

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΝΕΑ [2+1+1]
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΜΕΙΚΤΩΝ
ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΡΗΝΙΟΥ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΤΙΟΥ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΗ ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΜΥΡΤΩ ΙΣΧΥΡΟΠΟΥΛΟΥ

ΑΘΗΝΑ 2020

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

A. Τσοτίνης

Καθηγητής

Τμήμα Φαρμακευτικής Πανεπιστημίου Αθηνών

M. Παπαδόπουλος

Ερευνητής Α'

ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

I. Πιρμεττής

Ερευνητής Α'

ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

Επιβλέπων

M. Παπαδόπουλος

Ερευνητής Α'

ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

Αφιερωμένο
Στη γιαγιά μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2020 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, ερευνητή Α' στο Εργαστήριο του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. “Δημόκριτος”.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Μηνά Παπαδόπουλο, επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου εργασίας, για την αμέριστη υποστήριξη και τις πολύτιμες υποδείξεις του, ιδιαιτέρως δε, για τη καθοδήγησή του και την εμπιστοσύνη του. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή Α. Τσοτίνη, και τους ερευνητές Α' Μ. Παπαδόπουλο και Ι. Πιρμεττή 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 την Δρ. Μ. Πελεκάνου, ερευνητή Α' του Ι.Π.Ρ.Ε.Τ.Ε.Α. 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.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην μέτα-διδασκαλική ερευνήτρια Ιωάννα Ρούπα για την άρτια υποστήριξη, καθοδήγηση και συμπαράσταση της σε όλο το διάστημα. Επίσης εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες για την βοήθειά τους στους μετα-διδασκαλικούς ερευνητές Αντώνη Σεγκάνη, Χρήστο Κυρίτση, Μιχάλη Καπλάνη, στις διδακτορικές φοιτήτριες Κ. Μακρυπίδη, Α. Παπασάββα και στον μεταπτυχιακό φοιτητή Χ. Φλαμπουράρη.

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.

Αθήνα, Ιούλιος 2020

Περιεχόμενα

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.0 Πυρηνική Ιατρική.....	6
2.0 Πυρηνική Φαρμακευτική	7
3.0 Ραδιοφάρμακα	8
3.1 Διαγνωστικά Ραδιοφάρμακα	8
3.2 Θεραπευτικά Ραδιονουκλίδια	11
4.0 Τα στοιχεία Τεχνητίο και Ρήνιο	12
4.1 Τεχνητίο.....	12
4.1.1 Τεχνητίο – ^{99m}Tc	13
4.1.2 Ραδιοφάρμακα ^{99m}Tc Τεχνητίου	14
4.2 Ρήνιο	17
4.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες ρηνίου και τεχνητίου	18
5.0 Νεότερες στρατηγικές σχεδιασμού ραδιοφαρμάκων.....	19
6.0 Οξειδωτική βαθμίδα (I).....	20
6.1 Διδραστικοί και μονοδραστικοί υποκαταστάτες.....	22
6.2 Σταθερότητα των <i>fac</i> -καρβονυλίων.....	23
7.0 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	24
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ	25
8. Αντιδραστήρια, όργανα και πρώτες ύλες	25
8.1. Υλικά και μέθοδοι.....	25
9. Σύνθεση των συμπλόκων Re.....	26
9.1 Σύνθεση του συμπλόκου $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$	26
10. Σύνθεση συμπλόκων του Re με διαιθυλοδιθειοκαρβαμιδικό υποκαταστάτη (DTC).....	27
10.1 Σύνθεση του <i>fac</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$	27
10.2 Σύνθεση του <i>fac</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$	28
10.3 Σύνθεση του <i>cis-trans</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$	28
10.4 Σύνθεση του <i>cis-trans</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$	29
10.5 Σύνθεση του <i>cis</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$	30
11.0 Σύνθεση συμπλόκων του διθειοκαρβαμικού υποκαταστάτη με ^{99m}Tc	31
11.1 Παρασκευή ^{99m}Tc <i>fac</i> - $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$	31
11.2 Σύνθεση του ^{99m}Tc <i>fac</i> - $[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$, 1'	31
11.3 Σύνθεση του ^{99m}Tc <i>fac</i> - $[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, 2'	32
11.4 Σύνθεση του ^{99m}Tc <i>cis-trans</i> - $[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, 3'	32
11.5 Σύνθεση του ^{99m}Tc <i>cis-trans</i> - $[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, 4'	33

11.6	Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]cis\text{-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, 5'	33
12.0	Μελέτες αξιολόγησης των συμπλόκων του ^{99m}Tc	34
12.1	Μελέτες σταθερότητας των συμπλόκων του ^{99m}Tc	34
12.1.1	Σταθερότητα των συμπλόκων του ^{99m}Tc με την πάροδο του χρόνου.....	34
12.1.2	Σταθερότητα των συμπλόκων του ^{99m}Tc παρουσία περίσσειας κυστεΐνης και ιστιδίνης.....	34
12.2	Μελέτες λιποφιλικότητας των συμπλόκων του ^{99m}Tc	34
12.3	Μελέτες βιοκατανομής σε πειραματόζωα	35
Γ.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	37
13.	Παρασκευή συμπλόκων Re και Tc	37
13.1	Σύνθεση και Ταυτοποίηση συμπλόκων Re, <i>fac</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$, 1 και <i>fac</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, 2	37
13.2	Σύνθεση και Ταυτοποίηση συμπλόκων Re, <i>cis-trans</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, 3 , <i>cis-trans</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, 4 και <i>cis</i> - $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, 5	38
14.0	Παρασκευή συμπλόκων ^{99m}Tc	44
14.1	Σταθερότητα συμπλόκων ^{99m}Tc	46
14.2	Λιποφιλικότητα συμπλόκων ^{99m}Tc	47
14.3	Βιολογική αξιολόγηση των συμπλόκων.....	47
14.3.1	Βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων 1' και 3'	47
14.3.2	Βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων 2' και 4'	48
14.3.3	Συγκριτική βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων 3' - 5'	49
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	51
	Βιβλιογραφία.....	53
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	61
	ABSTRACT	63

Α.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.0 Πυρηνική Ιατρική

Η πυρηνική ιατρική είναι ένας εξειδικευμένος τομέας ακτινολογίας που χρησιμοποιεί πολύ μικρές ποσότητες ραδιενεργών υλικών ή ραδιοφαρμακευτικών προϊόντων για να εξετάσει τη λειτουργία και τη δομή των οργάνων. Η εφαρμογή της πυρηνικής ιατρικής είναι ένας συνδυασμός πολλών διαφορετικών κλάδων. Αυτά περιλαμβάνουν τη χημεία, τη φυσική, τα μαθηματικά, την τεχνολογία των υπολογιστών και την ιατρική. Αυτός ο κλάδος ακτινολογίας χρησιμοποιείται συχνά για να βοηθήσει στη διάγνωση και την αντιμετώπιση ανωμαλιών αρκετά νωρίς στην πρόοδο μιας νόσου, όπως ο καρκίνος του θυρεοειδούς.

Επειδή οι ακτίνες X διαπερνούν τους μαλακούς ιστούς, όπως τα έντερα, τους μύες και τα αιμοφόρα αγγεία, οι ιστοί αυτοί είναι δύσκολο να απεικονιστούν σε μια τυπική ακτινογραφία αν δεν χρησιμοποιηθεί ένας παράγοντας αντίθεσης. Η πυρηνική απεικόνιση επιτρέπει την απεικόνιση της δομής οργάνων και ιστών καθώς και τη λειτουργία. Ο βαθμός στον οποίο ένα ραδιοφαρμακευτικό προϊόν απορροφάται από ένα συγκεκριμένο όργανο ή ιστό μπορεί να υποδεικνύει το επίπεδο σωστής λειτουργίας του οργάνου ή ιστού που μελετάται. Έτσι, οι διαγνωστικές ακτίνες X χρησιμοποιούνται κυρίως για τη μελέτη της ανατομίας. Η πυρηνική απεικόνιση χρησιμοποιείται για τη μελέτη της λειτουργίας των οργάνων και των ιστών.

Η ραδιενεργή ουσία που χρησιμοποιείται για την εξέταση, ονομάζεται ραδιονουκλίδιο (ραδιοφάρμακο ή ραδιενεργός ιχνηθέτης) και απορροφάται από τον ιστό του σώματος. Διάφοροι τύποι ραδιονουκλιδίων είναι διαθέσιμοι, κάποιοι από αυτούς περιλαμβάνουν μορφές των στοιχείων τεχνητό, θάλλιο, γάλλιο, ιώδιο και ξένιο. Ο τύπος του ραδιονουκλιδίου που χρησιμοποιείται εξαρτάται από τον τύπο της μελέτης και το τμήμα του σώματος που μελετάται.

Αφού χορηγηθεί το ραδιονουκλίδιο και συσσωρευτεί στον υπό μελέτη ιστό του σώματος, θα εκπέμπεται ακτινοβολία. Αυτή η ακτινοβολία ανιχνεύεται από ειδικό ανιχνευτή. Ο πιο συνηθισμένος τύπος ανιχνευτή είναι η κάμερα γάμμα. Τα ψηφιακά σήματα παράγονται και αποθηκεύονται από έναν υπολογιστή όταν η κάμερα γάμμα ανιχνεύει ακτινοβολία.

Μειρώντας τη συμπεριφορά του ραδιονουκλιδίου στο σώμα κατά τη διάρκεια μιας πυρηνικής σάρωσης, ο πάροχος υγειονομικής περίθαλψης μπορεί να αξιολογήσει και να διαγνώσει διάφορες καταστάσεις, όπως όγκοι, λοιμώξεις, αιματώματα, διεύρυνση οργάνων ή κύστεις. Μια πυρηνική σάρωση μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της λειτουργίας των οργάνων και της κυκλοφορίας του αίματος.¹

2.0 Πυρηνική Φαρμακευτική

Η ιδέα της πυρηνικής φαρμακευτικής περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1960 από τον καπετάνιο William H. Briner ενώ βρισκόταν στο Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) στη Bethesda του Maryland. Μαζί με τον κ. Briner, ο John E. Christian, ο οποίος ήταν καθηγητής στη Φαρμακευτική Σχολή του Πανεπιστημίου Purdue, είχε γράψει άρθρα και συνέβαλε με άλλους τρόπους για να θέσει το πρώτο στάδιο για την πυρηνική φαρμακευτική. Ο William Briner ξεκίνησε τη Ραδιοφαρμακευτική του NIH το 1958. Οι John Christian και William Briner είχαν και οι δύο ενεργό ρόλο σε βασικές εθνικές επιτροπές αρμόδιες για την ανάπτυξη, ρύθμιση και χρήση ραδιοφαρμακευτικών προϊόντων.

Ο όρος πυρηνική φαρμακευτική δεν υπήρχε, ενώ είχε ξεκινήσει η διαδικασία επισημοποίησης της ετυμολογίας του ραδιοφαρμακοποιού και της ραδιοφαρμακευτικής. Οι ραδιοφαρμακοποιοί (πυρηνικοί φαρμακοποιοί) ήταν ελάχιστοι. Αρκετοί είχαν προηγμένα πτυχία, όπως διδακτορικά και προερχόντουσαν από προγράμματα τα οποία δεν επικεντρωνόντουσαν στον ραδιοφαρμακευτικό τομέα. Όμως, παρατήρησαν την ανάγκη να εφαρμοστεί η φαρμακευτική τους εξειδίκευση για την ανάπτυξη του ραδιοφαρμακευτικού τομέα. Μέχρι το 1970, αρκετοί παράγοντες επηρέασαν την ανάγκη της δημιουργίας της πυρηνικής φαρμακευτικής ως μία ειδικότητα στην φαρμακευτική. Ένα ανεπίσημο δίκτυο ραδιοφαρμακοποιών άρχισαν να ενεργούν σε διεθνείς συγκεντρώσεις. Στην αρχή, οι πυρηνικοί φαρμακοποιοί ήταν εγγεγραμμένοι σαν φαρμακοποιοί, οι οποίοι, λόγω των ειδικών απαιτήσεων στις κλινικές της πυρηνικής ιατρικής, βοήθησαν τους κλινικούς με τα ραδιοφαρμακευτικά προβλήματα. Γενικώς, δεν υπήρχαν ειδικά εκπαιδευτικά προγράμματα ή ειδικά εργαστήρια που μπορούσαν να κάνουν πρακτικές. Φαρμακοποιοί που ενδιαφερόντουσαν να λάβουν την ειδίκευση του ραδιοφαρμακοποιού, έκαναν εξάσκηση κατά τη διάρκεια της δουλειάς τους σε ένα σχετικό εργαστήριο, όπως επιστημών υγείας και ραδιολογίας, ή με το να διδάξουν τους εαυτούς τους, όπως μέσα από συνέδρια ή επαγγελματικές συναντήσεις συσχετισμένες με την πυρηνική ιατρική.²

Στην σημερινή εποχή, από ένα μικρό αριθμό φαρμακοποιών που υπηρετούσαν την πυρηνική ιατρική το 1970, η ειδικότητα αυτή έχει αναπτυχθεί ραγδαία σε παραπάνω από 1.000 ραδιοφαρμακοποιούς, όπου βρίσκονται σήμερα σε νοσοκομεία ή σε εκπαιδευτικά ιδρύματα όπου έχουν κατάλληλες άδειες χρήσης ραδιενέργειας. Η ειδική υπηρεσία πυρηνικής φαρμακοβιομηχανίας για PET είναι πλέον ένα ραγδαία αναπτυσσόμενο πεδίο. Οι υπηρεσίες και τα προνόμια για τους ασθενείς στην πυρηνική ιατρική έχουν εξελιχθεί ως απόρροια του οράματος, της αφιέρωσης και των προσπαθειών μερικών ανθρώπων όπου συνειδητοποίησαν τη σημασία της εξέλιξης της ραδιοφαρμακευτικής.³

3.0 Ραδιοφάρμακα

Είναι οργανικές ή ανόργανες ενώσεις ραδιονουκλιδίων, οι οποίες προορίζονται για χρήσιμη και ασφαλή χορήγηση στον άνθρωπο. Ανάλογα με το είδος της ακτινοβολίας που εκπέμπουν, χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση ή τη θεραπεία παθήσεων.

Τα ραδιοφάρμακα μετά τη χορήγησή τους στον οργανισμό, ανάλογα με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες αθροίζονται εκλεκτικά σε ένα συγκεκριμένο όργανο-στόχο ή σύστημα, στο οποίο παραμένουν για μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα.

Διάφοροι όροι, οι οποίοι χαρακτηρίζουν τα συμβατικά φάρμακα, όπως η μέγιστη εφάπαξ ή η μέγιστη ημερησία δόση, δεν χαρακτηρίζουν τα ραδιοφάρμακα για τα οποία η έννοια της “δόσης” αναφέρεται στη χορηγούμενη ακτινοβολία και όχι στην ποσότητα της χορηγούμενης ουσίας.

Η χορήγηση γίνεται εφάπαξ σε δόση ακτινοβολίας τόση ώστε να διεκπεραιωθεί η εξέταση για την οποία προορίζονται. Η έννοια της “θεραπευτικής δόσης” όταν χρησιμοποιείται στα ραδιοφάρμακα αφορά στην ποσότητα ακτινοβολίας που δρα θεραπευτικά.

Το ραδιοφάρμακο, ανάλογα με τις φυσικοχημικές ή βιολογικές ιδιότητές του καθλώνεται για μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα σε όργανα ή ιστούς μεταφέροντας δόση ακτινοβολίας στο όργανο-στόχο. Η ακτινοβολία αυτή είτε δρα θεραπευτικά, είτε ανιχνεύεται εξωτερικά με κατάλληλη ανιχνευτική διάταξη και χρησιμεύει για τη μελέτη της λειτουργικότητας του οργάνου ή τον εντοπισμό τυχούσας βλάβης.^{4,5}

3.1 Διαγνωστικά Ραδιοφάρμακα

Τα διαγνωστικά ραδιοφάρμακα φέρουν στο μόριο τους ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν γ ακτινοβολία ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{123}I ή ποζιτρόνια (β^+) ^{201}Tl , ^{64}Cu , ^{18}F κλπ. Η εκπομπή ποζιτρονίων συνεπάγεται το φαινόμενο της εξαϋλώσης και την έμμεση δημιουργία ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (2 γ , 511 keV). Η δόση ακτινοβολίας που χορηγείται είναι κατάλληλη για τη διεκπεραίωση της εξέτασης δηλαδή της απεικόνισης των παθολογικών εστιών εκπέμποντας ραδιενέργεια που ανιχνεύεται από ειδικές εξωτερικές απεικονιστικές διατάξεις.⁴

Το ραδιονουκλίδιο το οποίο χρησιμοποιείται στην ανάπτυξη ραδιοφαρμάκων για διαγνωστική χρήση πρέπει να έχει τις εξής ιδιότητες:

- Να εκπέμπει αποκλειστικά ηλεκτρομαγνητική γ ακτινοβολία χωρίς την ταυτόχρονη εκπομπή σωματιδιακής ακτινοβολίας (α ή β^-).
- Η γ ακτινοβολία την οποία εκπέμπει πρέπει να είναι μονοενεργειακή, ενέργειας άνω των 80 KeV (μέση ενέργεια 150 KeV), ώστε να είναι δυνατή η ανίχνευσή της με τις υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις (γ -camera). Ραδιονουκλίδια που εκπέμπουν ποζιτρόνια ανιχνεύονται με PET camera.

- Να έχει χρόνο ημιζωής επαρκή για τη σύνθεση του ραδιοφαρμάκου και την ολοκλήρωση της εξέτασης για την οποία προορίζεται. Τα ραδιονουκλίδια με πολύ μεγάλους χρόνους ημιζωής πρέπει να αποφεύγονται, ώστε να μην ακτινοβολείται άσκοπα ο ασθενής.
- Να έχει μέθοδο παραγωγής εύκολη και χαμηλού κόστους.
- Να έχει υψηλή ειδική ραδιενέργεια.

