



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΗ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

*Ανάπτυξη Νέων 2+1 Μικτών Συμπλόκων fac-[Re/^{99m}Tc (CO)₃(P,O)(N)]
με Παράγωγα Πυριδίνης και Συγκριτική Μελέτη της Σταθερότητας Αυτών*

ΒΛΑΣΤΑΡΑ ΜΑΡΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

A. Τσοτίνης

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής

Π. Μαράκος

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής

M. Παπαδόπουλος

Ερευνητής Α', ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος"

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2018 στο Εργαστήριο Ραδιοφαρμακευτικής Χημείας του Ινστιτούτου Πυρηνικών & Ραδιολογικών Επιστημών & Τεχνολογίας, Ενέργειας & Ασφάλειας (Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α.) του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών (Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.) “Δημόκριτος” με τη συνεργασία του τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Ε.Κ.Π.Α.) υπό την επίβλεψη του Δρ. Μηνά Παπαδόπουλου, Ερευνητής Α’ στο Εργαστήριο του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “Δημόκριτος”.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Μηνά Παπαδόπουλο, για την υποστήριξη, τις πολύτιμες υποδείξεις του, την καθοδήγησή του και την αμέριστη εμπιστοσύνη του. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τους καθηγητές Α. Τσοτίνη και Π. Μαράκο για τις υποδείξεις και παρατηρήσεις τους ως μέλη της εξεταστικής επιτροπής.

Θερμές ευχαριστίες στον Δρ. Ι. Πιρμεττή, ερευνητή Α’ του Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α., για την υποστήριξη και βοήθεια στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Ευχαριστώ θερμά την Δρ. Κ. Ραπτοπούλου και τον Δρ. Α. Τερζή από το Ινστιτούτο Προηγμένων Υλικών, Φυσικοχημικών Διεργασιών, Νανοτεχνολογίας και Μικροσυστημάτων Επιστήμης Υλικών του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “Δημόκριτος”, για την κρυσταλλογραφική ανάλυση των συμπλόκων. Ευχαριστώ την Δρ. Τ. Μαίνα και τον Δρ. Β. Nock για τις υποδείξεις τους και την υποστήριξή τους.

Ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου και συγκεκριμένα ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα Αντώνη Σεγκάνη για την υποστήριξη, καθοδήγηση και συνεργασία σε όλο το διάστημα εκπόνησης της εργασίας. Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην υποψήφια διδάκτορα Ιωάννα Ρούπα και στον μετα-διδακτορικό ερευνητή Χρήστο Κυρίτση, για την συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές τους. Επίσης, εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στην υποψήφια διδάκτορα Α. Παπασάββα και Κ. Μακρυπίδη, στον μετα-διδακτορικό ερευνητή Μ. Καπλάνη και στους προπτυχιακούς φοιτητές Μ. Ισχυροπούλου, Χ. Χατζοπούλου και Ε. Μάρρα. Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου, για την υποστήριξη και την εμπιστοσύνη τους, όλα τα χρόνια των σπουδών μου. Ένα ακόμα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους εκείνους που με τη συμπαράστασή τους και τις πολύτιμες συμβουλές τους με στήριξαν με την αγάπη τους σε αυτήν την επιλογή μου.

Αφιερωμένο στην οικογένεια μου και στο μικρό Αιγέα...

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ	1
1.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΡΑΔΙΟΧΗΜΕΙΑΣ.....	1
1.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ	4
1.2.1 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	5
1.2.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	6
1.2.3 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ THERANOSTICS	7
1.3 ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ.....	8
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΡΗΝΙΟΥ (Re) ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc)	11
2.1 ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc).....	11
2.1.1 ΙΣΟΤΟΠΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ	12
2.1.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ -99m.....	17
2.1.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΑΘΜΙΔΕΣ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ	23
2.2 ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑ ΡΗΝΙΟΥ (Re).....	23
3. ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΡΗΝΙΟΥ (Re) ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc).....	25
3.1 ΔΟΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ -99m ..	29
4. ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΡΗΝΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ	30
4.1 CO- ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΛΟΚΑ Re ΚΑΙ Tc ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΑ I	30
4.2 (2-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ) ΔΙΦΑΙΝΥΛΟΦΩΣΦΙΝΗ ΩΣ ΔΙΔΡΑΣΤΙΚΟΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ	32
5. ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΩΝ	33
6. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	36
II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	39
7. ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....	39
7.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	39
7.2 ΣΥΝΘΕΣΗ N-ΠΥΡΙΔΙΝ-4-ΥΛΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟ	43
7.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re.....	43
7.3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ [Et ₄ N] ₂ [ReBr ₃ (CO) ₃], I	43
7.3.2 ΣΥΝΘΕΣΗ <i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(H ₂ O)], II	44
7.3.3 ΣΥΝΘΕΣΗ <i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4CONHNH ₂)], 1	45
7.3.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 2 - 9.....	45

7.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ	46
7.4.1 ΣΥΝΘΕΣΗ <i>fac</i> - [^{99m} Tc(H ₂ O)(CO) ₃], I'	46
7.4.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 1' - 8'	49
7.5 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ	50
7.5.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ	51
7.6 ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑΣ	51
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	52
8. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re ΚΑΙ Tc	52
8.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re	52
8.2 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 1 - 9.	55
8.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ p _{ka} ΠΥΡΙΔΙΝΩΝ ΣΤΟ ΜΗΚΟΣ ΔΕΣΜΟΥ Re-N ΣΤΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΡΗΝΙΟΥ	58
8.3 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ -99m	60
8.4 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ -99m	63
8.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ p _{ka} ΠΥΡΙΔΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc	65
8.6 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc	67
8.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ p _{ka} ΠΥΡΙΔΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ -99m	69
8.8 ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΙΠΟΦΙΛΙΑΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc	75
IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	77
IV. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	79
VI. ABSTRACT	81
VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	83

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

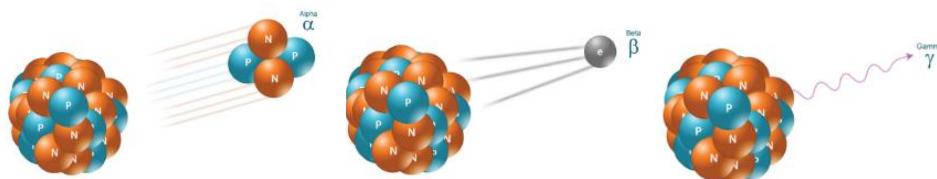
Η ιστορία της Ραδιοχημείας ξεκινά το 1895 όταν ο Γερμανός φυσικός Wilhem Röntgen, μελετώντας το φαινόμενο της διέλευσης ηλεκτρικού ρεύματος σε έναν σωλήνα υπό κενό παρατήρησε μία άγνωστη, έως τότε, μορφή ακτινοβολίας. Μη μπορώντας να εξηγήσει τη φύση της ακτινοβολίας, ονόμασε αυτού του τύπου την ακτινοβολία ακτίνες-X (X-rays) και με αυτήν την ανακάλυψη κατάφερε να κερδίσει το 1901 το Nobel Φυσικής.² Συνεχίζοντας τη μελέτη των ακτίνων-X, ο Γάλλος φυσικός Henri Becquerel το 1896 παρατήρησε πως άλατα του ουρανίου έχουν την δυνατότητα αυθόρμητης εκπομπής μιας συγκεκριμένης ακτινοβολίας, η οποία αν και μπορεί να αποτυπωθεί σε φωτογραφική πλάκα, δεν είναι ίδια με τις ακτίνες-X του Wilhem Röntgen, αλλά αποτελεί ένα νέο φαινόμενο, την ραδιενέργεια. Αυτή η ανακάλυψη ενέπνευσε την Marie Curie και τον Pierre Curie, να εξερευνήσουν περαιτέρω τη φύση της ραδιενέργειας. Ασχολήθηκαν με ένα κράμα ορυκτών ουρανίου στο οποίο ανακάλυψαν πως περιέχονταν άλλα δυο νέα ραδιενεργά στοιχεία. Έτσι, το 1898 ανακοίνωσαν στην επιστημονική κοινότητα την ανακάλυψη του πολωνίου (Po), το 1902 την ανακάλυψη του ράδιου (Ra), ενώ το 1903 μοιράστηκαν με τον Henri Becquerel το Nobel Φυσικής. Έπειτα, ήρθε η πρώτη ανακάλυψη τεχνητών ραδιενεργών στοιχείων από τους Irène Curie και Frédéric Joliot, που τιμήθηκαν με Nobel Χημείας το 1935.²

1.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΡΑΔΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

Ραδιονουκλίδια θεωρούνται ασταθή νουκλίδια, τα οποία διασπώνται με αυθόρμητη εκπομπή ακτινοβολίας (ραδιενέργεια). Ως *ραδιενέργεια* ορίζεται η ιδιότητα ορισμένων πυρήνων να μεταπίπτουν σε κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας αυτόματα με την ταυτόχρονη εκπομπή σωματιδιακής ή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Συγκεκριμένα, το φαινόμενο αυτό ονομάζεται ραδιενεργός διάσπαση (radioactive decay) και συνοδεύεται από την εκπομπή ακτινοβολίας, η οποία μπορεί να είναι σωματίδια α , ή β ή/και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία γ .³

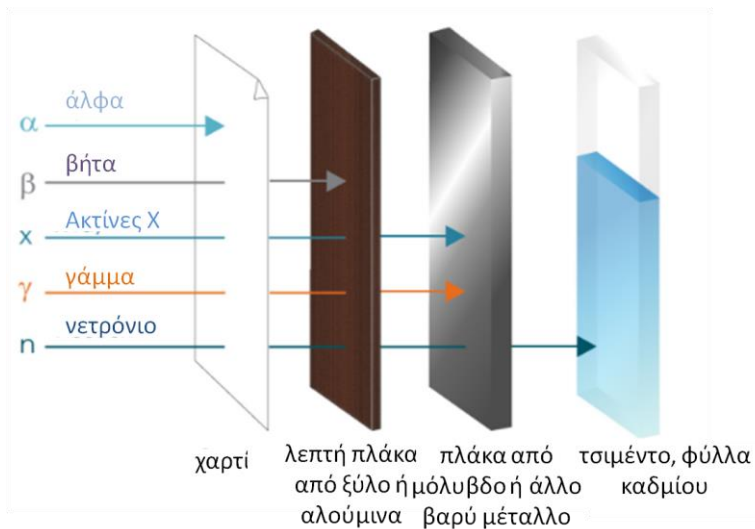
Τα *σωματίδια α* είναι πυρήνες ηλίου (${}^4_2\text{He}$), αποτελούμενοι από δύο πρωτόνια και δύο νετρόνια. Αυθόρμητη εκπομπή σωματιδίων α παρατηρείται, συνήθως, κατά τη διάσπαση βαρέων πυρήνων,

ενώ ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν αμιγή ακτινοβολία α έχουν μικρή εφαρμογή στην πυρηνική ιατρική καθώς περιορίζονται κυρίως στην αντιμετώπιση του καρκίνου (ραδιοθεραπεία)⁴. Η εκπομπή *σωματιδίων β* αναφέρεται σε διασπάσεις, κατά τις οποίες εκπέμπονται ηλεκτρόνια ή ποζιτρόνια ή γίνεται σύλληψη ηλεκτρονίου από τον πυρήνα. Εν αντιθέσει με τις δύο προηγούμενες περιπτώσεις η *ακτινοβολία γ* δεν αποτελείται από εκπομπή *σωματιδίων* αλλά από μεγάλο ποσό ενέργειας που απελευθερώνεται από έναν ασταθή πυρήνα με τη μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, ώστε ο πυρήνας να μεταπέσει σε ενεργειακά χαμηλότερη κατάσταση.³



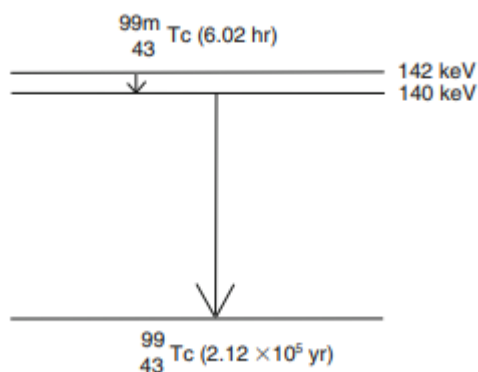
Εικόνα 1. Εκπομπή α σωματιδίου από τον πυρήνα, εκπομπή β σωματιδίου από τον πυρήνα και εκπομπή γ ακτινοβολίας.

Ως συνέπεια των διαφορών της φύσεως της κάθε ακτινοβολίας που αναφέρθηκε παραπάνω προκύπτει η διαφορά στη διεισδυτικότητα της κάθε μιας. Τα *σωματίδια α* , εξαιτίας του μεγάλου φορτίου και της μεγάλης μάζας μπορούν να αλληλεπιδρούν αρκετά με την ύλη οπότε έχουν μικρή διεισδυτικότητα και ως συνέπεια η *ακτινοβολία α* εμποδίζεται από ένα απλό χαρτί. Τα *σωματίδια β* , λόγω της μικρότερης μάζας και φορτίου αλληλεπιδρούν λιγότερο ισχυρά με την ύλη, οπότε η διεισδυτικότητα τους αυξάνεται και η ακτινοβολία β εμποδίζεται από υλικά όπως μέταλλο, ξύλο και αλουμίνιο. Τέλος, η *ακτινοβολία γ* αποτελεί την πιο διεισδυτική από τις προηγούμενες, αφού δεν αποτελείται από σωματίδια και δεν διαθέτει μάζα. Έτσι, μπορεί να εμποδιστεί από υλικά με υψηλό ατομικό αριθμό, όπως μόλυβδος.



Εικόνα 2. Τύποι ακτινοβολίας και η διεισδυτικότητά τους.

Επιπλέον, σύμφωνα με τη κβαντομηχανική ένας πυρήνας μπορεί να βρεθεί σε αρκετές διεγερμένες καταστάσεις πάνω από τη θεμελιώδη. Όλες αυτές οι διεγερμένες καταστάσεις ονομάζονται ισομερείς καταστάσεις με χρόνους ζωής από μερικά picoseconds έως και χρόνια. Συγκεκριμένα, ένας πυρήνας που υφίσταται *ισομερή μετάπτωση*, αν και διαθέτει τον ίδιο μαζικό κι ίδιο ατομικό αριθμό με τον αντίστοιχο σταθερό πυρήνα, παραμένει σε διεγερμένη κατάσταση για μετρήσιμο χρονικό διάστημα και μετά το πέρας του χρόνου μεταπίπτει σε σταθερή κατάσταση μέσω εκπομπής ακτινοβολίας γ . Η διεγερμένη αυτή κατάσταση ονομάζεται μετασταθής και συμβολίζεται με το γράμμα m .³



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση διάσπασης του ^{99m}Tc , όπου φαίνεται η ισομερής μετάπτωση.

Οι μονάδες μέτρησης της ραδιενέργειας για το διεθνές σύστημα (SI) είναι το Becquerel (Bq), που ορίζεται ως η ποσότητα ραδιονουκλιδίου, στην οποία λαμβάνει χώρα μια διάσπαση ανά sec:

$$1Bq = \frac{\text{μια διάσπαση}}{\text{sec}}$$

Παλαιότερη μονάδα, η οποία ακόμα χρησιμοποιείται είναι το Curie (Ci):

$$1Ci = 37 \times 10^{10} \text{ διασπάσεις/sec}$$

1.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Η *Ραδιοφαρμακευτική Χημεία* αποτελεί τον νεότερο κλάδο της Φαρμακευτικής με αντικείμενο τον σχεδιασμό, τη σύνθεση, τη φυσικοχημική και βιολογική μελέτη φαρμακευτικών ενώσεων που περιέχουν τουλάχιστον ένα ραδιονουκλίδιο, οι οποίες ονομάζονται *ραδιοφάρμακα*. Τα ραδιοφάρμακα μπορούν να είναι είτε οργανικές ή ανόργανες φαρμακευτικές ενώσεις ραδιονουκλιδίων και χρησιμοποιούνται για διάγνωση ή θεραπεία (απεικόνιση οργάνων, εντόπιση βλαβών, μελέτη της φυσιολογίας μιας νόσου, παρηγορητική θεραπεία όγκων). Η χρήση των ραδιοφαρμάκων για διάγνωση ή θεραπεία εξαρτάται από την ακτινοβολία του ραδιονουκλιδίου. Γενική ιδιότητα όλων των ραδιοφαρμάκων αποτελεί η εκλεκτική συσσώρευση τους σε συγκεκριμένο όργανο-στόχο ή σύστημα, στο οποίο παραμένουν για μικρό ή μεγάλο διάστημα. Ανάλογα με τη φύση της ακτινοβολίας που εκπέμπουν μπορούν να χρησιμοποιηθούν, μη επεμβατικά, είτε για θεραπεία είτε για διάγνωση στην Πυρηνική Ιατρική.

Σε αντίθεση με άλλες “απεικονιστικές” μεθόδους, όπως η ακτινοδιαγνωστική, οι τεχνικές της Πυρηνικής Ιατρικής δίνουν την δυνατότητα απεικόνισης οργάνων αλλά και της λειτουργίας τους, με υψηλή ευαισθησία και υψηλή εκλεκτικότητα. Έτσι, δίνεται η δυνατότητα διάγνωσης νόσων ή παθολογικών καταστάσεων σε πολύ πρώιμο στάδιο με μη επεμβατικό τρόπο.⁵

Η επιλογή ενός ραδιοφαρμάκου προς εφαρμογή στην Πυρηνική Ιατρική κρίνεται από τους εξής παράγοντες:³

- Από τις φυσικές ιδιότητες του ραδιονουκλιδίου, που επηρεάζουν την ικανοποιητική ή μη ανίχνευση του
- Από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του ραδιοφαρμάκου (φορτίο, λιποφιλικότητα, μέγεθος κλπ.), οι οποίες επηρεάζουν την φαρμακοκινητική του στον οργανισμό

- Από το ραδιοβιολογικό αποτέλεσμα (τη δόση της ακτινοβολίας που θα δεχτεί ο ανθρώπινος οργανισμός)

Επιπλέον, τα ραδιοφάρμακα για να είναι κατάλληλα για χορήγηση, πρέπει να έχουν υψηλή ραδιονουκλιδική και ραδιοχημική καθαρότητα, να μην προκαλούν αντιγονικές αντιδράσεις και να είναι στείρα και ελεύθερα πυρετογόνων όταν προορίζονται για παρεντερική χορήγηση ή εμφύτευση.³

1.2.1 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Το ραδιονουκλίδιο, που χρησιμοποιείται για τη σύνθεση των διαγνωστικών ραδιοφαρμάκων πρέπει να πληροί τα παρακάτω κριτήρια:³

- Εκπομπή ακτινοβολίας γ χωρίς τη σύγχρονη εκπομπή σωματιδιακής ακτινοβολίας α και β^-
- Εκπομπή μονοενεργειακής ακτινοβολίας άνω των 80 keV
- Ο χρόνος ημιζωής να μην είναι πολύ βραχύς αλλά επαρκής για τη μέθοδο της εξέτασης
- Η μέθοδος παραγωγής του ραδιονουκλιδίου να είναι εύκολη, χαμηλού κόστους και να παρέχει ραδιονουκλίδιο υψηλής ειδικής ραδιενέργειας
- Η μέθοδος σύνθεσης του ραδιοφαρμάκου να είναι απλή και σύντομη

Πίνακας 1. Ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν γ ακτινοβολία.

Ραδιονουκλίδιο	$t_{1/2}^*$
^{67}Ga	77,9h
^{123}I	13,3h
^{111}In	2,8d
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6h
^{201}Tl	74h
^{68}Ga	68,3min
^{11}C	20,3min
^{82}Rb	1,2min
^{13}N	9,9min
^{15}O	123s

* $t_{1/2}$: χρόνος ημιζωής ραδιονουκλιδίου (Χρονικό διάστημα μετά την παρέλευση του οποίου μία ποσότητα ραδιενεργών πυρήνων του συγκεκριμένου ισοτόπου ελαττώνεται στο μισό)

1.2.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία με θεραπευτικά ραδιοφάρμακα αφορά κυρίως την ογκολογία και γίνεται με εκλεκτική μεταφορά δόσεων ακτινοβολίας στα καρκινικά κύτταρα-στόχους. Ο πιο σημαντικός παράγοντας για επιτυχή θεραπεία είναι η υψηλή και εκλεκτική συγκέντρωση, καθώς και η παρατεταμένη κατακράτηση του ραδιοφαρμάκου από τον όγκο, σε συνδυασμό με την ελάχιστη πρόσληψή του από φυσιολογικούς ιστούς.

Τα ραδιονουκλίδια τα οποία χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση θεραπευτικών ραδιοφαρμάκων πρέπει να υφίστανται διάσπαση με εκπομπή *σωματιδίων α ή β* , ή με εκπομπή *ηλεκτρονίων Auger*. Τα *σωματίδια α* συνδυάζουν υψηλή LET και μικρή διεισδυτικότητα. Η μικρή διεισδυτικότητα δίνει την ιδιότητα να μπορούν να καταστραφούν μόνο τα κύτταρα που βρίσκονται σε μικρή απόσταση. Τα *σωματίδια β* εκπέμπουν χαμηλότερη LET και έχουν μεγαλύτερη διεισδυτικότητα. Λόγω της χαμηλότερης LET χρειάζονται περισσότερα σωματίδια για να καταστραφεί ικανός αριθμός κυττάρων.

Οι ιδιότητες που πρέπει να έχουν τα ραδιονουκλίδια για θεραπευτικούς λόγους:

- Διάσπαση με εκπομπή σωματιδιακής ακτινοβολίας (α , β^- , με Auger ηλεκτρόνια)
- Υψηλή LET (Linear Energy Transfer, ποσό της ενέργειας που μεταφέρεται από ένα σωματίδιο στην ύλη)
- Διέλευση σωματιδίου από τον πυρήνα και αύξηση ιονισμών στην περιοχή DNA (αφορά τα Auger ηλεκτρόνια)
- Επιθυμητή εκπομπή, σε μικρή περιεκτικότητα, διεισδυτικής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας για δοσιμετρικούς υπολογισμούς
- Κατάλληλος χρόνος ημιζωής των ραδιονουκλιδίων για την εκλεκτική συγκέντρωση και παραμονή του ισότοπου στον ακτινοβολούμενο ιστό (περίοχη 10h), ώστε να αποδοθεί μια ελάχιστη κυττοτοξική δόση ακτινοβολίας
- Υψηλή ειδική ραδιενέργεια και παραγωγή σταθερού νουκλιδίου.
- Χαμηλό κόστος και εύκολη διαθεσιμότητα
- Εύκολη μέθοδος σύζευξης με βιομόρια

1.2.3 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ THERANOSTICS

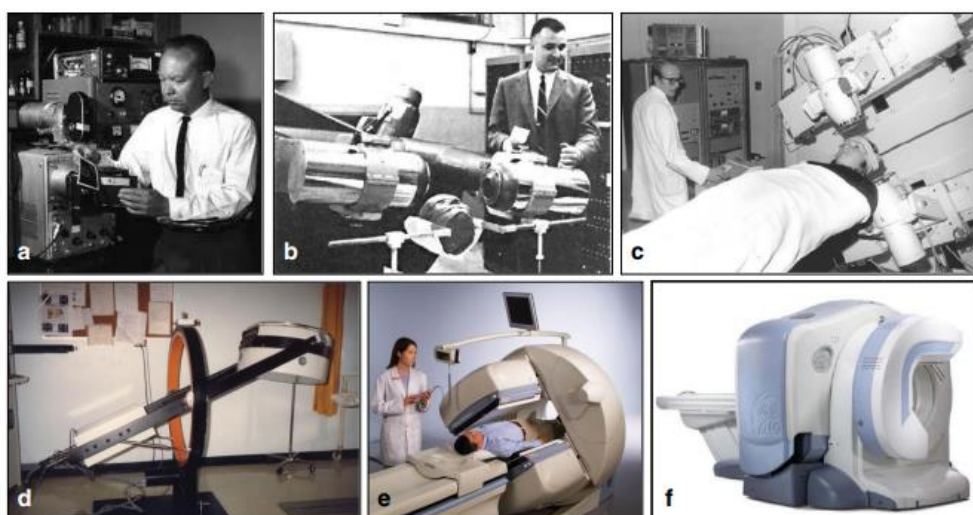
Ο συνδυασμός της θεραπείας και της διάγνωσης αποτελεί τη μελλοντική κατεύθυνση στην οποία ήδη αρχίζει και προσανατολίζεται η Ραδιοφαρμακευτική και η Πυρηνική Ιατρική. Αυτός ο συνδυασμός ονομάζεται Theranostics (Therapy-Diagnosis), ο οποίος με την συμβολή της Προσωποποιημένης Ιατρικής (Personal Medicine) πιστεύεται πως αντιπροσωπεύει την κατάλληλη στάση απέναντι στη θεραπεία σήμερα. Ήδη από το 1941 είχαν χρησιμοποιηθεί ραδιοφάρμακα του ιωδίου για τη θεραπεία και διάγνωση του υπερθυροειδισμού και του καρκίνου του θυροειδή, ενώ από το 1988 ο John Funkhouser εισήγαγε για πρώτη φορά τον συγκεκριμένο όρο.⁶

Ο συνδυασμός Theranostics με την Προσωποποιημένη Ιατρική σχετίζεται με μία εξατομικευμένη διάγνωση, μέσω της απεικόνισης συγκεκριμένων πρωτεϊνικών προϊόντων (υποδοχείς, ένζυμα, αντιγόνα) και της μετέπειτα ραδιοθεραπείας με τον ίδιο ραδιοφαρμακευτικό παράγοντα, αλλάζοντας κάθε φορά το ραδιονουκλίδιο.⁶ Σήμερα, τα πιο αξιοσημείωτα παραδείγματα του όρου Theranostic στην κατεύθυνση της Πυρηνικής Ιατρικής περιλαμβάνουν την απεικόνιση πεπτιδικών υποδοχέων (Peptide Receptor Scintigraphy) και τη θεραπεία ασθενειών με στόχο πεπτιδικούς υποδοχείς μέσω

ραδιονουκλιδίων (Peptide Receptor Radionuclide Therapy). Από τους πρώτους στόχους της ραδιοθεραπείας/απεικόνισης αποτελούν οι νευροενδοκρινικοί όγκοι (Neuroendocrine, NETs) έχοντας ως στόχο τους υποδοχείς της σωματοστατίνης.⁷

1.3 ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

Οι ανιχνευτικές διατάξεις που χρησιμοποιούνται στην Πυρηνική Ιατρική είναι οι κάμερες SPECT (Υπολογιστική Τομογραφία Μονοφωνικής Εκπομπής, Single Photon Emission Computed Tomography) και PET (Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων, Positron Emission Tomography). Παρά τις διαφορές του, και οι δύο αυτές διατάξεις έχουν ως βασική αρχή λειτουργίας την γ-κάμερα ή αλλιώς την Anger camera. Η πρώτη τέτοια κάμερα εφευρέθηκε από τον Hal Oscar Anger, το 1958 και έφερε επανάσταση στην επιστημονική κοινότητα καθώς κατέστησε δυνατή την απεικονιστική μελέτη με χρήση ραδιονουκλιδίων. Οι εικόνες που λαμβάνονται με αυτή τη συσκευή εμφανίζουν το υπό εξέταση όργανο σε δύο μόνο διαστάσεις, οπότε είναι αδύνατη η απόκτηση επαρκών πληροφοριών για παθολογικές καταστάσεις που βρίσκονται σε βάθος. Η εφεύρεση περιστρεφόμενης κάμερας γύρω από τον ασθενή, σε συνδυασμό με την ύπαρξη 3 ή 4 ανιχνευτών οδήγησαν σταδιακά στην ανακάλυψη της πρώτης SPECT κάμερας.⁸



Εικόνα 4. Η εξέλιξη της κάμερας SPECT. **a.** Ο Hal Anger με την πρώτη γ-κάμερα (1958). **b.** Ο David Kuhl με έναν από τους πρώτους τομογραφικούς σκάνερ (1968). **c.** Ο Ian Keyes με τον τομογραφικό σκάνερ Aberdeen (1972). **d.** Το σύστημα GE 400 T SPECT system (1983); **e.** GE διπλή κεφαλή Infinia Hawkeye (2006); **f.** GE Discovery NM530c (Alcyone) με CT (2009).⁸

Τα πλεονεκτήματά της SPECT είναι τα εξής:^{3, 8}

- α) Δίνει την δυνατότητα λήψης πληροφοριών σε τρεις διαστάσεις, ώστε να μπορεί να εντοπιστεί η θέση και να εκτιμηθεί η έκταση μιας αλλοίωσης σε μια περιοχή του σώματος ή μέσα στον ιστό του εκάστοτε οργάνου,
- β) Παρέχει τη δυνατότητα προσδιορισμού της ποσοστιαίας πρόσληψης της ραδιοφαρμακευτικής ένωσης σε μια οποιαδήποτε περιοχή του υπό μελέτη οργάνου καθώς και η απεικόνιση του οργάνου γίνεται σε τομείς,
- γ) Έχει τη δυνατότητα, μετά από επεξεργασία των δεδομένων με υπολογιστή, να αφαιρεθεί η ακτινοβολία υποστρώματος και έτσι να διασφαλιστεί μεγαλύτερη ακρίβεια μέτρησης και λήψη ευκρινέστερων απεικονίσεων.

