

ISSN 2311-4495

ISSN 2410-5155 (Online)

УДК 615.03

<https://doi.org/10.18705/2311-4495-2026-13-2-188-200>

Радиосинтез нового аналога руксолитиниба, меченного углеродом-11, и предварительная оценка его биораспределения при разных путях введения

Д. Д. Ваулина^{1, 2, 3}, А. А. Карпов^{1, 3, 4}, И. А. Воронин², А. В. Воротилов¹, Е. Е. Сидорова⁵,
Л. А. Шиленко¹, В. В. Орловская², Д. Ю. Ивкин⁴, В. В. Карпенко¹, М. Е. Саламаха¹,
А. Е. Минкович¹, О. С. Федорова²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт мозга человека имени Н. П. Бехтеревой» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Ваулина Дария Дмитриевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России,
ул. Аккурагова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341.
E-mail: uplavice@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Введение. Руксолитиниб является селективным ингибитором Янус-киназ 1 и 2, подавляющим JAK/STAT-зависимую сигнализацию, вовлеченную в воспаление, иммунный ответ и клеточную пролиферацию. Помимо системного применения, интерес представляет ингаляционный путь введения препарата, который потенциально позволяет повысить его локальную экспозицию в легких и снизить системное воздействие. Целью исследования стала разработка технологии радиоизотопного мечения руксолитиниба углеродом-11 для последующего изучения его биораспределения при различных путях введения. **Материалы и методы.** N-[¹¹C]-метилруксолитиниб получали одностадийной реакцией метилирования руксолитиниба на полностью автоматизированном самодельном модуле. Очистку продукта осуществляли методом твердофазной экстракции, радиохимическую чистоту и подлинность подтверждали методом радио-ВЭЖХ. Биораспределение изучали *ex vivo* на здоровых крысах-самцах Wistar при внутривенном и ингаляционном введении радиолиганда. Накопление радиоактивности в органах оценивали через 5, 10, 40, 60 и 80 мин. после введения. **Результаты.** N-[¹¹C]-метилруксолитиниб получен с радиохимическим выходом 40 % (при пересчете на [¹¹C]CH₃I), радиохимической чистотой ≥97 % и мольной активностью 6–10 ГБк/мкмоль. В пилотном исследовании установлено, что при ингаляционном введении через 5 мин. после введения наблюдалась тенденция к более высокому накоплению радиоактивного

лиганда в легких по сравнению с внутривенным введением. Одновременно при внутривенном пути введения в этой же точке отмечалась тенденция к более высокому накоплению в печени. Однако уже к 10-й минуте существенные различия в биораспределении между двумя путями введения нивелировались. **Заключение.** В настоящей работе впервые описан радиосинтез N-[¹¹C]-метилированного аналога руксолитиниба, а также проведена сравнительная оценка его биораспределения при системном и ингаляционном путях введения.

Ключевые слова: биораспределение, ПЭТ, радиолиганд, руксолитиниб, углерод-11, [¹¹C]-метилирование, Янус-киназа

Для цитирования: Ваулина Д. Д., Карпов А. А., Воронин И. А. и др. Радиосинтез нового аналога руксолитиниба, меченного углеродом-11, и предварительная оценка его биораспределения при разных путях введения. *Трансляционная медицина*. 2026;13(2):188–200. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2026-13-2-188-200>; <https://elibrary.ru/qkqeur>

Radiosynthesis of a novel carbon-11-labeled ruxolitinib analogue and preliminary evaluation of its biodistribution via different routes of administration

Daria D. Vaulina^{1,2,3}, Andrei A. Karpov^{1,3,4}, Ilya A. Voronin², Aleksandr V. Vorotilov¹, Elizaveta E. Sidorova⁵, Leonid A. Shilenko¹, Viktoria V. Orlovskaya², Dmitry Yu. Ivkin⁴, Vladislava V. Karpenko¹, Marina E. Salamakha¹, Aleksandr E. Minkovich¹, Olga S. Fedorova²

¹ Federal State Budgetary Institution “V. A. Almazov National Medical Research Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

² N. P. Bechtereva Institute of the Human Brain, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

³ Russian Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after R. R. Vreden, St. Petersburg, Russia

⁴ State Federal-Funded Educational Institution of Higher Education “St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

⁵ Saint Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Corresponding author:

Daria D. Vaulina,

V. A. Almazov NMRC,

2 Akkuratova str., St. Petersburg, Russia, 197341.

E-mail: uplavice@gmail.com

ABSTRACT

Introduction. Ruxolitinib is a selective inhibitor of Janus kinases 1 and 2, suppressing JAK/STAT-dependent signaling involved in inflammation, immune response, and cell proliferation. In addition to systemic use, inhalation administration is of interest, potentially increasing local lung exposure and reducing systemic exposure. This study aimed to develop a method for radioisotope labeling of ruxolitinib with carbon-11 to investigate its biodistribution via different administration routes. **Materials and Methods.** N-[¹¹C]-methylruxolitinib was obtained by a one-step methylation reaction of ruxolitinib using a fully automated, home-made module. The product was purified by solid-phase extraction, and radiochemical purity and identity were confirmed by radio-HPLC. Biodistribution was studied ex vivo in healthy male Wistar rats after intravenous and inhalation administration of the radioligand. Radioactivity accumulation in organs was assessed at 5, 10, 40, 60, and 80 minutes after administration. **Results.** N-[¹¹C]-methylruxolitinib was obtained with a radiochemical yield of

40 % (when calculated as $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$), a radiochemical purity of ≥ 97 %, and a molar activity of 6–10 GBq/ μmol . A pilot study found that with inhalation administration, a tendency toward higher radioligand accumulation in the lungs was observed 5 minutes after administration compared to intravenous administration. In contrast, with intravenous administration, a tendency toward higher accumulation in the liver was observed at the same time point. However, by the 10th minute, significant differences in biodistribution between the two routes of administration had disappeared. **Conclusions.** In this study, the radiosynthesis of the N- $[^{11}\text{C}]$ -methylated analogue of ruxolitinib is described for the first time, and a comparative assessment of its biodistribution by systemic and inhalation routes of administration is conducted.

Keywords: biodistribution, carbon-11, Janus kinase, PET, radioligand, ruxolitinib, $[^{11}\text{C}]$ -methylation

For citation: Vaulina DD, Karpov AA, Voronin IA, et al. Radiosynthesis of a novel carbon-11-labeled ruxolitinib analogue and preliminary evaluation of its biodistribution via different routes of administration. *Translational Medicine*. 2026;13(2):188–200. (In Russ.) <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2026-13-2-188-200>; <https://elibrary.ru/qkqeu9>

Список сокращений: JAK – Янус-киназа, ВД – введенная доза, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией, ХТЭЛГ – хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия.