Όλοι οι παραπάνω παράγοντες περιορίζουν σημαντικά τον αριθμό των ραδιονουκλιδίων τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην ανάπτυξη νέων ραδιοφαρμάκων. Κατά συνέπεια ένας μικρός αριθμός ραδιονουκλιδίων χρησιμοποιείται σήμερα στην Πυρηνική Ιατρική για διαγνωστικούς σκοπούς. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα “διαγνωστικά” ραδιονουκλίδια είναι το τεχνητίο-99m (^{99m}Tc), το ινδίο-111 (^{111}In), το ιώδιο-123 (^{123}I) και το φθόριο-18 (^{18}F). Ραδιονουκλίδιο επιλογής στην Πυρηνική Ιατρική είναι το ^{99m}Tc το οποίο χρησιμοποιείται σε περισσότερο από το 85 % των διαγνωστικών εξετάσεων.⁶

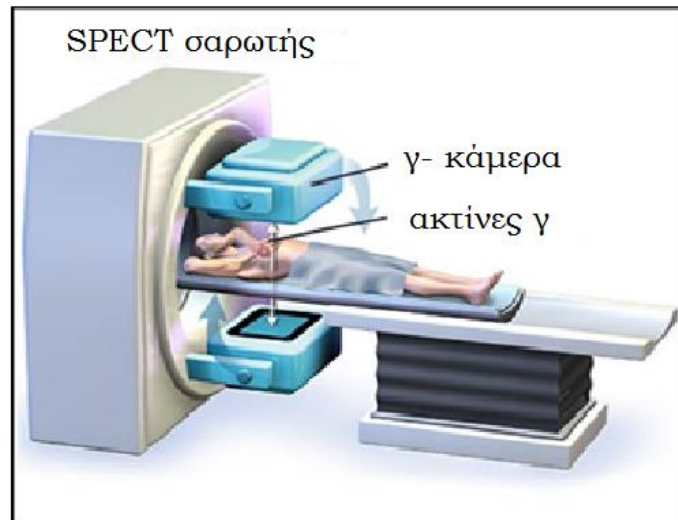
Η ανιχνευτική διάταξη που χρησιμοποιείται σήμερα για τα διαγνωστικά ραδιονουκλίδια είναι η γ-camera (Εικόνα 3.1). Πρόκειται για μία διάταξη η οποία ανιχνεύει ακτίνες γ που εκπέμπονται από μια πηγή και επιτρέπει την απεικόνιση της κατανομής της ραδιενέργειας σε δύο διαστάσεις (PS: Planar Scintigraphy). Μια γ-camera αποτελείται από ένα κρύσταλλο ιωδιούχου νατρίου με ενεργοποιητή θάλλιο, NaI (Tl), μια σειρά φωτοπολλαπλασιαστών και ένα υπολογιστικό σύστημα ανάλυσης δεδομένων.^{7,8}



Εικόνα 3.1 Λειτουργικά μέρη γ κάμερας⁹

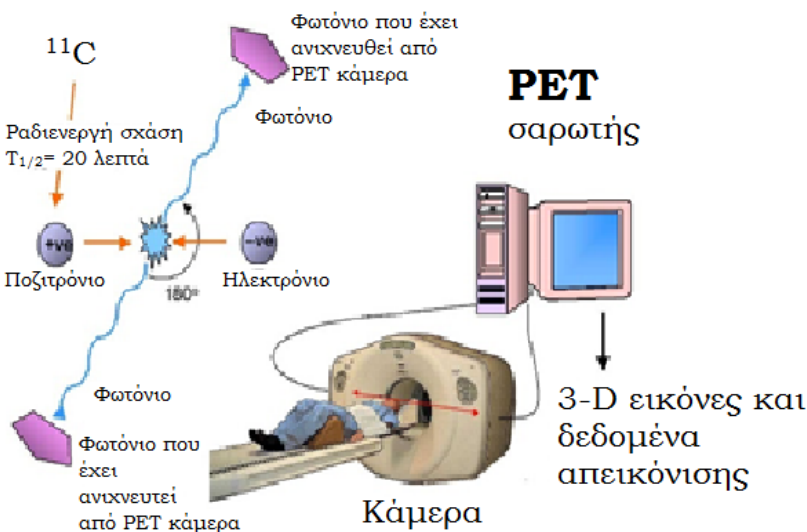
Για τη λήψη ευκρινέστερων απεικονίσεων χρησιμοποιείται μια πιο εξελιγμένη εκδοχή της απλής σπινθηρογραφικής απεικόνισης, η υπολογιστική τομογραφία μονοφωτονιακής εκπομπής (SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography). Το σύστημα SPECT (Εικόνα 3.2) αποτελείται από μία κλασική γ-camera με 1 έως 4 ανιχνευτές προσαρμοσμένους σε βραχίονα ώστε να είναι δυνατή η περιστροφή τους γύρω από το σώμα του εξεταζόμενου. Με αυτό τον τρόπο παρέχεται η δυνατότητα τρισδιάστατης τομογραφικής απεικόνισης. Τα ραδιοφάρμακα που χρησιμοποιούνται κυρίως για SPECT, είναι ενώσεις

επισημασμένες με ραδιονουκλίδια όπως το ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{201}Tl , τα οποία έχουν μονοενεργειακή ακτινοβολία γ μέσης ενέργειας περίπου 150 KeV.^{10,11}



Εικόνα 3.2 SPECT κάμερα

Η ραγδαία εξέλιξη της τεχνολογίας οδήγησε στην ανάπτυξη μιας νέας ανιχνευτικής διάταξης γνωστής ως PET (Εικόνα 3.3) κάμερα.¹² Σύμφωνα με την αρχή λειτουργίας της, η απεικόνιση βασίζεται στην ταυτόχρονη ανίχνευση ζευγών αντιδιαμετρικών φωτονίων ενέργειας 511 KeV τα οποία προέρχονται από την εξαΰλωση των ποζιτρονίων. Η τεχνική ονομάζεται τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET: Positron Emission Tomography) και δίνει τη δυνατότητα μελέτης και ποσοτικού προσδιορισμού φυσιολογικών διεργασιών στον οργανισμό όπως μέτρησης της αιματικής ροής, του μεταβολισμού του οξυγόνου και της γλυκόζης. Το πιο χαρακτηριστικό ραδιονουκλίδιο αυτής της κατηγορίας είναι το ^{18}F ($t_{1/2} = 109.7 \text{ min}$) και το πιο χρησιμοποιούμενο ραδιοφάρμακο είναι η ^{18}F FDG (Fluoro Deoxy Glucose). Άλλα ραδιονουκλίδια αυτής της κατηγορίας είναι τα: ^{11}C ($t_{1/2} = 20.3 \text{ min}$), ^{13}N ($t_{1/2} = 9.9 \text{ min}$) και ^{18}O ($t_{1/2} = 123 \text{ sec}$)¹³



Εικόνα 3.3 PET κάμερα¹⁴

3.2 Θεραπευτικά Ραδιονουκλίδια

Τα θεραπευτικά ραδιοφάρμακα φέρουν στο μόριο τους ραδιονουκλίδια τα οποία διασπώνται με έναν από τους παρακάτω τρεις τρόπους:

- (i) με εκπομπή σωματιδίων β^- ,
- (ii) με εκπομπή σωματιδίων α και
- (iii) με εκπομπή ηλεκτρονίων Auger¹⁵.

Κάθε τύπος σωματιδίων που εκπέμπεται έχει διαφορετική εμβέλεια στους ιστούς, διαφορετικά επίπεδα γραμμικής ενέργειας μεταφοράς (LET: Linear Energy Transfer)^{16,17}, καθώς και διαφορετική σχετική βιολογική αποτελεσματικότητα (RBE: Relative Biological Effectiveness).^{16,17}

Οι χρόνοι ημιζώης των περισσότερων ραδιονουκλιδίων που χρησιμοποιούνται για θεραπεία είναι σχετικά μικροί ($t_{1/2} < 10$ days). Στον Πίνακα 3.1 συνοψίζονται τα κυριότερα ραδιονουκλίδια που χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική. Σημαντική θέση κατέχουν τα ¹⁸⁶Re και ¹⁸⁸Re^{4,15} εξαιτίας της μεγάλης διεισδυτικής ικανότητας της β^- ακτινοβολίας^{15,17} και της μονοενεργειακής γ ακτινοβολίας τους, γεγονός που επιτρέπει τη μελέτη της *in vivo* κατανομής του ραδιοσκευάσματος.

Πίνακας 3.1 Θεραπευτικά Ραδιονουκλίδια

Ραδιονουκλίδιο	$t_{1/2}$	Τρόπος διάσπασης	Ενέργεια (KeV)	Εφαρμογή
¹⁸⁶ Re	90h	β^-	γ 137 β^- 1075	Θεραπεία όγκων
¹⁸⁸ Re	17.0h	β^-	γ 155 β^- 2120	Θεραπεία καρκινώματος εγκεφάλου και οστών
¹³¹ I	8.0d	β^-	γ 364 β^- 810	Θεραπεία όγκων θυροειδούς & ήπατος
¹¹¹ In	67.2h	Auger e^-	γ 172, 247	RIT με mAbs (οκτρεοτίδιο)
⁹⁰ Y	64.1h	β^-	β^- 2281	Θεραπεία όγκων
¹⁵³ Sm	46.7h	β^-	γ 103 β^- 810	Θεραπεία οστικών όγκων και μεταστάσεων

4.0 Τα στοιχεία Τεχνητό και Ρήνιο

4.1 Τεχνητό

Το στοιχείο τεχνητό ($Z = 43$)^{18,19} ανήκει στην 5^η περίοδο, στην 2^η σειρά των στοιχείων μετάπτωσης και μαζί με τα στοιχεία μαγγάνιο και ρήνιο απαρτίζουν την 7^η ομάδα (VIIB) του Περιοδικού Πίνακα. Το τεχνητό είναι το τελευταίο από τα στοιχεία μετάπτωσης που ανακαλύφθηκε, έχει 7 ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στοιβάδα και η ηλεκτρονική δομή του είναι $[\text{Kr}]4d^55s^2$. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ο Mendeleev είχε προβλέψει την θέση του στον Περιοδικό Πίνακα (Εικόνα 4.1) ανάμεσα στο μολυβδαίνιο και το ρουθίνιο αλλά παρέμενε κενή μέχρι το 1937.

Εικόνα 4.1 Ραδιενεργά στοιχεία²⁰

Το 1937, οι Ιταλοί ερευνητές Emilio Segrè και ο Carlo Perrier απομόνωσαν το στοιχείο 43 σε φύλλο μολυβδαίνιου, το οποίο είχε ακτινοβοληθεί για μήνες με σωματίδια β σε κύκλο στο Berkley²¹ της Καλιφόρνιας. Ο Segrè λόγω άγνοιας της επικινδυνότητας της ραδιενέργειας, έστειλε ταχυδρομικά το ακτινοβολημένο υλικό στο Palermo της Σικελίας. Όπου εκεί το νέο στοιχείο μπόρεσε να απομονωθεί με βρασμό με καυστικό νάτριο, παρουσία ιχνών υπεροξειδίου του υδρογόνου. Επειδή το στοιχείο αυτό δεν συναντάται στη φύση και η απομόνωση του έγινε με χημικές τεχνικές, αυτό θεωρήθηκε 'τεχνητό'²¹ και έλαβε το Ελληνικό όνομα Τεχνητό.

Από τα ραδιονουκλίδια του τεχνητίου τη σημαντικότερη θέση κατέχει το μετασταθερό ^{99m}Tc ($t_{1/2} = 6.02\text{h}$)²² λόγω της εκτεταμένης χρήσης του στη διάγνωση και το ψευδοσταθερό ^{99}Tc το οποίο κατέστησε δυνατή τη μελέτη της δομής των ραδιοφαρμάκων του ^{99m}Tc .

4.1.1 Τεχνητίο – ^{99m}Tc

Στην Πυρηνική Ιατρική το μετασταθερό ^{99m}Tc χρησιμοποιείται εκτεταμένα ως διαγνωστικός παράγοντας εξαιτίας των καλών φυσικών ιδιοτήτων του. Ο χρόνος ημιζωής του ^{99m}Tc ($t_{1/2}=6.02$ hours) είναι επαρκής για την σύνθεση ραδιοφαρμάκων και τη χρήση σε πλήθος εξετάσεων, χωρίς την ιδιαίτερη επιβάρυνση των ασθενών να εκτίθενται για πολύ χρόνο σε ραδιενέργεια. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η έλλειψη σωματιδιακής β^- ακτινοβολίας.

Η γ ακτινοβολία, ενέργειας 140.5 KeV, διαπερνά ευχερώς τους ιστούς του σώματος και ανιχνεύεται εύκολα από τις υπάρχουσες ανιχνευτικές διατάξεις. Οι υψηλοί αριθμοί κρούσεων που προέρχονται από τη χορηγούμενη ποσότητα ακτινοβολίας παρέχουν τη δυνατότητα μετρήσεων με μεγάλη ακρίβεια.

Στα πλεονεκτήματά αυτά του ^{99m}Tc προστίθεται και το συγκριτικά μικρό κόστος παρασκευής του καθώς και η ικανότητα διάθεσής του σε μεγάλες αποστάσεις από τον τόπο παραγωγής του με τις γεννήτριες $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$.²³

Μέθοδος παραγωγής του ^{99m}Tc

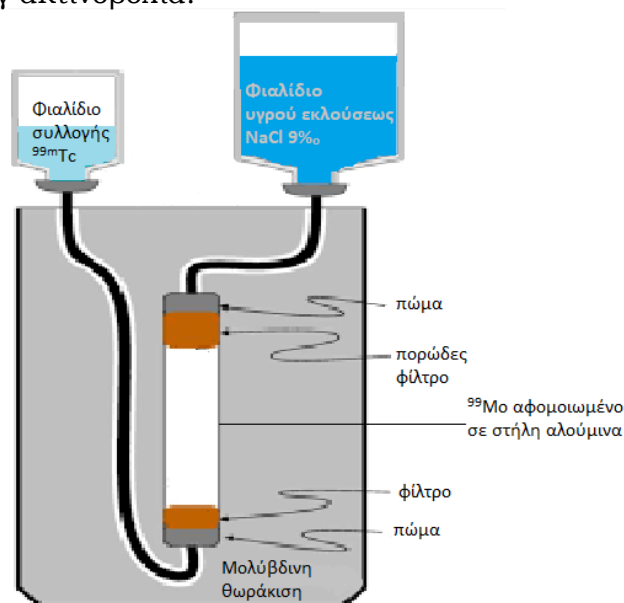
Το ^{99m}Tc παράγεται κατά τη διάσπαση του μητρικού ραδιονουκλιδίου ^{99}Mo . Το ^{99}Mo ($t_{1/2} = 66.02$ ώρες) διασπάται με εκπομπή β^- ακτινοβολίας προς το μετασταθερό ραδιονουκλίδιο ^{99m}Tc (87.5 %) και προς το ψευδοσταθερό ^{99}Tc (12.5 %). Το ^{99m}Tc διασπάται με εκπομπή γ ακτινοβολίας (140.5 KeV) προς το ^{99}Tc . Αυτό στη συνέχεια υφίσταται μεταστοιχείωση προς το σταθερό ρουθίνιο (^{99}Ru) με εκπομπή β^- ακτινοβολίας.

Το ^{99}Mo απομονώνεται από τα προϊόντα σχάσης με ειδική χημική κατεργασία, είναι υψηλής ειδικής ραδιενέργειας με συνηθέστερες προσμίξεις ^{131}I και ^{103}Ru και χρησιμοποιείται για την παρασκευή γεννητριών $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$. Ο διαχωρισμός του παραγόμενου ^{99m}Tc από το μητρικό του ^{99}Mo βασίζεται στις διαφορές της σταθεράς διασπάσεως (λ)²⁴ των δύο νουκλιδίων σε συνδυασμό με τις διαφορετικές τους χημικές ιδιότητες.

Για το διαχωρισμό του θυγατρικού ^{99m}Tc από τον μητρικό ^{99}Mo χρησιμοποιείται η χρωματογραφία στήλης²⁵:

Πρόκειται για την πιο απλή, εύχρηστη και κατά συνέπεια πιο διαδεδομένη μέθοδο. Σε αυτή τη μέθοδο στηρίχτηκε η ανάπτυξη των γεννητριών $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$, συστήματα τα οποία χρησιμοποιούνται για εύκολη παραγωγή στείρου διαλύματος υπερτεχνητικού νατρίου κατάλληλο για φαρμακευτικές εφαρμογές. Οι γεννήτριες $^{99}\text{Mo} - ^{99m}\text{Tc}$ κατέστησαν δυνατή την εύκολη διάθεση του ραδιονουκλιδίου σε μακρινές αποστάσεις από τον τόπο παραγωγής, γεγονός που συνετέλεσε σημαντικά στην καθιέρωση του ^{99m}Tc ως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ραδιονουκλίδιο στην Πυρηνική Ιατρική. Οι γεννήτριες είναι ανθεκτικά συστήματα, μικρών διαστάσεων και αποτελούνται από μικρή γυάλινη στήλη χρωματογραφίας η οποία περιέχει οξείδιο του αργιλίου (Εικόνα 4.1.1). Στη στήλη αυτή είναι επιστοιβαδευμένο το μητρικό ραδιονουκλίδιο με τη μορφή μολυβδαινικών ανιόντων $[\text{}^{99}\text{MoO}_4]^{2-}$, το οποίο διασπώμενο παράγει συνεχώς το

θυγατρικό ^{99m}Tc με τη μορφή $[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^-$. Αυτό αποχωρίζεται με έκλυση της στήλης με στείρο διάλυμα φυσιολογικού ορού ενώ τα $[\text{}^{99}\text{MoO}_4]^{2-}$ κατακρατούνται στη στήλη. Μετά το τέλος κάθε έκλυσης το ^{99m}Tc αρχίζει και πάλι να αναγεννιάται από το μητρικό ^{99}Mo μέσα στη στήλη ενώ την ίδια στιγμή διασπάζεται προς ^{99}Tc εκπέμποντας γ ακτινοβολία.



