофила в нежелательное положение. Предпочтение отдаётся защитным группам, которые можно удалить в мягких условиях гидролиза водными растворами кислот, поскольку использование агрессивных реагентов может приводить к разрушению компонентов модуля синтеза. В то же время защитные группы должны быть устойчивы в условиях радиофторирования. В Таблице 15 приведены примеры групп, используемых для защиты гидроксильных, amino- и карбоксильных групп в

молекулах предшественников, удаление которых возможно при действии разбавленных растворов соляной кислоты (0,3-2 N) при нагревании (100-125 °С).

Таблица 15 - Примеры лабильных защитных групп, используемых в синтезе предшественников для ПЭТ, молекулы которых содержат функциональные группы с подвижным водородом

Функциональные группы	Защитные группы
гидроксильная	CH <sub>3</sub> CO- (ацетатная)
	МOM- (метокиметильная)
	THP- (тетрагидропиранильная)
	DMTr (диметокситрифенилметильная)
амино-	Woc- (третбутилокси карбонильная)
	Tr- (трифенилметильная)
карбоксильная	tBu- (третбутиловая)
	Bn- (бензиловая)

Последним и достаточно сложным этапом синтеза РФЛП, особенно в автоматизированном варианте, является выделение конечного продукта из реакционной смеси и его очистка методами полупрепаративной ВЭЖХ или твердофазной экстракции ТФЭ. Данный этап синтеза является одним из ключевых в автоматизированном производстве радиотрейсеров, обеспечивающих соблюдение параметров контроля качества РФЛП. ВЭЖХ-очистка является общепринятым способом выделения целевого соединения из реакционной смеси, содержащей непрореагировавший предшественник, различные продукты его разложения, меченые побочные продукты и растворители, используемые в синтезе. Однако процедура ВЭЖХ, как правило, занимает много времени и относительно сложна в проведении в автоматизированном производстве. Многие коммерчески доступные модули оснащены системой ВЭЖХ. Однако при ее отсутствии, установка ВЭЖХ оборудования требует дополнительного места пространства

внутри ограниченного пространства горячей камеры. В большинстве случаев (за исключением водных буферов) фракция продукта, выделенная с помощью ВЭЖХ, содержит токсичные растворители (чаще всего ацетонитрил) и не может быть использована для внутривенного введения человеку. Поэтому после очистки методом ВЭЖХ требуется проведение дополнительной стадии удаления элюента, что приводит к увеличению времени синтеза и ещё больше усложняет автоматизацию.

Альтернативой ВЭЖХ очистке является метод сорбционного концентрирования или, как его часто называют в англоязычной литературе, твердофазной экстракции (ТФЭ), проводимой с помощью коммерчески доступных одноразовых картриджей или колонок (Рисунок 15). Метод ТФЭ прост, быстр, надёжен, лёгок в использовании и может быть внедрён в существующие автоматизированные модули синтеза с минимальной модификацией и дополнительными расходами. Для обеспечения удаления как меченых, так и

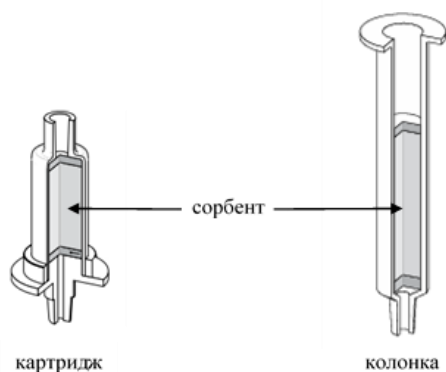


Рисунок 15 - Рисунок картриджа и колонки, используемых в производстве РФЛП.

нерадиоактивных примесей реакцию массу, содержащую целевой продукт, пропускают через комбинацию картриджей, содержащих сорбенты с различными свойствами.

При выборе сорбента необходимо учесть физико-химические свойства как целевого продукта, так и содержащихся примесей: липофильность, стабильность в подвижной и неподвижной фазах, заряд молекул. Для липофильных РФЛП предпочтительным методом очистки является обращеннофазовая хроматография. Гидрофильные радиотрейсеры могут быть очищены с помощью нормальнофазной

хроматографии. Для ионных соединений основным способом очистки является ионообменная хроматография на катионо- или анионообменных сорбентах. В Таблице 16 представлены наиболее широко используемые в производстве РФЛП картриджи для ТФЭ.

Таблица 16 - Примеры картриджей, используемых в производстве РФЛП для выделения и очистки целевого продукта

Метод сорбции	Картридж	Сорбент	Особенности сорбента
Обращеннофазная	Sep-Pak Cartridge C18	$\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{C}_{18}\text{H}_{37}$	гидрофобный
	Sep-Pak Cartridge tC18	$\text{SiC}_{18}\text{H}_{37}$	высоко гидрофобный
	Oasis HLB Extraction cartridge	сополимер N-винилпироллидона и дивинилбензола	гидрофильно-липофильный
Нормальнофазная	Sep-Pak Alumina N	$\text{Al}_2\text{O}_3$	обладает высокой поверхностной активностью
	Sep-Pak Silica	$\text{SiO}_2$	полярный
Ионообменная	Sep-Pak Accell Plus CM	$\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{COO}^-\text{Na}^+$	гидрофильный слабый катионообменник
	Sep-Pak Accell Plus QMA	$\text{SiC}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}^-$	гидрофильный, сильный анионообменник
	Oasis WAX	сополимер N-винилпироллидона и дивинилбензола с привитыми пиперазиновыми группами	гидрофильно-липофильный, слабый анионообменник
	Oasis MAX	сополимер N-винилпироллидона и дивинилбензола с привитыми четвертичными аммониевыми солями	гидрофильно-липофильный, сильный анионообменник
	Supelco SCX	$\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3^-\text{Na}^+$	гидрофильный сильный катионообменник

Очистка на картриджах для ТФЭ происходит за счёт удерживания большей части целевого продукта сорбентом, в то время как примеси должны свободно проходить сквозь колонку (удерживающая ТФЭ) или наоборот (неудерживающая ТФЭ). Если сорбент хорошо удерживает продукт, то должны быть подобраны

условия для дальнейшей десорбции. Такие параметры, как тип сорбента, концентрация пробы, скорость потока элюента и физико-химические характеристики соединений, входящих в состав реакционной смеси, влияют на эффективность процесса очистки.

Ввиду несомненных преимуществ, метод ТФЭ был выбран для выделения и очистки  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  и  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  на модуле TRACERlab FX N Pro, проведены исследования по выбору одноразовых картриджей и условий их использования для каждого РФЛП. На стадии получения активированного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  к модулю TRACERlab FX N Pro адаптирован **Метод Б**, разработанный на Модуле ИМЧ РАН (раздел 3.2.).

### 3.3.1. Получение активированного комплекса $[^{18}\text{F}]\text{Bu}_4\text{NF}$ на модуле TRACERlab FX N Pro

В автоматизированном варианте для получения реакционноспособного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  *Методом Б* водный раствор  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$ , полученный при облучении воды- $^{18}\text{O}$ , доставляли из приемного сосуда модуля на картридж QMAcarb под действием вакуума.  $[^{18}\text{F}]\text{Фторид}$  элюировали с QMAcarb картриджа этанольным раствором  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ . Для выбора оптимальных условий элюирования была проведена серия экспериментов с различными количествами  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  и объемами EtOH (Таблица 17), которые подтвердили, что и в автоматизированном варианте использование минимального количества МФК (2,5 мкмоль  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  в 2 мл этанола) достаточно для достижения ЭЭ около 90%.

Таблица 17 - ЭЭ  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$  с картриджа QMAcarb раствором  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  на модуле TRACERlab FX N Pro

№	$\text{Bu}_4\text{NOTs}$ , МКМОЛЬ	EtOH, мл	ЭЭ, %
1	2,5	2	89±2
2	6	2	96±5
3	6	1,5	79±8

Эффективность элюирования достигала максимального значения  $96 \pm 5$  % с увеличением количества МФК до 6 мкмоль. Тем не менее, исходя из порогового значения, регламентированного Европейской Фармакопеей для тетрабутиламмония ( $< 2,6$  мг/V, где V – вводимая доза РФЛП; [119]), в дальнейших разработках автоматизированного синтеза использовали минимальное количество в 2,5 мкмоль. В этом случае пороговое значение ТБА (в пересчете на вводимую дозу) не достигается, и можно не определять остаточное содержание МФК в инъекционной форме РФЛП. После удаления этанола при  $65$  °C в течение 5 мин под действием вакуума полученный сухой реакционноспособный комплекс  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$  использовали напрямую на следующей стадии синтеза РФЛП – реакции радиофторирования в подходящем апротонном растворителе. Важно подчеркнуть, что и в автоматизированном *Методе Б* обеспечивает получение  $\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}$ , минуя традиционную стадию отгонки следов воды, без необходимости внесения изменений в конфигурацию модуля.

### 3.3.2. Разработка автоматизированного синтеза $^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭТ}$

*O*-(2- $^{18}\text{F}]\text{Фторэтил}$ )-L-тирозин ( $^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭТ}$ ) в настоящее время считается основным наиболее используемым радиотрейсером класса аминокислот на основе фтора-18. Предложенный в 1999 г. [114] данный РФЛП широко применяется в дифференцированной диагностике злокачественных новообразований головного мозга, дифференциации опухоли и очага воспаления, оценке эффективности терапии [120]. Это стало возможным не только ввиду отличных туморотропных характеристик радиотрейсера, но и благодаря разработке и автоматизации метода синтеза, основанного на прямом введении метки в алкильную группу молекулы производного тирозина [105]. Поскольку  $^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭТ}$  относится к РФЛП класса аминокислот, участвующих в метаболизме, за редкими исключениями, в форме L-изомера, радиотрейсер должен быть получен с энантиомерной чистотой (ЭЧ) не менее 95%. Эффективным методом синтеза, обеспечивающим высокую ЭЧ, является предложенный в 2008 г. энантиомерный метод синтеза  $^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭТ}$ ,

основанный на радиофторировании хирального предшественника - Ni<sup>II</sup> комплекса алкилированного (*S*)-тирозина основания Шиффа (**5**; Рисунок 16) [121,122].

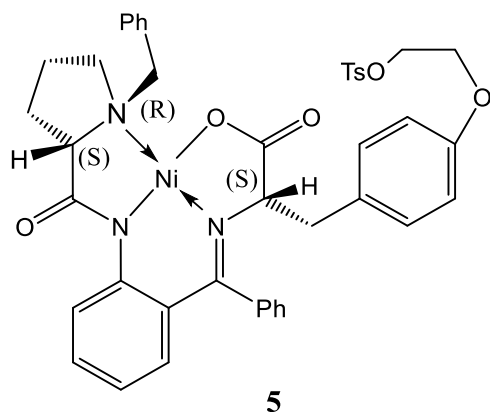


Рисунок 16 - Структурная формула предшественника **5**, используемого для синтеза [<sup>18</sup>F]ФЭТ.

Принципиально важной характеристикой данного метода является хиральная природа предшественника **5** на основе (*S*)-изомера тирозина, в котором амино- и карбокси- функции аминокислоты «защищены» фрагментом комплекса никеля (II). Это обеспечивает сохранение структуры (*S*)-изомера в жестких условиях нуклеофильного радиофторирования, и в итоге, высокую энантиомерную чистоту [<sup>18</sup>F]ФЭТ, необходимую для использования в ПЭТ. Простой метод синтеза предшественника, разработанный в ИНЭОС РАН, Москва, из коммерчески доступных недорогих реагентов не требует больших затрат и легко воспроизводится [123]. В настоящей работе данный предшественник был выбран для разработки синтеза [<sup>18</sup>F]ФЭТ на модуле TRACERlab FX N Pro. Ранее в работе [122] радиофторирование **5** проводили в присутствии K<sup>222</sup>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> с последующим удалением защитных групп кислотной гидролизом. Синтез был автоматизирован с использованием модуля Scintomics Hotbox<sup>one</sup> [122]. Эта автоматизированная процедура обеспечивала получение [<sup>18</sup>F]ФЭТ с РХВ 26 % (без поправки на распад) при использовании 6 мкмоль (5 мг) **5** (80 °С, 5 мин, MeCN) (Таблица 18, №1) с радиохимической чистотой >99%.

Таблица 18 - Синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭТ из **5** при использовании различных МФК и автоматизированных модулей (РХК – без поправки на распад)

№	Картридж	МФК/ растворитель	<b>1</b> , мкмоль	Условия Радио- фторирования	Модуль	Время синтеза, мин	РХВ, %	Литература
1	QMA	K222/ K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / MeCN/ H <sub>2</sub> O	6	80 °C/ 5мин	Scintomics Hotbox <sup>one</sup>	45	26	122
2	PS-HCO <sub>3</sub>	Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> O	12	85 °C/ 5 мин	GE TRACER lab FX FN	70	23	123
3	QMAcarb	Bu <sub>4</sub> NOTs / EtOH	0,6	100 °C/ 5 мин	GE TRACER lab FX N Pro	35	41±3	Данная работа

При интегрировании технологии синтеза, описанной в работе [122], в модуль TRACERlab FX N Pro анализ реакционной смеси на стадии радиофторирования **5** выявил образование некоторого количества неидентифицированных радиоактивных продуктов (Рисунок 17, А). Они легко удалялись с помощью традиционной очистки методом полупрепаративной ВЭЖХ, но не более предпочтительным методом ТФЭ на одноразовых картриджах. Образование этих примесей можно отнести к высокой основности K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в составе элюента, а также

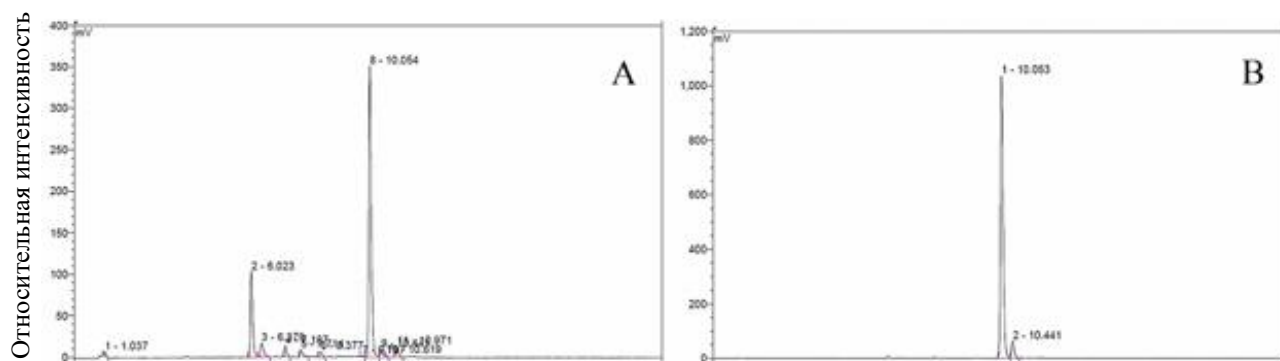


Рисунок 17 - Радио-ВЭЖХ реакционной смеси после проведения реакции радиофторирования **5** на модуле TRACERlab FX N Pro. (А): K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 6 мкмоль **5**, 85 °C, 5 мин; (В) Bu<sub>4</sub>NOTs, 0,6 мкмоль **5**, 100 °C, 5 мин. ВЭЖХ условия – Метод 4 (экспериментальная часть).