ВВЕДЕНИЕ

Руксолитиниб – низкомолекулярный селективный ингибитор Янус-киназы (JAK) 1, 2. Он подавляет передачу сигналов через JAK/STAT путь, который играет ключевую роль в регуляции воспаления, иммунного ответа, пролиферации и выживания клеток [1]. Фармакологическое действие руксолитиниба связано со снижением активности цитокин-зависимых сигнальных каскадов, вовлеченных как в миелолиферативные заболевания, так и в ряд иммуновоспалительных состояний [2]. В клинической практике руксолитиниб прежде всего используется для лечения миелофиброза [3], истинной полицитемии [4], а также стероид-рефрактерной реакции «трансплантат против хозяина» [5]; кроме того, эффективность руксолитиниба в виде мази доказана при atopическом дерматите [6]. За последние годы руксолитиниб стал одним из ключевых препаратов для таргетного подавления JAK1,2-зависимой сигнализации, а накопленный опыт его применения подтверждает значимость этого класса молекул не только в гематологии, но и в иммуновоспалительной патологии.

Вместе с тем для ряда заболеваний легких представляют интерес альтернативные пути введения JAK-ингибиторов, прежде всего ингаляционный [7]. Предполагается, что такая стратегия может позволить повысить локальную экспозицию препарата

в дыхательных путях, паренхиме легких, сосудистой стенке сосудов малого круга кровообращения при одновременном снижении системного воздействия и, соответственно, риска дозозависимых нежелательных эффектов. Интерес к ингаляционным JAK-ингибиторам уже подтвержден в исследованиях по бронхиальной астме, где показано, что ограниченное действие препарата легочной тканью может улучшить терапевтический индекс [8, 9]. Актуальность такого пути введения дополнительно возрастает в контексте хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (ХТЭЛГ), где JAK/STAT-зависимые механизмы участвуют в воспалении и фибротическом ремоделировании сосудистого русла малого круга кровообращения. В экспериментальной модели ХТЭЛГ у крыс показано, что руксолитиниб дозозависимо уменьшает ремоделирование сосудистой стенки и тормозит прогрессирование заболевания, что делает его перспективным кандидатом для органоспецифической доставки в легкие [10].

Для определения руксолитиниба в биологических матриксах предложены различные аналитические подходы: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с УФ-детектированием, хиральная ВЭЖХ, а также высокочувствительные методы жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Для лекарственных форм показана пригодность валидированных методик обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием, тогда как для плазмы крови и задач терапевтического лекарственного мониторинга более предпочтительны ВЭЖХ-МС/МС-подходы благодаря их высокой чувствительности и селективности [11, 12].

Однако при изучении биораспределения препарата масс-спектрометрические методы имеют существенные ограничения. Для количественной оценки содержания вещества в тканях, как правило, требуется извлечение анализируемого соединения из каждого органа с последующей гомогенизацией, подбором условий пробоподготовки и отдельной валидацией метода с учетом матричных эффектов. Поскольку состав тканей существенно различается, перенос одной ВЭЖХ-МС/МС-методики между плазмой, легкими, печенью, почками, миокардом и другими органами не всегда возможен без дополнительной адаптации и повторной валидации, что затрудняет масштабные исследования биораспределения [13]. На этом фоне радиоизотопное мечение представляет собой удобный инструмент для качественной оценки распределения руксолитиниба *in vivo*. Доклинические исследования биораспределения радиолигандов применяют на ранних стадиях разработки перспективных фармпрепаратов для изучения их фармакокинетики на здоровых животных, а также на моделях различных заболеваний. В сочетании с количественным анализом эксперименты по биораспределению позволяют получить данные о накоплении, выведении, специфичности связывания и метаболизме радиоактивного производного руксолитиниба в целевых и нецелевых органах и тканях [14]. Кроме того, подобные исследования обеспечивают необходимые вводные данные для доклинической дозиметрии [15]. При этом существуют лишь единичные упоминания о радиоизотопном мечении руксолитиниба [16]. В связи с этим разработка технологии радиоизотопного мечения руксолитиниба для последующего изучения его биораспределения при различных путях введения представляется актуальной задачей. Такой подход способен не только упростить сравнительную оценку системной и ингаляционной доставки препарата, но и создать основу для дальнейших исследований его легочной тропности и потенциала в качестве радиолиганда для молекулярной визуализации JAK/STAT-ассоциированных процессов. Таким образом, целью данной работы стало создание технологии радиоизотопного мечения руксолитиниба для последующего изучения его биораспределения при разных путях введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовались коммерчески доступные растворители и реагенты – фосфат руксолитиниба ((R)-3-(4-(7H-Пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пирозол-1-ил)-3-циклопентилпропаненитрил фосфат, >99 %) (BLD Pharmatech Ltd., Китай), этанол (99 %, Fluka, Швейцария), тетрагидрофуран (99 %,

без стабилизатора, Sigma-Aldrich, США), литий-алюмогидрид (95 %, Sigma-Aldrich, США), иодистоводородная кислота (57 %, Sigma-Aldrich, США), гидрид натрия (90 %, Sigma-Aldrich, США), йодометан (99 %, Sigma-Aldrich, США), ацетон (ЧДА, «ЭКОС», Россия), N,N-диметилформамид (99 %, Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил (сорт 0, «Криохим», Россия) – без дополнительной очистки. Обращеннофазный картридж C18 (Waters, США) активировали последовательной промывкой 5 мл этанола и 10 мл H₂O; для получения финального раствора РФП использовали стерилизующие фильтры 0.22 μm (Millipore, США); сорбенты – аскарит (20–30 mesh, Sigma-Aldrich, США) и сикапент (Supelco, США) – помещали в одноразовые пластиковые колонки объемом 3 мл (Supelco, США).

Оборудование. Циклотрон GE PETtrace 4 (GE HealthCare, США); горячие камеры производства von Gahlen, Голландия; изотопный калибратор Curiementor-2 (PTW, Freiburg, Германия). Для контроля радиохимической чистоты использовался жидкостный хроматограф Dionex ISC-5000 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA), снабженный краном-дозатором Rheodyne 7125, УФ-детектором (254 нм) и последовательно соединенным с ним детектором по радиоактивности Carrol and Ramsey Associates, CA, USA, model 105-S, с разницей во времени регистрации пиков детекторами в 0,1 мин. на программном обеспечении Chromeleon. Масс-спектрометрия проводилась на Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) с гибридным масс-спектрометром Q-Exactive с орбитальной ловушкой и ионизацией методом электроспрей (ESI) на программном обеспечении Xcalibur.

Синтез ВЭЖХ стандарта N-метилруксолитиниба

К 100 мг (0,25 ммоль) руксолитиниб фосфата, растворенного в 1 мл N,N-диметилформамида, охлажденного до 0 °С (на льду), при перемешивании добавляли 10 мг гидроксида натрия (0,4 ммоль) и оставляли на 30 мин. Затем по каплям добавляли 0,1 мл йодометана (2 ммоль). Реакционную смесь нагревали с закрытой крышкой при 75 °С в течение 1 ч. Анализ реакционной смеси проводили методом ВЭЖХ, продукт выделяли полупрепаративной ВЭЖХ очисткой. Масс-спектр, m/z: вычислено для C₁₈H₂₀N₆: 320,3916, найдено: 321,1822 [M+H]⁺.

