# ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

# ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΗ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ



(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη ως PO διδραστικός υποκαταστάτης στην ανάπτυξη νέων 2+1 μικτών συμπλόκων με  $^{185/187}$ Re (I) και  $^{99m}$ Tc (I)

ΣΕΓΚΑΝΗΣ ΑΝΤΩΝΗΣ



**AOHNA 2015** 

## ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Α. Τσοτίνης

Καθηγητής

Τμήμα Φαρμακευτικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Γ. Ζωίδης

Επ. Καθηγητής

Τμήμα Φαρμακευτικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Μ. Παπαδόπουλος

Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος"

## Επιβλέπων

Μ. Παπαδόπουλος

Ερευνητής Α΄ ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος"

Αφιερωμένο Στην οικογένειά μου

#### προλογος

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2013-2015 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 Παπαδόπουλο, Ερευνητής Α΄ στο Εργαστήριο του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος".

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Μηνά Παπαδόπουλο, επιβλέπων του μεταπτυχιακού μου, για την αμέριστη υποστήριξη και τις πολύτιμες υποδείξεις του, ιδιαιτέρως δε, για τη καθοδήγησή του και την εμπιστοσύνη του. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τους καθηγητές Α. Τσοτίνη και Γ. Ζωίδη 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 πολύπλευρη ουσιαστική υποστήριξη και βοήθεια στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. F. Tisato από το «Istituto per l'Energetica e le Interfasi» για την λήψη των φασμάτων NMR, καθώς και 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. Maina και τον Δρ. Β. Nock για τις υποδείξεις τους και την συμπαράστασή τους.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους μετα-διδακτορικούς Χαράλαμπο Τριάντη, Χρήστο Κυρίτση και Ε. Χ. Καραχάλιου για την άρτια υποστήριξη, καθοδήγηση και συμπαράσταση σε όλο το διάστημα. Επίσης εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στον διδακτορικό φοιτητή Α. Λαζόπουλο, τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Α. Παπασάββα, Σ. Κοντογεωργάκη και Α. Στουραΐτη, τους προπτυχιακούς φοιτητές Γ. Παπαδόπουλος, Α. Φιλιππάκης, Μ. Ισχυροπούλου και Ε. Μ. Μπάρμπα και τους συνεργάτες Δρ. Π. Κυπριανίδου και Δρ. Θ. Τσοτάκο για την ουσιαστική βοήθεια τους.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου, για την υποστήριξη και την ενθάρρυνσή τους, όλα τα χρόνια των σπουδών μου. Ένα ακόμα ευχαριστώ σε όλους εκείνους που με την αγάπη τους με στηρίζουν σε κάθε μου επιλογή.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	2
Ι.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1. Εισαγωγή στη Ραδιοφαρμακευτική Χημεία	6
1.1. Πυρηνική Ιατρική	7
1.1.1. Χρήση της ακτινοβολίας στη διάγνωση	8
1.1.2. Χρήση της ακτινοβολίας στη θεραπεία	11
2. Τα στοιχεία τεχνήτιο και ρήνιο	15
2.1.Το τεχνήτιο	15
2.1.1. Το τεχνήτιο <sup>99</sup> Τc	17
2.1.2. Το μετασταθερό <sup>99m</sup> Tc	17
2.1.2.1.Μέθοδος παραγωγής του $^{99m}$ Tc	18
2.1.2. Ραδιοφάρμακα <sup>99m</sup> Tc	21
2.2. Ρήνιο	27
2.2.1. Ραδιοφάρμακα <sup>186</sup> Re και <sup>188</sup> Re	28
3. Φυσικές και χημικές ιδιότητες τεχνητίου και ρηνίου	29
3.1. Η χημεία συναρμογής των ενώσεων τεχνητίου και ρηνίου	30
4. Οξειδωτική βαθμίδα (Ι)	31
4.1. Το μονοξείδιο του άνθρακα ως υποκαταστάτης	32
4.2. Μέθοδος αντικατάστασης υποκαταστατών	33
4.3. Τριδραστικοί υποκαταστάτες	33
4.4. Διδραστικοί και μονοδραστικοί υποκαταστάτες	34
4.4.1. (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH)	37
5. Νεότερες στρατηγικές σχεδιασμού ραδιοφαρμάκων	38

6. Σκοπός Εργασίας	40
II. ПЕІРАМАТІКО	42
7. Υλικά και μέθοδοι	43
7.1. Εργαστηριακός εξοπλισμός	43
7.2. Παρασκευή συμπλόκων Re	45
7.2.1. Παρασκευή [Et <sub>4</sub> N] <sub>2</sub> [ReBr <sub>3</sub> (CO) <sub>3</sub> ]	45
7.2.2. Параσкευή fac-[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H2O)], 1	48
7.2.3. Параσкευή fac-[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(POH)], 2	49
7.2.4. Парабкеи <i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(pyr)], 3	50
7.2.5. Παρασκευή <i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(im)], 4	51
7.2.6. Парабкеи <i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(cisc)], 5	52
7.2.7. Параσкευή fac-[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(tbi)], 6	53
7.3. Παρασκευή συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	54
7.3.1. Парабкеи $fac$ -[ <sup>99m</sup> Tc(H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> (CO) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	54
7.3.2. Парабкеи́ң fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(H2O)], <b>1</b> ′	55
7.3.3. Парабкеи́ң <i>fac</i> -[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(POH)], <b>2</b> ′	56
7.3.4. Парабкеи́ң <i>fac</i> -[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(pyr)], <b>3</b> ′	57
7.3.5. Парабкеи́ң fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(im)], <b>4</b> ′	58
7.3.6. Парабкеи <i>fac</i> -[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(cisc)], <b>5</b> ′	59
7.3.7. Параσкευή <i>fac</i> -[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(tbi)], <b>6</b> ′	60
7.4. Μελέτες σταθερότητας συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	61
7.4.1. Σταθερότητα σε απομονωμένα σύμπλοκα	61
7.4.2. Σταθερότητα παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης	61
7.5. Μελέτες λιποφιλικότητας των συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	62
7.6. Μελέτες βιοκατανομής σε πειραματόζωα του συμπλόκου 2΄	63
7.7. Απεικόνιση πειραματόζωων με SPECT κάμερα	64
ΙΙΙ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65

8. Παρασκευή, ταυτοποίηση και αξιολόγηση συμπλόκων Re και <sup>99m</sup> Tc	66
8.1. Παρασκευή συμπλόκων Re	66
8.2. Ταυτοποίηση συμπλόκων Re	69
8.3. Παρασκευή συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	75
8.4. Σταθερότητα συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	76
8.5. Λιποφιλικότητα συμπλόκων <sup>99m</sup> Tc	77
8.6. Βιολογική αξιολόγηση του συμπλόκου 2΄	78
8.7. Απεικόνιση πειραματόζωων με το σύμπλοκο 2΄	79
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	80
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	82
ABSTRACT	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	96

Ι. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1. Εισαγωγή στη Ραδιοφαρμακευτική Χημεία

Η Ραδιοφαρμακευτική Χημεία αναπτύχθηκε χάρις στους Η. Becquerel, Ρ. και Μ. Curie (Εικόνα 1.1) (βραβείο Nobel το 1903), οι οποίοι ανακάλυψαν το φαινόμενο της ραδιενέργειας. Στη συνέχεια, οι F. και Ι. Joliot-Curie (Εικόνα 1.1) πραγματοποίησαν την πρώτη σύνθεση νέων ραδιενεργών στοιχείων (βραβείο Nobel 1935). Σήμερα αποτελεί έναν σημαντικό κλάδο της Φαρμακευτικής Επιστήμης, με κύριο αντικείμενο τη σύνθεση και την αξιολόγηση φαρμακευτικών ενώσεων που φέρουν ραδιονουκλίδια, γνωστών ως ραδιοφάρμακα (Radioactive drugs ή Radiopharmaceuticals).<sup>1</sup>



Εικόνα 1.1. <u>Antoine Henri Becquerel</u>, <u>Maria Curie</u>, <u>Frédéric Joliot-Curie</u> και <u>Irène Joliot-</u> <u>Curie</u> (από δεξιά προς τα αριστερά)

Ο όρος ραδιονουκλίδιο αναφέρεται σε έναν ασταθή πυρήνα, ο οποίος χαρακτηρίζεται από ενεργειακό πλεόνασμα. Ο ασταθής πυρήνας διασπάται με αποτέλεσμα την εκπομπή ακτίνων γάμμα και / ή υποατομικών σωματιδίων, όπως άλφα ή βήτα σωματίδια (Εικόνα 1.2). Οι εκπομπές αυτές αποτελούν την ιοντίζουσα ακτινοβολία. Πολλά ραδιονουκλίδια υπάρχουν στη φύση, ενώ άλλα παράγονται τεχνητά, για παράδειγμα σε πυρηνικούς αντιδραστήρες και κυκλοτρόνια. Υπάρχουν περίπου 650 ραδιονουκλίδια με χρόνο ημίσειας ζωής περισσότερο από 60 λεπτά και ένας πολύ μεγαλύτερος αριθμός ραδιονουκλιδίων, περισσότερα από 2400, με χρόνο μικρότερο από 60 λεπτά. Τα περισσότερα από αυτά παράγονται μόνο τεχνητά. Για λόγους σύγκρισης, απαντώνται περίπου 254 σταθερά νουκλίδια. Όλα τα χημικά στοιχεία έχουν και αντίστοιχα ραδιονουκλίδιο, το τρίτιο. Στοιχεία βαρύτερα από τον μόλυβδο, και τα στοιχεία τεχνήτιο και προμήθειο, υπάρχουν μόνο ως ραδιονουκλίδια. Ραδιονουκλίδια με κατάλληλο χρόνο ημίσειας ζωής παίζουν σημαντικό ρόλο σε ένα μεγάλο αριθμό τεχνολογιών, όπως για παράδειγμα στην μόνο τεχνητά.



Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση εκπομπής γ, α, β<sup>+</sup>, και β<sup>-</sup> ακτινοβολιών από έναν ατομικό πυρήνα

### 1.1. Πυρηνική Ιατρική

Η Πυρηνική Ιατρική είναι σύγχρονη ειδικότητα της Ιατρικής, η οποία χρησιμοποιεί ραδιοφάρμακα για διαγνωστικούς αλλά και θεραπευτικούς λόγους.

Κάθε φάρμακο το οποίο, όταν είναι έτοιμο προς χρήση για ιατρικούς σκοπούς, είναι επισημασμένο με ένα ή περισσότερα ραδιονουκλίδια καλείται ραδιοφάρμακο. Ως ραδιοφάρμακα, ορίζονται οι οργανικές και ανόργανες ενώσεις που περιέχουν απαραίτητα ένα τουλάχιστον ραδιονουκλίδιο και έχουν κατάλληλες φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστικούς ή/και θεραπευτικούς σκοπούς.<sup>1</sup>

Αντίθετα με τα συμβατικά φάρμακα, στα ραδιοφάρμακα, οι διάφοροι όροι όπως η μέγιστη εφάπαξ ή η μέγιστη ημερήσια δόση, δεν ανταποκρίνονται σε αυτά, καθώς η έννοια της «δόσης» αναφέρεται στη χορηγούμενη ακτινοβολία και όχι στην ποσότητα της χορηγούμενης ουσίας. Όσον αφορά την ποσότητα της δραστικής ουσίας των διαγνωστικών ραδιοφαρμάκων που χορηγούνται, αυτή είναι πολύ μικρή, της τάξης των ng με μg. Η χορήγηση του ραδιοφαρμάκου γίνεται εφάπαξ και η δόση ακτινοβολίας είναι τόση ώστε να είναι δυνατή η εξέταση για την οποία προορίζονται. Η έννοια της «θεραπευτικής δόσης» χρησιμοποιείται και ότα ραδιοφάρμακα, όμως εδώ αφορά στην ποσότητα της χορηγούμενης ακτινοβολίας των θεραπευτικά. Όσον αφορά την ποσότητα της δραστικής ουσίας των θεραπευτικώ δίας, η οποία δοα θεραπευτικά. Όσον αφορά την ποσότητα της τάξης των μg με mg. Οι κανόνες «ορθής διαδικασίας παραγωγής φαρμάκων» (GMP: Good Manufacturing Practice), καθώς και η

στειρότητα, η απουσία πυρετογόνων, οι αντιδράσεις ευαισθησίας και η χημική σταθερότητα ισχύουν εξίσου και στα ραδιοφάρμακα.<sup>1</sup>

Τα περισσότερα ραδιοφάρμακα χορηγούνται ενδοφλέβια και ταξινομούνται ανάλογα με τη βιολογική τους συμπεριφορά σε δύο μεγάλες κατηγορίες, με πρώτη εκείνη όπου η αιματική ροή, και μόνο, καθορίζει την πρόσληψη στο όργανο-στόχο και η δεύτερη περιλαμβάνει ραδιοφάρμακα με εκλεκτική πρόσληψη σε ένα όργανο ή ιστό του σώματος. Η συμμετοχή του ραδιοφαρμάκου σε ορισμένους βιολογικούς μηχανισμούς είναι η αιτία της εκλεκτικής εντόπισης που εμφανίζουν, η οποία είναι αποτέλεσμα κατάλληλου σχεδιασμού της χημικής δομής και των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του μορίου όπως π.χ. μέγεθος, λιποφιλικότητα και φορτίο. Το χρονικό διάστημα στο οποίο θα καθηλώνεται ένα ραδιοφάρμακο σε ένα όργανο ή ιστό, μεταφέροντας δόση ακτινοβολίας σε αυτό, είναι ανάλογο των φυσικοχημικών ή/και βιολογικών ιδιοτήτων του. Η ακτινοβολία αυτή, είτε ανιχνεύεται εξωτερικά με κατάλληλη ανιχνευτική διάταξη, είτε δρα θεραπευτικά.<sup>1,2</sup>

### 1.1.1. Χρήση της ακτινοβολίας στη διάγνωση

Τα διαγνωστικά ραδιοφάρμακα περιέχουν στο μόριό τους ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν ακτινοβολία γ ή β<sup>+</sup>. Η δόση ακτινοβολίας, των ραδιοφαρμάκων, που χορηγείται στη διάγνωση πρέπει να είναι όσο το δυνατόν λιγότερη για την ελαχιστοποίηση της ακτινοβόλησης του ασθενούς, αλλά αρκετή ώστε να καθίσταται δυνατή η εξέταση και η απεικόνιση των παθολογικών εστιών, εκπέμποντας σήμα ραδιενέργειας ανιχνεύσιμο από ειδικές εξωτερικές απεικονιστικές διατάξεις.

Η επιλογή ενός ραδιοφαρμάκου ως διαγνωστικό είναι συνδυασμός τεσσάρων κυρίως παραγόντων:

- Των φυσικών ιδιοτήτων του ραδιονουκλιδίου, το οποίο περιέχεται στο μόριο του ραδιοφαρμάκου και από τις οποίες εξαρτάται η ανίχνευση του.
- 2) Των βιοχημικών ιδιοτήτων και του μεταβολισμού του ραδιοφαρμάκου.
- 3) Του ραδιοβιολογικού αποτελέσματος, δηλαδή της δόσης ακτινοβολίας την οποία θα δεχθεί ο οργανισμός. Η δόση αυτή εξαρτάται από την φύση και την ένταση της ακτινοβολίας του ραδιονουκλιδίου, καθώς και από τον χρόνο ημιζωής και την ύπαρξη κρίσιμου οργάνου-στόχου.<sup>3</sup>
- 4) Τον βιολογικό χρόνο ημιζωής.

Ένα ραδιονουκλίδιο για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ανάπτυξη διαγνωστικών ραδιοφαρμάκων πρέπει να έχει τις εξής ιδιότητες:

- Εύκολη μέθοδο παραγωγής, να είναι χαμηλού κόστους και να έχει υψηλή ειδική ραδιενέργεια.
- 2) Να έχει λειτουργικό χρόνο ημιζωής, δηλαδή να μην είναι πολύ μικρός, ώστε να καθίσταται δυνατή η σύνθεση του ραδιοφαρμάκου και η ολοκλήρωση της εξέτασης για την οποία προορίζεται, αλλά ούτε πολύ μεγάλος, με αποτέλεσμα να ακτινοβολείται άσκοπα ο ασθενής.
- Να εκπέμπει μόνο γ ή β<sup>+</sup> ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, χωρίς ταυτόχρονη εκπομπή σωματιδιακής ακτινοβολίας όπως α ή β<sup>-</sup>.
- 4) Η ακτινοβολία γ την οποία εκπέμπει το ραδιονουκλίδιο, πρέπει να είναι μονοενεργειακή, με μέση τιμή ενέργειας 150 KeV και όχι κάτω των 80 KeV, ώστε να είναι ανιχνεύσιμη από τις υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις (γ-camera). Τα ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν ποζιτρόνια ανιχνεύονται με camera ποζιτρονίων.
- Να παρέχει την δυνατότητα ευχερούς και προσιτής μεθόδου σύνθεσης ραδιοφαρμάκων.

Όλοι οι παραπάνω παράγοντες περιόρισαν σημαντικά τον αριθμό των ραδιονουκλιδίων, στην ανάπτυξη νέων ραδιοφαρμάκων, με αποτέλεσμα μόνο ένας μικρός αριθμός ραδιονουκλιδίων να χρησιμοποιείται σήμερα. Τα πιο συχνά ραδιονουκλίδια που περιέχονται στα μόρια διαγνωστικών ραδιοφαρμάκων είναι το τεχνήτιο-99m (<sup>99m</sup>Tc), το ιώδιο-123 (<sup>123</sup>I), το ίνδιο-111 (<sup>111</sup>In) και το φθόριο-18 (<sup>18</sup>F). Το ραδιονουκλίδιο επιλογής, με την μεγαλύτερη εφαρμογή στην Πυρηνική Ιατρική σήμερα, είναι το <sup>99m</sup>Tc.

## Ανιχνευτικές διατάζεις

Οι ανιχνευτικές διατάξεις που χρησιμοποιούνται σήμερα για τα διαγνωστικά ραδιοφάρμακα είναι η υπολογιστική τομογραφία μονοφωνικής εκπομπής (SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography) και η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET: Positron Emission Tomography).

Η SPECT είναι η πιο εξελιγμένη εκδοχή της απλής σπινθηρογραφικής απεικόνισης (γcamera) και χρησιμοποιείται για ραδιονουκλίδια, που εκπέμπουν μονοενεργειακή ακτινοβολία γ, όπως το <sup>99m</sup>Tc και το <sup>123</sup>I.<sup>4-6</sup> Η πρώτη γ-camera κατασκευάστηκε το 1958 από τον Η. Anger και γι' αυτό ονομάζεται και Anger camera (Εικόνα 1.3). Αποτελεί το βασικό σύστημα της Πυρηνικής Ιατρικής με το οποίο μπορούμε να πραγματοποιούμε εξετάσεις οργάνων, όπως του θυρεοειδούς, νεφρών, εγκεφάλου, καρδίας κ.α.





Εικόνα 1.3.: Φωτογραφία μιας <u>γ-camera</u> (αριστερά) και του <u>H. Anger</u> (1950) (δεξιά)

Το σύστημα SPECT αποτελείται από μία κλασσική γ-camera με 1 έως 4 ανιχνευτές NaI προσαρμοσμένους σε βραχίονα, ώστε να είναι δυνατή η περιστροφή τους γύρω από το σώμα του εξεταζόμενου. Λαμβάνονται εικόνες και στους τρεις άξονες (εγκάρσιο, οβελιαίο, επιμήκη) και πραγματοποιείται ανασύνθεση της εικόνας μετά την ολοκλήρωση της σπινθηρογράφησης.

Η SPECT μας προσφέρει τη δυνατότητα μελέτης και εντοπισμού φυσιολογικών διεργασιών. Παράλληλα, τα ραδιοφάρμακα, που χρησιμοποιούνται σύμφωνα με αυτή την τεχνική, μπορούν να προσδιορίσουν την έκφραση υποδοχέων και αντιγόνων σε ιστούς ασθενών με νευρολογικά, καρδιολογικά και νεοπλασματικά νοσήματα.

Η ΡΕΤ τεχνική στηρίζεται στο φαινόμενο της εξαΰλωσης το οποίο λαμβάνει χώρα μετά τη διάσπαση του ραδιενεργού πυρήνα με εκπομπή ποζιτρονίων. Το πιο χαρακτηριστικό ραδιονουκλίδιο της κατηγορίας είναι το <sup>18</sup>F.<sup>7</sup> Σύμφωνα με την αρχή λειτουργίας της, η απεικόνιση εξαρτάται από την ταυτόχρονη ανίχνευση ζευγών φωτονίων ενέργειας 511 KeV, τα οποία προέρχονται από την αλληλεξουδετέρωση των ποζιτρονίων με ηλεκτρόνια. Η τεχνική ΡΕΤ χαρακτηρίζεται από μοναδικές δυνατότητες μελέτης και ποσοτικού προσδιορισμού φυσιολογικών διεργασιών στον οργανισμό, όπως:

- αιματική ροή σε διάφορους ιστούς,
- μεταβολισμός νουκλεϊκών οξέων,
- μεταβολισμός του οξυγόνου,
- μεταβολισμός της γλυκόζης,
- σύνθεση αμινοξέων και πρωτεϊνών,
- κυτταρική απόπτωση, και
- προσδιορισμός της έκφρασης διαφόρων
  υποδοχέων ειδικά στον νευρικό ιστό.

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί υβριδικά συστήματα για την ταυτόχρονη συλλογή ανατομικών και λειτουργικών πληροφοριών όπως SPECT/CT και PET/CT, όπου CT: X-ray Computed Tomography (Εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.4. Σύγχρονες ανιχνευτικές διατάξεις SPECT/CT (αριστερά), PET/CT (δεξιά)

## 1.1.2. Χρήση της ακτινοβολίας στη θεραπεία

Η θεραπεία με ραδιοφάρμακα είναι μορφή εκλεκτικής ακτινοθεραπείας που δίνει τη δυνατότητα θεραπευτικής χρήσης ραδιοϊσοτόπων με ελάχιστη επιβάρυνση των πέριξ ιστών.

Η χρήση των θεραπευτικών ραδιοφαρμάκων βασίζεται στην κυτοτοξική δράση της σωματιδιακής ακτινοβολίας (καταστροφή DNA, κυτταρικός θάνατος). Οι θεραπευτικές αγωγές που εφαρμόζουν ραδιονουκλίδια, χρησιμοποιούν είτε απλές ανόργανες ενώσεις π.χ. Na<sup>131</sup>I, είτε σύμπλοκα κ.τ.λ. Ως στόχος τίθεται το καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα, δηλαδή η συρρίκνωση ή η καταστροφή της πάσχουσας περιοχής με τη μικρότερη δυνατή επιβάρυνση των γύρων ιστών.

Τα ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία διασπώνται με έναν από τους παρακάτω τρεις τρόπους<sup>8</sup>:

- 1) Με εκπομπή σωματιδίων β<sup>-</sup>.
- 2) Με εκπομπή σωματιδίων α.
- 3) Με σύλληψη ηλεκτρονίου και εκπομπή ηλεκτρονίων Auger.

Οι ιδιότητες που πρέπει να έχουν τα ραδιονουκλίδια για να είναι χρήσιμα ως θεραπευτικά ραδιοφάρμακα είναι οι εξής :

- 1) Διάσπαση με εκπομπή σωματιδιακής ακτινοβολίας (α, β<sup>-</sup> ή με Auger ηλεκτρόνια).
- 2) Υψηλή LET (Linear Energy Transfer) ακτινοβολία (μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα).
- Διέλευση σωματιδίου από το πυρήνα και αύξηση ιονισμών στη περιοχή του DNA.
- Επιθυμητή η εκπομπή, σε μικρή περιεκτικότητα, διεισδυτικής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας για δοσιμετρικούς υπολογισμούς.
- 5) Κατάλληλος χρόνος ημιζωής των ραδιονουκλιδίων για την εκλεκτική συγκέντρωση και παραμονή του ισοτόπου στον ακτινοβολούμενο ιστό (περίπου 10 h), ώστε να αποδοθεί μια ελάχιστη κυτοτοξική δόση ακτινοβολίας.
- 6) Υψηλή ειδική ραδιενέργεια και παραγωγή σταθερού νουκλιδίου.
- 7) Χαμηλό κόστος και εύκολη διαθεσιμότητα.
- 8) Εύκολη μέθοδος σύζευξης με βιομόρια.

Κάθε τύπος σωματιδίων που εκπέμπεται έχει διαφορετική εμβέλεια στους ιστούς, διαφορετικά επίπεδα γραμμικής ενέργειας μεταφοράς (LET) (Εικόνα 1.5), καθώς και διαφορετική σχετική βιολογική αποτελεσματικότητα (RBE: Relative Biological Effectiveness).