к конструкторским особенностям реакционного сосуда в модуле TRACERlab FX N Pro. В отличие от модуля Scintomics Hotbox<sup>one</sup> [122] с объемом реактора 5 мл, в модуле в модуле TRACERlab FX N Pro он составлял 15 мл, что требовало большего времени для достижения необходимой температуры реактора. Образование примесей может быть следствием разложения промежуточного продукта радиофторирования из-за перегревания реакционной массы. Проблемы, возникающие в результате использования реактора модуля TRACERlab FX N, были отмечены и другими авторами [124]. Для снижения основности реакционной среды в синтезе [<sup>18</sup>F]ФЭТ было предложено заменить комплекс K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> на нейтральный МФК, Bu<sub>4</sub>NOTs, с применением *Метода Б* на стадии получения реакционноспособного комплекса на модуле TRACERlab FX N Pro.

Проведение серии экспериментов по определению оптимальной температуры реактора модуля TRACERlab FX N Pro показало, что радиофторирование **5** в количестве 6 мкмоль (что и в работе [122]) при 100 °С (вместо 80 °С в работе [122]) в течение 5 мин обеспечивало значения РХК 95±3%. Кроме того, было установлено, что уменьшение количества **5** до 0,6 мкмоль (десятикратное уменьшение) не сказывалось на эффективности радиофторирования (РХК 95±6%), подтверждая тем самым высокую эффективность Bu<sub>4</sub>NOTs и при малых количествах алифатических субстратов. Согласно анализу реакционной смеси с помощью радиоВЭЖХ анализа в условиях *Метода 4*, образования радиоактивных побочных продуктов не наблюдалось (Рисунок 17, В). Существенно, что уменьшение количества никельсодержащего предшественника **5** позволяет упростить и стадию очистки РФЛП от следов токсичного металла.

Следующий этап включает стадию гидролиза промежуточного продукта реакции нуклеофильного замещения тозильной группы в молекуле **5** на [<sup>18</sup>F]фторид ([<sup>18</sup>F]**5a**; структурная формула Таблица 8), обеспечивающего разложение комплекса с одновременным удалением защитных групп. Из литературы известно, что гидролиз эффективно протекает при действии на [<sup>18</sup>F]**5a** разбавленной соляной кислоты при кипячении [122]. Данная методика была адаптирована к синтезу на

TRACERlab FX N Pro (Рисунок 18). После проведения реакции радиофторирования растворитель удаляли при нагревании в вакууме, и к сухому остатку добавляли смесь 0,5 N HCl и EtOH и нагревали при 125 °С. Согласно данным радиоВЭЖХ-анализа (*Метод 4*) высокая (85%) конверсия  $[^{18}\text{F}]\mathbf{5a}$  в  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  достигалась уже за 5 мин нагревания.

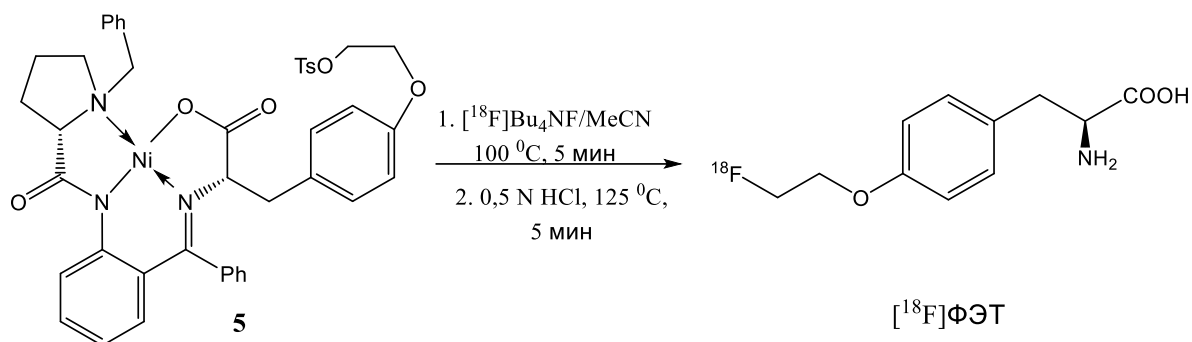


Рисунок 18 - Схема синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  из **5** на модуле TRACERlab FX N Pro при использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs**.

Процедура очистки  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  несколько отличается от других РФЛП ввиду необходимости удаления никеля, входящего в состав предшественника **5**. Для этой цели перед основной очисткой методом ТФЭ к гидролизату добавляли раствор 0,1 N NaOH (3,4 мл) с доведением pH раствора до 8,5-9,0. Выпавший в осадок гидроксид никеля в виде суспензии отфильтровывали, и уже свободную от осадка реакцию массу пропускали через три последовательно соединённых одноразовых картриджа tC18 Light с обращенофазным сорбентом. Использование трех картриджей необходимо для более полного удерживания  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  на сорбенте (>80%). После промывания картриджей водой для удаления остаточного количества  $[^{18}\text{F}]\text{фторида}$  продукт элюировали раствором ацетата натрия (5 мМ, pH 4), содержащего 3% EtOH и пропускали через катионообменный картридж Sep-Pak Light Waters Accell™ Plus CM Cartridge (360 мг; Таблица 16) для удаления следов никеля. Остаточное количество никеля составило  $\leq 0,1$  мкг/мл (общий объем раствора  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  - 15 мл), что ниже допустимого предела в 22 мкг/V (V - вводимая доза РФЛП), рекомендованного в руководстве ICH (Q3D). В результате  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  был получен с радиохимической чистотой >99%, энантиомерной чистотой 95-96%, мольной активностью 9,6-38,4 ГБк/мкмоль. Для определения

остаточного количества  $[Bu_4N]^+$  образец продукта был проанализирован с помощью ВЭЖХ (*Метод 4*); соответствующего пика с  $R_t = 4,0$  мин) не обнаружено. Количество остаточного ацетонитрила составило менее 40 мкг/мл. Все результаты контроля качества были в пределах, установленных Европейской фармакопеей [119].

Таким образом, новый алгоритм радиофторирования на основе **Bu<sub>4</sub>NOTs** как нейтрального МФК успешно интегрирован в автоматизированный синтез  $[^{18}F]ФЭТ$  на модуле синтеза GE TRACERlab FX N Pro (Приложение А, Таблица А.3). Использование безводного раствора МФК на стадии элюирования  $[^{18}F]$ фторида, адсорбированного на картридже QMAcarb, позволило исключить традиционную стадию азеотропной сушки и, соответственно, сократить время синтеза на 10 мин, а также на стадии радиофторирования уменьшить количество предшественника в 10 раз (0,6 вместо 6 мкмоль при использовании K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> или Bu<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub>, Таблица 18). В свою очередь это позволило существенно уменьшить количество химических примесей и разработать эффективный ТФЭ метод очистки  $[^{18}F]ФЭТ$ , обеспечивающий получение данного РФЛП в соответствии с требованиями Фармакопеи. Радиохимический выход  $[^{18}F]ФЭТ$  составил  $41 \pm 3 \%$  (без поправки на радиоактивный распад; n=5) при времени синтеза 35 мин.

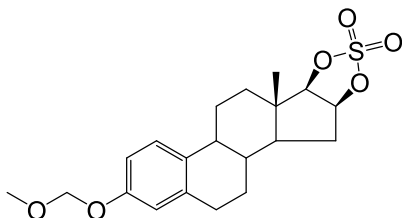
На основании автоматизированной технологии синтеза  $[^{18}F]ФЭТ$  был разработан и утвержден пакет документов (лабораторный регламент производства, стандарт качества, стандартные операционные процедуры) получено разрешение организации на использование данного РФЛП в ПЭТ исследованиях человека. В итоге  $[^{18}F]ФЭТ$  был успешно использован в ПЭТ исследованиях пациентов с глиомами в рамках клинических испытаний в ИМЧ РАН.

### 3.3.3. Разработка синтеза $[^{18}F]ФЭС$

$16\alpha$ - $[^{18}F]$ Фторэстрадиол ( $[^{18}F]ФЭС$ ) – меченный фтором-18 аналог эстрадиола – широко применяемый РФЛП для визуализации опухолей молочной железы, экспрессирующих рецепторы к эстрогену (ER+ рак молочной железы)

[125,126]. Подтверждение эстрогенного статуса опухоли на основании ПЭТ исследования с [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС является определяющим для назначения гормональной терапии - эффективного метода лечения эстроген-положительных опухолей.

Наиболее широко используемый метод производства [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС, предложенный в работе [127], заключается в алифатическом нуклеофильном радиофторировании предшественника – 3-О-метоксиметил-16,17-О-сульфурил-16-эпиэстриола (**6**; Рисунок 19) и последующем кислотном гидролизе MOM-защитных



6

Рисунок 19 - Структурная формула предшественника **6**, используемого для синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС.

групп. Методики синтеза, используемые в различных ПЭТ центрах, отличаются типом МФК ( $\text{K}222/\text{K}_2\text{CO}_3$  или  $\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$ ) на стадии радиофторирования и составом реагентов на стадии гидролиза/снятия защиты ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HCl}/\text{MeCN}$  или  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{EtOH}$ ) [106,115,128-131], а также методами очистки (ВЭЖХ, ТФЭ или их комбинация). Синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС автоматизирован с использованием как модулей фирмы GE Health Care, США (кассетного модуля TRACERlab  $\text{MX}_{\text{FDG}}$  [106,132,133] или TRACERlab  $\text{FX}_{\text{FN}}$  [134]), модульной платформы Eckert & Ziegler, Германия [115] и различных полуавтоматических или управляемых вручную модулей [104,116,128]. Однако большинство методов включало сложные и длительные схемы очистки (время синтеза 70-80 мин; Таблица 19, № 1, 2, 5), что, несмотря на высокую РХК на первой стадии синтеза, приводило к невысоким или плохо воспроизводимым РХВ продукта [106,132, 133].

В работе [116] время синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС удалось сократить до 45 мин за счет оптимизации стадии очистки, однако ввиду больших потерь активности на этой стадии РХВ продукта не превысил 12%. Основной проблемой было удаление нерадиоактивных примесей, образующихся на этапе радиофторирования в

Таблица 19 - Синтез [<sup>18</sup>F]ФЭС из предшественника **6** с использованием различных МФК и автоматизированных подходов

№	<b>6</b> , мкмоль	МФК	РХК, %	Модуль/ очистка	Время синтеза, мин	РХВ*, %	РХВ**, %	Лит- ра	
1	5	Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub>	95	TRACERlab MX <sub>FDG</sub> / (ТФЭ)	75	20±5	32 <sup>a</sup>	106	
2	2,5	Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub>	74	Вручную	-	-	-		
3	5	Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub>	-	TRACERlabMX FDG/ (ТФО)	74	6,9±1,7	11 <sup>a</sup>	133	
4	2,5	Bu <sub>4</sub> NHCO <sub>3</sub>	-	Собств. модуль/ ВЭЖХ+ТФЭ	75	21 <sup>a</sup>	30-35	128	
5	5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	95	Собств. модуль/ТФЭ	45	12 <sup>a</sup>	15±2	116	
6	2,5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	Eckert&Ziegler Modular-Lab/ ВЭЖХ	80	24 <sup>a</sup>	40±5	115	
7	2,5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	92	Вручную, микровол новой нагрев	ВЭЖХ	38	55±5	70 <sup>a</sup>	104
					ТФЭ	30	62±6	75 <sup>a</sup>	
8	0,8	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	87	Вручную/ ВЭЖХ+ТФЭ	90	51 <sup>a</sup>	65±7	135	
9	0,8	Bu <sub>4</sub> NOTs	92	TRACERlab FX N Pro/ ТФЭ	32	33±3 (n=5)	41±3 (n=5)	Дан ная рабо та	

\*-РХК без поправки на распад  
\*\*-РХК с поправкой на распад  
<sup>a</sup>- пересчитано автором

присутствии K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> с достаточно большим количеством **6** (5 мкмоль). Исходя из опыта предыдущих исследований, в настоящей работе было предложено заменить этот высокоосновный МФК на **Bu<sub>4</sub>NOTs** и изучить возможность снижения количества предшественника **6** с сохранением высокой РХК в автоматизированном варианте на модуле TRACERlab FX N Pro. Для получения активированного комплекса **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F** был использован описанный в Главе 3.3.1 *Метод Б* с «прямым элюированием». Снижения количества предшественника до 0,8 мкмоль удалось добиться в работе [135] за счет уменьшения количества K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5/2,2 мкмоль вместо обычно используемых 10-15/15-25 мкмоль) (Таблица 19, № 8). Однако эти результаты были получены с использованием лишь

небольшой аликвоты (0,1 мл) содержащей  $[^{18}\text{F}]$ фторид облучённой воды- $^{18}\text{O}$ , что не имеет практического значения с учетом общего объёма водной мишени от 1,2 до 3 мл.

При использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs** и получении **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F** в условиях автоматизированного синтеза (см. Главу 3.3.1) высокая РХК  $92\pm 2\%$  достигалась при радиофторировании относительно малого (0,8 мкмоль) количества **6** (Таблица 20, №3), которое и было выбрано как оптимальное для дальнейшей разработки автоматизированного метода синтеза  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ .

Для проведения следующего этапа – кислотного гидролиза  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  (структурная формула Таблица 8) MOM-защитных групп – руководствовались

Таблица 20 - РХК фтора-18 в предшественник **6** при использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs** на модуле TRACERlab FX N Pro

№	<b>6</b> , мкмоль	РХК, %	Количество экспериментов
1	2	98	1
2	0,5	81;87	2
3	0,8	$92\pm 2$	5

методикой, предложенной в работе [116]. Реакцию проводили в смеси 1 N HCl (0,15 мл) и MeCN (0,35 мл) при нагревании при 100 °C в течение 5 мин, что обеспечило конверсию  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  в  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  в  $91\pm 2\%$  (Рисунок 20).