Синтез N-[¹¹C]-метилруксолитиниба

Автоматизированный синтез проводили на модуле для ¹¹C-метилирования, разработанном в ИМЧ РАН. Углерод-11 (T_{1/2}=20,4 мин.) в химической форме [¹¹C]CO₂ получали по ядерной реакции ¹⁴N(p,α)¹¹C при облучении смеси азота и кислорода (99/1, об.)

протонами 16,4 МэВ в газовой мишени (ток пучка 25 мкА, время облучения 10 мин.). $^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ кристаллизовали при $-196\text{ }^\circ\text{C}$ в погруженной в жидкий азот спиралевидной трубке-ловушке, после чего при нагревании до комнатной температуры переносили током азота (20 мл/мин) в реактор с раствором LiAlH_4 (0,1 М) в THF (0,15 мл). После удаления растворителя при $140\text{ }^\circ\text{C}$ в реактор добавляли 57 % водный раствор HI (0,7 мл), и образующийся $^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ в течение 4 мин. транспортировали током азота (10 мл/мин) в раствор, содержащий 1 мг (2,5 мкмоль) руксолитиниб фосфата в ацетоне (0,8 мл). Затем сосуд нагревали при $70\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли водой в 5 раз и наносили на обращенно-фазный картридж C18, промывали 50 % этанолом (1 мл) и элюировали радиолиганд 1 мл 95 % этанола. Раствор элюата разбавляли 0,9 % NaCl до 10 мл и барботировали через стерильный фильтр током азота для удаления следов непрореагировавшего $^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$. Активность продукта измеряли на изотопном калибраторе Curiecentor-2 (PTW Freiburg, Германия).

Радиохимическая чистота N- ^{11}C]-метилруксолитиниба

Для контроля радиохимической чистоты использовали жидкостный хроматограф Dionex ISC-5000. Условия хроматографирования: разделение производили на колонке X-Bridge C18 (150*4,6 мм) при температуре $25\text{ }^\circ\text{C}$. Подвижная фаза: деионизированная вода (фаза А), ацетонитрил (фаза Б). Элюирование осуществляли в градиентном режиме со скоростью потока 2,0 мл/мин. Объем вводимой пробы составлял 0,025 мл. Времена удерживания (R_t) для стандарта N-метилруксолитиниба – $5,2 \pm 0,1$ мин. (УФ-детектор, $\lambda=254$ нм), для N- ^{11}C]-метилруксолитиниба – $5,7 \pm 0,1$ мин. (γ -детектор). РХЧ > 97 %, $A_m=6-10$ ГБк/мкмоль.

Биораспределение

Для пилотной оценки биораспределения полностью исследование *ex vivo* на здоровых крысах-самцах стока Wistar ($n=20$) конвенциональной категории, массой 180–260 г. Все животные содержались в стандартизированных условиях вивария барьерного типа, имели неограниченный доступ к полнорационному гранулированному корму и воде. Все эксперименты были проведены в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального института здоровья, 8-е изд., 2011 г.). Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПбХФУ МЗ РФ (протокол БЭК Rux-PK-Rats-01 от 03.03.2025).

Животные были наркотизированы путем внутримышечного введения комбинированного наркотика Золетила (Virbac, Франция) и Ксилазина 2 % (Interchemie Werken «de Adelaar» BV, Нидерланды). Все животные были случайным образом разделены на 2 группы:

- внутривенный способ введения ($n=10$) – в хвостовую вену вводили раствор радиолиганда объемом не более 0,5 мл, содержащий 6–8 МБк N- ^{11}C]-метилруксолитиниба;
- ингаляционный способ введения ($n=10$) – с помощью компрессорного небулайзера CompAir NE-C20 Basic (OMRON Healthcare Co., Ltd, Япония), через маску вводился радиолиганд в объеме 0,5 мл на одно животное. Для компенсации потерь при небулизации вводимую дозу увеличивали вдвое (до 12–18 МБк).

Животных выводили из эксперимента последовательно через 5, 10, 40, 60 и 80 мин. после инъекции, по 2 животных из группы на каждую точку.

Эвтаназию выполняли с помощью передозировки наркотика. После эвтаназии у всех животных извлекали органы, предварительно промывая их от крови, после чего проводили взвешивание. Накопление радиоактивности в органах оценивали и рассчитывали как отношение введенной дозы на грамм ткани (ВД/г). Для оценки распределения N- ^{11}C]-метилруксолитиниба при внутривенном и ингаляционном пути введения рассчитывалось отношение введенной дозы (ВД) на грамм ткани органа к крови. Учитывая малый размер выборки в каждой из исследованных точек, результаты представлены в формате: среднее арифметическое (абсолютные значения показателя для каждого из животных).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение ВЭЖХ стандарта N-метилруксолитиниба

N-метилруксолитиниб был получен метилированием руксолитиниба йодметаном в условиях, ранее описанных для деазапуринов: субстрат депротонировали сильным основанием при низкой температуре с последующим капельным добавлением алкилирующего агента (рис. 1) [17].

Продукт выделен методом полупрепаративной ВЭЖХ, выход рассчитан по руксолитинибу и составил 50 %. Структура продукта подтверждена ВЭЖХ-МС/МС (приложение 1).

Радиосинтез N- ^{11}C]-метилруксолитиниба

N- ^{11}C]-метилруксолитиниб получен реакцией метилирования руксолитиниба на автоматизированном модуле, сконструированном в ИМЧ РАН.

Ход реакции оценивали методом ВЭЖХ с радиометрическим детектированием (рис. 2). Выделение и очистка продукта проводились методом твердофазной экстракции на обращенно-фазовом сорбенте. Время синтеза составило 20 мин., что является оптимальным показателем для работы с изотопом углерод-11 ($T_{1/2}=20,4$ мин.).

Продукт получен с радиохимическим выходом 40 % (при пересчете на $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$), радиохимической чистотой 97 % и мольной активностью 6–10 ГБк/мкмоль. Подлинность подтверждена с помощью радиометрического и спектрофотометрического детекторов с использованием N-метилруксолитиниба в качестве стандарта (рис. 3).