Εικόνα 1.5. Διείσδυση της ακτινοβολίας στην ύλη. Τα σωμάτια α αποκόπτονται από ένα φύλλο χαρτιού, τα σωμάτια β από μερικά χιλιοστά αλουμίνιο, ενώ η υψηλής ενέργειας ακτινοβολία γ απαιτεί σχετικά μεγάλο πάχος επιλεγμένων υλικών για να αποκοπεί

Τα ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν σωματίδια α (υψηλή LET) καταστρέφουν τα κύτταρα.<sup>9</sup> Η καταλληλόλητα των ραδιονουκλιδίων αυτών για θεραπεία μειώνεται λόγω της διάσπασής τους σε ασταθή θυγατρικά νουκλίδια.<sup>10,11</sup> Τα ηλεκτρόνια Auger έχουν διεισδυτική ικανότητα της τάξης των 10 nm και επομένως για να επιτευχθεί αποτέλεσμα πρέπει το

ραδιοφάρμακο να εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου. Αυτό σημαίνει πως πρέπει η ένωση που δεσμεύεται στον κυτταρικό πυρήνα, προκειμένου να επιδρά αποτελεσματικά η εκπεμπόμενη ακτινοβολία.<sup>10</sup> Τα σωματίδια β<sup>-</sup> έχουν μεγαλύτερη εμβέλεια από τα σωματίδια α και τα ηλεκτρόνια Auger και χρησιμοποιούνται για ακτινοβόληση μικρού ως μεσαίου μεγέθους όγκων.<sup>12</sup> Πολλές από τις παραπάνω διασπάσεις μπορεί να συνοδεύονται από ταυτόχρονη εκπομπή ακτινών γ κάτι που επιτρέπει τη μελέτη της in vivo κατανομής του ραδιοσκευάσματος. Καθώς το LET αυξάνει, αυξάνει και η ικανότητα της ακτινοβολίας να προκαλεί κυτοτοξικότητα. Η σχετική βιολογική αποτελεσματικότητα (RBE) ισούται με το πηλίκο της δόσης ενός είδους ακτινοβολίας που προκαλεί την ίδια βιολογική βλάβη. Όσο το LET αυξάνεται, το RBE παρουσιάζει μέγιστο και μετά ελαττώνεται. Για LET=100 KeV/μm, η μέση ελεύθερη διαδρομή του σωματιδίου συμπίπτει με την διάμετρο της έλικας του DNA (Εικόνα 1.6).

Εικόνα 1.6. (Αριστερά) Γράφημα RBE σε σχάση με LET (μέγιστο LET=100 KeV/μm).





(Δεξιά) Μέση ελεύθερη διαδρομή ακτινοβολίας σε σχέση με την διάμετρο της έλικας του DNA

Αναφορικά με τον χρόνο ημιζωής του ραδιονουκλιδίου, αυτός θα πρέπει να ανταποκρίνεται στην in vivo φαρμακοκινητική του ραδιοεπισημασμένου φορέα. Στην περίπτωση όπου ο χρόνος ημιζωής είναι μικρότερος από το χρόνο που απαιτείται για να εντοπιστεί το ραδιοσκεύασμα στον ιστό-στόχο, τότε μεγάλο μέρος της ραδιενεργούς δόσης μεταφέρεται σε φυσιολογικούς ιστούς, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό της διάσπασης θα λάβει χώρα πριν ο φορέας φτάσει στον στόχο του. Αντίθετα, αν ο χρόνος ημιζωής του ραδιονουκλιδίου είναι μεγάλος, θα λαμβάνει χώρα άσκοπη ακτινοβόληση φυσιολογικών ιστών που συμμετέχουν στην κάθαρση, του ραδιοεπισημασμένου φορέα, από τον οργανισμό. Οι

χρόνοι ημιζωής των περισσότερων ραδιονουκλιδίων που χρησιμοποιούνται για θεραπεία είναι σχετικά μικροί ( $t_{1/2} < 10$  days), δίνοντας έτσι τη δυνατότητα χορήγησης πολλαπλών θεραπευτικών δόσεων.<sup>8</sup>

Σημαντικά ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται στην θεραπευτική είναι το <sup>186</sup>Re και το <sup>188</sup>Re, εξαιτίας της μεγάλης διεισδυτικής ικανότητας της β<sup>-</sup> ακτινοβολίας και της μονοενεργειακής γ ακτινοβολίας τους, γεγονός που επιτρέπει την παράλληλη αξιολόγηση του θεραπευτικού αποτελέσματος.<sup>1,12</sup>

## 2. Τα στοιχεία τεχνήτιο και ρήνιο

Ο Mendeleev (Εικόνα 2.1) την δεκαετία του 1880 είχε προβλέψει την ύπαρξη του ρηνίου και του τεχνητίου στον περιοδικό πίνακα ως ομόλογα του μαγγανίου, όμως πέρασε μισός αιώνας για να γίνει η ταυτοποίησή τους.<sup>13,14</sup> Το τεχνήτιο και το ρήνιο ανήκουν στην <sup>7η</sup> υποομάδα του Περιοδικού Πίνακα και χαρακτηρίζονται ως στοιχεία μετάπτωσης.



Εικόνα 2.1. <u>D. Mendeleev</u>

## 2.1. Το τεχνήτιο

Το τεχνήτιο (Z=43) ανήκει στη 5<sup>η</sup> περίοδο και στη δεύτερη σειρά των στοιχείων μετάπτωσης.<sup>15</sup> Έχει επτά ηλεκτρόνια στην εξωτερική στιβάδα και η ηλεκτρονιακή του δομή είναι [Kr]4d<sup>5</sup>5s<sup>2</sup>.

Το 1925 οι Γερμανοί ερευνητές W. Noddack και Ι. Tacke (Εικόνα 2.3) ανακοίνωσαν την ανακάλυψη του στοιχείου με ατομικό αριθμό 43

με φασματοσκοπία ακτινών X και το ονόμασαν μασούριο (από την Μασουρία, περιοχή της ανατολικής Πρωσίας).<sup>16</sup> Παράλληλα σε συνεργασία με τον Ο. Berg (Εικόνα 2.3) ανακάλυψαν το στοιχείο ρήνιο με ατομικό αριθμό 75.<sup>17, 18</sup> Όμως οι ισχυρισμοί τους σχετικά με το στοιχείο με ατομικό αριθμό 43, αντιμετωπίστηκαν με σκεπτικισμό, διότι δεν κατέστη δυνατή η απομόνωσή του.<sup>19-21</sup> Το 1934, ο J. Mattauch (Εικόνα 2.3), διατύπωσε τον κανόνα των σταθερών ισοβαρών, σύμφωνα με τον οποίο δύο στοιχεία με διαδοχικούς ατομικούς αριθμούς και ίδιους μαζικούς, δεν μπορεί να είναι και τα δύο σταθερά.<sup>22</sup> Το στοιχείο με ατομικό αριθμό 43 επομένως δεν θα μπορούσε να είναι σταθερό, γιατί τα γειτονικά του ισοβαρή νουκλίδια, μολυβδαίνιο και ρουθήνιο, είναι σταθερά.



Εικόνα 2.3. <u>W. Noddack</u>, <u>I. Tacke</u>, <u>O. Berg</u> και <u>J. Mattauch</u> (από δεξιά προς τα αριστερά)



Εικόνα 2.2. <u>Το</u> <u>στοιχείο τεχνήτιο</u>

Η επίσημη ανακάλυψη του στοιχείου έγινε από τους C. Perrier και E. Segre (Εικόνα 2.4) το  $1937^{23}$ , οι οποίοι κατάφεραν να απομονώσουν βραχύβια νουκλίδια του στοιχείου με ατομικό αριθμό 43 από μολυβδαίνιο που τους έστειλε ο E. Lawrence (Εικόνα 2.4), αφού το είχε πρώτα βομβαρδίσει με πυρήνες δευτερίου στο κύκλοτρο του Berkeley.<sup>23,24</sup> Το 1947, ο αυστριακός χημικός F. Paneth (Εικόνα 2.4) όρισε τους κανόνες που θα έπρεπε να ακολουθούνται στην ονομασία και στον συμβολισμό των στοιχείων<sup>25</sup> και παράλληλα στο ίδιο τεύχος του περιοδικού "Nature", οι E. Segre και C. Perrier πρότειναν την ονομασία τεχνήτιο (technetium, με σύμβολο το Tc) για το καινούργιο αυτό στοιχείο, από την ελληνική λέξη "τεχνητός", επειδή ήταν το πρώτο στοιχείο που παρασκευάστηκε τεχνητά.<sup>26</sup>



Εικόνα 2.4. <u>C. Perrier</u>, <u>E. Segre</u>, <u>E. Lawrence</u> και <u>F. Paneth</u> (από δεξιά προς τα αριστερά)



**Εικόνα 2.5.** J. Armstrong



Eικόνα 2.6. J. P. Merrill

Οι ισχυρισμοί των Noddack και Tacke ήρθαν ξανά στο προσκήνιο τα επόμενα χρόνια, καθώς με τη συνεχή πρόοδο της τεχνολογίας επιτεύχθηκε η απομόνωση και ταυτοποίηση πολύ μικρών ποσοτήτων τεχνητίου σε φυσικά πετρώματα,<sup>19,21</sup> καθώς και η ανίχνευση <sup>99</sup>Tc από τη σχάση του <sup>238</sup>U σε πυρηνικό αντιδραστήρα.<sup>25</sup> To 1999 ο Αμερικανός ερευνητής J. Armstrong (Εικόνα 2.5) διεξήγαγε σειρά πειραμάτων, τα οποία έδωσαν τα ίδια αποτελέσματα με αυτά της ομάδας Noddack και Tacke.<sup>26</sup> Ωστόσο, τα αποτελέσματα των τελευταίων πειραμάτων δεν βρήκαν διεθνή απήχηση και κατά συνέπεια εδραιώθηκε η πατρότητα της ανακάλυψης του τεχνητίου στους Perrier και Segre. Το 1952 ο Αμερικανός αστρονόμος J. P. Merrill (Εικόνα 2.6) απέδειξε φασματοσκοπικά ότι υπάρχει τεχνήτιο σε διάφορους αστέρες, καθώς και στην αστρική ύλη.<sup>27, 28</sup>

Τα σημαντικότερα ραδιονουκλίδια του τεχνητίου είναι:

i. το ψευδοσταθερό <sup>99</sup>Tc, το οποίο κατέστησε δυνατή τη μελέτη της χημείας του τεχνητίου, και

ii. το μετασταθερό <sup>99m</sup>Tc, λόγω της εκτεταμένης χρήσης του στη διάγνωση.

## 2.1.1. Το τεχνήτιο 99 Tc

Το τεχνήτιο <sup>99</sup>Tc αποτελεί ένα από τα πλέον μακρόβια νουκλίδια του τεχνητίου με χρόνο ημιζωής  $2.1 \cdot 10^5$  χρόνια και χάρη σε αυτό έγινε δυνατή η ανάπτυξη της έρευνας πάνω στη χημεία του. Το τεχνήτιο μεταπίπτει στο σταθερό στοιχείο <sup>99</sup>Ru με εκπομπή ασθενούς β<sup>-</sup> ακτινοβολίας ( $E_{max} = 0.29$  MeV), η οποία δεν συνοδεύεται από εκπομπή γ ακτινοβολίας. Λόγω της αλληλεπίδρασης των εκπεμπόμενων ηλεκτρονίων με τους πυρήνες του μετάλλου δημιουργείται συγχρόνως και ακτινοβολία Χ πεδήσεως, η οποία όμως είναι μικρής σημασίας, καθώς η ποσότητα του νουκλιδίου είναι μικρή.

Η σύνθεση συμπλόκων του <sup>99</sup>Tc σε ημιπαρασκευαστική κλίμακα και η μελέτη της χημικής δομής με τις συνήθεις αναλυτικές μεθόδους έδωσαν σημαντικές πληροφορίες για τον τρόπο συναρμογής του μετάλλου με τους διάφορους υποκαταστάτες.<sup>13,14</sup>

Το <sup>99</sup>Tc λόγω της χαμηλής β<sup>-</sup> ακτινοβολίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σχετικά μεγάλες ποσότητες, της τάξης των λίγων mg δεδομένου ότι ένα mg αντιστοιχεί σε 17 μCi, και επομένως μπορεί να μελετηθεί με τις κλασικές αναλυτικές μεθόδους. Όμως απαιτούνται ειδικές εγκαταστάσεις για το χειρισμό του ραδιονουκλιδίου αυτού και ειδική αδειοδότηση, εφόσον εκπέμπει έστω και ασθενή επιβλαβή σωματιδιακή ακτινοβολία β<sup>-</sup>. Εκτός αυτού, προβλήματα προκύπτουν κυρίως με τη διαχείριση των μακρόβιων ραδιενεργών καταλοίπων του, τα οποία τελικά περιορίζουν σημαντικά τη χρήση του. Στον Πίνακα 2.1 αναφέρονται οι κυριότερες διαφορές στις φυσικές ιδιότητες του τεχνητίου ιχνηθέτη <sup>99m</sup>Tc και του τεχνητίου φορέα <sup>99</sup>Tc, καθώς και οι συνήθεις συγκεντρώσεις τους στις αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος.

Πίνακας 2.1. Φυσικά χαρακτηριστικά του	<sup>99т</sup> Тс каі	του <sup>99</sup> Tc

	Χρόνος ημιζωής (t <sub>1/2</sub> )	Ακτινοβολία	Συγκέντρωση
<sup>99m</sup> Τc ιχνηθέτης	6.03 ώρες	γ 140 keV	nM
<sup>99</sup> Τc φορέας	2.1x10 <sup>5</sup> έτη	β <sup>-</sup> 290 keV	mM

## 2.1.2. Το μετασταθερό 99mTc

Η εκτεταμένη χρήση του μετασταθερού <sup>99m</sup>Tc στην Πυρηνική Ιατρική ως διαγνωστικού παράγοντα οφείλεται στις πολύ καλές φυσικές του ιδιότητες. Ο χρόνος υποδιπλασιασμού του

<sup>99m</sup>Tc ( $t_{1/2} = 6.03$  ώρες) θεωρείται ικανοποιητικός τόσο για τις διάφορες χημικές συνθέσεις των ραδιοφαρμάκων όσο και για την εφαρμογή τους σε πλήθος ιατρικών διαγνώσεων. Παράλληλα ο σχετικά βραχύς χρόνος υποδιπλασιασμού του <sup>99m</sup>Tc, σε συνδυασμό με την έλλειψη β<sup>-</sup> ακτινοβολίας έχει ως αποτέλεσμα τη μικρή επιβάρυνση του ασθενούς με ακτινοβολία.<sup>29</sup>

Η γ ακτινοβολία, ενέργειας 140 KeV που εκπέμπεται από το <sup>99m</sup>Tc, διαπερνά τους ιστούς του σώματος και ανιχνεύεται εύκολα από τις υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις.

Στα πλεονεκτήματα αυτά του <sup>99m</sup>Tc προστίθεται και το συγκριτικά μικρό κόστος παρασκευής, καθώς και η ικανότητα διάθεσής του σε μεγάλες αποστάσεις από τον τόπο παραγωγής με τις γεννήτριες <sup>99</sup>Mo-<sup>99m</sup>Tc.<sup>30-32</sup>

## 2.1.2.1. Μέθοδος παραγωγής του 99mTc

Το <sup>99m</sup>Τc (ιχνηθέτης) παράγεται κατά τη διάσπαση του μητρικού του ραδιονουκλιδίου <sup>99</sup>Mo. Το μητρικό ραδιονουκλίδιο <sup>99</sup>Mo παράγεται:

- 1) Με ακτινοβόληση ράβδων <sup>235</sup>U σε πυρηνικό αντιδραστήρα.
- 2) Με ακτινοβόληση του ανενεργού νουκλιδίου  ${}^{98}$ Mo ( ${}^{98}$ MoO<sub>3</sub>) με θερμικά νετρόνια.  ${}^{33}$

Το <sup>99</sup>Μο απομονώνεται από τα προϊόντα σχάσης με ειδική χημική κατεργασία, είναι υψηλής ειδικής ραδιενέργειας με συνηθέστερες προσμίξεις <sup>131</sup>Ι και <sup>103</sup>Ru και χρησιμοποιείται για την παρασκευή γεννητριών <sup>99</sup>Mo - <sup>99m</sup>Tc.

To <sup>99</sup>Mo ( $t_{1//2}$  = 66.02 ώρες) διασπάται με εκπομπή β<sup>-</sup> ακτινοβολίας (β<sub>3</sub> = 1.23 MeV, 86%) προς το μετασταθερό ραδιονουκλίδιο <sup>99m</sup>Tc ( $t_{1/2}$  = 6,03 ώρες). Το τελευταίο διασπάται με εκπομπή γ-ακτινοβολίας (140 KeV) προς το ψευδοσταθερό <sup>99</sup>Tc ( $t_{1/2}$  = 2,1·10<sup>5</sup> έτη). Αυτό στη συνέχεια υφίσταται μεταστοιχείωση προς το σταθερό ρουθήνιο (<sup>99</sup>Ru) με εκπομπή β<sup>-</sup> ακτινοβολίας (Σχήμα 2.1).<sup>34-38</sup>



Σχήμα 2.1. Σχηματική απεικόνιση ραδιενεργούς διάσπασης του <sup>99</sup>Mo

Ο διαχωρισμός του παραγόμενου <sup>99m</sup>Tc από το μητρικό του νουκλίδιο <sup>99</sup>Mo, βασίζεται στις διαφορετικές τους χημικές ιδιότητες.<sup>39</sup> Στο Σχήμα 2.2 δίδεται η γραφική παράσταση της διάσπασης του <sup>99</sup>Mo και της γεννήσεως του <sup>99m</sup>Tc, σαν συνάρτηση του χρόνου [40]. Αν ως χρόνος μηδέν ορισθεί ο χρόνος που η ραδιενέργεια του συστήματος οφείλεται μόνο στο <sup>99</sup>Mo, τότε φαίνεται ότι με την πάροδο του χρόνου η ραδιενέργεια του <sup>99</sup>Mo ελαττώνεται με ρυθμό ανάλογο προς τη σταθερά διασπάσεως του ραδιονουκλίδιου, ενώ η ραδιενέργεια του <sup>99m</sup>Tc αυξάνει (κίτρινη γραμμή) μέχρι να φθάσει σε μία μέγιστη τιμή, όπου το σύστημα βρίσκεται στην κατάσταση μεταβατικής ισορροπίας.



**Σχήμα 2.2.** Καμπύλες διάσπασης του <sup>99</sup>Mo (μπλε), γέννησης του <sup>99m</sup>Tc (κίτρινο) σε σχέση με το χρόνο και <sup>99m</sup>Tc - <sup>99</sup>Tc (μωβ) όπου λαμβάνεται υπόψη το γεγονός ότι περίπου 10 % των διασπάσεων <sup>99</sup>Mo μεταπίπτει αμέσως σε <sup>99</sup>Tc

Για το διαχωρισμό του θυγατρικού <sup>99m</sup>Tc από το μητρικό <sup>99</sup>Mo χρησιμοποιείται η μέθοδος της χρωματογραφίας στήλης, καθώς είναι απλή και εύχρηστη. Η γεννήτρια <sup>99m</sup>Tc αποτελεί σύστημα το οποίο χρησιμοποιείται για εύκολη παραγωγή στείρου διαλύματος υπερτεχνητικού νατρίου κατάλληλο για φαρμακευτικές εφαρμογές (Εικόνα 2.7). Οι γεννήτριες <sup>99m</sup>Tc κατέστησαν δυνατή την εύκολη διάθεση του ραδιονουκλιδίου σε πολύ μακρινές αποστάσεις από τον τόπο παραγωγής, γεγονός που συνετέλεσε σημαντικά στην καθιέρωση του <sup>99m</sup>Tc ως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο νουκλίδιο στην Πυρηνική Ιατρική σήμερα.<sup>41,42</sup>



**Εικόνα 2.7.** Γεννήτρια <sup>99</sup>Μο/<sup>99m</sup>Tc

Οι γεννήτριες είναι ανθεκτικά συστήματα, μικρών διαστάσεων και αποτελούνται από μικρή γυάλινη στήλη χρωματογραφίας, η οποία περιέχει οξείδιο του αργιλίου. Στη στήλη αυτή είναι επιστοιβαδευμένο το μητρικό ραδιονουκλίδιο με τη μορφή διαλύματος μολυβδαινικών ανιόντων [<sup>99</sup>MoO<sub>4</sub>]<sup>2-</sup>, όπου διασπώμενο παράγει συνεχώς το θυγατρικό <sup>99m</sup>Tc με τη μορφή [<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>]<sup>-</sup>. Αυτό αποχωρίζεται με έκλουση της στήλης με στείρο διάλυμα φυσιολογικού ορού, ενώ τα [<sup>99</sup>MoO<sub>4</sub>]<sup>2-</sup> κατακρατούνται στη στήλη. Μετά το τέλος κάθε έκλουσης, το <sup>99m</sup>Tc αρχίζει και πάλι να αναγεννάται από το μητρικό <sup>99</sup>Mo μέσα στη στήλη. Η πρώτη γεννήτρια <sup>99</sup>Mo / <sup>99m</sup>Tc αναπτύχθηκε, σχεδόν τυχαία, στα μέσα της δεκαετίας του 1950 από τους W. Tucker και M. Greene στο <u>Brookheaven National Laboratory</u> (BNL) των ΗΠΑ. Μερικά χρόνια αργότερα, οι P. Harper και K. Lathrop χρησιμοποίησαν για πρώτη φορά σε μελέτες στον άνθρωπο το <sup>99m</sup>Tc και ουσιαστικά ήταν αυτοί που παρήγγειλαν την πρώτη γεννήτρια <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc από το BNL.<sup>41-43</sup> Από το 1966 λόγω της ραγδαίας αυξανόμενης ζήτησης ξεκίνησε η βιομηχανική παραγωγή γεννητριών <sup>99</sup>Mo / <sup>99m</sup>Tc.

Η ειδική ραδιενέργεια του <sup>99m</sup>Tc είναι της τάξεως του 10<sup>6</sup> Ci/g. Ως ειδική ραδιενέργεια ενός ραδιονουκλιδίου ορίζεται το πηλίκο της ραδιενέργειας προς τη μάζα του.<sup>3</sup> Η συγκέντρωση <sup>99m</sup>Tc σε διάλυμα που προέρχεται από διάλυμα γεννήτριας είναι πολύ χαμηλή (της τάξης των nM). Για παράδειγμα, διάλυμα συγκέντρωσης 10 mCi / mL περιέχει <sup>99m</sup>Tc σε συγκέντρωση ~ 10<sup>-10</sup> M. Το γεγονός αυτό καθιστά αδύνατη τη χρήση των κλασικών αναλυτικών μεθόδων,

όπως στοιχειακή ανάλυση, φασματοσκοπία NMR, IR, UV-vis, ESR, φασματογράφο μάζας και κρυσταλλογραφική ανάλυση με ακτίνες X.<sup>44, 45</sup>

Οι αναλυτικές μέθοδοι που συνήθως χρησιμοποιούνται σε επίπεδο <sup>99m</sup>Tc είναι η χρωματογραφία και η ηλεκτροφόρηση. Οι πληροφορίες που λαμβάνονται είναι μη ειδικές (ραδιοχημική καθαρότητα, απόδοση επισήμανσης) και δεν παρέχουν καμία πληροφορία για τη δομή των συμπλόκων.<sup>2,46,47</sup> Οι γνώσεις τόσο για τη δομή όσο και για την οξειδωτική βαθμίδα του τεχνητίου στις ενώσεις του, ακόμα και των αγνώστου δομής ραδιοφαρμακευτικών σκευασμάτων που ήδη χρησιμοποιούνταν, προέκυψαν με τη χρήση είτε του ψευδοσταθερού ισοτόπου <sup>99</sup>Tc, είτε του <sup>185/187</sup>Re.<sup>1,48,49</sup>

#### **2.1.2.** Ραδιοφάρμακα <sup>99m</sup>Tc

Το μετασταθερό <sup>99m</sup>Tc αποτελεί το σημαντικότερο ραδιονουκλίδιο του τεχνητίου, αφού έχει αποδειχθεί ένα από τα σπουδαιότερα ραδιονουκλίδια για την Πυρηνική Ιατρική. Αρχικά και για μία εικοσαετία μετά την ανακάλυψη του έμεινε ουσιαστικά αχρησιμοποίητο και μόνο αργότερα, όταν άρχισε να παρασκευάζεται και σε πυρηνικό αντιδραστήρα, άρχισε να βρίσκει πρακτική εφαρμογή.

Τα ραδιοφάρμακα του τεχνητίου παρέχουν πληροφορίες τόσο για τη μορφολογία, όσο και για τη λειτουργία διαφόρων οργάνων ή συστημάτων του ανθρώπινου σώματος. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να ταξινομηθούν, ανάλογα με τη χρονολογία ανάπτυξης και εφαρμογής τους, ως ραδιοφάρμακα πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς (Πίνακας 2.2).