Ραδιονουκλίδια για χρήση SPECT

Για απεικονίσεις με κάμερα SPECT χρησιμοποιούνται ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν μονοενεργειακή ακτινοβολία γ. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ραδιονουκλίδιο είναι το ^{99m}Tc για λόγους που θα αναλυθούν παρακάτω.

Πίνακας 2. Ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται στην SPECT.⁹

Ραδιονουκλίδιο	Χρόνος ημιζωής	Τρόπος παραγωγής
^{99m} Tc	6.02h	γεννήτρια Mo- ^{99m} Tc
¹²³ I	13.2h	κύκλοτρο
¹²⁵ I	60.1d	πυρηνικός αντιδραστήρας
¹¹¹ In	2.80d	κύκλοτρο
⁶⁷ Ga	3.26d	κύκλοτρο

Η PET ανιχνευτική διάταξη εκμεταλλεύεται τις μοναδικές ιδιότητες των ραδιονουκλιδίων που αποδιεγείρονται μέσω την ποζιτρονικής εκπομπής, αλλιώς γνωστής και ως β⁺ διάσπαση. Οι πυρήνες που διασπώνται κατά αυτόν τον τρόπο έχουν περίσσεια πρωτονίων, που τους καθιστά ιδιαίτερα ασταθείς. Η εν λόγω αστάθεια εξισορροπείται με την μετατροπή ενός πρωτονίου σε ένα νετρόνιο, που οδηγεί στον σχηματισμό ενός νετρίνου και εφόσον υπάρχει επαρκής ενέργεια, ένα ποζιτρόνιο. Το νεοσχηματισθέν βραχύβιο ποζιτρόνιο εκπέμπεται από τον πυρήνα και λόγω

ανελαστικών αλληλεπιδράσεων με ηλεκτρόνια, χάνει γρήγορα κινητική ενέργεια, επιβραδύνεται και συγκρούεται με ένα ηλεκτρόνιο (φαινόμενο *εξαϋλωσης*). Λόγω των αρχών διατήρησης ορμής και ενέργειας, η συνδυασμένη μάζα του πρωτονίου και του ηλεκτρονίου μετατρέπεται σε δύο φωτόνια με ενέργεια 511 keV έκαστο, που κινούνται αντιδιαμετρικά. Οι PET ανιχνευτές διατάσσονται σε ένα κλειστό δακτύλιο που περιβάλλει τον ασθενή και είναι σχεδιασμένοι να ανιχνεύσουν το φαινόμενο της εξαϋλωσης μέσω της ταυτόχρονης πρόσπτωσης φωτονίων σε αντιδιαμετρικούς ανιχνευτές.^{3, 8, 10}

Πίνακας 3. Ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται στην PET.⁹⁻¹¹

Ραδιονουκλίδιο	Χρόνος ημιζωής	Τρόπος παραγωγής
^{11}C	20.4 min	κύκλοτρο
^{13}N	9.98 min	κύκλοτρο
^{15}O	2.03 min	κύκλοτρο
^{18}F	109.8 min	κύκλοτρο, ευθύγραμμος επιταχυντής σωματιδίων
^{68}Ga	68.3 min	γεννήτρια ^{68}Ge - ^{68}Ga
^{122}I	3.62 min	γεννήτρια ^{122}Xe - ^{122}I
^{124}I	6019.2 min	κύκλοτρο

Ένα κοινό μειονέκτημα και των δύο απεικονιστικών ανιχνευτικών διατάξεων SPECT και PET αποτελεί η έλλειψη ενός ανατομικού πλαισίου αναφοράς. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει συζεύξεις των συστημάτων SPECT και PET με όργανα όπως CT (Computed Tomography) και MRI (Magnetic Resonance Imaging).⁸



Εικόνα 5. Σημερινή εικόνα των διατάξεων SPECT (αριστερά) και PET(δεξιά).

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΡΗΝΙΟΥ (Re) ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc)

Ο Ρώσος χημικός Mendeleev είχε ήδη από το 1880 προβλέψει την ύπαρξη του τεχνητίου και του ρηνίου στον περιοδικό πίνακα.^{12, 13}

Reihen	Gruppe I. — R ⁰	Gruppe II. — R ⁰	Gruppe III. — R ⁰	Gruppe IV. RH ⁴ R ⁰	Gruppe V. RH ⁵ R ⁰	Gruppe VI. RH ⁶ R ⁰	Gruppe VII. RH ⁷ R ⁰	Gruppe VIII. — R ⁰
1	II=1							
2	Li=7	Be=9,4	B=11	C=12	N=14	O=16	F=19	
3	Na=23	Mg=24	Al=27,3	Si=28	P=31	S=32	Cl=35,5	
4	K=39	Ca=40	—=44	Ti=48	V=51	Cr=52	Mn=55	Fe=56, Co=59, Ni=59, Cu=63.
5	(Ca=63)	Zn=65	—=68	—=72	As=75	Se=78	Br=80	
6	Rb=85	Sr=87	?Yt=88	Zr=90	Nb=94	Mo=96	—=100	Ru=104, Rh=104, Pd=106, Ag=108.
7	(Ag=108)	Cd=112	In=113	Su=118	Sb=122	Tc=125	J=127	
8	Cs=133	Ba=137	?Di=138	?Ce=140	—	—	—	—
9	(—)	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	?Er=178	?La=180	Ta=182	W=184	—	Os=195, Ir=197, Pt=198, Au=199.
11	(Au=199)	Hg=200	Tl=204	Pb=207	Bi=208	—	—	—
12	—	—	—	Th=231	—	U=240	—	—

Εικόνα 6. Πρώτος περιοδικός πίνακας Mendeleev και η πρόβλεψη της ανακάλυψης της ύπαρξης του Tc.¹²

2.1 ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc)

Το *τεχνήτιο*, Tc, αποτελεί το πρώτο στοιχείο που η τεχνητή του παρασκευή προηγήθηκε της ανακάλυψης του στη φύση και σήμερα είναι το ραδιονουκλίδιο που χρησιμοποιείται περισσότερο στις απεικονίσεις SPECT. Το *τεχνήτιο* ανήκει στη 5^η περίοδο και στη 2^η σειρά των στοιχείων μετάπτωσης. Διαθέτει επτά ηλεκτρόνια στην εξωτερική στιβάδα, με ηλεκτρονιακή δομή [Kr]4d⁵5s².¹³

Η πρώτη ανακοίνωση ανακάλυψης του στοιχείου με ατομικό αριθμό 43 έγινε το 1925 από τους Noddack και Tacke. Μετά από απομόνωση του και βασιζόμενοι σε φάσμα ακτίνων-X παρουσίασαν τα αποτελέσματά τους στην επιστημονική κοινότητα, ονομάζοντας το masurium (Ma) από περιοχή στη Πρωσία που ο Noddack είχε γεννηθεί. Ωστόσο, την ανακοίνωση αυτή διαδέχθηκε αρκετός σκεπτικισμός μιας και καμία άλλη ερευνητική ομάδα δεν μπόρεσε να απομονώσει το στοιχείο με αριθμό 43. Η επίσημη ανακάλυψη



Εικόνα 7. Walter Noddack (αριστερά) και Ida Tacke (δεξιά)

και απομόνωση του, έγινε περίπου την ίδια περίοδο από τους Emilio Gino Segre και Carlo Perrier όταν παρέλαβαν τμήματα από το πρώτο κύκλοτρο του Ernest Lawrence από το Εργαστήριο Ραδιενέργειας στο Berkeley της Καλιφόρνια. Πράγματι, μετά από σειρά αναλύσεων ανακάλυψαν το στοιχείο με αριθμό 43. Μετά από αυτήν την ανακάλυψη ο E. Segre απευθύνθηκε στους Noddack και Tacke, με σκοπό τη σύγκριση των αποτελεσμάτων τους, ωστόσο το δίδυμο των ερευνητών δεν έδωσε ικανοποιητική απάντηση καθώς αποφάνθηκαν πως το φάσμα ακτίνων-X είχε χαθεί.^{1, 13}



Εικόνα 8. Ο Emilio Segre (αριστερά) και ο Carlo Perrier (δεξιά).¹

Το στοιχείο με τον αριθμό 43 άργησε αρκετά να πάρει όνομα, μέχρι τις 4 Ιανουαρίου του 1947, όπου πήρε το όνομα τεχνήτιο (technetium, Tc), από την ελληνική λέξη “τεχνητός”, λόγω του ότι ήταν το πρώτο ισότοπο που παράχθηκε τεχνητά και δεν ανακαλύφθηκε στη φύση. Οι μελέτες που ακολούθησαν τα επόμενα χρόνια απέδειξαν πως η δυσκολία απομόνωσης του από φυσικά πετρώματα εξηγείται από τη χαμηλή του συγκέντρωση.

Αργότερα, οι ισχυρισμοί των Noddack και Tacke ήρθαν ξανά στο προσκήνιο όταν ο J. Armstrong διεξήγαγε σειρά από υπολογιστικές μεθόδους και μέσω αλγορίθμων κατάφερε να προσομοιάσει το φάσμα X- ακτίνων που θα μπορούσαν να αποκτήσουν οι Noddack και Tacke με τις τότε υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις. Παρ’ όλα αυτά η συγκεκριμένη δημοσίευση αντιμετωπίστηκε με σκεπτικισμό και τα εύσημα για την ανακάλυψη του στοιχείου με τον αριθμό 43 απέμειναν στους Emilio Gino Segre και Carlo Perrier.¹⁴

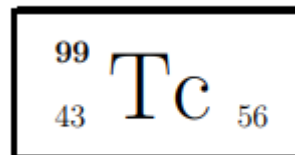
2.1.1 ΙΣΟΤΟΠΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η παραγωγή του είναι τεχνητή, μιας και στη φύση απαντάται σε ιχνοποσότητες. Τα πρώτα τεχνητά ισότοπα που ανακαλύφθηκαν ήταν τα ^{97}Tc και ^{99}Tc , ενώ τα μακροβιότερα ισότοπά του είναι το ^{97}Tc (χρόνος ημιζωής 4,21 εκ. χρόνια), το ^{98}Tc (χρόνος ημιζωής 4,2 εκ. χρόνια) και το ^{99}Tc (χρόνος ημιζωής 211.00 χρόνια). Γενικά, υπάρχουν ισότοπα του τεχνητίου, πλήρως χαρακτηρισμένα, με ατομική μάζα από το ^{85}Tc έως το ^{120}Tc . Επίσης, το τεχνητίο

έχει αρκετές meta- καταστάσεις, με τις πιο σταθερές του ^{97m}Tc (χρόνος ημιζωής 91 ημέρες, του ^{95m}Tc (χρόνος ημιζωής 61 μέρες και του ^{99m}Tc (χρόνος ημιζωής 6,02 ώρες).

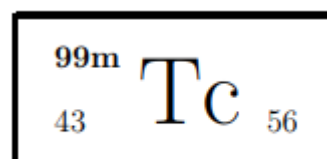
^{99}Tc

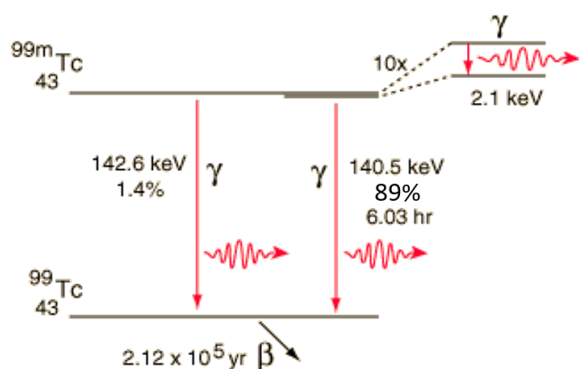
Το ^{99}Tc αποτελεί ένα από τα μακροβιότερα ισότοπα του τεχνητίου, το οποίο εκπέμποντας ασθενή β^- ακτινοβολία μεταπίπτει στο σταθερό ^{99}Ru . Επιπλέον, η ασθενής β ακτινοβολία που εκπέμπει έχει κυτταροτοξική δράση. Ο τρόπος παραγωγής του προϋποθέτει την ύπαρξη πυρηνικού αντιδραστήρα.¹⁵



^{99m}Tc

Το ^{99m}Tc αποτελεί ένα ραδιονουκλίδιο γ ακτινοβολίας ($E_\gamma=141$ keV, 89%, $t_{1/2}=6.02$ ώρες), που είναι το πιο ευρέως διαδεδομένο ισότοπο του τεχνητίου και το περισσότερο διαδεδομένο στην Πυρηνική Ιατρική.¹⁶ Εκπέμπει γ ακτινοβολία και μεταπίπτει στη κατάσταση του ^{99}Tc . Συγκεκριμένα, η μετασταθερή κατάσταση του ^{99m}Tc βρίσκεται 0,1427 MeV πάνω από τη σταθερή κατάσταση του ^{99}Tc και εκπέμπει τρία γάμμα φωτόνια γ_1, γ_2 και γ_3 , με ακτινοβολία 2.1 keV, 140.5 keV και 142.6 keV MeV αντίστοιχα (Εικόνα xxx.). Από αυτά τα τρία φωτόνια, αυτό που βρίσκεται σε αφθονία είναι το γ_2 , που εκπέμπεται κατά 89% σε κάθε πυρηνική μετάπτωση και είναι το κύριο φωτόνιο που ανιχνεύεται από τις SPECT ανιχνευτικές διατάξεις κατά τη διάρκεια μιας σπινθηρογραφικής απεικόνισης.^{15, 17}

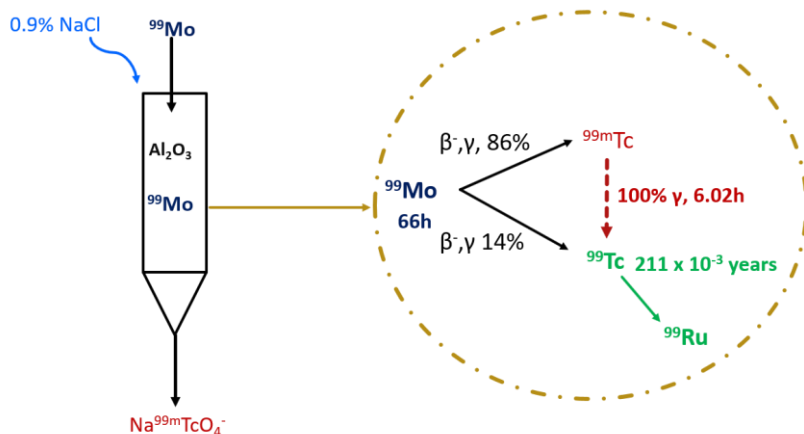




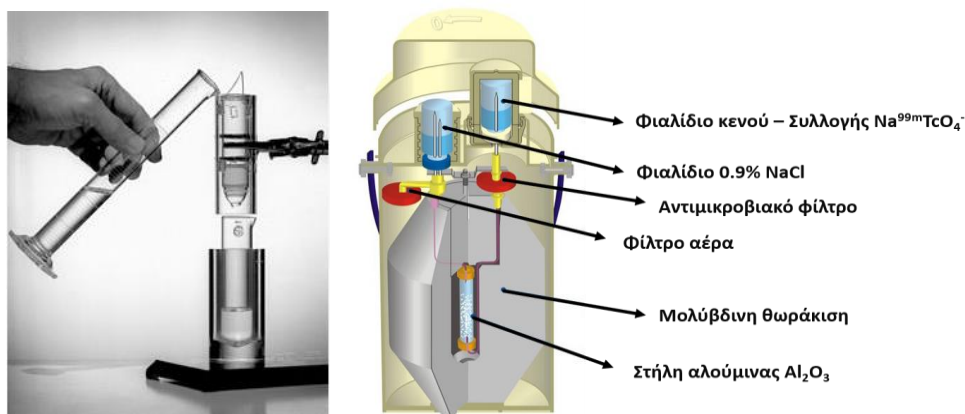
Εικόνα 9. Σχηματική απεικόνιση της διάσπασης του ^{99m}Tc .¹⁵

Ο τρόπος παραγωγής του είναι ιδιαίτερα απλός και αποτελεί έναν από τους βασικούς λόγους για τους οποίους το ^{99m}Tc είναι το πιο διαδεδομένο ραδιονουκλίδιο στην Πυρηνική Ιατρική. Συγκεκριμένα, η παραγωγή του είναι αποτέλεσμα εφαρμογής ενός απλού χρωματογραφικού διαχωρισμού, δεν απαιτεί την ύπαρξη πυρηνικού αντιδραστήρα ή κύκlotρου καθώς μπορεί να παραχθεί μέσω μιας γεννήτριας. Η ιδέα της γεννήτριας προέκυψε από τη φυσική μετατροπή του ^{99}Mo στο επιθυμητό ισότοπο ^{99m}Tc , με τη πάροδο του χρόνου και στον μετέπειτα χρωματογραφικό τους διαχωρισμό. Η πρώτη τέτοια γεννήτρια δημιουργήθηκε κατά λάθος από τους Walter Tucker και Margaret Greene, όταν το 1950 στο Brookhaven National Laboratory (BNL), σε μια γεννήτρια tellurium-132/iodine-132 βρέθηκε ως πρόσμιξη το ^{99m}Tc , λόγω της ύπαρξης του ^{99}Mo που ήταν παρόν ως παραπροϊόν της χημείας διαχωρισμού του τελλουρίου. Έτσι, το 1957 διαμορφώθηκε μια νέα γεννήτρια που περιλάμβανε το ^{99}Mo ως το μητρικό ισότοπο (parent isotope) και ως το ^{99m}Tc ως το θυγατρικό ισότοπο (daughter isotope).

Συγκεκριμένα, το ^{99}Mo αποτελεί προϊόν σχάσης του ^{235}U . Στη συνέχεια, το “καθαρό” ^{99}Mo οξινίζεται, σχηματίζοντας πολλά ανιονικά είδη, όπως τα MoO_4^{2-} . Το διάλυμα ανιονικών ειδών μολυβδαινίου φορτώνονται στη στήλη, η οποία περιέχει Al_2O_3 και προσροφόνται σε αυτήν λόγω του ότι είναι θετικά φορτισμένα. Για την έκλυση των υπερτεχνητικών ιόντων ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) χρησιμοποιείται διάλυμα NaCl 0,9% (φυσιολογικός ορός). Ο διαχωρισμός των υπερτεχνητικών και κατά συνέπεια η έκλυση τους από την γεννήτρια προκύπτει ως αποτέλεσμα της διαφοράς στη συγγένεια που έχουν τα ιόντα ($\text{MoO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > ^{99m}\text{TcO}_4^-$) με την αλούμινα (Al_2O_3).^{15, 17, 18}

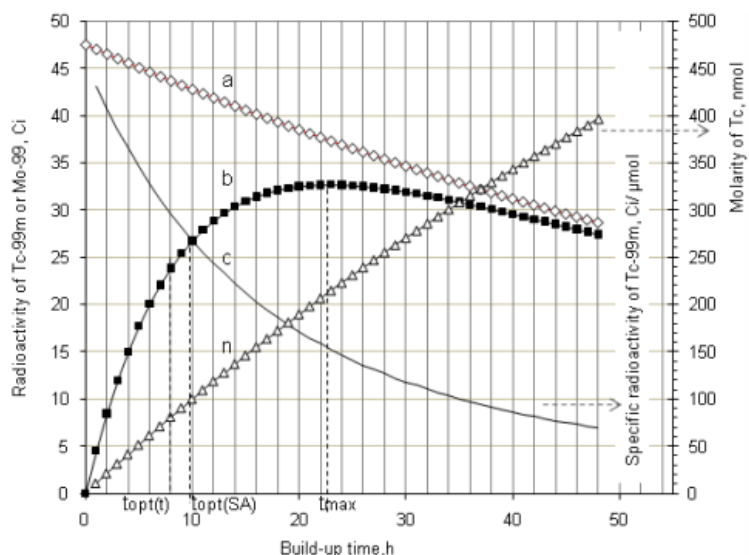


Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση της ραδιενεργής διάσπασης και της έκλουσης στη γεννήτρια $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$.¹⁵



Εικόνα 11. Μία από τις πρώτες γεννήτριες (αριστερά) και μία σημερινή γεννήτρια και τα μέρη που αποτελείται (δεξιά).

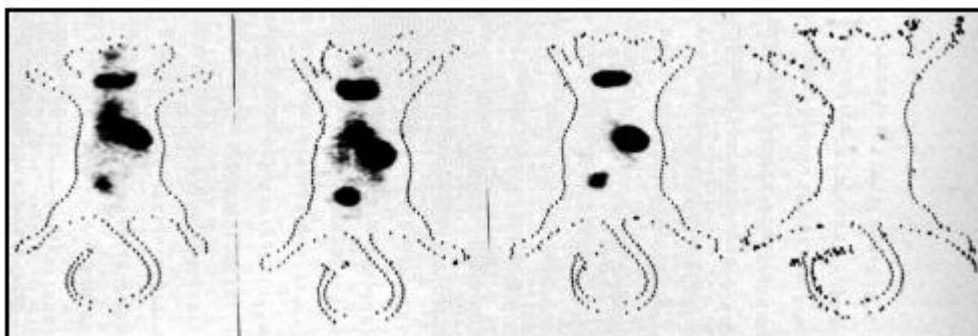
Χρειάζονται περίπου 5 ml για την έκλουση της γεννήτριας, αλλά αυτό ποικίλει ανάλογα με την ενεργότητα της γεννήτριας. Η μέγιστη $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ενεργότητα παρατηρείται εντός 23 ωρών μετά την πρώτη έκλουση, ωστόσο το 50% της μέγιστης ενεργότητας παρουσιάζεται 5-6 ώρες μετά την έκλουση. Γι' αυτό τον λόγο, η γεννήτρια πρέπει να εκλούεται σε τακτά χρονικά διαστήματα για να συγκεντρωθεί μεγαλύτερη ποσότητα υπερτεχνητικών. Στην ουσία, παρατηρείται μείωση της ραδιενέργειας του ^{99}Mo και ταυτόχρονη αύξηση της ραδιενέργειας του $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ενώ μετά από κάθε έκλουση αναγεννάται το $^{99\text{m}}\text{Tc}$ από το ^{99}Mo . Ωστόσο, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως μία ποσότητα του ^{99}Mo μετατρέπεται και σε ^{99}Tc , και ως συνέπεια παραλαμβάνεται κατά την έκλουση με τα υπερτεχνητικά.¹⁵



Εικόνα 12. Σχηματική αναπαράσταση της διάσπασης του ^{99}Mo και της γέννησης του $^{99\text{m}}\text{Tc}$. α): ενεργότητα του ^{99}Mo , β): ενεργότητα του $^{99\text{m}}\text{Tc}$, γ): ειδική ραδιενέργεια του $^{99\text{m}}\text{Tc}$ η): συνολικός αριθμός ατόμων N του Tc ¹⁹

Αξίζει να αναφερθεί πως από την πρώτη ανακάλυψη της γεννήτριας $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ έχουν προταθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες διαφορετικά πληρωτικά υλικά στη χρωματογραφική στήλη. Στόχος αυτών των ερευνών αποτελεί αφενός η καλύτερη προσροφητική ικανότητα του πληρωτικού υλικού στο ^{99}Mo και αφετέρου η αυξημένη απόδοση της έκλουσης του $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Συγκεκριμένα, η προσροφητική ικανότητα της Al_2O_3 στα MoO_4^{2-} είναι αρκετά μικρή και περιορίζεται σε 2-20 mg Mo ανά 1 g Al_2O_3 . Έτσι, έχουν προταθεί υλικά που περιλαμβάνουν πολυμερή (PZC: ZrCl_4 και isopropyl alcohol)²⁰ αλλά και νανοπολυμερή ($t\text{-ZrO}_2$) με σκοπό την αύξηση της προσρόφησης του ^{99}Mo .²¹

Μία από τις πρώτες εφαρμογές των υπερτεχνητικών για απεικόνιση έγινε από τον Harper στο University of Chicago, όπου ενδοφλέβια χορηγήθηκε ποσότητα υπερτεχνητικών σε ποντίκια και παρατηρήθηκε συγκέντρωσή τους στο θυροειδή αδένα. (Εικόνα 13.) Αυτή η μελέτη μεταφέρθηκε και σε επίπεδο ανθρώπου όπου αποδείχθηκε η απεικόνιση των ίδιων σημείων του ανθρώπινου σώματος μέσω των υπερτεχνητικών. (Εικόνα 14.)¹⁵



Εικόνα 13. Σειρά από απεικονίσεις σε ποντίκια σε χρόνους 10 λεπτά, 1 ώρα, 6 ώρες και 24 ώρες (από αριστερά προς τα δεξιά), μετά από ενδοφλέβια χορήγηση $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$.¹⁵



Εικόνα 14. Ολική απεικόνιση ανθρώπινου σώματος μετά από ενδοφλέβια χορήγηση 10 mCi (370 MBq) $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$.¹⁵

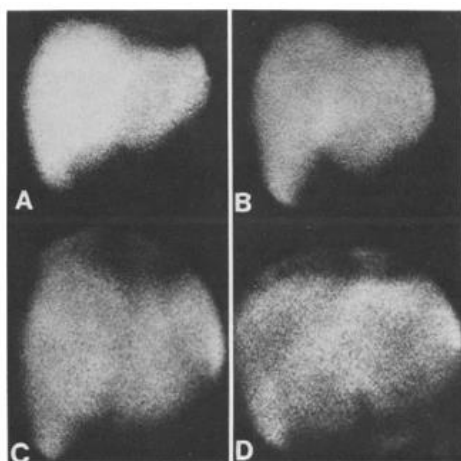
2.1.2 ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΑ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99m

Σήμερα το 85% των διαγνωστικών ραδιοφαρμάκων στην Πυρηνική Ιατρική απαρτίζεται αποκλειστικά από ραδιοφάρμακα του $^{99\text{m}}\text{Tc}$, το οποίο αποτελεί το πιο ευρέως διαδεδομένο ισότοπο

στη Ραδιοφαρμακευτική Χημεία. Οι λόγοι που καθιστούν τα ραδιοφάρμακα του ^{99m}Tc τόσο διαδεδομένα προκύπτουν από τις χαρακτηριστικές ιδιότητες του ραδιονουκλιδίου, καθώς: i) διαθέτει αρκετό χρόνο ημιζωής (6,02 ώρες) που επιτρέπει την απόκτηση μιας σπινθηρογραφικής απεικόνισης (μεγαλύτερους χρόνους από ότι τα ισότοπα που χρησιμοποιούνται στην PET απεικόνιση) και διαθέτει ελάχιστο χρόνο ημιζωής, ώστε να μην επιβαρυνθεί ο οργανισμός του ασθενή, iii) άμεση παραγωγή του μέσω μιας γεννήτριας και iv) παρέχει τη δυνατότητα σύνθεσης “ψυχρών” kit, όπου περιέχονται τα λοιπά “ψυχρά” συστατικά του ραδιοφαρμάκου για τη μετέπειτα σύνθεση του.¹⁶

Το ^{99m}Tc στα ραδιοφάρμακα του χρησιμοποιείται σε αρκετά μικρή συγκέντρωση (10^{-6} - 10^{-7}) και είναι ικανό να ανιχνεύσει μικροαλλαγές στον οργανισμό, σε τάξεις μεγέθους αρκετά μικρές (nanomolar, subnanomolar level). Τα ραδιοφάρμακα του τεχνητίου-99m κατατάσσονται σε 3 κατηγορίες ανάλογα με την ανακάλυψη τους χρονικά αλλά και τα κριτήρια του σχεδιασμού τους: i) στα ραδιοφάρμακα της 1^{ης} γενιάς ii) στα ραδιοφάρμακα της 2^{ης} γενιάς και τέλος iii) στα ραδιοφάρμακα της 3^{ης} γενιάς.^{22, 23}

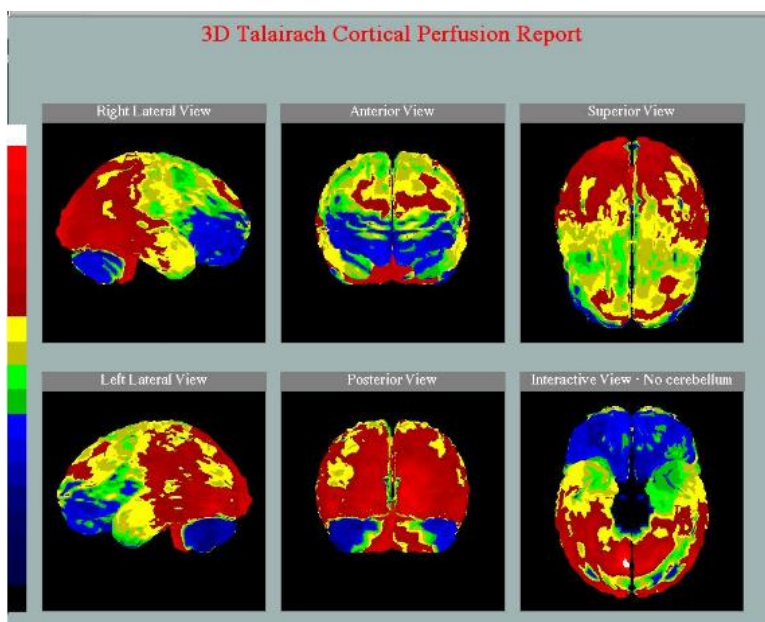
Η πλειονότητα ραδιοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται σήμερα κλινικά ανήκουν στην 1^η γενιά που αναπτύχθηκαν τη δεκαετία του 70'. Σε αυτή τη κατηγορία ανήκουν τα ραδιοφάρμακα των οποίων η δομή δεν είναι γνωστή μέχρι και σήμερα. Χαρακτηριστικό της γενιάς είναι ότι τα συγκεκριμένα ραδιοφάρμακα δεν δρουν μέσω ενός μοριακού μηχανισμού (πχ. σύνδεση με υποδοχέα). Ένα παράδειγμα είναι η χρήση κολλοειδών, όπως τα $^{99m}\text{Tc}_2\text{S}_7$, καθώς το 80-85% των κολλοειδών έχει την τάση να συγκεντρώνεται στο συκώτι.²⁴



Εικόνα 15. Απεικονίσεις από ήπαρ πειραματόζωου μετά από χορήγηση $^{99m}\text{Tc}_2\text{S}_7$ όπου φαίνεται η σταδιακή μείωση της ραδιενέργειας στο υγιές ήπαρ (A), σε ελαφριά μορφή ηπατικής βλάβης (B), σε μέτρια μορφή ηπατικής βλάβης (C), σε βαριά. μορφή ηπατικής βλάβης (D).²⁴

Άλλα ραδιοφάρμακα της πρώτης γενιάς αποτελούν το ^{99m}Tc -medronate (απεικόνιση οστών, απεικόνιση αρτηριακής αβεστοποίησης) και το ^{99m}Tc -sulesomab (απεικόνιση μολύνσεων σε ασθενείς με οστεομυελίτιδα, **LeukoScan®**).