Εικόνα 4.1.1 Γεννήτρια $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ ²⁶

Η ειδική ραδιενέργεια του ^{99m}Tc είναι της τάξεως του 10^6 Ci/g. Ως ειδική ραδιενέργεια ενός ραδιονουκλιδίου ορίζεται το πηλίκο της ραδιενέργειας προς τη μάζα του.²⁷ Η συγκέντρωση ^{99m}Tc στο διάλυμα έκλυσης της γεννήτριας είναι πολύ χαμηλή, της τάξης των nM. Το γεγονός αυτό καθιστά αδύνατη τη χρήση των κλασικών αναλυτικών μεθόδων, όπως στοιχειακή ανάλυση, φασματοσκοπία NMR, IR, UV-Vis, φασματογράφο μάζας και κρυσταλλογραφική ανάλυση με ακτίνες X.²⁸⁻³⁰ Οι αναλυτικές μέθοδοι που συνήθως χρησιμοποιούνται σε επίπεδο ^{99m}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.^{5,31-34} 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 χρησιμοποιούνται, προέκυψαν με τη χρήση είτε του ψευδοσταθερού ισοτόπου ^{99}Tc , είτε του $^{185/187}\text{Re}$.^{4,32,33}

4.1.2 Ραδιοφάρμακα ^{99m}Tc τεχνητίου

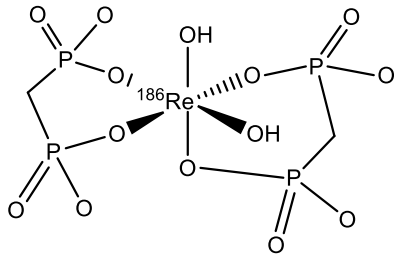
Τα ραδιοφάρμακα του τεχνητίου παρέχουν πληροφορίες τόσο για τη μορφολογία, όσο και για τη λειτουργία διαφόρων οργάνων ή συστημάτων του ανθρώπινου σώματος.³⁴⁻³⁶ Οι ενώσεις αυτές μπορούν να ταξινομηθούν (Πίνακας 4.1.2), ανάλογα με τη χρονολογία ανάπτυξης και εφαρμογής τους ως ραδιοφάρμακα πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς.^{4,37,46-53,38-45} Η βασική έρευνα γύρω από το ραδιονουκλίδιο του ^{99m}Tc και τα ραδιοφάρμακά του, προχωρεί με γοργό ρυθμό, με αποτέλεσμα η Ραδιοφαρμακευτική Χημεία του τεχνητίου να ξεχωρίζει ως ιδιαίτερος κλάδος της ραδιοφαρμακευτικής.⁵⁴⁻⁶³

Πίνακας 4.1.2 Ραδιοφάρμακα Τεχνητίου

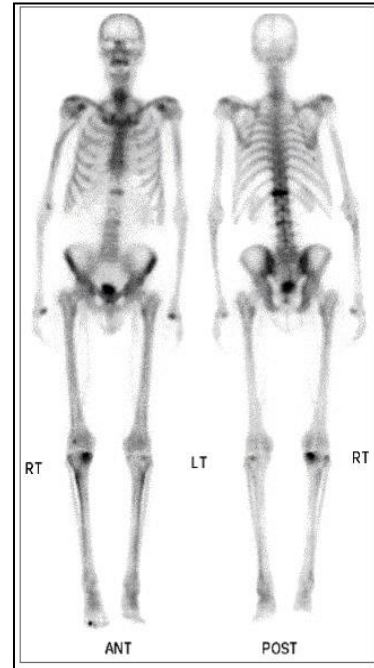
	ΡΑΔΙΟΦΑΡΜΑΚΟ	ΕΞΕΤΑΣΗ
1^{ης} γενιάς	Na^{99m}TcO₄	Απεικόνιση θυροειδούς και σιελογόνου αδένων
	^{99m}Tc-DTPA	Απεικόνιση νεφρών
	^{99m}Tc-HIDA	Απεικόνιση ήπατος
	^{99m}Tc-tagged red blood cells	Ανίχνευση ηπατικού αιμαγγειώματος
	^{99m}Tc-sulfur colloid	Απεικόνιση σπλήνα, ήπατος, μυελού των οστών
	^{99m}Tc-MDP	Απεικόνιση οστών
2^{ης} γενιάς	^{99m}Tc-MAG3	Απεικόνιση νεφρών
	^{99m}Tc-HMPAO	Απεικόνιση τοπικής εγκεφαλικής ροής
	^{99m}Tc-DTPA	Σπινθηρογράφημα νεφρών
	^{99m}Tc-ECD	Αξιολόγηση ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων
	^{99m}Tc-tetrofosmin	Απεικόνιση μυοκαρδίου
	^{99m}Tc-sestamibi	Απεικόνιση μυοκαρδίου
3^{ης} γενιάς	^{99m}Tc-CI(SS-estradiol)(CO)₃	Απεικόνιση υποδοχέων οιστρογόνων
	^{99m}Tc-TRODAT	Απεικόνιση υποδοχέων ντοπαμίνης

Τα ραδιοφάρμακα πρώτης γενιάς τα οποία αναπτύχθηκαν κατά τη δεκαετία του 1960 και του 1970 περιλαμβάνουν σχετικά απλές ενώσεις, κολλοειδή σωματίδια και μικροσωματίδια επισημασμένα με τεχνητίο.⁵ Το 1971 χαρακτηρίζεται από τη σημαντική ανακάλυψη άγνωστης δομής συμπλόκων του ^{99m}Tc με διφωσφονικές ενώσεις, τα οποία δίνουν εξαιρετικά αποτελέσματα στην απεικόνιση του σκελετικού συστήματος και καρκινικών μεταστάσεων στα οστά.^{35,36,46,47}

Οι διφωσφονικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι τα μεθανοδιφωσφονικό οξύ (MDP) (DRAXIMAGE® MDP-25), υδροξυμεθανοδιφωσφονικό οξύ (HMDP) (Technescan™ HDP), 1-υδροξυαιθανο-1,1-διφωσφονικό οξύ (HEDP) και 1-υδροξυ-4-αμινοβουτανο-1,1-διφωσφονικό οξύ (ABP) (Εικόνα 4.1.2).⁶⁴



Σχήμα 4.1.2 Προτεινόμενη δομές ^{186}Re -HEDP

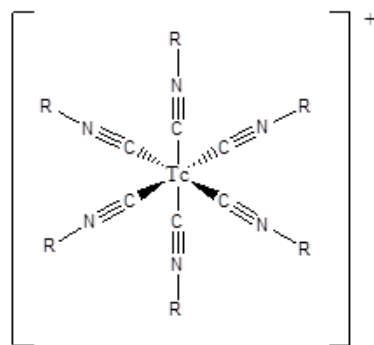


Εικόνα 4.1.2 Τυπική σάρωση οστού που παράγεται από ιατρική απεικόνιση ενός ασθενούς με $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP

Επίσης πολύ σημαντικό ραδιοφάρμακο του τεχνητίου είναι το μονοκατιονικό σύμπλοκο $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi, το οποίο κυκλοφορεί με το εμπορικό όνομα Cardiolite (Bristol-Myers Squibb). Το σύμπλοκο σχηματίζεται με τη συναρμογή έξι (sesta) μορίων MIBI (MIBI: 2-Methoxyisobutylisocyanide) στο $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Είναι το πρώτο κλινικά χρησιμοποιούμενο σύμπλοκο στην Πυρηνική Ιατρική στην οξειδωτική βαθμίδα I και χρησιμοποιείται για απεικόνιση του μυοκαρδίου (Σχήμα 4.1.3).⁶³

Σχήμα 4.1.3 Αριστερά: δομή του συμπλόκου $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi.

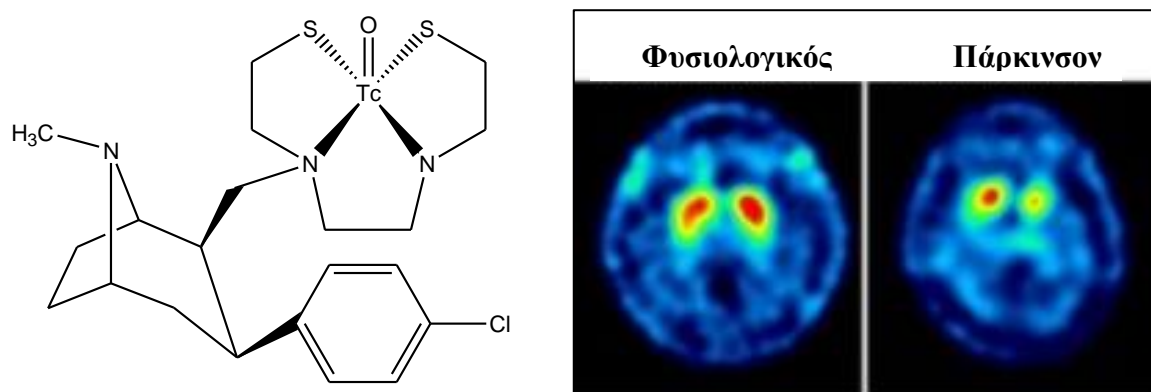
Δεξιά: απεικόνιση με $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi



R: $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OCH}_3)(\text{CH}_3)$



Στη συνέχεια άρχισε η ανάπτυξη ραδιοφαρμάκων του ^{99m}Tc τρίτης γενεάς. Βασικό ζητούμενο της κατηγορίας αυτής είναι τα ραδιοφάρμακα να δεσμεύονται σε υποδοχείς.⁶⁵ Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σύμπλοκο ^{99m}Tc -TRODAT που περιλαμβάνει ένα περιφερειακό ligand της ομάδας των διαμινοδιθειολών ο οποίος συνδέεται με δακτύλιο τροπανίου (Σχήμα 4.1.4). Το σύμπλοκο αυτό χρησιμοποιείται με επιτυχία για την απεικόνιση των ντοπαμινεργικών νευροδιαβιβαστών και έχει στόχο την *in vivo* εκτίμηση της απώλειας ντοπαμινεργικών νευρώνων κατά τη νόσο του Parkinson και άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες.⁶⁶⁻⁶⁸



Σχήμα 4.1.4. Αριστερά, δομή του ^{99m}Tc -TRODAT-1. Δεξιά, εικόνα φυσιολογικού και Παρκινσονικού εγκεφάλου με χρήση ^{99m}Tc -TRODAT-1

4.2 Ρήνιο

Το ρήνιο είναι το 75^ο στοιχείο του Περιοδικού Πίνακα. Ανήκει στην έκτη περίοδο και στην 7^η ομάδα (VIIB) του Περιοδικού Πίνακα και η ηλεκτρονική του δομή είναι $[\text{Xe}]4f^{14}5d^56s^2$. Ο Mendeleev είχε προβλέψει το 1871 την ύπαρξη του ρηνίου, όπως και του τεχνητίου στον Περιοδικό Πίνακα ως ομολόγου του μαγγανίου, όμως πέρασε μισός αιώνας για να γίνει η ταυτοποίησή του.^{69,70} Η ανακάλυψή του αποδίδεται στους W. Noddack, I. Tacke και O. Berg.^{30,35}

Στη φύση το ρήνιο συναντάται σαν μίγμα του μοναδικού σταθερού ισότοπου του ^{185}Re και του ασταθούς αλλά εξαιρετικά μακρόβιου ραδιοϊσοτόπου ^{187}Re .⁷¹ Το φυσικό ισότοπο ^{187}Re έχει χρόνο ημιζωής $7 \cdot 10^{10}$ έτη, εκπέμπει ασθενή ακτινοβολία β^- ($\beta^-_{\text{max}} = 0.003 \text{ MeV}$) και μεταπίπτει στο θυγατρικό ^{187}Os .⁷² Εκτός από τα δύο αυτά φυσικά ισότοπα του ρηνίου έχουν συντεθεί και τεχνητά ισότοπα.

Το φυσικό ρήνιο ($^{185}/^{187}\text{Re}$) χρησιμοποιείται εναλλακτικά με το ^{99}Tc για την ταυτοποίηση των συμπλόκων του ^{99m}Tc καθώς οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες είναι παρόμοιες.

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 ^{186}Re και ^{188}Re εκπέμπουν ακτινοβολία β^- κατάλληλης ενέργειας για το σκοπό αυτό.⁷³ Δεδομένου ότι η ισχυρή ακτινοβολία β^- είναι κυτταροτοξική, κατάλληλα σχεδιασμένα ραδιοφάρμακα των δυο αυτών ραδιονουκλιδίων βρίσκουν εφαρμογή στην

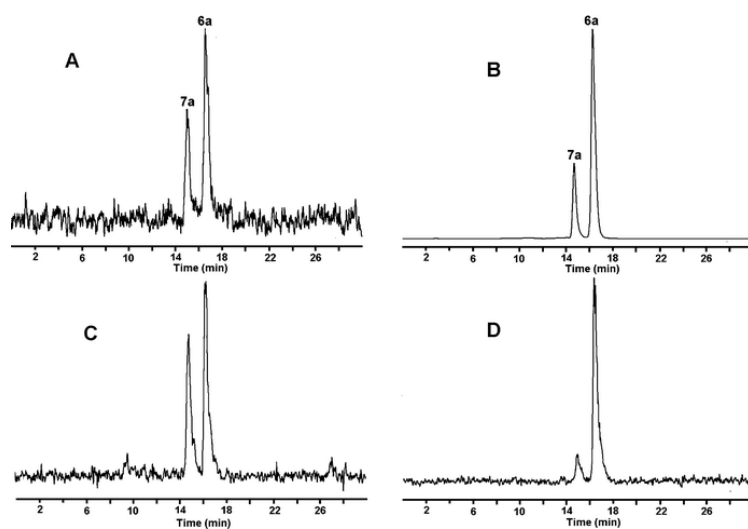
Πυρηνική Ογκολογία.^{4,73} Με βάση τη διεισδυτική ικανότητα της ακτινοβολίας που εκπέμπουν στους ανθρώπινους ιστούς, το ¹⁸⁶Re (εμβέλεια σε ιστούς: 5 mm) είναι κατάλληλο για θεραπεία μικρών όγκων, ενώ το ¹⁸⁸Re (εμβέλεια σε ιστούς: 11 mm) προορίζεται για μεγαλύτερες καρκινικές μάζες.⁷⁴⁻⁷⁶

4.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες ρηνίου και τεχνητίου

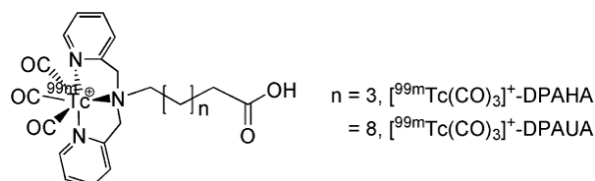
Το τεχνητίο και το ρήνιο έχουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες. Ανήκουν και τα δυο στα στοιχεία μετάπτωσης της 7^{ης} ομάδας του Περιοδικού Πίνακα. Η χημική αυτή συμπεριφορά είναι γενική για τα στοιχεία μετάπτωσης της δεύτερης και της τρίτης σειράς τα οποία ανήκουν στην ίδια υποομάδα και οφείλεται στη λανθανιδική συστολή. 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 4f.³⁰ Έτσι οι ατομικές ακτίνες του τεχνητίου και του ρηνίου είναι ισοδύναμες και επομένως έχουν σε μεγάλο βαθμό παρόμοιες ιδιότητες.⁷⁷

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

Το Re και το Tc σχηματίζουν με τους ίδιους υποκαταστάτες, παρόμοια σύμπλοκα, για αυτό και τα σύμπλοκα Re επειδή δεν είναι ραδιενεργά και μπορούν να χαρακτηριστούν πιο εύκολα. Για αυτό χρησιμοποιούνται ως ταυτοποίηση για τα σύμπλοκα του Tc. Ένας τρόπος ταυτοποίησης είναι η ταυτόχρονη χορήγηση ραδιενεργού και μη ραδιενεργού συμπλόκου από την HPLC, επειδή οι χρόνοι έκλυσης είναι παραπλήσιοι. Ακολουθεί παράδειγμα εικόνας (Εικόνα 4.3.1 & 4.3.2) από HPLC συμπλόκων ρηνίου και τεχνητίου με τους ίδιους υποκαταστάτες.



Εικόνα 4.3.1 Χρόνοι έκλυσης συμπλόκων *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃DPAUA](A), *fac*-[Re(CO)₃(DPAUA)](B), *fac*-[^{99m}Tc(CO)₃(DPAHA)](C), *fac*-[Re(CO)₃(DPAHA)](D) από Co-injection σε HPLC



Εικόνα 4.3.2 Δομή συμπλόκων ως παράδειγμα στην HPLC εικόνας 4.3.1

5.0 Νεότερες στρατηγικές σχεδιασμού ραδιοφαρμάκων

Η ανάπτυξη νέων ραδιοφαρμάκων γινόταν κυρίως εμπειρικά και η πλειοψηφία των αποτελεσμάτων ήταν ενώσεις άγνωστης δομής. Πλέον, τα νέα εξειδικευμένα ραδιοφάρμακα αναπτύσσονται βάση ορθολογικού σχεδιασμού, ώστε να κατευθύνονται στο επιλεγόμενο όργανο-στόχο και να δεσμεύονται εκλεκτικά.⁷⁸ Ο προσανατολισμός των σύγχρονων ερευνών είναι στο σχεδιασμό εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων φέροντος κατάλληλα φαρμακομόρια ώστε να υπάρχει εκλεκτική αλληλεπίδραση σε κυτταρικό ή μοριακό επίπεδο με βιολογικό υπόστρωμα. Κατά συνέπεια, η φυσιοπαθολογία μίας νόσου ερευνάται διεξοδικά, έχοντας ως απότερω σκοπό την αποτελεσματικότερη διάγνωση και πρόγνωση διάφορων ασθενειών καθώς επίσης και τον σχεδιασμό εξατομικευμένων θεραπευτικών σχημάτων.⁷⁸

Η στρατηγική σχεδιασμού νέων ραδιοφαρμάκων του τεχνητίου περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

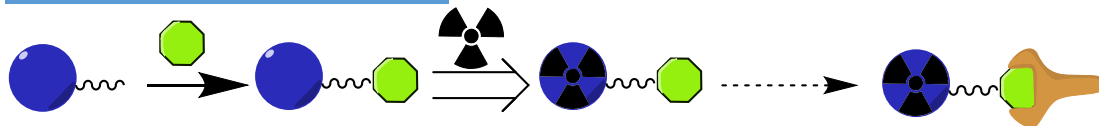
- i. Επιλογή της κατάλληλης οξειδωτικής βαθμίδας του μετάλλου.
- ii. Σταθεροποίηση του μετάλλου με τους κατάλληλους υποκαταστάτες ώστε να σχηματιστεί σταθερό και βιολογικά αδρανές σύμπλοκο. Ο πυρήνας του μετάλλου μαζί με τον περιφερειακό υποκαταστάτη αποτελούν το “δομικό λίθο” (building block).
- iii. Πρόσδεση του “δομικού λίθου” σε βιολογικά δραστική ένωση ή φαρμακοφόρο ομάδα ώστε το τελικό σύμπλοκο να εμφανίζει την επιθυμητή βιολογική δράση. Η πρόσδεση γίνεται με δύο τρόπους:

α) με τη μέθοδο του Συζευγμένου Μορίου (Pendant Approach), όπου πραγματοποιείται μέσω διλειτουργικού υποκαταστάτη ο οποίος διαθέτει αφενός κατάλληλο σύστημα ατόμων δοτών για την σταθερή σύμπλεξη του μετάλλου και αφετέρου κατάλληλη ομάδα, η οποία μπορεί να σχηματίσει ομοιοπολικό δεσμό με το βιομόριο.

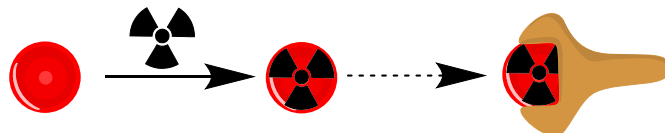
β) με τη Μέθοδο του Ενιαίου Μορίου (Integrated Approach), όπου αναφέρεται στην αντικατάσταση τμήματος μίας βιολογικά δραστικής ένωσης από τον “δομικό λίθο” με κατάλληλο τρόπο. Οι χημικοί δακτύλιοι που προκύπτουν από τη συναρμογή του μετάλλου με τους περιφερειακούς υποκαταστάτες μπορεί να θεωρηθεί ότι αντικαθιστούν δακτυλίους της πρότυπης ένωσης. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί ελάχιστες μόνο εφαρμογές της συγκεκριμένου μεθόδου. (Σχήμα 5.1)

Βασικά σημεία και των δύο μεθόδων είναι η επιλογή του “δομικού λίθου” και του φαρμακοφόρου. Η εύρεση σταθερών “δομικών λίθων”, με ποικίλα συστήματα ατόμων δοτών και κατ’ επέκταση διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, δίνει μεγάλη ώθηση στην ανάπτυξη της Ραδιοφαρμακευτικής Χημείας. Η δυνατότητα επιλογής του καταλληλότερου “δομικού λίθου” για την κάθε περίπτωση, σε σχέση με το φαρμακοφόρο και την περιοχική στόχευση επιτρέπει τη σύνθεση εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων με τις βέλτιστες φυσικοχημικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Παράλληλα, η πάθηση που εξετάζεται και κατ’ επέκταση το όργανο-στόχος καθορίζει το φαρμακοφόρο που χρησιμοποιείται.