Τα ραδιοφάρμακα πρώτης γενιάς τα οποία αναπτύχθηκαν κατά τη δεκαετία του 1960 και του 1970 περιλαμβάνουν κολλοειδή σωματίδια ή μικροσωματίδια επισημασμένα με τεχνήτιο και σχετικά απλές ενώσεις του τεχνητίου.<sup>2</sup> Το 1971 χαρακτηρίζεται από τη σημαντική ανακάλυψη συμπλόκων του <sup>99m</sup>Tc με διφωσφονικές ενώσεις, τα οποία δίνουν εξαιρετικά αποτελέσματα στη διάγνωση παθήσεων των οστών.<sup>50,51</sup> Εδώ αξίζει να αναφερθεί ότι χρησιμοποιούνται σύμπλοκα των οποίων η δομή δεν είναι γνωστή.

	ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΟ	ΕΞΕΤΑΣΗ
	Na <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub>	Απεικόνιση θυροειδούς και σιελογόνου αδένα
	<sup>99m</sup> Tc-DTPA[101,102]	Απεικόνιση νεφρών
1 <sup>ης</sup> γενιάς	<sup>99m</sup> Tc-HIDA	Απεικόνιση ήπατος
• •	<sup>99m</sup> Tc-tagged red blood cells	Ανίχνευση ηπατικού αιμαγγειώματος
	<sup>99m</sup> Tc-sulfur colloid	Απεικόνιση σπλήνα, ήπατος, μυελού των οστών
	<sup>99m</sup> Tc-MDP [99,100]	Απεικόνιση οστών
	<sup>99m</sup> Tc-MAG3	Απεικόνιση νεφρών
	<sup>99m</sup> Tc-HMPAO	Απεικόνιση τοπικής εγκεφαλικής ροής
<b>a</b> nc (	<sup>99m</sup> Tc-DTPA	Σπινθηρογράφημα νεφρών
2 <sup>ης</sup> γενιάς	<sup>99m</sup> Tc-ECD	Αξιολόγηση ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων
	<sup>99m</sup> Tc-tetrofosmin	Απεικόνιση μυοκαρδίου
	<sup>99m</sup> Tc-sestamibi	Απεικόνιση μυοκαρδίου
3 <sup>ης</sup> γενιάς	99mTc-Cl(SS-estradiol)(CO)3	Απεικόνιση υποδοχέων οιστρογόνων
313 γενιας	99mTc-TRODAT	Απεικόνιση υποδοχέων ντοπαμίνης

Πίνακας 2.2. Κυριότερα ραδιοφάρμακα του <sup>99m</sup>Tc και η χρήση τους στην Πυρηνική Ιατρική

Σύμπλοκα του <sup>99m</sup>Tc με διφωσφονικά οξέα χρησιμοποιούνται ευρέως σαν διαγνωστικά ραδιοφάρμακα για την απεικόνιση του σκελετικού συστήματος και καρκινικών μεταστάσεων στα οστά. Οι περιφερειακοί υποκαταστάτες είναι διφωσφονικές ενώσεις κατάλληλα τροποποιημένες. υποκαταστάτες Έτσι ως περιφερειακοί χρησιμοποιούνται τα μεθανοδιφωσφονικό οξύ (MDP) (DRAXIMAGE<sup>®</sup> MDP-25), υδροξυμεθανοδιφωσφονικό οξύ (HMDP) (Technescan<sup>™</sup> HDP), 1-υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό οξύ (HEDP) και 1-υδροξυ-4-αμινοβουτανο-1,1-διφωσφονικό οξύ (ABP) (Σχήμα 2.3). Η δομή τους δεν έχει χαρακτηρισθεί και πιστεύεται ότι σχηματίζονται πολυμερή. Ο μηχανισμός δράσης τους βασίζεται στη συναρμογή τους με ιόντα Ca<sup>2+</sup> σε νεοσχηματιζόμενους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη.<sup>52, 53, 54</sup>



**Σχήμα 2.3.** Δεξιά έχουμε τις χημικές δομές των: (i) MDP, (ii) HMDP, (iii) HEDP και (iv) ABP. Αριστερά έχουμε μια <u>τυπική σάρωση οστού</u> που παράγεται από ιατρική απεικόνιση ενός ασθενούς μετά την έγχυση <sup>99m</sup>Tc-MDP

Η βασική έρευνα γύρω από το ραδιονουκλίδιο του <sup>99m</sup>Tc και τα ραδιοφάρμακά του, προχωρεί με γοργό ρυθμό, με αποτέλεσμα η Ραδιοφαρμακευτική Χημεία του τεχνητίου να ξεχωρίζει ως ιδιαίτερος κλάδος της ραδιοφαρμακευτικής. Από το 1972 ως το 1978 η μελέτη του συσχετισμού της δομής-βιολογικής δράσης του <sup>99m</sup>Tc με πυριδοξάλη, αμινοξέα και παράγωγα της λιδοκαΐνης κατέληξαν σε πολύτιμα ραδιοφάρμακα του τεχνητίου για το ηπατοχολικό σύστημα.<sup>3, 55-57</sup>

Η δεκαετία του 1980 χαρακτηρίζεται από την ανακάλυψη νέων συμπλόκων του τεχνητίου (ραδιοφάρμακα δεύτερης γενιάς), για τη μελέτη του εγκεφάλου, του μυοκαρδίου και των νεφρών, τα οποία αποτελούν πολύτιμο βοήθημα στην εξέλιξη της πυρηνικής ιατρικής. Τα σύμπλοκα αυτά είναι γνωστής δομής και η φαρμακολογική τους δράση εξαρτάται από τις φυσικές τους ιδιότητες (φορτίο, μέγεθος, λιποφιλικότητα, κλπ.).

Τα πρώτα υποσχόμενα σύμπλοκα περιείχαν ως υποκαταστάτες τροποποιημένες προπυλεναμινοξίμες (PnAO). Όταν χρησιμοποιήθηκε ως περιφερειακός υποκαταστάτης η διοξίμη της 3,3,9,9-τετραμεθυλο-4,8-διαζαενδεκανο-2,10-διόνης, το προκύπτον σύμπλοκο TcO(PnAO) ήταν ουδέτερο στο pH του αίματος, λιπόφιλο και περνούσε σε υψηλό ποσοστό από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αλλά δεν παρέμεινε για ικανοποιητικό χρονικό διάστημα στον εγκέφαλο.<sup>58, 59</sup> Η παγίδευση αυτή επιτεύχθηκε με τροποποίηση του σκελετού της αμινοξίμης όπως στην περίπτωση της διοξίμης της 3,6,6,9-τετραμεθυλο-4,8-διαζαενδεκανο2,10-διόνης (Σχήμα 2.4). Το σύμπλοκο αυτό είναι το [<sup>99m</sup>Tc-d,l-HMPAO] και συνδυάζει τις ιδιότητες της υψηλής πρόσληψης και της παρατεταμένης καθήλωσης στον εγκέφαλο.

Η δράση του αποδίδεται σε πιθανή ενζυματική μετατροπή προς ένα πιο υδρόφιλο παράγωγο.<sup>60-64</sup> Η meso μορφή του συμπλόκου δεν έχει βιολογική δράση.<sup>65</sup>



Σχήμα 2.4. Δομή του PnAO (i), του HMPAO (ii) και του  $^{99m}$ Tc-HMPAO (iii)

Σήμερα, το <sup>99m</sup>Tc-d,1-HMPAO είναι ραδιοφάρμακο του τεχνητίου που χρησιμοποιείται σε καθημερινή κλινική πράξη για τη μέτρηση της τοπικής αιματικής ροής του εγκεφάλου με SPECT. Χρησιμοποιείται με επιτυχία στη διάγνωση διαφόρων ασθενειών, όπως εγκεφαλικών επεισοδίων και εμφραγμάτων, ισχαιμίας, επιληψίας, νόσο του Parkinson, άνοιας και διάκριση των μορφών της.<sup>66-68</sup> Επίσης χρησιμοποιείται για την ανίχνευση όγκων και τραυμάτων στον εγκέφαλο, καθώς και για την επιβεβαίωση του εγκεφαλικού θανάτου (Εικόνα 2.8) (Ceretec<sup>TM</sup>).<sup>69-71</sup>

Εικόνα 2.8. Απεικόνιση ασθενούς με χρήση <sup>99m</sup>Tc-d,l-HMPAO για την επιβεβαίωση του εγκεφαλικού θανάτου

	2 sec	4 sec	6 sec
Day 0, HMPAO			
Day 1, HMPAO			
Day 3, HMPAO			

Ένα άλλο ραδιοφάρμακο του <sup>99m</sup>Tc είναι το [<sup>99m</sup>Tc-ECD] (Σχήμα 2.5)<sup>72</sup> (<u>Neurolite®</u>). Σε αυτό ο περιφερειακός υποκαταστάτης είναι ο διαιθυλεστέρας της Ν, Ν΄αιθυλενοδικυστεΐνης (ECD) και ανήκει στη γενική κατηγορία των διαμινο-διθειολών (BAT: bis-amino-bis-thiol). Τα δύο καρβοξύλια βρίσκονται με τη μορφή εστέρων. Οι εστέρες αυτοί υδρολύονται με την επίδραση των εστερασών του εγκεφάλου προς τα αντίστοιχα οξέα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον ιονισμό της ένωσης και την παγίδευσή της στον εγκέφαλο. Η υδρόλυση είναι στερεοειδική: μόνο το L,L εναντιομερές υδρολύεται γρήγορα και παγιδεύεται.<sup>73, 74</sup> Το σύμπλοκο αυτό δίνει καλή εικόνα της αιματικής ροής του εγκεφάλου και μπορεί να απεικονίσει τη φαιά ουσία, τα βασικά γάγγλια, το θάλαμο και τα ημισφαίρια. Χρησιμοποιείται κυρίως για την εκτίμηση της εικόνας ασθενών με εγκεφαλικό επεισόδιο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η παγίδευση στον εγκέφαλο συμβαίνει στον άνθρωπο και όχι σε τρωκτικά λόγω της έλλειψης εστερασών σε αυτά.<sup>73, 75</sup>



Σχήμα 2.5. Δομή του <sup>99m</sup>Tc-ECD

Ένα σύμπλοκο του <sup>99m</sup>Tc που χρησιμοποιείται εκτεταμένα για την απεικόνιση της λειτουργίας των νεφρών είναι το [<sup>99m</sup>Tc-MAG<sub>3</sub>]<sup>-</sup> (<u>Technescan MAG3<sup>TM</sup></u>) (Σχήμα 2.6). Το σύμπλοκο αυτό έχει εξαιρετικά in vivo χαρακτηριστικά νεφρικής κάθαρσης.<sup>76</sup>



Σχήμα 2.6. Δομή του  $[^{99m}TcO(MAG_3)]^{-1}$ 

Επίσης σημαντικό ραδιοφάρμακο είναι το σύμπλοκο <sup>99m</sup>Tc-sestamibi (<u>Cardiolite®</u>) (Σχήμα 2.7). Χρησιμοποιείται για απεικόνιση του μυοκαρδίου.<sup>77</sup>



Όπου R: -CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)(OCH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)



**Σχήμα 2.7.** Αριστερά: δομή του συμπλόκου <sup>99m</sup>Tc-sestamibi. Δεξιά: <u>απεικόνιση</u>, σε όλο το σώμα με <sup>99m</sup>Tc-sestamibi

Κατά τη δεκαετία του 2000 αναπτύχθηκαν τα ραδιοφάρμακα τρίτης γενιάς. Στόχος της κατηγορίας αυτής είναι τα ραδιοφάρμακα να λαμβάνουν μέρος σε βιοχημικούς μηχανισμούς ή σε εξειδικευμένες ενζυμικές αντιδράσεις.<sup>78, 79</sup> Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σύμπλοκο του <sup>99m</sup>Tc με το TRODAT που χρησιμοποιείται για την απεικόνιση των ντοπαμινεργικών νευροδιαβιβαστών με SPECT. Το σύμπλοκο <sup>99m</sup>Tc-TRODAT-1 (Σχήμα 2.8) περιλαμβάνει ένα περιφερειακό υποκαταστάτη της ομάδας των διαμινοδιθειολών, ο οποίος συνδέεται με δακτύλιο τροπανίου και χρησιμοποιείται με επιτυχία για την *in vivo* εκτίμηση της απώλειας ντοπαμινεργικών νευρώνων κατά τη νόσο του Parkinson και άλλων νευροεκφυλιστικών ασθενειών.<sup>80-82</sup>



**Σχήμα 2.8.** Αριστερά, δομή του <sup>99m</sup>Tc-TRODAT-1. Δεξιά, <u>απεικόνιση</u> εγκεφάλου με χρήση <sup>99m</sup>Tc-TRODAT-1

#### 2.2. Ρήνιο

Το ρήνιο (Εικόνα 2.9) είναι το 75ο στοιχείο του περιοδικού πίνακα. Ανήκει στην έκτη περίοδο και στην VIIB υποομάδα του περιοδικού πίνακα. Η ανακάλυψή του αποδίδεται στους W. Noddack, I. Tacke και O. Berg<sup>16,17</sup>, οι οποίοι το 1925 ανέφεραν ότι ανακάλυψαν το στοιχείο με τον ατομικό αριθμό 75 σε δείγματα από ορυκτά λευκόχρυσου και στο ορυκτό κολουμβίτη. Ανέφεραν επίσης ότι βρήκαν αποδείξεις για την ύπαρξη του και



Εικόνα 2.9. Το στοιχείο <u>ρήνιο</u>

σε δείγματα μολυβδαινίτη και γαδολινίτη. Το 1928, ανακοίνωσαν ότι κατόρθωσαν να απομονώσουν 1 gr του στοιχείου μετά από επεξεργασία 660 Kg μολυβδαινίτη. Μερικά δείγματα μολυβδαινίτη, όπως το θειούχο ορυκτό του μολυβδαινίου, περιέχουν ρήνιο μέχρι και 20 ppm.

Στη φύση το ρήνιο το συναντάμε σαν μίγμα του μοναδικού σταθερού ισοτόπου του <sup>185</sup>Re και του ασταθούς αλλά εξαιρετικά μακρόβιου ραδιοϊσοτόπου <sup>187</sup>Re.<sup>83</sup> Η ηλεκτρονιακή δομή του ρηνίου είναι [Xe]4f<sup>14</sup>5d<sup>5</sup>6s<sup>2</sup>. Είναι ένα από τα σπανιότερα στοιχεία του ηλιακού μας συστήματος και κατανέμεται στο στερεό φλοιό της γης σε ποσοστό 0.1 – 10 ppm.<sup>84</sup> Το φυσικό ισότοπο <sup>187</sup>Re έχει χρόνο ημιζωής 7·10<sup>10</sup> έτη, εκπέμπει ασθενή ακτινοβολία β<sup>-</sup> (β<sup>-</sup>max= 0.003 MeV) όπου και μεταπίπτει στο θυγατρικό <sup>187</sup>Os που βρίσκεται σε όλα τα πετρώματα που περιέχουν ρήνιο.<sup>85,86</sup> Εκτός από τα δύο αυτά φυσικά ισότοπα του ρηνίου έχουν συντεθεί και τεχνητά ισότοπα.<sup>87</sup>

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του ρηνίου και του τεχνητίου είναι παρόμοιες, το φυσικό ρήνιο (<sup>185/187</sup>Re) χρησιμοποιείται εναλλακτικά με το <sup>99</sup>Tc για την ταυτοποίηση των συμπλόκων του <sup>99m</sup>Tc τα οποία δεν μπορούν να ταυτοποιηθούν με τις κλασικές μεθόδους. Ο χειρισμός του ρηνίου είναι πιο εύκολος από αυτόν του τεχνητίου, επειδή δεν εκπέμπει ακτινοβολία και κατά συνέπεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κοινά εργαστήρια χημείας καθώς επίσης είναι πιο οικονομικό.

Τα τελευταία χρόνια το ρήνιο, εκτός από τη σημασία του στη μελέτη των ενώσεων συναρμογής, βρίσκει μεγάλη εφαρμογή και στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών και κυρίως του καρκίνου. Τα ασταθή ισότοπα του <sup>186</sup>Re και <sup>188</sup>Re εκπέμπουν ακτινοβολία β<sup>-</sup> κατάλληλης ενέργειας για το σκοπό αυτό.<sup>88,89</sup> Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον Πίνακα 2.3. Δεδομένου ότι η ισχυρή ακτινοβολία β<sup>-</sup> είναι κυτταροτοξική, κατάλληλα σχεδιασμένα ραδιοφάρμακα των δυο αυτών ραδιονουκλιδίων βρίσκουν εφαρμογή στην Πυρηνική Ογκολογία. Με βάση τη διεισδυτική ικανότητα της ακτινοβολίας που εκπέμπουν στους

ανθρώπινους ιστούς, το <sup>186</sup>Re (εμβέλεια σε ιστούς: 5 mm) είναι κατάλληλο για θεραπεία μικρών όγκων, ενώ το <sup>188</sup>Re (εμβέλεια σε ιστούς: 11 mm) προορίζεται για μεγαλύτερες καρκινικές μάζες.<sup>90</sup>

	Χρόνος ημιζωής (h)	E <sub>max</sub> (MeV)	Εμβέλεια σε ιστούς (mm)
<sup>186</sup> Re	90	1,07 (71%)	5
<sup>188</sup> Re	17	2,1 (100%)	11

Πίνακας 2.3. Ραδιονουκλίδια του Re με χρήση στην Πυρηνική Ιατρική

## 2.2.1. Ραδιοφάρμακα <sup>186</sup>Re και <sup>188</sup>Re

Το επισημασμένο 1-υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό νάτριο (HEDP) με <sup>188</sup>Re ( $^{188}$ Re-<u>HEDP</u>) ή <sup>186</sup>Re αποτελεί το νεότερο θεραπευτικό ραδιοφάρμακο του ρηνίου για ανακούφιση των πόνων από μεταστάσεις στα οστά.<sup>91</sup>



Σχήμα 2.9. Δομή του 1-υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό νάτριο (HEDP)

Άλλο ραδιοφάρμακο του <sup>186</sup>Re είναι το κολλοειδές επτασουλφίδιο του ρηνίου (<sup>186</sup>Re<sub>2</sub>S<sub>7</sub>) (Σχήμα 2.10) το οποίο σχηματίζεται με όξινη αναγωγή των υπερρηνικών με παρουσία θειοθειικού νατρίου και προορίζεται για τοπική ενδοαρθρική χορήγηση.<sup>92</sup>



Σχήμα 2.10. Δομή του  $^{186}$ Re<sub>2</sub>S<sub>7</sub>

### 3. Φυσικές και χημικές ιδιότητες τεχνητίου και ρηνίου

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του ρηνίου και του τεχνητίου είναι παρόμοιες. Η χημική αυτή συμπεριφορά είναι γενική για τα στοιχεία μεταπτώσεως της δεύτερης και της τρίτης σειράς, τα οποία ανήκουν στην ίδια υποομάδα. Η αναμενόμενη αύξηση της ατομικής ακτίνας μεταξύ του δεύτερου και του τρίτου στοιχείου μετάπτωσης της ίδιας ομάδας δεν πραγματοποιείται παρά μόνο ελάχιστα εξαιτίας της συμπλήρωσης των εσωτερικών τροχιακών. Οι παραπλήσιοι ατομικοί όγκοι καθώς και οι ισοδύναμες ατομικές ακτίνες μεταξύ του τεχνητίου και του ρηνίου εξηγούν σε μεγάλο βαθμό τις παρόμοιες χημικές ιδιότητες που εμφανίζουν (Εικόνα 3.1).

Αντίθετα οι ατομικές ακτίνες του τεχνητίου και του μαγγανίου διαφέρουν σημαντικά με αποτέλεσμα να έχουν διαφορετικές χημικές ιδιότητες. Όπως για παράδειγμα, ότι τα υπερτεχνητικά ανιόντα π.χ. ανάγονται ευκολότερα συγκριτικά με τα υπερμαγγανικά, ενώ η οξειδωτική βαθμίδα (ΙΙ) του μαγγανίου είναι σταθερότερη από την αντίστοιχη του τεχνητίου.<sup>93</sup>

Τα μέταλλα τεχνήτιο και ρήνιο είναι λιγότερο δραστικά από το μαγγάνιο. Ευρισκόμενα σε συμπαγή μάζα ανθίστανται στην οξείδωση και προσβάλλονται μόνο επιφανειακά.<sup>57</sup> Το τεχνήτιο όπως και το ρήνιο κρυσταλλώνεται σε εξαγωνική ομάδα συμμετρίας χώρου σε αντίθεση με το μαγγάνιο το οποίο σχηματίζει κυβική κυψελίδα.<sup>94, 95</sup>

Πίνακας 3.1	Φυσικές	ιδιότητες του	μαννανίου	του τεγνητίου	$\kappa \alpha 1$ $\tau \alpha 0$ $\sigma n v i \alpha$	າກ
1117 anay 5.1.	TOURCE		μαγγανιου,	100 102011100	Kut too pijvi	50

Ιδιότητες	Τεχνήτιο	Ρήνιο
Ατομική ακτίνα (Å)	1.358	1.373
Μαγνητική επιδεκτικότητα	2.7.10-4	0.69·10 <sup>-3</sup>
Ενέργεια ιονισμού	7.28	7.87

Τα στοιχεία Mn, Tc και Re χάνουν εύκολα τα ηλεκτρόνια της εξωτερικής τους στιβάδας και σχηματίζουν ενώσεις στην ανώτατη οξειδωτική βαθμίδα VII, όπως υπερμαγγανικά, υπερτεχνητικά και υπερρηνικά. Μια άλλη χαρακτηριστική ιδιότητα των στοιχείων μετάπτωσης είναι ότι παρουσιάζουν μεταβλητά σθένη και σχηματίζουν σύμπλοκες ενώσεις σε ποικιλία οξειδωτικών βαθμίδων.<sup>96</sup>

#### 3.1. Η χημεία συναρμογής των ενώσεων τεχνητίου και ρηνίου

Η χημική ομοιότητα του Re με το Tc, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι το Re μπορεί να παρασκευασθεί σε μεγάλες ποσότητες σε μη ραδιενεργή μορφή, το καθιστά πολύ σημαντικό στοιχείο για τη μελέτη του Tc.

Στις ενώσεις τους, το τεχνήτιο και το ρήνιο, βρίσκονται σε διάφορες οξειδωτικές βαθμίδες.<sup>97,98</sup> Ιδιαίτερα σταθερές οξειδωτικές βαθμίδες είναι η (VII) και η (IV). Σε όλες τις υπόλοιπες βαθμίδες απαιτείται ισχυρή σύμπλεξη με κατάλληλους περιφερειακούς υποκαταστάτες για τη σταθεροποίησή τους. Στις υψηλότερες οξειδωτικές βαθμίδες (VII), (VI), (V) ο πυρήνας του συμπλόκου είναι συνδεδεμένος με άτομα δότες ηλεκτρονίων, όπως οξυγόνο, άζωτο ή θείο. Τα άτομα αυτά βοηθούν στην εξουδετέρωση της έλλειψης ηλεκτρονιακής πυκνότητας των μετάλλων.

Οι διάφορες οξειδωτικές βαθμίδες λαμβάνονται σχετικά εύκολα, και επίσης εύκολα αλληλομετατρέπονται κάτω από ήπιες οξειδοαναγωγικές συνθήκες.<sup>1,99</sup> Για το λόγο αυτό, οι αντιδράσεις δίνουν συχνά μίγματα προϊόντων και οι πειραματικές συνθήκες πρέπει να ελέγχονται για την απόκτηση επαναλήψιμων αποτελεσμάτων.

Τα σύμπλοκα σε χαμηλότερες οξειδωτικές βαθμίδες είχαν τύχει περιορισμένης προσοχής, κυρίως λόγω της δυσκολίας ελέγχου της αναγωγής των υπερτεχνητικών ανιόντων μέχρι τη στιγμή που βρέθηκε ότι, μονοδραστικοί υποκαταστάτες (όπως ισοκυανίδια) σχηματίζουν πολύ σταθερά σύμπλοκα στην οξειδωτική βαθμίδα Ι. Οι πιο σημαντικές ενώσεις είναι σύμπλοκα των ισοκυανιδίων  $[M(CNR)_6]^+$  και τα καρβόνυλο-σύμπλοκα  $[M(CO)_3L_3]^+$ (όπου L= τριδραστικός περιφερειακός υποκαταστάτης).

