

### Quality control

For instant thin layer chromatography (iTLC) analysis, 2  $\mu\text{L}$  of the product solution were applied onto an iTLC-SA strip (Varian, USA, 10 x 1 cm) and developed with citrate buffer (0.1 M, pH 5). The percentage of free  $^{111}\text{In}$  (retention factor  $R_f=1.0$ ) and radiolabeled compound ( $R_f=0.0-0.1$ ) in the product was determined using a Minigita TLC scanner with Gina Star TLC software (Raytest, Germany).

For high performance liquid chromatography (HPLC) an Agilent Technologies system (USA) was used. 10  $\mu\text{L}$  of the product solution were injected onto an Aeris PEPTIDE 3.6  $\mu\text{m}$  XB-C18 column; 100 x 4.6 mm (Phenomenex, Germany). Eluent A: MeCN, 0.1 % trifluoroacetic acid (TFA), Eluent B: H<sub>2</sub>O, 0.1 % TFA (A/B: 1/100), flow rate 0.8 ml/min; detector: GABI (Raytest, Germany), DAD 254 nm. Retention times  $R_t$  for  $^{111}\text{In}$ -labeled compounds were 9.5-9.9 min, while free  $^{111}\text{In}$  eluted with the dead volume ( $R_t=1.1$  min).

**SUPPLEMENTAL TABLE 1.** Tissue uptake and tumor-to-normal tissue ratios of <sup>111</sup>In-3BP-227 in female nude mice grafted with NTR1-positive HT29 cells and NTR1-negative HEK293 cells, respectively.

	HT29				HEK293
	3h p.i. n=6	6h p.i. n=7	12h p.i. n=9	24h p.i. n=9	12h p.i. n=3
Tumor	7,49 ± 2,94	8,35 ± 3,12	6,82 ± 2,38	2,32 ± 1,28	0,64 ± 0,58
Heart	1,07 ± 0,31	0,35 ± 0,19	0,42 ± 0,37	0,12 ± 0,07	0,18 ± 0,03
Lungs	1,63 ± 0,73	0,54 ± 0,24	0,58 ± 0,47	0,37 ± 0,27	0,25 ± 0,08
Kidney	2,49 ± 0,42	1,73 ± 0,61	2,22 ± 1,06	1,37 ± 0,67	1,47 ± 0,38
Liver	1,30 ± 0,19	0,78 ± 0,24	1,06 ± 0,65	0,91 ± 0,82 n=8	0,67 ± 0,12
Spleen	0,60 ± 0,25	0,27 ± 0,15	0,46 ± 0,28	0,25 ± 0,17 n=8	0,34 ± 0,11
Stomach*	1,45 ± 1,92	0,28 ± 0,23	0,36 ± 0,45	0,13 ± 0,09	0,11 ± 0,03
Intestine*	1,02 ± 0,23	0,46 ± 0,15	0,37 ± 0,26	0,12 ± 0,04	0,17 ± 0,03
Adipose tissue	0,67 ± 0,03 n=2	0,20 ± 0,06 n=3	0,13 ± 0,05 n=3	0,22 ± 0,19 n=6	0,21 ± 0,05
Urinary bladder	1,01 ± 0,05 n=2	0,47 ± 0,10 n=3	0,26 ± 0,02 n=3	0,24 ± 0,22 n=6	0,49 ± 0,09
Muscle	0,45 ± 0,18	0,21 ± 0,12	0,25 ± 0,20	0,07 ± 0,04	0,12 ± 0,04
Bone	0,71 ± 0,26	0,29 ± 0,10	0,33 ± 0,20	0,16 ± 0,09	0,19 ± 0,02
Brain	0,09 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,16	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,003
Blood	2,54 ± 1,31	0,46 ± 0,22	0,22 ± 0,19	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Urine	11,33 ± 12,37 n=3	8,12 ± 6,85 n=6	2,71 ± 2,75 n=8	0,91 ± 0,94 n=8	0,63 ± 0,46
Tumor/blood	3,75 ± 2,47	20,91 ± 9,45	58,75 ± 43,85	58,95 ± 56,55	16,81 ± 15,07
Tumor/liver	5,97 ± 2,82	11,05 ± 3,64	7,89 ± 3,72	4,58 ± 4,81 n=8	1,10 ± 1,19
Tumor/muscle	20,06 ± 13,27	47,82 ± 21,35	41,33 ± 26,34	39,48 ± 30,25	6,61 ± 7,10
Tumor/kidney	3,18 ± 1,48	5,13 ± 1,36	3,36 ± 1,12	2,05 ± 1,35	0,50 ± 0,56

**Uptake is expressed as mean percentage of injected dose per gram of tissue (%ID/g) ± SD.** If sample size n of a single tissue differs from the number given in the column header, it is additionally listed. \*Organs with their content.

**SUPPLEMENTAL TABLE 2.** Tissue uptake and tumor-to-normal tissue ratios of  $^{111}\text{In}$ -3BP-228 in female nude mice grafted with NTR1-positive HT29 cells.