Μέθοδος Συζευγμένου Μορίου



Μέθοδος του Ενιαίου Μορίου



Επεξήγηση Συμβόλων

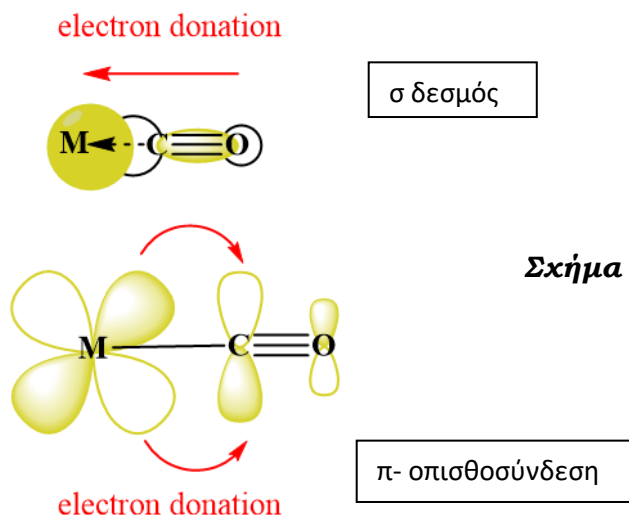


Διλειτουργικός Υποκαταστάτης	Πρόδρομο Βιολογικό μόριο	Βιολογικό Μόριο	Ραδιονουκλίδιο	Υποδοχέας
---------------------------------	-----------------------------	--------------------	----------------	-----------

Σχήμα 5.1 Νεότερη στρατηγική σχεδιασμού σύνθεσης ραδιοφαρμάκων

6.0 Οξειδωτική βαθμίδα (I)

Η μελέτη της χημείας του τεχνητίου και του ρηνίου στην οξειδωτική βαθμίδα (I) έχει κυρίαρχη θέση στη Ραδιοφαρμακευτική Χημεία. Το $M(I)$, ($M = Re/^{99m}Tc$) διαθέτει σχετικά υψηλή ηλεκτρονική πυκνότητα και ο σχηματισμός σταθερών συμπλόκων προϋποθέτει υποκαταστάτες που είτε είναι ασθενείς δότες ηλεκτρονίων (weak electron donors) όπως το μόριο του νερού, είτε εμφανίζουν το φαινόμενο π- οπισθοσύνδεσης⁷⁹ όπως τα καρβονύλια (Σχήμα 6.1), τα ισοκυανίδια και οι φωσφίνες (Πίνακας 6.1α).



Σχήμα 6.1 π- οπισθοσύνδεση

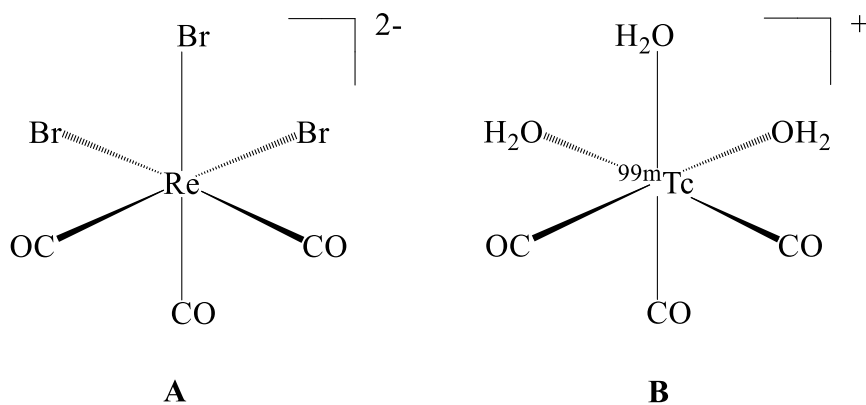
Πίνακας 6.1a Άτομα δότες και αντίστοιχοι περιφερειακοί υποκαταστάτες που σχηματίζουν σύμπλοκα στην οξειδωτική βαθμίδα (I)

	Άτομα δότες	Υποκαταστάτες
M(I) ⁺ , d ⁶	P	Φωσφίνες
	CN	Ισονιτρίλια
	CO	Καρβονύλο παράγωγα

Τα σύμπλοκα στην οξειδωτική βαθμίδα (I) είναι κινητικά και θερμοδυναμικά σταθερά όταν ο αριθμός συναρμογής τους είναι έξι.^{6,7,81}

Την δεκαετία του 1990 ο R. Alberto και οι συνεργάτες του, κατάφεραν να συνθέσουν σε ατμοσφαιρική πίεση το σύμπλοκο $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ σε υψηλή ραδιοχημική καθαρότητα το οποίο περιέχει τον πυρήνα $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$. Επίσης, σε επίπεδο ρηνίου έχει πραγματοποιηθεί η σύνθεση του ανάλογου συμπλόκου $fac-[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]^{2-}$. Τα σύμπλοκα αυτά είναι υδατοδιαλυτά και σταθερά στο νερό (Σχήμα 6.2).⁸²⁻⁸⁷

Η σύνθεση του $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ συμπλόκου πραγματοποιείται με απευθείας αναγωγή των $^{99m}\text{TcO}_4^-$ με NaBH_4 , σε υδατικό διάλυμα, παρουσία $\text{CO}_{(\text{αέριο})}$. Η απόδοση σχηματισμού του συμπλόκου είναι > 90%. Επίσης σε προπαρασκεύασμα (Kit) χρησιμοποιείται το $\text{K}_2[\text{H}_3\text{BCO}_2]$ το οποίο απελευθερώνει μονοξείδιο του άνθρακα μέσω υδρόλυσης.⁸⁶



Σχήμα 6.2 Δομή των συμπλόκων: A) $fac-[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3\text{Br}_3]^{2-}$ και B) $fac-[^{99m}\text{TcRe}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$

Τα καρβονύλια παρουσιάζουν πολύ ισχυρό trans effect και καθιστούν τα τρία μόρια νερού που βρίσκονται σε θέσεις trans ως προς αυτά, ευκίνητα. Έτσι, με επίδραση ενός πολυδραστικού υποκαταστάτη αντικαθίστανται στη σφαίρα σύνταξης του μετάλλου. Άτομα δότες όπως S, O, N, συμπλέκονται με το τεχνητό/ρήνιο (I), αλλά προτιμώνται ουδέτεροι δότες.

Οι περιφερειακοί υποκαταστάτες μπορεί να είναι μονοδραστικοί, διδραστικοί ή τριδραστικοί. Οι μονοδραστικοί υποκαταστάτες μπορούν να αντικαταστήσουν ένα, δύο ή και τα τρία ευκίνητα μόρια. Στην περίπτωση που χρησιμοποιείται ένας διδραστικός υποκαταστάτης, στο σύμπλοκο που σχηματίζεται παραμένει ένα σχετικά ευκίνητο μόριο νερού το οποίο μπορεί να αντικατασταθεί στη συνέχεια

από ένα μονοδραστικό υποκαταστάτη. Τέλος, οι τριδραστικοί υποκαταστάτες αντικαθιστούν και τα τρία ευκίνητα μόρια.

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

6.1 Διδραστικοί και μονοδραστικοί υποκαταστάτες

Η λεγόμενη μικτή προσέγγιση [2 + 1] χρησιμοποιείται, τελευταία, εκτεταμένα στην οξειδωτική βαθμίδα I. Τα [2 + 1] σύμπλοκα, χαρακτηρίζονται από κινητική σταθερότητα και δομική μεταβλητότητα, όπου διευκολύνει τον συντονισμό των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και την πρόσδεση των φαρμακομορίων ως προς την παραγωγή των νέων στοχευμένων πολυλειτουργικών συμπλόκων.⁸⁸⁻⁹³

Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός μονοανιονικού διδραστικού και μονοδραστικού υποκαταστάτη για την συμπλήρωση όλων των κενών θέσεων συναρμογής του μετάλλου. Τόσο ο μονοδραστικός όσο και ο διδραστικός υποκαταστάτης μπορούν να συνδεθούν με ένα βιομόριο.⁹⁴ Ταυτόχρονα, ο έτερος υποκαταστάτης, μέσα από τροποποιήσεις, μπορεί να επηρεάσει τις φυσικοχημικές ιδιότητες. Οι διδραστικοί υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται, σχηματίζουν, όπως και οι τριδραστικοί, έναν χηλικό δακτύλιο, ο οποίος μπορεί να είναι είτε τετραμελής, είτε πενταμελής, είτε και εξαμελής. Η ανάπτυξη 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.^{88,93,95-98}

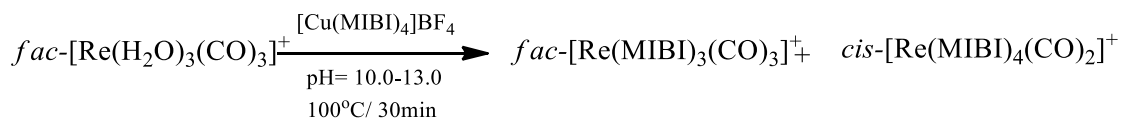
Στην παρούσα εργασία θα χρησιμοποιηθούν δύο μονοδραστικοί και ένας διδραστικός υποκαταστάτης. Οι διθειοκαρβαμιδικές ενώσεις (DTC) δρουν ως μονοανιονικοί διδραστικοί υποκαταστάτες, όπου κατέχουν ένα ευκίνητο πρωτόνιο, το οποίο χάνεται κατά τη διάρκεια της σύνδεσης. Οι DTC διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στη χημεία συντονισμού των μετάλλων, ενώ τα σύμπλοκα που φέρουν αυτόν τον υποκαταστάτη, έχουν μελετηθεί για πάνω από 40 χρόνια στην πυρηνική ιατρική.⁹⁹ Έχει αναφερθεί μόνο μία μελέτη με DTC και διάφορους τύπους μονοδραστικών υποκαταστατών, δεν είναι όμως συμπλεγμένοι με ^{99m}Tc ή Re.¹⁰⁰ Ωστόσο, έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί διάφορα παράγωγα των διθειοκαρβαμιδικών υποκαταστατών, υπό την μορφή αντιβιοτικών όπως η σιπροφλοξασίνη και η μοξιφλοξασίνη.¹⁰¹

6.2 Σταθερότητα των *fac*-καρβονυλίων

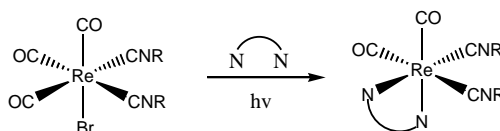
Γενικά, τα τρία καρβονύλια στον *fac*- $M(\text{CO})_3^+$ πυρήνα θεωρούνται σταθερά. Έχουν αναφερθεί όμως και περιπτώσεις στην βιβλιογραφία όπου αυτά μπορούν να αντικατασταθούν από μονοδραστικούς υποκαταστάτες όπως η φωσφίνη.

Παρακάτω αναφέρονται κάποια παραδείγματα αντιδράσεων αντικατάστασης καρβονυλίων

1. Επίδραση του $[\text{Cu}(\text{MIBI})_4]\text{BF}_4$ στο *fac*- $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$



2. Με επίδραση διπυριδίνης (NN) στο *fac*- $[\text{Re}(\text{CNR})_2\text{Br}(\text{CO})_3]$



Ως συνέπεια της αντικατάστασης των καρβονυλίων είναι η τροποποίηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των συμπλόκων. Αναμένεται ότι η διερεύνηση και η ανάπτυξη νέων δικαρθονυλο- και μονοκαρθονυλο- συμπλόκων του ρηνίου ή και του τεχνητίου θα οδηγήσει σε νέες εξαιρετικά λειτουργικές πρόδρομες ενώσεις με εφαρμογή στην Ραδιοφαρμακευτική χημεία.

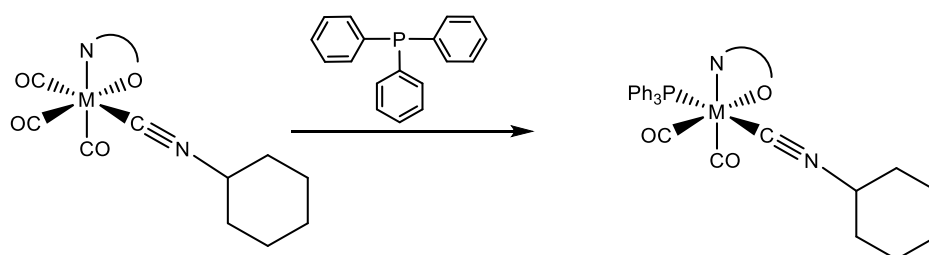
Οι φωσφίνες επιλέχθηκαν ως μονοδραστικοί υποκαταστάτες, λόγω του αποτελεσματικότερου συντονισμού που διαθέτουν με τα χαμηλού σθένους $^{99\text{m}}\text{Tc}/\text{Re}$ καρβόνυλο σύμπλοκα και την χημική ευκαμψία των R υποκαταστατών τους. Επίσης, παρέχουν τη δυνατότητα αντικατάστασης των *trans* καρβονυλίων σχηματίζοντας $[2+ 1+ 1]$ σύμπλοκα.¹⁰²

Επιπροσθέτως, το ισοκυανίδιο λειτουργεί ως μονοδραστικός υποκατάστατης, ο οποίος χρησιμοποιείται ως ισχυρός συμπλοκοποιητής, που χρησιμοποιείται συχνά στη χημεία του τεχνητίου και του ρηνίου. Το πιο αναγνωρισμένο παράγωγο είναι το Tc-MIBI, όπου είναι ραδιοφαρμακευτικό προϊόν απεικόνισης μυοκαρδίου, φέροντος έξι προσδέματα στη σφαίρα συντονισμού του μετάλλου.⁸⁹

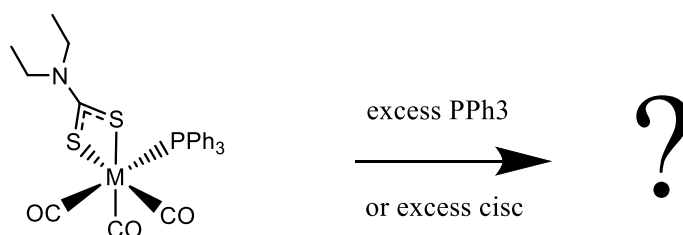
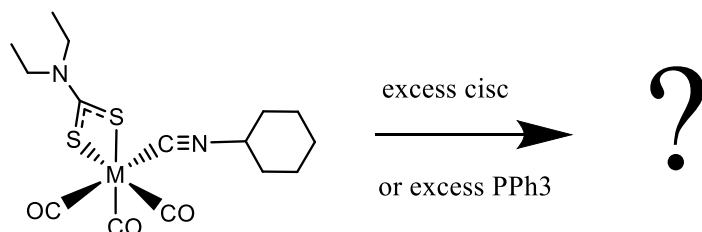
Τα ισοκυανιούχα και οι φωσφίνες, είναι ισοηλεκτρονικά με τον καρβόνυλο-συνδέτη και μπορούν να συναρμολογούνται εύκολα με το μεταλλικό κέντρο ($\text{Re}/^{99\text{m}}\text{Tc}$) τόσο υψηλού όσο και χαμηλού σθένους¹⁰³, εξαιτίας της πολύ καλής και μοναδικής π-αποδοχής και σ-δοτικότητας τους. Με αυτόν τον τρόπο ορίζονται σαν ιδανικοί υποκαταστάτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη αντικατάσταση των καρβονυλίων γιατί παρέχουν έναν καλό συντονισμό μεταξύ μετάλλου και συνδέτη.¹⁰⁴

7.0 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στο εργαστήριο της Ραδιοφαρμακευτικής Χημείας του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος έχει μελετηθεί στο παρελθόν η επίδραση τριφαινυλοφωσφίνης στο σύμπλοκο *fac*-[M(NO)(Cisc)(CO)₃] (όπου M= Re/^{99m}Tc), όπου NO το αποπρωτονιωμένο κιναιδικό οξύ και Cisc το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο. Το σύμπλοκο σε επίπεδο τεχνητίου *cis*-[^{99m}Tc(NO)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂] λαμβάνεται σε μεγάλη απόδοση και είναι σταθερό *in vitro* και *in vivo*. Η δομή του συγκεκριμένου συμπλόκου είναι πρωτότυπη και δίνει μεγάλες δυνατότητες στην ανάπτυξη πολυλειτουργικών συμπλόκων του τεχνητίου.⁸⁸



Με βάση αυτή την εμπειρία, ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της αντίδρασης των *fac*-[M(DTC)(cisc)(CO)₃] και *fac*-[M(DTC)(PPh₃)(CO)₃], (M= Re/^{99m}Tc) με περίσσεια κυκλοεξυλοϊσοκυανιδίου και τριφαινυλφωσφίνης. Δεδομένου, ότι το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο και η τριφαινυλφωσφίνη έχουν πολύ ισχυρό *trans effect*, θα μελετηθεί, αν μπορεί να αντικατασταθεί το *trans* καρβονύλιο ως προς το ισονιτρίλιο και τη φωσφίνη του αρχικού συμπλόκου.



Ο διδραστικός υποκατάστατης DTC, η τριφαινυλφωσφίνη (PPh₃) και το κυκλοεξυλοϊσοκυανίδιο (cisc) μαζί με τον πυρήνα [^{99m}Tc/Re(CO)₃]⁺ χρησιμοποιήθηκαν για να εξεταστεί η στρατηγική των [2+ 1+ 1] ραδιενεργών και μη συμπλοκών.¹⁰⁵

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

8. Αντιδραστήρια, όργανα και πρώτες ύλες

8.1. Υλικά και μέθοδοι

Σε όλες τις αντιδράσεις χρησιμοποιήθηκαν χημικώς καθαρά αντιδραστήρια και διαλύτες. Η προμήθεια αυτών έγινε από τις εταιρίες Fluka, Sigma-Aldrich, Acros Organics, Nova-Biochem, Scharlau, Riedel-deHaën, Ferak, Jannsen, Alfa Aesar και Merck. Όλα τα αέρια που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από την εταιρεία Air Liquid. Η μεθανόλη που χρησιμοποιήθηκε για την έκλουση των προϊόντων κατά τη χρωματογραφία HPLC ήταν της εταιρείας Sigma-Aldrich κατάλληλη για HPLC. Τα φίλτρα διήθησης διαμέτρου 0.22 μm ήταν της εταιρίας Millipore, Milford, MA.

Τα προϊόντα που παρασκευάστηκαν από τις διάφορες αντιδράσεις ξηράνθηκαν σε ξηραντήρα υψηλού κενού πάνω από P_2O_5 . Οι φυγοκεντρίσεις πραγματοποιήθηκαν σε ψυχομένη φυγόκεντρο J2 MC (Beckman).

Τα φάσματα υπερύθρου ελήφθησαν σε φασματογράφο τύπου Nicolet 6700 FT-IR της εταιρείας Thermo Scientific. Τα φάσματα 1H NMR ελήφθησαν στο φασματόμετρο 500 MHz DRX-Avance της εταιρείας Bruker. Τα φάσματα των συμπλόκων ελήφθησαν σε διάλυμα δευτεριωμένου διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO- d_6) σε θερμοκρασία 25 °C. Οι χημικές μετατοπίσεις (δ , ppm) υπολογίστηκαν με τη χρήση τετραμεθυλοσιλανίου, TMS, ως εσωτερικού προτύπου.