Αναλυτικότερα εξετάζεται η οξειδωτική βαθμίδα Ι καθώς η παρούσα εργασία αναφέρεται σε σύμπλοκα της. Σαν περιφερειακοί υποκαταστάτες έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο ανόργανα μονοδραστικά μόρια ή ιόντα όσο και πολυδραστικές οργανικές ενώσεις.<sup>93,101</sup>

#### 4. Οξειδωτική βαθμίδα (Ι)

Το Τς και το Re στην οξειδωτική βαθμίδα (Ι) σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα με υποκαταστάτες οι οποίοι φέρουν ομάδες ικανές να σταθεροποιούν το μέταλλο με το φαινόμενο της π-οπισθοσύνδεσης, όπως είναι τα ισοκυανίδια και οι φωσφορικές ομάδες, καθώς και τα καρβονύλια.<sup>102-104</sup>

Την δεκαετία του 1990 ο R. Alberto (Εικόνα 4.1) και οι συνεργάτες του, κατάφεραν να συνθέσουν σε ατμοσφαιρική πίεση το σύμπλοκο *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, σε υψηλή ραδιοχημική καθαρότητα, το οποίο περιέχει τον πυρήνα *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Επίσης, σε επίπεδο ρηνίου, έχει πραγματοποιηθεί η σύνθεση του ανάλογου συμπλόκου [NEt4]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. Τα σύμπλοκα αυτά είναι υδατοδιαλυτά και σταθερά στο νερό (Σχήμα 4.1).<sup>105-110</sup>



Εικόνα 4.1. <u>R. Alberto</u>



**Σχήμα 4.1**. Δομή των συμπλόκων: A) [NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] και B) fac-[ $^{99m}$ Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>

Η σύνθεση του συμπλόκου fac-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> πραγματοποιείται με απευθείας αναγωγή των TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> με NaBH<sub>4</sub> σε υδατικό διάλυμα, παρουσία CO, το οποίο φαίνεται να παίζει και σημαντικό ρόλο στην αναγωγή. Η απόδοση σχηματισμού του συμπλόκου είναι > 95%. Επίσης σε kit, χρησιμοποιείται το K<sub>2</sub>[H<sub>3</sub>BCO<sub>2</sub>], το οποίο απελευθερώνει μονοξείδιο του άνθρακα μέσω υδρόλυσης και ανάγει το Tc(VII) σε Tc(I).<sup>111</sup>

#### 4.1. Το μονοξείδιο του άνθρακα ως υποκαταστάτης

Σε ενώσεις συναρμογής το μονοξείδιο του άνθρακα ως συναρμοτής ονομάζεται «καρβονύλιο», και χρησιμοποιείται στην ονομασία των ενώσεων αυτών με το πρόθεμα «καρβονυλ(ο)-». Η δομή του CO μπορεί να αποδοθεί με έναν, δύο ή τρεις ομοιοπολικούς δεσμούς. Οι αντίστοιχες δομές κατά Lewis, που δείχνουν την κατανομή των 10 ηλεκτρονίων, παρουσιάζονται στην Εικόνα 4.2. Το μήκος δεσμού μεταξύ των ατόμων άνθρακα και οξυγόνου στο μονοξείδιο του άνθρακα παρουσιάζει αξιοσημείωτη συγγένεια με τα περισσότερα μέταλλα μεταπτώσεως, με τα οποία σχηματίζει καρβονυλικά σύμπλοκα.



Εικόνα 4.2. Δομές συντονισμού του CO. Η δομή (III) είναι η επικρατέστερη.

Το μονοξείδιο του άνθρακα αντιδρά ως μονοδραστικός υποκαταστάτης με ρήνιο και τεχνήτιο στις χαμηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις σχηματίζοντας σταθερά σύμπλοκα. Η χαμηλή οξειδωτική κατάσταση εξασφαλίζει την απαραίτητη ηλεκτρονιακή πυκνότητα εκ μέρους των d-τροχιακών του μετάλλου προς το π-αντιδεσμικό τροχιακό του CO. Η σύνδεση πραγματοποιείται μέσω του ασύζευκτου ζεύγους ηλεκτρονίων του άνθρακα, το οποίο σχηματίζει με κατάλληλο d τροχιακό του μετάλλου ένα σ-δεσμό (M $\leftarrow$ C). Συγχρόνως, ηλεκτρονιακή πυκνότητα μεταφέρεται από ένα πλήρες d τροχιακό του μετάλλου, σε ένα κενό π\* μοριακό τροχιακό του άνθρακα, π-δεσμός, (M $\rightarrow$ C).

Στο fac-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> τα τρία μόρια των καρβονυλίων συμπλέκονται με το μέταλλο ευρισκόμενα σε facial θέση και σταθεροποιούν τον πυρήνα του μετάλλου. Τα υπόλοιπα τρία ευκίνητα μόρια (Br για το ρήνιο και H<sub>2</sub>O για το <sup>99m</sup>Tc), αντικαθίστανται εύκολα από περιφερειακούς υποκαταστάτες. Σε αυτή τη μέθοδο βασίστηκε η παρασκευή των συμπλόκων του ρηνίου και του <sup>99m</sup>Tc στην οξειδωτική βαθμίδα (I).<sup>112</sup>

#### 4.2. Μέθοδος αντικατάστασης υποκαταστατών

Οι περιφερειακοί υποκαταστάτες μπορεί να είναι μονοδραστικοί, διδραστικοί ή τριδραστικοί. Οι τριδραστικοί υποκαταστάτες αντικαθιστούν και τα τρία ευκίνητα μόρια. Στη περίπτωση που χρησιμοποιείται ένας μονοανιονικός διδραστικός υποκαταστάτης, στο σύμπλοκο που σχηματίζεται παραμένει ένα ευκίνητο μόριο, το οποίο μπορεί να αντικατασταθεί στη συνέχεια από ένα μονοδραστικό υποκαταστάτη (Σχήμα 4.2).



**Σχήμα 4.2.** Θέσεις σύμπλεξης τριδραστικών (XYZ), διδραστικών (XY) και μονοδραστικών (W) υποκαταστατών σε σύμπλοκα τύπου *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, όπου M: Re ή <sup>99m</sup>Tc.

Όταν οι υποκαταστάτες φέρουν, συνήθως, επιπλέον κάποια ελεύθερη καρβοξυλική ομάδα ή αμινομάδα, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόσδεση βιομορίων στον υποκαταστάτη, χαρακτηρίζονται ως διλειτουργικοί (bifunctional).

### 4.3. Τριδραστικοί υποκαταστάτες

Ο R. Alberto, όπως και άλλοι ερευνητές πραγματοποίησαν αντιδράσεις του πρόδρομου συμπλόκου fac-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> με ποικίλους τριδραστικούς υποκαταστάτες με αποτέλεσμα το σχηματισμό συμπλόκων τύπου fac-[<sup>99m</sup>Tc(XYZ)(CO)<sub>3</sub>], όπου XYZ άτομα δότες όπως το άζωτο (N), το οξυγόνο (O), το θείο (S) και ο φώσφορος (P). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει ο υποκαταστάτης κυκλοπενταδιένιο (Εικόνα 4.3).<sup>113-118</sup> Οι τριδραστικοί υποκαταστάτες προσδένονται ισχυρά στο μεταλλικό πυρήνα σχηματίζοντας δύο ή/και τρείς χηλικούς δακτυλίους. Η χρήση των τριδραστικών υποκαταστατών φαίνεται να οδηγεί μεν σε ιδιαίτερα σταθερά σύμπλοκα, αλλά δεν προσφέρει τη μέγιστη ευελιξία ως προς της φυσικοχημικές ιδιότητες του συμπλόκου


**Εικόνα 4.3.** Δομές συμπλόκων τύπου fac-[<sup>99m</sup>Tc(XYZ)(CO)<sub>3</sub>] με διάφορα συστήματα ατόμων δοτών: i) NNO, ii) NNN, iii) NSN, iv) NOS, v) PNO και vi) Cp<sup>113-118</sup>

#### 4.4. Διδραστικοί και μονοδραστικοί υποκαταστάτες

Η λεγόμενη μικτή προσέγγιση [2 + 1] χρησιμοποιείται, τελευταία, εκτεταμένα στην οξειδωτική βαθμίδα Ι (πυρήνας *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>), κατά την οποία τα τρία ευκίνητα μόρια νερού του μορίου *fac*-[Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> αντικαθίστανται από δύο υποκαταστάτες. Στην περίπτωση αυτή, χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός μονοανιονικού διδραστικού και μονοδραστικού υποκαταστάτη (coligand) για την κατάληψη όλων των κενών θέσεων συναρμογής του μετάλλου. Τόσο ο μονοδραστικός όσο και ο διδραστικός υποκαταστάτης μπορεί να συνδεθεί με ένα βιομόριο. Ταυτόχρονα, ο έτερος υποκαταστάτης, μέσα από τροποποιήσεις, μπορεί να μεταβάλει τις φυσικοχημικές ιδιότητες. Στο Σχήμα 4.3 φαίνονται διάφοροι μονοδραστικοί υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται.



Σχήμα 4.3. Διάφοροι μονοδραστικοί υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται για τον σχηματισμό μικτών συμπλόκων με τον πυρήνα *fac*-[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>.

Οι διδραστικοί υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται, σχηματίζουν, όπως και οι τριδραστικοί, έναν χηλικό δακτύλιο, ο οποίος μπορεί να είναι είτε πενταμελής, είτε εξαμελής, είτε και τετραμελής. Στην Εικόνα 4.4 παρουσιάζονται σύμπλοκα που φέρουν διάφορους διδραστικούς υποκαταστάτες συνδεδεμένους με διαφορετικά συστήματα ατόμων δοτών.<sup>119-124</sup>





Η ανάπτυξη, συστημάτων, νέων διδραστικών και μονοδραστικών υποκαταστατών απασχολεί ευρέως την ερευνητική κοινότητα, καθώς υπάρχει αυξημένη ανάγκη για δημιουργία σταθερών συμπλόκων που θα λειτουργούν ως δομικοί λίθοι στην ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων. Η σύνδεση του φαρμακοφόρου μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε στον διδραστικό είτε στον μονοδραστικό υποκαταστάτη είτε και στους δύο. Παράλληλα με τροποποίηση του ετέρου υποκαταστάτη είναι δυνατή η αλλαγή στις φυσικοχημικές ιδιότητες. Αναλυτικότερα, περιγράφεται ο υποκαταστάτης (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη, καθώς θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία.

#### 4.4.1. (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH)

Η σύνθεση του ΡΟΗ υποκαταστάτη πραγματοποιείται με απομεθυλίωση του (2μεθοξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη με χρήση υδροβρωμικού οξέος 48 % ή υδροχλωρικού οξέος 57 % (Σχήμα 4.4).<sup>125</sup>



Σχήμα 4.4. Δομή της (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνης

Η τριφαινυλοφωσφίνη, μέσω του φωσφόρου, είναι πολύ καλός δότης ηλεκτρονίων ως προς τα μέταλλα μετάπτωσης. Το οξυγόνο, μέσω της αποπρωτονίωσης συνδέεται ισχυρά με το μέταλλο προσφέροντας το φορτίο του. Η σύμπλεξη αυτή οδηγεί στο σχηματισμό ενός πενταμελούς χηλικού δακτυλίου, γεγονός το οποίο σταθεροποιεί επιπλέον το σχηματισθέν σύμπλοκο. Στην Εικόνα 4.5 παρουσιάζονται σύμπλοκα του POH με παλλάδιο, ρήνιο και τεχνήτιο, τα οποία αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα που έχουν περιγραφεί έως τώρα στην βιβλιογραφία. Στην παρούσα εργασία, είναι η πρώτη φορά όπου το POH εξετάζεται ως υποκαταστάτης του ρηνίου και του τεχνητίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I).<sup>126-130</sup>



Εικόνα 4.5. Κρυσταλλογραφίες συμπλόκων που φέρουν τον διδραστικό υποκαταστάτη (2υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη με: i) παλλάδιο, ii) ρήνιο και iii) τεχνήτιο

#### 5. Νεότερες στρατηγικές σχεδιασμού ραδιοφαρμάκων

Αρχικά η ανάπτυξη των ραδιοφαρμάκων γινόταν εμπειρικά και στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν ενώσεις άγνωστης χημικής δομής. Σήμερα, η ανάπτυξη των νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων βασίζεται στον ορθολογικό σχεδιασμό του μορίου, ώστε να κατευθύνεται στο επιλεγόμενο όργανο-στόχο και να καθηλώνεται εκλεκτικά.

Η σύγχρονη έρευνα προσανατολίζεται στον σχεδιασμό νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων, τα οποία θα φέρουν κατάλληλες φαρμακοφόρες ομάδες και θα αλληλεπιδρούν σε κυτταρικό επίπεδο με το βιολογικό υπόστρωμα, ώστε να παρέχεται δυνατότητα απεικόνισης όχι μόνο της παθοφυσιολογίας, αλλά και της in vivo βιοχημείας των παθήσεων, με σκοπό πάντα την αποτελεσματικότερη διάγνωση και πρόγνωση διαφόρων ασθενειών, καθώς και τον σχεδιασμό εξατομικευμένων θεραπευτικών σχημάτων.

Η στρατηγική σχεδιασμού νέων ραδιοφαρμάκων <sup>99m</sup>Tc περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- 1) Επιλογή της κατάλληλης οξειδωτικής βαθμίδας του τεχνητίου.
- 2) Σταθεροποίηση του μετάλλου με κατάλληλους υποκατάστατες ώστε να σχηματιστεί σταθερό και βιολογικά αδρανές σύμπλοκο. Ο πυρήνας του μετάλλου μαζί με τον περιφερειακό υποκαταστάτη αποτελούν τον δομικό λίθο (building block). Ο δομικός λίθος του ραδιοφαρμάκου καθορίζει το φορτίο, τη σταθερότητα και τη χημική δομή της τελικής ένωσης.
- Σύζευξη ή εισαγωγή του δομικού λίθου σε βιολογικά δραστική ένωση ή σε φαρμακοφόρο ομάδα, ώστε το τελικό σύμπλοκο να διατηρεί την επιθυμητή βιολογική δράση.

Το τρίτο στάδιο του σχεδιασμού μπορεί να γίνει με δύο τρόπους<sup>31</sup> (Σχήμα 5.1):

#### A) Μέθοδος του Συζευγμένου Μορίου (Pendant Approach)

Η μέθοδος του Συζευγμένου Μορίου αναφέρεται σε ομοιοπολική πρόσδεση του συμπλόκου του ραδιομετάλλου σε κατάλληλη θέση της βιοδραστικής δομής ενδιαφέροντος και συνήθως όσο πιο μακριά γίνεται από την θέση αναγνώρισης του βιομορίου-στόχου, έτσι ώστε να επηρεάζεται λιγότερο η ικανότητα αλληλεπίδρασής του με αυτό. Η μέθοδος επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο μέγεθος, στον όγκο, στο φορτίο, στη λιποφιλικότητα και στη δομή της μητρικής ένωσης επηρεάζοντας ουσιαστικά τη φαρμακοκινητική και, εν τέλει, την ικανότητα στόχευσης του ραδιοφαρμάκου. Εκτός από την επιλογή της κατάλληλης θέσης πρόσδεσης του μεταλλικού συμπλόκου, ουσιαστικό ρόλο στην διαγνωστική ικανότητα του τελικού ραδιοφαρμάκου παίζουν η μεταβολική σταθερότητα καθώς και η πορεία απέκκρισης

από το σώμα και τους παρακείμενους ιστούς. Οι παράμετροι αυτοί μπορούν να ρυθμιστούν με την επιλογή του κατάλληλου διλειτουργικού υποκαταστάτη.

## B) Μέθοδος του Ενιαίου Μορίου (Integrated Approach)

Η μέθοδος του Ενιαίου Μορίου (Integrated Approach) αναφέρεται στην αντικατάσταση τμήματος μίας βιολογικά δραστικής ένωσης από τον δομικό λίθο, με κατάλληλο τρόπο. Η επιτυχία της μεθόδου διασφαλίζεται όταν οι αλλαγές στο μέγεθος, στην στερεοχημεία και στην βιοδραστικότητα που επιφέρουν οι τροποποιήσεις στην αρχική ένωση είναι ελάχιστες. Είναι επομένως κατάλληλη στις περιπτώσεις που η φύση ή/και η θέση του βιομορίου-στόχου δύσκολα «δέχεται» δομικές αλλαγές στην βιοδραστική ένωση που αλληλεπιδρά με αυτό.<sup>1</sup>



Σχήμα 5.1. Νεότερη στρατηγική σχεδιασμού σύνθεσης ραδιοφαρμάκων

#### 6. Σκοπός Εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εύρεση νέων σταθερών «δομικών λίθων», χρησιμοποιώντας την προσέγγιση [2 + 1], δηλαδή το συνδυασμό ενός διδραστικού και ενός μονοδραστικού υποκαταστάτη, προς τον σχηματισμό μικτών συμπλόκων ρηνίου και τεχνητίου-99m στην οξειδωτική βαθμίδα Ι. Βασικό πλεονέκτημα των μικτών συμπλόκων είναι ότι υπάρχει η δυνατότητα το φαρμακοφόρο να βρίσκεται τόσο στον διδραστικό, όσο και στον μονοδραστικό υποκαταστάτη.



Στα σύμπλοκα της εργασίας θα χρησιμοποιηθεί για πρώτη φορά η (2υδροξυφαινυλο)διφαίνυλο φωσφίνη (POH) ως διδραστικός υποκαταστάτης για τη συναρμογή του πυρήνα fac-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> και το σχηματισμό συμπλόκων γενικού τύπου fac-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)L<sup>1</sup>]. Ως μονοδραστικοί υποκαταστάτες L<sup>1</sup>, για την παρασκευή των τελικών μικτών συμπλόκων, θα χρησιμοποιηθούν η POH, η πυριδίνη (pyr), το ιμιδαζόλιο (im), το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) και το τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο (tbi).

Αρχικά, σε επίπεδο ρηνίου θα μελετηθεί η αντίδραση του πρόδρομου συμπλόκου  $(NEt_4)_2[Re(Br)_3(CO)_3]$  με τη POH για το σχηματισμό του αναμενόμενου *fac*- $[Re(CO)_3(PO)(H_2O)]$  και στη συνέχεια η αντικατάσταση του ευκίνητου μορίου H<sub>2</sub>O με τους μονοδραστικούς υποκαταστάτες.

Ακολούθως, σε επίπεδο τεχνητίου-99m θα παρασκευασθούν τα ανάλογα σύμπλοκα με χρήση του πρόδρομου μορίου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Η ταυτοποίηση των συμπλόκων θα πραγματοποιηθεί με συγκριτική χρωματογραφία HPLC με τα ανάλογα χαρακτηρισμένα σύμπλοκα ρηνίου. Σε όλα τα σύμπλοκα θα πραγματοποιηθούν μελέτες σταθερότητας και λιποφιλικότητας, ενώ σε ένα σύμπλοκο θα πραγματοποιηθούν επιπλέον πειράματα βιοκατανομών σε φυσιολογικά ποντίκια τύπου Swiss Albino στη 1, στις 4 και στις 24 ώρες καθώς και απεικόνιση σε γ-κάμερα. **II. ПЕІРАМАТІКО** 

#### 7. Υλικά και μέθοδοι

#### 7.1. Εργαστηριακός εξοπλισμός

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων γίνεται χρήση των παρακάτω οργάνων:

#### Φασματογράφος IR και NMR

Τα φάσματα IR λαμβάνονται σε φασματογράφο τύπου Nicolet 6700 FT-IR της εταιρείας <u>Thermo Scientific</u>.

Τα φάσματα <sup>1</sup>H και <sup>31</sup>P NMR λαμβάνονται από φασματόμετρο AMX-300 MHz της εταιρείας <u>Brucker</u>, από τον Δρ. F. Tisato από το «Istituto per l'Energetica e le Interfasi» στην Ιταλία. Τα φάσματα των συμπλόκων λαμβάνονται σε διάλυμα δευτεριωμένου CDCl<sub>3</sub> σε θερμοκρασία 25°C. Για τα φάσματα <sup>1</sup>H, οι χημικές μετατοπίσεις, σε ppm, υπολογίζονται με τη χρήση τετραμέθυλοσιλανίου (Me<sub>4</sub>Si), ως εσωτερικού προτύπου. Στα φάσματα <sup>31</sup>P NMR γίνεται χρήση 85% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, ως πρότυπο αναφοράς. Τα φάσματα <sup>31</sup>P συλλέγονται με αποδέσμευση <sup>1</sup>H.

## Γεννήτρια 99m Τc

Το Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> προέρχεται από τις γεννήτριες <sup>99</sup>Mo-<sup>99m</sup>Tc της εταιρείας <u>General Electric</u> <u>Healthcare Drytec</u> και από το Εργαστήριο Παραγωγής Ραδιονουκλιδίων του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος».

## Μετρητής Ραδιενέργειας

Η ραδιενέργεια των δειγμάτων μετράται με μετρητή ραδιονουκλιδίων (Isotope Calibrator) CRC-12 της εταιρείας <u>Capintec</u> και με μετρητή <u>Packard A550 Minaxi Auto</u> <u>Gamma 5000 Series</u>.

#### **HPLC**

Η πορεία όλων των αντιδράσεων σε επίπεδο ρηνίου και <sup>99m</sup>Tc ελέγχεται με σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Η HPLC που χρησιμοποιείται για την ανάλυση, την ταυτοποίηση και την απομόνωση των συμπλόκων του τεχνητίου-99m αποτελείται από:

Αντλία τύπου 600 <u>Waters</u>. Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιείται με κινητή φάση σύστημα διαλυτών, κλιμακωτά μεταβαλλόμενης σύστασης (gradient) (Πίνακας 7.1), όπου Α: μεθανόλη (<u>Sigma-Aldrich</u>)/0.1% τριφθοροξικό οξύ (TFA) (<u>Sigma</u>) και B: H<sub>2</sub>O/0.1% TFA. Στους διαλύτες πραγματοποιείται απαέρωση, με διαβίβαση ηλίου υψηλής καθαρότητας (<u>Air Liquid Hellas</u>).

- Σύστημα εισαγωγής δείγματος στη χρωματογραφική στήλη (injector UK6). Όλα τα διαλύματα διέρχονται αρχικά από στείρα φίλτρα διαμέτρου 0.22 μM της εταιρείας Milipore.
- Αναλυτική στήλη αντίστροφης φάσης EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-10 C18 της εταιρείας <u>MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG</u>.
- Ανιχνευτή UV, Dual Absorbance Detector τύπος 2487 της εταιρείας <u>Waters</u> με καταγραφή φασμάτων σε μήκος κύματος 254 nm.
- Ανιχνευτή ακτινοβολίας γ <u>GABI-Raytest</u> για την ανίχνευση των ραδιενεργών.

Μετά τη δίοδο από τη χρωματογραφική στήλη, οι ενώσεις που διαχωρίζονται διέρχονται από τις δύο ανιχνευτικές διατάξεις. Αρχικά από τον ανιχνευτή UV και ακολούθως εν σειρά από τον ανιχνευτή γ. Οι διατάξεις αυτές είναι συνδεδεμένες με υπολογιστή, με σκοπό τη συλλογή και την επεξεργασία των λαμβανόμενων πληροφοριών. Καταγράφονται έτσι ταυτόχρονα η μεταβολή της απορρόφησης στα 254 nm και ο ρυθμός μεταβολής των λαμβανόμενων κρούσεων του <sup>99m</sup>Tc.

Χρόνος t (min)	Poή (mL)	Διαλύτης Α %	Διαλύτης Β %
0	1.00	50	50
3	1.00	50	50
35	1.00	80	20
45	1.00	80	20
50	1.00	95	5

Πίνακας 7.1. Gradient χρωματογραφικής ανάλυσης HPLC.

## Αναμίκτης

Η ανάμιξη των διαλυμάτων πραγματοποιείται με συσκευή Vortex.

## Φυγόκεντρος

Η φυγοκέντρηση των διαλυμάτων πραγματοποιείται σε φυγόκεντρο <u>Beckman Coulter</u> <u>J2-MC High Speed Centrifuge</u> για 10 λεπτά στις 5000 στροφές.

## Rotary Evaporator System

Η εξάτμιση των διαλυτών μέχρι ξηρού πραγματοποιείται υπό κενό με χρήση Rotary Evaporator System της εταιρείας <u>BUCHI</u>.

#### Αναισθητικό

Ως αναισθητικό χρησιμοποιείται μίγμα υδροχλωρικής ξυλαζίνης [20 mg/mL <u>Bayer</u>] και υδροχλωρικής κεταμίνης [100 mg/mL <u>Merial</u>] σε αναλογία 1:10 v/v.

#### **SPECT camera**

Η σπινθηρογραφική απεικόνιση των μυών πραγματοποιείται σε πειραματική γ-κάμερα μικρού πεδίου. Οι διαστάσεις του πεδίου είναι έτσι σχεδιασμένες ώστε να επιτρέπουν την ολόσωμη απεικόνιση ενός ποντικού.

## Πειραματόζωα

Τα πειραματόζωα προστατεύονται από το <u>Προεδρικό Διάταγμα 56/2013</u> που εναρμονίζει την εθνική μας νομοθεσία με την κοινοτική οδηγία <u>2010/63</u> και τον <u>νόμο 2015/2001</u>, ο οποίος ενσωματώνει στο εθνικό δίκαιο την Σύμβαση του Συμβουλίου της Ευρώπης για τα σπονδυλωτά ζώα που χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς.