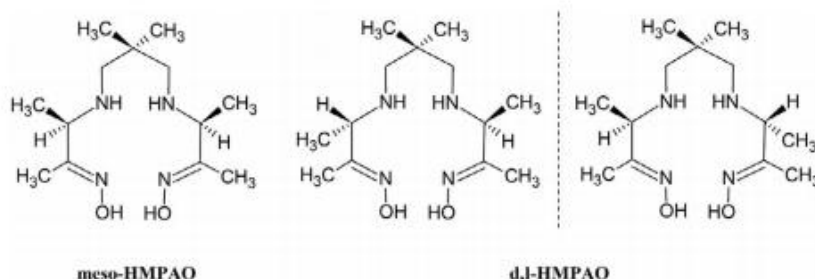
Στη δεύτερη γενιά των ραδιοφαρμάκων, στη δεκαετία του 1980 ανήκουν τα ραδιοφάρμακα γνωστής δομής και γεωμετρίας.^{22, 23} Ένα παράδειγμα ραδιοφαρμάκου δεύτερης γενιάς αποτελεί το ^{99m}Tc -HMPAO. Το εν λόγω ραδιοφάρμακο είναι λιπόφιλο και έχει την ικανότητα να διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, συνεπώς χρησιμοποιείται για τη διάγνωση παθολογικών καταστάσεων του ΚΝΣ (σχιζοφρένεια, Νόσος του Αλτσχάιμερ και άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες), καθώς συγκεντρώνεται στις περιοχές του εγκεφάλου ανάλογα με την αιματική ροή. Η αυξημένη συγκέντρωσή του στον εγκέφαλο οφείλεται στη διάσπασή του σε «υδρόφιλο/α σύμπλοκο/α», λόγω της γλουταθειόνης.²⁵ Ωστόσο, η φύση των κυττάρων στα οποία γίνεται η μετατροπή και η μετέπειτα παγίδευση του, δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί αν και υπάρχει έρευνα που υποστηρίζει πως τα αστροκύτταρα είναι αυτά που συμμετέχουν στον παραπάνω μηχανισμό (astrocytes).²⁶



Εικόνα 16. Απεικόνιση εγκεφάλου σε ασθενή με νευροεκφυλιστική ασθένεια μετά από χορήγηση του ^{99m}Tc -HMPAO όπου φαίνεται η μικρή συσσώρευση ραδιενέργειας (χρώμα μπλε) σε συγκεκριμένη περιοχή του φλοιού του εγκεφάλου (frontotemporal cortical area).²⁷

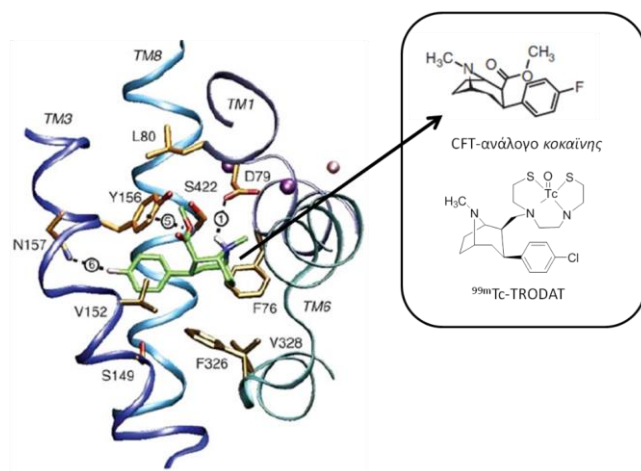
Μια αρκετά ενδιαφέρουσα παρατήρηση που δείχνει την εξειδίκευση των ραδιοφαρμάκων αποτελεί η διαφορά πρόσληψης του εγκεφάλου στις διαφορετικές μορφές διαστερομερών του ^{99m}Tc -HMPAO. Το HMPAO κατά τη σύνθεση του μπορεί να έχει τρεις μορφές (μεσο-HMPAO, d-

HMPAO, l-HMPAO), αφού διαθέτει δύο χειρόμορφα κέντρα. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί πως το ρακεμικό μίγμα d- και l- δίνει διαφορετική πρόσληψη στον εγκέφαλο (4,1%), ενώ το μεσο-HMPAO έχει αισθητά μικρότερη ικανότητα διαπέρασης του BBB (1,7%), γιατί δεν διασπάται από τη γλουταθειόνη.²⁸

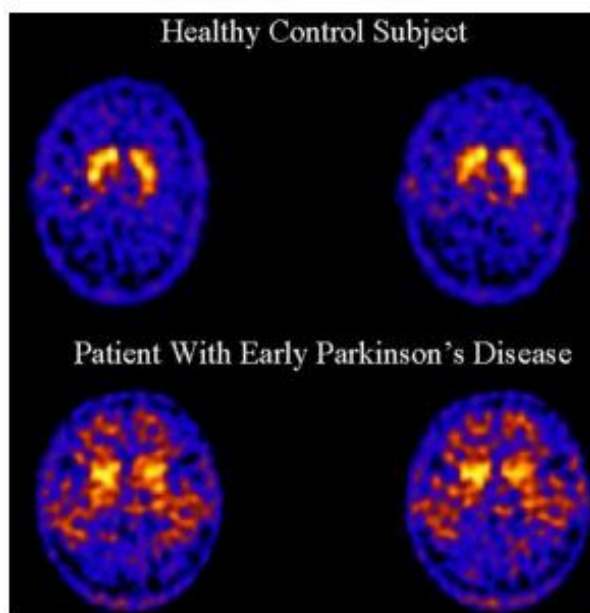


Εικόνα 17. Διαστεreoμερή του HMPAO.²⁹

Στη δεκαετία του 1990 η Ραδιοφαρμακευτική προσανατολίστηκε στη σύνθεση ραδιοφαρμάκων με στόχο συγκεκριμένους υποδοχείς ή μεταφορείς πρωτεϊνών, ανοίγοντας τον δρόμο για τη νεότερη γενιά των ραδιοφαρμάκων που ονομάζεται τρίτη γενιά. Ένα από τα πιο σημαντικά ραδιοφάρμακα της τρίτης γενιάς που παρουσιάζει εκλεκτική σύνδεση με κάποιο βιολογικό μόριο αποτελεί το ^{99m}Tc-TRODAT, που παρουσιάστηκε το 1995 από τον Hank F. Kung. Το ^{99m}Tc-TRODAT χρησιμοποιείται για την εκλεκτική απεικόνιση των ντοπαμινεργικών νευρώνων και συγκεκριμένα των μεταφορέων ντοπαμίνης (Dopamine Transporters, DATs), σε διάφορες νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως το Πάρκινσον.³⁰⁻³² Το ^{99m}Tc-TRODAT φέρει ένα ανάλογο κοκαΐνης και αν και η απόλυτη ερμηνεία σύνδεσής του με τους DATs δεν είναι πλήρως κατανοητή, έχουν προταθεί αρκετά μοντέλα που προσπαθούν να ερμηνεύσουν τους τύπους αλληλεπίδρασης του τροπανικού δακτυλίου και των υποκαταστατών του με τις πρωτεΐνες.³³⁻³⁷

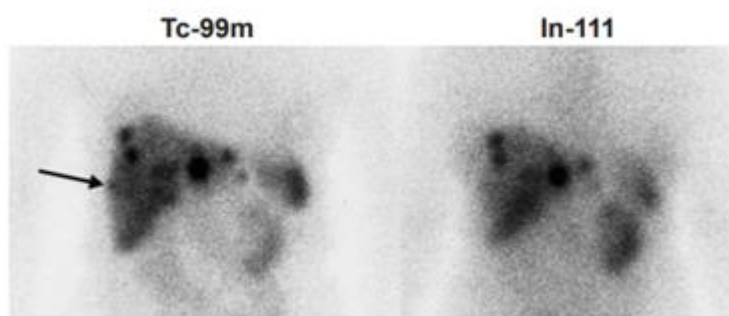


Εικόνα 18. Τρόποι αλληλεπίδρασης του αναλόγου κοκαΐνης, που προσομοιάζει το ^{99m}Tc-TRODAT.³⁶



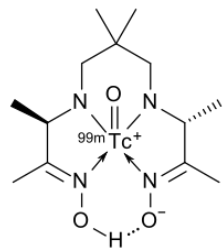
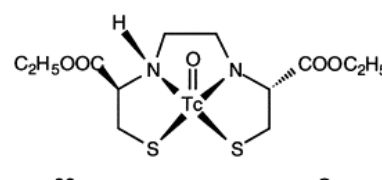
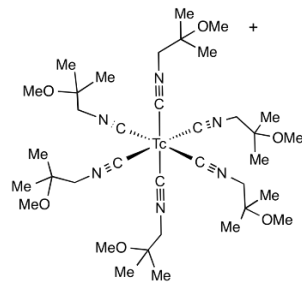
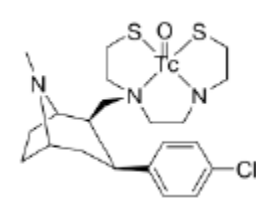
Εικόνα 19. Απεικονίσεις σε υγιή εθελοντή και σε ασθενή σε πρόωρο στάδιο PD.³²

Ένα άλλο ραδιοφάρμακο τρίτης γενιάς αποτελεί το ^{99m}Tc -HYNICEDDA-TOC που έχει την ικανότητα να προσδένεται εκλεκτικά στον υποδοχέα σωματοστατίνης, που υπερεκφράζεται σε καρκινικούς όγκους.³⁸ Το συγκεκριμένο ραδιοφάρμακο ήρθε μάλιστα να αντικαταστήσει ένα ήδη υπάρχον, το ^{111}In -octreotide, το οποίο διαθέτει ραδιονουκλίδιο χαμηλής διαθεσιμότητα, υψηλού κόστους, υψηλής ραδιενέργειας στον ασθενή και δίνει απεικονίσεις με χαμηλή ανάλυση.³⁹



Εικόνα 20. Δομή του ραδιοφαρμάκου ^{99m}Tc -HYNICEDDA-TOC (αριστερά) και απεικονίσεις σε ασθενή με αδένωμα μετά από 4 ώρες χορήγησης με ^{99m}Tc -HYNICEDDA-TOC (Tc-99m) και με ^{111}In -octreotide (In-111), όπου φαίνεται η βελτίωση της εικόνας στην περίπτωση του ^{99m}Tc -HYNICEDDA-TOC (δεξιά).³⁹

Πίνακας 4. Ενδεικτικά παραδείγματα ραδιοφαρμάκων της κάθε μίας γενιάς.

Γενιές ραδιοφαρμάκων	Γενιές ραδιοφαρμάκων
1 ^η	$^{99m}\text{TcO}_4^-$, $^{99m}\text{Tc}_2\text{S}_7$, $^{99m}\text{Tc-mdp}$
2 ^η	$^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ 
	$^{99m}\text{Tc-ECD}$ 
	$^{99m}\text{Tc-sestamibi}$ 
3 ^η	$^{99m}\text{Tc-TRODAT}$ 

2.1.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΑΘΜΙΔΕΣ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ

Το τεχνητίο στον Περιοδικό Πίνακα βρίσκεται ανάμεσα στο μαγγάνιο (Mn) και το ρήνιο (Re), ωστόσο η χημεία του είναι παρόμοια με αυτή του ρηνίου (Re). Το τεχνητίο ανήκει στα μέταλλα μετάπτωσης, στην ομάδα VII B και διαθέτει επτά (7) ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα. Συγκεκριμένα, στην οξειδωτική βαθμίδα 0 (Tc^0) τα εξωτερικά του ηλεκτρόνια καταναίμονται ως: 4d και 5s (d^7). Από αυτήν την οξειδωτική κατάσταση το τεχνητίο μπορεί να χάσει τα 7 εξωτερικά του ηλεκτρόνια και να μεταπέσει στην οξειδωτική κατάσταση +7 (d^0), μια κατάσταση που συναντάται στα υπερτεχνητικά (TcO_4^-). Η συγκεκριμένη μορφή του τεχνητίου αποτελεί και την πιο σταθερή του μορφή σε υδατικά διαλύματα, ωστόσο το τεχνητίο μπορεί να βρεθεί και στις υπόλοιπες 6 οξειδωτικές του βαθμίδες. Για παράδειγμα, ραδιοχημικές μελέτες έχουν δείξει πως το τεχνητίο ανάγεται σε $Tc(V)$ με τη μορφή $[TcOCl_4]^-$ σε ψυχρό διάλυμα HCl, ενώ σε $Tc(VI)$ σε θερμό διάλυμα HCl. Ως αναγωγικός παράγοντας, αρχικά χρησιμοποιείτο το ασκορβικό οξύ, ωστόσο η χρήση του αντικαταστάθηκε από άλλους αναγωγικούς παράγοντες όπως το $NaBH_4$, γιατί προκαλούσε μερική αναγωγή.

Η οξειδωτική κατάσταση του Tc και η σταθερότητα των ενώσεων του Tc ελέγχονται από παράγοντες όπως το pH, το είδος του αναγωγικού και τη φύση των υποκαταστατών που περιέχονται σε ένα kit.¹⁵

2.2 ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑ ΡΗΝΙΟΥ (Re)

Το ρήνιο αποτελεί το 75^ο στοιχείο του Περιοδικού Πίνακα, με ηλεκτρονιακή δομή $[Xe]4f^{14}5d^56s^2$. Η ανακάλυψη του ρηνίου (Rhenium, Re), έγινε από το επιστημονικό δίδυμο Ida Tacke και Walter Noddack. Πράγματι, μαζί με την ανακοίνωση της ανακάλυψης του τεχνητίου το 1925, οι Tacke-Noddack σε συνεργασία με τον Berg ανακοίνωσαν την ανακάλυψη του στοιχείου με αριθμό 75. Συγκεκριμένα, κατάφεραν να απομονώσουν το στοιχείο 75 από δείγμα κολουμπίτη (οξειδίου του σιδήρου και νιοβίου) από την Νορβηγία και να το ταυτοποιήσουν μέσω φάσματος ακτίνων-X. Το ονόμασαν ρήνιο από τον ποταμό Ρήνο και στη συνέχεια κατάφεραν να απομονώσουν μεγάλες

22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe
40 Zr	41 Nb	42 Mo	43	44 Ru
72 Hf	73 Ta	74 W	75	76 Os

Εικόνα 21. Τα γειτονικά στοιχεία του ρηνίου και του τεχνητίου τα οποία οι Tacke-Noddack χρησιμοποίησαν για την απομόνωσή των επιθυμητών στοιχείων.¹

ποσότητες ρηνίου επιβεβαιώνοντας την αρχική τους ανακοίνωση. Μάλιστα, τον Ιούνιο του 1925 κατέθεσαν πατέντα απομόνωσης του ρηνίου από μεταλλεύματα που περιλάμβανε την διάλυση του μεταλλεύματος και την καταβύθισή του ρηνίου ως σουλφονικά. Κατάφεραν να βελτιώσουν τόσο πολύ την απόδοση απομόνωσης, που στο τέλος κατάφεραν να απομονώνουν 1 gr ρηνίου από 660kg από μολυβδαινίτη, μία ποσότητα που τη χρησιμοποίησαν για τον πλήρη χαρακτηρισμό του στοιχείου, με τα τότε δεδομένα της εποχής.¹

Σήμερα, προς επιβεβαίωση της δυσκολίας απομόνωσης του ρηνίου είναι γνωστό πως το ρήνιο αποτελεί ένα πολύ μικρό μέρος του φλοιού της γης, σε μία συγκέντρωση μόλις $7 \times 10^{-8} \%$, 0,7 ppm. Απαντάται στη φύση ως μίγμα δύο ισοτόπων, των ^{185}Re και ^{187}Re . Το συντηγμένο ρήνιο διαθέτει μια ασημί-λευκή λάμψη και το κονιοποιημένο είναι ασημί-γκρι. Το ^{185}Re αποτελεί το σταθερό και μη ραδιενεργό ισότοπο του ρηνίου και αποτελεί το 37,07%, ενώ το ^{187}Re είναι ασταθές ισότοπο με χρόνο ημιζωής 10^{11} χρόνια και αποτελεί το 62,93%. Εκμεταλλευόμενοι τις μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες του ^{185}Re (σημείο βρασμού: 5870°C, σημείο τήξεως: 3180 °C) έχει βρει μια πληθώρα από εφαρμογές. Μεταξύ αυτών είναι η χρήση σε υπερκράματα υψηλής θερμοκρασίας για τη χρήση σε κινητήρες τζετ (χρήση του 70% της ολικής του παραγωγής), χρήση ως καταλύτες Pt-Re για παραγωγή βενζίνης υψηλού οκτανίου χωρίς παρουσία Pb, χρήση για την παραγωγή θερμοηλεκτρικών υλικών ως W-Re ή Mo-Re και τέλος χρήση ως υλικά για την άνοδο των μηχανημάτων X-ray.⁴⁰ Από την άλλη, το ασταθές ^{187}Re , που χαρακτηρίστηκε μόλις το 1947 από τους Naldrett και Libby, λόγω του μακρόβιου χρόνου ημιζωής του βρίσκει εφαρμογές στην Γεωφυσική και συγκεκριμένα στην Γεωχρονολογία (Geochronology) εκμεταλλευόμενοι τη σταδιακή του μετάπτωση στο ^{187}Os για τη χρονολογική μέτρηση πετρωμάτων στο φλοιό της γης (Re-Os geochronology).⁴¹

Δύο από τα πιο σημαντικά ισότοπα που χρησιμοποιούνται στην Πυρηνική Ιατρική εξαιτίας της β⁻ ακτινοβολίας είναι τα ^{186}Re και ^{188}Re . Το ^{186}Re παράγεται με χαμηλή ειδική ενεργότητα έπειτα από ακτινοβόληση του ^{185}Re με νετρόνια, ενώ πιο υψηλή ειδική ενεργότητα μπορεί να επιτευχθεί μετά από βομβαρδισμό πρωτονίων εμπλουτισμένου βολφραμίου (W). Το εν λόγω ραδιονουκλίδιο που χρησιμοποιήθηκε στην Πυρηνική Ιατρική για πρώτη φορά το 1979 έχει χρόνο ημιζωής 89,3 ώρες (3,78 μέρες), εκπέμπει β⁻ ακτινοβολία με δυειδιτικότητα 0.5 mm σε συμπαγή κόκαλο και 1.0mm σε μαλακό ιστό, αλλά και κατά 9% γ- ακτινοβολία (137keV).⁴² Ο συνδυασμός αυτών των τριών στοιχείων το καθιστούν χρήσιμο στην ογκοθεραπεία αλλά και στην ταυτόχρονη διάγνωση- παρακολούθηση της ασθένειας. Το ^{188}Re μπορεί να παραχθεί μέσω μιας γεννήτριας $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$, διαθέτει 11 mm διεισδυτικότητας σε ιστούς ενώ εκπέμπει κατά 15% γ ακτινοβολία.

Πίνακας 5. Διαφορές των ραδιονουκλιδίων ^{186}Re και ^{188}Re .

Ραδιονουκλίδια	Χρόνος ημιζωής (h)	Μέγιστη β ακτινοβολία (MeV)	Διείσδυση σε ιστό (mm)	γ ακτινοβολία (keV)
^{186}Re	90	1.07 (71%)	5	137 (9%)
^{188}Re	17	2.1 (100%)	11	155 (15%)

Ένα από τα πιο σημαντικά ραδιοφάρμακα του ^{186}Re και ^{188}Re είναι το ^{186}Re -HEDP και ^{188}Re -HEDP αντίστοιχα, που χρησιμοποιείται για ανακούφιση πόνου από μεταστάσεις όγκων στα οστά⁴², ⁴³, ενώ το ^{188}Re χρησιμοποιείται και για τη θεραπεία όγκων στο ήπαρ, στις ωοθήκες και στο στήθος.

Σχετικά με το $^{185/187}\text{Re}$, που θα μας απασχολήσει στην παρούσα εργασία, έχει την ικανότητα δημιουργίας πολλών διαφορετικών συμπλόκων, μεταξύ άλλων οξειδίων ρηνίου, αλογονιδίων ρηνίου και καρβονυλικών ενώσεων ρηνίου.⁴⁰ Στις καρβονυλικές ενώσεις του ρηνίου το $\text{Re}_2(\text{CO})_{10}$ (σημείο τήξεως: 177 °C) σχηματίζεται έπειτα από αντίδραση CO με το Re_2O_7 ή με το Re_2S_7 , κάτω από υψηλές πιέσεις και θερμοκρασίες (20 MPa, 250 °C).⁴⁰ Στη συνέχεια, έπειτα από υποκατάσταση των CO μπορούν να προκύψουν πολλά παράγωγα οργανομεταλλικών ενώσεων με διάφορους υποκαταστάτες σε διαφορετικές οξειδωτικές βαθμίδες.^{44, 45}

3. ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΡΗΝΙΟΥ (Re) ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ (Tc)

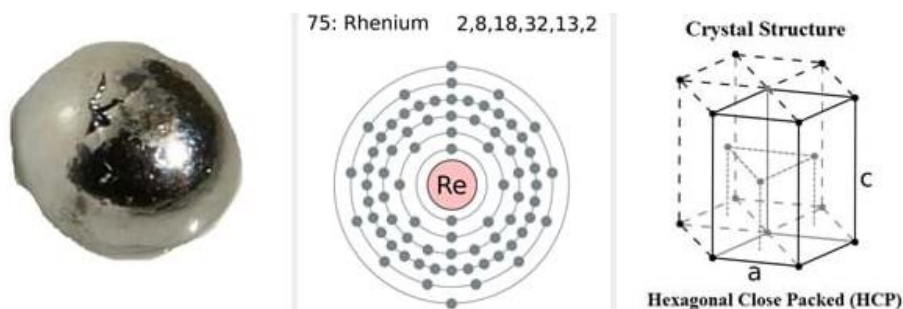
Τα στοιχεία ρήνιο και τεχνητίο ανήκουν στην VIIB υποομάδα του Περιοδικού Πίνακα. Εξαιτίας της λανθανιδικής συστολής παρουσιάζουν μια σειρά από ομοιότητες στα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, το φαινόμενο των λανθανίδων (στοιχεία από La μέχρι Lu) οφείλεται στην παράλληλη με την αύξηση του ατομικού αριθμού, αύξηση της προστασίας που ασκούν τα 4f τροχιακά στα 6s τροχιακά των ηλεκτρονίων σθένους. Στη λανθανιδική συστολή οφείλεται το γεγονός ότι το μέγεθος των ατόμων της ίδιας ομάδας της 2^{ης} και 3^{ης} σειράς των στοιχείων μετάπτωσης είναι περίπου ίσο.⁴⁴

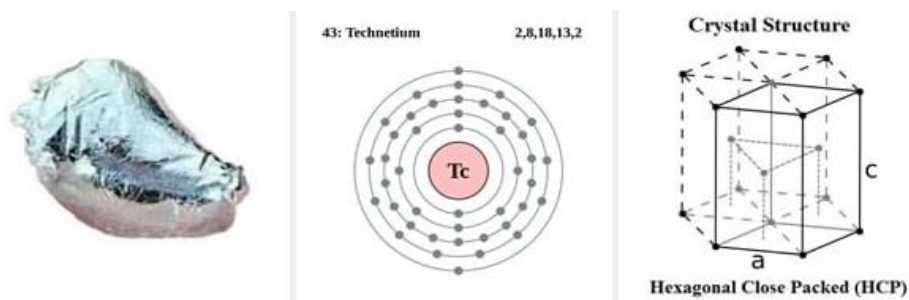
Periodic Table of the Elements

Legend: Alkali Metal, Alkaline Earth, Transition Metal, Basic Metal, Metalloid, Nonmetal, Halogen, Noble Gas, Lanthanide, Actinide

Εικόνα 22. Θέση των στοιχείων Re και Tc στον Περιοδικό Πίνακα.

Μάλιστα το φαινόμενο αυτό επηρεάζει και τα επόμενα στοιχεία μετάπτωσης που έπονται των λανθανίδων. Έτσι, τα στοιχεία που ακολουθούν τις λανθανίδες και βρίσκονται στην 3^η σειρά στοιχείων μετάπτωσης (όπως Re) έχουν μικρότερο μέγεθος και μάλιστα έχουν πολύ όμοια ακτίνα με τα στοιχεία της 2^{ης} σειράς στοιχείων μετάπτωσης (όπως Tc), αφού το φαινόμενο των επιπρόσθετων ηλεκτρονίων εξαλείφεται από τη συστολή των λανθανίδων.





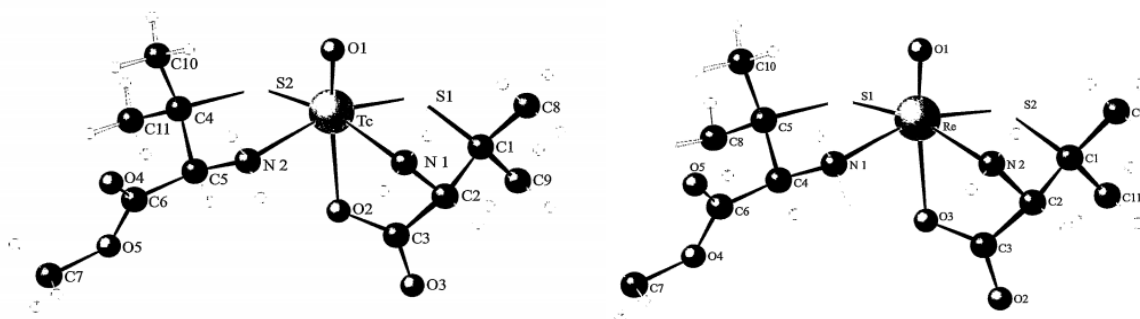
Εικόνα 23. Η φυσική κατάσταση, η ηλεκτρονιακή κατάσταση και η κρυσταλλική δομή των στοιχείων Re (πάνω) και Tc (κάτω).

Το αποτέλεσμα που προκύπτει από τα παραπάνω είναι μια σειρά από ομοιότητες των δύο στοιχείων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 8. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί πως τα δυο στοιχεία έχουν και μερικές διαφορές, που φαίνονται στα ανάλογα σύμπλοκα τους. Για παράδειγμα, τα σύμπλοκα του ρηνίου είναι πιο εύκολα να οξειδωθούν (δυσκολότερο να αναχθούν), και κινητικά πιο αδρανή από τα αντίστοιχα σύμπλοκα του τεχνητίου.

Πίνακας 6. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ρηνίου και τεχνητίου.⁴⁰

Χαρακτηριστικά	Ρήνιο (Re)	Τεχνητίο (Tc)
Ηλεκτρονιακή Κατανομή	[Xe]4f ¹⁴ 5d ⁵ 6s ²	[Kr]4d ⁵ 5s ²
Κρυσταλλική Δομή	εξαγωνική(hexagonal close-packed)	εξαγωνική(hexagonal close-packed)
Φυσική Κατάσταση	Στερεό	Στερεό
Σημείο Τήξεως (°C)	3180	2157
Σημείο Βρασμού (°C)	5870	4265
Ατομική Ακτίνα (pm)	205	136
Ιοντική Ακτίνα (pm)	72 (±4)	147 (±7)
Ηλεκτραρνητικότητα (κλίμακα Pauling)	1,9	1,9
Ενέργειες Ιονισμού (kJ/mol)	1 ^η : 760	1 ^η : 702
	2 ^η : 1260	2 ^η : 1470
	3 ^η : 2510	3 ^η : 2850
Μαγνητικές Ιδιότητες	Παραμαγνητικές	Παραμαγνητικές
Γραμμές Εκπομπές (nm)	345.1, 346.0, 346.5	363.3, 403.1, 426.2, 429.7, 485.3

Η σύγκριση των δύο στοιχείων και κατά συνέπεια των αντίστοιχων συμπλόκων τους έχει γίνει εδώ και πολλά χρόνια αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητικών ομάδων, ώστε να εξακριβωθεί σε μοριακό επίπεδο η ομοιότητά τους.