Η συλλογή όλων των κρυσταλλογραφικών δεδομένων έγινε με την τοποθέτηση κρυστάλλου πάνω σε περιθλασίμετρο Nicolet P21 εφοδιασμένο με φίλτρο Ζιρκονίου και με την χρήση μονοχρωματικής ακτινοβολίας Mo K α . Η λειτουργία του οργάνου ελέγχεται από το πρόγραμμα Crystal Logic Software.

Τα πειραματόζωα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τις μελέτες βιοκατανομής των επισημασμένων συμπλόκων είναι αρσενικά λευκά ποντίκια τύπου Swiss Albino, βάρους 20 – 30 g. Η προμήθειά τους έγινε από το εκτροφείο πειραματόζωων του ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”.

Το $Na^{99m}TcO_4$ προέρχεται από έκλουση γεννήτριας ^{99}Mo - ^{99m}Tc της εταιρίας Mallinckrodt Medical BV χρησιμοποιώντας φυσιολογικό ορό 0.9 % NaCl. Η ραδιενέργεια των διαλυμάτων μετρήθηκε με μετρητή (Isotope Calibrator) CRC-12 της εταιρείας Capintec. Η μέτρηση των κρούσεων των ραδιενεργών δειγμάτων, καθώς και των βιολογικών δειγμάτων έγινε σε αναλυτή τύπου φρέατος, με κρύσταλλο NaI (μετρητή ακτινοβολίας- γ πολλαπλών δειγμάτων), τύπου MINAXI 5000 Auto gamma counter της εταιρείας Packard.

Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των συμπλόκων του ρηνίου και για την ανάλυση, την ταυτοποίηση και την απομόνωση των συμπλόκων του τεχνητίου- 99m αποτελείται από: i. αντλία τύπου 600 της εταιρείας Waters, ii. σύστημα εισαγωγής δείγματος στη χρωματογραφική στήλη (injector UK6) με υποδοχέα (loop) των 500 μ L, iii. αναλυτική στήλη αντίστροφης φάσης τύπου Nucleodur

100 - C18 εκ διαστάσεων 4.6 mm x 250 mm και μεγέθους 10 μm, iv. ανιχνευτή UV-Vis, τύπου 2487 της εταιρίας Waters (στα 254 nm), v. ανιχνευτή γ ακτινοβολίας, GABI – Raytest και vi. ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος ελέγχει τη λειτουργία της αντλίας, του ανιχνευτή, συλλέγει και επεξεργάζεται τα δεδομένα. Μετά τη δίοδο από τη χρωματογραφική στήλη, οι ενώσεις που διαχωρίζονται διέρχονται από τις δύο ανιχνευτικές διατάξεις, οι οποίες είναι συνδεδεμένες σε σειρά.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων του τεχνητίου-99m πραγματοποιείται με συγκριτική χρωματογραφική ανάλυση. Ως πρότυπα χρησιμοποιούνται τα ανάλογα σύμπλοκα του ρηνίου. Τα δείγματα, τα ραδιενεργά του τεχνητίου-99m και τα ψυχρά του ρηνίου, ενίονται ταυτόχρονα στην HPLC. Οι παρόμοιοι χρόνοι έκλυσης των δύο ενώσεων, είναι ισχυρή ένδειξη ότι έχουν και παρόμοια δομή.

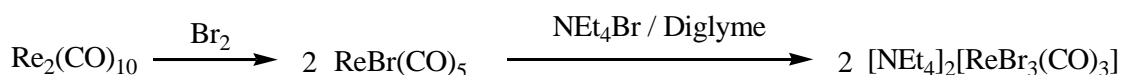
Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιείται με σύστημα διαλυτών έκλυσης την κινητή φάση A: μεθανόλη / 0.1 % τριφθοροξικό οξύ (TFA) και την κινητή φάση B: H₂O / 0.1 % TFA. Οι διαλύτες έκλυσης είχαν υποστεί ειδική επεξεργασία που περιλάμβανε διήθηση υπό κενό μέσω ειδικών φίλτρων (0.22 μm, Millipore) και απαέρωση με διαβίβαση ηλίου υψηλής καθαρότητας. Για την εισαγωγή του δείγματος στο σύστημα του χρωματογράφου χρησιμοποιείται μικρομετρική σύριγγα των 100 μL. Η ροή των διαλυμάτων έκλυσης στη χρωματογραφική στήλη ρυθμίζεται σε 1.0 mL / min, για το Gradient I.

Το Gradient I που χρησιμοποιήθηκε ήταν στο χρόνο t = 0 - 1 min και έχει σύσταση 5 % A (95 % B) και ακολούθως μεταβάλλεται γραμμικά για 9 min έως 70 % A (30 % B). Η σύσταση αυτή διατηρείται για 10 min και στη συνέχεια η στήλη εκλύεται με 95 % A (5 % B) για άλλα 10 min.

9. Σύνθεση των συμπλόκων Re

9.1 Σύνθεση του συμπλόκου [NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃]

Η σύνθεση του [NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃] πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται αναγωγή του Re₂(CO)₁₀ προς ReBr(CO)₅ και στη συνέχεια λαμβάνεται το πρόδρομο σύμπλοκο.⁸²



Σε κωνική φιάλη των 100 mL, φέρονται 60 mL εξανίου και 1.78 g (2.73 mmol) Re₂(CO)₁₀ σε ατμόσφαιρα αζώτου. Στη συνέχεια προστίθενται στάγδην 0.48 g (3 mmol) Br₂ και το διάλυμα αναδεύεται για 30 λεπτά μέχρι αποχρωματισμού του διαλύματος. Το σχηματισθέν λευκό ίζημα συλλέγεται με διήθηση, οπότε λαμβάνονται 2.08 g του προϊόντος (απόδοση 94 %).

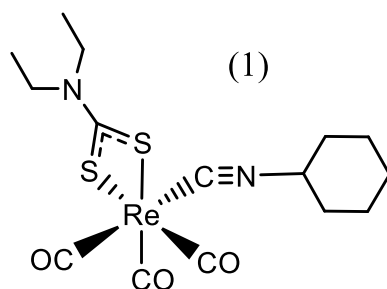
Σε εσφυρισμένη τρίλαιμη σφαιρική φιάλη του 1 L φέρονται 300 mL διγλύμης και 1.69 g NEt₄Br (8.05 mmol) με διαβίβαση αζώτου. Το διάλυμα θερμαίνεται

σε ελαιόλουτρο και σε θερμοκρασία 80 °C προστίθεται 1.5 g $\text{ReBr}(\text{CO})_5$ (3.7 mmol). Ακολουθεί θέρμανση με κάθετο ψυκτήρα στους 115 °C για 4 ώρες. Σχηματίζεται λευκό ίζημα το οποίο συλλέγεται με διήθηση υπό κενό, εκπλένεται με διγλυμή, αιθέρα και 10 mL ψυχρής αιθανόλης. Λαμβάνονται 2.2 g προϊόντος (απόδοση 77 %). IR (cm^{-1}): 1998, 1883.

10. Σύνθεση συμπλόκων του Re με διαιθυλοδιθειοκαρβαμιδικό υποκαταστάτη (DTC)

Ο διαιθυλοδιθειοκαρβαμιδικός υποκαταστάτης, φέρει ένα ευκίνητο πρωτόνιο, το οποίο κατά τη διάρκεια της σύνδεσης με τα μέταλλα Re/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ χάνεται. Ακόμη, έχει πολλά πλεονεκτήματα, όπως το μέγεθός του και η λιποφιλικότητά του, έτσι ώστε να βελτιστοποιεί τα *in vivo* χαρακτηριστικά των συμπλόκων. ^{99}H Η σύμπλεξη του διδραστικού υποκαταστάτη DTC θα πραγματοποιηθεί με τα μέταλλα ρήνιο και τεχνητίο-99m στην οξειδωτική βαθμίδα I. Οι χρωματογραφικές αναλύσεις όλων των συμπλόκων του DTC θα πραγματοποιηθούν με το gradient I που αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 8.1.

10.1 Σύνθεση του *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃]

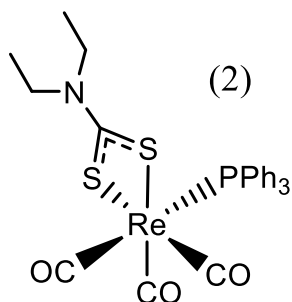


Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθενται 22.5 mg (0.1 mmol) DTC σε 2 mL μεθανόλης. Στη φιάλη προστίθεται διάλυμα του πρόδρομου συμπλόκου $[\text{Net}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ (77 mg, 0.1 mmol) σε 2 mL μεθανόλης. Τέλος, προστίθεται διάλυμα κυκλοξυλοϊσονιτριλίου (Cisc) 10.9 mg (10 μL , $d = 0.878 \text{ g/mL}$, 0.1 mmol) και ακολουθεί βρασμός με κάθετο ψυκτήρα επαναρροής για 4 ώρες σε περιβάλλον αζώτου N_2 .

Εν συνεχεία ο διαλύτης απομακρύνεται σε περιστροφικό αναδευτήρα υπό κενό με θέρμανση μέχρι ξηρού. Το ίζημα επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο και ανακρυσταλλώνεται από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο οπότε λαμβάνονται 45 mg (απόδοση 85%) του *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], ως πορτοκαλοκίτρινοι κρύσταλλοι.

HPLC: $t_R = 28.8 \text{ min}$ FT-IR (cm^{-1}): 2928, 2857, 2179, 2009, 1917, 1882, 1496, 1431. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): 3.9 (1H), 3.02 (4H), 1.85 (8H), 1.10 (3H), 0.95 (6H)

10.2 Σύνθεση του *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃]

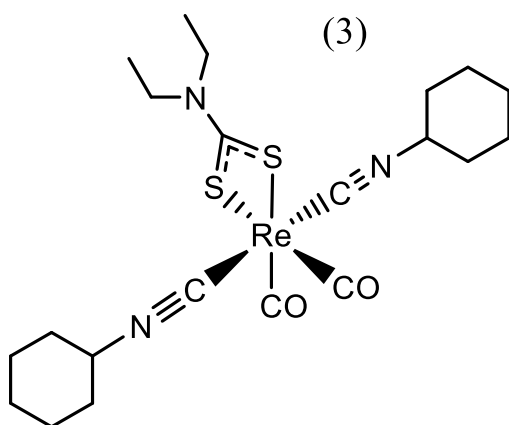


Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθενται 22.5 mg (0.1 mmol) DTC σε 2 mL μεθανόλης. Στη φιάλη προστίθεται διάλυμα του πρόδρομου συμπλόκου [Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃] 77 mg (0.1 mmol) σε 2 mL μεθανόλης. Τέλος, προστίθεται διάλυμα τριφαινυλοφωσφίνης (PPh₃) 26.2 mg (0.1 mmol) σε 1 mL μεθανόλης και ακολουθεί βρασμός με κάθετο ψυκτήρα επαναρροής για 4 ώρες σε περιβάλλον αζώτου N₂.

Εν συνεχεία ο διαλύτης απομακρύνεται σε περιστροφικό αναδευτήρα υπό κενό με θέρμανση μέχρι ξηρού. Το ίζημα επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο και ανακρυσταλλώνεται από διχλωρομεθάνιο/εξάνιο οπότε λαμβάνονται 56 mg (απόδοση 80%) του *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃], ως λευκά κρυσταλλάκια.

HPLC: t_R=30.3 min FT-IR (cm⁻¹): 2008, 1917, 1889, 1480, 1457, 742, 692. ¹H NMR (CDCl₃): 7.65 (6H), 7.42 (9H), 3.80 (4H), 0.85 (6H)

10.3 Σύνθεση του *cis-trans*-[Re(DTC)(Cisc)₂(CO)₂]

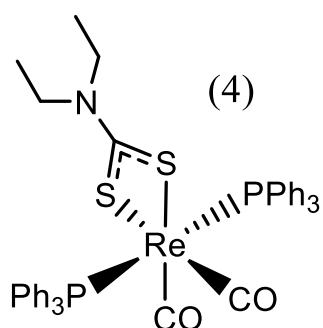


Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθενται 22.5 mg (0.1 mmol) DTC, το πρόδρομο συμπλόκο [Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃] 77 mg (0.1 mmol) και τέλος, προστίθεται κυκλοέξυλοϊσονιτριλίο (Cisc) 27.25 mg (25 μL, d= 0.878 g/mL, 0.25 mmol) σε 7 mL τολουολίου. Η σφαιρική τοποθετείται σε ελαιόλουτρο και ακολουθεί βρασμός με κάθετο ψυκτήρα επαναρροής για 7 ώρες σε περιβάλλον αζώτου N₂.

Εν συνεχεία ο διαλύτης απομακρύνεται σε περιστροφικό αναδευτήρα υπό κενό με θέρμανση μέχρι ξηρού. Το ίζημα επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο και καθαρίζεται με στήλη Silica gel 60 (0.062- 0.200 mm) σε σύστημα διαλυτών 50% εξάνιο/ 50% διχλωρομεθάνιο. Ακολουθεί απομάκρυνση του διαλύτη όπου λαμβάνεται το σύμπλοκο *fac*-[Re(DTC)(CisC)₂(CO)₂] (απόδοση 55%) ως πορτοκαλί στερεό. Στη συνέχεια το σύμπλοκο επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο/ μεθανόλη, όπου με αργή εξάτμιση λαμβάνονται πορτοκαλί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

HPLC: $t_R=29.15$ min FT-IR (cm⁻¹): 2937, 2853, 2116, 1919, 1848, 1432. ¹H NMR (CDCl₃): 4.10 (2H), 3.30 (4H), 1.9 (14H), 1.23 (8H), 1.08 (6H)

10.4 Σύνθεση του *cis-trans*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂]

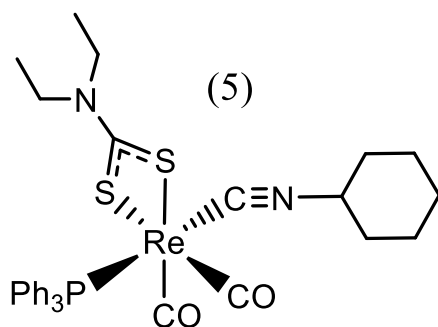


Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθενται 22.5 mg (0.1 mmol) DTC, το πρόδρομο σύμπλοκο [Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃] 77 mg (0.1 mmol) και τέλος, προστίθεται τριφαινυλφωσφίνη (PPh₃) 52.4 mg (0.20 mmol) σε 7 mL τολουολίου. Η σφαιρική τοποθετείται σε ελαιόλουτρο και ακολουθεί βρασμός με επαναροή με κάθετο ψυκτήρα για 7 ώρες σε περιβάλλον αζώτου.

Εν συνεχεία ακολουθεί συμπύκνωση μέχρι ξηρού. Το ίζημα επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο και καθαρίζεται με στήλη Silica gel 60 (0.062- 0.200 mm) σε σύστημα διαλυτών 50% εξάνιο/ 50% διχλωρομεθάνιο. Όπου με απομάκρυνση του διαλύτη λαμβάνεται το σύμπλοκο *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂] (απόδοση 85%) ως λευκό στερεό. Στη συνέχεια το σύμπλοκο επαναδιαλοποιείται σε διχλωρομεθάνιο/ μεθανόλη, όπου με αργή εξάτμιση λαμβάνονται λευκοί κρύσταλλοι κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία.

HPLC: $t_R=29.15$ min FT-IR (cm⁻¹): 3060, 2933, 1916, 1843, 1491, 1479, 1430, 742, 693. ¹H NMR (CDCl₃): 7.75 (12H), 7.32 (18H), 3.8 (4H), 0.70 (6H)

10.5 Σύνθεση του *cis*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂]



Σε σφαιρική φιάλη των 10 mL προστίθενται 0.1 mmol του συμπλόκου *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃] και προστίθεται κυκλοξέξυλοϊσονιτριλίο (Cisc) 27.25 mg (25 μ L, $d = 0.878$ g/mL, 0.25 mmol) σε 7 mL τολουολίου. Η σφαιρική τοποθετείται σε ελαιόλουτρο και ακολουθεί βρασμός με κάθετο ψυκτήρα επαναροής για 7 ώρες σε περιβάλλον αζώτου.

Εν συνεχεία ο διαλύτης απομακρύνεται σε περιστροφικό αναδευτήρα υπό κενό με θέρμανση μέχρι ξηρού. Το ίζημα επαναδιαλυτοποιείται σε δικλωρομεθάνιο και καθαρίζεται με στήλη Silica gel 60 (0.062- 0.200 mm) σε σύστημα διαλυτών 65% εξάνιο/ 35% δικλωρομεθάνιο. Ακολουθεί απομάκρυνση του διαλύτη όπου λαμβάνεται το σύμπλοκο *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂] (30%) ως υποκίτρινο στερεό.

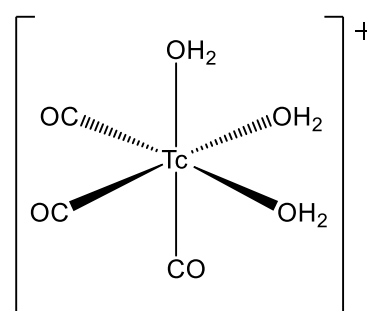
HPLC: $t_R = 29.15$ min FT-IR (cm^{-1}): 2931, 2850, 2141, 1914, 1847, 1492, 1455, 1429, 742, 694. ¹H NMR (CDCl_3): 7.60 (6H), 7.35 (9H), 4.05 (1H), 3.10 (4H), 1.9 (8H), 1.4 (3H) 1.01 (6H)

11.0 Σύνθεση συμπλόκων του διθειοκαρβαμικού υποκαταστάτη με ^{99m}Tc

Σε όλες τις επισημάνσεις πραγματοποιήθηκε συγκριτική χρωματογραφική ανάλυση του ραδιοεπισημασμένου παραγώγου χρησιμοποιώντας ως πρότυπο το ανάλογο συμπλόκου του Re. Η ανάκτηση της ραδιενέργειας από την στήλη της HPLC ήταν σε όλες τις περιπτώσεις > 95 %.

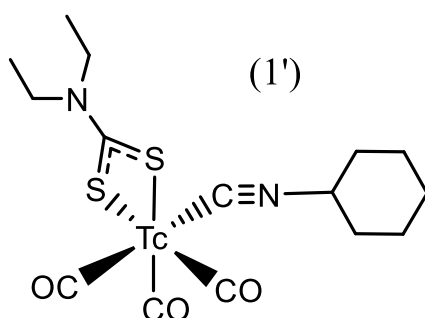
11.1 Παρασκευή $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac}[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$

Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 4 mg ανθρακικού νατρίου, 20 mg τρυγικό κάλιο-νάτριο και 5.5 mg NaBH_4 . Το φιαλίδιο πωματίζεται, σφραγίζεται με κυάθιο αλουμινίου και στη συνέχεια διαβιβάζεται ρεύμα μονοξειδίου του άνθρακα για 20 λεπτά. Ακολουθεί η προσθήκη 1 mL διαλύματος $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$. Το φιαλίδιο θερμαίνεται στη συνέχεια για 30 λεπτά στους 85°C . Επαναφέρεται το φιαλίδιο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ρυθμίζεται το pH στο 7 με την προσθήκη διαλύματος 1M HCl.



Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 4.5 min με απόδοση >95%.⁸⁶

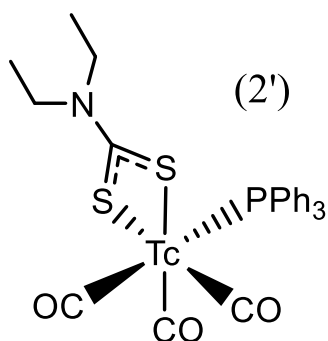
11.2 Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3], \mathbf{1'}$



Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 100 μL μεθανολικού διαλύματος κυκλοεξυλοϊσονιτριλίου $1,6 \times 10^{-3}$ M, 100 μL μεθανολικού διαλύματος διθειοκαρβαμικού υποκαταστάτη 4×10^{-3} M και προστίθενται 500 μL του πρόδρομου συμπλόκου $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac}[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ (pH 7) και συμπληρώνονται 300 μL μεθανόλης. Ακολουθώντας το φιαλίδιο σφραγίζεται, διαβιβάζεται άζωτο (N_2) για 10 min και θερμαίνεται σε κλίβανο στους 70°C για 30 min.

Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 28.8 min με απόδοση >95%.

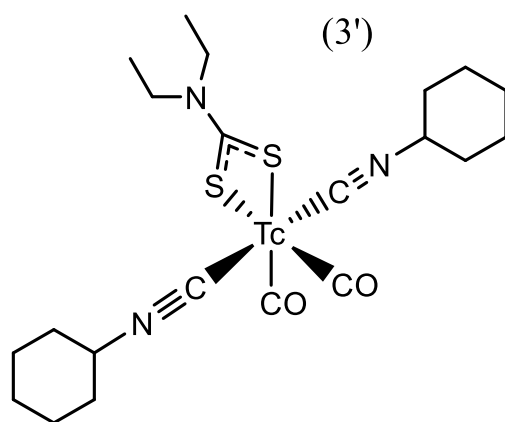
11.3 Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, **2'**



Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 100 μL μεθανολικού διαλύματος τριφαινυλοφωσφίνης $3,8 \times 10^{-3}$ M, 100 μL μεθανολικού διαλύματος διθειοκαρβαμιδικού υποκαταστάτη 4×10^{-3} M και προστίθενται 500 μL του πρόδρομου συμπλόκου $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ (pH 7) και συμπληρώνονται 300 μL μεθανόλης. Ακολουθώντας το φιαλίδιο σφραγίζεται, διαβιβάζεται άζωτο (N_2) για 10 min και θερμαίνεται σε κλίβανο στους 70°C για 30 min.

Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 30.3 min με απόδοση >95%.

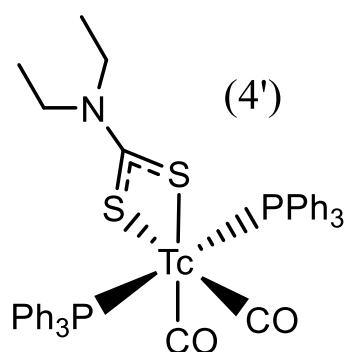
11.4 Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-trans-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3'**



Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 100 μL μεθανολικού διαλύματος κυκλοεξυλοϊσονιτριλίου $1,6 \times 10^{-3}$ M, 100 μL μεθανολικού διαλύματος διθειοκαρβαμιδικού υποκαταστάτη 4×10^{-3} M και προστίθενται 500 μL του πρόδρομου συμπλόκου $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ (pH 7) και συμπληρώνονται 300 μL μεθανόλης. Ακολουθώντας το φιαλίδιο σφραγίζεται, διαβιβάζεται άζωτο (N_2) για 10 min και θερμαίνεται σε υδατόλουτρο στους 95°C για 60 min.

Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 29.15 min με απόδοση >40%.

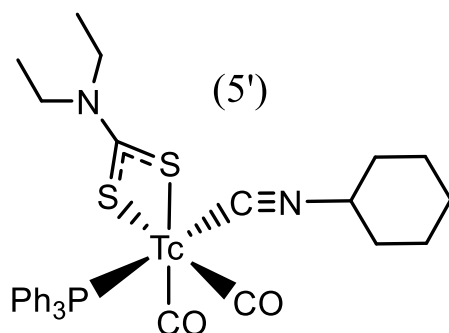
11.5 Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-trans-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, **4'**



Σε φιαλίδιο πενικιλίνης φέρονται 100 μL μεθανολικού διαλύματος τριφαινυλοφωσφίνης $3,8 \times 10^{-3}$ M, 100 μL μεθανολικού διαλύματος διθειοκαρβαμιδικού υποκαταστάτη 4×10^{-3} M και προστίθενται 500 μL του πρόδρομου συμπλόκου $[^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ (pH 7) και συμπληρώνονται 300 μL μεθανόλης. Ακολουθώς το φιαλίδιο σφραγίζεται, διαβιβάζεται άζωτο (N_2) για 10 min και θερμαίνεται σε υδατόλουτρο στους 95°C για 60 min.

Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 31.57 min με απόδοση >95%.

11.6 Σύνθεση του $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5'**



Το σύμπλοκο 1' απομονώνεται από την RP-HPLC, και 900 μL από το απομονωμένο διάλυμα φέρονται σε φιαλίδιο πενικιλίνης και προστίθενται 100 mL μεθανολικού διαλύματος τριφαινυλοφωσφίνης $3,8 \times 10^{-3}$ M. Ακολουθώς το φιαλίδιο σφραγίζεται, διαβιβάζεται άζωτο (N_2) για 10 min και θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο στους 95°C για 45 min.

Η ανάλυση του μίγματος με RP-HPLC δείχνει μια κορυφή στα 30.9 min με απόδοση >28%.

12.0 Μελέτες αξιολόγησης των συμπλόκων του ^{99m}Tc

Στα απομονωμένα σύμπλοκα από HPLC έγινε η αξιολόγηση των συμπλόκων του ^{99m}Tc . Στην παρούσα εργασία περιλαμβάνεται η μελέτη σταθερότητας, η μελέτη λιποφιλικότητας και η βιοκατανομή σε πειραματόζωα των συμπλόκων ^{99m}Tc [^{99m}Tc] *fac*-[Tc(DTC)(Cisc)(CO)₃], [^{99m}Tc] *fac*-[Tc(DTC)(PPh₃)(CO)₃], [^{99m}Tc] *cis-trans*-[Tc(DTC)(Cisc)₂(CO)₂], [^{99m}Tc] *cis-trans*-[Tc(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂] και [^{99m}Tc] *cis*-[Tc(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂].

12.1 Μελέτες σταθερότητας των συμπλόκων του ^{99m}Tc

12.1.1 Σταθερότητα των συμπλόκων του ^{99m}Tc με την πάροδο του χρόνου

Τα επισημασμένα σύμπλοκα του ^{99m}Tc μελετήθηκαν ως προς την σταθερότητα τους με την πάροδο του χρόνου για τα χρονικά διαστήματα 1 h, 3 h και 6 h. Τα απομονωμένα σύμπλοκα παραμένει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στα ανάλογα χρονικά διαστήματα.

12.1.2 Σταθερότητα των συμπλόκων του ^{99m}Tc παρουσία περίσσειας κυστεΐνης και ιστιδίνης

Η σταθερότητα των συμπλόκων του ^{99m}Tc μελετήθηκε παρουσία περίσσειας ανταγωνιστών, όπως είναι η κυστεΐνη και η ιστιδίνη (Cys/His challenge).⁴⁶ Παρασκευάζονται δύο διαλύματα: i. ένα διάλυμα κυστεΐνης 10⁻² M σε φυσιολογικό ορό 0.9 % NaCl και ii. ένα διάλυμα ιστιδίνης 10⁻² M σε φυσιολογικό ορό 0.9 % NaCl. Σε 100 μL καθενός από τα παραπάνω διαλύματα προστίθενται 900 μL του απομονωμένου συμπλόκου. Τα νέα διαλύματα επωάζονται σε θερμοκρασία 37 °C και ελέγχονται για την σταθερότητά του ραδιοεπισημασμένου συμπλόκου στα ανάλογα χρονικά διαστήματα.

12.2 Μελέτες λιποφιλικότητας των συμπλόκων του ^{99m}Tc

Μελετήθηκε η λιποφιλικότητα για τα σύμπλοκα του τεχνητίου [^{99m}Tc] *fac*-[Tc(DTC)(Cisc)(CO)₃], [^{99m}Tc] *fac*-[Tc(DTC)(PPh₃)(CO)₃], [^{99m}Tc] *cis-trans*-[Tc(DTC)(Cisc)₂(CO)₂], [^{99m}Tc] *cis-trans*-[Tc(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂] και [^{99m}Tc] *cis*-[Tc(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂].¹⁰⁶ Σε σωλήνα φυγοκέντρου φέρονται 1.5 mL κανονικής οκτανόλης (n-οκτανόλης) και 1.5 mL διαλύματος φωσφορικών αλάτων (PBS: Phosphate Buffer Solution, 0.1 M, pH = 7.4). Σε αυτά προστίθενται 20 μL (0.2 – 0.3 μCi) του απομονωμένου συμπλόκου. Ο σωλήνας της φυγοκέντρου τοποθετείται στο vortex για 2 min και ακολουθεί φυγοκέντριση στις 5000

στροφές για 10 min. Μετά τη φυγοκέντριση έχει σχηματιστεί ένα διφασικό σύστημα n-οκτανόλης / υδατικού διαλύματος PBS. Σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες φέρονται 100 μL n-οκτανόλης και σε άλλους 3 δοκιμαστικούς σωλήνες φέρονται 100 μL PBS. Τα δείγματα μετρούνται στο μετρητή γ ακτινοβολίας (γ – counter) και υπολογίζεται η λιποφιλικότητα τους όπου δίνεται από το logP, όπου το P υπολογίζεται από τη σχέση:

$$P = \frac{\text{Κρούσεις ανά mL κανονικής οκτανόλης}}{\text{Κρούσεις ανά mL υδατικού διαλύματος PBS}}$$

12.3 Μελέτες βιοκατανομής σε πειραματόζωα

Μελετήθηκε η βιοκατανομή των απομονωμένων από HPLC συμπλόκων του ^{99m}Tc , $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$, **1'**, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{fac-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, **2'**, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{cis-trans-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3'**, $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{cis-trans-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, **4'** και $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5'** σε πειραματόζωα. Τα απομονωμένα σύμπλοκα αραιώθηκαν σε φυσιολογικό ορό έτσι ώστε η ραδιενέργεια του διαλύματος να είναι 40 μCi/ 2 mL. Κατά την παρούσα εργασία μελετήθηκε η βιοκατανομή των εξεταζόμενων συμπλόκων σε χρονικά διαστήματα 2 min, 2 h και 4 h.

Για τις μελέτες βιοκατανομής το πειραματόζωο τοποθετείται σε ειδική διάταξη (παγίδα), ώστε να επιτευχθεί έτσι η ακινητοποίηση του. Η χορήγηση του απομονωμένου συμπλόκου του ^{99m}Tc γίνεται με ενδοφλέβια ένεση (0.1 mL, 1 – 2 μCi) στην φλέβα της ουράς. Το πειραματόζωο τοποθετείται σε ειδικό θάλαμο που επιτρέπει την συλλογή των απεκκρινόμενων ούρων και παραμένει εκεί μέχρι τη στιγμή της θανάτωσής του. Μετά τη συμπλήρωση του επιθυμητού χρονικού διαστήματος, το πειραματόζωο θυσιάζεται με καρδιοεκτομή αφού έχει αναισθητοποιηθεί σε θάλαμο κορεσμένο με ατμούς αιθέρα. Τη θανάτωση του ζώου ακολουθεί η αφαίρεση της ουράς του, ενώ σημειώνεται το βάρος του και λαμβάνονται δείγματα αίματος του, τα οποία τοποθετούνται σε προζυγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες. Το ζώο στη συνέχεια ανατέμνεται και απομονώνονται ήπαρ, καρδιά, νεφροί, στομάχι, έντερα, σπλήνας, πνεύμονες και εγκέφαλος. Τα όργανα τοποθετούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Τα απεκκρινόμενα ούρα του ζώου που έχουν συλλεχθεί καθώς και η ουρά του τοποθετούνται επίσης σε δοκιμαστικούς σωλήνες χωρίς να προηγηθεί ζύγισή τους.

Τα δείγματα τοποθετούνται σε μετρητή γ ακτινοβολίας, όπου και μετρείται η ραδιενέργεια κάθε δείγματος. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιείται πρότυπο διάλυμα, το οποίο αντιστοιχεί στο 10 % της χορηγούμενης δόσης. Από τις κρούσεις του διαλύματος αφαιρείται το ποσοστό των κρούσεων της ουράς και η συγκέντρωση της ραδιενέργειας ανά όργανο και ανά γραμμάριο υπολογίζεται σύμφωνα με τις παρακάτω σχέσεις. Να σημειωθεί ότι για τον υπολογισμό της δόσης στο αίμα λαμβάνεται υπόψη ότι αποτελεί το 7 % του βάρους του σώματος του πειραματόζωου.

Οι κρούσεις ανά λεπτό (συντομογραφία σε cpm= counts per minute) είναι ένα μέτρο του ρυθμού ανίχνευσης των φαινόμενων ιονισμού ανά λεπτό.

$$\% \text{ Δόση} / \text{όργανο} = \frac{\text{cpm δείγματος οργάνου}}{(\text{cpm διάλυμα αναφοράς} \times 10 - \text{cpm ουράς})} \times 100$$

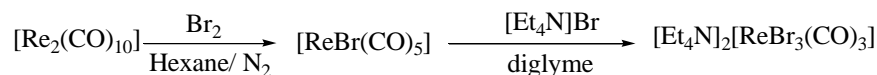
$$\% \text{ Δόση} / \text{g} = \frac{\text{cpm δείγματος οργάνου} \times 100}{(\text{cpm διάλυμα αναφοράς} \times 10 - \text{cpm ουράς}) \times (\text{βάρους δείγματος g})}$$

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ

13. Παρασκευή συμπλόκων Re και Tc

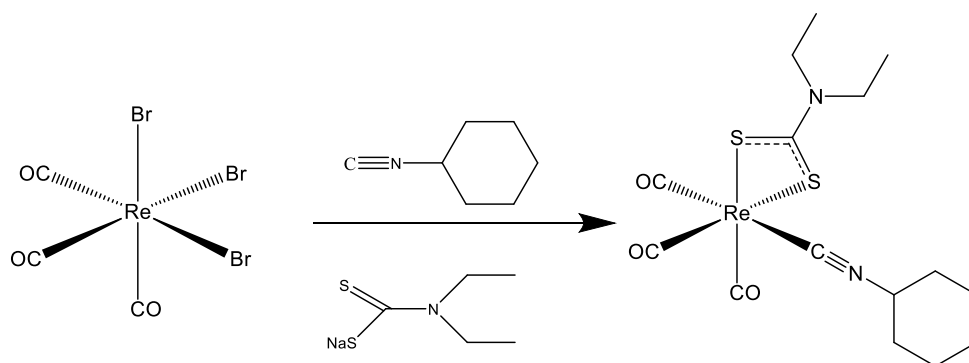
13.1 Σύνθεση και Ταυτοποίηση συμπλόκων Re, *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], **1** και *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃], **2**

Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του πρόδρομου μορίου [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃]. Στην ένωση αυτή, τα τρία άτομα βρωμίου είναι ιδιαίτερος ευκίνητα λόγω της ισχυρής επίδρασης *trans* των καρβονυλίων και αντικαθίστανται εύκολα από κατάλληλο υποκαταστάτη. Η σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃] έγινε σε δύο στάδια (Σχήμα 13.1). Στο πρώτο στάδιο συντέθηκε με υψηλή απόδοση η ένωση [ReBr(CO)₅] και στη συνέχεια συντέθηκε η πρόδρομη ένωση [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃] ως λευκό στερεό επίσης σε υψηλή απόδοση. Ο χαρακτηρισμός έγινε με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) και τα αποτελέσματα ήταν σύμφωνα με την βιβλιογραφία.



Σχήμα 13.1.1 Αντίδραση παρασκευής [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃]

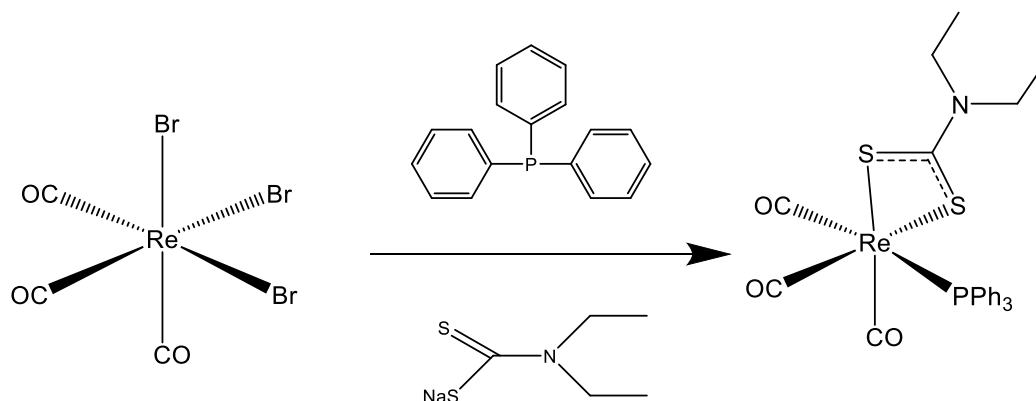
Στη συνέχεια παρασκευάστηκε το σύμπλοκο *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], **1** με ισομοριακή αντίδραση του διθειοκαρβαμιδικού υποκαταστάτη και του κυκλοεξυλοϊσονιτριλίου με την πρόδρομη ένωση [Et₄N]₂[ReBr₃(CO)₃]. Το σύμπλοκο προκύπτει με τη συναρμογή στο μέταλλο των δύο ατόμων θείου που διαθέτει ο διδραστικός υποκαταστάτης και την π-οπισθοσύνδεση του άνθρακα από το ισονιτρίλιο του μονοδραστικού υποκαταστάτη. Κατά τη συναρμογή σχηματίζεται ένας τετραμελής δακτύλιος με την απομάκρυνση του Na⁺ από το DTC, γεγονός που οδηγεί σε σχηματισμό ουδέτερου συμπλόκου, ενώ το κυκλοεξυλοϊσονιτρίλιο αντικαθιστά το ένα μόριο βρωμίου.