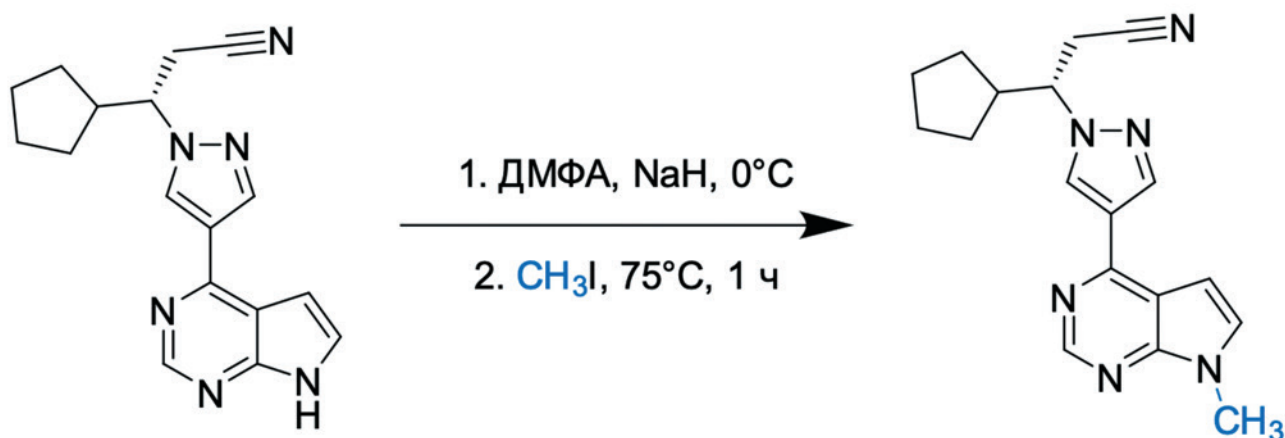


Рис. 1. Схема синтеза N-метилруксолитиниба

Fig. 1. Scheme of N-methylruxolitinib synthesis

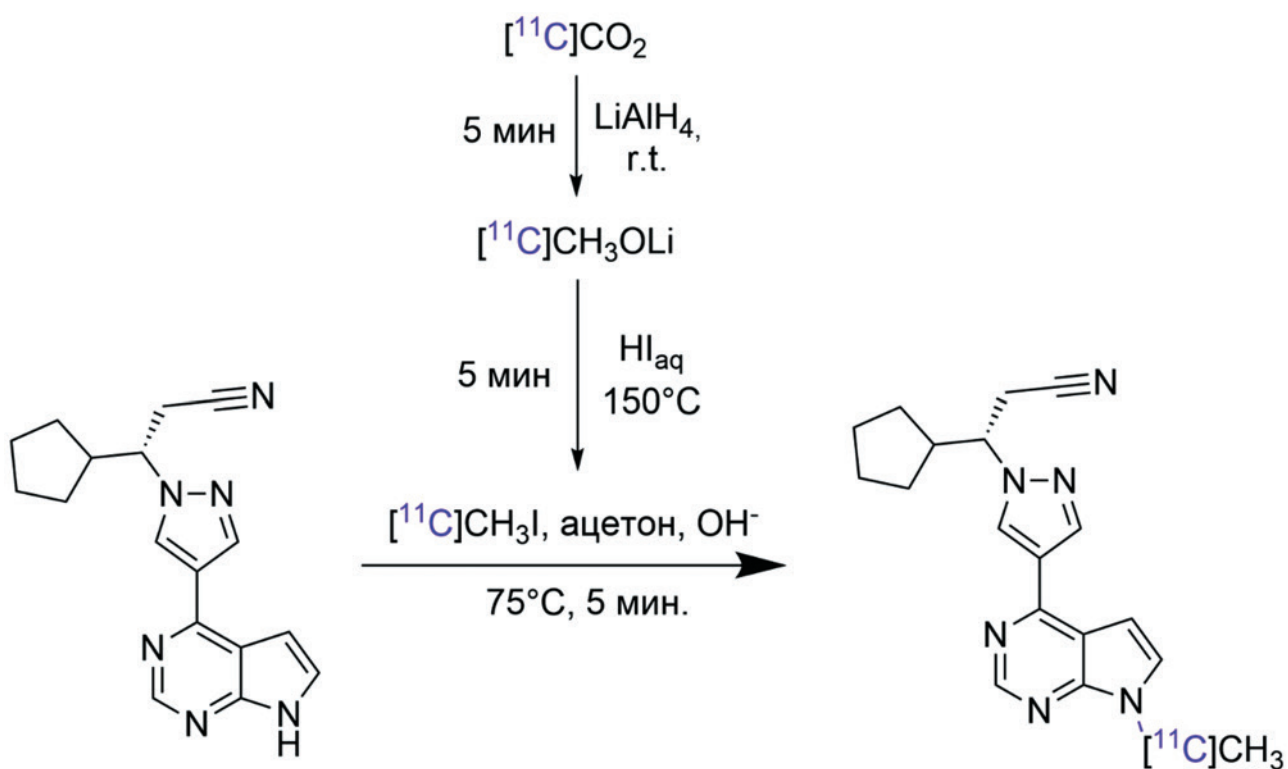


Рис. 2. Схема реакции получения N- $[^{11}\text{C}]$ -метилруксолитиниба

Fig. 2. Scheme for the production of N- $[^{11}\text{C}]$ -methylruxolitinib

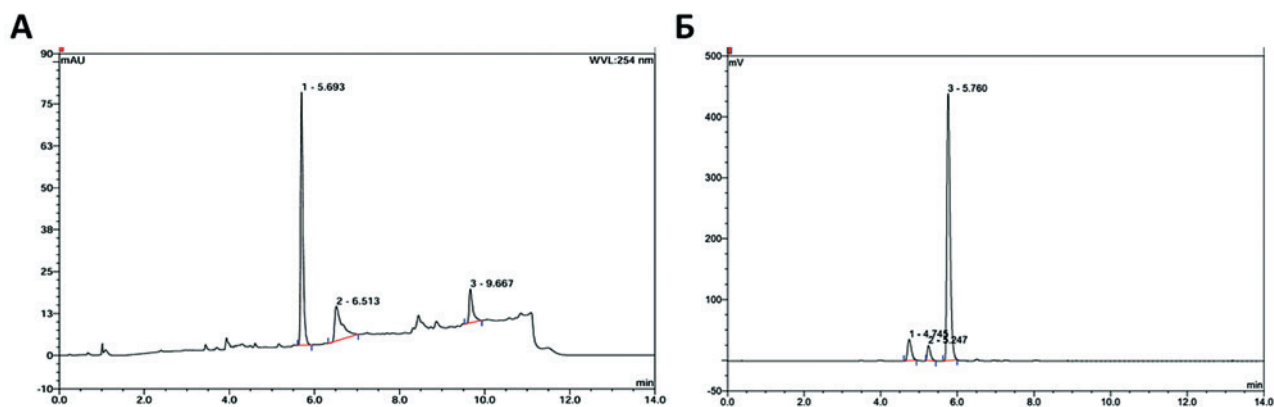


Рис. 3. А – хроматограмма N-метилруксолитиниба (УФ-детектор, 254 нм), Б – хроматограмма N-[¹¹C]-метилруксолитиниба (детектор по радиоактивности). По оси абсцисс – время, мин.