Εικόνα 24. Σύμπλοκο [(D-penicillaminato-N,S,O)(O-methyl-D-penicillaminato-N,S)]oxotechnetium (V)(αριστερά) και [(D-penicillaminato-N,S,O)(O-methyl-D-penicillaminato-N,S)]oxorhenium(V) (δεξιά).⁴⁶

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακα 9.) φαίνονται οι ομοιότητες επιλεγμένων δεσμών των συμπλόκων Tc και Re, όπου είναι φανερή η ομοιότητα των κρυσταλλογραφικών δεδομένων (διαφορά στο 2^ο δεκαδικό ψηφίο).

Πίνακας 7. Σύγκριση επιλεγμένων δεσμών των συμπλόκων [(D-penicillaminato-N,S,O)(O-methyl-D-penicillaminato-N,S)]oxotechnetium (V) και [(D-penicillaminato-N,S,O)(O-methyl-D-penicillaminato-N,S)]oxorhenium(V).⁴⁶

Επιλεγμένοι Δεσμοί Συμπλόκων Tc (Ångstrom)	Επιλεγμένοι Δεσμοί Συμπλόκων Re (Ångstrom)
Tc-O(1): 1.659	Re-O(1): 1.663
Tc-S(1): 2.300	Re-S(1): 2.280
Tc-S(2): 2.284	Re-S(2): 2.300
Tc-N(1): 2.212	Re-N(1): 2.162

Tc-N(2): 2.171	Re-N(2): 2.194
O(2)-C(3): 1.281	O(2)-C(3): 1.220

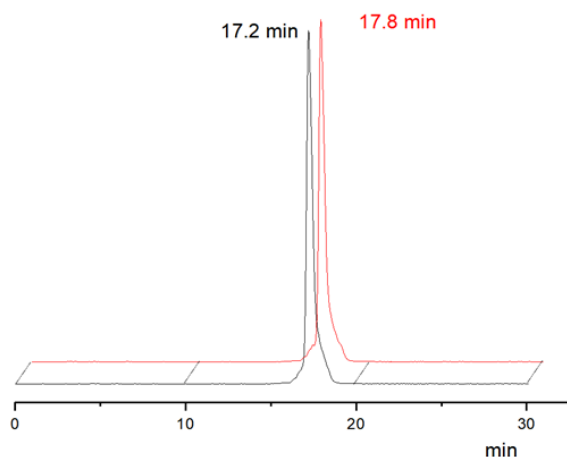
3.1 ΔΟΜΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-^{99m}Tc

Στα ραδιοφάρμακα του ^{99m}Tc ο ιχνηθέτης βρίσκεται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (10^{-6} - 10^{-7}), καθιστώντας τις κλασσικές αναλυτικές μεθόδους μη επαρκείς. Υπάρχουν τρεις τρόποι για τον χαρακτηρισμό των ενώσεων του ^{99m}Tc.

Στον πρώτο τρόπο, χρησιμοποιείται το ⁹⁹Tc που έχει παραπλήσιες φυσικοχημικές ιδιότητες με το ^{99m}Tc και συνθετικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συγκεντρώσεις που να επιτρέπει τον χαρακτηρισμό των συμπλόκων του μέσω NMR, IR, X-Rays. Συντίθεται το επιθυμητό σύμπλοκο σε επίπεδο ⁹⁹Tc, χαρακτηρίζεται πλήρως και έπειτα μεταφέρετε σε επίπεδο ^{99m}Tc, όπου εξακριβώνεται η δομή του μέσω συγκριτικής χρωματογραφίας.

Επόμενη μέθοδος είναι η carrier-added method, κατά την οποία κατά την αντίδραση με ^{99m}Tc προστίθενται μερικά mg του ⁹⁹Tc. Μετέπειτα το μίγμα αναλύεται μέσω Φασματοσκοπία Μάζας (MS). Έτσι, η μάζα του ⁹⁹Tc-συμπλόκου εξακριβώνεται και κατ' επέκταση του ^{99m}Tc-συμπλόκου.¹⁵

Η τελευταία μέθοδος χρησιμοποιεί το φυσικό στοιχείο *ρήνιο* κ αποτελεί τη πιο δημοφιλή μέθοδο, λόγω χαμηλότερου κόστους του μετάλλου και ευκολίας στη χρήση του. Εκμεταλλευόμενοι τις παρόμοιες χημικές και φυσικές ιδιότητες του Re και του ^{99m}Tc, σήμερα συντίθενται ενώσεις με το “ψυχρό” Re και χαρακτηρίζονται πλήρως με τις κλασσικές αναλυτικές μεθόδους (NMR, IR, MS, X-rays, στοιχειακή ανάλυση). Στη συνέχεια, εφαρμόζεται συγκριτική χρωματογραφία, όπου η ένωση του ^{99m}Tc και η ένωση του Re ενίονται ταυτόχρονα στην HPLC που φέρει UV-ανιχνευτή και ανιχνευτή γ ακτινοβολίας και συγκρίνονται οι χρόνοι έκλουσης τους. Το μοναδικό μειονέκτημά της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι τα μέταλλα αυτά ενδέχεται να αναχθούν ή να οξειδωθούν διαφορετικά το ένα από το άλλο και να δώσουν διαφορετικά προϊόντα.



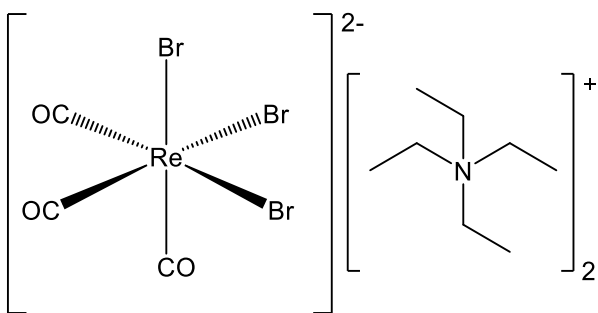
Εικόνα 25. Συγκριτικό χρωματογράφημα HPLC, με ταυτόχρονη ένεση της ένωσης του Re (μαύρο χρώμα) και της ένωσης του ^{99m}Tc (κόκκινο χρώμα).

4. ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΡΗΝΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ

4.1 CO- ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΛΟΚΑ Re ΚΑΙ Tc ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΒΑΘΜΙΔΑ I

Το ρήνιο και το τεχνητίο βρίσκονται σε αρκετές οξειδωτικές βαθμίδες, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε με τη σύνθεση συμπλόκων Re και Tc στην οξειδωτική κατάσταση (I).

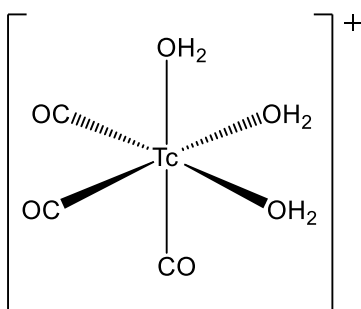
Ο πυρήνας Re που χρησιμοποιείται για τη σύνθεση των εν λόγω συμπλόκων είναι ο τρικαρβόνυλος πυρήνας $\text{Re}(\text{CO})_3$, που σχηματίζει σύμπλοκα με αριθμό συναρμογής 6 που διαθέτουν οκταεδρική γεωμετρία. Το σύμπλοκο παρουσιάστηκε από την ερευνητική ομάδα των Schmit και Alberto, το 1990 και το 1994 αντίστοιχα.^{47, 48}



Εικόνα 26. Ο τρικαρβόνυλος πυρήνας $\text{Re}(\text{CO})_3$, ως $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$.

Σχετικά με το τεχνητίο, η αναγωγή των υπερτεχνητικών (VII) σε οξειδωτική κατάσταση I, δημιουργεί ένα άτομο τεχνητίου με 6 επιπλέον ηλεκτρόνια σθένους με μία ηλεκτρονιακή κατάσταση d^6 , η οποία μπορεί να σταθεροποιηθεί με υποκαταστάτες που είναι π -δέκτες ηλεκτρονίων. Ο πυρήνας τεχνητίου που χρησιμοποιείται για τη σύνθεση των εν λόγω συμπλόκων είναι ο τρικαρβόνυλος πυρήνας $\text{Tc}(\text{CO})_3$, που σχηματίζει σύμπλοκα με αριθμό συναρμολής 6 που διαθέτουν οκταεδρική γεωμετρία.

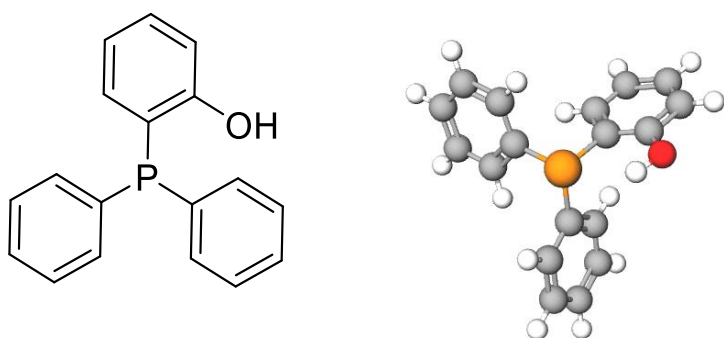
Ο παραπάνω τρικαρβόνυλος πυρήνας τεχνητίου προτάθηκε από τον R. Alberto και την επιστημονική του ομάδα, ανοίγοντας νέους δρόμους στη σύνθεση συμπλόκων $^{99\text{m}}\text{Tc}$ στην οξειδωτική βαθμίδα I. Μετά από αρκετές τροποποιήσεις⁴⁹ κατάφεραν να συνθέσουν το σύμπλοκο *fac*- $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}-(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ σε ατμοσφαιρική πίεση και σε υψηλή ραδιοχημική απόδοση.⁵⁰ Η δυνατότητα αντικατάστασης των CO υποκαταστατών του ανωτέρω συμπλόκου από μία πληθώρα υποκαταστατών δίνουν την ευκαιρία σχηματισμού πολλών συμπλόκων, με διαφορετική χημική συμπεριφορά. Τα τρία CO σταθεροποιούν τον καρβόνυλο πυρήνα, ενώ τα τρία μόρια H_2O είναι ιδιαίτερα ευκίνητα (λόγω *trans effect*) και μπορούν εύκολα να αντικατασταθούν από άλλους υποκαταστάτες.



Εικόνα 27. Ο τρικαρβόνυλος πυρήνας $\text{Tc}(\text{CO})_3$, ως *fac*- $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]$.

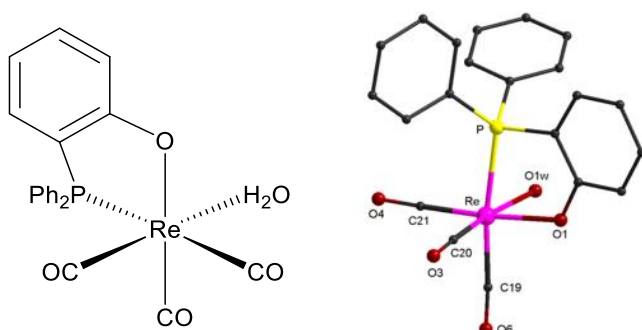
4.2 (2-ΥΔΡΟΞΥΦΑΙΝΥΛΟ) ΔΙΦΑΙΝΥΛΟΦΩΣΦΙΝΗ ΩΣ ΔΙΑΔΡΑΣΤΙΚΟΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ

Ο υποκαταστάτης (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) αποτελεί μια υποκατεστημένη τριφαινυλοφωσφίνη στη 2^η θέση του ενός φαινυλίου.



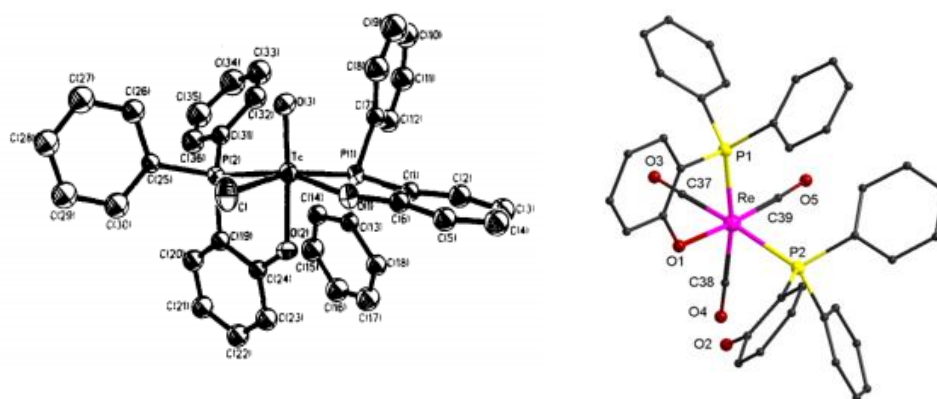
Εικόνα 28. Δομή του υποκαταστάτη POH και προσομοίωση της 3D δομής της στο χώρο.⁵¹

Ενεργοποιώντας μία ομάδα φαινυλίου στην όρθο- θέση μιας τριφαινυλοφωσφίνης οδηγεί σε εν δυνάμει διδραστικούς υποκαταστάτες που διαθέτουν αυξημένη ικανότητα συναρμογής, μέσω δημιουργίας χηλικού φαινομένου. Στην πραγματικότητα, αυτοί οι υποκαταστάτες είναι τόσο ιδιαίτεροι γιατί διαθέτουν την ικανότητα σ-δότη και π-δέκτη μέσω του P και παράλληλα μέσω των ομάδων που βρίσκονται υποκατεστημένες στο φαινύλιο (O⁻, N) οδηγούν στον σχηματισμό μαλακών-σκληρών χηλικών που μπορούν να σταθεροποιούν το μεταλλικό κέντρο σε κατάλληλες οξειδωτικές βαθμίδες.



Εικόνα 29. Δομή του συμπλόκου με τον υποκαταστάτη POH να δρα ως διδραστικός υποκαταστάτης (όπου $M = \text{Re}, \text{Tc}$ σε οξειδωτική βαθμίδα I) και κρυσταλλική δομή του $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{H}_2\text{O})]$.

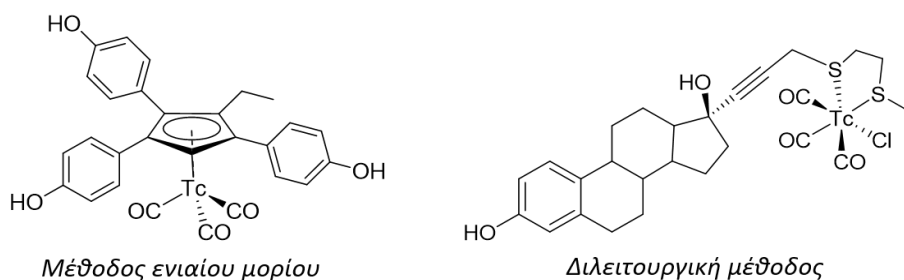
Γενικά ο εν λόγω υποκαταστάτης έχει συμπλεχθεί με διάφορα μέταλλα όπως Au, Pt, Pd, Ni, Co, Rh⁵²⁻⁵⁴, όμως έχει μελετηθεί ελάχιστα στη χημεία του ρηνίου και του τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα I, ως μέρος δομικών λίθων. Οι πρώτες έρευνες περιλαμβάνουν μελέτες σύνθεσης συμπλόκων σε επίπεδο Tc και Re στην οξειδωτική βαθμίδα III και V, ενώ το 2017 δημοσιεύτηκε από την ερευνητική ομάδα του εργαστηρίου μας σύνθεση σε επίπεδο ρηνίου και τεχνητίου οξειδωτικής κατάστασης I συμπλόκων που φέρουν τον POH ως διδραστικό υποκαταστάτη.⁵¹ Συγκεκριμένα, παρουσιάστηκε η σύνθεση μικτών 2+1 συμπλόκων που φέρουν τον POH ως διδραστικό υποκαταστάτη και ως μονοδραστικό υποκαταστάτη μόρια όπως το POH, το ιμιδαζόλιο, η τριφαινυλοφωσφίνη, το κυκλοέξυλο ισονιτρίλιο, το t-βουτυλο ισονιτρίλιο και η πυριδίνη.



Εικόνα 30. Κρυσταλλική δομή του $TcOCl(PO)_2$ στην οξειδωτική βαθμίδα V του τεχνητίου (αριστερά)⁵⁵ και κρυσταλλική δομή του $fac-[ReCO_3(POP)(POH)]$ στην οξειδωτική βαθμίδα I του ρηνίου (δεξιά)⁵¹.

5. ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

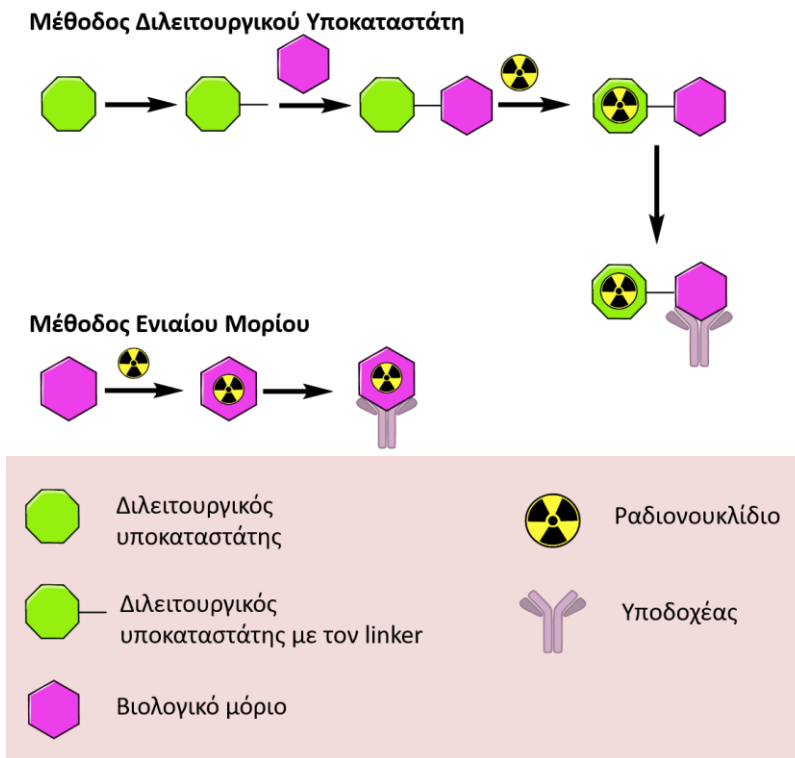
Σήμερα ο σχεδιασμός των ραδιοφαρμάκων του τεχνητίου έχει επικεντρωθεί σε δύο είδη προσεγγίσεων: την μέθοδο του ενιαίου μορίου (Integrated Approach) και τη μέθοδο του συζευγμένου μορίου ή αλλιώς μέθοδο διλειτουργικών υποκαταστατών (Pendant Approach, bifunctional chelate approach).^{3, 15, 56}



Εικόνα 31. Η μέθοδος του ενιαίου μορίου (αριστερά, ενσωμάτωση αναλόγου ταμοξιφαίνης στον τρικαρβόνυλο πυρήνα) και η διλειτουργική μέθοδος (δεξιά, σύζευξη της 3,17-οιστραδιόλης μέσω διλειτουργικού υποκαταστάτη) ως μέθοδοι επισημάνσεως των υποδοχέων οιστρογόνων.^{57, 58}

Η μέθοδος του ενιαίου μορίου περιλαμβάνει την ενσωμάτωση του πυρήνα του ^{99m}Tc σε έναν γνωστό μορίου με υψηλή εκλεκτικότητα στον επιθυμητό υποδοχέα. Η εισαγωγή του πυρήνα του ^{99m}Tc πρέπει να γίνει κατά τέτοιο τρόπο που να μην επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο μέγεθος, στη διαμόρφωση και κατ' επέκταση στην συγγένεια δέσμευσης του υποδοχέα. Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει εφαρμοστεί στη σύνθεση ραδιοφαρμάκων που μιμούνται την τρισδιάστατη διαμόρφωση βιολογικά σημαντικών μορίων, όπως τα στεροειδή (τεστοστερόνη, προγεστερόνη και οιστραδιόλη).⁵⁹ Τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου έγκειται στη συνθετική δυσκολία αντικατάστασης μέρους του μορίου που οδηγεί στην μείωση της συγγένειας δέσμευσης με τον υποδοχέα. Πράγματι, έχει αποδειχθεί πως η αντικατάσταση δεσμών όπως C-C ή C-ετεροάτομο με δεσμούς όπως Tc-N ή Tc-S, επιφέρει δραματική αλλαγή στο μέγεθος και στη διαμόρφωση του μορίου, που φαίνεται να επηρεάζει τη μετέπειτα πρόσδεση του στον υποδοχέα.⁵⁶

Σε αντίθεση με τη μέθοδο του ενιαίου μορίου, η διλειτουργική μέθοδος χρησιμοποιεί ένα μόριο με συγγένεια πρόσδεσης στον υποδοχέα, έναν διλειτουργικό χηλικό υποκαταστάτη (Bifunctional Chelating Agent, BFCA) για την σύζευξη του ραδιονουκλιδίου ^{99m}Tc και έναν linker που παίζει το ρόλο του μετατροπέα της φαρμακοκινητικής όλου του μορίου (Pharmacokinetic Modifier, PKM). Στην συγκεκριμένη μέθοδο, ο χηλικός που περιέχει το ^{99m}Tc είναι μακριά από το σημείο πρόσδεσης του μορίου με τον υποδοχέα, έτσι ώστε να ελαχιστοποιεί τις πιθανές στερεοχημικές παρεμποδίσεις για τη σύνδεση. Οι λόγοι που κάνουν αυτή τη μέθοδο ιδιαίτερα δημοφιλή είναι, η μειωμένη παρεμπόδιση στην σύνδεση μορίου-υποδοχέα, η δυνατότητα χρήσης χηλικών υποκαταστατών, των οποίων η χημεία αποτελεί αντικείμενο μελέτης πολλών χρόνων στα ραδιοφάρμακα του ^{99m}Tc και ο έλεγχος της φαρμακοκινητικής του μορίου, μέσω του linker.

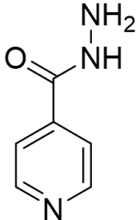
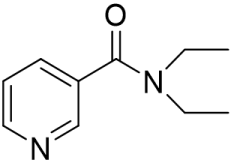
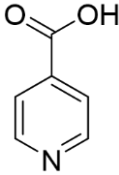
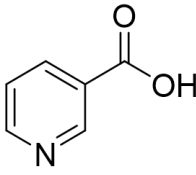
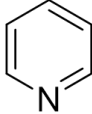


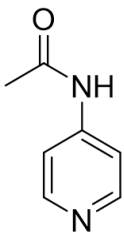
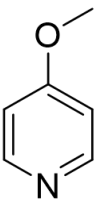
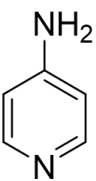
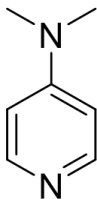
Εικόνα 32. Σχηματική αναπαράσταση των δύο προσεγγίσεων ανάπτυξης ραδιοφαρμάκων

6. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

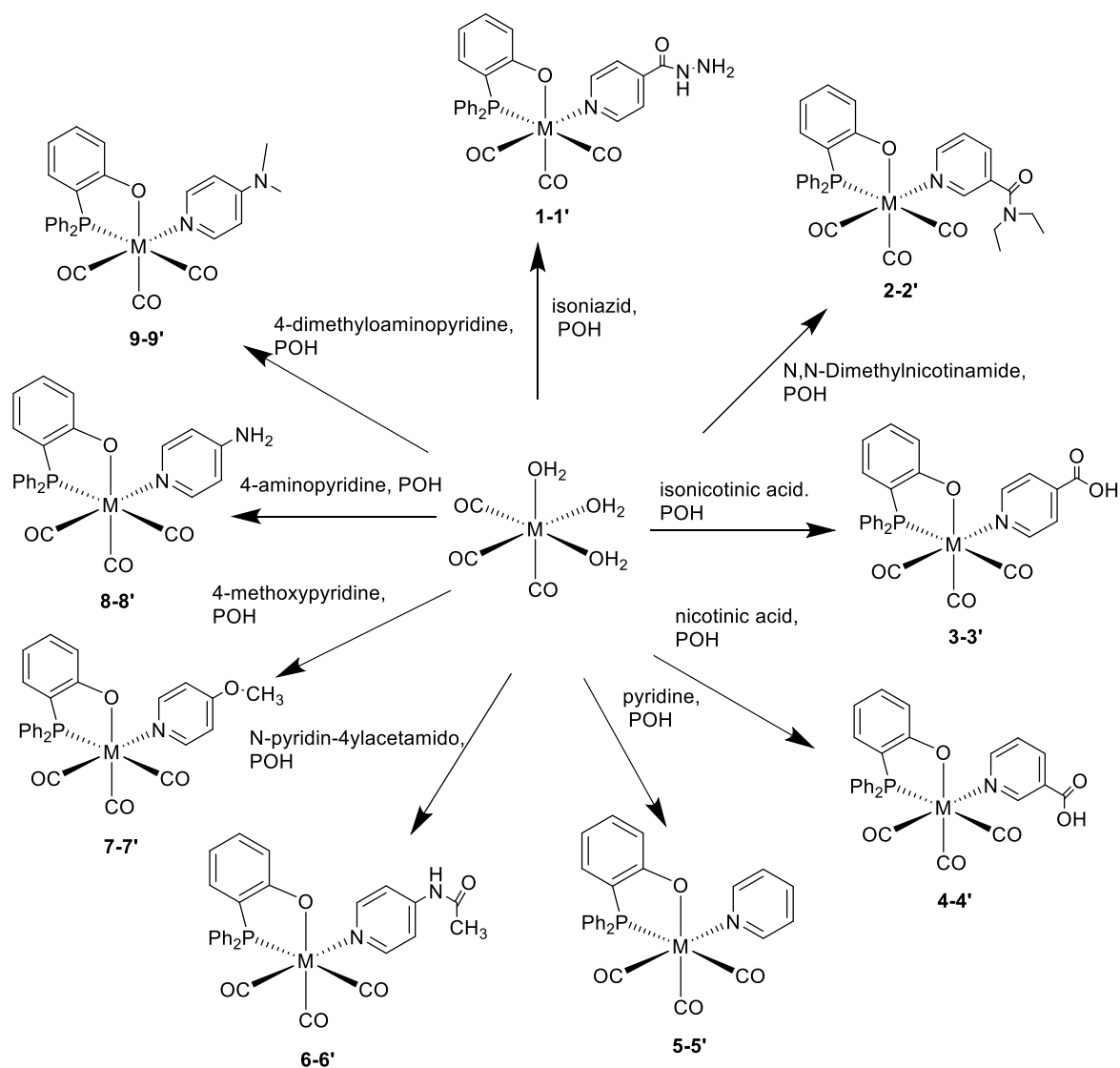
Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός νέων συμπλόκων του τεχνητίου και του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα I, τα οποία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως δομικοί λίθοι στο σχεδιασμό νέων ραδιοφαρμάκων με εξειδικευμένη δράση. Για τη σύνθεση των συμπλόκων της εργασίας χρησιμοποιείται η προσέγγιση [2+1], που περιλαμβάνει την ύπαρξη ενός διδραστικού και ενός μονοδραστικού υποκαταστάτη. Ο διδραστικός υποκαταστάτης που χρησιμοποιείται είναι η (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) που συναρμόζεται στον πυρήνα του τεχνητίου μέσω του ατόμου του φωσφόρου και του οξυγόνου δημιουργώντας έναν σταθερό πενταμελή δακτύλιο.⁵¹ Ως μονοδραστικοί υποκαταστάτες χρησιμοποιούνται υποκατεστημένες πυριδίνες στη θέση 3 και 4 με ένα εύρος τιμών σταθεράς διάστασης (pka) από 3.79 έως 9.71.⁶⁰ Τα σύμπλοκα που σχηματίζονται είναι του γενικού τύπου *fac*-[M(CO)₃(PO)(N)] όπου M= Re, Tc. (Σχήμα. 1). Η φύση της υποκατεστημένης ομάδας της πυριδίνης θα συσχετισθεί με την απόδοση της αντίδρασης και την σταθερότητα του συμπλόκου.