Σχήμα 13.1.2 Αντίδραση παραγωγής συμπλόκου *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], **1**

Τέλος, στην κατηγορία των 2 + 1 συμπλόκων παρασκευάστηκε το σύμπλοκο *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃], **2** με ισομοριακή αντίδραση του διθειοκαρβαμιδικού

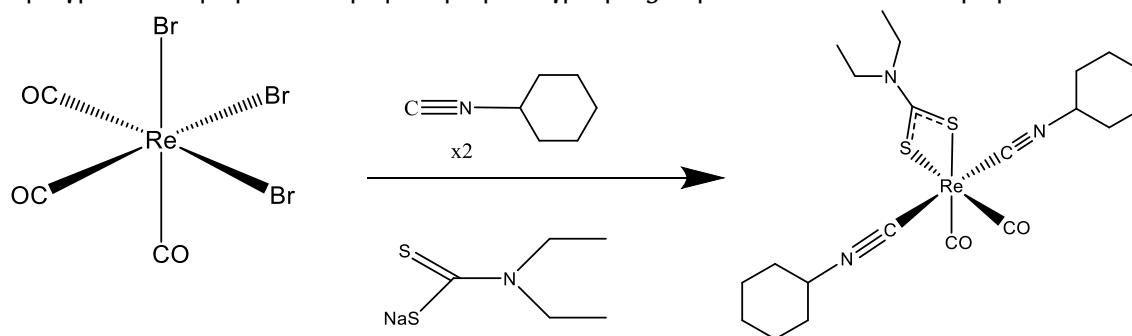
υποκαταστάτη και της τριφαινυλοφωσφίνης με την πρόδρομη ένωση $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$. Το σύμπλοκο προκύπτει με τη συναρμογή στο μέταλλο των δύο ατόμων θείου που διαθέτει ο διδραστικός υποκαταστάτης και την π-οπισθοσύνδεση της τριφαινυλοφωσφίνης. Κατά τη συναρμογή σχηματίζεται ένας τετραμελής δακτύλιος με την απομάκρυνση του Na^+ από το DTC, γεγονός που οδηγεί σε σχηματισμό ουδέτερου συμπλόκου, ενώ η φωσφίνη αντικαθιστά το ένα μόριο βρωμίου.



Σχήμα 13.1.3 Αντίδραση παραγωγής συμπλόκου $fac\text{-}[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, **2**

13.2 Σύνθεση και Ταυτοποίηση συμπλόκων Re, *cis-trans*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3**, *cis-trans*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, **4** και *cis*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5**.

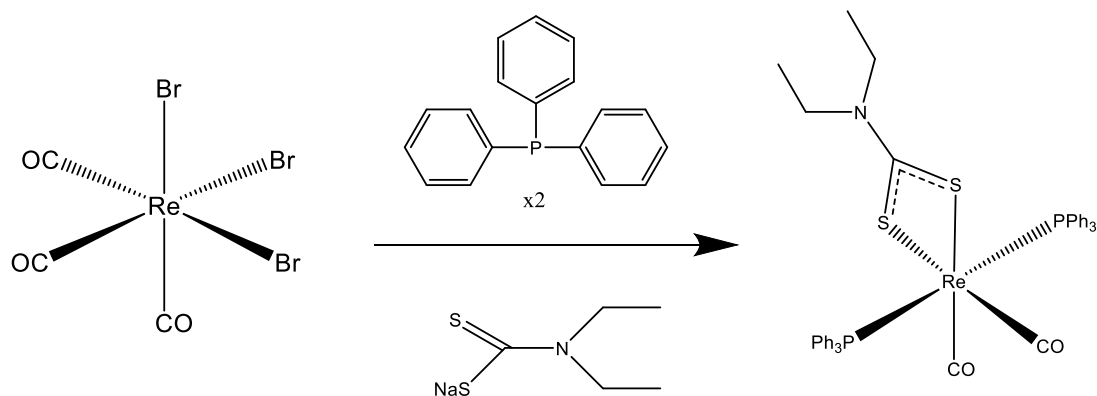
Με την προσθήκη ισομοριακής ποσότητας διδραστικού υποκαταστάτη στη πρόδρομη ένωση $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ και προσθήκη διπλάσιας ποσότητας μονοδραστικού υποκαταστάτη κυκλοεξυλοϊσονιτριλίου με βρασμό, παρασκευάστηκε το σύμπλοκο *cis-trans*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3**. Ο υποκαταστάτης αντικαθιστά ένα καρβονύλιο συμπλεκόμενος με το ρήνιο. Η μελέτη του μίγματος της αντίδρασης με αναλυτική HPLC αντίστροφης φάσης έδειξε μία νέα κορυφή. Για τον καθαρισμό του νέου προϊόντος της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε στήλη χρωματογραφίας με 100% διχλωρομεθάνιο.



Σχήμα 13.2.1 Αντίδραση παραγωγής συμπλόκου *cis-trans*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3**

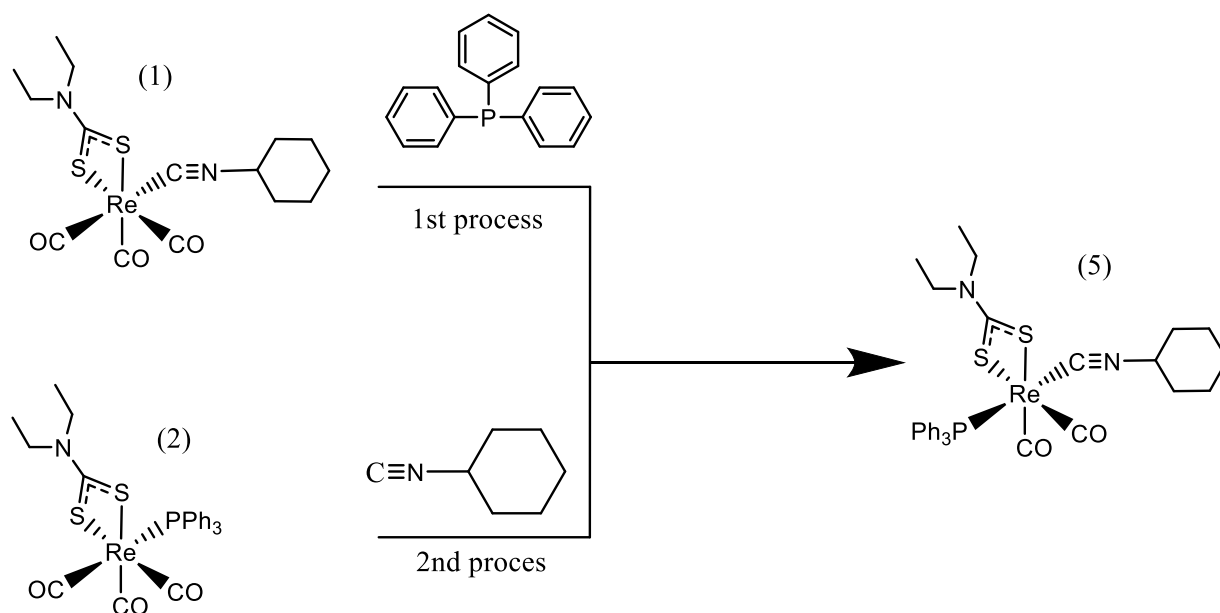
Με την προσθήκη ισομοριακής ποσότητας διδραστικού υποκαταστάτη στη πρόδρομη ένωση $[\text{Et}_4\text{N}]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ και προσθήκη διπλάσιας ποσότητας μονοδραστικού υποκαταστάτη τριφαινυλοφωσφίνης με βρασμό, παρασκευάστηκε το σύμπλοκο *cis-trans*- $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, **3**. Ο

υποκαταστάτης αντικαθιστά ένα καρβονύλιο συμπλεκόμενος με το ρήνιο. Η μελέτη του μίγματος της αντίδρασης με αναλυτική HPLC αντίστροφης φάσης έδειξε μία νέα κορυφή. Για τον καθαρισμό του νέου προϊόντος πραγματοποιήθηκε κρυστάλλωση σε διχλωρομεθάνιο/ μεθανόλη και λήφθηκαν λευκά κρυσταλλάκια.



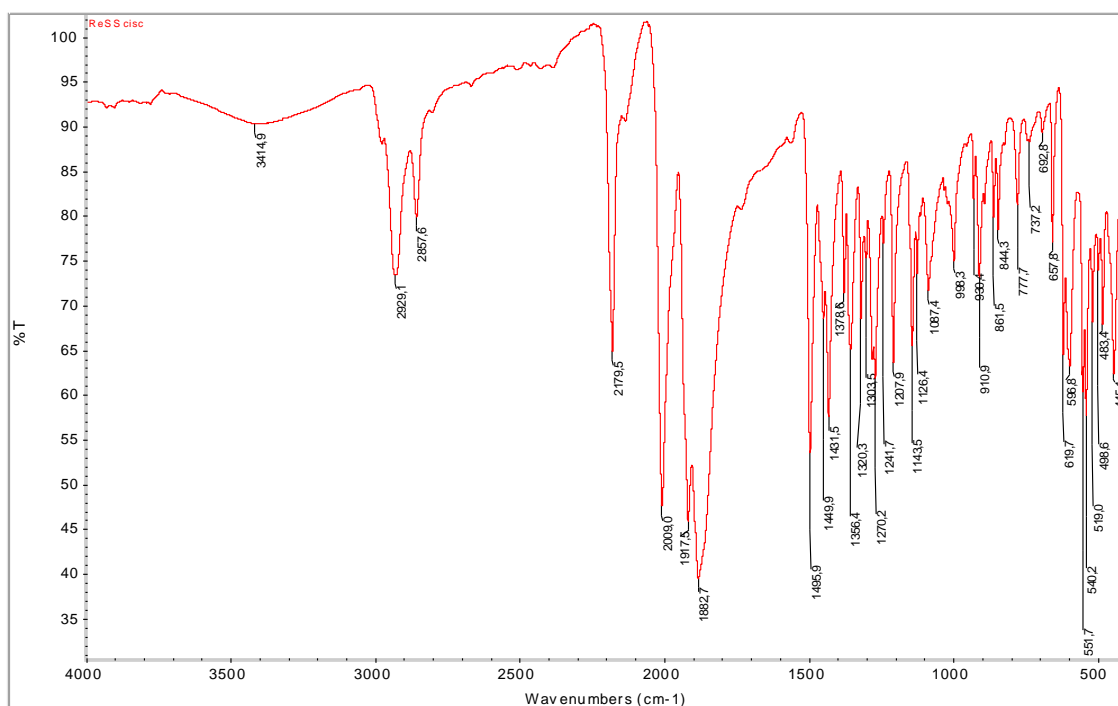
Σχήμα 13.2.2 Αντίδραση παραγωγής συμπλόκου *cis-trans*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂], **4**

Με την προσθήκη ισομοριακής ποσότητας μονοδραστικού υποκαταστάτη τριφαινυλοφωσφίνης ή κυκλοεξυλοϊσονιτρίλιου στο σύμπλοκο **1** ή **2** αντίστοιχα με βρασμό, παρασκευάστηκε το σύμπλοκο *cis*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂], **5**. Ο υποκαταστάτης αντικαθιστά ένα καρβονύλιο συμπλεκόμενος με το ρήνιο. Η μελέτη του μίγματος της αντίδρασης με αναλυτική HPLC αντίστροφης φάσης έδειξε μία νέα κορυφή. Την καλύτερη απόδοση, την είχε η 2^η συνθετική πορεία. Για την απομόνωση του νέου προϊόντος της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε στήλη χρωματογραφίας με 65% διχλωρομεθάνιο/ 35% εξάνιο και λήφθηκε λευκό στερεό.

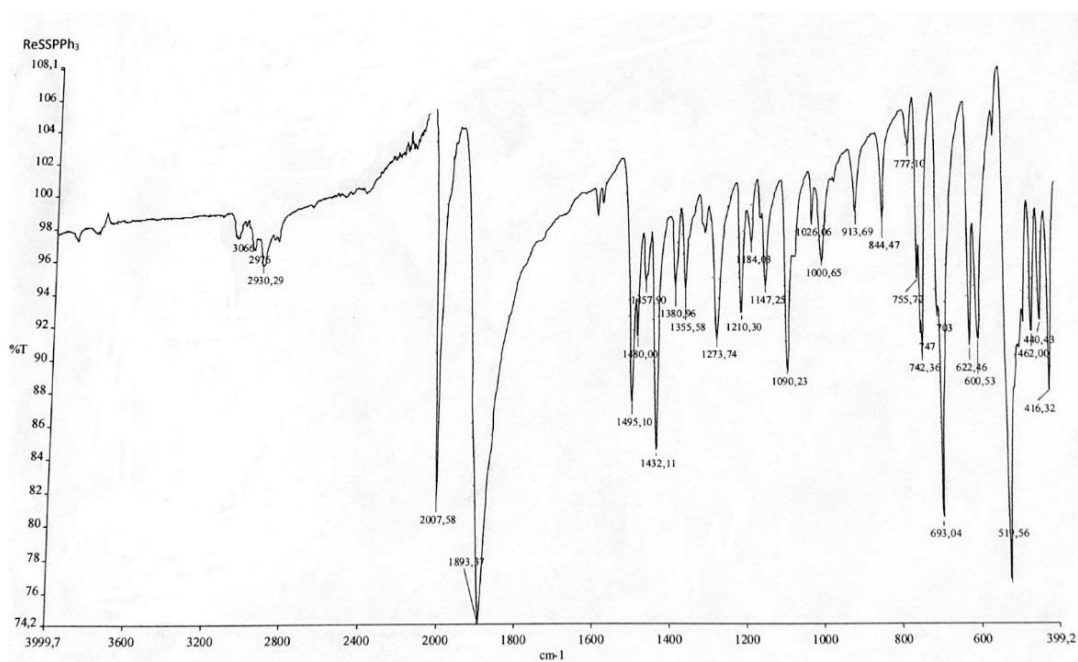


Σχήμα 13.2.3 Αντίδραση παραγωγής συμπλόκου *cis*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂], **5**

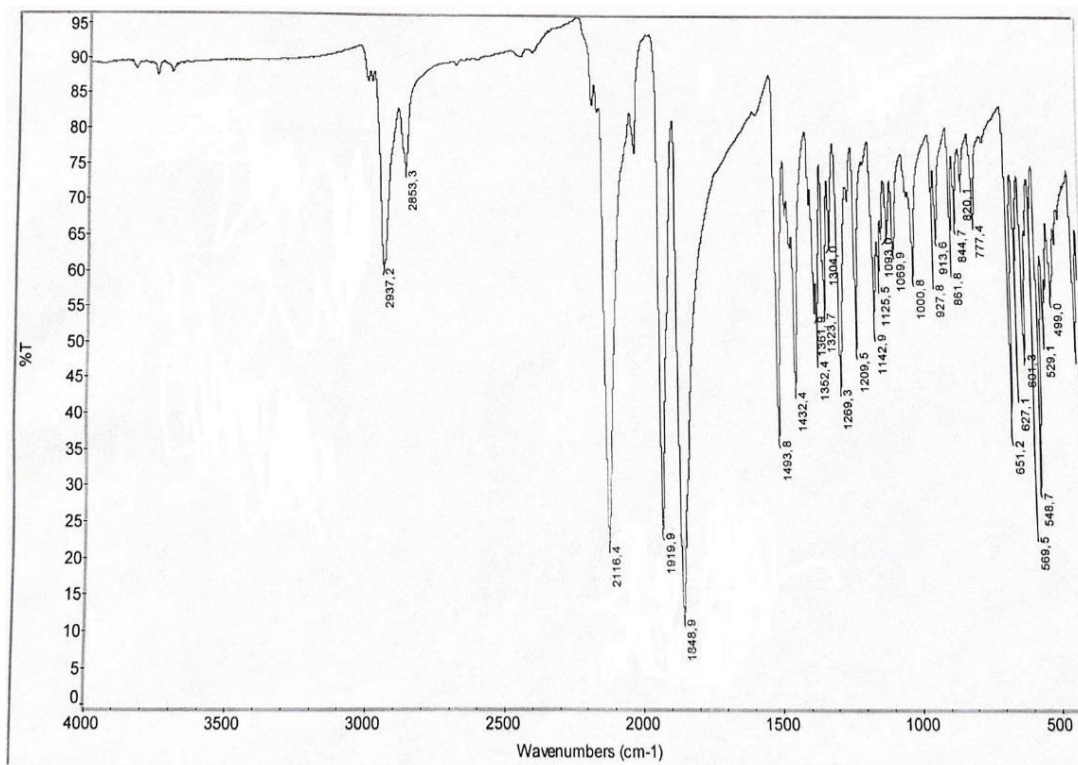
Τα στερεά που ελήφθησαν μελετήθηκαν με φασματοσκοπία υπεράυθρου (FT-IR). Για την ένωση **3** επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη των δύο καρβονυλίων γιατί παρουσιάζει τις χαρακτηριστικές κορυφές στα 1919 και 1848 cm^{-1} , οι οποίες αποδίδονται στους δεσμούς άνθρακα-οξυγόνου των καρβονυλίων. Επίσης στην ένωση **4** εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές των καρβονυλίων στα 1916 και 1843 cm^{-1} . Οι απορροφήσεις αυτές των IR φασμάτων των συμπλόκων **3** και **4** παρατηρήθηκε ότι βρίσκονται σε συμφωνία με τις απορροφήσεις που εμφανίζονται σε ανάλογα σύμπλοκα του ρηνίου που φέρουν τον πυρήνα *cis*-[Re(CO)₂].¹ Τέλος, οι κορυφές στα 2179, 2116 και 2141 cm^{-1} που εμφανίζονται στα φάσματα των συμπλόκων **1**, **3** και **5**, αντίστοιχα αποδίδονται στο τριπλό δεσμό των ισοκυανιδίων (Εικόνα 13.2.1 - 13.2.5).