Fig. 3. А – chromatogram of N-methylruxolitinib (UV detector, 254 nm), Б – chromatogram of N-[¹¹C]-methylruxolitinib (radioactivity detector). X-axis – time, min

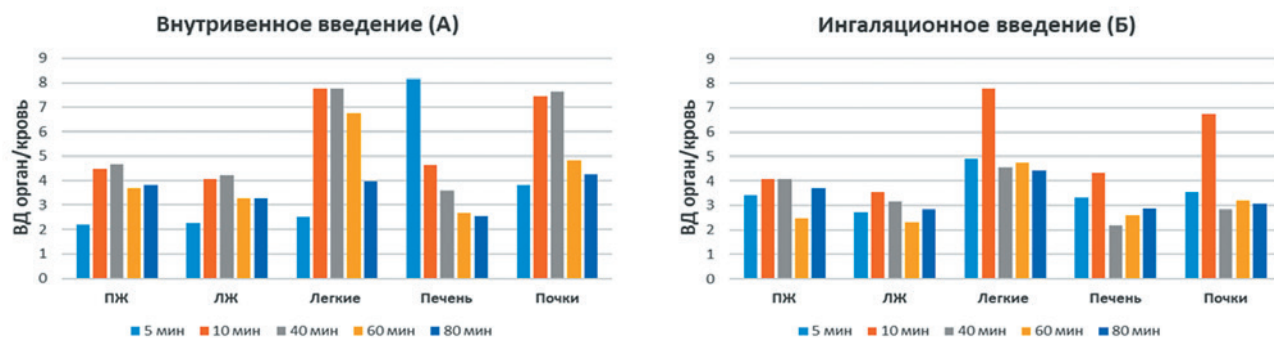


Рис. 4. Отношение накопления N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в органах по отношению к крови: А – при внутривенном способе введения; Б – при ингаляционном способе введения

Примечания: ВД орган/кровь – введенная доза на грамм органа по отношению к введенной дозе на грамм крови, ПЖ – правый желудочек, ЛЖ – левый желудочек, n=2 для каждой из точек наблюдения.

Fig. 4. The ratio of N-[¹¹C]-methylruxolitinib accumulation in organs to blood: А – for intravenous administration; Б – for inhalation administration

Notes: ВД – injected dose per gram of organ to injected dose per gram of blood, ПЖ – right ventricle, ЛЖ – left ventricle, n=2 for each observation point.

Исследование биораспределения ex vivo

По данным анализа распределения радиоактивности в пилотном исследовании на лабораторных животных накопление изучаемого вещества в органах происходило быстро вне зависимости от пути введения (рис. 4). На 5-й минуте после введения наблюдалось более высокое накопление (4,9 и 2,52 соответственно) N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в легких при ингаляционном введении по сравнению с внутривенным (4,9 (4,66; 5,13) и 2,52 (1,76; 3,28) соответственно). Схожая тенденция отмечалась в правом желудочке: ингаляционное введение – 3,43 (3,03; 3,84), внутривенное введение – 2,2 (1,66; 2,75). Напротив, в этой

же временной точке при внутривенном введении отмечалась тенденция к более высокой концентрации изучаемого вещества в печени (внутривенное – 8,14 (7,03, 9,26); ингаляционное – 3,33 (3,16; 3,51)). Отмеченные изменения полностью нивелировались к 10-й минуте наблюдения. Данные по накоплению N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в органах через 40 мин. после введения представлены в таблице. Изменения отношения накопления N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в органах к содержанию в крови при внутривенном и ингаляционном способах введения отражены на рисунке 5. Численные результаты по другим точкам наблюдения приведены в приложении 2.

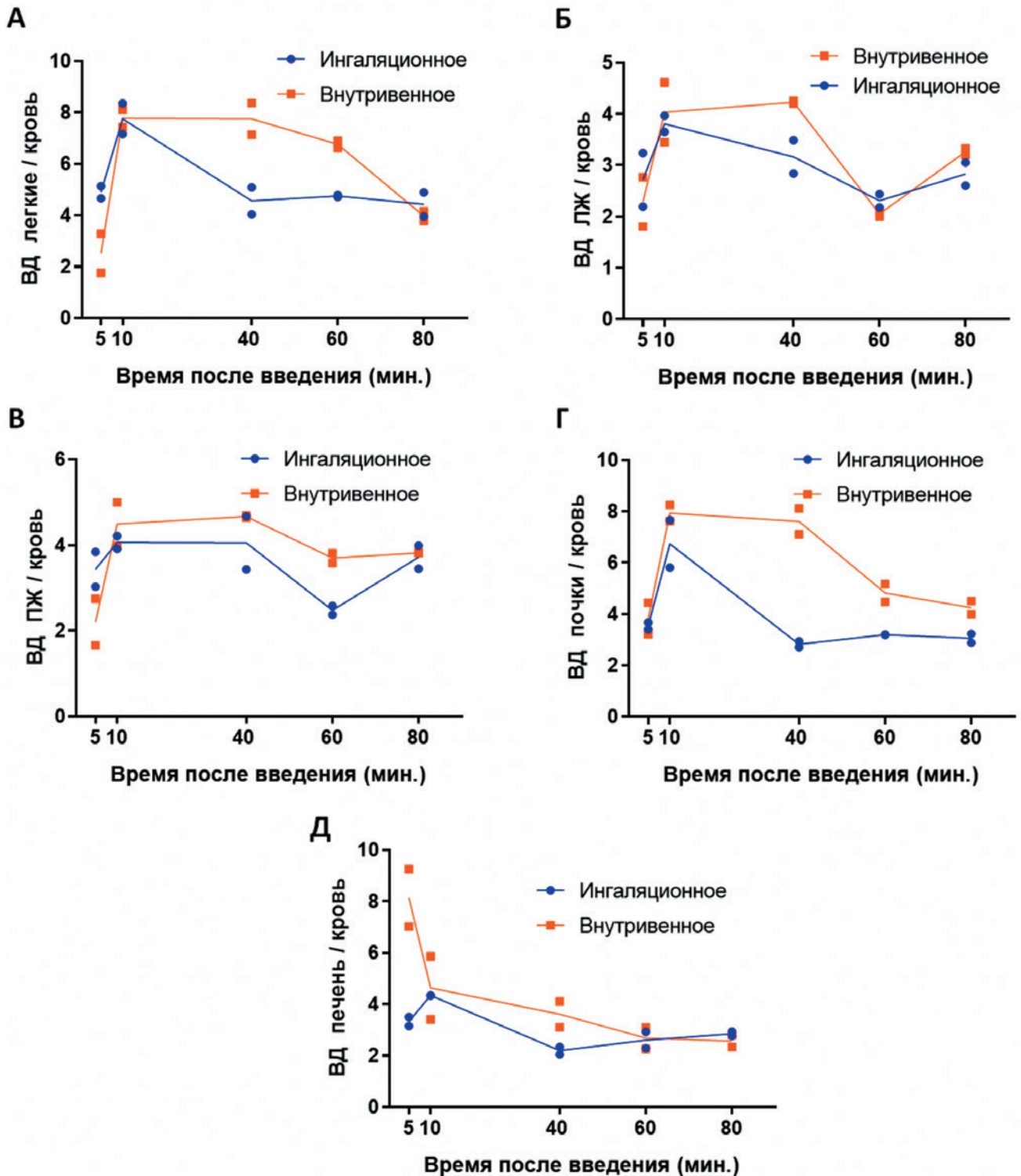


Рис. 5. Изменение отношения накопления N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в органах к содержанию в крови при внутривенном и ингаляционном способах введения

Примечание: ВД орган/кровь – введенная доза на грамм органа по отношению к введенной дозе на грамм крови, ПЖ – правый желудочек, ЛЖ – левый желудочек, n=2 для каждой из точек наблюдения.