Πίνακας 8. Συγκεντρωτικός πίνακας υποκατεστημένων πυριδινών (N).⁶⁰

N					
pka	3.79	4.01	4.58	4.80	5.23
Σύμπλοκο	1-1'	2-2'	3-3'	4-4'	5-5'

N				
pka	6.32	6.6	9.26	9.71
Σύμπλοκο	6-6'	7-7'	8-8'	9-9'

Τα συμπλόκα **1 - 9** σε επίπεδο *ρηνίου* συντίθενται χρησιμοποιώντας τον τρικαρβόνυλο πυρήνα $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$, ενώ τα αντίστοιχα σύμπλοκα **1' - 9'** σε επίπεδο *τεχνητίου* συντίθενται χρησιμοποιώντας τον τρικαρβόνυλο πυρήνα *fac*- $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]$. Ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων του *τεχνητίου* γίνεται μέσω συγκριτικής χρωματογραφίας με HPLC με τα αντίστοιχα σύμπλοκα του *ρηνίου*.



Σχήμα 1. Συγκεντρωτικό σχήμα σύνθεσης των συμπλόκων **1 - 9** και **1' - 9'**, όπου M , Re και $^{99\text{m}}\text{Tc}$ αντίστοιχα.

Η σταθερότητα των συμπλόκων του τεχνητίου μελετάται μέσω αντίδρασης με ανταγωνιστές όπως η κυστεΐνη και η ιστιδίνη. Τέλος, υπολογίζεται η λιποφιλία των ενώσεων.

II. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7. ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Σε όλες τις αντιδράσεις χρησιμοποιούνται χημικώς καθαρά αντιδραστήρια και διαλύτες. Η προμήθεια αυτών γίνεται από την εταιρεία Sigma Aldrich. Όλα τα αέρια που χρησιμοποιούνται προέρχονται από την εταιρεία Air Liquid. Η μεθανόλη που χρησιμοποιείται για την έκλουση των συμπλόκων κατά την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC) προμηθεύεται από την εταιρεία Sigma-Aldrich κατάλληλη για ανάλυση HPLC. Οι διαλύτες απαερώνονται μέσω συνεχούς διαβίβασης ηλίου υψηλής καθαρότητας πριν τη χρήση τους στην HPLC.

Οι μετρήσεις του pH των διαλυμάτων γίνονται με πεχάμετρο τύπου Metrohm-632 σε θερμοκρασία δωματίου (25°C). Το όργανο ρυθμίστηκε πριν και μετά από τις μετρήσεις με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα με pH 7 και pH 4. Όλα τα σύμπλοκα που παρασκευάζονται ξηραίνονται σε ξηραντήρα υψηλού κενού που περιέχει ξηραντικό P₂O₅. Η εξάτμιση των διαλυτών μέχρι ξηρού πραγματοποιείται υπό κενό με χρήση Rotary Evaporator System της εταιρείας Buchi. Η φυγοκέντρωση των διαλυμάτων κατά τη πειραματική διαδικασία έγινε σε συσκευή φυγοκέντρωσης Beckman Coulter J2-MC High Speed Centrifuge για 10 λεπτά στις 5000 στροφές.

Τα φάσματα υπερύθρου λαμβάνονται σε φασματογράφο IR τύπου Nicolet 6700 FT-IR της εταιρείας Thermo Scientific. Τα φάσματα ¹H NMR λαμβάνονται σε φασματόμετρο 500 MHz DRX-Avance της εταιρείας Bruker. Τα φάσματα των συμπλόκων λαμβάνονται σε διάλυμα δευτεριωμένου διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO-d₆) και σε θερμοκρασία 25 °C. Οι χημικές μετατοπίσεις (δ, ppm) υπολογίζονται με τη χρήση τετραμεθυλοσιλανίου, TMS, ως εσωτερικού προτύπου.

Η συλλογή όλων των κρυσταλλογραφικών δεδομένων γίνεται με την τοποθέτηση κρυστάλλου πάνω σε περιθλασίμετρο τύπου Nicolet P21 εφοδιασμένο με φίλτρο ζirkονίου και με τη χρήση μονοχρωματικής ακτινοβολίας Mo Kα. Η λειτουργία του οργάνου ελέγχεται από το πρόγραμμα Crystal Logix SoftwaTc.

Τα υπερτεχνητικά (^{99m}TcO₄⁻) που χρησιμοποιούνται, παραλαμβάνονται με τη μορφή Na^{99m}TcO₄ από γεννήτρια της εταιρείας General Electric Healthcare Drytec και από το

Εργαστήριο Παραγωγής Ραδιονουκλιδίων του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος». Η έκλυση της γεννήτριας γίνεται με φυσιολογικό ορό 0.9% NaCl. Η ραδιενέργεια των παρασκευασθέντων συμπλόκων μετράται με μετρητή ραδιονουκλιδίων (Isotope Calibrator) CRC-12 (Capintec) και με μετρητή A550 Minaxi Auto Gamma 5000 Series της εταιρείας Packard.

Η ανάλυση των συμπλόκων του ρηνίου και η ανάλυση και απομόνωση των συμπλόκων του τεχνητίου γίνεται με σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) κα αποτελείται από i) Αντλία τύπου 600 Waters, ii) σύστημα εισαγωγής δείγματος στη χρωματογραφική στήλη Injector UK6 με υποδοχέα (loop) χωρητικότητας 500 μ L iii) αναλυτική στήλη αντίστροφης φάσης EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-10 C18 (MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG.), iv) ανιχνευτή UV, Dual Absorbance Detector τύπος 2487 (Waters) με καταγραφή φασμάτων σε μήκος κύματος 254nm, v) ανιχνευτή ακτινοβολίας γ GABI-Raytest για την ανίχνευση των ραδιενεργών και vi) ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος ελέγχει τη λειτουργία της αντλίας, του ανιχνευτή, συλλέγει και επεξεργάζεται τα δεδομένα. Μετά τη δίοδο από τη χρωματογραφική στήλη, οι ενώσεις που διαχωρίζονται διέρχονται από τις δύο ανιχνευτικές διατάξεις, οι οποίες είναι συνδεδεμένες σε σειρά, όπως αναφέρθηκαν παραπάνω.

Για την ανάλυση των συμπλόκων χρησιμοποιείται βαθμιδωτή έκλυση (gradient). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά βαθμιδωτά συστήματα, τα οποία καταγράφονται στον Πίνακα 11, και στον Πίνακα 12. Το σύστημα Α χρησιμοποιείται για τα σύμπλοκα 2 – 7, 9 και 2' - 7', 9'. Το σύστημα Β χρησιμοποιείται για τα σύμπλοκα 1, 8 και 1', 8'.

Πίνακας 9. Σύστημα Α για τα σύμπλοκα 2 – 7, 9 και 2' - 7', 9'.

Χρόνος (min)	Ροή (ml/min)	MeOH (%)	H ₂ O (%)
1	1	5	95
5	1	70	30
8	1	85	15
25,1	1	95	5
37	1	95	5
40	1	5	95

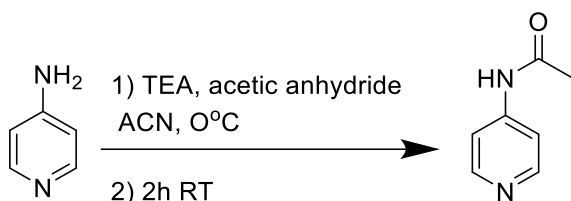
Πίνακας 10. Σύστημα B για σύμπλοκα I, 8 και I', 8'.

Χρόνος (min)	Ροή (ml/min)	MeOH (%)	H ₂ O (%)
1	1	50	50
8	1	50	50
25	1	60	40
35	1	70	30
45	1	80	20
46	1	85	15
60	1	85	15
61	1	95	5
70	1	95	5
71	1	50	50

Η παρασκευή των συμπλόκων του τεχνητίου και η δοκιμασία ιστιδίνης-κυστεΐνης πραγματοποιούνται σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (0.01 M) με pH = 7,4.

7.2 ΣΥΝΘΕΣΗ Ν-ΠΥΡΙΔΙΝ-4-ΥΛΑΚΕΤΑΜΙΔΙΟΥ

Όλοι οι μονοδραστικοί υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται στην παρούσα εργασία είναι προϊόντα εμπορικώς διαθέσιμα, με εξαίρεση το Ν-πυριδιν-4-υλακεταμίδιο.



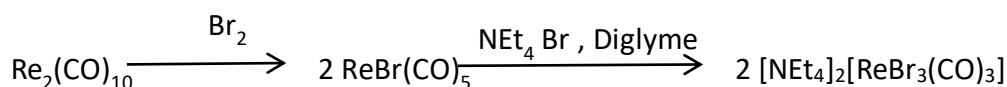
Σχήμα 2. Σχήμα σύνθεσης του Ν-πυριδιν-4-υλακεταμιδίου.

Σε διάλυμα 20 mL ακετονιτριλίου προστίθενται 1.88 g 4-αμινοπυριδίνης (20 mmol) και 5.56 mL τριαιθυλαμίνης (40 mmol). Το διάλυμα ψύχεται στους 0 °C και προστίθενται 3.77 mL οξικού ανυδρίτη (40 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες. Στη συνέχεια, γίνεται προσθήκη 30 mL διαλύματος διτανθρακικού νατρίου και εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα. Η οργανική φάση ξηραίνεται με θειικό νάτριο, ο διαλύτης απομακρύνεται και παραλαμβάνονται 2.67 g υποκίτρινου στερεού. Απόδοση: 95%. ¹H NMR (DMSO-d₆, ppm): δ 2.08 (3H, s), δ 7.53 (2H, dd, J = 4.88, 1.42), δ 8.40 (2H, dd, J = 4.92, 1.41), δ 10.3 (1H, broad s). mp = 146 °C.⁶¹

7.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re

7.3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃], I

Η σύνθεση του [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃], **I**, πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται αναγωγή του Re₂(CO)₁₀ προς ReBr(CO)₅ και στη συνέχεια λαμβάνεται το επιθυμητό σύμπλοκο.



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL, φέρονται 60 mL εξανίου και 1.78 g (2.73 mmol) $\text{Re}_2(\text{CO})_{10}$ σε ατμόσφαιρα αζώτου. Εν συνεχεία προστίθενται 0.48 g (3 mmol) Br_2 και το διάλυμα αναδεύεται για 30' μέχρι αποχρωματισμού του διαλύματος. Το σχηματισθέν λευκό ίζημα συλλέγεται με διήθηση, οπότε λαμβάνονται 2.08 g του προϊόντος (απόδοση 94 %), τα οποία χρησιμοποιούνται χωρίς περαιτέρω επεξεργασία στο επόμενο στάδιο.

Κατά το δεύτερο στάδιο, σε εσμυρισμένη τρίλαιμη σφαιρική φιάλη φέρονται 300 mL διγλύμης και 1.69 g $[\text{Et}_4\text{N}]_2$ (8.05 mmol) υπό διαβίβαση αζώτου. Το διάλυμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο και σε θερμοκρασία 80 °C. Στη συνέχεια, προστίθεται αργά αναιώρημα 1.5 g $\text{ReBr}(\text{CO})_5$ (3.7 mmol) σε 20ml θερμής διγλύμης. Έπειτα, αφήνεται υπό θέρμανση για 4 ώρες στους 115 °C. Μετά το πέρας των 4 ωρών, σχηματίζεται λευκό ίζημα, το οποίο διηθείται εν θερμώ. Τέλος, το ίζημα εκπλένεται με 5 mL διγλύμη, 5 mL διαιθυλαιθέρα και 5 mL ψυχρής αιθανόλης για την απομάκρυνση του βρωμιούχου τετρααιθυλαμμωνίου και αφήνεται για ξήρανση υπό κενό. Παραλαμβάνονται 2.2 g $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ (Απόδοση 87%, IR: 1998 και 1883 cm^{-1})⁴⁸

7.3.2 ΣΥΝΘΕΣΗ *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{H}_2\text{O})]$, II

Σε αναδευόμενο διάλυμα του **I** (231 mg , 0.3 mmol) σε H_2O (1 mL), προστίθεται ισομοριακή ποσότητα (2-υδρόξυφαινυλο)διφαινυλοφώσφινης (84 mg, 0.3 mmol) σε MeOH (5 mL). Το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 30 λεπτά. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχεται μέσω HPLC. Μετά το πέρας της αντίδρασης, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το λευκό ίζημα που προκύπτει ανακρυσταλλώνεται από μίγμα διχλωρομεθανίου/εξανίου, προς σχηματισμό του *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{H}_2\text{O})]$ σε λευκούς κρυστάλλους. Απόδοση: 165 mg, 75%. HPLC: t_R =16.8 min. IR (cm^{-1}): 2022, 1933, 1880, 1586, 1435, 1301, 690, 507. ^1H NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 8.32 (m, 1H); 7.80–6.72 (13H).⁵¹

7.3.3 ΣΥΝΘΕΣΗ *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4CONHNH₂)], 1

Σε διάλυμα του **II** (28.2 mg, 0.05 mmol) σε MeOH (2 mL) προστίθεται ισομοριακή ποσότητα ισονιαζίδης (6.8 mg, 0.05 mmol) σε MeOH (2 mL). Το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται υπό επαναροή για 4 ώρες και η αντίδραση ελέγχεται με HPLC. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό κενό και το προκύπτον στερεό εκπλένεται με διαιθυλαιθέρα. Το υποκίτρινο στερεό ξηραίνεται υπό κενό και ακολουθεί ανακρυστάλλωση με μίγμα διχλωρομεθανίου/εξανίου (1:3), προς σχηματισμό του *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyisz)]. Απόδοση: 90%. HPLC: *t_R*(min)= 47.1. (Σύστημα B). IR (cm⁻¹): 2017.2, 1918.2, 1875.6, 745.7, 692.9. ¹H NMR (DMSO-d₆): 3.34 (1H), 8.71-6.55 (18H), 10.34 (2H).

7.3.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 2 - 9

Η σύνθεση των συμπλόκων 2 - 9 έγινε ομοίως με το σύμπλοκο 1. Η μόνη διαφορά είναι αντί της ισονιαζίδης προστίθεται ο εκάστοτε μονοδραστικός υποκαταστάτης

fac-[Re(CO)₃(PO)(3pyCONEt₂)], 2

Απόδοση: 93%. HPLC: *t_R*(min)= 17.2. (Σύστημα A). IR (cm⁻¹): 2013.7, 1915.8, 1868.3, 745.2, 644.2. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 1.16 (6H), 3.19 (4H), 8.77-6.54 (18H)

fac-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], 3

Απόδοση: 87%. Πάρθηκαν κρύσταλλοι κατάλληλοι για X-rays, με αργή ανακρυστάλλωση χρησιμοποιώντας μίγμα διχλωρομεθανίου ανακρυστάλλωση με μίγμα διχλωρομεθανίου/εξανίου (1:3). HPLC: *t_R*(min)= 17.2. (Σύστημα A). IR (cm⁻¹): 2015.1, 1867.8, 751.4, 645.5. ¹H NMR (DMSO-d₆): 8.881-6.798 (14H)

fac-[Re(CO)₃(PO)(3pyCOOH)], 4

Απόδοση: 90%. HPLC: *t_R*(min)= 15.5. (Σύστημα A). IR (cm⁻¹): 2015.0, 1922.0, 1872.6, 744.2, 645.2. ¹H NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) = 8.55-6.65 (18H)

***fac*-[Re(CO)₃(PO)(py)], 5⁵¹**

Απόδοση: 93%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 17.8$. (Gradient A). IR (cm^{-1}): 2024, 1938, 1860, 1584, 1449, 1433, 1318, 700, 691. ^1H NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 8.34-6.95 (15H)

***fac*-[Re(CO)₃(PO)(4NHCOCH₃)], 6**

Απόδοση: 92%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 17.2$. (Gradient A). IR (cm^{-1}): 2012.9, 1914.2, 1871.7, 745.2, 644.6. ^1H NMR (DMSO- d_6): 2.06 (3H), 8.60-6.64 (18H), 10.05 (1H)

***fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyOMe)], 7**

Απόδοση: 95%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 18.0$. (Gradient A). IR (cm^{-1}): 2009.2, 1909.4, 1869.8, 749.8, 645.4. ^1H NMR (DMSO- d_6): 8.70-6.63 (18H), 3.7 (3H)

***fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNH₂)], 8**

Απόδοση: 94%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 49.1$. (Gradient B). IR (cm^{-1}): 2016.8, 1907.4, 741.1, 661.4. ^1H NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7.70-6.62 (18H), 6.11 (2H)

***fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyDMA)], 9**

Απόδοση: 89%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 18.1$. (Gradient A). IR (cm^{-1}): 2016.8, 1907.4, 741.1, 661.4. ^1H NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 7.77-6.28 (18H), 2.86 (16H)

7.4 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ

7.4.1 ΣΥΝΘΕΣΗ *fac*- [^{99m}Tc(H₂O)(CO)₃], I'

Η σύνθεση του **I'** γίνεται με αναγωγή των $^{99m}\text{TcO}_4^-$ παρουσία μονοξειδίου του άνθρακα (CO). Σε φιαλίδιο πενικιλίνης των 10 mL φέρονται 4 mg ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), 20 mg τρυγικό κάλλιο-νάτριο ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) και 5.5 mg νάτριο βοροϋδρίδιο (NaBH_4). Το φιαλίδιο σφραγίζεται και στη συνέχεια διαβιβάζεται σε αυτό αέριο μονοξείδιο του άνθρακα για 20' με σκοπό τον κορεσμό της ατμόσφαιρας σε CO. Έπειτα, ακολουθεί προσθήκη 1 mL διαλύματος φυσιολογικού ορού $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$ (5-20 mCi) λαμβάνοντας κάθε δυνατή προφύλαξη να μην εισέλθει ατμοσφαιρικός αέρας στο φιαλίδιο και στη συνέχεια ακολουθεί θέρμανση του φιαλιδίου στους 95 °C για 30'. Το φιαλίδιο

αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 7 με προσθήκης διαλύματος HCl 1N. Ο σχηματισμός του *fac*- [^{99m}Tc(H₂O)(CO)₃] ελέγχεται μέσω HPLC. Απόδοση: 99%. t_R=7.7.⁵⁰

7.4.2 ΣΥΝΘΕΣΗ *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyDMA)], 9'

• *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyDMA)], 1' συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻⁴M

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα 2-υδροξυφαινυλοφωσφίνης (100 μL) συγκέντρωσης 10⁻³ M, μεθανολικό διάλυμα 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης (100 μL) συγκέντρωσης 10⁻³ M και 300 μL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 300 μL *fac*-[^{99m}Tc(H₂O)(CO)₃] και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος PBS (pH 7.4), ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 ml. Η τελική συγκέντρωση της 2-υδροξυφαινυλοφωσφίνης είναι 10⁻⁴ M ενώ της 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης είναι 10⁻⁴ M. Στην συνέχεια, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται σε αυτό αδρανές αέριο άζωτο για 2'. Το διάλυμα αφήνεται για 30' στους 70 °C. Απόδοση: 39%. HPLC: t_R(min)= 18.8. (Σύστημα A). Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98%.

• *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyDMA)], 1' συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻³

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης (100 μL) συγκέντρωσης 10⁻² M, μεθανολικό διάλυμα 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης (100 μL) συγκέντρωσης 10⁻² M και 100 μl μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 300 μL *fac*- [^{99m}Tc(H₂O)(CO)₃] και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος PBS (pH 7.4), ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 ml. Η τελική συγκέντρωση της 2-υδροξυφαινυλοφωσφίνης είναι 10⁻⁴ M, ενώ της ισονιαζίδης είναι

10^{-3} M. Έπειτα, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται σε αυτό αδρανές αέριο άζωτο για 2'. Το διάλυμα αφήνεται για 30' στους 70 °C Απόδοση: 78%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 18.8$. (Σύστημα A). Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98%.

• $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyDMA})]$, συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 2×10^{-3} M

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης (200 μL) συγκέντρωσης 10^{-2} M, μεθανολικό διάλυμα 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης (300 μL) συγκέντρωσης 10^{-2} M και 100 μl μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 300 μL $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]$ και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος PBS (pH 7.4), ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 ml. Η τελική συγκέντρωση της 2-υδροξυφαινυλοφωσφίνης είναι 10^{-4} M, ενώ της ισονιαζίδης είναι 2×10^{-3} M. Έπειτα, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται σε αυτό αδρανές αέριο άζωτο για 2'. Το διάλυμα αφήνεται για 30' στους 70 °C Απόδοση: 88%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 18.8$. (Σύστημα A). Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98%.

• $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyDMA})]$, συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3×10^{-3}

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης (200 μL) συγκέντρωσης 10^{-2} M, μεθανολικό διάλυμα 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης (300 μL) συγκέντρωσης 10^{-2} M και 100 μl μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθενται 300 μL $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]$ και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος PBS (pH 7.4), ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 ml. Η τελική συγκέντρωση της 2-υδροξυφαινυλοφωσφίνης είναι 10^{-4} M, ενώ της ισονιαζίδης είναι 3×10^{-3} M. Έπειτα, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται σε αυτό αδρανές αέριο άζωτο για 2'. Το διάλυμα αφήνεται για 30' στους 70 °C Απόδοση: 95%. HPLC: $t_R(\text{min}) = 18.8$. (Σύστημα A) Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98%.

7.4.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 1' - 8'

Η σύνθεση των συμπλόκων 1' - 8' έγινε ομοίως με το σύμπλοκο 9'. Η μόνη διαφορά είναι πως στη θέση της 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης προστίθεται ο εκάστοτε μονοδραστικός υποκαταστάτης. Για την ανάλυση των συμπλόκων 2' – 7', 9' χρησιμοποιείται το Σύστημα Α, ενώ για την ανάλυση των συμπλόκων 1, 8 και 1', 8' χρησιμοποιείται το Σύστημα Β. Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98 %.

fac-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyCONHNH₂)], 1'

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻². Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 47.4. (Σύστημα Β)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³. Απόδοση: 44 %.
HPLC: tR(min)= 47.4. (Σύστημα Β)

fac-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(3pyCONEt₂)], 2'

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 17.4. (Σύστημα Α)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 53 %.
HPLC: tR(min)= 17.4. (Σύστημα Α)

fac-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], 3'

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 17.8. (Σύστημα Α)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 63 %.
HPLC: tR(min)= 17.8. (Σύστημα Α)

fac-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(3pyCOOH)], 4'

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 15.7. (Σύστημα Α)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 64%.
HPLC: tR(min)= 15.7. (Σύστημα Α)

***fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(py)], 5'**

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 18.1. (Σύστημα A)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 68 %.
HPLC: tR(min)= 18.1. (Σύστημα A)

***fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4NHCO)], 6'**

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95%.
HPLC: tR(min)= 17.5. (Σύστημα A)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 69 %.
HPLC: tR(min)= 17.5. (Σύστημα A)

***fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyOMe)], 7'**

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95 %.
HPLC: tR(min)= 18.6. (Σύστημα A)
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 75 %.
HPLC: tR(min)= 18.6. (Σύστημα A)

***fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyNH₂)], 8'**

- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 10⁻² M. Απόδοση: 95%.
HPLC: tR(min)= 49.8.
- συγκέντρωση υποκατεστημένης πυριδίνης = 3x10⁻³ M. Απόδοση: 89 %.
HPLC: tR(min)= 49.8.

7.5 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ

Το μίγμα των αντιδράσεων των συμπλόκων **1'**- **9'** ενίονται στην RP-HPLC (500 μCi) και συλλέγεται στο σύμπλοκο. Τα απομονωμένα σύμπλοκα **1'** - **9'**, μελετώνται ως προς τη σταθερότητα τους σε θερμοκρασία 37°C, παρουσία ιστιδίνης και κυστεΐνης σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH 7.4) για 1, 3 και 6 ώρες.

7.5.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ

Παρασκευάζονται διαλύματα ιστιδίνης 10^{-2} M και κυστεΐνης 10^{-2} M σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (0.01 M, pH= 7.4). Στη συνέχεια σε φιαλίδιο προστίθενται 100 μ L από το κάθε παραπάνω διάλυμα, 500 μ L απομονωμένου συμπλόκου (300 μ Ci) και 400 μ L ρυθμιστικό διάλυμα PBS (pH= 7.4). Τα φιαλίδια πωματίζονται, σφραγίζονται, τους διαβιβάζεται αέριο άζωτο για 2' και στο τέλος επωάζονται στους 37° C έως και 6 ώρες. Η τελική συγκέντρωση του ανταγωνιστή (ιστιδίνη ή κυστεΐνη) είναι 10^{-3} M και το pH του διαλύματος 7.4. Σε χρονικά διαστήματα 1, 3 και 6 ώρες λαμβάνονται δείγματα τα οποία αναλύονται με RP-HPLC. Ανάκτηση ραδιενέργειας από τη στήλη είναι >98 %.

7.6 ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΙΠΟΦΙΛΙΚΟΤΗΤΑΣ

Σε σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 2 mL κανονικής οκτανόλης και 2 mL ρυθμιστικού διαλύματος PBS (pH = 7.4). Σε αυτά προστίθεται 20 μ L του εκάστοτε απομονωμένου συμπλόκου (10 μ Ci). Ο σωλήνας της φυγοκέντρου τοποθετείται στο vortex και ακολουθεί φυγοκέντρωση. Μετά τη φυγοκέντρωση από το σχηματισθέν διφασικό σύστημα n-οκτανόλης/PBS, φέρονται από 200 μ L n-οκτανόλης σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες και 200 μ L PBS σε 3 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες, οι οποίοι μετρούνται στο μετρητή γ-ακτινοβολίας. Ακολουθεί επανάληψη του πειράματος άλλες τρεις φορές με την διαφορά ότι στο σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 500 μ L από τη φάση της οκτανόλης που προέρχεται από το προηγούμενο πείραμα, 1.5 mL n-οκτανόλης και 2 mL PBS. Η λιποφιλικότητα (logP) δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$P = \frac{\text{Κρούσεις ανά mL n-οκτανόλης}}{\text{Κρούσεις ανά mL PBS}}$$

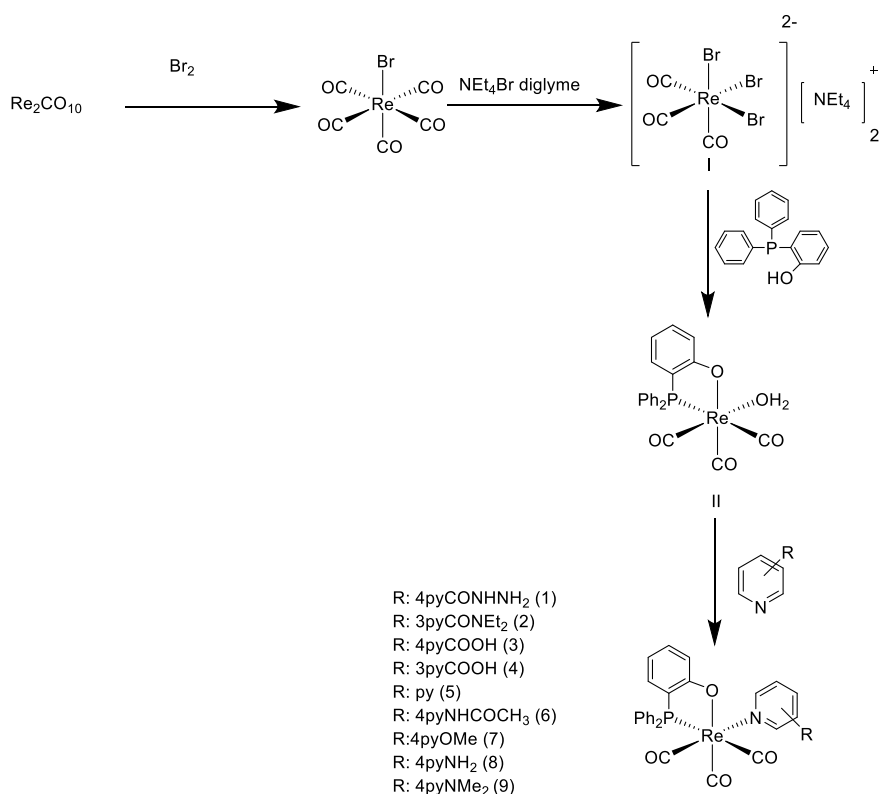
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re ΚΑΙ Tc

Στην παρούσα εργασία συντίθενται ουδέτερα τρικαρβόνυλο σύμπλοκα του ρηνίου με διδραστικό υποκαταστάτη την (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη και μονοδραστικό υποκαταστάτη υποκαταστάτη, μια υποκατεστημένη πυριδίνη (Πίνακας 10.). Η δομή των συμπλόκων ταυτοποιείται με φασματοσκοπία IR και HNMR,. Η δομή των συμπλόκων **3**, **4**, **7** και **8** επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Στη συνέχεια, συντίθενται τα αντίστοιχα ουδέτερα τρικαρβόνυλο σύμπλοκα του τεχνητίου-99m και ταυτοποιούνται μέσω συγκριτικής χρωματογραφίας HPLC, εξετάζονται ως προς τη σταθερότητα και υπολογίζεται η λιποφιλικότητά τους.

8.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Re

Η σύνθεση της πρόδρομης ένωσης $[Et_4N]_2[ReBr_3(CO)_3]$, **I**, περιλαμβάνει 2 στάδια.



Σχήμα 3. Πορεία σύνθεσης των συμπλόκων ρηνίου 1-9.