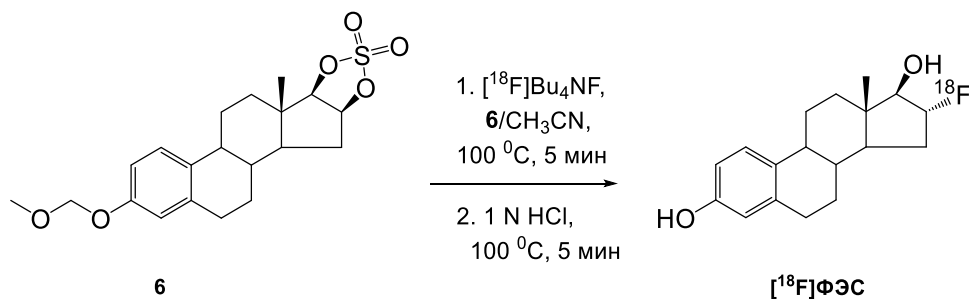


Рисунок 20 - Схема синтеза  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  из **6** на модуле TRACERlab FX N Pro при использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs**.

Ввиду малого количества предшественника **6** (0,8 мкмоль) в реакции радиофторирования (и, соответственно меньшего количества химических

примесей) в данной работе удалось существенно упростить процедуру ТФЭ очистки, разработав метод с применением единственного картриджа для ТФЭ - OASIS WAX 3cc. В работе [116] OASIS WAX 3cc был использован в комбинации с картриджем Sep-Pak Accell Plus QMA (свойства сорбентов см. Таблицу 16), что приводило к большим потерям радиоактивности и снижению РХВ продукта. В данной работе этому аспекту было уделено особое внимание, а именно, проведена оценка потерь активности на каждой стадии очистки с анализом всех элюатов методом радиоВЭЖХ (Таблица 21).

Полученный на второй стадии синтеза гидролизат разбавляли 10 мл воды и раствор пропускали через картридж OASIS WAX 3cc, заполненный анионообменным сорбентом смешанного механизма действия (ионообменный и обращеннофазный). Данный сорбент удерживает  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ , промежуточный продукт  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  и  $\mathbf{6}$ . При промывке картриджа OASIS WAX 3cc 1 мл 40% водным раствором EtOH удаляется непрореагировавший  $[^{18}\text{F}]$ фторид и нерадиоактивные примеси с низкой липофильностью, оставляя  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ ,  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  и  $\mathbf{6}$  сорбированными на картридже. Продукт элюировали с OASIS WAX 3cc 1 мл 95 %-ного раствора EtOH и собирали в стерильный флакон, предварительно заполненный 19 мл физиологического раствора, при этом  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$  и  $\mathbf{6}$  удерживались на картридже. Полученный раствор, содержащий  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  и свободный от примесей, подвергали on-line стерилизации пропусканием через стерильный фильтр в асептической среде.

Что касается распределения активности на разных стадиях синтеза (Таблица 21, № 2), то потеря в 9% в приемном сосуде для облученной  $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  обусловлена конструкцией модуля TRACERlab FX N Pro и не может быть уменьшена. РадиоВЭЖХ анализ объединённых фракций отходов (22%; Таблица 21, №6) показал, что активность распределялась между  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  (60-70%) и  $[^{18}\text{F}]$ фторидом (30-40%). Остаточная активность OASIS WAX 3cc (11%; Таблица 21, №5) обусловлена удерживанием недогидролизованного  $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$ .

Таблица 21 - Баланс активности в синтезе  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  (с пересчетом на радиоактивный распад)

№	Точки измерения активности	Активность, %
1	Начало синтеза	100
2	Приёмный флакон	9,0±0,8
3	QMAcarb (после элюирования)	12,0±0,7
4	Реактор	2,7±0,6
5	OASIS WAX 3cc	11,3±1,2
6	Отходы	22,1±1,3
7	Стерильный фильтр+иглы	1,7±0,1
8	$[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$	41,0±2,9

В итоге предложенный метод очистки с минимальным числом картриджей и промежуточных манипуляций позволил сократить время синтеза до 32 мин, обеспечивая РХВ  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$   $33 \pm 3\%$  ( $n = 5$ ; без поправки на радиоактивный распад). Идентичность  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  была подтверждена с помощью аналитической радио-ВЭЖХ (Метод 5) с одновременным введением соответствующего нерадиоактивного стандарта  $\Phi\text{ЭС}$ . Радиохимическая чистота конечного продукта  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  превышала 99% (Рисунок 21, В). Следует отметить, что на УФ-

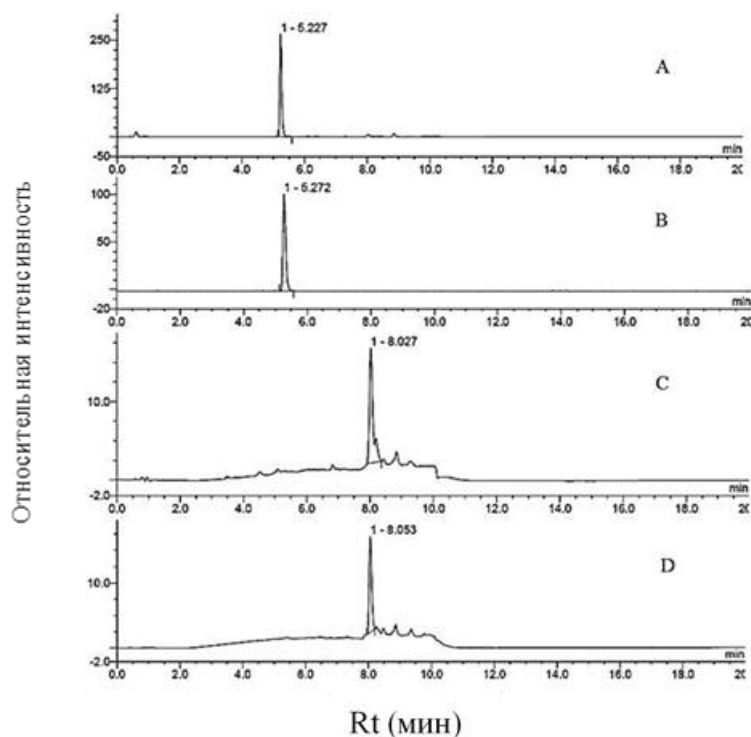


Рисунок 21 - ВЭЖХ-анализ  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  (Метод 5; УФ-излучение 280 нм); А) УФ-хроматограмма  $\Phi\text{ЭС}$ ; В) радио-ВЭЖХ хроматограмма препарата  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ ; С) УФ-хроматограмма препарата  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ ; D) УФ-хроматограмма без введения пробы.

хроматограмме (*Метод 5*) аналитической пробы  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  детектировался пик с  $R_t=8$  мин (Рисунок 21, С), появление которого обусловлено смешиванием растворителей с различной элюирующей при градиентном режиме ВЭЖХ анализа. Это было подтверждено наличием такого же пика на хроматограмме без введения пробы (Рисунок 21, С). Поскольку пик, связанный с градиентом, частично перекрывался с пиком предшественника **6** ( $R_t = 8,7$  мин), для количественного определения содержания **6** и  $\Phi\text{ЭС}$  были использованы изократические условия ВЭЖХ (*Метод 6*). УФ-хроматограмма стандарта  $\Phi\text{ЭС}$  и **6** представлена на Рисунке 22, А, из которого видно, что полученный после ТФЭ очистки инъекционный раствор  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  не содержит примеси предшественника **6** (предел обнаружения составлял 0,25 мкг/мл). В изократических условиях (*Метод 6*) была обнаружена единственная нерадиоактивная примесь ( $R_t = 2,7$  мин) с концентрацией 0,08-0,1 мкг/мл (Рисунок 22, В). Общее содержание примесей не превышало допустимого предела для всех примесей, поглощающих в УФ (<5 мкг на вводимую дозу) [136].

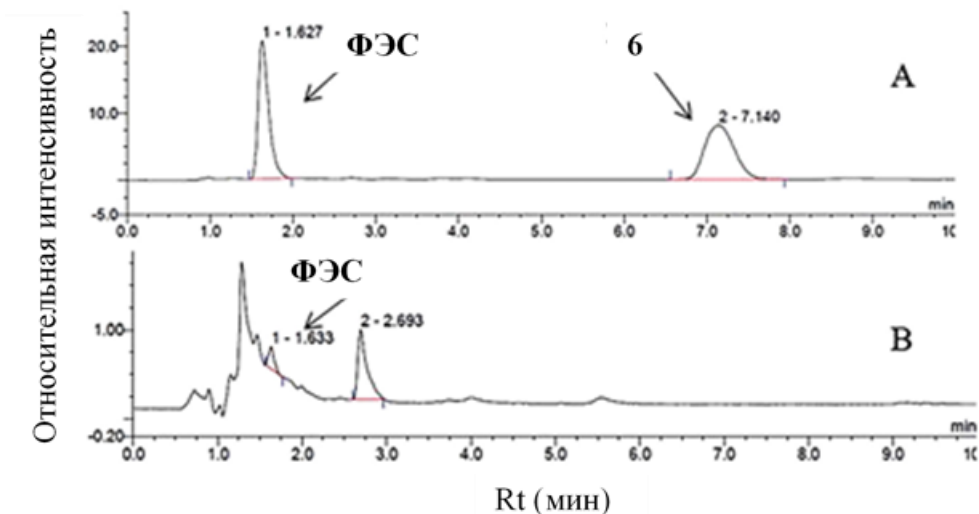


Рисунок 22 - ВЭЖХ-анализ  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$  (*Метод 5*; УФ-излучение 280 нм); А) УФ-хроматограмма  $\Phi\text{ЭС}$  и **6**; В) УФ-хроматограмма препарата  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ .

На основании данных по определению содержания  $\Phi\text{ЭС}$  была рассчитана молярная активность  $[^{18}\text{F}]\Phi\text{ЭС}$ , которая варьировала в пределах 74-129 ГБк/мкмоль (2,0-3,5 Ки/мкмоль), сопоставимых с значениями 62-90 ГБк/ммоль (170 Ки/ммоль),

рекомендованными в брошюре исследователя по применению [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС в ПЭТ исследованиях человека [136]. Соответственно, введённое количество ФЭС не превысило бы 5 мкг, даже если бы вводился весь объем полученного в синтезе препарата (допустимое количество <5 мкг на вводимую дозу) [136]. Остаточное содержание ацетонитрила согласно данным ГЖХ анализа было менее 400 мкг/мл. Для определения остаточного количества  $[\text{Bu}_4\text{N}]^+$  образец продукта был проанализирован с помощью ВЭЖХ (*Метод 4*); соответствующего пика с  $R_t = 4,0$  мин) не обнаружено. Все остальные результаты анализа контроля качества были в пределах, установленных Европейской фармакопеей.

Таким образом, новый алгоритм радиофторирования на основе **Bu<sub>4</sub>NOTs** как нейтрального МФК успешно интегрирован в автоматизированный синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС на модуле синтеза GE TRACERlab FX N Pro (Приложение А, Таблица А.4). Использование безводного раствора МФК на стадии элюирования [ $^{18}\text{F}$ ]фторида, адсорбированного на картридже QMAcarb, позволило исключить традиционную стадию азеотропной очистки и, соответственно, сократить время синтеза на 10 мин, а также на стадии радиофторирования существенно уменьшить количество предшественника **6** (0,8 вместо 5 мкмоль при использовании K222/ $\text{K}_2\text{CO}_3$ , Таблица 19). В свою очередь это позволило существенно уменьшить количество химических примесей и разработать эффективный ТФЭ метод очистки [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС, обеспечивающий получение данного РФЛП в соответствии с требованиями Фармакопеи.

На основании автоматизированной технологии синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС был разработан и утвержден пакет документов (лабораторный регламент производства, Стандарт Качества, Стандартные операционные процедуры), получено разрешение организации на использование данного РФЛП в ПЭТ исследованиях человека. [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС был успешно использован в ПЭТ исследованиях пациентов с раком молочной железы в рамках клинических испытаний в ИМЧ РАН.

### 3.3.4. Разработка синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ

[ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ - меченный фтором-18 аналог тимидина, является эффективным маркером пролиферации клеток и входит в число широко востребованных РФЛП для ПЭТ онкологии [137,138]. Подобно [ $^{18}\text{F}$ ]ФДГ, [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ участвует лишь в первой стадии метаболизма - фосфорилирования тимидин киназой 1 и удерживается в пролиферирующих клетках в результате «блокированного метаболизма». В онкодиагностике ПЭТ с [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ применяется при постановке диагноза, определении стадии заболевания и оценке ответа на терапию при раке легкого и молочной железы, опухолях мозга, лимфопролиферативных заболеваниях и др.

Синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ реакцией алифатического нуклеофильного предшественника, воспроизводящего структуру тимидина, с защищенными гидроксигруппами и мезильной «уходящей» группой, с последующим удалением защитных групп кислотным гидролизом впервые предложен в 1991 г. [139], однако РХВ радиотрейсера не был оптимизирован. В последующие годы появилось множество работ, направленных на создание более эффективного метода синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ, с использованием предшественников с различными защитными и уходящими группами, обзор которых приведен в работе [140]. Из них наибольшее применение получил коммерчески доступный предшественник - 3-N-Вос-5'-О-диметокситритил-3'-О-нозилтимидин, Вос-DMTr-Ns (**7**, Рисунок 23) [141,142].

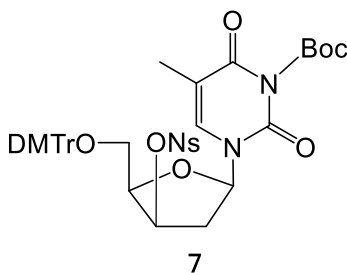


Рисунок 23 - Структурная формула предшественника **7**, используемого для синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ.

Алифатическое нуклеофильное замещение уходящей 4-нитробензолсульфонильной группы (ONs) в **7** [ $^{18}\text{F}$ ]фторидом обычно проводится в присутствии комплекса  $\text{K222}/\text{K}_2\text{CO}_3$  [117] или  $\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$  [93] в качестве МФК. Для обеспечения высоких значений РХВ в реакции радиофторирования используют большие количества предшественника (24-48 мкмоль), что приводит к образованию значительного количества радиоактивных и нерадиоактивных примесей. Несмотря на относительно высокие РХВ (40-65%) [117] необходимость проведения длительной очистки методом ВЭЖХ, даже в кассетных автоматизированных модулях [117], делает эти методы менее привлекательными для использования в рутинном синтезе РФЛП.

Использование методов ТФЭ на одноразовых картриджах в качестве альтернативы ВЭЖХ на стадии очистки [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ [93,143-145] является нетривиальной задачей ввиду образования потенциально токсичных химических примесей, таких как 2',3'-дидегидро-2',3'-дидеокситимидин (ставудин), образующийся в результате элиминирования уходящей и защитной групп в составе **7** на первой стадии синтеза (Рисунок 24) [146].