Fig. 5. Change in the ratio of N-[¹¹C]-methylruxolitinib accumulation in organs to blood after intravenous and inhalation administration

Notes: ВД – injected dose per gram of organ to injected dose per gram of blood, ПЖ – right ventricle, ЛЖ – left ventricle, n = 2 for each observation point.

Таблица. Сравнение накопления N-[¹¹C]-метилруксолитиниба в органах через 40 мин. после внутривенного и ингаляционного введений

Table. Comparison of N-[¹¹C]-methylruoxolitinib accumulation in organs 40 minutes after intravenous and inhaled administration

Органы	Внутривенное введение	Ингаляционное введение
Правый желудочек	4,66 (4,69; 4,64)	4,05 (3,43; 4,67)
Левый желудочек	4,23 (4,26; 4,20)	3,16 (2,84; 3,49)
Желудочки сердца	4,45 (4,47; 4,42)	3,61 (3,14; 4,08)
Легкие, верхняя доля	7,59 (7,88; 7,31)	4,84 (5,39; 4,29)
Легкие, нижняя доля	7,91 (8,86; 6,96)	4,29 (4,8; 3,78)
Легкие, среднее	7,75 (8,37; 7,14)	4,57 (5,09; 4,04)
Печень	3,61 (4,11; 3,11)	2,19 (2,34; 2,05)
Почки	7,62 (8,12; 7,11)	2,82 (2,70; 2,94)

Примечание: данные записаны в формате «арифметическое среднее» (абсолютные значения у экспериментальных животных) и представлены в виде отношения введенной дозы на грамм ткани органа к накоплению в крови.

Note: the data are presented as the “arithmetic mean” (absolute values in experimental animals) and are expressed as the ratio of the administered dose per gram of organ tissue to the accumulation in blood.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования разработана технология получения N-[¹¹C]-метилруксолитиниба, с помощью которого проведена сравнительная оценка биораспределения препарата при различных путях введения. Актуальность такого подхода определяется не только фармакологическими свойствами руксолитиниба, но и возрастающим интересом к JAK/STAT-сигналингу как терапевтической мишени при заболеваниях легких и легочного сосудистого русла [10, 18].

С химической точки зрения выбранная стратегия синтеза представляется обоснованной, поскольку введение метильной группы в молекулу руксолитиниба вносит минимальные изменения в структуру, а также позволяет использовать классический автоматизированный способ [¹¹C]-метилирования, что особенно важно при работе с короткоживущим изотопом углерод-11 [19]. Получение нерадиоактивного стандарта N-метилруксолитиниба было принципиально важным этапом работы, поскольку именно наличие стандарта позволяет подтвердить химическую идентичность меченого соединения при сопоставлении времен удерживания на ВЭЖХ. В исследованиях радиофармпрепаратов такая верификация считается обязательной составляющей при разработке нового радиолиганда, наряду с оценкой радиохимической чистоты и мольной активности.

Полученные радиохимические характеристики N-[¹¹C]-метилруксолитиниба – радиохимическая чистота более 97 % и мольная активность 6–10 ГБк/мкмоль – в целом подтверждают пригодность продукта для исследований биораспределения *ex vivo*. Для подобных задач ключевое значение имеет именно высокая радиохимическая чистота, поскольку присутствие радиопримесей может искажать профиль накопления в органах и затруднять интерпретацию различий между путями введения [20].

Отдельно следует отметить, что использование изотопа углерод-11 для получения радиолиганда имеет как преимущества, так и ограничения. К преимуществам относится возможность получения молекулы, максимально близкой по размеру и физико-химическим характеристикам к исходному лекарственному соединению, без существенного изменения его липофильности и пространственной структуры; это особенно важно для низкомолекулярных ингибиторов киназ. Ограничением является короткий период полураспада углерода-11, который предъявляет жесткие требования к времени синтеза, очистки и последующего биологического эксперимента [21].

Выполненное пилотное исследование биораспределения N-[¹¹C]-метилруксолитиниба показало различный профиль доставки радиолиганда в зависимости от пути введения. При внутривенном

введении раннее распределение активности в печени соответствует системному пути поступления низкомолекулярного соединения с последующим метаболизмом и элиминацией, что хорошо согласуется с опубликованными данными о фармакокинетике руксолитиниба, для которого характерны выраженный печеночный метаболизм, преимущественно через CYP3A4, и последующее выведение метаболитов почками [22].

Напротив, при ингаляционном способе доставки в первые минуты после введения N-[¹¹C]-метилруксолитиниба легкие становились основным органом накопления радиолиганда, тогда как нагрузка на нецелевые органы была ниже, чем после внутривенной инъекции. Однако в связи с достаточной липофильностью руксолитиниба (logP 2,9) [23] препарат быстро преодолевает аэрогематический барьер и попадает в системный кровоток. В этой связи, уже через 10 мин. после введения, существенных различий в биораспределении при внутривенном и ингаляционном путях введения выявлено не было. Следует отметить, что представленные данные имеют пилотный характер и в последующем потребуются увеличение размера выборки в каждой из точек наблюдения для достижения достаточной мощности исследования.

С методической точки зрения важным достоинством радиоизотопного подхода является возможность унифицированной оценки распределения соединения в различных органах без необходимости разработки отдельной биоаналитической методики для каждой ткани. В отличие от ВЭЖХ-МС/МС, где есть различия в пробоподготовке и необходимость отдельной валидации для плазмы, печени, почек, легких и других органов, что существенно усложняет исследование, радиометрический подход позволяет напрямую оценивать накопление активности в органах и тканях, хотя и не количественно, в отличие от ВЭЖХ-МС/МС. Дополнительным преимуществом является высокая чувствительность метода при низком расходе исследуемого вещества, что особенно важно на ранних этапах исследования распределения и для соединений, вводимых в микродозах. В качестве недостатка данного метода следует отметить невозможность прямого дифференцирования меченого руксолитиниба и продуктов его метаболизма, однако в контексте данного исследования это ограничение допустимо, так как оно не влияет на сравнение профилей распределения препарата при различных путях введения.

Ранее в литературе встречались производные тинибов, меченные ПЭТ-изотопами, но все они были направлены на онкодиагностику и не являются

производными руксолитиниба [24–26]. Единственное упоминание о меченом руксолитинибе относится к его производному с изотопом углерод-14, полученному для изучения его фармакокинетики [16]. Это повышает новизну представленного подхода и подчеркивает его потенциальную ценность как для фармакокинетических задач, так и для дальнейшей молекулярной визуализации процессов, связанных с JAK/STAT-сигналингом.