Με επίδραση βρωμίου στο δεκακαρβόνυλο διρήνιο σχηματίζεται η ένωση $[\text{ReBr}(\text{CO})_5]$, η οποία με προσθήκη βρωμιούχου τetrαιθυλαμμωνίου σχηματίζει το επιθυμητό τρικαρβόνυλο σύμπλοκο ως λευκό στερεό σε υψηλή απόδοση. Ο χαρακτηρισμός του πραγματοποιείται μέσω φασματοσκοπίας IR και είναι σύμφωνος με την βιβλιογραφία. Τα τρία άτομα του βρωμίου είναι ευκίνητα και εύκολα μπορούν να αντικατασταθούν.⁴⁸

Στην συνέχεια, με επίδραση ισομοριακής ποσότητας (2-υδροξυφαίνυλο)διφαινυλοφωσφίνης (POH) στην ένωση **I** συντίθενται το σύμπλοκο *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{H}_2\text{O})]$, **II**. Ακολούθως, με ισομοριακή προσθήκη του μονοδραστικού υποκαταστάτη στο σύμπλοκο **II** σε μεθανόλη συντέθηκαν και απομονώθηκαν τα σύμπλοκα **1 - 9** με αποδόσεις μεγαλύτερες από 87 %.(Σχήμα 3)

Ο POH διδραστικός υποκαταστάτης έχει μελετηθεί αρκετά σε σύμπλοκα τεχνητίου στις οξειδωτικές βαθμίδες III και V, ενώ στην οξειδωτική βαθμίδα I ελάχιστα.⁵¹ Η τριφαινυλοφωσφίνη, μέσω του φωσφόρου, είναι πολύ καλός δότης ηλεκτρονίων ως προς τα μέταλλα μετάπτωσης. Κατά τη διάρκεια της συμπλοκοποίησης, το υδροξύλιο του POH αποπρωτονιώνεται και σχηματίζεται ένας πενταμελής χηλικός δακτύλιος, γεγονός που προσφέρει επιπλέον σταθερότητα στο σχηματισθέν σύμπλοκο.

Το πέρας των αντιδράσεων των συμπλόκων **1 - 9** ελέγχεται με χρωματογραφία RP-HPLC. Για κάθε σύμπλοκο το χρωματογράφημα εμφάνισε μία νέα μοναδική κορυφή. Οι χρόνοι έκλουσης των συμπλόκων **1 - 9** φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Να σημειωθεί πως για την ανάλυση των συμπλόκων **2 - 7** και **9** χρησιμοποιήθηκε το Σύστημα Α. Για την ανάλυση των συμπλόκων **1** και **8** χρησιμοποιήθηκε το Σύστημα Β γιατί στο Σύστημα Α ο χρόνος έκλουσης των συμπλόκων **1** και **8** ήταν παρόμοιος με τον χρόνο έκλουσης του συμπλόκου *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{H}_2\text{O})]$, **II**.

Πίνακας 11. Συγκεντρωτικός πίνακας των χρόνων έκλουσης (t_R) των συμπλόκων 1-9, σε δύο διαφορετικά gradient.

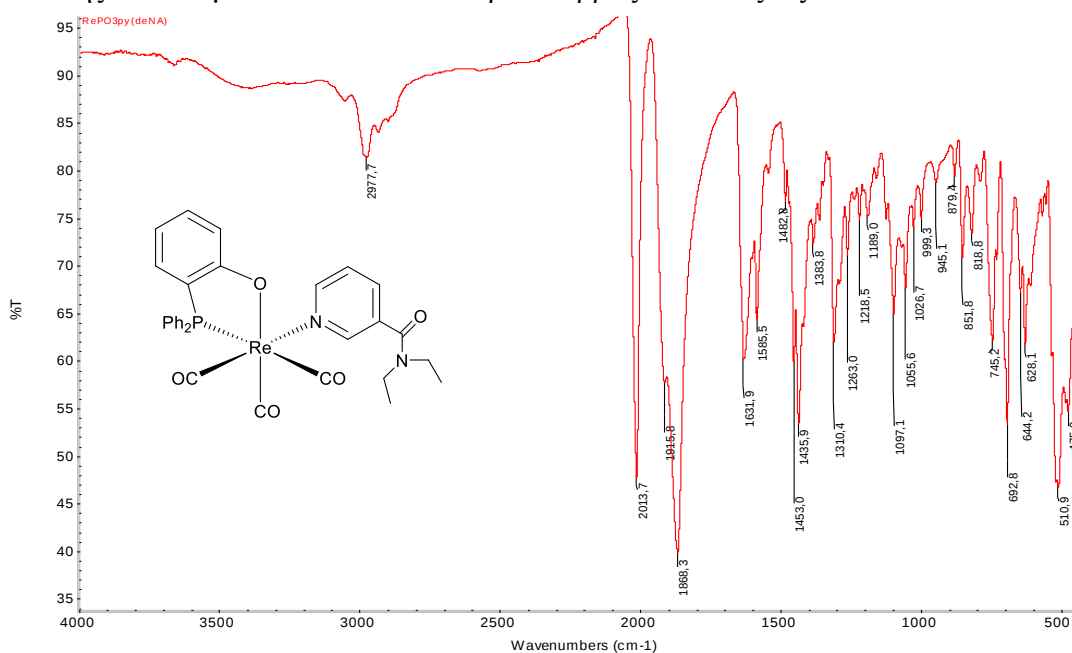
Σύμπλοκα Re	Χρόνος έκλουσης t_R (min) Σύστημα A και Σύστημα B
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4pyCONHNH ₂)], 1	47.1 (Σύστημα B)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(3pyCONEt ₂)], 2	17.2 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4pyCOOH)], 3	17.2 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(3pyCOOH)], 4	15.5 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(py)], 5	17.8 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4pyNHCOCH ₃)], 6	17.2 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(OMe)], 7	18.0 (Σύστημα A)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(NH ₂)], 8	49.1 (Σύστημα B)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(NMe ₂)], 9	18.1 (Σύστημα A)

8.2 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ 1 - 9.

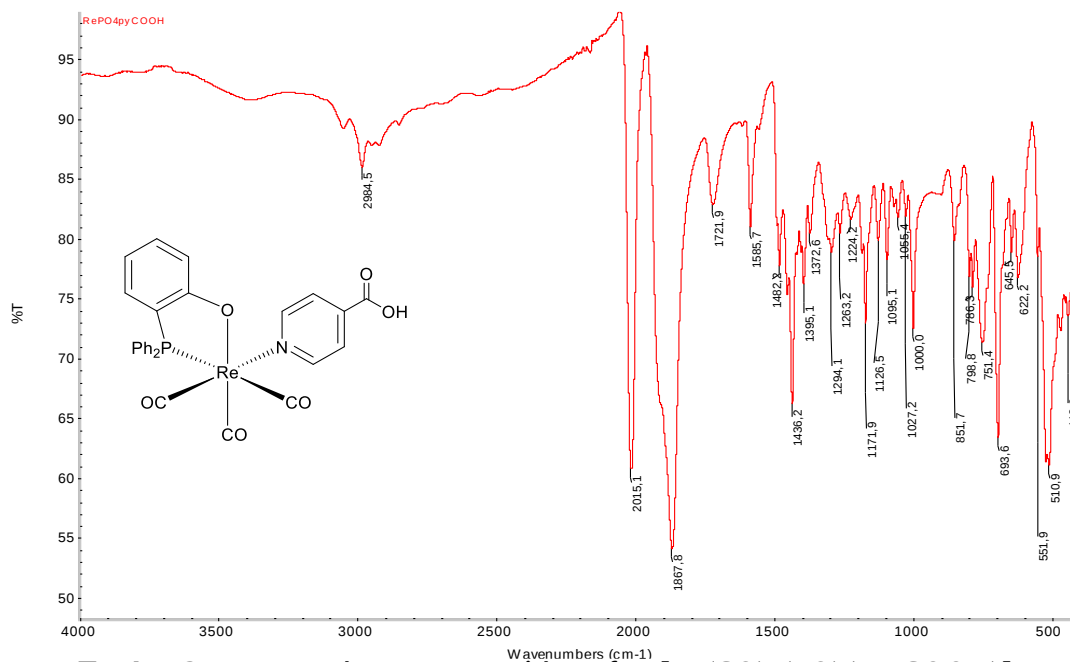
Η φασματοσκοπία IR είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον χαρακτηρισμό των συμπλόκων που περιέχουν καρβονύλια. Η ύπαρξη χαρακτηριστικών κορυφών εξακριβώνει την ύπαρξη των καρβονυλίων στο σύμπλοκο και την σύμπλεξη των υποκαταστατών με τον καρβόνυλο πυρήνα.

Τα φάσματα IR των συμπλόκων **1 - 9** παρουσιάζουν τις χαρακτηριστικές κορυφές στις περιοχές $2025 - 1850 \text{ cm}^{-1}$, οι οποίες αποδίδονται στη δόνηση τάσης του δεσμού άνθρακα – οξυγόνου των τριών *fac*- καρβονυλίων του συμπλόκου. Οι κορυφές βρίσκονται σε απόλυτη συμφωνία με τις απορροφήσεις που εμφανίζονται σε ανάλογα σύμπλοκα του ρηνίου που περιέχουν τον τρικαρβόνυλο πυρήνα *fac*-[Re(CO)₃]⁺, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη του στα τελικά σύμπλοκα.⁶² Επίσης, οι κορυφές που καταγράφονται στα 740 και 690 cm^{-1} αποδίδονται στους βενζολικούς δακτυλίους του διδραστικού υποκαταστάτη POH, γεγονός που αποδεικνύει τη σύμπλεξη του με το ρήνιο.⁵¹

Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά τα φάσματα IR των συμπλόκων **2** και **3**. Στο φάσμα xxx του συμπλόκου **2** φαίνεται φαίνεται η χαρακτηριστική κορυφή στα 1721 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού C=O του αμιδίου. Στην εικόνα 33 του συμπλόκου **3** φαίνεται η χαρακτηριστική κορυφή στα 1631 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην δόνηση τάσης του δεσμού C=O του ελεύθερου καρβοξυλικού οξέος.

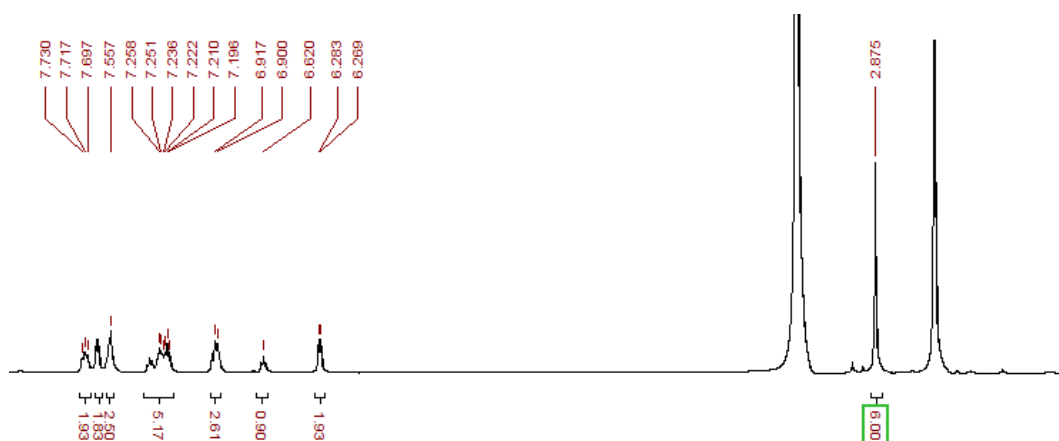


Εικόνα 33. FT-IR φάσμα του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCONH)], **2**.



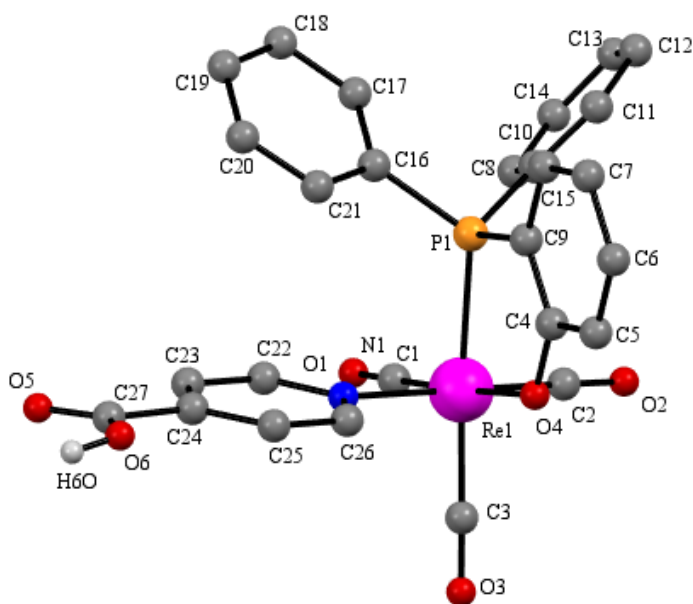
Εικόνα 34. FT-IR φάσμα του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], 3.

Τα σύμπλοκα **1 – 9** ταυτοποιούνται μέσω φασματοσκοπίας ¹H NMR. Σε όλα τα σύμπλοκα υπάρχουν τα χαρακτηριστικά πρωτόνια του διδραστικού υποκαταστάτη και της πυριδίνης που βρίσκονται στην περιοχή δ 8.88-6.55 ppm. Η περιοχή αυτή βρίσκεται σε πλήρη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για τις μετατοπίσεις αρωματικών πρωτονίων της συναρμοσμένης (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης και της πυριδίνης.⁵¹

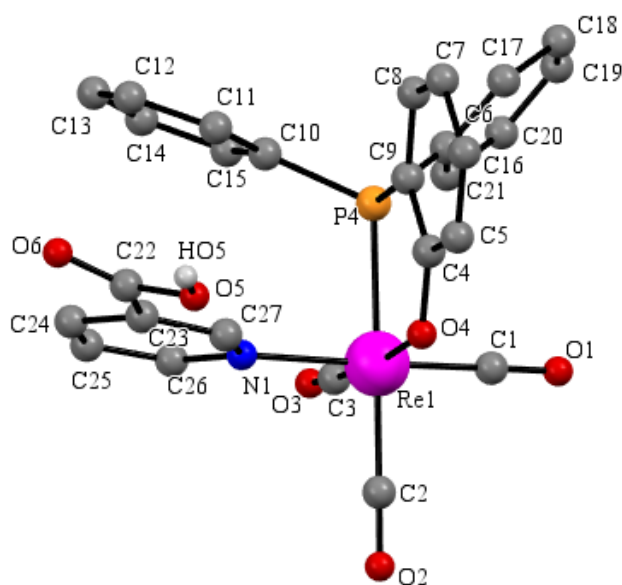


Εικόνα 35. ¹H NMR φάσμα του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNMe₂)], 9 σε DMSO-d₆.

Η μοριακή δομή των συμπλόκων **3**, **4**, **7** και **8** επιβεβαιώθηκε μέσω κρυσταλλογραφίας ακτινών Χ. Στα διαγράμματα ORTEP εμφανίζονται οι σφαίρες σύνταξης του Re, οι οποίες αποτελούνται από τα άτομα δότες (P, O) της 2-υδροξυδιφαινυλοφωσφίνης, τα άτομα άνθρακα των τριών καρβονυλίων και το άτομο δότη του μονοδραστικού υποκαταστάτη (N). Η γεωμετρία σύνταξης του κάθε συμπλόκου είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



Εικόνα 36. Διάγραμμα ORTEP του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], **3**.



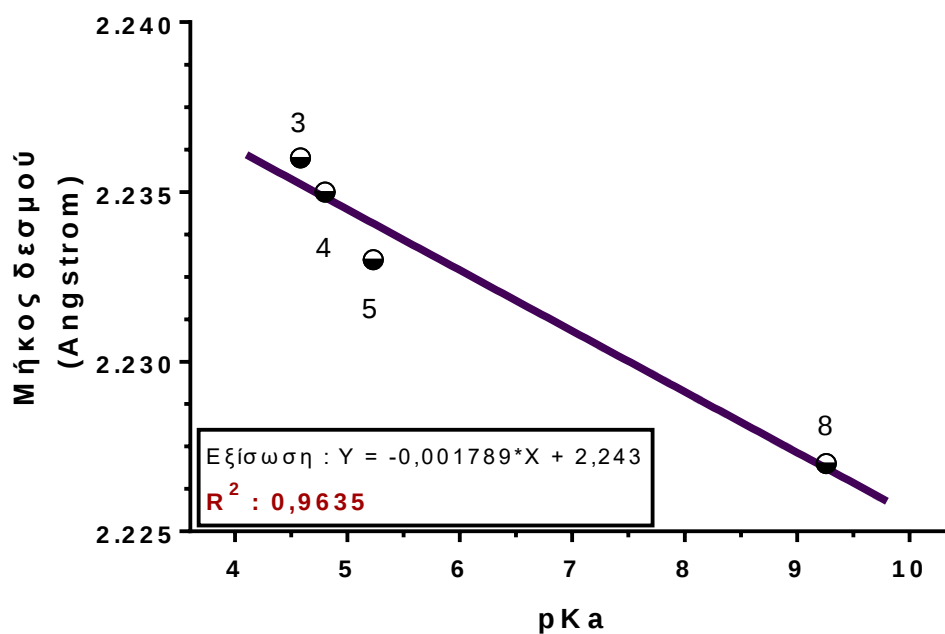
Εικόνα 37. Διάγραμμα ORTEP του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCOOH)], **4**.



Το μήκος του δεσμού ρηνίου – πυριδινικού αζώτου (Re-N) επηρεάζεται από το ρ_{ka} του μονοδραστικού υποκαταστάτη. Από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα φαίνεται πως το μήκος δεσμού Re-N, μειώνεται όσο αυξάνεται η σταθερά διάστασης της υποκατεστημένης πυριδίνης. Αυτή η αντιστρόφως ανάλογη σχέση εξηγείται από τη διαθέσιμη ηλεκτρονιακή πυκνότητα στο πυριδινικό άζωτο. Όταν υπάρχουν υποκαταστάτες που προσφέρουν ηλεκτρόνια στον αρωματικό δακτύλιο της πυριδίνης (OMe, NH₂), τότε αυξάνεται η ηλεκτρονιακή πυκνότητα που προσφέρεται από το άζωτο στο μέταλλο, και κατά συνέπεια μειώνεται το μήκος του δεσμού. Αντιθέτως, όταν υπάρχουν υποκαταστάτες που έλκουν ηλεκτρόνια από τον αρωματικό δακτύλιο της πυριδίνης (COOH), τότε μειώνεται η ηλεκτρονιακή πυκνότητα που προσφέρεται από το άζωτο στο μέταλλο και συνεπώς αυξάνεται το μήκος του δεσμού. (Πίνακας 22.)

Πίνακας 12. Μήκη δεσμών Re-N των συμπλόκων 3', 4', 5' και 8' σε σχέση με τη σταθερά διάστασης (pKa) της υποκατεστημένης πυριδίνης.

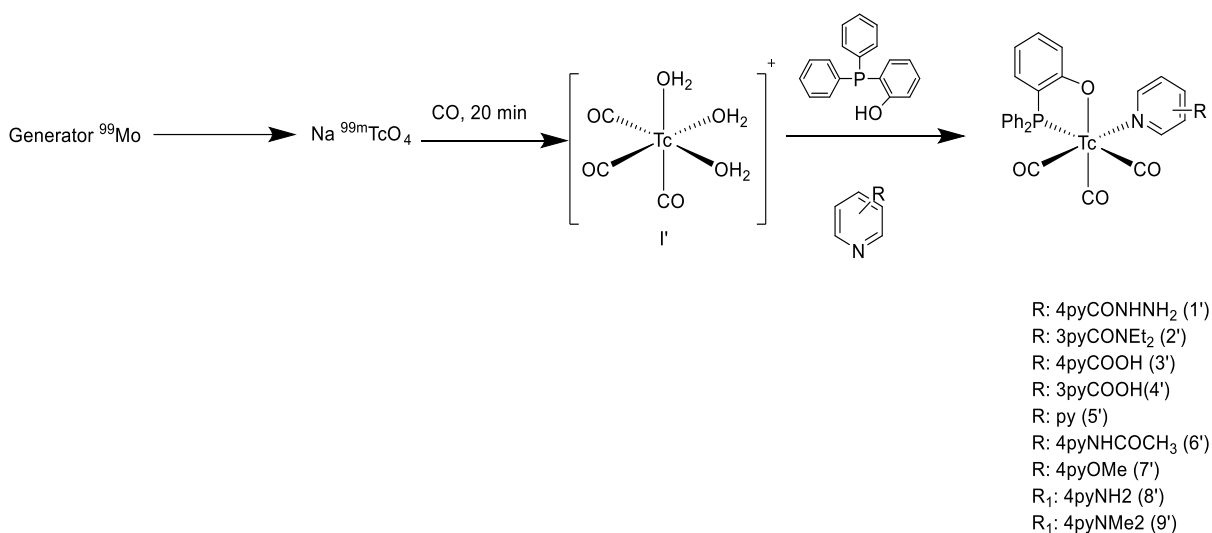
Σύμπλοκα	Σταθερά διάστασης	Μήκος δεσμού Re-N (Å)
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4pyCOOH)], 3	4.58	2.236
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(3pyCOOH)], 4	4.80	2.235
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(py)], 5	5.23	2.233
<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (PO)(4pyNH ₂)], 8	9.26	2.227



Διάγραμμα 1. Σχέση του μήκους δεσμού Re-N (Å) σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pKa).

8.3 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99m

Η πορεία σύνθεσης των συμπλόκων του τεχνητίου-99m περιλαμβάνει την παρασκευή της ενδιάμεσης ένωσης *fac*- [^{99m}Tc(H₂O)(CO)₃], **I'**, και στην συνέχεια την ταυτόχρονη προσθήκη του διδραστικού υποκαταστάτη ROH με τον εκάστοτε μονοδραστικό υποκαταστάτη. (Σχήμα 4.)



Σχήμα 4. Συνθετικό σχήμα σύνθεσης των συμπλόκων τεχνητίου-99m **1'** - **9'**.

Η σύνθεση της πρόδρομης ένωσης **I'** έγινε με διαβίβαση CO για 20' σε φιαλίδιο πενικιλίνης που περιείχε 4 mg ανθρακικού νατρίου, 20 mg τρυγικού καλίου-νατρίου και 5.5 mg νάτριο-βοριοϋδριδίου και ακόλουθη προσθήκη Na^{99m}TcO₄ (10 mCi) σε φυσιολογικό ορό. Η αναγωγή του τεχνητίου έγινε με το NaBH₄ και το pH ρυθμίστηκε στο 7 με τη χρήση HCl 1M. Ο σχηματισμός του **I'** επιβεβαιώθηκε μέσω RP-HPLC χρησιμοποιώντας ανιχνευτή γ ακτινοβολίας. Η ανάλυση έδειξε τον σχηματισμό του **I'** κατά 97%.^{49, 50}

Η σύνθεση του συμπλόκου **9'** πραγματοποιήθηκε με ταυτόχρονη προσθήκη του διδραστικού υποκαταστάτη ROH και της 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης στην πρόδρομη ένωση

Γ'. Η συγκέντρωση του POH επιλέχθηκε να είναι 10^{-4} M, ενώ δοκιμάστηκαν διάφορες συγκεντρώσεις του μονοδραστικού υποκαταστάτη. Βρέθηκε ότι για να υπάρχει απόδοση στην αντίδραση >95 %, η συγκέντρωση του μονοδραστικού υποκαταστάτη πρέπει να είναι 3×10^{-3} M (Πίνακας 14.). Με αυτό τον τρόπο συντέθηκαν και τα υπόλοιπα σύμπλοκα της σειράς με αποδόσεις οι οποίες κυμαίνονται από 44 % έως 95 % (Πίνακας 15.).

Πίνακας 13. Αποδόσεις συμπλόκου 9' σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνης.

$^{99m}\text{TcPO}_4\text{pyNMe}_2$, 9'	Συγκέντρωση 2- υδροξυδυφαινυλοφωσφίνης (M)	Συγκέντρωση 4- διμεθυλοάμινο πυριδίνης (M)	Απόδοση (%)
	10^{-4}	10^{-4}	39.11
	10^{-4}	10^{-3}	78.23
	10^{-4}	2×10^{-3}	88
	10^{-4}	3×10^{-3}	95

Πίνακας 14. Συγκεντρωτικός πίνακας των αποδόσεων (%) σχηματισμού των 1'-9' με POH (10^{-4} M), υποκατεστημένη πυριδίνη (3×10^{-3} M), σε PBS (pH 7.4) για 30' στους 70°C.

^{99m}Tc - σύμπλοκα	Απόδοση
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyCONHNH}_2)], \mathbf{1'}$	44 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(3\text{pyCONEt}_2)], \mathbf{2'}$	53 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyCOOH})], \mathbf{3'}$	63 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(3\text{pyCOOH})], \mathbf{4'}$	64 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(\text{py})], \mathbf{5'}$	68 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNHCOCH}_3)], \mathbf{6'}$	69 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyOMe})], \mathbf{7'}$	75 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNH}_2)], \mathbf{8'}$	89 %
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNMe}_2)], \mathbf{9'}$	95 %

8.4 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-99m

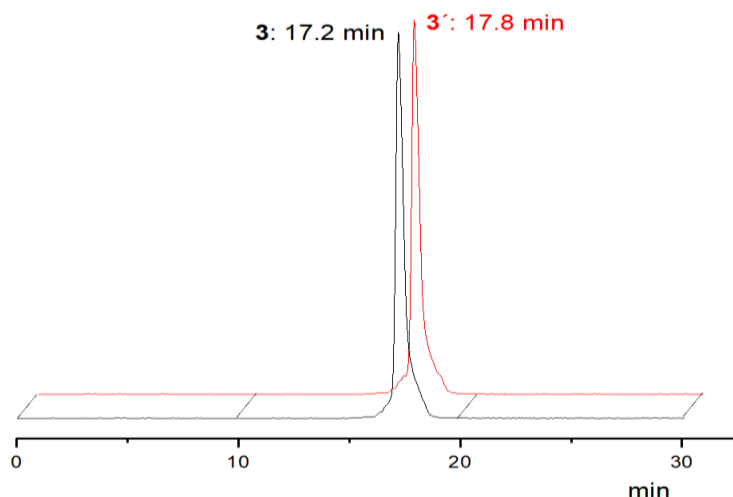
Όλα τα σύμπλοκα του τεχνητίου-99m ταυτοποιήθηκαν μέσω συγκριτικής χρωματογραφίας RP-HPLC με συγχορήγηση του ανάλογου χαρακτηρισμένου συμπλόκου του ρηνίου. Για τα σύμπλοκα 2' - 7', 9' χρησιμοποιείται το σύστημα Α ενώ το σύστημα Β χρησιμοποιείται για τα σύμπλοκα 1' και 8'.

Ο παρόμοιος χρόνος έκλυσης των συμπλόκων ρηνίου και τεχνητίου-99m είναι καθοριστικός για την ταυτοποίηση των συμπλόκων του τεχνητίου-99m. Όπως φαίνεται στην εικόνα xxx και στον Πίνακα 16, τα σύμπλοκα ρηνίου και τεχνητίου-99m απέχουν λιγότερο από 0,7', που δικαιολογείται από τη σειρά της συνδεσμολογίας των ανιχνευτών που είναι συζευγμένοι με την RP-HPLC.

Πίνακας 15. Συγκεντρωτικός πίνακας των χρόνων έκλυσης των συμπλόκων ρηνίου και τεχνητίου, σε δύο διαφορετικά gradient.

Σύμπλοκα M=Re, ^{99m} Tc	Χρόνος έκλυση M=Re, tR (min) (Σύστημα Α και Β)	Χρόνος έκλυσης M= ^{99m} Tc, tR (min) (Σύστημα Α και Β)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(4pyCONHNH ₂)], 1-1'	47.1 (Σύστημα Β)	47.4 (Σύστημα Β)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(3pyCONEt ₂)], 2-2'	17.2 (Σύστημα Α)	17.4 (Σύστημα Α)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(4pyCOOH)], 3-3'	17.2 (Σύστημα Α)	17.8 (Σύστημα Α)

<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(3pyCOOH)], 4-4'	15.5 (Σύστημα Α)	15.7 (Σύστημα Α)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(py)], 5-5'	17.8 (Σύστημα Α)	18.1 (Σύστημα Α)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(4pyNHCOCH ₃)], 6-6'	17.2 (Σύστημα Α)	17.5 (Σύστημα Α)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(OMe)], 7-7'	18.0 (Σύστημα Α)	18.6 (Σύστημα Α)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(NH ₂)], 8-8'	49.1 (Σύστημα Β)	49.8 (Σύστημα Β)
<i>fac</i> -[M(CO) ₃ (PO)(NMe ₂)], 9-9'	18.1 (Σύστημα Α)	18.8 (Σύστημα Α)



Εικόνα 39. Χρωματογράφημα ταυτόχρονης ένεσης του συμπλόκου fac-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], 3 (μαύρο χρώμα) και του fac-[^{99m}Tc(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], 3' (κόκκινο χρώμα).

8.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ pKa ΠΥΡΙΔΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc

Οι αποδόσεις των συμπλόκων σε επίπεδο τεχνητίου με σταθερή τη συγκέντρωση της υποκατεστημένης πυριδίνης (3×10^{-3} M), σταθερή τη συγκέντρωση της (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης (10^{-4} M) και σε pH 7.4, παρουσιάζουν ανάλογη σχέση με τη τιμή της σταθεράς διάστασης της κάθε πυριδίνης.