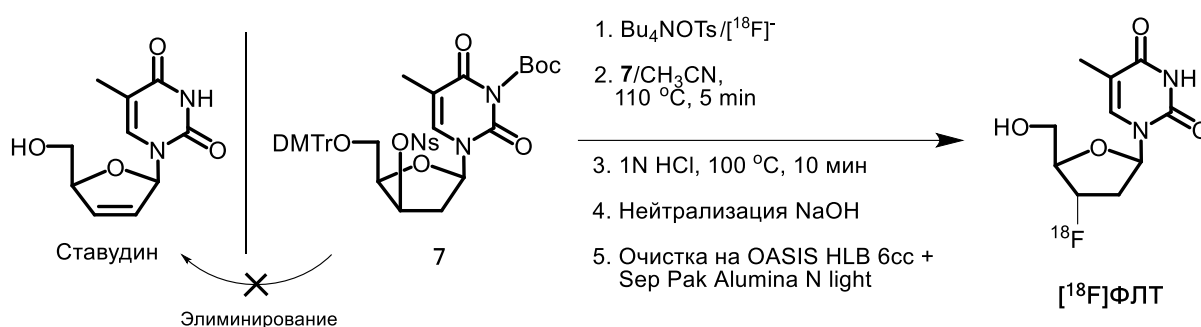


Рисунок 24 - Схема синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ реакцией радиофторирования **7** в присутствии  $\text{Bu}_4\text{NOTs}$  (условия приведены для модуля TRACERlab FX N Pro).

Для решения этой задачи различными авторами предложены достаточно сложные с точки зрения автоматизации процедуры ТФЭ очистки с использованием комбинации одноразовых картриджей [93,143-145], Использование нескольких последовательно соединенных одноразовых картриджей требует проведения

промежуточных стадий (промывка картриджа различными растворителями и др.), что в свою очередь требует не только дополнительного времени, но и в ряде случаев модификации модуля синтеза и установки дополнительных вентилях и линий переноса реагентов. Это вызвано необходимостью удаления химических примесей различной природы (Рисунок 25), образование которых в свою очередь зависит от количества предшественника.

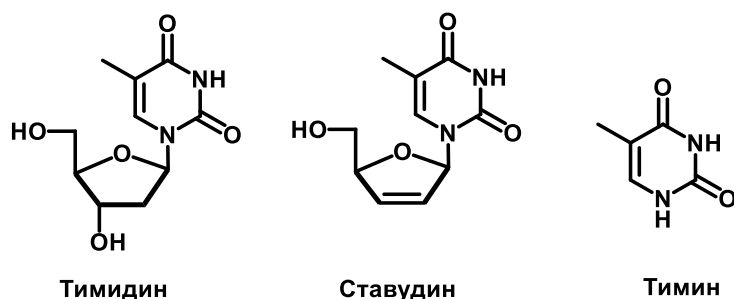


Рисунок 25 - Основные химические примеси при получении  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  реакцией радиофторирования **7**.

В цитируемых выше работах [93,117,143-145] для достижения высокой эффективности радиофторирования использовали достаточно большие количества **7** (24 - 48 мкмоль). Для уменьшения количества предшественника (до 5 мкмоль) авторами [147] было предложено использование третичных спиртов, таких как трет-бутанол [148,149] или 3-метил-пентан-3-ол в качестве со-растворителей для проведения реакции радиофторирования. Этот подход не получил дальнейшего распространения, поскольку использование этих «нетипичных» растворителей требует дополнительных усилий по контролю их содержания в инъекционной форме РФЛП, подтверждения безопасности использования  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  в исследованиях человека.

В настоящей работе при разработке автоматизированного синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  предложено использовать нейтральный катализатор **Bu<sub>4</sub>NOTs**, в присутствии которого можно существенно снизить количество **7** (и, соответственно, химических примесей), как было показано при радиофторировании **7** на Модуле ИМЧ РАН (Раздел 3.2.1, 3.2.2). Как известно, перенос технологии синтеза с одного модуля на другой (в данном случае с дистанционно управляемого Модуля ИМЧ

РАН на TRACERlab FX N Pro) требует решения ряда проблем, связанных с конструкционными особенностями модуля, управлением потоками газов (с ручной настройкой или в автоматическом режиме) и других. Так, при радиофторировании **7** в реакторе TRACERlab FX N Pro было отмечено уменьшение РХК с  $61 \pm 6$  % (полученного на Модуле ИМЧ РАН, Таблица 13) до 43 % с использованием 1,1 мкмоль **7** и 2,5 мкмоль **Bu<sub>4</sub>NOTs**. Это можно объяснить большим объемом реактора в модуле TRACERlab FX N Pro (16 мл против 5 мл в Модуле ИМЧ РАН), что может приводить к увеличению потери активности на стенках. С увеличением количества реактантов (9,6 мкмоль МФК и 4,8 мкмоль **7**) и температуры реакции с 85 °С до 110 °С РХК достигла 50%, и эти условия радиофторирования были выбраны как оптимальные для дальнейшей разработки автоматизированного синтеза [<sup>18</sup>F]ФЛТ.

Следующим этапом синтеза является удаление защитных групп (Boc и DMTr) в [<sup>18</sup>F]**7a**. Следуя методике, описанной в [93], для этой цели был выбран кислотный гидролиз 1N водным раствором соляной кислоты (100 °С, 10 мин). Важно, что во время радиофторирования растворитель (ацетонитрил) удаляли из реакционной смеси, но не полностью, а до объема ~0,2 мл. Таким образом, гидролиз проводили в смеси MeCN/1N HCl, что важно для перевода сорбированного на стенках промежуточного продукта фторирования [<sup>18</sup>F]**7a** в раствор. По окончании гидролиза раствор нейтрализовали добавлением 0,3N NaOH. При этом достигалось количественное снятие защитных групп. Полученный раствор содержал лишь около 30% [<sup>18</sup>F]ФЛТ, что существенно ниже эффективности радиофторирования в 50%. Это расхождение можно объяснить тем, что часть не вступившего в реакцию и адсорбированного на стенках реакционного сосуда [<sup>18</sup>F]фторида могла перейти в гидролизат под действием кислоты, тем самым снижая долю активности, относящуюся к [<sup>18</sup>F]ФЛТ в общей активности гидролизата. Удаление [<sup>18</sup>F]фторида – единственной радиохимической примеси – обычно достигается с использованием картриджа с обращеннофазным сорбентом, тогда как остаточные количества [<sup>18</sup>F]фторида удаляют на завершающей стадии очистки пропусканием через картридж с оксидом алюминия. Более сложной задачей представляется очистка от нерадиоактивных примесей (Рисунок 25),

прежде всего ставудина - потенциально токсичного соединения, количество которого в инъекционной форме РФЛП не должно превышать 0,1 мг/V (где V - максимальная рекомендуемая вводимая доза РФЛП в миллилитрах) [146]. Другими химическими примесями, содержание которых регламентировано [146] с тем же пороговым значением 0,1 мг/V, что и для ставудина, являются тимин и тимидин [146]. В Таблице 22 приведены результаты ТФЭ очистки [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ на различных модулях синтеза с использованием различных картриджей и их комбинаций.

Таблица 22 - Автоматизированный синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ реакцией радиофторирования 7 с очисткой методом ТФЭ; РХВ - радиохимический выход с поправкой на радиоактивный распад

7, мкмоль	МФК	Модуль	Картриджи для ТФО	РХВ, %/ время синтеза, мин	Тимин, Тимидин, Ставудин, мкг/мл	Лит- ра
24	$\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$	Modular-Lab, Eckert & Ziegler	Maxi Clean IC-H; 2× tC18 Sep- Pak Light; Alumina N Light	37/39	28 15 5	93
30	$\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$	GE Bioscan Coincidence FDG	PS-H <sup>+</sup> ; WAX; HLB	16–39/-	-	143
48	K222/ $\text{K}_2\text{CO}_3$	GE TRACERlab MX FDG	PS-H <sup>+</sup> ; HLB Plus Short; Alumina Plus Long	6,5/35	57 110 28	150
30	$\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$	GE TRACERlab MX FDG	PS-H <sup>+</sup> ; Oasis WAX; Oasis HLB; Alumina N	27/54	0,089–0,898 0,129–0,176 0,023–0,061	144
24	$\text{Bu}_4\text{NHCO}_3$	GE TRACERlab FX	Light Alumina-N; PS-H <sup>+</sup> ; WAX plus; HLB plus	10/45	<1,2	145
4,8	$\text{Bu}_4\text{NOTs}$	GE TRACERlab FX N Pro	Oasis HLB бсс; Alumina N Plus Light	16/52	0,3 0,9 0,6	Данная рабо- та

Из данных Таблицы 22 видно, что несмотря на близкое количество 7 в реакции радиофторирования, используемого различными авторами, содержание

контролируемых химических примесей варьирует в широких пределах. Это еще раз подтверждает важность выбора сорбента, типа картриджей и последовательности их соединения. В настоящей работе в качестве «базового» сорбента для удаления радиоактивных и нерадиоактивных примесей на стадии очистки был выбран HLB с обращеннофазным сорбентом (свойства сорбентов см. Таблицу 16).

Этот сорбент поставляется в картриджах различной конструкции: OASIS PRIME HLB Plus Light (100 мг), OASIS HLB 3cc (60 мг) и OASIS HLB 6cc (200 мг) (Таблица 23). Анализ элюата методом радиоТСХ показал, что наиболее эффективным оказался картридж OASIS HLB 6cc колоночного типа, который количественно удерживал целевой продукт, и данный картридж и был использован для очистки [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ в автоматизированном методе синтеза на TRACERlab FX N Pro.

Таблица 23 - Выбор картриджа HLB на основании радиоТСХ анализа фракции элюата (отходов) после пропускания гидролизата

Тип картриджа/колонки	РХВ, % с поправкой на распад	Радио-ТСХ анализ элюата	
		[ $^{18}\text{F}$ ]F <sup>-</sup> , %	[ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ, %
OASIS PRIME HLB Plus Light, 100 мг/картридж	15±3	92-95	5-8
OASIS HLB 3cc, 60 мг/колонка	14±2	60-67	33-40
OASIS HLB 6cc, 200 мг/колонка	16±2	100	0

Сорбированный на OASIS HLB 6cc целевой продукт элюировали 10%-ным водным раствором этанола с последующим пропусканием элюата через установленный «в линию» картриджем Alumina N Plus Light с нейтральным оксидом алюминия (для удаления остаточного [ $^{18}\text{F}$ ]фторида). Полученный элюат пропускали в режиме *on-line* через стерильный фильтр и собирали в стерильный флакон (20 мл), предварительно заполненный 0,9 % NaCl (8 мл). Таким образом конечный продукт представлял из себя стерильный изотонический раствор (pH 7,0) общим объемом 16 мл, содержащий 5 % EtOH, пригодный для введения человеку.

По данной технологии [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ был получен в радиохимически чистой форме с РХВ  $16 \pm 2$  % (с поправкой на радиоактивный распад) при времени синтеза около 50 мин. Анализ баланса радиоактивности, представленный в Таблице 24, показал, что максимальные потери (около 46% активности, Таблица 24, № 7) принадлежат фракции элюата после пропускания гидролизата через OASIS HLB бсс, содержащей в основном не вступивший в реакцию [ $^{18}\text{F}$ ]фторид. Потери активности на самом картридже OASIS HLB бсс не превышали 7%, что подтверждает эффективность разработанного метода очистки. Около 10% активности оставалось в приемном сосуде (для облученной [ $^{18}\text{O}$ ]H<sub>2</sub>O). Это неизбежные потери, определяемые конструкцией модуля TRACERlab FX N Pro, как уже отмечалось при описании синтеза [ $^{18}\text{F}$ ]ФЭС.

Особое внимание было уделено разработке метода контроля качества [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ с помощью радио-ВЭЖХ и количественного определения трех химических примесей. Для подтверждения идентичности [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ радиоВЭЖХ анализ

Таблица 24 - Баланс активности в синтезе [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ (с пересчетом на радиоактивный распад)

№	Точка измерения	Активность, %
1	Начало синтеза	100
2	Приёмный флакон	9,0±0,8
3	QMAcarb (после элюирование)	5,0±1,3
4	Реактор	3,2±1,2
5	OASIS HLB бсс	6,5±1,3
6	Alumina N Plus Light	0,9±0,3
7	Отходы после пропускания гидролизата через картридж OASIS HLB бсс	45,7±5,0
9	Стерильный фильтр+иглы	2,0±0,1
9	Неконтролируемые потери	11,7±2,2
10	[ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ	16,0±2,0

проводили с одновременным введением стандарта ФЛТ (Рисунок 26, А). Радиохимическая чистота [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ составила > 99%; других радиохимических

примесей обнаружено не было (Рисунок 26, В). Градиентный ВЭЖХ-анализ (Метод 7) инъекционной формы  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  (Рисунок 26, С, D) подтвердил высокую

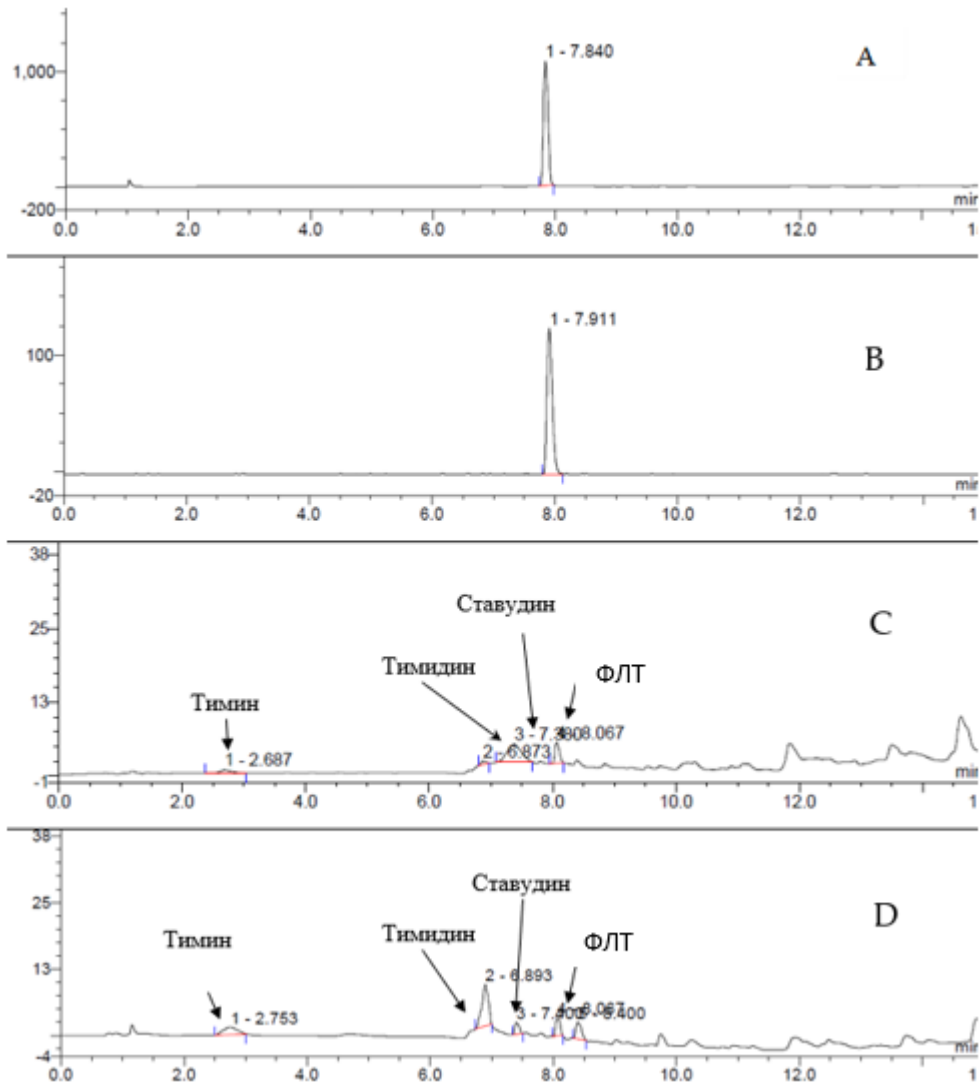


Рисунок 26 – Результаты ВЭЖХ анализа  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  после ТФЭ очистки (Метод 7); (А) УФ-хроматограмма стандарта ФЛТ; (В) радио-ВЭЖХ-хроматограмма  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ ; (С, D) УФ-хроматограммы двух разных образцов препарата  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ .

химическую чистоту  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ . Количество ставудина составило  $0,6 \pm 0,2$  мкг/мл, что находится в пределах установленных норм, приведенных в таблице Европейской фармакопеи ( $<0,1 \text{ мг/V}$ ) [146], при этом объем готового препарата составляет 16 мл. Кроме того, остаточные количества тимина составили  $0,3 \pm 0,1$  мкг/мл и тимидина -  $0,9 \pm 0,2$  мкг/мл, что также было ниже установленных предельных значений,

(<0,1мг/V). Содержание ФЛТ в продукте составляло  $1,3 \pm 0,3$  г/мл, что соответствует требованиям Европейской фармакопеи [146]. Мольная активность [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ находилась в диапазоне 72-140 ГБк/мкмоль. Количество остаточного ацетонитрила составило менее 400 мкг/мл. Для определения остаточного количества  $[\text{Bu}_4\text{N}]^+$  образец продукта был проанализирован с помощью ВЭЖХ (Метод 4); соответствующего пика обнаружено не было (при  $R_t = 4,0$  мин). Все остальные результаты анализа контроля качества находились в пределах, установленных Европейской Фармакопеей.

Таким образом, новый алгоритм радиофторирования на основе **Bu<sub>4</sub>NOTs** как нейтрального МФК успешно интегрирован в автоматизированный синтез [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ на модуле синтеза GE TRACERlab FX N Pro (Приложение А, Таблица А.5). Использование безводного раствора МФК на стадии элюирования [ $^{18}\text{F}$ ]фторида, адсорбированного на картридже QMAcarb, позволило исключить традиционную стадию азеотропной очистки и, соответственно, сократить время синтеза на 10 мин, а также на стадии радиофторирования существенно уменьшить количество предшественника **7** (4,8 вместо 24-48 мкмоль при использовании K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, или Bu<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub>, Таблица 22). В свою очередь это позволило существенно уменьшить количество химических примесей и разработать эффективный ТФЭ метод очистки [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ, обеспечивающий получение данного РФЛП в соответствии с требованиями Фармакопеи. Радиохимический выход [ $^{18}\text{F}$ ]ФЛТ составил  $16 \pm 2$  % (с поправкой на радиоактивный распад; n=5) и радиохимическая чистота >99% при времени синтеза 52 мин.

## Выводы

1. Предложен новый межфазный катализатор **Bu<sub>4</sub>NOTs** для выделения [<sup>18</sup>F]фторида из облученной в мишени циклотрона [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O и разработан метод перевода его в форму реакционноспособного комплекса **Bu<sub>4</sub>N[<sup>18</sup>F]F** для участия в реакциях алифатического нуклеофильного радиофторирования, позволяющий сократить время синтеза и потери радиоактивности.
2. На основании экспериментально подтвержденной высокой элюирующей способности спиртовых растворов (MeOH и EtOH) **Bu<sub>4</sub>NOTs** к десорбции [<sup>18</sup>F]фторида с одноразовых анионообменных картриджей разработаны два подхода к процессу десорбции фтора-18, учитывающие конструкторские особенности различных автоматизированных модулей синтеза.
3. Экспериментально установлено, что использование **Bu<sub>4</sub>NOTs** в реакции алифатического нуклеофильного замещения различных уходящих групп позволяет в пять и более раз снизить исходные количества субстрата (0,5-1,1 мкмоль в сравнении с 3-80 мкмоль с литературными данными для традиционных МФК, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, или Bu<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub>) при сохранении высокой радиохимической конверсии (70 - 95%).
4. Разработана и успешно применена в производстве РПЛП для ПЭТ исследований пациентов в рамках клинических испытаний в ИМЧ РАН автоматизированная технология синтеза трех клинически значимых РФЛП – [<sup>18</sup>F]ФЭТ, [<sup>18</sup>F]ФЭС, [<sup>18</sup>F]ФЛТ на модуле TRACERlab FX N Pro при использовании **Bu<sub>4</sub>NOTs**. Показано, что применение метода твердофазной экстракции на стадии очистки обеспечивает высокую химическую и радиохимическую чистоту препаратов и соответствие с требованиями Фармакопеи.
5. На основании разработанной автоматизированной технологии синтеза РФЛП для [<sup>18</sup>F]ФЭТ и [<sup>18</sup>F]ФЭС разработан и утвержден пакет документов (лабораторный регламент производства, стандарт качества, стандартные

операционные процедуры), получено разрешение организации на использование данных РФЛП в ПЭТ исследованиях человека.

## Благодарность

Автор выражает благодарность своему научному руководителю – Красиковой Раисе Николаевне - за помощь и поддержку на протяжении всей работы, а также за ценные советы, замечания и обсуждения в ходе подготовки диссертации, Федоровой Ольге Сталлитовне и Антуганову Дмитрию Олеговичу за огромный интерес к работе и участие в обсуждении полученных результатов, а также помощь в проведении контроля качества и экспериментов, Викторову Николаю Борисовичу за научные консультации в области органического синтеза.

Отдельную благодарность автор выражает всему коллективу лаборатории радиохимии ИМЧ РАН за советы и консультации по различным научным вопросам.

## Сокращения и обозначения

РФЛП – радиофармацевтический лекарственный препарат, радиотрейсер

ПЭТ – позитронная эмиссионная томография

МФК – межфазный катализатор

$S_N2$  – реакция алифатического нуклеофильного замещения 2-го типа

$S_NAr$  – реакция ароматического нуклеофильного замещения

$Bu_4NOTs$  – тетрабутиламмоний тозилат

K2.2.2 – 4,7,13,16,21,24-гексаоксо-1,10-дiazобикло[8,8,8]гексакозан

$Bu_4NHCO_3$  – тетрабутиламмонийгидрокарбонат

ТСХ – тонкослойная хроматография

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГЖХ – газожидкостная хроматография

УФ – ультрафиолет

ТФЭ – твердофазная экстракция

РХК – радиохимическая конверсия

РХВ – радиохимический выход

РХЧ – радиохимическая чистота

ХЧ – химическая чистоты

ЭЧ – энантиомерная чистота

ЭЭ – эффективность элюирования

QMA – картридж Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge

QMAcarb – картридж Sep-Pak Plus Light QMA Carbonate cartridge

$[^{18}F]$ ФЭТ – O-(2- $[^{18}F]$ фторэтил)-L-тирозин

$[^{18}F]$ ФЭС – 16 $\alpha$ - $[^{18}F]$ фтор-17 $\beta$ -эстрадиол

$[^{18}F]$ ФЛТ – 3'-дезоксигуанидин-3'- $[^{18}F]$ фтортимидин

$[^{18}F]$ ФДГ – 2-дезоксигуанидин-2- $[^{18}F]$ фтор-D-глюкоза

$[^{18}F]$ ФМИСО –  $[^{18}F]$ фтормисонизадол

### Список литературы

1. Beyer T. et al. A combined PET/CT scanner for clinical oncology // J. Nucl. Med. 2000. Vol. 41, №. 8, P. 1369-1379.
2. Pichler B.J., Judenhofer M.S., Wehrl H.F. PET/MRI hybrid imaging: devices and initial results // Eur. J. Nucl. Med. 2008. Vol. 18, №. 6, P. 1077-1086. <https://doi.org/10.1007/s00330-008-0857-5>
3. Ter-Pogossian M.M. et al. A Positron-Emission Transaxial Tomograph for Nuclear Imaging (PETT) // Radiology 1975. Vol. 114, № 1, P. 89-98. <https://doi.org/10.1148/114.1.89>
4. Wacholtz E.H. History and Development of PET. ECEI. 2011. CEwebsitesources. <http://www.cewebsitesource.com/coursePDFs/historyofPET.pdf> (page consultée le 22 Février 2012).
5. Das B.K. Development of positron emission tomography (PET): a historical perspective // Positron Emission Tomography: A Guide for Clinicians, Springer India, New Delhi, 2015. P. 7-11. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2098-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2098-5_2)
6. Schwenck J. et al. Advances in PET imaging of cancer // Nat. Rev. Cancer 2023. Vol. 23, P. 474-490. <https://doi.org/10.1038/s41568-023-00576-4>
7. Медведев С.В. ПЭТ в России: позитронно-эмиссионная томография в клинике и физиологии // С. В. Медведев, Т. Ю. Скворцова, Р. Н. Красикова. – СПб: АСТ, 2008. С. 319.
8. Pan J.A., Salerno M. Clinical Utility and Future Applications of PET/CT and PET/CMR in Cardiology // Diagnostics 2016, Vol. 6, № 3, P. 32. <https://doi.org/10.3390/diagnostics6030032>
9. Kreisl W.C. et al. PET imaging of neuroinflammation in neurological disorders // Lancet Neurology 2020. Vol. 19, № 11, P. 940-950. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30346-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30346-X)
10. Suridjan I., Comley R.A., Rabiner E.A. The application of positron emission tomography (PET) imaging in CNS drug development // Brain Imaging and Behavior 2019. Vol. 13, 354-365. <https://doi.org/10.1007/s11682-018-9967-0>

11. Deng X. et al. Chemistry for Positron Emission Tomography: Recent Advances in  $^{11}\text{C}$ -,  $^{18}\text{F}$ -,  $^{13}\text{N}$ -, and  $^{15}\text{O}$ -Labeling Reactions // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2019. Vol. 58, P. 2580–2605. <https://doi.org/10.1002/anie.201805501>
12. Strijckmans K. The isochronous cyclotron: principles and recent developments // *Comput. Med. Imaging Graph.* 2001. Vol. 25, № 2, P. 69-78. [https://doi.org/10.1016/s0895-6111\(00\)00056-2](https://doi.org/10.1016/s0895-6111(00)00056-2)
13. Marengo M. et al. State of the Art in Cyclotrons for Radionuclide Production in Biomedicine // *Nucl. Science and Engineering* 2023. Vol. 197, № 9, P. 2259-2269 <https://doi.org/10.1080/00295639.2022.2146433>
14. Clark J.C. et al. Current methodology for oxygen-15 production for clinical use // *Appl. Radiat. Isot.* 1987, Vol. 38, № 8, P. 597-600. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(87\)90122-5](https://doi.org/10.1016/0883-2889(87)90122-5)
15. Fathala A. et al. Diagnostic accuracy of  $^{13}\text{N}$ -ammonia myocardial perfusion imaging with PET-CT in the detection of coronary artery disease // *Cardiovasc Diagn. Ther.* 2019. Vol. 9, № 1, P. 35-42. <https://doi.org/10.21037/cdt.2018.10.12>
16. Berridge M.S., Landmeier B.J. In-target production of [ $^{13}\text{N}$ ]ammonia: target design, products, and operating parameters // *Appl. Radiat. Isot.* 1993. Vol. 44, № 12, P. 1433-1441. [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(93\)90096-s](https://doi.org/10.1016/0969-8043(93)90096-s)
17. Krasikova R.N. et al. Improved [ $^{13}\text{N}$ ]ammonia yield from the proton irradiation of water using methane gas // *Appl. Radiat. Isot.* 1999. Vol. 51, № 4, P. 395-40. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(99\)00062-7](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(99)00062-7)
18. Скворцова Т.Ю. и др. Современные проблемы мониторинга лечения церебральных глиом и возможности повышения точности диагностики при помощи ПЭТ с метионином // *Лучевая диагностика и терапия* 2014. Т. 2, №5, С. 5-16.
19. Shegani A. et al. Radiosynthesis, Preclinical, and Clinical Positron Emission Tomography Studies of Carbon-11 Labeled Endogenous and Natural Exogenous Compounds // *Chem. Rev.* 2023. Vol. 123, 105-229. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00398>

20. Elsinga P.H. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography // Methods 2002. Vol. 27, № 3, P. 208-217. [https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00076-2)
21. Comar D. et al. Labelling and metabolism of methionine-methyl-<sup>11</sup>C // Eur. J. Nucl. Med. 1976. Vol.1, № 1, P. 11-14. <https://doi.org/10.1007/bf00253260>
22. Larsen P. et al. Synthesis of [<sup>11</sup>C]iodomethane by iodination of [<sup>11</sup>C]methane // Appl. Radiat. Isot. 1997. Vol. 48, № 2, P. 153-157. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(96\)00177-7](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(96)00177-7)
23. Jewett E.M. et al. 30 years of [<sup>11</sup>C]methyl triflate // Appl. Radiat. Isot. 2023. Vol. 197, 110812. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2023.110812>
24. Dahl K., Halldin C., Schou M. New methodologies for the preparation of carbon-11 labeled radiopharmaceuticals // Clinic. Translational Imaging 2017. Vol. 5, № 3, P. 275-289. <https://doi.org/10.1007/s40336-017-0223-1>
25. Ebner R. et al. ESR Essentials: staging and restaging with FDG-PET/CT in oncology-practice recommendations by the European Society for Hybrid, Molecular and Translational Imaging // Eur. Radiol. 2025. Vol. 35, № 4, P. 1894-1902. <https://doi.org/10.1007/s00330-024-11094-8>
26. Guillaume M. et al. Recommendations for fluorine-18 production // Appl Radiat Isot. 1991. Vol. 42, № 8, P. 749-762. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(91\)90179-5](https://doi.org/10.1016/0883-2889(91)90179-5)
27. Wagner M., Wuest F. The Radiopharmaceutical Chemistry of Fluorine-18: Electrophilic Fluorinations // Radiopharmaceutical Chemistry 2019. P. 285-295. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-98947-1\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-319-98947-1_16)
28. Jacobson O., Dale O. Kiesewetter D.O., Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes // Bioconjugate Chem. 2015. Vol. 26, № 1, P. 1-18. <https://doi.org/10.1021/bc500475e>
29. Krasikova R.N., Aliev R.A., Kalmykov S.N. The next generation of positron emission tomography radiopharmaceuticals labeled with non-conventional radionuclides // Mendeleev Commun. 2016. Vol. 26, № 2, P. 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2016.03.001>