Τα πειραματόζωα, που χρησιμοποιούνται τόσο για τις μελέτες βιοκατανομής, όσο και για την απεικόνιση του συμπλόκου <sup>99m</sup>Tc, είναι λευκοί θηλυκοί Swiss Albino μύες, ηλικίας τριών περίπου μηνών και μέσου βάρους 18-30 g. Η προμήθεια τους και ο εσταβλισμός τους γίνεται στο εκτροφείο πειραματόζωων του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος» σύμφωνα με τις προδιαγραφές της ορθής εργαστηριακής πρακτικής για χρήση πειραματόζωων.

#### Ρυθμιστικό διάλυμα PBS

Προστίθενται 3.1 g από NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O και 10.9 g από Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (άνυδρο) σε 1 L απιονισμένο νερό. Το pH του διαλύματος ισούται με 7.4. Το ρυθμιστικό διάλυμα διατηρείται έως 1 μήνα σε θερμοκρασία 4°C [Cold Spring Harbor Protocols].

## 7.2. Παρασκευή συμπλόκων Re

## 7.2.1. Παρασκευή [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
Δεκακαρβόνυλο διρρήνιο ( <u>Acros</u> )	Πρώτη ύλη	1.78 g	2.72 mmol
Βρώμιο ( <u>Merck</u> )	Αντιδραστήριο	0.48 g	3 mmol
Βρωμιούχο τετρααιθυλαμμώνιο ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	1.69 g	8.05 mmol
Διγλύμη ( <u>Alfa Aesar</u> )	Διαλύτης	300 mL	~
Εξάνιο ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	60 mL	~
Αζωτο ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αέριο	~	~

Η σύνθεση του συμπλόκου [Et4N]2[ReBr3(CO)3] πραγματοποιείται σε δύο στάδια:

Στάδιο 1°: Παρασκευή της ένωσης [ReBr(CO)5]

Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL φέρονται 60 mL εξανίου σε ατμόσφαιρα αζώτου, 1.78 g [Re<sub>2</sub>(CO)<sub>10</sub>] και 0.48 g Br<sub>2</sub>. Το διάλυμα αναδεύεται για 30 min μέχρις αποχρωματισμού. Το

σχηματιζόμενο λευκό ίζημα διηθείται και λαμβάνονται 2.08 g προϊόντος (απόδοση 94%). Το προϊόν χρησιμοποιείται χωρίς περαιτέρω επεξεργασία στο δεύτερο στάδιο.<sup>105</sup>

## Στάδιο 2°: Παρασκευή της ένωσης [Et4N]2[ReBr3(CO)3]

Σε εσμυρισμένη τρίλαιμη σφαιρική φιάλη, εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα, φέρονται 300 mL διγλύμης και διαβιβάζεται άζωτο για 10 min. Προστίθεται Et4NBr (1.69 g) και το διάλυμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο στους 80°C. Προστίθεται αργά εναιώρημα ReBr(CO)<sub>5</sub> (1.5 g) σε θερμή διγλύμη. Το μίγμα θερμαίνεται στους 115°C για 4 ώρες. Σχηματίζεται λευκό ίζημα το οποίο διηθείται εν θερμώ. Το ίζημα εκπλένεται με διγλύμη, διαιθυλαιθέρα 5 mL και 10 mL ψυχρής αιθανόλης για την απομάκρυνση του βρωμιούχου τετρααιθυλαμμωνίου και αφήνεται να ξηραθεί υπό κενό. Λαμβάνονται 2.2 g [Et4N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] (απόδοση 78%). Το σύμπλοκο ταυτοποιείται με <u>IR</u>: 1998 και 1883 cm<sup>-1</sup>.<sup>105</sup>

## 7.2.2. Парабкеи *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], 1



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
[Et <sub>4</sub> N] <sub>2</sub> [ReBr <sub>3</sub> (CO) <sub>3</sub> ] [ <u>7.2.1</u> ]	Πρώτη ύλη	231 mg	0.3 mmol
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	83 mg	0.3 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	~

Σε κωνική φιάλη διαλύονται 83 mg POH σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται πρόδρομο σύμπλοκο [Net4]2[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] (231 mg) διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης. Ακολουθεί ανάδευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 30 min. Παρατηρείται υποκίτρινη χροιά του διαλύματος. Στη συνέχεια εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό και λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο και λαμβάνονται 165 mg του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], 1 (απόδοση 97%). Με αργή εξάτμιση από διάλυμα διχλωρομεθανίου/εξανίου λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

<u>**RP-HPLC</u></u>: t<sub>R</sub>: 26.9 min. <u><b>IR**</u> (cm<sup>-1</sup>): 2022, 1933, 1880, 742, 690. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub>PRe: υπολογισθέν C: 44.36%, H: 3.37%, ευρεθέν C: 44.17%, H: 3.05%. <u><sup>31</sup>P NMR</u> (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 30 (1 P).</u>

## 7.2.3. Παρασκευή fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], 2



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
<i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)] [ <u>7.2.2]</u>	Πρώτη ύλη	28 mg	0.05 mmol
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	14 mg	0.05 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	~

Σε κωνική φιάλη διαλύονται 28 mg fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)] σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται POH (14 mg) διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης. Ακολουθεί ανάδευση στους 60 °C για 1 ώρα. Παρατηρείται υποκίτρινη χροιά του διαλύματος. Στη συνέχεια εξατμίζεται ο διαλύτης υπό κενό και λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο και λαμβάνονται 38 mg του συμπλόκου fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], 2 (απόδοση 95%). Με εξάτμιση από διάλυμα αργή διχλωρομεθανίου/εξανίου λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία. <u>RP-HPLC</u>: t<sub>R</sub>: 41.5 min. <u>IR</u> (cm<sup>-1</sup>): 2024, 1941, 1892, 736, 691. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>39</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>P<sub>2</sub>Re: υπολογισθέν C: 56.52%, H: 3.89%, ευρεθέν C: 55.95%, H: 3.76%. <sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 28 (1 P), 11 (1 P).

## 7.2.4. Парабкеи *fac*-[Re(CO)3(PO)(pyr)], 3



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
<i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)] [ <u>7.2.2</u> ]	Πρώτη ύλη	28 mg	0.05 mmol
Πυριδίνη (pyr) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	4.2 mg	0.05 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	2

Σε εσμυρισμένη κωνική φιάλη διαλύονται 28 mg fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)] σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται pyr (4.2 mg) διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης. Προσαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας και ακολουθεί ανάδευση για 2 ώρες υπό βρασμό. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό και λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο και λαμβάνονται 30 mg του συμπλόκου fac-[**Re**(**CO**)<sub>3</sub>(**PO**)(**pyr**)], 3 (απόδοση 96%). Mε αργή εξάτμιση από διάλυμα διχλωρομεθανίου/πετρελαϊκού αιθέρα λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

<u>**RP-HPLC</u></u>: t<sub>R</sub>: 25.3 min. <u><b>IR**</u> (cm<sup>-1</sup>): 2024, 1938, 1860, 740, 691. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub>PRe: υπολογισθέν C: 49.60%, H: 3.52%, N: 2.22% ευρεθέν C: 50.55%, H: 3.67%, N: 2.02%. <u><sup>31</sup>P NMR</u> (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 36 (1 P).</u>

## 7.2.5. Парабкеи *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], 4



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
<i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)] [7.2.2]	Πρώτη ύλη	28 mg	0.05 mmol
Ιμιδαζόλιο (im) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	3.6 mg	0.05 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	2

Σε κωνική φιάλη των 50 mL διαλύονται 28 mg *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)] σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται im (3.6 mg) διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης. Προσαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας και ακολουθεί ανάδευση για 2 ώρες υπό βρασμό. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό και λαμβάνεται υποκίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο, πετρελαϊκό αιθέρα και λαμβάνονται 29 mg του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], 4 (απόδοση 95%). Με αργή εξάτμιση από διάλυμα διχλωρομεθανίου/πετρελαϊκού αιθέρα λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

<u>**RP-HPLC</u></u>: t<sub>R</sub>: 21.6 min. <u><b>IR**</u> (cm<sup>-1</sup>): 2012, 1916, 1864, 749, 692. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>PRe: υπολογισθέν C: 46.60%, H: 3.42%, N: 4.53% ευρεθέν C: 43.50%, H: 3.25%, N: 4.12%. <u><sup>31</sup>P NMR</u> (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 34 (1 P).</u>

#### 7.2.6. Παρασκευή fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], 5



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
fac-[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)] [7.2.2]	Πρώτη ύλη	28 mg	0.05 mmol
κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) ( <u>Acros</u> )	Αντιδραστήριο	5.8 mg	0.05 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	2

Σε κωνική φιάλη των 50 mL διαλύονται 28 mg *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)] σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται cisc (5.8 mg) διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης και το μίγμα αναδεύεται για 2 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό <u>κενό</u> και λαμβάνεται κίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο και λαμβάνονται 30 mg του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], 5 (απόδοση 92%). Με αργή εξάτμιση από διάλυμα διχλωρομεθανίου/εξάνιο λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

<u>**RP-HPLC</u></u>: t<sub>R</sub>: 26.8 min. <u><b>IR**</u> (cm<sup>-1</sup>): 2190, 2012, 1916, 1864, 749, 692. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>4</sub>PRe: υπολογισθέν C: 50.98%, H: 4.28%, N: 2.12% ευρεθέν C: 48.85%, H: 4.12%, N: 2.30%. <u><sup>31</sup>P NMR</u> (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 26 (1 P).</u>

#### 7.2.7. Парабкеи *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], 6



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα	Γραμμομόρια
<i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)] [ <u>7.2.2</u> ]	Πρώτη ύλη	28 mg	0.05 mmol
τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο (tbi) ( <u>Alfa Aesar</u> )	Αντιδραστήριο	453 mg	0.05 mmol
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	10 mL	~

Σε κωνική φιάλη των 50 mL διαλύονται 28 mg *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)] σε 5 mL μεθανόλης. Στη συνέχεια προστίθεται tbi (5.3 mg), διαλυμένο σε 5 mL μεθανόλης και το μίγμα αναδεύεται για 2 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη υπό κενό και λαμβάνεται κίτρινο στερεό. Ακολουθεί ανακρυστάλλωση από διχλωρομεθάνιο/ εξάνιο και λαμβάνονται 29 mg του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], 6 (απόδοση 93%). Με αργή εξάτμιση από διάλυμα διχλωρομεθανίου/εξάνιο λαμβάνονται κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

<u>**RP-HPLC</u></u>: t<sub>R</sub>: 26.2 min. <u><b>IR**</u> (cm<sup>-1</sup>): 2191, 2015, 1946, 1910, 746, 695. <u>Στοιχειακή ανάλυση</u> για C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>4</sub>PRe: υπολογισθέν C: 49.28%, H: 4.14%, N: 2.21% ευρεθέν C: 48.10%, H: 4.25%, N: 2.05%. <u><sup>31</sup>P NMR</u> (CDCl<sub>3</sub>, ppm): 27 (1 P).</u>

#### 7.3. Παρασκευή συμπλόκων 99mTc

#### 7.3.1. Παρασκευή fac-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
Na <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub>	Πρώτη ύλη	1 mL (10 mCi)
Τρυγικό κάλιο-νάτριο ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	20 mg
Νάτριο Βοροϋδρίδιο ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	5.5 mg
Μονοξείδιο του άνθρακα (CO) ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αντιδραστήριο	~
Ανθρακικό νάτριο ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	4 mg

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 4 mg ανθρακικού νατρίου, 20 mg τρυγικό κάλιονάτριο και 5.5 mg NaBH4. Το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται με κυάθιο αλουμινίου και στη συνέχεια διαβιβάζεται ρεύμα μονοξειδίου του άνθρακα για 20 λεπτά. Ακολουθεί η προσθήκη 1 mL διαλύματος Na<sup>99m</sup>TcO4. Το φιαλίδιο θερμαίνεται στη συνέχεια για 30 λεπτά στους 85°C. Επαναφορά του φιαλιδίου σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ρύθμιση του pH στο 7 με την προσθήκη διαλύματος 1M HCl.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 4.5 min με απόδοση >95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC**</u> είναι πάνω 95%.<sup>109</sup></u>

## 7.3.2. Παρασκευή *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], 1'



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> [7.3.1]	Πρώτη ύλη	750 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-5</sup> M
Άζωτο ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αέριο	~
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα **POH** (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-5}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 750 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH είναι  $10^{-5}$  M. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο N<sub>2</sub> για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει δύο κορυφές: μια στα 28.1 min και μια στα 42.0 min, με αναλογία 50:50. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC</u>** είναι πάνω 90%.</u></u>

## 7.3.3. Парабкеи *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)3(PO)(POH)], 2'



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
$fac-[^{99m}Tc(CO)_3(H_2O)_3]^+$ [7.3.1]	Πρώτη ύλη	750 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-4</sup> M
Άζωτο (Air Liquid Hellas)	Αέριο	~
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα POH (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-4}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 750 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH είναι 10<sup>-4</sup> M.. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 42.0 min με απόδοση πάνω από 95%.Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC**</u> είναι πάνω 90%.</u>

## 7.3.4. Парабкеи́ *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], 3′



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> [ <u>7.3.1]</u>	Πρώτη ύλη	500 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-4</sup> M
Πυριδίνη (pyr) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	100 μL 10 <sup>-2</sup> Μ
Άζωτο ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αέριο	~
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα POH (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-5}$  M και μεθανολικό διάλυμα pyr (100 μL)  $10^{-2}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 650 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac-*[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH και της pyr είναι  $10^{-4}$  M και  $10^{-3}$  M αντίστοιχα. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 30 min στους 70°C.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 35.0 min με απόδοση πάνω από 95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC</u>** είναι πάνω 90%.</u></u>

## 7.3.5. Παρασκευή *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], 4'



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
$fac-[^{99m}Tc(CO)_3(H_2O)_3]^+$ [7.3.1]	Πρώτη ύλη	650 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-4</sup> M
Ιμιδαζόλιο (im) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	100 μL 10 <sup>-2</sup> M
Άζωτο ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αέριο	~
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα POH (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-5}$  M και μεθανολικό διάλυμα im (100 μL)  $10^{-2}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 650 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac-*[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH και του im είναι  $10^{-4}$  M και  $10^{-3}$  M αντίστοιχα. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 30 min στους 70°C.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 30.0 min με απόδοση πάνω από 95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC</u></u> είναι πάνω 90%.</u>**</u>

## 7.3.6. Παρασκευή *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], 5'



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> [ <u>7.3.1]</u>	Πρώτη ύλη	650 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-4</sup> M
Κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) ( <u>Acros</u> )	Αντιδραστήριο	100 μL 10 <sup>-2</sup> Μ
Άζωτο ( <u>Air Liquid Hellas</u> )	Αέριο	~
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα POH (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-5}$  M και μεθανολικό διάλυμα cisc (100 μL)  $10^{-2}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 650 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac-*[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH και του cisc είναι  $10^{-4}$  M και  $10^{-3}$  M αντίστοιχα. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 30 min στους 70°C.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 39.6 min με απόδοση πάνω από 95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC</u>** είναι πάνω 90%.</u></u>

## 7.3.7. Παρασκευή *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], 6'



Υλικά	Περιγραφή	Ποσότητα
$fac-[^{99m}Tc(CO)_3(H_2O)_3]^+[\underline{7.3.1}]$	Πρώτη ύλη	650 μL
(2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) ( <u>Sigma</u> )	Αντιδραστήριο	250 μL 4·10 <sup>-4</sup> M
τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο (tbi) ( <u>Alfa aesar</u> )	Αντιδραστήριο	100 μL 10 <sup>-2</sup> M
Άζωτο (Air Liquid Hellas)	Αέριο	7
Μεθανόλη ( <u>Sigma</u> )	Διαλύτης	~

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρεται μεθανολικό διάλυμα POH (250 μL) συγκέντρωσης  $4 \cdot 10^{-5}$  M και μεθανολικό διάλυμα tbi (100 μL)  $10^{-2}$  M. Στη συνέχεια προστίθενται 650 μL υδατικού διαλύματος πρόδρομου συμπλόκου *fac-*[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1 mL. Η τελική συγκέντρωση του POH και του tbi είναι  $10^{-4}$  M και  $10^{-3}$  M αντίστοιχα. Ακολούθως, το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται και διαβιβάζεται άζωτο για 2 λεπτά. Το διάλυμα αφήνεται για 30 min στους 70°C.

Η ανάλυση με <u>**RP-HPLC</u></u> δείχνει μια κορυφή στα 38.0 min με απόδοση πάνω από 95%. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u><b>RP-HPLC</u>** είναι πάνω 90%.</u></u>

## 7.4. Μελέτες σταθερότητας συμπλόκων 99mTc

Το μίγμα των αντιδράσεων των συμπλόκων **1**' έως **6**' ενίονται στην <u>RP-HPLC</u> (1 mCi) και συλλέγεται το αντίστοιχο σύμπλοκο (κύρια κορυφή του χρωματογραφήματος). Τα απομονωμένα σύμπλοκα **1'-6'**, μελετώνται ως προς τη σταθερότητα τους σε θερμοκρασία δωματίου και παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης.

#### 7.4.1. Σταθερότητα σε απομονωμένα σύμπλοκα

Το κάθε απομονωμένο σύμπλοκο φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου έως 6 ώρες. Σε χρονικά διαστήματα 1, 3 και 6 ώρες λαμβάνονται δείγματα, τα οποία αναλύονται με <u>RP-</u><u>HPLC</u>.

### 7.4.2. Σταθερότητα παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης

Παρασκευάζονται διαλύματα (σε φυσιολογικό ορό 0.9% NaCl) ιστιδίνης 10<sup>-2</sup> M και κυστεΐνης 10<sup>-2</sup> M. Σε 100 μL, από το κάθε διάλυμα, γίνεται προσθήκη του εκάστοτε απομονωμένου συμπλόκου (900 μL, 200 μCi) και τα διαλύματα επωάζονται στους 36°C έως 6 ώρες. Η τελική συγκέντρωση του ανταγωνιστή (ιστιδίνης ή κυστεΐνης) είναι 10<sup>-3</sup> M. Σε χρονικά διαστήματα 1, 3 και 6 ώρες λαμβάνονται δείγματα, τα οποία αναλύονται με <u>RP-HPLC</u>.<sup>131</sup>

## 7.5. Μελέτες λιποφιλικότητας των συμπλόκων <sup>99m</sup>Tc

Το μίγμα των αντιδράσεων των συμπλόκων **1**' έως **6**' ενίονται στην <u>RP-HPLC</u> (1 mCi) και συλλέγεται το αντίστοιχο σύμπλοκο (κύρια κορυφή του χρωματογραφήματος). Σε σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 1.5 mL κανονικής οκτανόλης (<u>Sigma</u>) και 1.5 mL διαλύματος φωσφορικών αλάτων (<u>PBS</u>: <u>Phosphate Buffer Solution</u>). Σε αυτά προστίθενται 40 μL του εκάστοτε απομονωμένου συμπλόκου. Ο σωλήνας της φυγοκέντρου τοποθετείται στο <u>vortex</u> και ακολουθεί <u>φυγοκέντρηση</u>. Μετά τη φυγοκέντρηση, από το σχηματισθέν διφασικό σύστημα n-οκτανόλης/PBS, φέρονται από 100 μL n-οκτανόλης σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες και 100 μL PBS σε 3 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες, οι οποίοι μετρούνται στο <u>μετρητή γ-</u> <u>ακτινοβολίας</u>. Ακολουθεί επανάληψη του πειράματος άλλες τρεις φορές, με την διαφορά ότι στο σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 0.5 mL από την φάση της οκτανόλης που προέρχεται από το προηγούμενο πείραμα (περιέχει, δηλαδή, ποσοστό του απομονωμένου συμπλόκου), 1.5 mL PBS και 1 mL n-οκτανόλης. Η λιποφιλικότητα δίνεται από το logP, όπου το P υπολογίζεται από τη σχέση του Σχήματος 7.5.1.<sup>132</sup>

P = <u>Κρούσεις ανά mL κανονικής οκτανόλης</u> Κρούσεις ανά mL υδατικού διαλύματος PBS

Σχήμα 7.5.1. Σχέση υπολογισμού λιποφιλικότητας Ρ

#### 7.6. Μελέτες βιοκατανομής σε πειραματόζωα του συμπλόκου 2'

Η μελέτη πραγματοποιείται σε χρόνους 1, 4 και 24 ώρες, μετά από ενέσιμη χορήγηση (p.i.). Για κάθε χρόνο χρησιμοποιούνται 4 πειραματόζωα.

Το μίγμα της αντίδρασης του συμπλόκου **2**΄ ενίεται στην <u>RP-HPLC</u> (1 mCi) και συλλέγεται το αντίστοιχο σύμπλοκο (κύρια κορυφή του χρωματογραφήματος). Ακολουθεί αραίωση με φυσιολογικό ορό με τελική αναλογία 5 μCi στα 100 μL.

Αρχικά παρασκευάζεται το πρότυπο διάλυμα αναφοράς. Όγκος 1.0 mL του προς χορήγηση διαλύματος συμπλόκου αραιώνεται σε τελικό όγκο 100 mL με φυσιολογικό ορό. Το διάλυμα διανέμεται σε σωλήνες ανά 1.0 mL ώστε, τελικά, η ραδιενέργειά τους να αντιστοιχεί στο 10% της θεωρητικά χορηγούμενης στο πειραματόζωο δόσης ακτινοβολίας.

Η χορήγηση του διαλύματος του, προς μελέτη, συμπλόκου γίνεται με ένεση στη φλέβα της ουράς κάθε πειραματόζωου (100 μL, 2 μCi). Ταυτόχρονα, σημειώνεται ο χρόνος της ένεσης. Κατόπιν, το πειραματόζωο τοποθετείται σε ειδικό θάλαμο συλλογής των απεκκρινόμενων ούρων. Πριν την πάροδο του καθορισμένου χρονικού διαστήματος για κάθε ζώο, το πειραματόζωο αναισθητοποιείται σε θάλαμο κορεσμένο με ατμούς αιθέρα και με τη συμπλήρωση του καθορισμένου χρόνου, θυσιάζεται με καρδιεκτομή. Λαμβάνονται δείγματα αίματος, τα οποία τοποθετούνται σε προζυγισμένους σωλήνες, ζυγίζεται και καταγράφεται το βάρος του ζώου. Στη συνέχεια, συγκεντρώνονται τα προς μελέτη όργανα και δείγματα ιστών, τα οποία είναι: ο εγκέφαλος, το ήπαρ, η καρδιά, το στομάχι, οι νεφροί, ο σπλήνας, οι πνεύμονες, τα έντερα καθώς και δείγματα από μυς. Τα δείγματα τοποθετούνται σε προζυγισμένα χαρτιά ζυγίσεως, ζυγίζονται και καταγράφονται. Τέλος, τοποθετούνται σε αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες. Τα μεγαλύτερα όργανα (ήπαρ, έντερα) μοιράζονται σε περισσότερους σωλήνες, ώστε να αποφευχθούν σφάλματα μετρήσεων οφειλόμενα στη γεωμετρία των δειγμάτων. Τα απεκκρινόμενα ούρα του ζώου, που έχουν συλλεχθεί, καθώς και η ουρά του τοποθετούνται σε αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες χωρίς ζύγιση. Στη συνέχεια, τα δείγματα ανά ζώο μαζί με δοκιμαστικούς σωλήνες από το διάλυμα αναφοράς τοποθετούνται σε μετρητή ακτινοβολίας γ πολλαπλών δειγμάτων, όπου μετράται και καταγράφεται ο αριθμός των κρούσεων του κάθε δείγματος. 132

#### Υπολογισμοί

Από τις κρούσεις του διαλύματος αναφοράς ανά πειραματόζωο (10% της χορηγούμενης δόσης ακτινοβολίας) αφαιρούνται οι κρούσεις της ουράς και υπολογίζεται η συγκέντρωση της ραδιενέργειας ανά όργανο και ανά γραμμάριο βάρους για κάθε πειραματόζωο.

% ID/g =  $\frac{100 \text{ x (cpm / min δείγματος οργάνου)}}{(cpm / min διάλυμα αναφοράς x 10 - cpm / min ουράς) x (βάρος δείγματος g)}$ 

#### 7.7. Απεικόνιση πειραματόζωων με SPECT κάμερα

Πραγματοποιούνται στατικές απεικονίσεις του ποντικού στα 5 min και 60 min μετά από ενέσιμη χορήγηση (p.i.), καθώς και δυναμική απεικόνιση διάρκειας 60 min.

Το μίγμα της αντίδρασης του συμπλόκου **2**΄ ενίεται στην <u>RP-HPLC</u> (1 mCi) και συλλέγεται το αντίστοιχο σύμπλοκο (κύρια κορυφή του χρωματογραφήματος). Ακολουθεί αραίωση με φυσιολογικό ορό με τελική αναλογία 40 μCi στα 100 μL.