Η σχέση αυτή δικαιολογείται από την βασικότητα του πυριδινικού αζώτου, στην οποία οφείλεται η ισχύς του δεσμού μεταξύ αζώτου και τεχνητίου. Το σύμπλοκο 9' που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνη, με την υψηλότερη τιμή σταθεράς διάστασης, έχει τη μεγαλύτερη απόδοση (95 %), λόγω της αυξημένης ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πυριδινικού αζώτου. Το σύμπλοκο 1' που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την ισονιαζίδη με τη χαμηλότερη τιμή σταθεράς διάστασης, έχει τη μικρότερη απόδοση (44 %), λόγω της μειωμένης ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πυριδινικού αζώτου. Ανάλογα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα υπόλοιπα σύμπλοκα της σειράς.

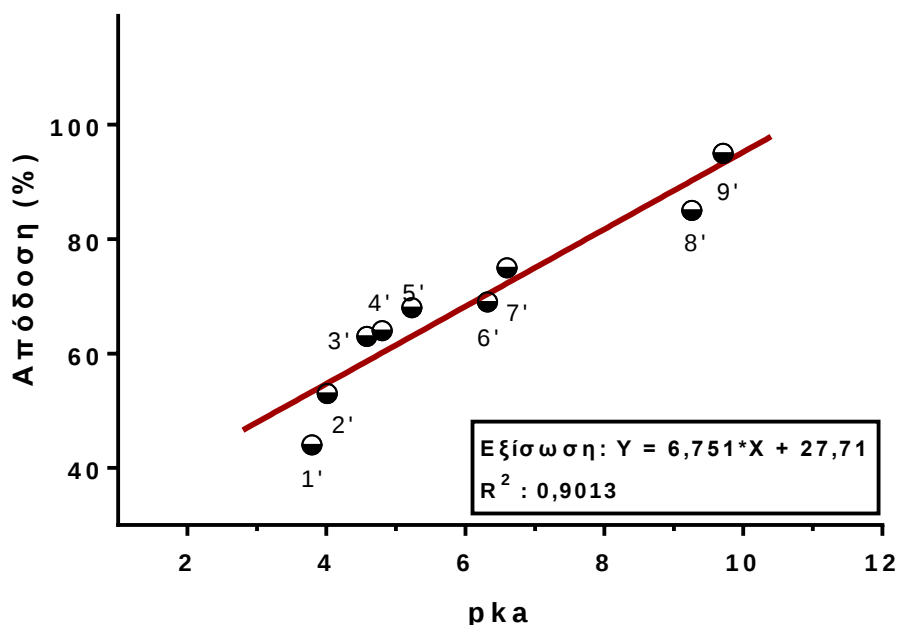
Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι πως η μειωμένη απόδοση των συμπλόκων οφείλεται στον σχηματισμό του [2+1] συμπλόκου που φέρει την (2-

υδροξυφαινυλο)διαφαινυλοφωσφίνη ως διδραστικό και ως μονοδραστικό υποκαταστάτη. Λόγω του ασθενέστερου δεσμού αζώτου-τεχνητίου προτιμάται, να δράσει ως μονοδραστικός υποκαταστάτης η (2-υδροξυφαινυλο)διαφαινυλοφωσφίνη που διαθέτει ως άτομο δότη το πλούσιο ηλεκτρονικά φώσφορο.

Πίνακας 16. Συσχέτιση σταθεράς διάστασης των υποκατεστημένων πυριδινών (*pka*) με την ραδιοχημική απόδοση των συμπλόκων 1'-9'.

^{99m} Tc-σύμπλοκα	<i>pka</i>	Απόδοση
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyCONHNH ₂)], 1'	3,79	44 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(3pyCONEt ₂)], 2'	4,01	53 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyCOOH)], 3'	4,58	63 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(3pyCOOH)], 4'	4,8	64 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(py)], 5'	5,23	68 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNHCOCH ₃)], 6'	6,32	69 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyOMe)], 7'	6,6	75 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNH ₂)], 8'	9,26	89 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNMe ₂)], 9'	9,71	95 %

Η αναλογική σχέση μεταξύ της απόδοσης και της σταθεράς διάστασης (*pka*) αποδίδεται στο Διάγραμμα 2.



Διάγραμμα 2. Σχέση της απόδοσης των ^{99m}Tc σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης (pKa) της εκάστοτε πυριδίνης.

8.6 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc

Τα απομονωμένα σύμπλοκα **1'** - **9'** μελετήθηκαν ως προς την σταθερότητα τους σε συνάρτηση με το χρόνο για 1, 3 και 6 ώρες παρουσία ισχυρών ανταγωνιστών σε 37 °C και σε pH 7.4. Η συγκέντρωση των ανταγωνιστών (ιστιδίνη και κυστεΐνη) είναι 10^{-3} M. Η χρήση της ιστιδίνης και κυστεΐνης έγινε επειδή από το σύνολο των αμινοξέων θεωρούνται οι καλύτεροι συμπλεκτικοί παράγοντες σε επίπεδο τεχνητού(I). Τα δείγματα επωάζονται σε θερμοκρασία δωματίου ως προσομοίωση της θερμοκρασίας του σώματος και το pH προσαρμόζεται στο 7.4 ως προσομοίωσης του pH του αίματος. Το σύμπλοκο που παρουσίασε την υψηλότερη σταθερότητα στις 6 ώρες, με ποσοστό μόλις 89% παρουσία κυστοειδής και 86 % παρουσία ιστιδίνης ήταν το $\text{fac-}[\text{M}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyNMe}_2)]$, **9'**. Το σύμπλοκο που παρουσίασε τη χαμηλότερη σταθερότητα στις 6 ώρες, με ποσοστό μόλις 3 % παρουσία κυστεΐνης και 2 % παρουσία ιστιδίνης ήταν το $\text{fac-}[\text{M}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyCONH})]$, **1'**.

Πίνακας 17. Συγκεντρωτικός πίνακας με τις τιμές σταθερότητας των απομονωμένων συμπλόκων παρουσία κυστεΐνης σε συγκέντρωση ανταγωνιστή 10^{-3} M, pH = 7.4 και στους 37°C.

Σύμπλοκα ^{99m}Tc	1 h	3h	6h
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyCONHNH}_2)$], 1'	68 %	29 %	3 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(3\text{pyCONEt}_2)$], 2'	76 %	35 %	6 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyCOOH})$], 3'	81 %	52 %	29 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(3\text{pyCOOH})$], 4'	80 %	48 %	25 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(\text{py})$], 5'	81 %	44 %	16 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNHCOCH}_3)$], 6'	80 %	67 %	35 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyOMe})$], 7'	85 %	74 %	36 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNH}_2)$], 8'	96 %	80 %	60 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyNMe}_2)$], 9'	97 %	92 %	89 %

Πίνακας 18. Συγκεντρωτικός πίνακας με τις τιμές σταθερότητας των απομονωμένων συμπλόκων παρουσία ιστιδίνης σε συγκέντρωση ανταγωνιστή 10^{-3} M, pH = 7.4 και στους 37°C.

Σύμπλοκα ^{99m}Tc	1 h	3h	6h
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(4\text{pyCONHNH}_2)$], 1'	54 %	20 %	2 %
<i>fac</i> -[$^{99m}\text{Tc}(\text{PO})(3\text{pyCONEt}_2)$], 2'	61 %	31 %	14 %

<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyCOOH)], 3'	63 %	41 %	22 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(3pyCOOH)], 4'	61 %	38 %	21 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(py)], 5'	62 %	27 %	20 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNHCOCH ₃)], 6'	63 %	41 %	23 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyOMe)], 7'	76 %	55 %	30 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNH ₂)], 8'	88 %	72 %	65 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc(PO)(4pyNMe ₂)], 9'	94 %	88 %	86 %

8.7 ΕΠΙΔΡΑΣΗ pKa ΠΥΡΙΔΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ-^{99m}

Σε επίπεδο τεχνητίου, παρατηρείται μία σχέση αναλογική ως προς το pKa και την σταθερότητα των συμπλόκων. Όσο αυξάνεται το pKa του μονοδραστικού υποκαταστάτη αυξάνεται και η σταθερότητα των συμπλόκων.

Το σύμπλοκο που παρουσίασε την υψηλότερη σταθερότητα είναι το **9'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την 4-διμέθυλοαμινοπυριδίνη (pKa=9.71). Παρουσία κυστεΐνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 97 %, στις 3 ώρες κατά 92 % και στις 6 ώρες κατά 89 %. Παρουσία ιστιδίνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 94 %, στις 3 ώρες κατά 88 % και στις 6 ώρες κατά 86%.

Το σύμπλοκο που παρουσιάζει την χαμηλότερη σταθερότητα είναι το **1'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την ισονιαζίδη (pKa = 3.79). Παρουσία κυστεΐνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 68 %, στις 3 ώρες κατά 29 % και στις 6 ώρες κατά 3 %.

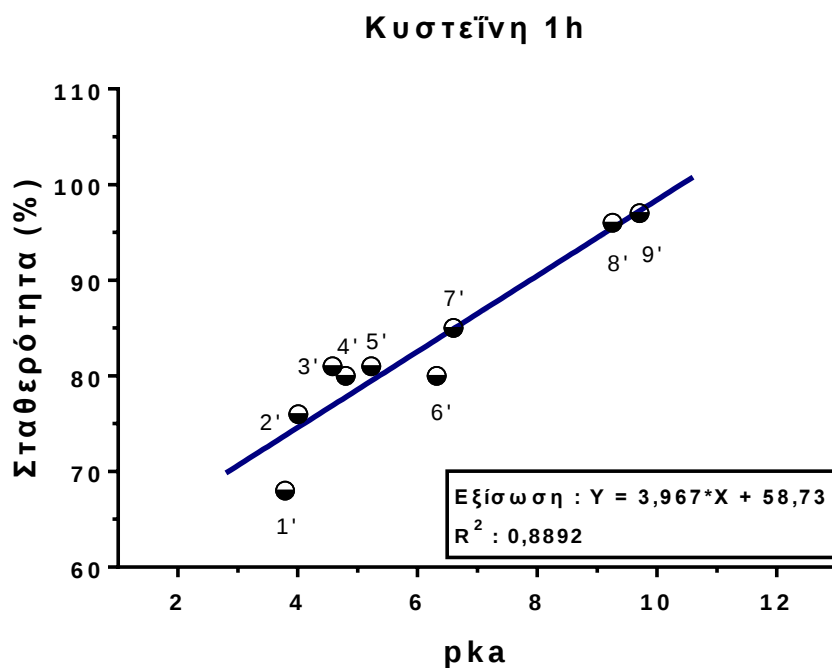
Παρουσία ιστιδίνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 54 %, στις 3 ώρες κατά 20 % και στις 6 ώρες κατά 2 %.

Παρατηρείται αναλογική σχέση μεταξύ της σταθερότητας των συμπλόκων και της τιμής της σταθεράς διάστασης (pK_a) της υποκατεστημένης πυριδίνης (Πίνακας 21.). Η ίδια σχέση ισχύει και στις ενδιάμεσες τιμές των pK_a των υπόλοιπων υποκατεστημένων πυριδινών. Η τιμή της σταθερότητας του κάθε συμπλόκου εμφανίζει αρκετά καλή συσχέτιση με τη σταθερά διάστασης (pK_a) με συντελεστή συσχέτισης $R^2 > 0.8892$.

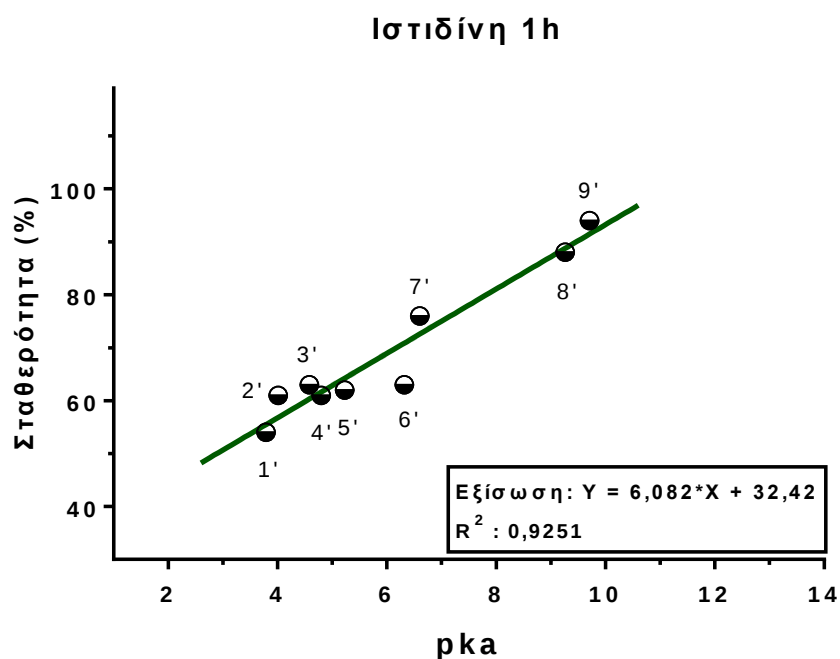
Πίνακας 19. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων σταθερότητας για τα σύμπλοκα 1'-9' σε διαστήματα 1, 3 και 6 ώρες παρουσία κυστεΐνης και ιστιδίνης.

Σύμπλοκα ^{99m}Tc	pK_a υποκατεστημένων πυριδινών	Σταθερότητα παρουσία κυστεΐνης	Σταθερότητα παρουσία ιστιδίνης
$fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyCONHNH}_2)]$, 1'	3.79	1h: 68 %	1h: 54%
		3h: 29 %	3h: 20 %
		6h: 3 %	6h: 2 %
$fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(3\text{pyCONEt}_2)]$, 2'	4.01	1h: 76 %	1h: 61 %
		3h: 35 %	3h: 31%
		6h: 6 %	6h: 14 %
$fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyCOOH})]$, 3'	4.58	1h: 81 %	1h: 63 %
		3h: 52 %	3h: 41 %
		6h: 29 %	6h: 22 %
$fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(3\text{pyCOOH})]$, 4'	4.80	1h: 80 %	1h: 61%
		3h: 48 %	3h: 38%
		6h: 25 %	6h: 21 %

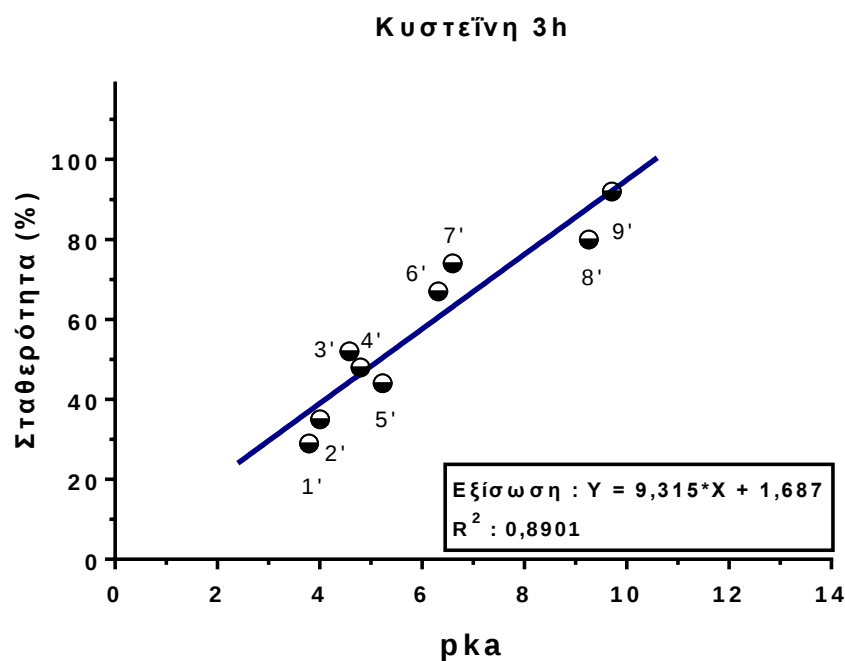
<i>fac</i> -[^{99m} Tc (CO) ₃ (PO)(py)], 5'	5.23	1h: 81 %	1h: 62 %
		3h: 44 %	3h: 27 %
		6h: 16 %	6h: 20 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc (CO) ₃ (PO)(4pyNHCOCH ₃)], 6'	6.32	1h: 80 %	1h: 63 %
		3h: 67 %	3h: 61 %
		6h: 35 %	6h: 23 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc (CO) ₃ (PO)(4pyOMe)], 7'	6.6	1h: 85 %	1h: 76 %
		3h: 74 %	3h: 55 %
		6h: 36 %	6h: 30 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc (CO) ₃ (PO)(4pyNH ₂)], 8'	9.26	1h: 96 %	1h: 88 %
		3h: 80 %	3h: 72 %
		6h: 60 %	6h: 65 %
<i>fac</i> -[^{99m} Tc (CO) ₃ (PO)(NMe ₂)], 9'	9.71	1h: 97 %	1h: 94 %
		3h: 92 %	3h: 88 %
		6h: 89 %	6h: 86 %



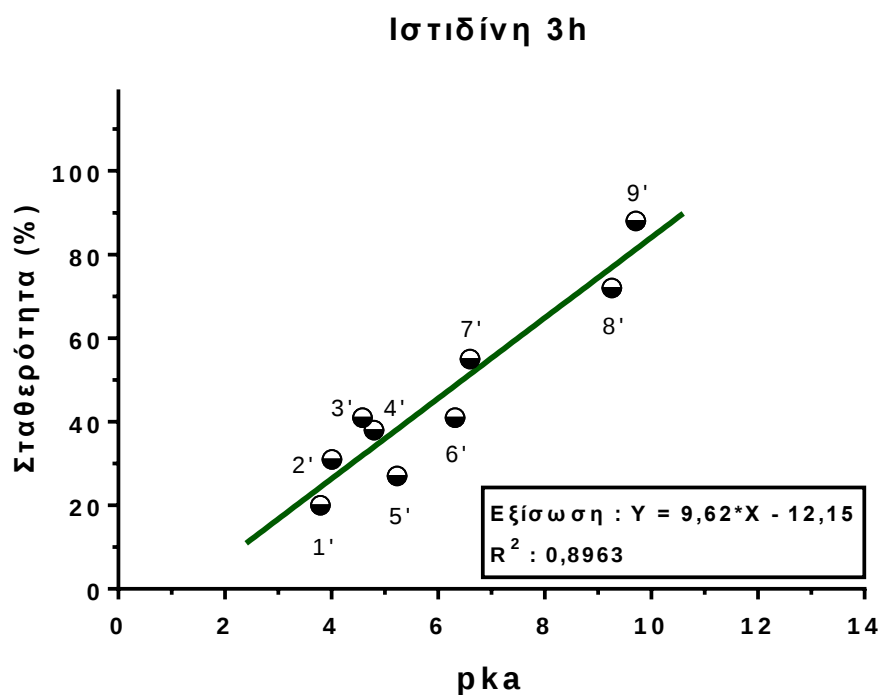
Διάγραμμα 3. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία κυστεΐνης στη 1 ώρα σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).



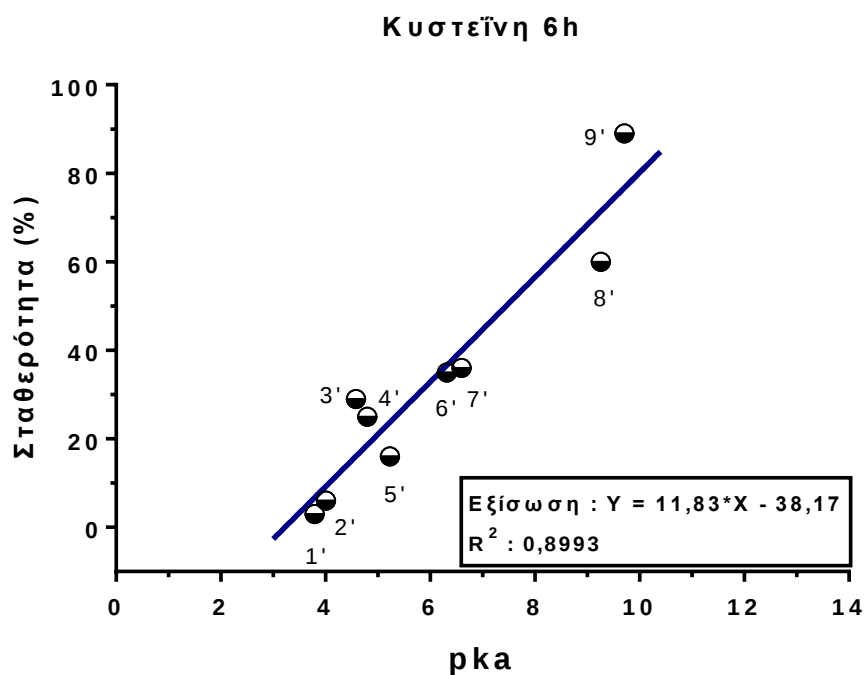
Διάγραμμα 4. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία ιστιδίνης στη 1 ώρα σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).



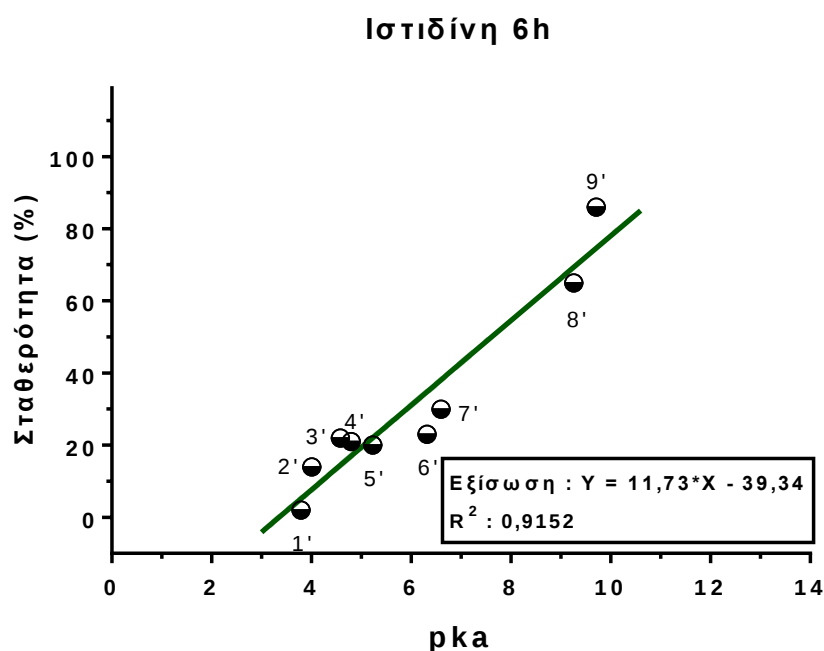
Διάγραμμα 5. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία κυστεΐνης στις 3 ώρες σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).



Διάγραμμα 6. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία ιστιδίνης στις 3 ώρες σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).



Διάγραμμα 7. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία κυστεΐνης στις 6 ώρες σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).



Διάγραμμα 8. Σχέση της σταθερότητας των ^{99m}Tc -συμπλόκων, 1'-9', παρουσία ιστιδίνης στις 6 ώρες σε συνάρτηση με την τιμή της σταθεράς διάστασης της εκάστοτε πυριδίνης (pka).

Αυτή η αναλογία εξηγείται από την βασικότητα του πυριδινικού αζώτου που επηρεάζεται από τη θέση και τη φύση του υποκαταστάτη στην πυριδίνη, που δημιουργεί δεσμό με το μέταλλο του τεχνητίου. Όταν το πυριδινικό άζωτο έχει περισσότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα έχει την τάση να σχηματίζει πιο ισχυρό δεσμό με το τεχνητίο και κατά συνέπεια να σχηματίζονται πιο σταθερά σύμπλοκα. Αντιθέτως όταν το πυριδινικό άζωτο έχει μειωμένη διαθέσιμη ηλεκτρονιακή πυκνότητα σχηματίζει ασταθέστερο δεσμό με το τεχνητίο και τελικά σχηματίζονται ασταθέστερα σύμπλοκα. Στο σύμπλοκο **1'** υπάρχει αυξημένη ηλεκτρονιακή πυκνότητα στο πυριδινικό άζωτο, καθώς στην 4 θέση φέρει μία διμέθυλο αμινομάδα που προσφέρει ηλεκτρόνια στο αρωματικό σύστημα. Κατά αντιστοιχία στο σύμπλοκο **9'** υπάρχει λιγότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα στο πυριδινικό άζωτο που προσφέρεται στο σ δεσμό τεχνητίου-αζώτου, λόγω της ύπαρξης ενός αμιδίου στη 4 θέση της πυριδίνης που έλκει την ηλεκτρονιακή πυκνότητα από το αρωματικό σύστημα.

Επιπλέον, μια γενική παρατήρηση είναι πως η σταθερότητα των συμπλόκων τόσο στη 1 όσο και στις 3 και 6 ώρες είναι χαμηλότερη παρουσία ιστιδίνης απ' ότι είναι παρουσία κυστεΐνης. Αυτό το γεγονός εξηγείται από το ότι η ιστιδίνη θεωρείται ο ισχυρότερος ανταγωνιστής. Πράγματι, έχει αποδειχθεί πως η ιστιδίνη έχει την ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων σε ιδιαίτερα χαμηλές συγκεντρώσεις (1 $\mu\text{mol/L}$), ενώ τα περισσότερα αμινοξέα για να σχηματίσουν τα αντίστοιχα ποσοστά συμπλόκων $^{99\text{m}}\text{Tc}$ έπρεπε να βρεθούν σε συγκεντρώσεις 1000 φορές μεγαλύτερες. Η κυστεΐνη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα αμινοξέα έχει βρεθεί πως σχηματίζει σύμπλοκα σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, αλλά όχι σε τόσο χαμηλές όπως η ιστιδίνη (χρειάζονται 10 φορές μεγαλύτερες συγκεντρώσεις για να σχηματίσει σύμπλοκα σε αντίστοιχες αποδόσεις). Αυτό εξηγείται από την ικανότητα της κυστεΐνης να οξειδώνεται και να σχηματίζει οξειδωμένες μορφές της που δεν προτιμώνται ως συμπλεκτικοί παράγοντες.^{63, 64}

8.8 ΜΕΛΕΤΕΣ ΛΙΠΟΦΙΛΙΑΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Tc

Από το πείραμα της λιποφιλικότητας προκύπτει πως το σύνολο των συμπλόκων του $^{99\text{m}}\text{Tc}$ έχουν τιμές logP που κυμαίνονται από 2.85 (± 0.22) έως 3.52 (± 0.15). Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίζονται ως λιπόφιλα.

Πίνακας 20. Συγκεντρωτικός πίνακας με τις τιμές του συντελεστή λιποφιλικότητας για κάθε σύμπλοκο.

Σύμπλοκα ^{99m}Tc	logP
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyCONH}\text{NH}_2)], \mathbf{1'}$	3.13 ± 0.17
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(3\text{pyCONEt}_2)], \mathbf{2'}$	2.99 ± 0.35
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyCOOH})], \mathbf{3'}$	3.09 ± 0.49
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(3\text{pyCOOH})], \mathbf{4'}$	2.85 ± 0.22
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{py})], \mathbf{5'}$	3.09 ± 0.12
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyNHCOCH}_3)], \mathbf{6'}$	3.52 ± 0.15
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyOMe})], \mathbf{7'}$	2.66 ± 0.40
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(4\text{pyNH}_2)], \mathbf{8'}$	3.01 ± 0.02
$fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{NMe}_2)], \mathbf{9'}$	2.95 ± 0.14

IV. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκε, συνετέθη και ταυτοποιήθηκε μια νέα σειρά ουδέτερων [2+1] μικτών συμπλόκων γενικού τύπου $fac-[Re^{99m}Tc(CO)_3(PO)(N)]$, που φέρουν ως διδραστικό υποκαταστάτη τη (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη, PO, και ως μονοδραστικό υποκαταστάτη μια υποκατεστημένη πυριδίνη, N, (NN-διαθυλονικοτιναμίδιο, το ισονικοτινικό οξύ, το νικοτινικό οξύ, την πυριδίνη, το N-πυριδιν-4-υλακεταμίδιο, την 4-μεθοξυπυριδίνη, την 4-αμινοπυριδίνη και την 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνη). Οι υποκατεστημένες πυριδίνες επιλέχθηκαν έτσι ώστε οι τιμές της σταθεράς διάστασής τους να βρίσκονται σε ένα μεγάλο εύρος.