30. Saha G.B. Production of Radionuclides // Fundamentals of Nucl. Pharm. 2017. P. 49-75. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-57580-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-57580-3_4)
31. Laforest R., Liu X. Image quality with non-standard nuclides in PET // Nucl. Med. Mol. Imaging 2008. Vol. 52, № 2, P. 151-158.
32. Roesch F., Martin M. Radiometal-theranostics: the first 20 years // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2023. Vol. 332, № 5, P. 1557-1576. <https://doi.org/10.1007/s10967-022-08624-3>
33. Qaim S.M., Scholten B., Neumaier B. New developments in the production of theranostic pairs of radionuclides // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2018. Vol. 318, № 3, 1493-1509. <https://doi.org/10.1007/s10967-018-6238-x>
34. Aluicio-Sarduy E. et al. PET radiometals for antibody labeling // J. Labell. Comp. Radiopharm. 2018. Vol. 61, № 9, P. 636-651. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3607>
35. Красикова Р.Н. Возможности метода ПЭТ в тераностике онкологических заболеваний // Радиохимия 2019. Т. 61, № 6, С. 453-463. <https://doi.org/10.1134/S0033831119060017>
36. Saha G.B. Radionuclide Generators. // Fundament. Nucl. Pharm. 2018. P. 77-92. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-57580-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-57580-3_5)
37. Dash A., Chakravarty R. Radionuclide generators: the prospect of availing PET radiotracers to meet current clinical needs and future research demands // Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2019. Vol. 9, № 1, P. 30-66.
38. Ashhar Z. et al. Cyclotron Production of Gallium-68 Radiopharmaceuticals Using the  $^{68}\text{Zn}(p,n)^{68}\text{Ga}$  Reaction and Their Regulatory Aspects. // Pharmaceutics 2023. Vol. 15, № 1, P. 70. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010070>
39. Красикова Р.Н. Фтор-18 или галлий-68: мнение ПЭТ радиохимика // Радиохимия 2023, Т. 65, № 2, С. 130-149. <https://doi.org/10.31857/S003383112302003X>
40. Price E.W., Orvig C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals // Chem. Soc. Rev. 2014. Vol. 43, 260-290. <https://doi.org/10.1039/C3CS60304K>

41. Liu F. et al.  $^{68}\text{Ga}/^{177}\text{Lu}$ -labeled DOTA-TATE shows similar imaging and biodistribution in neuroendocrine tumor model // *Tumour Biol.* 2017. Vol. 39, № 6. <https://doi.org/10.1177/1010428317705519>
42. Ahmadzadehfar H. et al.  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11 PET as a Gatekeeper for the Treatment of Metastatic Prostate Cancer with  $^{223}\text{Ra}$ : Proof of Concept // *J. Nucl. Med.* 2017. Vol. 58, № 1, P. 85-90.
43. Snyder S.E., Kilbourn M.R. Chemistry of Fluorine-18 Radiopharmaceuticals // *Handbook of Radiopharmaceuticals* 2005. P. 195-227. <https://doi.org/10.1002/0470846380.ch6>
44. Smart B.E. Fluorine substituent effects (on bioactivity) // *J. Fluorine Chem.* 2001. Vol. 109, № 1, P. 3-11. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(01\)00375-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(01)00375-X)
45. Gallagher B.M. et al. Metabolic trapping as a principle of radiopharmaceutical design: some factors responsible for the biodistribution of [ $^{18}\text{F}$ ] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose // *J. Nucl. Med.* 1978. Vol. 19, № 10, P. 1154-1161.
46. Coenen H.H. et al. Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [ $^{18}\text{F}$ ]FDG for use in oncology and neurosciences // *Nucl. Med. Biology* 2010. Vol. 37, № 7, P. 727-740. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.04.185>
47. Sharma S. PET Radiopharmaceuticals for Personalized Medicine. *Curr. Drug Targets* 2016. Vol. 17, № 16, P. 1894-1907. <https://doi.org/10.2174/1389450117666160720091233>
48. Eberl S. et al. High beam current operation of a PET trace TM cyclotron for  $^{18}\text{F}$ -production // *Appl. Radiat. Isot.* 2012, Vol. 70, № 6, P. 922-930. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.03.007>
49. Lambrecht R.M., Neirinkhx R., Wolf A.P. Cyclotron isotopes and radiopharmaceuticals—XXIII: Novel anhydrous  $^{18}\text{F}$ -fluorinating intermediates // *Int. J. Appl. Rad. Isot.* 1978, Vol. 29, P. 175-183. [https://doi.org/10.1016/0020-708X\(78\)90140-0](https://doi.org/10.1016/0020-708X(78)90140-0)
50. Nickles R.J., Daube M.E., Ruth T.J. Development of an improved target for [ $^{18}\text{F}$ ]F<sub>2</sub> production // *Int. J. Appl. Rad. Isot.* 1995. Vol. 46, № 2, P. 87-91. [https://doi.org/10.1016/0969-8043\(94\)00111-C](https://doi.org/10.1016/0969-8043(94)00111-C)

51. Firnau G, Chiracal R, Garnett E.S. Aromatic radiofluorination with [<sup>18</sup>F]fluorine gas: 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa // J. Nucl. Med. 1984. Vol. 25, № 11 P. 1228-1233.
52. Coenen H.H. Kling P. and Stoklin G. Cerebral metabolism of L-2-[<sup>18</sup>F]fluorotyrosine, a new PET tracer of protein synthesis // J.Nucl. Med. 1989. Vol. 30, № 8, P. 1367-1372.
53. Namavari M. et al. Regioselective radiofluorodestannylation with [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> and [<sup>18</sup>F]CH<sub>3</sub>COOF: A high yield synthesis of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-l-dopa // Appl. Radiat. Isot. 1992. Vol. 43, № 8, P. 989-996. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(92\)90217-3](https://doi.org/10.1016/0883-2889(92)90217-3)
54. Luxen A. et al. Remote, semiautomated production of 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa for human studies with PET // Appl. Radiat. Isot. 1990, Vol. 41, № 3, P. 275-281. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(90\)90191-1](https://doi.org/10.1016/0883-2889(90)90191-1)
55. Krasikova R. PET Radiochemistry automation: state of the art and future trends in <sup>18</sup>F-nucleophilic fluorination // Curr. Org. Chem. 2013. Vol. 17, № 19, 2097-2107. <https://doi.org/10.2174/13852728113179990102>
56. Sachinidis J.I., Poniger S., Tochon-Danguy H.J. Automation for Optimised Production of Fluorine-18-Labelled Radiopharmaceuticals // Curr. Radiopharm. 2010. Vol. 3, P. 248-253. <https://doi.org/10.2174/1874471011003030248>
57. Hjelstuen O.K. et al. Standardization of fluorine-18 manufacturing processes: New scientific challenges for PET // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2011. Vol. 78, P. 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.01.002>
58. Barnes C. et al. A practical guide to automating fluorine-18 PET radiochemistry using commercially available cassette-based platforms // React. Chem. Eng. 2022. Vol. 7, P. 2265-2279. <https://doi.org/10.1039/d2re00219a>
59. Veigh Mc. V., Bellan L.M. Microfluidic synthesis of radiotracers: recent developments and commercialization prospects // Lab. Chip. 2024. Vol. 24, № 5, P.1226-1243. <https://doi.org/10.1039/d3lc00779k>
60. Webb E.W. et al. Development of High-Throughput Experimentation Approaches for Rapid Radiochemical Exploration // J. Am. Chem. Soc. 2024. Vol.146, № 156 P. 10581-10590. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c14822>

61. Федорова О.С. и др. Автоматизация процессов нуклеофильного радиофторирования на примере синтеза  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозы для позитронной эмиссионной томографии // Мед. физика 2010. № 2, С. 61-72.
62. Orlovskaya, V.V. et al. Alcohol-supported Cu-mediated  $^{18}\text{F}$ -fluorination of iodonium salts under “minimalist” conditions // Molecules 2019. Vol. 24, № 17, 3197. <https://doi.org/10.3390/molecules24173197>
63. O'Hagan D. Fluorine in health care: Organofluorine containing blockbuster drugs // J. Fluorine Chem. 2010. Vol. 131, № 11, P. 1071–1081. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2010.03.003>
64. Attina M, Cacace F, Wolf A.P. Labeled aryl fluorides from the nucleophilic displacement of activated nitro groups by  $^{18}\text{F}\text{-F}^-$  // J. Label. Compd. Radiopharm. 1983. Vol. 20, № 4, P. 501-514. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580200408>
65. Rengan R., Chakraborty P.K., Kilbourn M.R. Can we predict reactivity for aromatic nucleophilic substitution with [ $^{18}\text{F}$ ]fluoride ion? // J. Label. Compd. Radiopharm. 1993. Vol. 33, № 7, 563-572. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580330702>
66. Angelini G. et al. Nucleophilic aromatic substitution of activated cationic groups by  $^{18}\text{F}$ -labeled fluoride. A useful route to no-carrier-added (NCA)  $^{18}\text{F}$ -labeled aryl fluorides // J. Fluor. Chem. 1985. Vol. 27, № 2, 177-191. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(00\)84987-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(00)84987-8)
67. Hamacher K., Coenen H.H. No-carrier-added nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -labelling in an electrochemical cell exemplified by the routine production of [ $^{18}\text{F}$ ]altanserin // Appl. Radiat. Isot. 2006. Vol. 64, № 9, P. 989-994. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2006.03.005>
68. Preshlock S., Tredwell M., Gouverneur V.  $^{18}\text{F}$ -Labeling of Arenes and Heteroarenes for Applications in Positron Emission Tomography // Chem. Rev. 2016 Vol. 116, № 2, P. 719-766. <https://hdl.handle.net/11858/00-001M-0000-002D-B106-7>
69. Tago T., Toyohara J. Step-by-step optimisation of the radiosynthesis of the brain HDAC6 radioligand [ $^{18}\text{F}$ ]FSW-100 for clinical applications // EJNMMI

- Radiopharm. Chem. 2024. Vol. 9, № 1, P. 45. <https://doi.org/10.1186/s41181-024-00277-9>
70. Wright J.S. et al. Copper-mediated late-stage radiofluorination: five years of impact on preclinical and clinical PET imaging // Clin. Transl. Imaging 2020. Vol. 8, № 3, P. 167-206. <https://doi.org/10.1007/s40336-020-00368-y>
71. Orlovskaya V. et al. Cu-Mediated Radiofluorination of Aryl Pinacolboronate Esters: Alcohols as Solvents with Application to 6-L-[<sup>18</sup>F]FDOPA Synthesis // Eur. J. Org. Chem. 2020. Vol. 2020, № 45, P. 7079-7086. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001198>
72. Nadporojskii M.A. et al. Automation of Copper-Mediated <sup>18</sup>F-Fluorination of Aryl Pinacol Boronates Using 4-Dimethylaminopyridinium Triflate // Molecules 2024. Vol. 29, № 14, P. 3342. <https://doi.org/10.3390/molecules29143342>
73. Coenen H.H. et al. Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [<sup>18</sup>F]FDG for use in oncology and neurosciences // Nucl. Med. Biol. 2010. Vol. 37, № 7, P. 727740. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.04.185>
74. Gouverneur V., Müller K. Fluorine In Pharmaceutical And Medicinal Chemistry: From Biophysical Aspects To Clinical Applications // Imperial College Press 2012. Vol. 6.
75. Coenen H.H. et al. Preparation of N.C.A. [17-<sup>18</sup>F]-fluoroheptadecanoic acid in high yields via aminopolyether supported, nucleophilic fluorination // J. Labelled. Compds. Radiopharm. 1986. Vol. 23, № 5, P. 455-466. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580230502>
76. Hamacher K., Coenen H., Stocklin G. Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic-substitution // J. Nucl. Med. 1986. Vol. 27, № 2, P. 235-238.
77. Cai L., Lu S., Pike V.W. Chemistry with [<sup>18</sup>F]Fluoride Ion // Eur. J. Org. Chem. 2008. Vol. 2008, № 17, P. 2853-2873. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200800114>
78. Coenen H.H., Ermert J. <sup>18</sup>F-labelling innovations and their potential for clinical application // Clin. Trans. Imaging 2018. Vol. 6, № 16, P. 169-193. <https://doi.org/10.1007/s40336-018-0280-0>

79. Jacobson O., Kiesewetter D.O., Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes // *Bioconjugate Chem.* 2015. Vol. 26, № 1, P. 1-18. <https://doi.org/10.1021/bc500475e>
80. Brodack J.W. et al. NCA 16 alpha-[<sup>18</sup>F]fluoroestradiol-17β: The effect of reaction vessel on fluorine-18 resolubilization, product yield, and effective specific activity // *Appl. Radiat. Isot.* 1986. Vol. 37, № 3, P. 217-221. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(86\)90174-7](https://doi.org/10.1016/0883-2889(86)90174-7)
81. Schlyer D. J. et al. Separation of [<sup>18</sup>F]fluoride from [<sup>18</sup>O]water using anion exchange resin // *Appl. Radiat. Isot.* 1990. Vol. 41, № 6, 531-533. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(90\)90034-e](https://doi.org/10.1016/0883-2889(90)90034-e)
82. Suehiro M. et al. Investigation of the role of the base in the synthesis of [<sup>18</sup>F]FLT // *Appl. Radiat. Isot.* 2007. Vol. 65, № 12, P. 1350-1358. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2007.07.013>
83. Hayash K. et al. High-yield automated synthesis of [<sup>18</sup>F]fluoroazomycin arabinoside ([<sup>18</sup>F]FAZA) for hypoxia-specific tumor imaging // *Appl. Radiat. Isot.* 2011. Vol. 69, № 12, P. 1007-1013. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.02.025>
84. Pees A. et al. Synthesis of [<sup>18</sup>F]Fluoroform with High Molar Activity // *European J. Org. Chem.* 2020. Vol. 2020, № 9, Vol. 1177-1185. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202000056>
85. Haveman L.Y.F, Vugts D.J., Windhorst A.D. State of the art procedures towards reactive [<sup>18</sup>F]fluoride in PET tracer synthesis // *EJNMMI Radiopharm. Chem.* 2023. Vol. 8, № 28. <https://doi.org/10.1186/s41181-023-00203-5>
86. Mossine A.V. et al. Development of Customized [<sup>18</sup>F]Fluoride Elution Techniques for the Enhancement of Copper-Mediated Late-Stage Radiofluorination // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, № 1, P. 233. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00110-1>
87. Zlatopolskiy B.D. et al. Copper-Mediated Aromatic Radiofluorination Revisited: Efficient Production of PET Tracers on a Preparative Scale // *Chem. Eur. J.* 2015. Vol. 21, № 15, <https://doi.org/10.1002/chem.201405586>