Η χορήγηση του διαλύματος του συμπλόκου 2΄ γίνεται με ένεση στη φλέβα της ουράς του πειραματόζωου (100 μL, 40 μCi). Κατόπιν, το πειραματόζωο αναισθητοποιείται με 200 μL αναισθητικού (ketamine/xylazine) (ενδοπεριτοναϊκά) και τοποθετείται στην γ-κάμερα. Το πειραματόζωο παραμένει αναισθητοποιημένο για χρονικό διάστημα 1 h, όπου και συλλέγονται δεδομένα.<sup>134</sup>

ΙΙΙ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

## 8. Παρασκευή, ταυτοποίηση και αξιολόγηση συμπλόκων Re και 99mTc

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία συντέθηκαν έξι ουδέτερα τρικαρβόνυλο σύμπλοκα του ρηνίου, με διδραστικό υποκαταστάτη την (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη (POH) και ως μονοδραστικούς την POH, την πυριδίνη (pyr), το ιμιδαζόλιο (im), το τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) και το (tbi). Η (2 υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη μπορεί να λειτουργήσει είτε ως διδραστικός είτε ως μονοδραστικός υποκαταστάτης. Τα σύμπλοκα ταυτοποιήθηκαν με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπικές μεθόδους, ενώ η δομή τους επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν τα σύμπλοκα σε επίπεδο <sup>99m</sup>Tc, ταυτοποιήθηκαν με συγκριτική HPLC και εξετάστηκαν ως προς την σταθερότητα και την λιποφιλικότητα. Στο  $fac-[^{99m}Tc(CO)_3(PO)(POH)], 2', πραγματοποιήθηκαν επιπλέον$ σύμπλοκο μελέτες βιοκατανομής και απεικόνισης σε πειραματόζωα.

#### 8.1. Παρασκευή συμπλόκων Re

Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του πρόδρομου μορίου [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. Στην ένωση αυτή, τα τρία άτομα βρωμίου είναι ιδιαιτέρως ευκίνητα λόγω της ισχυρής επίδρασης trans των καρβονυλίων και αντικαθίστανται εύκολα από κατάλληλο υποκαταστάτη. Η σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] έγινε σε δύο στάδια (Σχήμα 8.1.1). Στο πρώτο στάδιο συντέθηκε με υψηλή απόδοση η ένωση [ReBr(CO)<sub>5</sub>] και στη συνέχεια συντέθηκε η πρόδρομη ένωση [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] ως λευκό στερεό επίσης σε υψηλή απόδοση. Ο χαρακτηρισμός έγινε με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) και τα αποτελέσματα ήταν σύμφωνα με την βιβλιογραφία.

$$[\operatorname{Re}_{2}(\operatorname{CO})_{10}] \xrightarrow[\operatorname{Hexane/N_{2}}]{\operatorname{Hexane/N_{2}}} [\operatorname{ReBr}(\operatorname{CO})_{5}] \xrightarrow{[\operatorname{Et}_{4}\operatorname{N}]\operatorname{Br}}_{\operatorname{diglyme}} [\operatorname{Et}_{4}\operatorname{N}]_{2}[\operatorname{ReBr}_{3}(\operatorname{CO})_{3}]$$

**Σχήμα 8.1.1.** Αντίδραση παρασκευής [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]

Στη συνέχεια παρασκευάστηκε το σύμπλοκο fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], 1 με ισομοριακή αντίδραση του υποκαταστάτη POH με την πρόδρομη ένωση [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. Το σύμπλοκο προκύπτει με τη συναρμογή στο μέταλλο του φωσφόρου και του οξυγόνου. Κατά

την συναρμογή σχηματίζεται ένας πενταμελής δακτύλιος με αποπρωτονίωση του οξυγόνου, το οποίο οδηγεί σε σχηματισμό ουδέτερου συμπλόκου. Ο POH υποκαταστάτης και γενικότερα το σύστημα ατόμων PO (όπου P: φωσφόρος φωσφίνης και Ο: οξυγόνο υδροξυλίου) χρησιμοποιείται για πρώτη φορά στην οξειδωτική βαθμίδα (Ι) του ρηνίου και του τεχνητίου.



Σχήμα 8.1.2. Αντίδραση παρασκευής fac-[Re(CO)3(PO)(H2O)], 1

Στο σύμπλοκο **1** γίνεται προσθήκη ισομοριακής ποσότητας μονοδραστικού υποκαταστάτη X (POH, pyr, im, cisc, tbi) και παρασκευάζονται τα σύμπλοκα **2** έως **6**. Οι υποκαταστάτες αντικαθιστούν το ευκίνητο μόριο νερού και συμπλέκονται με το ρήνιο.

Ο ΡΟΗ υποκαταστάτης, μέσω του φωσφόρου, δρα και ως μονοδραστικός, καθώς αποτελεί ιδιαίτερα καλό άτομο-δότης ηλεκτρονίων. Επιπλέον, με κατάλληλη διαδικασία τροποποίησης του ΡΟΗ μπορεί να ενσωματωθεί τμήμα φαρμακοφόρου για ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων.<sup>122, 135</sup>



Σχήμα 6.1.3. Αντίδραση παρασκευής fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], 2

Η πυριδίνη και το ιμιδαζόλιο είναι ευρέως χρησιμοποιούμενοι μονοδραστικοί υποκαταστάτες, καθώς το αρωματικό άζωτο που διαθέτει sp<sup>2</sup> ηλεκτρόνια σε συνδυασμό με το μικρό τους μέγεθος τα καθιστά κατάλληλα για συναρμογή με το μεταλλικό πυρήνα. Επιπλέον,

οργανικές ετεροκυκλικές ενώσεις που περιέχουν άτομα αζώτου απαντώνται συχνά σε ενώσεις βιολογικής προέλευσης όπως τα νουκλεϊκά οξέα (αδενίνη), τα αλκαλοειδή (νικοτίνη) κ.α. γεγονός που ευνοεί την περαιτέρω σύνδεση του μετάλλου με κάποια φαρμακοφόρο ομάδα.



fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], 3

fac-[Re(CO)3(PO)(im)], 4

# Σχήμα 8.1.4. Αντιδράσεις παρασκευής *fac*-[Re(CO)3(PO)(pyr)], 3 και *fac*-[Re(CO)3(PO)(im)], 4

Το cisc και το tbi, ανήκουν στην κατηγορία των ισοκυανιδίων και χαρακτηρίζονται ως πολύ καλοί μονοδραστικοί υποκαταστάτες, δεδομένου ότι είναι καλοί π-δέκτες ηλεκτρονίων (π-acceptor) και εμφανίζουν ισχυρά το φαινόμενο της π-οπισθοσύνδεσης.



fac-[Re(CO)3(PO)(cisc)], 5

fac-[Re(CO)3(PO)(tbi)], 6

## Σχήμα 8.1.5. Αντιδράσεις παρασκευής fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], 5 και fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], 6

#### 8.2. Ταυτοποίηση συμπλόκων Re

Η ανάλυση των διαλυμάτων της αντίδρασης παρασκευής των συμπλόκων **1** έως **6** με RP-HPLC έδειξε, σε κάθε περίπτωση, μια μοναδική νέα κορυφή. Οι χρόνοι κατακράτησης ( $t_R$ ) φαίνονται στο Πίνακα 8.2.1.

Σύμπλοκο	t <sub>R</sub> (min)	
fac-[Re(CO)3(PO)(H2O)], 1	26.9	
<i>fac</i> -[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(POH)], 2	41.5	
fac-[Re(CO) <sub>3</sub> (PO)(py)], 3	34.4	
fac-[Re(CO)3(PO)(im)], 4	29.3	
fac-[Re(CO)3(PO)(cisc)], 5	38.4	
fac-[Re(CO)3(PO)(tbi)], 6	37.2	

Πίνακα 8.2.1. Χρόνοι κατακράτησης συμπλόκων 1 έως 6.

Κατά τη στοιχειακή ανάλυση των συμπλόκων 1 έως 6 τα ποσοστά του άνθρακα, του υδρογόνου και του αζώτου (για τα σύμπλοκα 3 έως 6) βρίσκονταν σε συμφωνία με τις υπολογισθείσες τιμές.

Η φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) των συμπλόκων **1** έως **6** παρουσιάζει τις χαρακτηριστικές κορυφές στην περιοχή 2025 έως 1850 cm<sup>-1</sup>, οι οποίες αποδίδονται στους δεσμούς άνθρακα-οξυγόνου των τριών *fac* καρβονυλίων του ρηνίου.<sup>124</sup> Οι κορυφές αυτές, βρίσκονται σε συμφωνία με τις απορροφήσεις που εμφανίζονται σε ανάλογα σύμπλοκα του ρηνίου που φέρουν τον πυρήνα *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Οι κορυφές στα 740 και 690 cm<sup>-1</sup> των συμπλόκων **1** έως **6**, αποδίδονται στους βενζολικούς δακτυλίους του POH. Τέλος, οι κορυφές στην περιοχή 2200 με 2100 cm<sup>-1</sup> που εμφανίζονται στα φάσματα των συμπλόκων **5** και **6** αποδίδονται στο τριπλό δεσμό των ισοκυανιδίων (Εικόνα 8.2.1 έως 8.2.3).<sup>135-137</sup>


**Εικόνα 8.2.1.** IR *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], 1 και *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], 2



Екко́va 8.2.2. IR fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], 3 кал fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], 4



Εικόνα 8.2.3. IR fac-[Re(CO)3(PO)(cisc)], 5 και fac-[Re(CO)3(PO)(tbi)], 6

Η ταυτοποίηση των δομών των συμπλόκων **1** έως **6** πραγματοποιήθηκε και με φασματοσκοπία <u>NMR</u>. Οι τιμές που ελήφθησαν με <u><sup>1</sup>H NMR</u> βρίσκονται σε συμφωνία με την αναμενόμενη δομή. Στην Εικόνα 8.2.4 παρουσιάζεται ενδεικτικά ένα φάσμα <u><sup>1</sup>H NMR</u> του συμπλόκου **4**. Στο φάσμα εμφανίζονται χαρακτηριστικά οι κορυφές στην αρωματική περιοχή, καθώς επίσης και η κορυφή στα 12.1 ppm που αναλογεί στο NH του ιμιδαζολίου.



**Εικόνα 8.2.4.** Φάσμα <sup>1</sup>H NMR του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], 4 σε CDCl<sub>3</sub>

Στα φάσματα <sup>31</sup>P NMR των συμπλόκων **1** έως **6** υπάρχει μια κορυφή στην περιοχή 26-36 ppm που αναλογεί σε σήμα του PO χηλικού, υποδεικνύοντας την παρουσία ενός μοναδικού συμπλόκου. Στο φάσμα του συμπλόκου **2** υπάρχει κορυφή στα 11 ppm χαρακτηριστική για σύζευξη του POH ως μονοδραστικού υποκαταστάτη. Στην Εικόνα 8.2.5 παρουσιάζεται ενδεικτικά ένα φάσμα <sup>31</sup>P NMR του συμπλόκου **3**. Στο φάσμα εμφανίζεται μοναδική κορυφή με απορρόφηση στα 36 ppm.



Εικόνα 8.2.5. Φάσμα <sup>31</sup>P NMR του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], 3 σε CDCl<sub>3</sub>

Η μοριακή δομή των συμπλόκων **1** έως **6** επιβεβαιώθηκε με <u>κρυσταλλογραφία ακτίνων</u> <u>Χ</u>. Στα διαγράμματα ORTEP στον Πίνακας 8.2.3 εμφανίζονται οι σφαίρες σύνταξης του Re, οι οποίες αποτελούνται από τα άτομα δότες (PO) του διδραστικού υποκαταστάτη POH, τα άτομα άνθρακα των τριών καρβονυλίων και το άτομο δότη του μονοδραστικού υποκαταστάτη [(P) για POH, (N) για πυριδίνη και ιμιδαζόλιο, και (C) για τα ισοκυανίδια). Η γεωμετρία σύνταξης, του εκάστοτε συμπλόκου Re, είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



Πίνακας 8.2.3. Διάγραμμα ORTEP και σχήμα αρίθμησης των συμπλόκων 1 έως 6

## 8.3. Παρασκευή συμπλόκων <sup>99m</sup>Tc

Για την σύνθεση των συμπλόκων <sup>99m</sup>Tc χρησιμοποιήθηκε ως πρόδρομη ένωση το σύμπλοκο *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Η παρασκευή του έγινε σε ατμόσφαιρα κορεσμένη από αέριο CO, με προσθήκη διαλύματος Na<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> (10 mCi) σε φυσιολογικό ορό. Η αναγωγή του τεχνητίου έγινε με NaBH<sub>4</sub> και το pH ρυθμίστηκε στο 7 με προσθήκη HCl. Ο σχηματισμός του πρόδρομου κατιόντος *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> επιβεβαιώθηκε με αναλυτική <u>RP-HPLC</u> με ανιχνευτή ακτινοβολίας γ (ραδιομετρική ανάλυση). Η ανάλυση έδειξε σχεδόν ποσοτικό σχηματισμό του πρόδρομου κατιόντος (>97%) και μικρό ποσοστό προσμίξεων (<3%).

Η σύνθεση του συμπλόκου **1**΄ πραγματοποιήθηκε με προσθήκη πρόδρομου μορίου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε μεθανολικό διάλυμα POH. Η βέλτιστη απόδοση σχηματισμού του συμπλόκου **1**΄ πραγματοποιήθηκε με τελική συγκέντρωση υποκαταστάτη 10<sup>-5</sup> M για 7.5 mCi του πρόδρομου συμπλόκου <sup>99m</sup>Tc. Προσπάθειες βελτίωσης είτε με αύξηση της συγκέντρωσης του POH είτε με μείωση αυτής, οδήγησε αντίστοιχα στο σχηματισμό του μικτού συμπλόκου **2**΄ και στην παραμονή υψηλού ποσοστού μη αντιδρώντος πρόδρομου μορίου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>. Η ανάλυση με <u>RP-HPLC</u> έδειξε δύο κορυφές: μια στα 28.1 min και μια στα 42.0 min, με αναλογία 50:50. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της <u>RP-HPLC</u> ήταν πάνω 90%. Η κορυφή στα 28.0 min απομονώθηκε και πραγματοποιήθηκε συγχορήγηση (co-injection) με το σύμπλοκο **1**. Η <u>HPLC</u> έδειξε ότι οι χρόνοι έκλουσης των δύο συμπλόκων είναι παρόμοιοί επομένως το προϊόν της επισήμανσης είναι το σύμπλοκο *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], **1**΄ (Εικόνα 8.3.1).



**Σχήμα 8.3.1.** Συγκριτική χρωματογραφική ανάλυση των συμπλόκων *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], **1** και *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], **1**'

Tα [2+1] σύμπλοκα του <sup>99m</sup>Tc παρασκευάστηκαν με προσθήκη *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(H<sub>2</sub>O)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε μεθανολικό διάλυμα μίγματος POH και μονοδραστικού υποκαταστάτη (pyr, im, cisc, tbi). Ο ποσοτικός σχηματισμός των συμπλόκων **2**' έως **6**' πραγματοποιείται με συγκέντρωση του διδραστικού υποκαταστάτη 10<sup>-4</sup> M και του μονοδραστικού 10<sup>-3</sup> M για 6.5 mCi του πρόδρομου συμπλόκου <sup>99m</sup>Tc. Τα σύμπλοκα ταυτοποιήθηκαν με συγκριτική χρωματογραφική ανάλυση με σύγχρονη χορήγηση του συμπλόκου του <sup>99m</sup>Tc με το ανάλογο καλά χαρακτηρισμένο σύμπλοκο του Re (**Πίνακας 8.3.1**).

Σύμπλοκο	M= Re (t <sub>R</sub> min)	M= <sup>99m</sup> Tc (t <sub>R</sub> min)
fac-[M(CO)3(PO)(H2O)]	26.9	28.0
fac-[M(CO) <sub>3</sub> (PO)(POH)]	41.5	42.0
<i>fac</i> -[M(CO) <sub>3</sub> (PO)(py)]	34.4	35.0
fac-[M(CO)3(PO)(im)]	29.3	30.0
fac-[M(CO)3(PO)(cisc)]	38.4	39.6
fac-[M(CO)3(PO)(tbi)]	37.2	38.0

Πίνακας 8.3.1. Χρόνοι έκλουσης των συμπλόκων Re και <sup>99m</sup>Tc

## 8.4. Σταθερότητα συμπλόκων 99mTc

Τα απομονωμένα σύμπλοκα 1' έως 6' μελετήθηκαν ως προς την σταθερότητά τους σε συνάρτηση με το χρόνο για 1, 3 και 6 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα σύμπλοκα παρέμειναν σταθερά πάνω από 97% (Πίνακας 8.4.1). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μελέτη των συμπλόκων παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης 10<sup>-3</sup> M στους 36 °C έως και 6 ώρες. Τα σύμπλοκα είναι ιδιαίτερα σταθερά (Πίνακας 8.4.1). Μειωμένη σταθερότητα παρουσίασε το σύμπλοκο 1' λόγω της παρουσίας του ευκίνητου μορίου H<sub>2</sub>O.

Σύμπλοκο	Απομονωμένο σύμπλοκο (%)	Παρουσία ιστιδίνης (%)		Παρουσία κυστεΐνης (%)			
	6 h	1 h	3 h	6 h	1 h	3 h	6 h
<i>fac</i> -[M(CO) <sub>3</sub> (PO)(H <sub>2</sub> O)]	97	92	90	81	90	85	78
fac-[M(CO)3(PO)(POH)]	97	97	95	95	97	95	95
<i>fac-</i> [M(CO) <sub>3</sub> (PO)(py)]	97	95	94	92	95	95	93
fac-[M(CO) <sub>3</sub> (PO)(im)]	97	96	95	92	97	95	92
fac-[M(CO)3(PO)(cisc)]	97	95	95	95	95	95	95
fac-[M(CO) <sub>3</sub> (PO)(tbi)]	97	97	95	95	97	95	95

Πίνακας 8.4.1. Σταθερότητα των συμπλόκων 1΄ έως 6΄ ως απομονωμένα σύμπλοκα καθώς και παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης/κυστεΐνης

## 8.5. Λιποφιλικότητα συμπλόκων 99mTc

Για την μελέτη της λιποφιλικότητας των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκε n-οκτανόλη και ρυθμιστικό διάλυμα PBS. Κατά την διάρκεια του πειράματος (7.5) πραγματοποιείται επανάληψη του πειράματος με την διαφορά ότι χρησιμοποιείται μέρος της οκτανόλης από το προηγούμενο πείραμα. Το σύμπλοκο 1΄ έχει την χαμηλότερη λιποφιλικότητα, γεγονός που εξηγείται από την παρουσία του H<sub>2</sub>O στην έκτη θέση, ενώ το σύμπλοκο 2΄ έχει την υψηλότερη λιποφιλικότητα, γεγονός που δικαιολογείται λόγο της παρουσίας των έξι βενζολικών δακτυλίων (Πίνακας 8.5.1).

Σύμπλοκο	Log P
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO)3(PO)(H2O)]	1.20
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(POH)]	1.66
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(py)]	1.45
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(im)]	1.40
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO)3(PO)(cisc)]	1.56
fac-[ <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> (PO)(tbi)]	1.52

Πίνακας 8.5.1. Λιποφιλικότητα συμπλόκων <sup>99m</sup>Tc

## 8.6. Βιολογική αξιολόγηση του συμπλόκου 2΄

Η βιολογική κατανομή πραγματοποιήθηκε για τα χρονικά διαστήματα 1, 4 και 24 ώρες έπειτα από ενδοφλέβια χορήγηση του συμπλόκου **2**'.

Στον Πίνακα 8.6.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της βιοκατανομής του συμπλόκου για κάθε όργανο ή ιστό εκφραζόμενα ως % ID/organ (± SD). Το σύμπλοκο επέδειξε αιματική κάθαρση στις 4 ώρες, καθώς και κάθαρση από καρδία, πνεύμονες και σπλήνα. Η μελέτη έδειξε επίσης ότι το σύμπλοκο παρουσιάζει ταχεία πρόσληψη από το ήπαρ. Στις τέσσερις ώρες μετά την χορήγηση παρατηρείται κάθαρση της ραδιενέργειας αποκλειστικά από το ηπατοχολικό, γεγονός που δικαιολογείται από την υψηλή λιποφιλικότητά του. Επίσης δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο στομάχι, γεγονός που δείχνει ότι το σύμπλοκο είναι σταθερό και δεν επανοξειδώνεται *in vivo* σε υπερτεχνητικά. Τέλος δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο σπλήνα, γεγονός που δείχνει ότι το σύμπλοκο δεν μετατρέπεται σε κολλοειδές.

<i>′</i> 0	Σύμπλοκο 2΄					
Οργανα	1 h	4 h	24 h			
AIMA	$9.99 \pm 0.42$	$2.13 \pm 0.30$	$0.90 \pm 0.17$			
НПАР	$61.67 \pm 6.74$	$52.93 \pm 2.27$	$31.06\pm2.80$			
ΚΑΡΔΙΑ	$0.48 \pm 0.04$	$0.55 \pm 0.08$	$0.28 \pm 0.02$			
ΝΕΦΡΟΙ	$1.88 \pm 0.09$	$1.98 \pm 0.02$	$0.75 \pm 0.07$			
ΣΤΟΜΑΧΙ	$0.49 \pm 0.17$	$1.93 \pm 2.35$	$0.75 \pm 0.52$			
ENTEPA	$9.54 \pm 1.24$	$33.28 \pm 2.67$	$6.42 \pm 1.33$			
ΣΠΛΗΝΑΣ	$1.89 \pm 0.07$	$0.83 \pm 0.10$	$0.44 \pm 0.11$			
ΠΑΓΚΡΕΑΣ	$0.17 \pm 0.01$	$0.19 \pm 0.02$	$0.12 \pm 0.02$			
ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ	$2.12 \pm 0.15$	$0.87 \pm 0.03$	$0.36 \pm 0.04$			
εγκεφαλός	$0.04 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.01$			
ХОЛН	$0.60 \pm 0.04$	$1.29 \pm 0.05$	$0.14\pm0.05$			
ΜΥΣ	$7.97\pm0.47$	9.96 ± 3.81	8.68 ± 1.51			
ОУРА	$0.05\pm0.02$	$0.14 \pm 0.07$	$0.18 \pm 0.02$			

Πίνακας 8.6.1. Αποτελέσματα βιοκατανομής του 2' εκφραζόμενα ως % ID/organ (± SD)

# 8.7. Απεικόνιση πειραματόζωων με το σύμπλοκο 2΄

Πραγματοποιήθηκε in vivo σπινθηρογραφική απεικόνιση με χρήση γ-κάμερας του συμπλόκου 2'. Οι εικόνες που ελήφθησαν επιβεβαιώνουν πλήρως τα αποτελέσματα της βιοκατανομής. Στην Εικόνα 8.7.1 απεικονίζεται το ποντίκι στα 5 και 60 λεπτά p.i. Από τις απεικονίσεις είναι εμφανές ότι το σύμπλοκο 2' συσσωρεύεται στο ήπαρ και δεν απομακρύνεται από το ουροποιητικό, γεγονός αναμενόμενο καθώς το σύμπλοκο είναι ιδιαίτερα λιπόφιλο.





Εικόνα 8.7.1. Στατικές λήψεις πειραματικής γ-κάμερας από απεικόνιση του συμπλόκου 2΄ σε υγιή ποντικό Swiss Albino.

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία σχεδιάστηκαν, παρασκευάστηκαν και ταυτοποιήθηκαν έξι ουδέτερα τρικαρβόνυλο σύμπλοκα του ρηνίου γενικού τύπου fac-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)L<sup>1</sup>], με διδραστικό υποκαταστάτη την (2-υδροξυφαινυλο) διφαινυλοφωσφίνη (POH) και ως μονοδραστικούς L<sup>1</sup>, την POH, την πυριδίνη (pyr), το ιμιδαζόλιο (im), το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) και το τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο (tbi). Τα σύμπλοκα, παρασκευάστηκαν με τη χρήση της πρόδρομης οργανομεταλλικής ένωσης [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>] σε μεγάλη απόδοση και χαρακτηρίστηκαν με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπικές μεθόδους IR και NMR, ενώ η δομή τους επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ.

Η (2-υδροξυφαινυλο)διφαινυλοφωσφίνη μπορεί να λειτουργήσει είτε ως διδραστικός είτε ως μονοδραστικός υποκαταστάτης. Κατά την διάρκεια της συμπλοκοποίησης συμβαίνει αποπρωτονίωση του οξυγόνου του POH με αποτέλεσμα να απομονωθούν ουδέτερα σύμπλοκα. Επιπλέον, με κατάλληλη διαδικασία τροποποίησης του POH μπορεί να ενσωματωθεί τμήμα φαρμακοφόρου για ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων.