Σε επίπεδο ρηνίου συνετέθησαν τα σύμπλοκα **1** - **9** με προσθήκη της εκάστοτε πυριδίνης στο σύμπλοκο **I** σε υψηλές αποδόσεις (>87%). Τα σύμπλοκα **1** - **9** χαρακτηρίστηκαν με Φασματοσκοπία IR και NMR και η δομή των συμπλόκων **3**, **4**, **7** και **8** επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα φαίνεται πως το μήκος δεσμού ρηνίου-πυριδινικού αζώτου στο σύμπλοκο **8**, που φέρει την 4-αμινοπυριδίνη ($pK_a = 9.26$) έχει την μικρότερη τιμή (2.227 Å), ενώ το μήκος δεσμού ρηνίου-πυριδινικού αζώτου στο σύμπλοκο **3**, που φέρει το ισονικοτινικό οξύ ($pK_a = 4.58$) έχει την μεγαλύτερη τιμή (2.236 Å). Παρατηρείται πως το μήκος του δεσμού μεταξύ ρηνίου και πυριδινικού αζώτου είναι αντιστρόφως ανάλογο με τη σταθερά διάστασης της υποκατεστημένης πυριδίνης. Συγκεκριμένα, όσο αυξάνεται η σταθερά διάστασης τόσο μειώνεται το μήκος του δεσμού ρηνίου-πυριδινικού αζώτου.

Σε επίπεδο τεχνητίου-99m συνετέθησαν τα σύμπλοκα **1'** - **9'** με τη χρήση του $fac-[^{99m}Tc(H_2O)(CO)_3]$, και ταυτόχρονη προσθήκη του POH (10^{-4} M) και της εκάστοτε πυριδίνης (10^{-2} M), στους 70 °C για 30', σε υψηλές αποδόσεις (95%). Τα σύμπλοκα **1'** - **9'** ταυτοποιήθηκαν με συγκριτική χρωματογραφία RP-HPLC με τα αντίστοιχα σύμπλοκα του ρηνίου. Επίσης, σε επίπεδο τεχνητίου-99m συνετέθη τα σύμπλοκα **1'** - **9'** με τη χρήση του $fac-[^{99m}Tc(H_2O)(CO)_3]$, του POH (10^{-4} M) και την εκάστοτε πυριδίνη (3×10^{-2} M) στους 70 °C για 30', σε αποδόσεις από 44 % έως 95 %. Το σύμπλοκο που συνετέθη σε μικρότερη απόδοση ήταν το σύμπλοκο **1'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την ισονιαζίδη ($pK_a = 3.79$), ενώ το σύμπλοκο που συνετέθη σε μεγαλύτερη απόδοση ήταν το σύμπλοκο **9'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνη ($pK_a = 9.71$). Παρατηρείται μία ανάλογη

σχέση μεταξύ της σταθεράς διάστασης και της απόδοσης των συμπλόκων.

Συγκεκριμένα, όσο αυξάνεται η σταθερά διάστασης αυξάνεται και η απόδοση του συμπλόκου.

Για τα σύμπλοκα **1'** - **9'** πραγματοποιήθηκαν μελέτες σταθερότητας μέσω αντίδρασης με ισχυρούς ανταγωνιστές, όπως η κυστεΐνη και την ιστιδίνη (10^{-3} M), στους 37°C , σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS pH 7.4 σε 1, 3 και 6 ώρες. Παρατηρείται πως υπάρχει ανάλογη σχέση μεταξύ της σταθεράς διάστασης της υποκατεστημένης πυριδίνης και της σταθερότητας του συμπλόκου. Όσο αυξάνεται η σταθερά διάστασης, τόσο αυξάνεται και το ποσοστό του συμπλόκου που μένει σταθερό. Το σύμπλοκο **9'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνη ($pK_a = 9.71$) έχει την υψηλότερη σταθερότητα παρουσία και των δύο ανταγωνιστών. Παρουσία κυστεΐνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 97 %, στις 3 ώρες κατά 92 % και στις 6 ώρες κατά 89 %. Παρουσία ιστιδίνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 94 %, στις 3 ώρες κατά 88 % και στις 6 ώρες κατά 86 %. Το σύμπλοκο **1'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την ισονιαζίδη ($pK_a = 3.79$) έχει την χαμηλότερη σταθερότητα. Παρουσία κυστεΐνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 68 %, στις 3 ώρες κατά 29 % και στις 6 ώρες κατά 3 %. Παρουσία ιστιδίνης το σύμπλοκο παραμένει σταθερό στη 1 ώρα κατά 54 %, στις 3 ώρες κατά 20 % και στις 6 ώρες κατά 2 %.

Για τα σύμπλοκα **1'** - **9'** πραγματοποιήθηκαν μελέτες λιποφιλικότητας για να προσδιοριστεί ο συντελεστής λιποφιλικότητας του κάθε συμπλόκου. Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίζονται ως λιπόφιλα. Οι συντελεστές λιποφιλικότητας κυμαίνονται σε ένα εύρος τιμών από 2.85 (± 0.22) έως 3.52 (± 0.15).

Τα αποτελέσματα τόσο σε επίπεδο ρηνίου όσο και σε επίπεδο τεχνητίου δείχνουν πως η βασικότητα του πυριδινικού αζώτου επηρεάζει το μήκος του δεσμού μεταξύ μετάλλου – αζώτου και κατά συνέπεια τον σχηματισμό και τη σταθερότητα του συμπλόκου. Όσο αυξάνεται η βασικότητα του πυριδινικού αζώτου, δηλαδή η σταθερά διάστασης της υποκατεστημένης πυριδίνης, τόσο αυξάνεται ο σχηματισμός και η σταθερότητα του συμπλόκου. Έτσι, μπορούμε να καταλήξουμε πως το σύμπλοκο *fac*- $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{PO})(\text{NMe}_2)]$, **9'**, με $pK_a=9.71$ που είναι σταθερό στις 6 ώρες παρουσία κυστεΐνης και ιστιδίνης >86 % μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μελλοντικός δομικός λίθος για την ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων συμπλόκων του τεχνητίου-99m.

IV. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η συγκριτική μελέτη της σταθερότητας νέων μικτών [2+1] συμπλόκων *fac*-[Re/^{99m}Tc(CO)₃(P,O)(N)], όπου P,O ο διδραστικός υποκαταστάτης 2-υδροξυδιφαινυλοφωσφίνη και όπου N ο μονοδραστικός υποκαταστάτης, μία υποκατεστημένη πυριδίνη. Για τη σύνθεση τους χρησιμοποιείται ο τρικαρβόνυλο πυρήνας *fac*-[Re/^{99m}Tc(CO)₃] και ακολουθείται η μικτή [2+1] προσέγγιση.

Αρχικά, συντίθενται το σύμπλοκα του ρηνίου με συναρμογή του διδραστικού υποκαταστάτη προς σχηματισμό του *fac*-[Re(CO)₃(PO)(H₂O)], **II**. Το σύμπλοκο **II** χρησιμοποιείται ως πρόδρομο μόριο λόγω του ευκίνητου μορίου του νερού το οποίο εύκολα και αντικαθίσταται από ένα μονοδραστικό υποκαταστάτη όπως την ισονιαζίδη (4pyCONHNH₂), το NN-διαιθυλονικοτιναμίδιο (3pyCONEt₂), το ισονικοτινικό οξύ (4pyCOOH), το νικοτινικό οξύ (3pyCOOH), την πυριδίνη (py), το N-πυριδιν-4-υλακεταμίδιο (4pyNHCOCH₃), την 4-μεθοξυπυριδίνη (4pyOMe), την 4-αμινοπυριδίνη (4pyNH₂), την 4-διμεθυλοαμινοπυριδίνη (4pyNMe₂). Έτσι, παρασκευάζονται τα σύμπλοκα *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCONHNH₂)], **1**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCONEt₂)], **2**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], **3**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCOOH)], **4**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(py)], **5**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNHCOCH₃)], **6**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyOMe)], **7**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNH₂)], **8**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNMe₂)], **9**, με υψηλές αποδόσεις. Τα σύμπλοκα του ρηνίου χαρακτηρίζονται μέσω NMR, IR και στα σύμπλοκα **3**, **4**, **7** και **8** η δομή τους επιβεβαιώνεται μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων-X.

Στη συνέχεια, συντίθενται τα αντίστοιχα σύμπλοκα, **1'** - **9'**, του τεχνητίου-99m. Για τη σύνθεση τους χρησιμοποιείται το πρόδρομο μόριο *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(H₂O)₃⁺] και ταυτοποιούνται μέσω συγκριτικής χρωματογραφίας RP-HPLC, με τα ανάλογα σύμπλοκα του ρηνίου **1** - **9**.

Μελετάται η επίδρασης της σταθεράς διάστασης (pKa) στην ραδιοχημική απόδοση των συμπλόκων τεχνητίου-99m, σε συγκέντρωση 10⁻⁴ M για τον διδραστικό υποκαταστάτη, σε συγκέντρωση 3x10⁻³ M για την υποκατεστημένη πυριδίνη και σε pH 7.4 . Στη σειρά που προκύπτει υπάρχει αναλογική σχέση μεταξύ του pKa και της απόδοσης.

Πραγματοποιείται πειράματα σταθερότητας των απομονωμένων συμπλόκων **1'** - **9'** παρουσία ιστιδίνης και κυστεΐνης έως και 6 ώρες. Το σύμπλοκο που παρουσίασε την υψηλότερη σταθερότητα στις 6 ώρες με 89 % παρουσία κυστεΐνης και 86 % παρουσία ιστιδίνης ήταν το σύμπλοκο **9'** που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την 4-διμέθυλο αμινοπυριδίνη. Το σύμπλοκο που παρουσιάζει την χαμηλότερη σταθερότητα στις 6 ώρες είναι το **1'** με 3 % παρουσία κυστεΐνης και 2 % παρουσία ιστιδίνης, που φέρει ως μονοδραστικό υποκαταστάτη την ισονιαζίδη. Στη σειρά που προκύπτει υπάρχει αναλογική σχέση μεταξύ του pK_a και της σταθερότητας.

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα λιποφιλικότητας, σύμφωνα με τα οποία όλα τα σύμπλοκα είναι αρκετά λιπόφιλα και οι τιμές $\log P$ κυμαίνονται από 2.85 (± 0.22) έως 3.52 (± 0.15).

Για πρώτη φορά μελετάται η επίδραση της υποκατάστασης της πυριδίνης στην σταθερότητα των μικτών [2+1] συμπλόκων του γενικού τύπου $[\text{Re}/^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{P},\text{O})(\text{N})]$.

VI. ABSTRACT

The synthesis and characterization of novel mixed-ligand *fac*-[M(CO)₃(P,O)(N)] complexes is presented whereby PO is the monoanionic bidentate (2-hydroxyphenyl)diphenylphosphine and N is a substituted pyridine, isoniazid (4pyCONHNH₂), NN-diethylnicotinamide (3pyCONEt₂), isonicotinic acid (4pyCOOH), nicotinic acid (3pyCOOH), pyridine (py), N-pyridin-4yl-acetamide (4pyNHCOCH₃), 4-methoxypyridine (4pyOMe), 4-aminopyridine (4pyNH₂) and 4-dimethyloaminopyridine (4pyNMe₂).

Initially, POH reacted with the [Et₄N]₂[Re(CO)₃Br₃] precursor in equimolar amounts to afford *fac*-[Re(CO)₃(PO)(H₂O)], complex **II** (yield 75%). Complex **II** readily reacted with the corresponding monodentate ligand generating N under formation of *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCONHNH₂)], **1**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCONEt₂)], **2**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyCOOH)], **3**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(3pyCOOH)], **4**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(py)], **5**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNHCOCH₃)], **6**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyOMe)], **7**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNH₂)], **8**, *fac*-[Re(CO)₃(PO)(4pyNMe₂)], **9**. All complexes were obtained in high yield (>87%). The Re-complexes, **1** - **9**, were characterized by NMR and IR spectroscopies. The structure of single crystals of **3**, **4**, **7** and **8** complexes were confirmed by X-ray crystallography.

The impact of the dissociation constant (pka) of the substituted pyridine was evident in the Re-complexes. **8'**, (pka = 9.26) has the shortest Re-N bond length (2.227 Å), while **3'** (pka = 4.58) has the longest Re-N bond length (2.236 Å).

At Tc-99m tracer level, the analogous complexes *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(P,O)(N)], **1' - 9'**, were obtained in high yield (> 95%) by reacting POH and the corresponding pyridine with the *fac*-[(H₂O)₃(CO)₃]⁺ precursor at 70 °C for 30'. The structure of Technetium-99m complexes was established by HPLC comparative studies using the analogous Rhenium complexes as references.

Complexes **1' - 9'** formed at tracer level in high radiochemical yield (> 95%) by a one-pot reaction of POH and N with the *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(H₂O)₃]⁺ precursor at 70 °C for 30 min. The structure of ^{99m}Tc-complexes could be assigned by chromatographic comparison with their authentic Re-congeners adopting twin radio- (^{99m}Tc) and photometric (Re) detection modes.

At Tc-99m tracer level the results showed a linear correlation between the pKa and the resulting radiochemical yield, at 3×10^{-3} M for the substituted pyridine. The series which is formed is: $1' > 2' > 3' > 4' > 5' > 6' > 7' > 8' > 9'$. Also, the $1' - 9'$ were subjected to histidine and cysteine challenge experiments to determine their stability at 37 °C for 1,3 and 6 h.

The impact of pka ($1' > 2' > 3' > 4' > 5' > 6' > 7' > 8' > 9'$) was evident, with the complex $9'$ exhibiting the highest stability (89 % under cysteine challenge and 86 % under histidine challenge).

VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Zingales, R., From masurium to trinacrium: the troubled story of element 43. *Journal of chemical education* **2005**, *82* (2), 221.
2. Reed, A. B., The history of radiation use in medicine. *J Vasc Surg* **2011**, *53* (1 Suppl), 3S-5S.
3. E., X., *Ραδιοφαρμακευτική Χημεία* 2004; Vol. B.
4. Zalutsky, M. R.; Reardon, D. A.; Pozzi, O. R.; Vaidyanathan, G.; Bigner, D. D., *Targeted α -Particle Radiotherapy with (211)At-labeled Monoclonal Antibodies*. *Nucl Med Biol.* 2007 Oct;34(7):779-85. Epub 2007 May 11 doi:10.1016/j.nucmedbio.2007.03.007.
5. Judson, B. L.; Shaha, A. R., Nuclear imaging and minimally invasive surgery in the management of hyperparathyroidism. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **2008**, *49* (11), 1813-8.
6. Levine, R.; Krenning, E. P., Clinical History of the Theranostic Radionuclide Approach to Neuroendocrine Tumors and Other Types of Cancer: Historical Review Based on an Interview of Eric P. Krenning by Rachel Levine. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **2017**, *58* (Suppl 2), 3S-9S.
7. Öberg, K., Molecular imaging radiotherapy: theranostics for personalized patient management of neuroendocrine tumors (NETs). *Theranostics* **2012**, *2* (5), 448.
8. Hutton, B. F., The origins of SPECT and SPECT/CT. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* **2014**, *41* Suppl 1, S3-16.
9. Agency, I. A. E., Cyclotron Produced Radionuclides: Physical Characteristics and Production Methods. Sales and Promotion, Publishing Section International Atomic Energy Agency: Vienna, 2009; p. 279.
10. Jacobson, M. S.; Steichen, R. A.; Peller, P. J., PET Radiochemistry and Radiopharmacy. **2012**, 19-30.
11. H.H. Coenen, J. M., Bernard Mazière, *Radioionidation Reactions for Pharmaceuticals*. 1 ed.; Springer Netherlands: 2006.
12. Scerri, E., The periodic table. *Handbook Philosophy of Science* **2012**, *6*, 329-38.
13. de Jonge, F. A.; Pauwels, E. K., Technetium, the missing element. *European Journal of Nuclear Medicine* **1996**, *23* (3), 336-344.
14. Armstrong, J. T. Technetium *It's Elemental* [Online], 2003.
15. Kowalsky, R. J., Technetium Radiopharmaceutical Chemistry. Norenberg, J. P., Ed. UNM College of Pharmacy: 2006.
16. Papagiannopoulou, D., Technetium-99m radiochemistry for pharmaceutical applications. *Journal of labelled compounds & radiopharmaceuticals* **2017**, *60* (11), 502-520.
17. Zolle, I., Performance and Quality Control of the $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. In *Technetium-99m Pharmaceuticals*, Zolle, I., Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 2007.
18. Molinski, V. J., A review of 99mTc generator technology. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes* **1982**, *33* (10), 811-819.
19. Le, V. S.; Do, Z. P.-H.; Le, M. K.; Le, V.; Le, N. N.-T., Methods of increasing the performance of radionuclide generators used in nuclear medicine: daughter nuclide build-up optimisation, elution-purification-concentration integration, and effective control of radionuclidic purity. *Molecules* **2014**, *19* (6), 7714-7756.
20. Tanase, M.; Tatenuma, K.; Ishikawa, K.; Kurosawa, K.; Nishino, M.; Hasegawa, Y., A 99mTc generator using a new inorganic polymer adsorbent for (n, γ) 99Mo. *Applied radiation and isotopes* **1997**, *48* (5), 607-611.
21. Chakravarty, R.; Shukla, R.; Ram, R.; Tyagi, A. K.; Dash, A.; Venkatesh, M., Practicality of Tetragonal Nano-Zirconia as a Prospective Sorbent in the Preparation of 99Mo/99mTc Generator for Biomedical Applications. *Chromatographia* **2010**, *72* (9-10), 875-884.

22. Ferro-Flores, G.; Arteaga de Murphy, C.; Meléndez-Alafort, L., Third generation radiopharmaceuticals for imaging and targeted therapy. *Current Pharmaceutical Analysis* **2006**, 2 (4), 339-352.
23. Abram, U.; Alberto, R., Technetium and rhenium: coordination chemistry and nuclear medical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2006**, 17 (8), 1486-1500.
24. Geslien, G. E.; Pinsky, S. M.; Poth, R. K.; Johnson, M. C., The sensitivity and specificity of 99mTc-sulfur colloid liver imaging in diffuse hepatocellular disease. *Radiology* **1976**, 118 (1), 115-119.
25. Lewis, S.; Ford, R.; Syed, G. M.; Reveley, A.; Toone, B., A controlled study of 99m Tc-HMPAO single-photon emission imaging in chronic schizophrenia. *Psychological medicine* **1992**, 22 (1), 27-35.
26. Slosman, D. O.; Ludwig, C.; Zerarka, S.; Pellerin, L.; Chicherio, C.; De Ribaupierre, A.; Annoni, J.-M.; Bouras, C.; Herrmann, F.; Michel, J.-P., Brain energy metabolism in Alzheimer's disease: 99mTc-HMPAO SPECT imaging during verbal fluency and role of astrocytes in the cellular mechanism of 99mTc-HMPAO retention. *Brain research reviews* **2001**, 36 (2-3), 230-240.
27. Varvara Valotassiou, N. S., John Papatriantafyllou, George Angelidis and Panagiotis Georgoulas, The Clinical Use of SPECT and PET Molecular Imaging in Alzheimer's Disease. In *The Clinical Spectrum of Alzheimer's Disease*, Monte, S. d. I., Ed. Intechopen: 2011.
28. Τοσσίδης, Ι., *Χημεία Ενώσεων Συναρμολογής*. Θεσσαλονίκη, 2001.
29. Pijarowska-Kruszyna, J.; Karczmarczyk, U.; Jaroń, A. W.; Laszuk, E.; Radzik, M.; Garnuszek, P.; Mikołajczak, R., New synthesis route of active substance d, I-HMPAO for preparation Technetium Tc99m Exametazine. *Nuclear Medicine Review* **2017**, 20 (2), 88-94.
30. Kung, H. F., Development of Tc-99m labeled tropanes: TRODAT-1, as a dopamine transporter imaging agent. *Nuclear medicine and biology* **2001**, 28 (5), 505-508.
31. Kung, H. F.; Kim, H.-J.; Kung, M.-P.; Meegalla, S. K.; Plössl, K.; Lee, H.-K., Imaging of dopamine transporters in humans with technetium-99m TRODAT 1. *European Journal of Nuclear Medicine* **1996**, 23 (11), 1527-1530.
32. Kung, H. F.; Kung, M.-P.; Wey, S.-P.; Lin, K.-J.; Yen, T.-C., Clinical acceptance of a molecular imaging agent: a long march with [99mTc] TRODAT. *Nuclear medicine and biology* **2007**, 34 (7), 787-789.
33. Beuming, T.; Kniazeff, J.; Bergmann, M. L.; Shi, L.; Gracia, L.; Raniszewska, K.; Newman, A. H.; Javitch, J. A.; Weinstein, H.; Gether, U.; Loland, C. J., The binding sites for cocaine and dopamine in the dopamine transporter overlap. *Nature neuroscience* **2008**, 11 (7), 780-9.
34. Huang, X.; Zhan, C. G., How dopamine transporter interacts with dopamine: insights from molecular modeling and simulation. *Biophysical journal* **2007**, 93 (10), 3627-39.
35. Schulze, D. R.; Carroll, F. I.; McMahon, L. R., Interactions between dopamine transporter and cannabinoid receptor ligands in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* **2012**, 222 (3), 425-38.
36. Verma, V., Classic Studies on the Interaction of Cocaine and the Dopamine Transporter. *Clinical psychopharmacology and neuroscience : the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology* **2015**, 13 (3), 227-38.
37. Votaw, J.; Byas-Smith, M.; Hua, J.; Voll, R.; Martarello, L.; Levey, A. I.; Bowman, F. D.; Goodman, M., Interaction of isoflurane with the dopamine transporter. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* **2003**, 98 (2), 404-411.
38. Parisella, M.; D'Alessandria, C.; van de Bossche, B.; Chianelli, M.; Ronga, G.; Papini, E.; Mikołajczak, R.; Letizia, C.; De Toma, G.; Veneziani, A., 99mTc-EDDA/HYNIC-TOC in the management of medullary thyroid carcinoma. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* **2004**, 19 (2), 211-217.
39. Decristoforo, C.; Mather, S. J.; Cholewinski, W.; Donnemiller, E.; Riccabona, G.; Moncayo, R., 99mTc-EDDA/HYNIC-TOC: a new 99mTc-labelled radiopharmaceutical for

imaging somatostatin receptor-positive tumours: first clinical results and intra-patient comparison with ^{111}In -labelled octreotide derivatives. *European Journal of Nuclear Medicine* **2000**, 27 (9), 1318-1325.

40. Nadler, H. G.; Starck, H., Rhenium and rhenium compounds. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim **2005**, 28029.
41. Dąbek, J.; Halas, S., Physical foundations of rhenium-osmium method-a review. *Geochronometria* **2007**, 27 (1), 23-26.
42. Maxon, H. R.; Thomas, S. R.; Hertzberg, V. S.; Schroder, L. E.; Englaro, E. E.; Samaratunga, R.; Scher, H. I.; Moulton, J. S.; Deutsch, E. A.; Deutsch, K. F. In *Rhenium-186 hydroxyethylidene diphosphonate for the treatment of painful osseous metastases*, Seminars in nuclear medicine, Elsevier: 1992; pp 33-40.
43. Savio, E.; Gaudiano, J.; Robles, A. M.; Balter, H.; Paolino, A.; López, A.; Hermida, J. C.; De Marco, E.; Martinez, G.; Osinaga, E., Re-HEDP: pharmacokinetic characterization, clinical and dosimetric evaluation in osseous metastatic patients with two levels of radiopharmaceutical dose. *BMC nuclear medicine* **2001**, 1 (1), 2.
44. R. Dilworth, J.; J. Parrott, S., The biomedical chemistry of technetium and rhenium. *Chemical Society Reviews* **1998**, 27 (1), 43.
45. Wolverson, D.; Hart, L. S., Lattice Dynamics of the Rhenium and Technetium Dichalcogenides. *Nanoscale research letters* **2016**, 11 (1), 250.
46. Leibnitz, P.; Reck, G.; Pietzsch, H.-J.; Spies, H., Structures of technetium and rhenium complexes. **2001**.
47. Schmidt, S. P.; Trogler, W. C.; Basolo, F.; Urbancic, M. A.; Shapley, J. R., Pentacarbonylrhenium halides. *Inorganic Syntheses, Volume 23* **1990**, 41-46.
48. AugustáSchubiger, P., Synthesis and reactivity of $[\text{NEt}_4][\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$. Formation and structural characterization of the clusters $[\text{NEt}_4][\text{Re}_3(\text{Á}_3\text{-OH})(\text{Á-OH})_3(\text{CO})_9]$ and $[\text{NEt}_4][\text{Re}_2(\text{Á-OH})_3(\text{CO})_6]$ by alkaline titration. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1994**, (19), 2815-2820.
49. Alberto, R.; Schibli, R.; Abram, U.; Egli, A.; Knapp, F. R.; Schubiger, P., Potential of the $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$ ($\text{M} = \text{Re, Tc}$) moiety for the labeling of biomolecules. *Radiochimica Acta* **1997**, 79 (2), 99-150.
50. Alberto, R.; Schibli, R.; Egli, A.; Schubiger, A. P.; Abram, U.; Kaden, T. A., A novel organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: synthesis of $[\text{99mTc}(\text{OH})_2)_3(\text{CO})_3]^+$ from $[\text{99mTcO}_4]^-$ in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120 (31), 7987-7988.
51. Shegani, A.; Triantis, C.; Nock, B. A.; Maina, T.; Kiritsis, C.; Psycharis, V.; Raptopoulou, C.; Pirmettis, I.; Tisato, F.; Papadopoulos, M. S., Rhenium (I) Tricarbonyl Complexes with (2-Hydroxyphenyl) diphenylphosphine as PO Bidentate Ligand. *Inorganic chemistry* **2017**, 56 (14), 8175-8186.
52. Hollatz, C.; Schier, A.; Schmidbaur, H., Diphenyl (2-hydroxy-phenyl) phosphine and its Trimethylsilyl Ether as Ligands for Gold (I) Complexes. *Zeitschrift für Naturforschung B* **1999**, 54 (1), 30-37.
53. Empsall, H. D.; Shaw, B. L.; Turtle, B. L., Some complexes of platinum, palladium, nickel, and cobalt formed from (2-hydroxyphenyl) diphenylphosphine and (2-hydroxyphenyl) di-*t*-butylphosphine. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1976**, (15), 1500-1506.
54. Trzeciak, A. M.; Ziółkowski, J. J.; Lis, T.; Choukroun, R., Novel rhodium (I) complexes with (2-hydroxyphenyl) diphenylphosphine ligand: catalytic properties and X-ray structures of $\text{Rh}(\text{OC}_6\text{H}_4\text{PPh}_2)(\text{CO})(\text{PPh}_3)$ and $\text{Rh}(\text{OC}_6\text{H}_4\text{PPh}_2)\{\text{P}(\text{OPh})_3\} \cdot 0.5 \text{ C}_6\text{H}_6$. *Journal of Organometallic Chemistry* **1999**, 575 (1), 87-97.

55. Bolzati, C.; Tisato, F.; Refosco, F.; Bandoli, G., Syntheses of monooxo-technetium (V) and-rhenium (V) complexes of the (o-hydroxyphenyl) diphenylphosphine ligand (POH). Crystal structure of [TcOCl (PO) 2]. *Inorganica chimica acta* **1996**, 247 (1), 125-127.
56. Liu, S.; Edwards, D. S., 99mTc-labeled small peptides as diagnostic radiopharmaceuticals. *Chemical Reviews* **1999**, 99 (9), 2235-2268.
57. Reisgys, M.; Wüst, F.; Alberto, R.; Schibli, R.; Schubiger, P. A.; Pietzsch, H.-J.; Spies, H.; Johannsen, B., Synthesis of rhenium (I) and technetium (I) carbonyl/dithioether ligand complexes bearing 3, 17 β -estradiol. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **1997**, 7 (17), 2243-2246.
58. Causey, P. W.; Besanger, T. R.; Valliant, J. F., Synthesis and screening of mono- and di-aryl technetium and rhenium metallocarboranes. A new class of probes for the estrogen receptor. *Journal of medicinal chemistry* **2008**, 51 (9), 2833-2844.
59. Jurisson, S. S.; Lydon, J. D., Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals. *Chemical Reviews* **1999**, 99 (9), 2205-2218.
60. Institute, E. B. <https://www.ebi.ac.uk/>.
61. Bakke, J.; Riha, J., Synthesis of 3, 4-diaminopyridine and imidazo [4, 5-c] pyridines by nitration of 4-acylaminopyridines. *Journal of heterocyclic chemistry* **1999**, 36 (5), 1143-1145.
62. Giglio, J.; Patsis, G.; Pirmettis, I.; Papadopoulos, M.; Raptopoulou, C.; Pelecanou, M.; León, E.; González, M.; Cerecetto, H.; Rey, A., Preparation and characterization of technetium and rhenium tricarbonyl complexes bearing the 4-nitrobenzyl moiety as potential bioreductive diagnostic radiopharmaceuticals. In vitro and in vivo studies. *European journal of medicinal chemistry* **2008**, 43 (4), 741-748.
63. Egli, A.; Alberto, R.; Tannahill, L.; Schibli, R.; Abram, U.; Schaffland, A.; Waibel, R.; Tourwe, D.; Jeannin, L.; Iterbeke, K.; Schubiger, P. A., Organometallic 99mTc-aquaion labels peptide to an unprecedented high specific activity. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **1999**, 40 (11), 1913-7.
64. Badar, A.; Williams, J.; de Rosales, R. T. M.; Tavaré, R.; Kampmeier, F.; Blower, P. J.; Mullen, G. E. D., *Optimising the radiolabelling properties of technetium tricarbonyl and His-tagged proteins*. EJMNM Res. 2014;4:14. doi:10.1186/2191-219X-4-14.