88. Bratteby K., Shalgunov V., Herth M.M. Aliphatic  $^{18}\text{F}$ -Radiofluorination: Recent Advances in the Labeling of Base-Sensitive Substrates // Chem. Med. Chem. 2021. Vol.16, P.1-12. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100303>
89. Iwata R. et al. Practical microscale one-pot radiosynthesis of  $^{18}\text{F}$ -labeled probes // J. Label. Compd. Radiopharm. 2018. Vol. 61, № 7, P. 540-549. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3618>
90. Lebedev V. et al. Batch-reactor microfluidic device: first human use of a microfluidically produced PET radiotracer // Lab. Chip. 2013. Vol. 13, P. 136-145. <https://doi.org/10.1039/c2lc40853h>
91. Bogni A. et al. An improved automated one-pot synthesis of O'-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroethyl)-L-tyrosine ([ $^{18}\text{F}$ ]FET) based on a purification by cartridges // Nucl. Med. Biol. 2019. Vol. 72-73, P. 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2019.05.006>
92. Lee S.J. et al. Development of a new precursor- minimizing base control method and its application for the automated synthesis and SPE purification of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoromisonidazole ([ $^{18}\text{F}$ ]FMISO) // J. Label. Compd. Radiopharm. 2013. Vol. 56, № 14, P. 731-735. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3115>
93. Pascali C. et al. Simple preparation and purification of ethanol-free solutions of 3'-deoxy-3'-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorothymidine by means of disposable solid-phase extraction cartridges // Nucl. Med. Biol. 2012. Vol. 39, № 4, P. 540-550. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2011.10.005>
94. Brichard L., Aigbirhio F.I. An Efficient Method for Enhancing the Reactivity and Flexibility of [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride Towards Nucleophilic Substitution Using Tetraethylammonium Bicarbonate // Eur. J. Org. Chem. 2014. Vol. 28, P. 6145-6149. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201402587>
95. Seo J.W. et al. Fast and easy drying method for the preparation of activated [ $^{18}\text{F}$ ]fluoride using polymer cartridge // Bull. Kor. Chem. Soc. 2011. Vol. 32, № 1, P. 71-76. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2011.32.1.71>
96. Stewart M.N., Hockley B.G., Scott P.J. Green approaches to late-stage fluorination: radiosyntheses of ( $^{18}\text{F}$ )-labelled radiopharmaceuticals in ethanol and water //

- Chem. Commun. 2015. Vol. 51, № 79, P. 14805-14808.  
<https://doi.org/10.1039/C5CC05919D>
97. Bratteby K. et al. Insights into Elution of Anion Exchange Cartridges: Opening the Path towards Aliphatic  $^{18}\text{F}$ -Radiolabeling of Base-Sensitive Tracers // ACS Pharm. Transl. Science 2021. Vol. 4, № 5, P. 1556-1566. <https://doi.org/10.1007/s40336-018-0280-0>
98. Bratteby K. et al. Fully Automated GMP-Compliant Synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]FE-PE2I // Pharmaceuticals 2021. Vol.14, № 7, P.601. <https://doi.org/10.3390/ph14070601>
99. Fawdry R.M. Radiolysis of 2- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) and the role of reductant stabilizers // Appl. Radiat. Isot. 2007. Vol. 65, № 11, P. 1193-1201. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2007.05.011>
100. Gomzina N.A., Vasil'ev D.A., Krasikova R.N. Optimization of automated synthesis of 2- [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoro-2-deoxy-D-glucose involving base hydrolysis // Radiochemistry 2002. Vol. 44, № 4, P. 403-409. <https://doi.org/10.1023/A:1020689314452>
101. Antuganov D.O. et al. Modification of automatic synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoromisonidazole on a GE TRACERlab Fx F-N synthesis module // Radiochemistry 2018. Vol. 60, № 1, P. 45–50. <https://doi.org/10.1134/S1066362218010083>
102. Tang G. et al. Fully automated one-pot synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoromisonidazole // Nucl. Med. Biol. 2005. Vol. 32, P. 553-558. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2005.03.010>
103. Bourdier T. et al. Fully automated one-pot radiosynthesis of O-(2- [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroethyl)-L-tyrosine on the TracerLab FX<sub>FN</sub> module // Nucl. Med. Biol. 2011. Vol. 38, P. 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2011.01.001>
104. Shi J., Afari G., Bhattacharyya S. Rapid synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol: remarkable advantage of microwaving over conventional heating // J. Label. Compd. Radiopharm. 2014. Vol. 57, № 14, P. 730-736. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3248>

105. Hamacher K., Coenen H.H. Efficient routine production of the  $^{18}\text{F}$ -labelled amino acid *O*-(2- $^{18}\text{F}$ fluoroethyl)-L-tyrosine // *Appl. Radiat. Isot.* 2002. Vol. 57, № 6, P. 853-856. [https://doi.org/10.1016/S0969-8043\(02\)00225-7](https://doi.org/10.1016/S0969-8043(02)00225-7)
106. Knott K.E. et al. Simplified and automatic one-pot synthesis of  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ fluoroestradiol without high-performance liquid chromatography purification // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2011. Vol. 54, № 12, P. 749-753. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1916>
107. Cheung Y.Y. et al. High-yielding, automated production of 3'-deoxy-3'- $^{18}\text{F}$ fluorothymidine using a modified Bioscan Coincidence FDG reaction module // *Appl. Radiat. Isot.* 2015. Vol. 97, P. 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2014.11.011>
108. Lemaire C.E. Fast production of highly reactive no-carrier-added  $^{18}\text{F}$ fluoride for the labeling of radiopharmaceuticals // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010. Vol. 49, № 18, P. 3161-3164. <https://doi.org/10.1002/anie.200906341>
109. Wessmann S.H., Henriksen G., Wester H.J. Cryptate mediated nucleophilic  $^{18}\text{F}$ -fluorination without azeotropic drying // *Nukl. Med.* 2012. Vol. 51, № 1, P. 1-8. <https://doi.org/10.3413/nukmed-0425-11-08>
110. Kniess T. et al. 2- $^{18}\text{F}$ Fluoroethyl tosylate – a versatile tool for building  $^{18}\text{F}$ -based radiotracers for positron emission tomography // *Med. Chem. Comm.* 2015. Vol. 6, P. 1714-1754. <https://doi.org/10.1039/C5MD00303B>
111. Zischler J. et al. Alcohol-Enhanced Cu-Mediated Radiofluorination // *Chem. Eur. J.* 2017. Vol. 23, № 14, P. 3251-3256. <https://doi.org/10.1002/chem.201604633>
112. Mueller D. et al. Synthesis of *O*-(2- $^{18}\text{F}$ fluoroethyl)-L-tyrosine based on a cartridge purification method // *Nucl. Med. Biol.* 2011. Vol. 38, № 5, P. 653-658. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2011.01.006>
113. Lu S.Yu. et al. Efficient *O*- and *N*-( $\beta$ -fluoroethylation)s with NCA  $^{18}\text{F}$  $\beta$ -fluoroethyl tosylate under microwave-enhanced conditions // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2004. Vol. 47, № 5, P. 289-297. <https://doi.org/10.1002/jlcr.818>
114. Wester H. et al. Synthesis and radiofarmacology of *O*-(2- $^{18}\text{F}$  fluoroethyl)-L-tyrosine for tumor imaging. *J. Nucl. Med.* 1999. Vol. 40, № 1, P. 205-212.

115. Dixit M. et al. Synthesis of clinical-grade [<sup>18</sup>F]fluoroestradiol as a surrogate PET biomarker for the evaluation of estrogen receptor-targeting therapeutic drug // *Int. J. Mol. Imag.* 2013. Vol. 2013, P. 278607. <https://doi.org/10.1155/2013/278607>
116. Fedorova O., Nikolaeva V., Krasikova R. Automated SPE-based synthesis of 16 $\alpha$ -[<sup>18</sup>F]fluoroestradiol without HPLC purification step // *Appl. Radiat. Isot.* 2018. Vol. 141, P. 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2018.08.007>
117. Oh S.J. et al. Fully automated synthesis system of 3'-deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]fluorothymidine // *Nucl. Med. Biol.* 2004. Vol. 31, № 6, P. 803-809. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2004.01.008>
118. Marchand P. et al. Automated and efficient radiosynthesis of [<sup>18</sup>F]FLT using a low amount of precursor. *Nucl. Med. Biol.* 2016. Vol. 43, P. 520-527. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2016.05.009>
119. Ph. Eur. 9th Edition (9.0): European Pharmacopoeia, Strasbourg: Council of Europe, ninth ed., Vol. 3, P. 1146-1147.
120. Galdiks N. et al. PET imaging of gliomas: Status quo and quo vadis? // *Neuro Oncol.* 2024. Vol. 26, Supplement 9, P. S185-S198. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noae078>
121. Krasikova R.N. et al. No carrier added synthesis of O-(2'-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine via a novel type of chiral enantiomerically pure precursor, Ni<sup>II</sup> complex of a (S)-tyrosine Schiff base // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. Vol. 16, № 9, P. 4994-5003. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.03.040>
122. Fedorova O. et al. A facile direct nucleophilic synthesis of O-(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine ([<sup>18</sup>F]FET) without HPLC purification. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2014. Vol. 301, P. 505-512. <https://doi.org/10.1007/s10967-014-3121-2>
123. Lakshminarayanan N. et al. Improved method for preparing Ni(II) complex of (S)-tyrosine Schiff base and its use in the automated synthesis of O-(2'-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine using solid phase extraction purification // *Appl. Radiat. Isot.* 2017. Vol. 127, P. 122-129. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2017.05.017>

124. Stanek J. et al. Automated radiosynthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]ciprofloxacin // *Appl. Radiat. Isot.* 2015. Vol. 99, P. 133-137. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.02.024>
125. Liao G.J. et al.  $^{18}\text{F}$ -Fluoroestradiol PET: Current Status and Potential Future Clinical Applications // *J. Nucl. Med.* 2016. Vol. 57, № 8, P. 1269-1275. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.175596>
126. Katzenellenbogen J. A. The quest for improving the management of breast cancer by functional imaging: the discovery and development of  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]Fluoroestradiol (FES), a PET radiotracer for the estrogenreceptor, ahistorical review // *Nucl. Med. Biol.* 2021. Vol. 92, P. 24-37. <https://doi.org/10.1016/j.nuclmedbio.2020.02.007>
127. Lim J.L., Berridge M.S., Tewson T.J. Preparation of [ $^{18}\text{F}$ ]- $16\alpha$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol by selective nucleophilic substitution // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1994. Vol. 35, P. 176.
128. Wang M., Glick-Wilson B. E., Zheng Q.H. Fully automated radiosynthesis and quality control of estrogen receptor targeting radiopharmaceutical  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]Fluoroestradiol ([ $^{18}\text{F}$ ]FES) for human breast cancer imaging // *Appl. Radiat. Isot.* 2020. Vol. 160, P. 109109. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109109>
129. Sundararajan L. et al.  $^{18}\text{F}$ -Fluoroestradiol // *Semin. Nucl. Med.* 2007. Vol. 37, № 6, P. 470-476. [10.1053/j.semnuclmed.2007.08.003](https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2007.08.003)
130. Mori T. et al. Automatic synthesis of  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro- $17\beta$ -estradiol using a cassette-type [ $^{18}\text{F}$ ]fluorodeoxyglucose synthesizer // *Nucl. Med. Biol.* 2006. Vol. 33, № 2, 281-286. <https://doi.org/10.1016/j.nuclmedbio.2005.11.002>
131. Antunes I.F. et al. Synthesis and evaluation of the estrogen receptor  $\beta$ -selective radioligand 2- $^{18}\text{F}$ -fluoro-6-(6-hydroxynaphthalen-2-yl)pyridin-3-ol: comparison with  $16\alpha$ - $^{18}\text{F}$ -fluoro- $17\beta$ -estradiol // *J. Nucl. Med.* 2017. Vol. 58, № 4, P. 554-559. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.180158>
132. Gupta M. et al. Can  $^{18}\text{F}$ -fluoroestradiol positron emission tomography become a new imaging standard in the estrogen receptor-positive breast cancer patient: a prospective comparative study with  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose positron emission tomography? // *World J. Nucl. Med.* 2017. Vol. 16, № 2, P. 133-139. <https://doi.org/10.4103/1450-1147.203071>

133. Huang Y.Y. et al. Automated production of GMP-compliant  $^{18}\text{F}$ -FES as an estrogen receptor ligand for breast cancer imaging // *Ann. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2017. Vol. 30, P. 143-150. <https://doi.org/10.6332/ANMMI.3004.001>
134. Liang S. et al. Fully automatic synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]FES for reporter gene hERL expression imaging // *Nucl. Med. Commun.* 2012. Vol. 33, № 1, P. 29-33. <https://doi.org/10.1097/MNM.0b013e32834d3b92>
135. Zhou D. et al. Optimization of the preparation of fluorine 18-labeled steroid receptor ligands 16alpha-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol (FES), [ $^{18}\text{F}$ ]fluorofuranyl norprogesterone (FFNP), and 16beta-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-5alpha-dihydrotestosterone (FDHT) as radiopharmaceuticals // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2014. Vol. 57, № 5, P. 371-377. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3191>
136. Investigator's Brochure for [ $^{18}\text{F}$ ]fluoroestradiol. Materials of NIH national cancer Institute, division of cancer treatment and diagnosis, IND Regulatory and Manufacturing-Resources, [https://imaging.cancer.gov/programs\\_resources/cancer-tracer\\_synthesis\\_resources/docs/fes\\_ib\\_pdf.pdf](https://imaging.cancer.gov/programs_resources/cancer-tracer_synthesis_resources/docs/fes_ib_pdf.pdf)
137. Buck A.K. et al. Molecular imaging of proliferation in vivo: Positron emission tomography with [ $^{18}\text{F}$ ]fluorothymidine // *Methods* 2009. Vol. 48, № 2, P. 205-251. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2009.03.009>
138. Bertagna F., Biasiotto G., Guibbini R. The role of F-18-fluorothymidine PET in oncology // *Clin. Trans. Imaging* 2013. Vol. 1, P. 77-97. <https://doi.org/10.1007/s40336-013-0014-2>
139. Wilson I.K., Chatterjee S., Wolf W. Synthesis of 3'-fluoro-3'-deoxythymidine and studies of its  $^{18}\text{F}$ -radiolabelling, as a tracer for the noninvasive monitoring of the biodistribution of drugs against AIDS // *J. Fluorine Chem.* 1991. Vol. 55, № 3, P.283-289. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(00\)82356-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(00)82356-8)
140. Saidijam M. et al. Nucleoside transporters in PET imaging of proliferating cancer cells using 3'-deoxy-3'-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-L-thymidine // *J. Diagnostic Imaging in Therapy.* 2018. Vol. 5, № 1, P. 1-13. <http://dx.doi.org/10.17229/jdit.2018-0210-030>