Στη συνέχεια, τα σύμπλοκα παρασκευάστηκαν σε επίπεδο <sup>99m</sup>Tc σε υψηλή απόδοση και ταυτοποιήθηκαν με συγκριτική HPLC. Τα σύμπλοκα είναι ιδιαίτερα σταθερά παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης 10<sup>-3</sup> M, ενώ μειωμένη σταθερότητα παρουσίασε το σύμπλοκο 1΄ λόγω της παρουσίας του ευκίνητου μορίου H<sub>2</sub>O.

Η μελέτη της λιποφιλικότητας έδειξε ότι το σύμπλοκο 1' έχει την χαμηλότερη λιποφιλικότητα, γεγονός που εξηγείται από την παρουσία του H<sub>2</sub>O στην έκτη θέση, ενώ το σύμπλοκο 2' έχει την υψηλότερη λιποφιλικότητα, γεγονός που δικαιολογείται λόγω της παρουσίας των έξι βενζολικών δακτυλίων.

Στο σταθερό και λιπόφιλο σύμπλοκο *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], **2**΄ πραγματοποιήθηκαν επιπλέον μελέτες βιοκατανομής και απεικόνισης σε πειραματόζωα. Η βιολογική κατανομή πραγματοποιήθηκε για τα χρονικά διαστήματα 1, 4 και 24 ώρες έπειτα από ενδοφλέβια χορήγηση. Η βιοκατανομή έδειξε ότι το σύμπλοκο είναι σταθερό *in vivo* (απουσία ραδιενέργειας στο στομάχι και στη σπλήνα), ενώ επίσης έδειξε αιματική κάθαρση στις 4 ώρες και κάθαρση της ραδιενέργειας αποκλειστικά από το ηπατοχολικό. Το γεγονός ότι το σύμπλοκο δεν συσσωρεύεται σε κάποιο όργανο είναι θετικό, καθώς η σύνδεση με φαρμακοφόρο, το οποίο θα στοχεύει σε όργανο στόχο, θα προσφέρει εκλεκτική πρόσληψη του συμπλόκου. Τέλος η σπινθηρογραφική απεικόνιση με χρήση γ-κάμερας δείχνει ότι το σύμπλοκο 2΄ συσσωρεύεται στο ήπαρ και δεν απομακρύνεται από το ουροποιητικό, γεγονός αναμενόμενο καθώς το σύμπλοκο είναι ιδιαίτερα λιπόφιλο, επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα της βιοκατανομής.

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η αξιολόγηση νέων μικτών συμπλόκων *fac*-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>L<sup>2</sup>L<sup>1</sup>], όπου L<sup>2</sup> διδραστικός μονοανιονικός υποκαταστάτης και L<sup>1</sup> μονοδραστικός υποκαταστάτης. Για τη σύνθεσή τους χρησιμοποιείται ο πυρήνας *fac*-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> και ακολουθείται η μικτή [2 + 1] προσέγγιση. Για την παρασκευή των νέων συμπλόκων, χρησιμοποιείται, για πρώτη φορά, ο διδραστικός υποκαταστάτης, (2-υδροξυφαινυλο)διφαίνυλο φωσφίνη (POH), που φέρει ως άτομα δότες το φώσφορο φωσφίνης και το οξυγόνο υδροξυλίου.

Αρχικά, παρασκευάζονται τα σύμπλοκα του Re με τη συναρμογή του POH στο μεταλλικό πυρήνα για τον σχηματισμό του συμπλόκου *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], **1**. Προσθήκη περίσσειας POH οδηγεί στο σχηματισμό *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)], 2 όπου το POH λειτουργεί ως διδραστικός και ως μονοδραστικός υποκαταστάτης. Το σύμπλοκο **1** χρησιμοποιείται ως πρόδρομο μόριο λόγο του ευκίνητου νερού το οποίο αντικαθίσταται από μονοδραστικούς υποκαταστάτες όπως η πυριδίνη (pyr), το ιμιδαζόλιο (im), το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) και το τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο (tbi). Συνεπώς παρασκευάζονται τα σύμπλοκα *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], **3**, *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], **4**, *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], **5** και *fac*-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], **6**, αντιστοίχως σε υψηλή απόδοση, τα οποία χαρακτηρίζονται με στοιχειακή ανάλυση και με κλασικές φασματοσκοπικές μεθόδους (IR, NMR). Η δομή των συμπλόκων **1** έως **6** επιβεβαιώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ.

Ακολούθως, σε επίπεδο τεχνητίου-99m παρασκευάζονται τα σύμπλοκα 1' έως 6' με χρήση του πρόδρομου μορίου *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> και ταυτοποιούνται με συγκριτική χρωματογραφία HPLC με τα ανάλογα χαρακτηρισμένα σύμπλοκα ρηνίου.

Οι μελέτες σταθερότητας δείχνουν ότι τα σύμπλοκα παραμένουν σταθερά *in vitro* έως και 6 ώρες παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης και κυστεΐνης. Τα πειράματα λιποφιλικότητας δείχνουν ότι όλα τα σύμπλοκα είναι λιπόφιλα, με logP από 1.2 έως 1.66. Στο σύμπλοκο **2**′ πραγματοποιείται πείραμα βιοκατανομών σε φυσιολογικά ποντίκια τύπου Swiss Albino στη 1, στις 4 και στις 24 ώρες καθώς και απεικόνιση σε γ-κάμερα. Η βιοκατανομή έδειξε ότι το σύμπλοκο είναι σταθερό *in vivo*, ενώ επίσης έδειξε αιματική κάθαρση στις 4 ώρες και κάθαρση της ραδιενέργειας αποκλειστικά από το ηπατοχολικό. Τέλος η σπινθηρογραφική απεικόνιση με χρήση γ-κάμερας επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα της βιοκατανομής.

#### ABSTRACT

The synthesis, characterization and evaluation of neutral mixed ligand *fac*- $[\text{Re}/^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{L}^2\text{L}^1]$  complexes, containing a monoanionic bidentate L<sup>2</sup> and a monodentate ligand L<sup>1</sup>, are particularly interesting for the development of new hexacoordinated complexes that display stability against trans-chelation reactions. Coupling of a vector to one ligand and tuning of pharmacokinetics with the other provides excellent design versatility.

In this work, we have synthesized neutral mixed-ligand of the general form fac-[Re/<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>(PO)L<sup>1</sup>] complexes, containing the (2-hydroxyphenyl) diphenylphosphine (POH) ligand. For such purposes, the fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(H<sub>2</sub>O)], **1** has been synthesized after reaction of POH with [Et<sub>4</sub>N]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. However, excess of POH results in the formation of the mixed ligand fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(POH)] complex, **2**, where POH acts as both a bidentate and a monodentate ligand. Complex **1** is practically used as a precursor owing to the presence of the labile water molecule which can be readily replaced by a variety of monodentate ligands, such as pyridine (py), imidazole (im), cyclohexyl isocyanide (cisc) and tert-butyl isocyanide (tbi). The neutral complexes, fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(pyr)], **3**, fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(im)], **4**, fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(cisc)], **5** and fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(PO)(tbi)], **6**, were readily obtained in high yield. All complexes have been fully characterized by elemental analysis, IR and NMR spectroscopies. Their solid-state structure has been elucidated by X-ray crystallography.

At <sup>99m</sup>Tc level, complexes 1' - 6' are formed in high yield by adding POH and the appropriate monodentate ligand and characterized by comparative HPLC studies after co-injection with the authentic Re-complexes.

During histidine and cysteine challenge experiments at 36°C for 6 hours all complexes remained stable. Examination of the logP data suggests high lipophilicity for all complexes. The values of logP are in the range of about 1.2 to 1.66. Biodistribution studies of the stable and lipophilic complex 2' in normal Swiss Albino mice at 1 hour, 4 and 24 hours showed that the complex is stable *in vivo* and the activity was excreted mainly through the hepatobiliary system. Finally, scintigraphic imaging using  $\gamma$ -camera confirms the results of biodistribution.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1. Χιωτέλλης Ε., "Ραδιοφαρμακευτική Χημεία", Τόμος Β, 2004 ISBN: 9789603170754.
- Saha G. P., "Fundamentals of nuclear pharmacy", 5<sup>th</sup> edition, Springer- Verlag, New York, 2004. ISBN 978-1-4419-5860-0
- 3. Σιάτρα-Παπασταϊκούδη Θ, "Ειδικά μαθήματα φαρμακευτικής ραδιοχημείας", 1993.
- Williams E.D., "Radionuclides in diagnosis", Phys. Educ. 1989, 24 (4), 196-200. doi:10.1088/0031-9120/24/4/306
- Sharp, Peter F., Gemmell, Howard G., Murray, Alison D., "Practical Nuclear Medicine", 3<sup>rd</sup> edition, Springer, 2005. <u>ISBN 978-1-84628-018-4</u>
- Bailey D., Parker J., "Single-Photon Emission Computed Tomography in Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment", 2<sup>nd</sup> ed. Vol 2 (I.P.C. Murray and P.J. Ell, P., eds) Churchill Livingstone Edinburgh, 1998.
- Gambhir S.S., Czernin J., Schwimmer J., Silverman D.H.S., Coleman R.E., Phelps M.E., "A Tabulated Summary of the FDG PET Literature", J. Nucl. Med. 2001, 42, 1S–93S. <u>PMID:</u> <u>11483694</u>
- Volkert W.A., Goeckeler W.F., Ehrhardt G.J., Ketring A.R., "Therapeutic Radionuclides: Production and Decay Property Considerations", J. Nucl. Med., 1991, 32, 174-185. <u>PMID:</u> <u>1988628</u>
- 9. Humm J.L., "A microdosimetric model of astatine-211 labeled antibodies for radio immunotherapy", Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1987, 13 (11), 1767-1773. doi:10.1016/0360-3016(87)90176-3
- **10.** C. Sampson "Textbook of Radiopharmacy theory and practice", 3<sup>rd</sup> ed., Gordon and breach science publishers 1999. ISBN-13: 978-9056991548
- Adelstein S.J., Kassis A.I., "Radiobiologic implications of the microscopic distribution of energy from radionuclides", Int. J. Rad. Appl. Instr. Part B. Nucl. Med. Biol. 1987, 14 (3), 165-169. <u>doi:10.1016/0883-2897(87)90038-9</u>
- Hashimoto K., Yoshihara K., "Rhenium complexes labeled with 186,188Re for nuclear medicine", Top. Current chem., 176, 1996, 275-291. doi:<u>10.1007/3-540-59469-8\_9</u>
- 13. De Jonge F.A.A., Pawels E.K.J., "Technetium, the missing element", Eur.J.Nucl.Med. 1996, 23 (3), 336-344. doi: 10.1007/BF00837634
- 14. Zingales R., "From Masurium to Trinacrium: The Troubled Story of Element 43", J. Chem. Educ., 2005, 82 (2), 221-227. doi: 10.1021/ed082p221

- Alberto R., "Technetium", Compr. Coord. Chem. II, eds J.A. Mc Cleverty, T.S. Meer, Elsevier, Amsterdam, 2003, 5 (2), 127-270.
- 16. C.R.C. Handbook of Chemistry and Physics, <u>96<sup>th</sup> edition 2015</u>.
- 17. Noddack W., Tacke I., "Die Ekamangane", Naturwissenschaften, 1925, 13 (26), 567-571. doi: <a href="https://doi.org/10.1007/BF01558746">10.1007/BF01558746</a>
- Berg O., Tacke I, Rontgenspectroscopischer Teil), Naturwissenschaften, 1925, 13 (26), 571-574. doi: 10.1007/BF01558746
- 19. Herrmann G., "Technetium or masurium a comment on the history of element 43", Nuclear Physics A, 1989, 505 (2), 352-360. doi: 10.1016/0375-9474(89)90379-5
- 20. Mattauch J., "Zur Systematik der Isotopen", Z. Phys. Chem, 1934, 91 (5-6), 361-371. doi: 10.1007/BF01342557
- **21.** Perrier C., Segré E., "Radioactive Isotopes of Element 43", Nature, **1937**, 140 (3535), 193-194. <u>doi: 10.1038/140193b0</u>
- 22. Perrier C., Segré E., "Some Chemical Properties of Element 43", J. Chem. Phys., 1937, 5 (9), 712-716. doi: 10.1063/1.1750105
- 23. Paneth F., "The Making of the Missing Chemical Elements", Nature, 1947, 159 (4027), 8-10.
   <u>doi:10.1038/159008a0</u>
- 24. Perrier C., Segrè E., "Technetium: The element of atomic number 43", Nature, 1947, 159 (4027), 24. doi:10.1038/159024a0
- 25. Boyd G.E., Sites J.R., Larson Q.V., Baldock C.R., "Production and Identification of Long-Lived Technetium Isotopes at Masses 97, 98, and 99", Phys. Rev., 1955, 99, 1030-1031. <u>http://dx.doi.org/10.1103/PhysRev.99.1030</u>
- 26. Armstrong J.T., "The Disputed Discovery of Element 43: A Re-Examination of an Elegant Early Use of Walength Dispersive X-Ray Microanalysis", J. Res. Natl. Inst. Stand. Tech., 1999, 104 (6), 599.
- 27. Merrill P., "Spectroscopic observation of stars of class S", Astrophys. J., 1952, 116, 21-26.
- 28. Merrill P., "Technetium in the stars", Science, 1952, 115, 484-486.
- **29.** Smith E.M., "Internal Dose Calculation for <sup>99m</sup>Tc", J. Nucl. Med., **1965**, 6, 231-251. <u>PMID:</u> <u>14291076</u>
- **30.** Katkoff S., "Decay of Tc-97 Ground State", Phys. Rev. Ser. II, **1958**, 111 (2), 575-578. <u>doi:</u> <u>10.1103/PhysRev.111.575</u>
- **31.** Τσουκαλάς Χ., Παπαδόπουλος Μ., Μάινα Θ., Χιωτέλλης Ε., "Νεότερες προσεγγίσεις στο σχεδιασμό ραδιοφαρμάκων του <sup>99m</sup>Tc", Ελληνική Πυρηνική Ιατρική, **1999**, 2 (3), 145-153.

- 32. Gastronomo F., "Technetium-99m: Basic nuclear physics and chemical properties", Am. J. Hosp. Pharm. 1975, 32, 480-488. <u>PMID: 238387</u>
- **33.** Benjamin P.P., Rejalli A., Friedell H., "Electrolytic complexation of <sup>99m</sup>Tc at constant current: its applications in nuclear medicine", J. Nucl. Med., **1970**, 11 (4), 147-154. <u>PMID: 5434843</u>
- 34. Richards P., "A survey of the production at Brookhaven National Laboratory of radioisotopes for medical research", Off Trans. 5<sup>th</sup> Nuclear Congress New York IAEA, 1960. 225-244.
- 35. Balaban A., Palmer A., "Radioisotope production and quality control", Technical Reports Series Vienna IAEA, 1971, 128, 705.
- 36. Early P.J., Razzak M.A., Sodec D.B., "Textbook of Nuclear Medicine Technology", The C.V. Mosby Company, London, 1969. <u>PMCID: PMC1501719</u>
- Hupf H., Tubis M., Wolf W., "Production and purification of radionuclides", Wiley John and Sons Inc., ch.15 "Radiopharmacy", 1976, 225-253.
- 38. Abram U., Alberto R., "Technetium and Rhenium Coordination Chemistry and Nuclear Medical Applications", J. Braz. Chem. Soc., 2006, 17 (8), 1486-1500. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532006000800004
- 39. Husak V., Visek J., "Some remarks on <sup>99</sup>Mo <sup>99m</sup>Tc generator kinetics", Eur. J. Nucl. Med., 1982, 7 (7), 331-332. <u>PMID: 7117276</u>
- 40. Αρχιμανδρίτης Σ., Διδακτορική διατριβή, Πάτρα, 1983.
- 41. Harper P.V. et al., Argon Canser Research Hospital Semiannual Report to the Atomic Energy, 1962, ch.8, p.76.
- 42. Harper P.V., Andros G., Lathrop K., "Technetium-99m as a biological tracer", J. Nucl. Med., 1962, 3, 209-214.
- 43. Harper P.V., Lathrop K.A., Jiminez F., Fink R., Gottschalk A., "Technetium 99m as a Scanning Agent", Radiology, 1965, 85, 101-109. <u>PMID: 14303054</u>
- 44. Steigman J., Richards P., "Chemistry of technetium 99m", Seminar in Nuclear Medicine, 1974, 4 (3), 269-279.
- 45. Johansen B., "In Principles of Radiopharmacology", eds. Cox P.H. and Deckart H., V.E.B. Gustav Fisher Verlag Jena, 1987. ISBN-13: 978-0898387742
- 46. Pecsok R.L. et al 2<sup>nd</sup> edition, John Wiley and Sons, New York, 1976.
- 47. Cohen Y., "In Radiopharmacy", M. Tubis, W. Wolf, eds. John Wiley and Sons Inc., 379, 1976.
- **48.** Παπαδόπουλος Μ., Πιρμεττής Ι., Χιωτέλλης Ε., "<sup>99m</sup>Tc. Κύριος ιχνηθέτης της πυρηνικής ιατρικής. Χημεία του τεχνητίου (μέρος Α)", Ελληνική Πυρηνική Ιατρική, **1998**, 1 (1), 26-32.
- 49. Schwochau K., "The present status of Technetium chemistry", Radiochim. Acta, 1983, 32, 139-152. <u>ISSN 0033-8230</u>

- **50.** Eckelman W.C., Richards P., "Instant <sup>99m</sup>Tc-DTPA", J. Nucl. Med., **1970**, 11 (12), 761. <u>PMID:</u> <u>5490410</u>
- 51. Subramanian G., McAfee J.C., "A new complex of <sup>99m</sup>Tc for skeletal imaging", Radiology, 1971, 99 (1), 613-621. DOI: <u>http://dx.doi.org/10.1148/99.1.192</u>
- 52. Wilson, G.M., Pinkerton T.C., "Determination of charge and size of technetium diphosphonate complexes by anion-exchange liquid chromatography", Anal. Chem. 1985, 57 (1), 246–253. doi: 10.1021/ac00279a057
- 53. Pinkerton T.C., Heineman W.R., Deutsch E., "Separation of technetium hydroxyethylidene diphosphonate complexes by anion-exchange high performance liquid chromatography", Anal. Chem. 1980, 52 (7), 1106–1110. doi: 10.1021/ac50057a025
- 54. Jurisson S., Berning D., Wei Jia, Dangshe Ma, "Coordination compounds in nuclear medicine", Chem. Rev., 1993, 93 (3), 1137–1156. doi: 10.1021/cr00019a013
- Lin T.H., Khendigan A., Winchell H.S., "A <sup>99m</sup>Tc-chelate Substitute for Organoradiomercurial Renal Agents", J. Nucl. Med., **1974**, 15 (1), 34-35. <u>PMID: 4808675</u>
- 56. Loberg M.D., Cooper M., Harvey E., Callery P., Faith W., "Development of New Radiopharmaceuticals Based on N-Substitution of Iminodiacetic Acid", J. Nucl. Med., 1976, 17 (7), 633-638. <u>PMID: 1271111</u>
- 57. Baker R.J., Bellen J.C., Ronai P.M., "Technetium <sup>99m</sup>-Pyridoxylideneglutamate: A New Hepatobiliary Radiopharmaceutical. I. Experimental Aspects", J. Nucl. Med., 1975, 16 (8), 720-727. <u>PMID: 240915</u>
- 58. Troutner D., Volkert W.A., Hoffman T.J., Holmes R.A., "A neutral lipophilic complex of <sup>99m</sup>Tc with a multidentate amine oxime", Int. J. Appl. Radiat. Isot., 1984, 35 (6), 467-470.
   <u>PMID: 6610648</u>
- 59. Volkert W.A., Hoffman T.J., Seger R.M., Troutner D.E., Holmes R.A., "<sup>99m</sup>Tc-propylene amine oxime (<sup>99m</sup>Tc-PnAO); a potential brain radiopharmaceutical", Eur. J. Nucl. Med., 1984, 9 (11), 511-516. <u>PMID: 6394334</u>
- 60. Ell P.J., Jarritt P.H., Cullum I., Hocknell J.M.L., Costa D.C., Lui D., Jewkes R.F., Steiner T.J., Nowotnik T.P., Pickett R.D., Neirinckx R.D., "Regular cerebral blood flow mapping with <sup>99m</sup>Tc-labelled compound", Lancet, **1985**, 2 (8445), 50-51. doi: <u>http://dx.doi.org/10.1016/ S0140-6736(85)90110-2</u>
- 61. Ell P.J. et al., "A <sup>99m</sup>Tc-labelled radiotracer for the investigation of cerebral vascular disease", Nucl. Med. Commun., 1985, 6 (8), 437-441. doi: <u>10.1097/00006231-198508000-00002</u>
- **62.** Neirinckx R.D., Canninig L.R., Piper I.M., Nowotnik T.P., Pricket R.D., Holmes R.A., Volkert W.A., Forster A.M., Weisner P.S., Marriott J.A., Chaplin S.B., "Technetium-99m d,l-HM-

PAO: A new radiopharmaceutical for SPECT imaging of regional cerebral blood perfusion", J. Nucl. Med., **1987**, 28 (2), 191-202. <u>PMID: 3492596</u>

- 63. Holmes R.A., Chaplin S.B., Royston K.G., Hoffman T.J., Volkert W.A., Nowotnik D.P., Canning L.R., Cumming S.A., Harrison R.C., Higley B., Nechvatal G., Picket R.D., Piper I.M., Neirinckx R.D., "Cerebral uptake and retention of <sup>99m</sup>Tc- hexamethylpropyleneamine oxime (<sup>99m</sup>Tc-HM-PAO)", Nucl. Med. Commun., **1985**, 6 (8), 443-447. <u>PMID: 3877890</u>
- **64.** Leonard J.P., Nowotnik D.P., Neirinckx R.D., "Technetium-99m-d,1-HM-PAO: A new radiopharmaceutical for imaging regional brain perfusion using SPECT a comparison with iodine-123 HIPDM", J. Nucl. Med.., **1986**, 27 (12), 1819-1823. <u>PMID: 3491188</u>
- 65. Sharp P.F., Smith F.W., Gemmell H.G., Lyall D., Evans N.T.S., Gvozdanovic D., Davidson J., Tyrell D., Pickett R.D., Neirinckx R.D., "Technetium-<sup>99m</sup>HM-PAO Stereoisomers as Potential Agents for Imaging Regional Cerebral Blood Flow: Human Volunteer Studies", J. Nucl Med., 1986, 27 (2), 171-177. <u>PMID: 3712035</u>
- 66. Jurisson S., Schlemper E.O., Troutner D.E., Canning L.R., Nowotnik D.P., Neirinckx R.D., "Synthesis, characterization, and x-ray structural determinations of technetium (V)-oxotetradentate amine oxime complexes", Inorg. Chem., 1986, 25 (4), 543–549. doi: 10.1021/ic00224a031
- 67. Gemmell H.G., Sharp P.F., Besson J.A.O., Crawford J.R., Ebmeier K.P., Davison J., Smith F.W., "Differential diagnosis in dementia using the cerebral blood flow agent <sup>99m</sup>Tc HM-PAO: A spect study", J.Computer Assist. Tomog., 1987, 11 (3), 398-402. <u>PMID: 3494754</u>
- 68. Biersack H.J., Linke D., Brassel F., Reichman K., Kurthen K., Durwen H.F., Reuter B.M., Wappense J., Stephen H., "Technetium-<sup>99m</sup> HM-PAO brain SPECT in epileptic patients before and during unilateral hemispheric anesthesia (Wada test): Report of three cases", J. Nucl. Med., 1987, 28 (11), 1763-1767. <u>PMID: 3499495</u>
- 69. Reid R.H., Gulenchyn K.Y., Ballinger J.R., "Clinical Use of Technetium-99m HM-PAO for Determination of Brain Death", J. Nucl. Med., 1989, 30 (10), 1621-1626. <u>PMID: 2795202</u>
- 70. Laurin N.R., Driedger A.A., Hurwitz G.A., Mattar A.G., Powe J.E., Champerlain M.J., Zabel P.L., Pavlosky W.F., "Cerebral Perfusion Imaging with Technetium-99m HM-PAO in Brain Death and Severe Central Nervous System Injury", J. Nucl. Med., 1989, 30 (10), 1627-1635.
  <u>PMID: 2795203</u>
- 71. Zuckier, LS., Kolano J., 'Radionuclide Studies in the Determination of Brain Death: Criteria, Concepts, and Controversies' Semin. Nucl. Med., 2008, 38 (4), 262–273. <u>PMID: 18514082</u>