	3h p.i. n=6	6h p.i. n=9	12h p.i. n=6	24h p.i. n=5
Tumor	10,2 ± 5,28	8,04 ± 5,04	6,19 ± 4,02	0,80 ± 0,21
Heart	1,13 ± 0,96	0,20 ± 0,07	0,10 ± 0,03	0,01 ± 0,01
Lungs	3,35 ± 2,44	0,39 ± 0,20	0,52 ± 0,36	0,12 ± 0,14
Kidney	1,49 ± 0,90	0,47 ± 0,12	0,37 ± 0,14	0,16 ± 0,03
Liver	1,18 ± 0,43	0,54 ± 0,06	0,49 ± 0,13	0,42 ± 0,24
Spleen	1,04 ± 0,48	0,33 ± 0,18	0,24 ± 0,13	0,06 ± 0,05
Stomach*	0,56 ± 0,30	0,67 ± 1,35	0,13 ± 0,11	0,02 ± 0,01
Intestine*	0,85 ± 0,36	0,42 ± 0,35	0,22 ± 0,20	0,06 ± 0,04
Adipose tissue	2,00 ± 1,38 n=3	0,21 ± 0,21 n=6	0,17 ± 0,04 n=3	NA
Urinary bladder	4,43 ± 2,66 n=3	0,70 ± 0,80 n=6	0,50 ± 0,16 n=3	NA
Muscle	0,34 ± 0,24	0,10 ± 0,06	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01
Bone	0,60 ± 0,37	0,16 ± 0,05	0,12 ± 0,05	0,04 ± 0,01
Brain	0,08 ± 0,04	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Blood	2,01 ± 0,96	0,23 ± 0,11	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,20
Urine	5,64 ± 8,81 n=4	5,59 ± 4,45 n=7	1,43 ± 0,86	0,25 ± 0,18 n=3
Tumor/blood	5,47 ± 2,50	46,6 ± 38,1	67,4 ± 35,9	44,4 ± 42,0
Tumor/liver	8,70 ± 3,20	14,7 ± 9,16	14,7 ± 13,6	2,70 ± 2,02
Tumor/muscle	34,3 ± 12,1	103,0 ± 92,9	148,0 ± 85,2	47,4 ± 26,5
Tumor/kidney	7,75 ± 3,78	16,6 ± 9,48	15,9 ± 7,39	5,16 ± 1,10

**Uptake is expressed as mean percentage of injected dose per gram of tissue (%ID/g) ± SD.** If sample size n of a single tissue differs from the number given in the column header, it is additionally listed. \*Organs with their content.

**SUPPLEMENTAL TABLE 3.** Tissue uptake and tumor-to-normal tissue ratios of <sup>111</sup>In-3BP-483 in female nude mice grafted with NTR1-positive HT29 cells.

	3h p.i. n=3	6h p.i. n=5	12h p.i. n=5	24h p.i. n=6
Tumor	1,90 ± 0,82	1,63 ± 0,54	0,9 ± 0,38	0,79 ± 0,36
Heart	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Lungs	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,04	0,13 ± 0,04	0,11 ± 0,06
Kidney	2,62 ± 0,30	2,73 ± 0,78	3,03 ± 1,16	2,18 ± 0,67
Liver	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,05	0,21 ± 0,06	0,21 ± 0,09
Spleen	0,11 ± 0,04	0,12 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,02
Stomach*	0,05 ± 0,02	0,10 ± 0,10	0,07 ± 0,07	0,07 ± 0,08
Intestine*	0,21 ± 0,05	0,25 ± 0,23	0,09 ± 0,03	0,12 ± 0,15
Adipose tissue	0,05 ± 0,01 n=2	0,13 ± 0,08	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,02
Urinary bladder	0,19 ± 0,03	0,18 ± 0,06 n=4	0,2 ± 0,17	0,23 ± 0,15
Muscle	0,08 ± 0,04	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Bone	0,18 ± 0,18	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,07 ± 0,03
Brain	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Blood	0,06 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Urine	9,19 ± 5,04	1,35 ± 0,85 n=4	1,66 ± 1,83 n=4	0,43 ± 0,22
Tumor/blood	29,8 ± 8,18	81,4 ± 27,2	81,9 ± 41,5	149 ± 98,7
Tumor/liver	7,66 ± 2,77	7,17 ± 1,31	4,57 ± 2,30	4,03 ± 2,81
Tumor/muscle	23,5 ± 2,44	35,8 ± 12,2	30,6 ± 21,2	31,8 ± 20,9
Tumor/kidney	0,71 ± 0,26	0,6 ± 0,08	0,31 ± 0,14	0,35 ± 0,18

**Uptake is expressed as mean percentage of injected dose per gram of tissue (%ID/g) ± SD.** If sample size n of a single tissue differs from the number given in the column header, it is additionally listed. \*Organs with their content.