141. Yun M. et al. High radiochemical yield synthesis of 3'-deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]fluorothymidine using (5'-O-dimethoxytrityl-2'-deoxy-3'-O-nosyl-β-D-threo-pentofuranosyl)thymine and its 3-N-BOC-protected analogue as a labeling precursor // Nucl. Med. Biol. 2003. Vol. 30, № 2, P. 151-157. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(02\)00409-2](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(02)00409-2)
142. Martin S.J. et al. A new precursor for the radiosynthesis of [<sup>18</sup>F]FLT // Nucl. Med. Biol. 2002. Vol. 29, № 2, P. 263-273. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(01\)00289-X](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(01)00289-X)
143. Cheung Y.Y. et al. High-yielding, automated production of 3'-deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]fluorothymidine using a modified Bioscan Coincidence FDG reaction module // App. Rad. Isot. 2015. Vol. 97, P. 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2014.11.011>
144. Nascimento L.T.C. et al. Comparison between Two Ethanolic Solutions for 3'-Deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]Fluorothymidine Elution // Advan. Chem. Engin. Science 2017. Vol. 7, P. 23-33. <https://doi.org/10.4236/aces.2017.71003>
145. Mitra A. et al. Automated radiochemical synthesis of pharmaceutical grade [<sup>18</sup>F]FLT using 3-N-Boc-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-nosyl-thymidine precursor and its Sep-Pak® purification employing selective elution from reversed phase // J. Label. Comp. Radiopharm. 2022. Vol. 65, № 8, P. 206-222. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3974>
146. Alovudine (<sup>18</sup>F) Injection. European Pharmacopoeia 9.0. Available online: [https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/EP8.0\\_2\\_00538.pdf](https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/EP8.0_2_00538.pdf) (accessed on 21 October 2022).
147. Marchand P. et al. Automated and efficient radiosynthesis of [<sup>18</sup>F]FLT using a low amount of precursor // Nucl. Med. Biol. 2016. Vol. 43, № 8, P. 520-527. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2016.05.009>
148. Kim D.W. et al. A New Class of S<sub>N</sub>2 Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of Diagnostic Molecules // Am. Chem. Soc. 2006. Vol. 128, № 50, P. 16394-16397. <https://doi.org/10.1021/ja0646895>

149. Lee S.J. et al. Simple and highly efficient synthesis of 3'-deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]fluorothymidine using nucleophilic fluorination catalyzed by protic solvent // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2007. Vol. 34, P. 1406–1409. <https://doi.org/10.1007/s00259-007-0391-8>
150. Nascimento et al. Synthesis and quality control of [<sup>18</sup>F]fluorothymidine. In Proceedings of the International Nuclear Atlantic Conference-INAC 2013, Recife, PE, Brazil, 24-29 November 2013; ISBN: 978-85-19914-05-2.

## Приложение А

Таблица А.1 - Управление этапами получения  $[^{18}\text{F}]1\text{a-4a}$ ,  $[^{18}\text{F}]6\text{a}$  и  $[^{18}\text{F}]7\text{a}$  на Модуле ИМЧ РАН (Метод А)

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °С	Скорость потока, мл/мин	Время, с
<b>Получение активированного комплекса <math>\text{Bu}_4\text{N}[^{18}\text{F}]\text{F}</math></b>				
Доставка $[^{18}\text{F}]/[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ из мишени через приемный сосуд на QMA-картридж в токе He	-	-	Скорость потока определяется давлением в мишени	180
Ручная загрузка MeOH в приемный сосуд	-	-	-	30
Промывка QMA-картриджа MeOH в токе He	-	-	Скорость потока определяется давлением в мишени	180
Элюирование $[^{18}\text{F}]^-$ раствором $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ из сосуда А в реакционный сосуд	V3-V1-V2-V13	-	20	60
Испарение MeOH	V6-V13; нагрев реактора	85	60	180
Охлаждение реакционного сосуда	V14; охлаждение	60	0	120
<b>Радиофторирование предшественников 1-4, 6, 7</b>				
Добавление предшественника из сосуда В в реакционный сосуд	V4-V9-V13	60	60	30
Радиофторирование	нагрев реактора	80-110	0	300
Охлаждение реакционного сосуда	V14; охлаждение	50	0	180

Таблица А.2 - Управление этапами получения активированного комплекса  $\text{Bu}_4\text{N}[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}$  на модуле TRACERlab FX N Pro

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °C	Время, с
<b>Получение активированного комплекса <math>\text{Bu}_4\text{N}[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}</math></b>			
Доставка $[\text{}^{18}\text{F}]/[\text{}^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ из мишени в приемный сосуд	-	-	180
Доставка $[\text{}^{18}\text{F}]/[\text{}^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ из приемного сосуда на QMAcarb под действием вакуумного насоса	V23	-	60
Элюирование $[\text{}^{18}\text{F}]$ раствором $\text{Bu}_4\text{NOTs}$ из сосуда №1 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V10-V11-V13-V24-V25	-	30
Испарение EtOH под действием вакуума	V24-V25; stirrers on	65	300
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air1	50	30

Таблица А.3 - Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$ ; управление этапами получения РФЛП  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}$  на модуле TRACERlab FX N Pro

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °C	Время, с
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\text{5a}</math> (радиофторирование предшественника 5)</b>			
Добавление 5 из сосуда №2 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V2-V24	50	30
Радиофторирование 5	stirrers on	100	300
	V20-V24; stirrers on		120
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air 1	40	60
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\text{ФЭТ}</math></b>			
Добавление смесь 0,5 N HCl (0,5 мл) и EtOH (0,2 мл) из сосуда №3 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V3-V24; stirrers on	40	30
Гидролиз $[^{18}\text{F}]\text{5a}$	stirrers on	125	300
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air 1	40	90
Добавление 10 мл H <sub>2</sub> O и 0,1 N NaOH (3,4 мл) №4 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V4-V24; stirrers on	40	60
Нейтрализация реакционной массы	V20-V24; stirrers on	40	60
Передавливание реакционной массы через колонку и картриджи в сосуд для отходов	Needle down; V19-V5-V14-VX4	-	180
Промывка картриджей водой из сосуда №6 фильтр в сосуд для отходов	V19-V7-VX4	-	180
Элюирование продукта с картриджей раствором ацетата натрия, содержащего 3% этанола из сосуда №7 в стерильный флакон	V19-V8	-	180

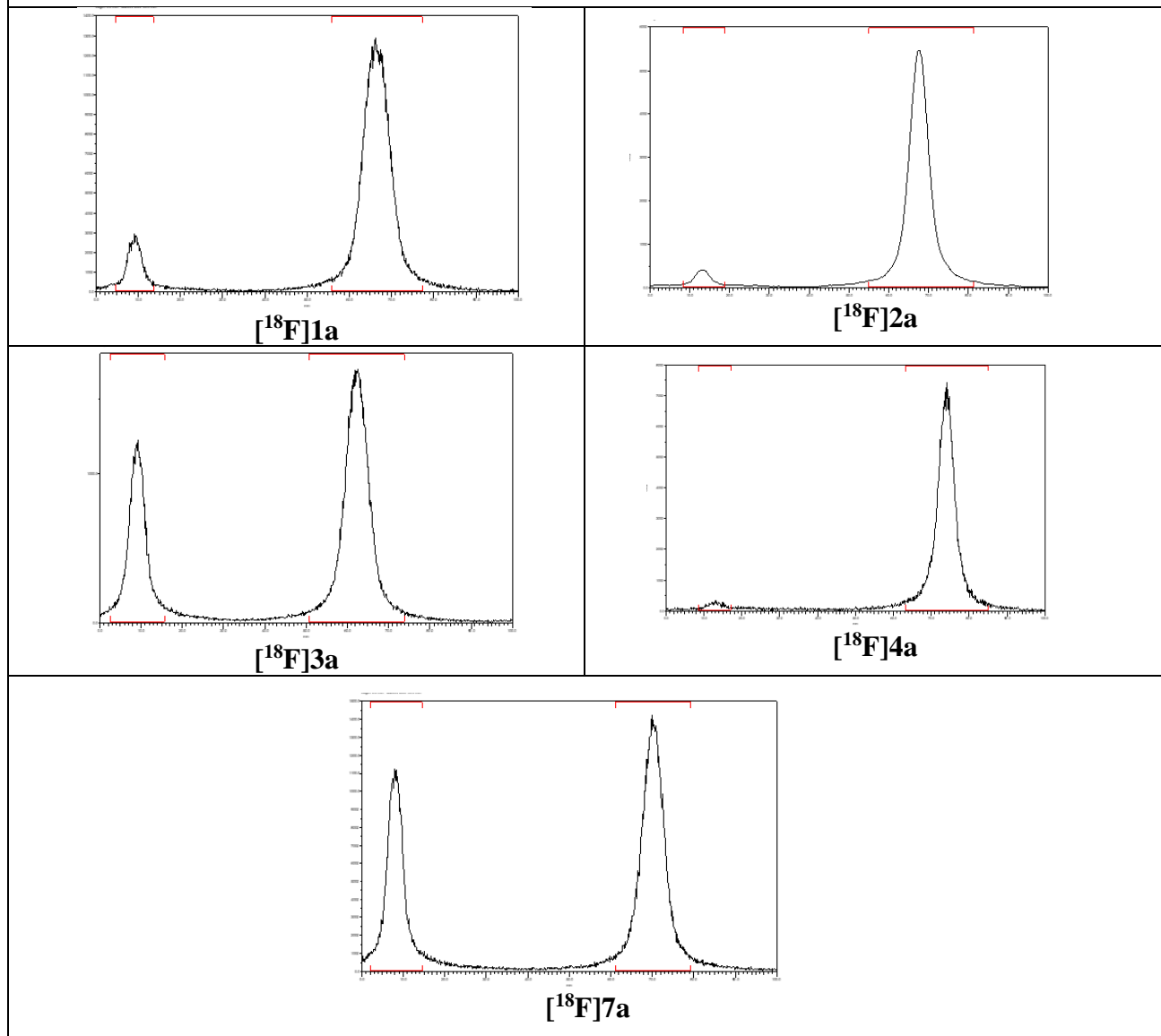
Таблица А.4 - Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$ ; управление этапами получения РФЛП  $[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}$  на модуле TRACERlab FX N Pro

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °C	Время, с
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\text{6a}</math> (радиофторирование предшественника <b>6</b>)</b>			
Добавление <b>6</b> из сосуда №3 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V3-V24	50	30
Радиофторирование <b>6</b>	stirrers on	100	300
	V20-V24; stirrers on		180
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air1	40	80
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\text{ФЭС}</math></b>			
Добавление 1N HCl/MeCN (0,15/0,35 мл) из сосуда №4 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V4-V24; stirrers on	40	60
Гидролиз $[^{18}\text{F}]\text{6a}$	stirrers on	100	300
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air 1	50	70
Добавление 10 мл H <sub>2</sub> O из сосуда №5 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V5-V24; stirrers on	50	90
Передавливание реакционной массы через картридж в сосуд для отходов	Needle down; V19-V5-V14-VX4	-	120
Промывка картриджа раствором 40%-ного водного EtOH из сосуда №6 в сосуд для отходов	V19-V7-VX4	-	120
Элюирование продукта с картриджей раствором 95 %-ного EtOH из сосуда №7 в стерильный флакон	V19-V8-V17-21	-	120

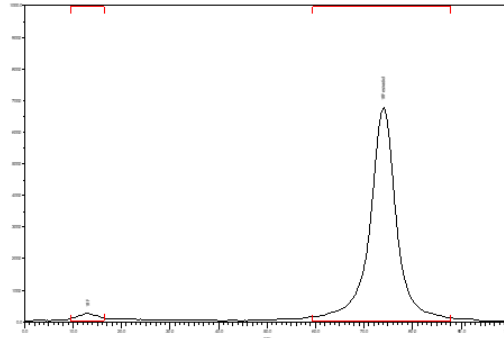
Таблица А.5 - Схема модуля TRACERlab FX N Pro, модифицированная для синтеза  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$ ; управление этапами получения РФЛП  $[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}$  на модуле TRACERlab FX N Pro

Этап синтеза/процесс	Активация элементов модуля	Температура, °C	Время, с
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\mathbf{7a}</math> (радиофторирование предшественника <b>7</b>)</b>			
Добавление <b>7</b> из сосуда №3 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V3-V24	50	30
Радиофторирование <b>7</b>	stirrers on	110	180
	V20-V24; stirrers on		180
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air1	40	80
<b>Получение <math>[^{18}\text{F}]\text{ФЛТ}</math></b>			
Добавление 1N HCl (1 мл) из сосуда №4 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V4-V24; stirrers on	40	60
Гидролиз $[^{18}\text{F}]\mathbf{7a}$	stirrers on	100	600
Охлаждение реакционного сосуда	V cooling air 1	40	70
Добавление смеси H <sub>2</sub> O (10мл) и 0,3N NaOH (2,6 мл) из сосуда №5 в реакционный сосуд №1 (reactor 1)	V19-V5-V24; stirrers on	50	180
Передавливание реакционной массы через картридж Oasis HLB 6cc в сосуд для отходов	Needle down; V19-V5-V14-VX4	-	480
Промывка картриджа H <sub>2</sub> O (5 мл) из сосуда № 6 в сосуд для отходов	V19-V7-VX4	-	480
Элюирование продукта с картриджа Oasis HLB 6cc через картридж Alumina N водным раствором 10% EtOH (8мл) из сосуда №7 в стерильный флакон	V19-V8-V17-21	-	480

## Приложение Б

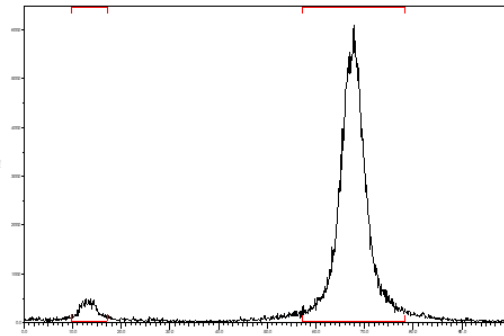
Радио-ТСХ хроматограммы [ $^{18}\text{F}$ ]1a-7a*Метод 1: элюент – ацетонитрил/вода (9:1)*

*Метод 2:* элюент – этилацетат/хлороформ/уксусная (4/1/1)



**[<sup>18</sup>F]5a**

*Метод 3:* элюент – хлористый метилен/метанол (4/1)



**[<sup>18</sup>F]6a**