- 72. Deutsch E., Bushong W., Glavan K.A, Elder R.C., Sodd V.J., Scholz K.L., Fortman D.L, Luces S.J., "Heart imaging with cationic complexes of technetium", Science, 1981, 214 (4516), 85-86. <u>PMID: 6897930</u>
- 73. Holman B.L., Hellman R.S., Goldsmith S.J., Mena I.G., Leveille J., Gherardi P.G., Moretti J.L., Bischofdelaloye A., Hill T.C., Rigo P.M.; Vanheertum R.L., Ell P.J., Buell U., Deroo M.C., Morgan R.A., "Biodistribution, Dosimetry, and Clinical Evaluation of Technetium-99m Ethyl Cysteinate Dimer in Normal Subjects and in Patients with Chronic Cerebral Infarction", J. Nucl. Med. 1989, 30, 1018–1024. <u>PMID: 2661751</u>
- 74. Walovitch R.C., Hill T.C., Garrity S.T., Cheesman E.H., Burgess B.A., Oleary D.H., Watson A.D., Ganey M.V., Morgan R.A., Williams S.J., "Characterization of Technetium-99m-L,L-ECD for Brain Perfusion Imaging, Part 1: Pharmacology of Technetium-99m ECD in Nonhuman Primates", J. Nucl. Med. 1989, 30, 1892–1901. <u>PMID: 2809756</u>
- 75. Leveille J., Demonceau G., Deroo M., Rigo P., Taillefer R., Morgan R.A., Kupranick D., Walovitch R.C., "Characterization of Technetium-99m-L,L-ECD for Brain Perfusion Imaging, Part 2: Biodistribution and Brain Imaging in Humans", J. Nucl. Med. 1989, 30, 1902–1910. <u>PMID: 2809757</u>
- 76. Fritzberg A.R., Kasina S., Dshima D., Johnson D.L., "Synthesis and Biological Evaluation of Technetium-99m MAG<sub>3</sub> as a Hippuran Replacement", J. Nucl. Med., 1986, 27 (1), 111-116.
   <u>PMID: 2934521</u>
- 77. Taillefer R., Laflamme L., Dupras G., Picard M., Phaneuf D.C., Leveille J., "Myocardial perfusion imaging with <sup>99m</sup>Tc-methoxy-isobutyl-isonitrile (MIBI): comparison of short and long time itervals between rest and stress injections. Preliminary results", Eur. J. Nucl. Med., 1988, 13 (10), 515-522. <u>PMID: 3371372</u>
- **78.** Eckelman W.C., "Radiolabeling with technetium-99m to study high-capacity and low-capacity biochemical systems", Eur. J. Nucl. Med., **1995**, 22 (3), 249-263. <u>PMID: 7789399</u>
- 79. Verbruggen A.M., "Radiopharmaceuticals: state of the art", Eur. J. Nucl. Med, 1990, 17 (6-8), 346-364. doi: 10.1007/BF01268027
- 80. Meegalla, S.K., Plössl K., Kung M.P., Stevenson D.A., Mu Mu., Kushner S., Liable-Sands L.M., Rheingold A.L., Kung H.F., "Specificity of diastereomers of [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT-1 as dopamine transporter imaging agents", J. Med. Chem., 1998, 41 (4), 428–436. <u>PMID: 9484494</u>
- 81. Kung H. F., Kim H. J., Kung M. P., Meegalla S. K., Plossl K., Lee H. K., "Imaging of dopamine transporters in humans with technetium-99m TRODAT 1", Eur. J. Nucl. Med., 1996, 23 (11), 1527-1530. Doi: 10.1007/BF01254479

- Kung M.P., Stevenson D.A., Plossl K., Meegalla, S.K., Beckwith A., Essman, W.D., Mu Mu., Lucki I., Kung H.F., "[<sup>99m</sup>Tc]TRODAT-1: a novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent", Eur. J. Nucl. Med. **1997**, 24 (4), 372–380. <u>doi:</u> 10.1007/BF00881808
- 83. Riley G.H., "Isotopic analysis of rhenium from a thermal ionization source", J. Sci. Instrum, 1967, 44 (9), 769-774. <u>doi:10.1088/0950-7671/44/9/330</u>
- 84. Turekian K.K., "Handbook of Geochemistry", I, K.H. Wedepohl, Ed., Springer-Verlag, Heidelberg, 1969, Ch. 10. <u>ISSN: 0072-9817</u>
- **85.** Esenov S.E., Egizbayeva K.E., Kalinin S.K., Fayn E.E., "Radiogenic osmium in rheniumbearing ores", Geokhimiya **1970**, *5*, 610–615.
- 86. Peacock R.D., "The chemistry of technetium and rhenium", Elsevier Publising Company, London, 1966. <u>doi: 10.1002/anie.196800841</u>
- 87. Strominger, D., Hollander, J.M., Seaborg, G.T., "Table of isotopes", Rev. Mod. Phys., 1958, 30 (2), 585-904. doi: <u>http://dx.doi.org/10.1103/RevModPhys.30.585</u>
- 88. Deutch E., Libson K., Vanderheyden J-L, "Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine", Nicolini M., Bandoli G., Mazzi U. Eds, Cortina Int., Verona, 1990, 3, 13-22. ISBN-13: 978-8877490636
- 89. Deutch E., Libson K., Vanderheyden J-L, Ketring A.R., Maxon H.R., "The chemistry of rhenium and technetium as related to the use of isotopes of these elements in therapeutic and diagnostic nuclear medicine", Nucl. Med. Biol., 1986, 13 (4), 465-477. <u>PMID: 3793504</u>
- 90. Alazraki N.P., Mishkin F.S., "Fundamentals of nuclear medicine", The Society of Nuclear Medicine Inc., New York, 1998. ISBN-10: 0932004296
- 91. Liepe K., Hliscs R., Kropp J, Grüning T., Runge R., Koch R., Knapp Jr. F.F., Franke, W.-G., "Rhenium-188-HEDP in the palliative treatment of bone metastases", Cancer Bioth. Radioph, 2000, 15 (3), 261-265. <u>PMID: 10941533</u>
- **92.** Larson S.M., Nelp W.B., "Radiopharmacology of a Simplified Technetium-99m-Colloid Preparation for Photoscanning", J. Nucl. Med., **1966**, 7, 817-826. Print ISSN: 0161-5505
- 93. Πνευματικάκης Γ., "Μαθήματα χημείας στοιχείων μετάπτωσης", Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 1987, κεφ.17, 224-234.
- 94. Mooney R.C.L., "The crystal structure of element 43", Phys. Rev., 1947, 72, 1269. doi: <u>http://dx.doi.org/10.1103/PhysRev.72.1269</u>
- **95.** Mooney R.C.L., "Crystal structure of element 43", Acta Crystallogr., **1948**, 1, 161-162. <u>doi:10.1107/S0365110X48000466</u>

- 96. Schwochau K., "Technetium, Chemistry and Radiopharmaceutical Applications", Wiley-VCH, Weinheim, 2000. ISBN: 978-3-527-61337-3
- 97. Hilemann J.C., Huggins D.K., Kaesz H.D., "Derivatives of Technetium Carbonyl. Synthesis and Properties of the Carbonyl Halides and the Pentacarbonyl Hydride", Inorg. Chem., 1962, 1 (4), 933-938. doi: 10.1021/ic50004a048
- 98. Abrahams S.C., Ginsberg A.P., Knox K., "Transition Metal-Hydrogen Compounds. II. The Crystal and Molecular Structure of Potassium Rhenium Hydride, K<sub>2</sub>ReH<sub>9</sub>", Inorg. Chem., 1964, 3 (4), 558-567. doi: 10.1021/ic50014a026
- **99.** Rouschias G., "Recent advances in the chemistry of rhenium", Chem. Rev., **1974**, 74 (5), 531-566. <u>doi: 10.1021/cr60291a002</u>.
- 100. Mazzi U. et al, "Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3", Mazzi U., G.Bandoli, M.Nicolini (eds), Cortina Internatinal Raven Press-New York, 39, 1990. ISBN-13: 978-8877490636
- 101. Eakins J.D., Humphries D.G., "Preparation of technetium metal", J. Inorg. Nucl. Chem., 1963, 25 (6), 737. doi: 10.1007/s10967-007-7259-z
- 102. Abrams M.J., Davison A., Jones A.G., Costello C.E., Pang H., "Synthesis and characterization of hexakis(alkyl isocyanide) and hexakis(aryl isocyanide) complexes of technetium(I)", Inorg. Chem., 1983, 22 (20), 2798–2800. doi: 10.1021/ic00162a007
- 103. Wester D.W., White D.H., Miller F.W., Dean R.T., "Synthesis and characterization of a technetium phosphite complex: hexakis(trimethyl phosphite)technetium (I) tetraphenylborate", Inorg. Chem., 1984, Vol 23 (11), 1502-1503. doi: 10.1021/ic00179a005
- 104. Vanderheyden J.L., Kerting A.R., Libson K., Heeg M.J., Roecker L., Motz P., Whittle R., Elder R.C., Deutsch E., "Synthesis and characterization of cationic technetium complexes of 1,2-bis(dimethylphosphino)ethane (DMPE). Structure determinations of trans-[TcV(DMPE)<sub>2</sub>(OH)(O)](F<sub>3</sub>CSO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, trans-[TcIII(DMPE)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]F<sub>3</sub>CSO<sub>3</sub>, and [TcI(DMPE)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> using x-ray diffraction, EXAFS, and technetium-99 NMR", Inorg. Chem., 1984, Vol 23 (20), 3184-3191. doi: 10.1021/ic00188a031
- 105. A) Schmidt, S. P., Trogler, W. C., Basolo, F., Urbancic, M. A. and Shapley, J. R. Pentacarbonylrhenium Halides, in Inorganic Syntheses: Reagents for Transition Metal Complex and Organometallic Syntheses, Volume 28 (ed. R. J. Angelici), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 1990, 28, 160-165. <u>doi: 10.1002/9780470132593.ch42</u> B) Alberto R., Egli A., Abram U., Hagetschweiler K., Gramlich V., Schubiger P.A., "Synthesis and reactivity of [NEt<sub>4</sub>]<sub>2</sub>[ReBr<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]. Formation and structural characterization of the clusters

 $[NEt_4][Re_3(\mu_3-OH)(\mu-OH)_3(CO)_9]$  and  $[NEt_4][Re_2(\mu-OH)_3(CO)_6]$  by alkaline titration", J. Chem. Soc. Dalton Trans., **1994**, 19, 2815-2820. doi: 10.1039/DT9940002815

- 106. Alberto R., Schibli R., Abram U., Egli A., Knapp F.F., Schubiger A.P., "Potential of the "[M(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>" (M = Re, Tc) Moiety for the Labeling of Biomolecules", Radiochim. Acta, 1997, 79 (2), 99-103. doi: 10.1524/ract.1997.79.2.99
- 107. Schibli R., Alberto R., Abram U., Abram S., Egli A., Schubiger A.P., Kaden T.A., "Structural and <sup>99</sup>Tc NMR Investigations of Complexes with *fac*-[Tc(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> Moieties and Macrocyclic Thioethers of Various Ring Sizes: Synthesis and X-ray Structure of the Complexes *fac*-[Tc(9-ane-S<sub>3</sub>)(CO)<sub>3</sub>]Br, *fac*-[Tc<sub>2</sub>(tosylate)<sub>2</sub>(18-ane-S<sub>6</sub>)(CO)<sub>6</sub>], and *fac*-[Tc<sub>2</sub>(20-ane-S<sub>6</sub>-OH)(CO)<sub>6</sub>][tosylate]<sub>2</sub>", Inorg. Chem., **1998**, 37 (14), 3509-3516. doi: 10.1021/ic980112f
- **108.** Alberto R., Schibli R., Egli A., Abram U., Hubener R., Kaden T.A., Pietzsch H.-J., Schubiger A.P., "Steps towards [( $C_5Me_5$ )TcO<sub>3</sub>]: Novel synthesis of [( $C_5Me_5$ )Tc(CO)<sub>3</sub>] from [{Tc( $\mu_3$ -OH)(CO)<sub>3</sub>}] and oxidation of [( $C_5Me_5$ )M(CO)<sub>3</sub>] (M = Tc, Re) with Br<sub>2</sub>", Polyhedron, **1998**, 17 (7), 1133-1140. doi: 10.1016/s0277-5387(97)00500-7
- 109. 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 [<sup>99m</sup>Tc(OH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> from [<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>]<sup>-</sup> in Aqueous Solution and Its Reaction with a Bifunctional Ligand", J. Am. Chem. Soc., **1998**, 120 (31), 7987-7988. <u>doi: 10.1021/ja980745t</u>
- 110. Alberto R., Schibli R., Schubiger A.P., "First Application of *fac*-[<sup>99m</sup>Tc(OH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> in Bioorganometallic Chemistry: Design, Structure, and in Vitro Affinity of a 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Ligand Labeled with <sup>99m</sup>Tc", J. Am. Chem. Soc., 1999, 121 (25), 6076–6077. <u>doi:</u> 10.1021/ja990765a
- 111. Schibli R., Schubiger A.P., "Current use and future potential of organometallic radiopharmaceuticals", Eur. J. Nucl. Med., 2002, 29 (11), 1529-1542. doi: 10.1007/s00259-002-0900-8
- 112. J. Chatt, J.R. Dilworth, H.P. Gunz, G.J. Leigh 'New synthetic routes to mono-, di- and tricarbonyl halido complexes of rhenium(I) and rhenium(III) with tertiary phosphine' J Organom Chem, 64 (1974) 245-254. doi: 10.1016/S0022-328X(00)87915-2
- 113. Y. Mikata, K. Takahashi, Y. Noguchi, M. Naemura, A. Ugai, S. Itami, K. Yasuda, S. Tamotsu, T. Matsuo, T. Synthesis of Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes with Carbohydrate-Pendant Tridentate Ligands and Their Cellular Uptake. Storr Eur. J. Inorg. Chem. 2012, 217–225. doi: 10.1002/ejic.201100953
- 114. I. Mylonas, C. Triantis, A. Panagiotopoulou, G. Patsis, C. P. Raptopoulou, A. Terzis, V. Psycharis, D. Komiotis, M. Pelecanou, I. Pirmettis, M. Papadopoulos. A new bifunctional

tridentate NSN ligand leading to cationic tricarbonyl *fac*-[M(NSN)(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>(M =Re, <sup>99m</sup>Tc) complexes. Inorg. Chim. Act. **2013**. 400, 2–6. doi:10.1016/j.ica.2013.02.001

- 115. D. Papagiannopoulou, C. Tsoukalas, G. Makris, C. P. Raptopoulou, V. Psycharis, L. Leondiadis, E. Gniazdowska, Przemyslaw Koźmiński, Leon Fuks, Maria Pelecanou, Ioannis Pirmettis, M. S. Papadopoulos. Histidine derivatives as tridentate chelators for the *fac*-[M<sup>I</sup>(CO)<sub>3</sub>] (Re, <sup>99m</sup>Tc, <sup>188</sup>Re) core: Synthesis, structural characterization, radiochemistry and stability. Inorg. Chim. Act. **2011**, 378 (1), 333-337. <u>doi:10.1016/j.ica.2011.08.062</u>
- 116. J.D. Correia, A. Domingos, I. Santos, R. Alberto, K. Ortner. Re Tricarbonyl Complexes with Ligands Containing P, N, N and P, N, O Donor Atom Sets: Synthesis and Structural Characterization. Inorg. Chem. 2001, 40, 5147-5151. <u>PMID:11559073</u>
- 117. C. L. Ferreira, C. B. Ewart, Simon R. Bayly, Brian O. Patrick, Jennifer Steele, Michael J. Adam, C. Orvig. Glucosamine Conjugates of Tricarbonyl cyclopentadienyl Rhenium (I) and Technetium (I) Cores. Canada Inorg. Chem., 2006, 45 (17), 6979–6987. doi: 10.1021/ic0605672
- 118. C. Y. Chan, P. A. Pellegrini, I. Greguric, P. J. Barnard. Rhenium and Technetium Tricarbonyl Complexes of N-Heterocyclic Carbene Ligands. Inorg Chem. 2014, 53 (20), 10862-73. <u>doi:</u> <u>10.1021/ic500917s</u>
- 119. A. J. Hallett, S. J.A. Pope. Towards near-IR emissive rhenium tricarbonyl complexes: Synthesis and characterisation of unusual 2,2'-biquinoline complexes. Inorg. Chem. Comm.
  2011, 14 (10), 1606–1608. doi:10.1016/j.inoche.2011.06.021
- 120. D. Papagiannopoulou, C. Triantis, V. Vassileiadis, C. P. Raptopoulou, V. Psycharis, A. Terzis, I. Pirmettis, M. S. Papadopoulos. Synthesis, structural characterization and radiochemistry of di- and tricarbonyl Re (I) and <sup>99m</sup>Tc (I) complexes with 8-hydroxyquinoline or 8-mercaptoquinoline and triphenylphosphine. Polyhedron 2014, 68, 46-52. doi:10.1016/j.poly.2013.09.039
- 121. M. Riondato, D. Camporese, D. Martín, J. Suades, A. A. Larena, U. Mazzi. Synthesis and Characterization of [Re(CO)<sub>3</sub>(SS)(P)] Complexes: A [2+1] Concept for <sup>99m</sup>Tc- and <sup>188</sup>Re-Radiopharmaceutical Applications. Eur. J. Inorg. Chem. 2005, 4048–4055. <u>doi:</u> <u>10.1002/ejic.200500247</u>
- M. Sagnou, D. Benaki, C. Triantis, T. Tsotakos, V. Psycharis, C. P. Raptopoulou, I. Pirmettis, M. Papadopoulos, M. Pelecanou. Curcumin as the OO Bidentate Ligand in "2 + 1" Complexes with the [M(CO)<sub>3</sub>] (M =Re, <sup>99m</sup>Tc) Tricarbonyl Core for Radiodiagnostic Applications. Inorg. Chem. 2011, 50, 1295-1303. <u>doi: 10.1021/ic102228u</u>

- 123. H. D. Empsall, B. L. Shaw, B. L. Turtle. Some Complexes of Platinum, Palladium, Nickel, and Cobalt formed from (2-Hyd roxyphenyl) diphenylphosphine and (2-Hydroxyphenyl)di-t-butylphosphine. J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1976, 1500-1506. <u>doi:10.1039/DT9760001500</u>
- 124. B. Nock, T. Maina, F. Tisato, C. P. Raptopoulou, A. Terzis, E. Chiotellis, Oxorhenium Phosphinophenolato Complexes with Model Peptide Fragments: Synthesis, Characterization, and Stability Considerations. Inorg. Chem. 2000, 39, 5197-5202. <u>PMID: 11187465</u>
- 125. L. Miquel, M. Basso-Bert, R. Choukroun, R. Madhouni, B. Eichhorn, M. Sanchez, M. R. Mazi, J. Jaud. Journal of Organometallic Chemistry 490 (1995) 21-28. Synthesis of 2- (diphenylphosphino)phenolato and 2-(diphenylphosphinomethyl)-4-methyl phenolato complexes of titanium and zirconium. X-ray characterization of [(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>ZrCl(OC 6H4PPh<sub>2</sub>)] and [(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>Zr(OC<sub>6</sub>H4PPh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]. Journal of Organometallic Chemistry 1995, 490 (1–2), 21–28. doi:10.1016/0022-328X(94)05197-J
- 126. J. Pietsch, L. Dahlenburg, A. Wolski, H. Berke, I. L. Eremenko. Koordinationschemie funktioneller phosphine II. Carbonyl (nitrosyl) wolfram-komplexe mit 2diphenylphosphinoanisol sowie 2-diphenylphosphinoanilid, -benzoat und -phenolat als Liganden.. Journal of Organometallic Chemistry 1995, 495, 113-125. <u>doi:10.1016/0022-328X(95)05422-L</u>
- 127.C. Bolzati, F. Tisato, F. Refosco, G. Bandoli. Syntheses of monooxo-technetium (V) andrhenium (V) complexes of the (o-hydroxyphenyl)diphenylphosphine ligand (POH). Crystal structure of [TcOCI(PO)<sub>2</sub>] Inorg. Chim. Act. 1996, 247, 125-127. <u>doi:10.1016/0020-1693(95)04835-9</u>
- 128. S. Priya, M. S. Balakrishnaa, J. T. Mague.Mononuclear and heterodinuclear transition metal complexes off unctionalized phosphines. Crystal and molecular structures of [Mo(CO)<sub>5</sub> (RPC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>-o)](R =Ph,C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>-o), [Ru(Ph<sub>2</sub>PC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O-o)<sub>3</sub>], [Pd(Ph<sub>2</sub>PC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O-o)<sub>2</sub>] and [PdCl(Ph<sub>2</sub>PC6H4O-o)(Ph<sub>2</sub>PC6H4OH-o)] J. Organom. Chem. 2004, 689, 3335–3349. doi:10.1016/j.jorganchem.2004.07.041
- 129. R. Schibli, R. Bella, R. Alberto, E. G. Garayoa, K. Ortner, U. Abram, P. A. Schubiger. Influence of the Denticity of Ligand Systems on the in Vitro and in Vivo Behavior of <sup>99m</sup>Tc(I)–Tricarbonyl Complexes: A Hint for the Future Functionalization of Biomolecules. Bioconj. Chem. 2000, 11 (3), 345–351. <u>doi: 10.1021/bc990127h</u>
- 130. I. C. Pirmettis, M. S. Papadopoulos, E. Chiotellis. Novel <sup>99m</sup>Tc aminobisthiolato/ monothiolato
   '3 + 1' mixed ligand complexes: Structure-activity relationships and preliminary in vivo validation as brain blood flow imaging agents. J. Med. Chem. 1997, 40 (16), 2539-46. <u>PMID:</u> <u>9258360</u>

- 131. M.E. Marmion, S.R. Woulfe, W.L. Neumann, D.L. Nosco, E. Deutch. Preparation and characterization of technetium complexes with Schiff base and phosphine coordination. Complexes of technetium-99g and -99m with substituted acac2en and trialkyl phosphines (where acac2en = N, N'-ethylenebis[acetylacetone iminato]). Nucl. Med. Biol 1999, 26 (7), 755-770. doi:10.1016/S0969-8051(99)00040-2
- 132. I. Tsiapa, E.K. Efthimiadou, E. Fragogeorgi, J.D. Hazle, G.C. Kagadis. <sup>99m</sup>Tc-labeled aminosilane-coated iron oxide nanoparticles for molecular imaging of αvβ3-mediated tumor expression and feasibility for hyperthermia treatment. J. Colloid and Interface Science 2014, 433, 163-175 doi:10.1016/j.jcis.2014.07.032
- 133. K.K. Kothari, D. Satpati, S. Joshi, M., Venkatesh, N. Ramamoorthy, M.R.A. Pillai. <sup>99m</sup>Tc carbonyl t-butyl isonitrile: A potential new agent for myocardial perfusion imaging. Nucl. Med. Comm. 2005, 26 (2), 155-161.
- 134. A. C. Filippou, B. Lungwitz, G. Kociok-Kohn, I. Hinz. Half-sandwich rhenium(III) acyl complexes: synthesis, structure and conversion to rhenium(I) and rhenium(III) isonitrile complexes. 1996, 524, (1-2), 133-146. <u>doi:10.1016/S0022-328X(96)06401-7</u>
- **135.** D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, (**2001**) Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chemistry, 3rd Ed., Fort Worth, Harcourt College Publishers.

# ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

- cisc Κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο
- cpm Κρούσεις ανά λεπτό
- CT Αξονική Τομογραφία
- ΕС Σύλληψη Ηλεκτρονίου
- ECD Διαιθυλεστέρας της N, N'αιθυλενοδικυστεΐνης
- fac Facial
- FDG Φθοροδεοξυγλυκόζη
- **HEDP** 1-Υδροξυαιθανο-1,1-

διφωσφονικό οξύ

• HMDP

Υδροξυμεθανοδιφωσφονικό οξύ

ΗΜΡΑΟ Διοξίμη της 3,6,6,9-

τετραμεθυλο-4,8-διαζαενδεκανο-

- 2,10-διόνης
- HPLC Υγρή χρωματογραφία

# Υψηλής Απόδοσης

- ΙC Εσωτερική Μετατροπή
- ID Χορηγούμενη Δόση
- im Ιμιδαζόλιο
- IR Φασματοσκοπία υπερύθρου
- tbi τερτ-βουτυλοϊσοκυανίδιο
- ΙΤ Ισομερής Μετάπτωση
- LET Γραμμική Ενέργεια

Μεταφοράς

- MDP Μεθανοδιφωσφονικό οξύ
- MIBI Εξάκις-(2-μεθοξυ-

ισοβουτυλο-ισοκυανίδιο)

 NMR Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

- PADA Πικολιναμινο-Ν,Ν-διοξικό οξύ
- **PET** Τομογραφία Εκπομπής
   Ποζιτρονίων
- p.i. Μετά την ενέσιμη χορήγηση
- PnAO Προπυλενοαμινο-οξίμη
- RBE Σχετική Βιολογική

Αποτελεσματικότητα

- rt Θερμοκρασία Περιβάλλοντος
- STD Τυπική Απόκλιση
- SPECT Υπολογιστική

Τομογραφία Μονοφωτονιακής Εκπομπής

- TFA Τριφθοροοξικό οξύ
- TMS Τετραμεθυλοσιλάνιο
- tr Χρόνος Έκλουσης
- UV-Vis Υπεριώδες ορατό
- Pyr πυριδίνη