В то же время интерпретация данных биораспределения требует осторожности, так как исследованный радиолиганд представляет собой N-метилированное производное руксолитиниба, а не сам руксолитиниб, поэтому нельзя полностью исключить влияние метилированного аналога на липофильность, связывание с белками и распределение в тканях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе впервые описан радиосинтез N-[¹¹C]-метилированного аналога руксолитиниба, а также проведена сравнительная оценка его биораспределения при системном и ингаляционном путях введения. Показано, что N-[¹¹C]-метилруксолитиниб может быть получен с высоким радиохимическим выходом и мольной активностью.

По результатам биораспределения показано, что руксолитиниб способен быстро преодолевать аэрогематический барьер и при ингаляционном введении имеет схожее с внутривенным введением биораспределение.

Таким образом, разработанная технология получения меченого изотопом углерод-11 аналога руксолитиниба может быть полезна для разработки ПЭТ-визуализации JAK/STAT-ассоциированных процессов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-10122, <https://rscf.ru/project/23-75-10122>. / The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 23-75-10122, <https://rscf.ru/project/23-75-10122>.

Соответствие нормам этики / Compliance with ethical principles

Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПбФУ МЗ РФ (протокол БЭК Rux-ПК-Rats-01 от 03.03.2025). / The animal procedures were reviewed and approved by the Bioethics Committee

of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. BEC Rux-PK-Rats-01 dated March 3, 2025).

Авторы заявляют об отсутствии использования генеративного искусственного интеллекта. / The authors declare no use of Generative AI in the preparation of this manuscript.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Xue C, Yao Q, Gu X, et al. Evolving cognition of the JAK-STAT signaling pathway: autoimmune disorders and cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8(1):204. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01468-7>
- Appeldoorn TYJ, Munnink THO, Morsink LM, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ruxolitinib: a review. *Clin Pharmacokinet.* 2023;62(4):559–571. <https://doi.org/10.1007/s40262-023-01225-7>
- Pemmaraju N, Bose P, Rampal R, et al. Ten years after ruxolitinib approval for myelofibrosis: a review of clinical efficacy. *Leuk Lymphoma.* 2023;64(6):1063–1081. <https://doi.org/10.1080/10428194.2023.2196593>
- Harrison CN, Nangalia J, Boucher R, et al. Ruxolitinib versus best available therapy for polycythemia vera intolerant or resistant to hydroxycarbamide in a randomized trial. *J Clin Oncol.* 2023;41(19):3534–3544. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.01935>
- Pattipaka T, Sarp S, Nakhaei P, et al. Ruxolitinib in patients with graft versus host disease (GvHD): findings from a compassionate use program. *Bone Marrow Transplant.* 2024;59(5):637–646. <https://doi.org/10.1038/s41409-024-02207-4>
- Kim BS, Howell MD, Sun K, et al. INCB 18424-206 Study Investigators. Treatment of atopic dermatitis with ruxolitinib cream (JAK1/JAK2 inhibitor) or triamcinolone cream. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(2):572–582. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.08.042>
- Calbet M, Ramis I, Calama E, et al. Novel Inhaled Pan-JAK Inhibitor, LAS194046, reduces allergen-induced airway inflammation, late asthmatic response, and PSTAT activation in brown Norway rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2019;370(2):137–147.
- Zak M, Dengler HS, Rajapaksa NS. Inhaled Janus Kinase (JAK) inhibitors for the treatment of asthma. *Bioorg Med Chem Lett.* 2019;29(20):126658. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126658>
- Georas SN, Donohue P, Connolly M, et al. JAK inhibitors for asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;148(4):953–963. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.08.013>
- Karpov AA, Mihailova AM, Shilenko LA, et al. Inhibition of JAK1,2 prevents fibrotic remodeling of pulmonary vascular bed and improves outcomes in the rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24):15646. <https://doi.org/10.3390/ijms232415646>
- Di Michele A, Schoubben A, Varfaj I, et al. Improved achiral and chiral HPLC-UV analysis of ruxolitinib in two different drug formulations. *Separations.* 2020;7(3):47. <https://doi.org/10.3390/separations7030047>
- Li N, Zhang H, Bai H, et al. Development and validation of an LC-MS/MS method for ruxolitinib quantification: advancing personalized therapy in hematologic malignancies. *J Pharm Pharm Sci.* 2024;27:12905. <https://doi.org/10.3389/jpps.2024.12905>
- Barry JA, Groseclose MR, Castellino S. Quantification and assessment of detection capability in imaging mass spectrometry using a revised mimetic tissue model. *Bioanalysis.* 2019;11(11):1099–1116. <https://doi.org/10.4155/bio-2019-0035>
- Imlimthan S, Berton C, Poty S, et al. A Guide to ex vivo biodistribution studies with radiotracers in rodent models. *molecular imaging and biology.* 2025;27(6):883–893. <https://doi.org/10.1007/s11307-025-02055-8>
- Carter LM, Zanzonico PB. MIB Guides: pre-clinical radiopharmaceutical dosimetry. *Mol Imaging Biol.* 2024;26(1):17–28. <https://doi.org/10.1007/s11307-023-01868-9>
- Shilling AD, Nedza FM, Emm T, et al. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of [14C]INCB018424, a selective Janus tyrosine kinase 1/2 inhibitor, in humans. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(11):2023–2031. <https://doi.org/10.1124/dmd.110.033787>
- Rayala R, Theard P, Ortiz H, et al. Synthesis of purine and 7-Deazapurine nucleoside analogues of 6-N-(4-Nitrobenzyl)adenosine; inhibition of nucleoside transport and proliferation of cancer cells. *ChemMedChem.* 2014;9(9):2186–2192. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201402047>
- Yerabolu D, Weiss A, Kojonazarov B, et al. Targeting jak-stat signaling in experimental pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2021;64(1):100–114. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2019-0431OC>
- Lever SZ, Fan KH, Lever JR. Tactics for preclinical validation of receptor-binding radiotracers. *Nucl Med Biol.* 2017;44:4–30. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2016.08.015>
- Vallabhajosula S, Killeen RP, Osborne JR. Altered biodistribution of radiopharmaceuticals: role of radiochemical/pharmaceutical purity, physiological, and pharmacologic factors. *Semin Nucl Med.* 2010;40(4):220–241. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2010.02.004>
- Pees A, Chassé M, Vasdev N, et al. Recent developments in carbon-11 chemistry and applications for first-in-human PET studies. *Molecules.* 2023;28(3):931. <https://doi.org/10.3390/molecules28030931>
- Appeldoorn TYJ, Munnink THO, Morsink LM, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Ruxolitinib: A Review. *Clin Pharmacokinet.* 2023;62(4):559–571. <https://doi.org/10.1007/s40262-023-01225-7>
- Bărăian A-I, Iacob B-C, Sorițău O, et al. Ruxolitinib-Loaded imprinted polymeric drug reservoir for the local management of post-surgical residual glioblastoma cells. *Polymers.* 2023;15(4):965. <https://doi.org/10.3390/polym15040965>

24. Müller M, Shalgunov V, Hvass L, et al. Synthesis and in vivo evaluation of [¹¹C]tucatinib for HER2-targeted PET imaging. *Bioorg Med Chem Lett*. 2023;80:129088. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2022.129088>

25. Petrulli JR, Sullivan JM, Zheng MQ, et al. Quantitative analysis of [¹¹C]-erlotinib PET demonstrates specific binding for activating mutations of the EGFR kinase domain. *Neoplasia*. 2013;15(12):1347–1353. <https://doi.org/10.1593/neo.131666>

26. Glekas AP, Pillarsetty NK, Punzalan B, et al. In vivo imaging of Bcr-Abl overexpressing tumors with a radiolabeled imatinib analog as an imaging surrogate for imatinib. *J Nucl Med*. 2011;52(8):1301–1307. <https://doi.org/10.2967/jnumed.110.085050>

Информация об авторах:

Ваулина Дария Дмитриевна – мл. науч. сотр. НИЛ патологии малого круга кровообращения, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, мл. науч. сотр. лаборатории радиохимии, ИМЧ РАН, Санкт-Петербург, Россия, uplvice@gmail.com, ORCID 0000-0003-1088-2396;

Карпов Андрей Александрович – канд. мед. наук, заведующий НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, a-karpoff@mail.ru, ORCID 0000-0003-0114-5896;

Воронин Илья Андреевич – ст. лаборант лаборатории радиохимии ИМЧ РАН, Санкт-Петербург, Россия, iliavoron14@gmail.com, ORCID 0009-0005-5191-9433;

Воротилев Александр Владимирович – мл. науч. сотр. НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, allegoriarus@gmail.com, ORCID 0000-0002-2772-6579;

Сидорова Елизавета Евгеньевна – ординатор 1-го года обучения, ФГБУ «СПб НИИ ЛОР» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, sidorova.elev@gmail.com, ORCID 0009-0001-6878-3764;

Шиленко Леонид Алексеевич – лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, shilenko.leo@yandex.ru, ORCID 0000-0002-1002-9419;

Орловская Виктория Владимировна – канд. техн. наук, ст. науч. сотр. лаборатории радиохимии ИМЧ РАН, Санкт-Петербург, Россия, vikaorl@list.ru, ORCID 0000-0003-4676-1211;

Ивкин Дмитрий Юрьевич – канд. биол. наук, директор центра экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, ivkin.mail.ru@mail.ru, ORCID 0000-0001-9273-6864;

Карпенко Владислава Валерьевна – лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения ФГБУ

«НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, vladislavavk26@gmail.com, ORCID 0009-0003-2207-1918;

Саламаха Марина Евгеньевна – лаборант-исследователь НИЛ патологии малого круга кровообращения, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, salamaha.m2005@mail.ru;

Минкович Александр Евгеньевич – химик, ФГБУН «Институт мозга человека им. Н. П. Бехтерева РАН», Санкт-Петербург, Россия, allminkov@gmail.com;

Федорова Ольга Сталлитовна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаборатории радиохимии ИМЧ РАН, Санкт-Петербург, Россия, olga.s.fedorova@mail.ru, ORCID 0000-0002-2772-6579.

Вклад авторов:

Ваулина Д. Д. – разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи; Карпов А. А. – разработка концепции и дизайна исследования, написание рукописи, окончательное утверждение публикации; Воронин И. А. – анализ и интерпретация полученных данных, написание рукописи; Воротилев А. В. – анализ и интерпретация полученных данных; Сидорова Е. Е. – разработка концепции и дизайна исследования; Шиленко Л. А. – разработка концепции и дизайна исследования; Орловская В. В. – окончательное утверждение публикации; Ивкин Д. Ю. – написание рукописи; Карпенко В. В. – анализ и интерпретация полученных данных; Саламаха М. Е. – анализ и интерпретация полученных данных; Минкович А. Е. – анализ и интерпретация полученных данных; Федорова О. С. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение публикации.

Authors information:

Daria D. Vaulina, Junior Researcher, Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC; Junior Researcher, Radiochemistry Laboratory, IHB RAS, St. Petersburg, Russia, uplvice@gmail.com, ORCID 0000-0003-1088-2396;

Andrei A. Karpov, PhD in Medicine, Head of the Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC, SPCPU, RSRI of TO n. a. R. R. Vreden, St. Petersburg, Russia, a-karpoff@mail.ru, ORCID 0000-0003-0114-5896;

Ilya A. Voronin, Senior Laboratory Assistant, Radiochemistry Laboratory, IHB RAS, St. Petersburg, Russia, iliavoron14@gmail.com, ORCID 0009-0005-5191-9433;

Aleksandr V. Vortilov, Junior Researcher, Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC, St. Petersburg, Russia, allegoriarus@gmail.com, ORCID 0000-0002-2772-6579;

Elizaveta E. Sidorova, First-Year Resident, Saint-Petersburg Research Institute of Ear, Throat, Nose and Speech, St. Petersburg, Russia, sidorova.elev@gmail.com, ORCID 0009-0001-6878-3764;

Leonid A. Shilenko, Laboratory Assistant, Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC, St.

Petersburg, Russia, shilenko.leo@yandex.ru, ORCID 0000-0002-1002-9419;

Viktoria V. Orlovskaya, PhD in Technical Sciences, Senior Researcher, Radiochemistry Laboratory, IHB RAS, St. Petersburg, Russia, vikaorl@list.ru, ORCID 0000-0003-4676-1211;

Dmitry Yu. Ivkin, PhD in Biology, Head of of the Center for Experimental Pharmacology, SPCPU, St. Petersburg, Russia, ivkin.mail.ru@mail.ru, ORCID 0000-0001-9273-6864;

Vladislava V. Karpenko, Laboratory Assistant, Research Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia, vslavavk26@gmail.com, ORCID 0009-0003-2207-1918;

Marina E. Salamakha, Laboratory Assistant, Research Laboratory of Pulmonary Circulation Pathology, V. A. Almazov NMRC, St. Petersburg, Russia, salamaha.m2005@mail.ru;

Aleksandr E. Minkovich, Chemist, IHB RAS, St. Petersburg, Russia, allminkov@gmail.com;

Olga S. Fedorova, PhD in Chemistry, Senior Researcher, Radiochemistry Laboratory, IHB RAS, St. Petersburg, Russia, olga.s.fedorova@mail.ru, ORCID 0000-0002-9122-9622.

Contribution of the authors:

Vaulina D. D. – development of the research concept and design, writing the manuscript; Karpov A. A. – development of the research concept and design, writing the manuscript, final approval of publication; Voronin I. A. – analysis and interpretation of the data obtained, writing the manuscript; Vorotilov A. V. – analysis and interpretation of the data obtained; Sidorova E. E. – development of the concept and research design; Shilenko L. A. – development of the research concept and design; Orlovskaya V. V. – final approval of the publication; Ivkin D. Yu. – writing the manuscript; Karpenko V. V. – analysis and interpretation of the data obtained; Salamakha M. E. – analysis and interpretation of the data obtained; Minkovich A. E. – analysis and interpretation of the data obtained; Fedorova O. S. – development of the research concept and design, final approval of the publication.

Поступила в редакцию / Received: 20.04.2026

Принята к публикации / Accepted: 15.05.2026