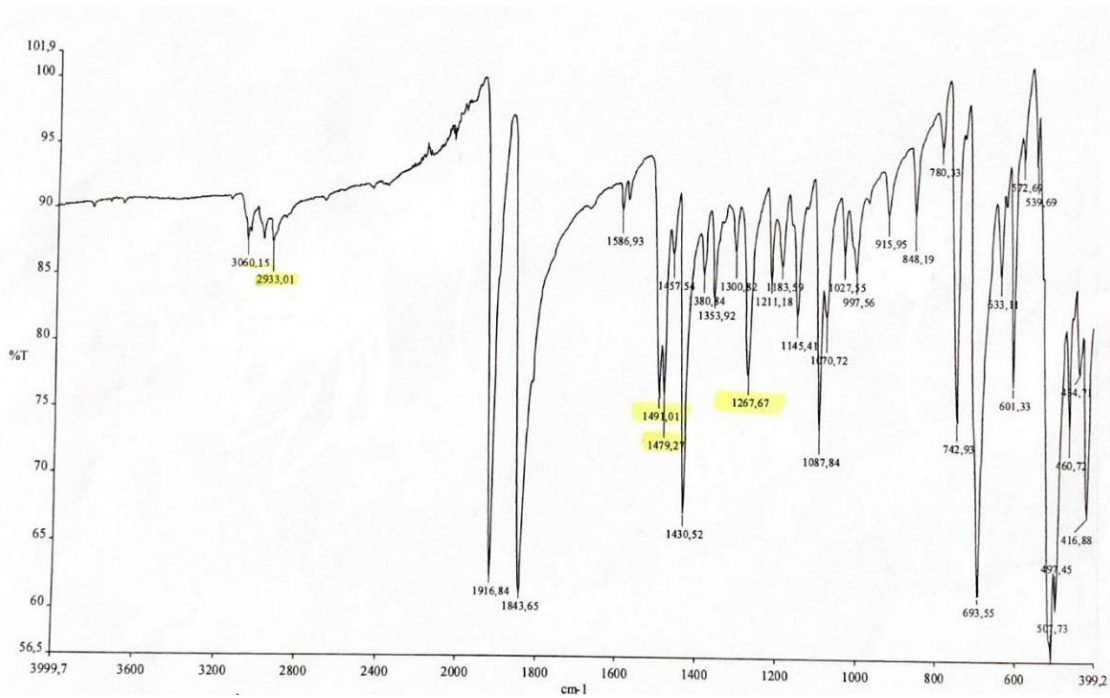
Εικόνα 13.2.1 IR *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], **1**



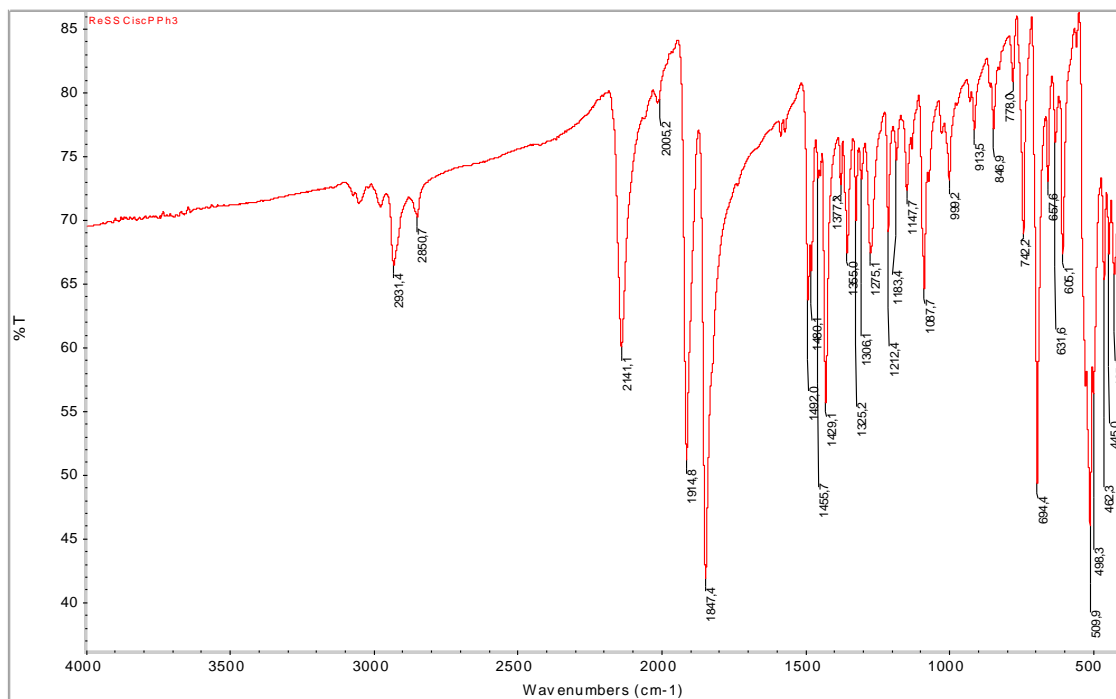
Εικόνα 13.2.2 IR $\text{fac}[\text{Re}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]_2$



Εικόνα 13.2.3 IR $\text{fac}[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]_3$



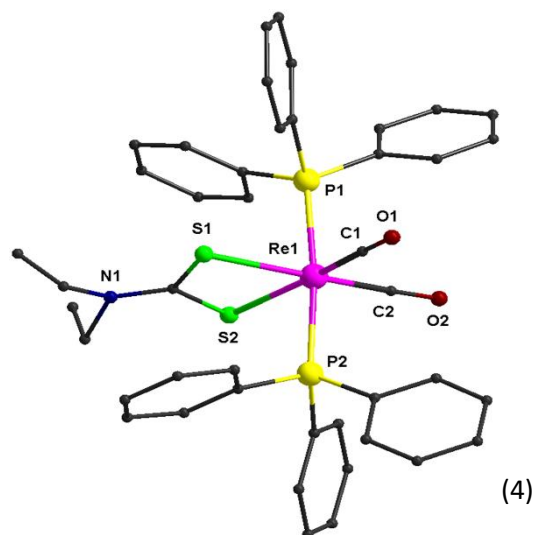
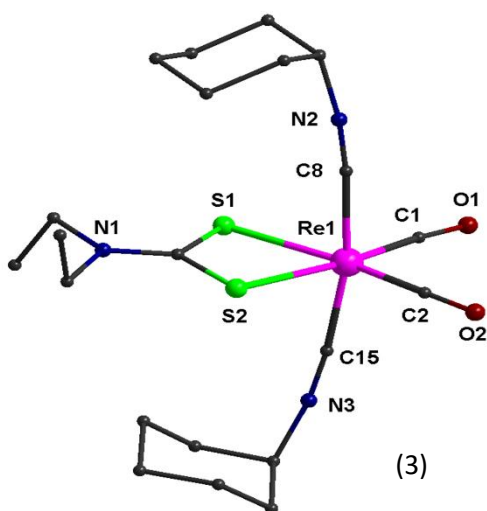
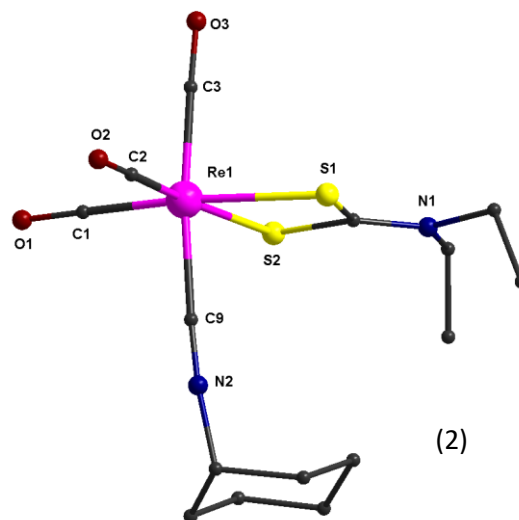
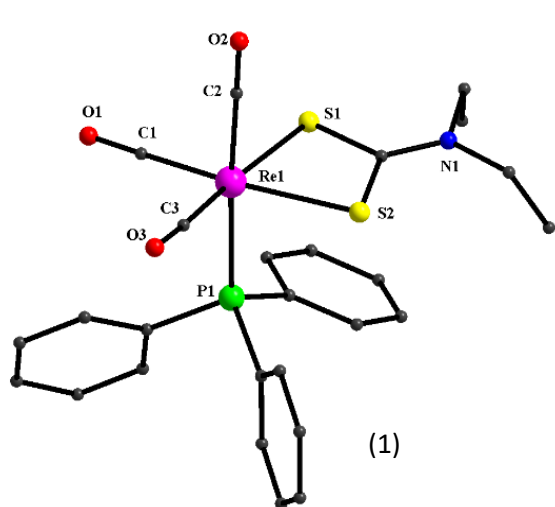
Εικόνα 13.2.4 IR *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂], **4**



Εικόνα 13.2.5 IR *cis*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₃], **5**

Επιπλέον τα συμπλόκα **1-5** χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία [NMR](#). Οι χημικές μετατοπίσεις των φασμάτων [¹H NMR](#) των συμπλόκων είναι οι αναμενόμενες.

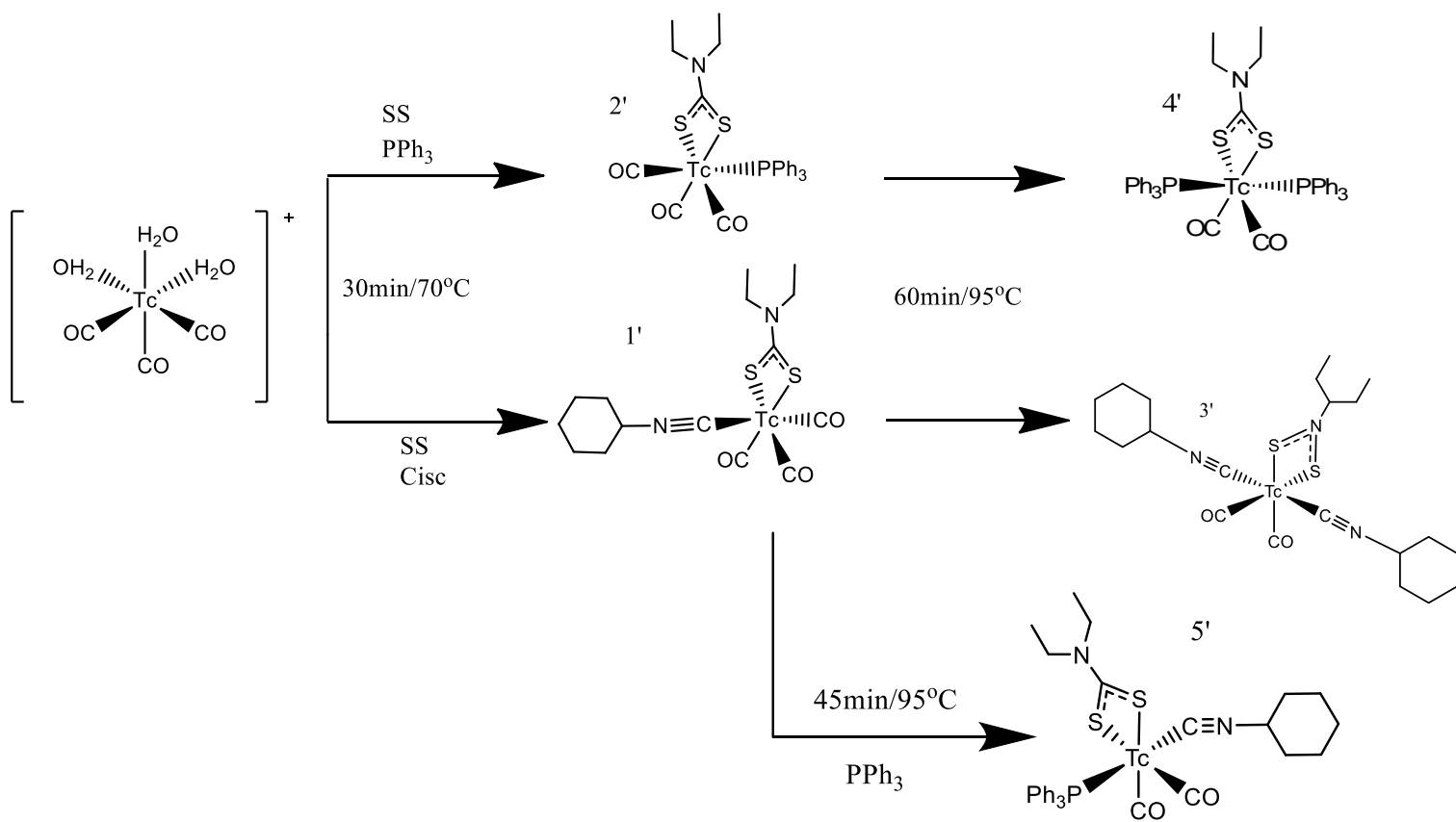
Η μοριακή δομή των συμπλόκων **1-4** επιβεβαιώθηκε με [κρυσταλλογραφία ακτίνων-X](#). Στα διαγράμματα ORTEP στην Εικόνα 13.2.3 εμφανίζονται οι σφαίρες σύνταξης του Re, οι οποίες αποτελούνται από τα άτομα δότες (SS) του διδραστικού διθειοκαρβαμιδικού υποκαταστάτη, τα άτομα άνθρακα των δύο καρβονυλίων και το άτομο δότη του μονοδραστικού υποκαταστάτη (C) για τα ισοκυανίδια. Η γεωμετρία σύνταξης, του εκάστοτε συμπλόκου Re, είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



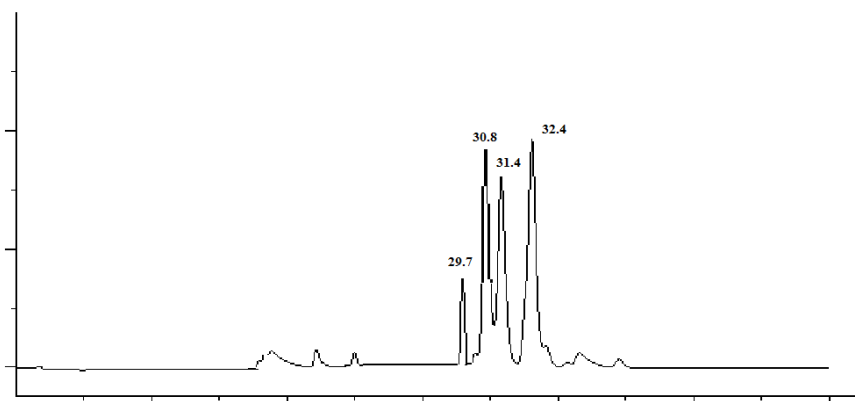
14.0 Παρασκευή συμπλόκων ^{99m}Tc

Για την σύνθεση των συμπλόκων του ^{99m}Tc χρησιμοποιήθηκε ως πρόδρομη ένωση το σύμπλοκο $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]^+$. Η παρασκευή του έγινε σε ατμόσφαιρα κορεσμένη από αέριο CO, με προσθήκη διαλύματος $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (10 mCi) σε φυσιολογικό ορό. Η αναγωγή του τεχνητίου έγινε με NaBH_4 και το pH ρυθμίστηκε στο 7 με προσθήκη HCl. Ο σχηματισμός του προδρόμου κατιόντος $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]^+$ επιβεβαιώθηκε με αναλυτική [RP-HPLC](#) 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 προδρόμου μορίου $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]^+$ σε μεθανολικό διάλυμα DTC και μεθανολικό διάλυμα Cisc για 30 min στους 70 °C (απόδοση >95%, HPLC: $t_R = 29.7$ min). Έπειτα συντέθηκε το σύμπλοκο **2'** με προσθήκη προδρόμου μορίου $fac-[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3]^+$ σε μεθανολικό διάλυμα DTC και μεθανολικό διάλυμα PPh_3 στους 70 °C για 30 min. Για την σύνθεση του **3'** χρησιμοποιήθηκε το μίγμα της αντίδρασης συμπλόκου **1'** αλλά παρέμεινε σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 45 min, όπως επίσης και για τη σύνθεση του **4'** χρησιμοποιήθηκε το μίγμα της αντίδρασης του συμπλόκου **2'** αλλά παρέμεινε σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 45 min. Τέλος, για τη σύνθεση του συμπλόκου **5'**, απομονώθηκε το σύμπλοκο **1'** και έπειτα έγινε προσθήκη μεθανολικού διαλύματος PPh_3 και παρέμεινε σε υδατόλουτρο στους 95 °C για 45 min. Η ανάλυση με [RP-HPLC](#) του μίγματος της αντίδρασης έδειξε τέσσερις κορυφές: μια στα 29.7 min, μια στα 30.8 min, μία στα 31.4 min και μία 32.4 min με αναλογία 6:31:28:33. Η πρώτη κορυφή οφείλεται στην παρουσία του συμπλόκου $[^{99m}\text{Tc}]fac-[Tc(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$ που δεν αντέδρασε, η δεύτερη οφείλεται στο σύμπλοκο $[^{99m}\text{Tc}]fac-[Tc(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, η τρίτη οφείλεται στο σύμπλοκο $[^{99m}\text{Tc}]cis-[Tc(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, και η τέταρτη στο σύμπλοκο $[^{99m}\text{Tc}]cis-trans-[Tc(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$.

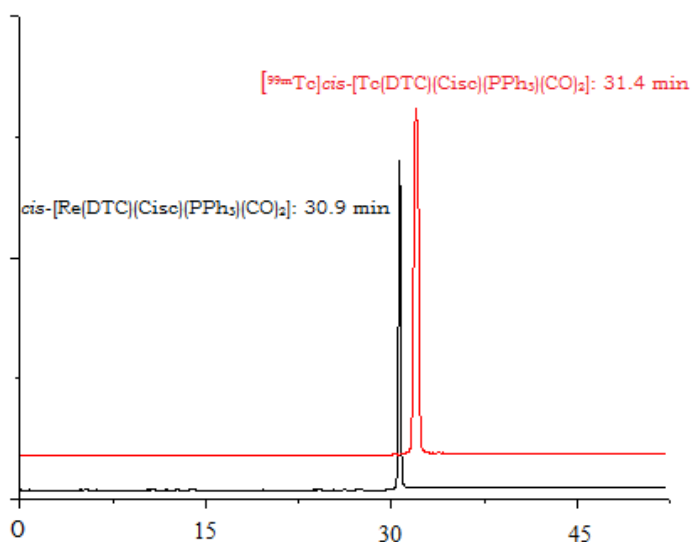


Σχήμα 14.1 Αντιδράσεις συμπλόκων $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$ και $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$



Εικόνα 14.1 Χρωματογραφική ανάλυση της αντίδρασης για το συμπλόκο $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$

Η κορυφή στα 31.4 min απομονώθηκε και πραγματοποιήθηκε συγχορήγηση (co-injection) με το ταυτοποιημένο συμπλόκο **5**. Η [HPLC](#) έδειξε ότι οι χρόνοι έκλυσης των δύο συμπλόκων είναι παρόμοιοι επομένως το προϊόν της επισήμανσης είναι το συμπλόκο $[^{99m}\text{Tc}]\text{cis-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5'** (Εικόνα 14.3). Κατά την διάρκεια του ραδιενεργού πειράματος χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική HPLC και το Gradient I.



Εικόνα 14.3 Συγκριτική χρωματογραφική ανάλυση των συμπλόκων $[\text{Re}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5** και $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]_{\text{cis}}\text{-}[\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, **5'**

14.1 Σταθερότητα συμπλόκων $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Τα απομονωμένα σύμπλοκα **1'** έως **5'** 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 98 % (Πίνακας 14.1.1). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μελέτη των συμπλόκων παρουσία ανταγωνιστών ισιδίνης και κυστεΐνης 10^{-3} M στους 36 °C έως και 6 ώρες. Τα σύμπλοκα είναι ιδιαίτερα σταθερά (Πίνακας 14.1.1).

Πίνακας 14.1.1 Σταθερότητα των συμπλόκων **2'** - **5'** ως απομονωμένα σύμπλοκα καθώς και παρουσία ανταγωνιστών ισιδίνης κυστεΐνης

Σύμπλοκο	Απομονωμένο σύμπλοκο (%)	Παρουσία ισιδίνης (%)			Παρουσία κυστεΐνης (%)		
	6 h	1 h	3 h	6 h	1 h	3 h	6 h
<i>fac</i> - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3]$, 1'	96	96	94	90	96	95	94
<i>fac</i> - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3]$, 2'	98	98	96	92	98	93	90
<i>cis-trans</i> - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2]$, 3'	92	92	90	90	92	89	88
<i>cis-trans</i> - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2]$, 4'	95	95	94	91	95	93	90
<i>cis</i> - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2]$, 5'	95	94	92	92	93	91	91

14.2 Λιποφιλικότητα συμπλόκων ^{99m}Tc

Για την μελέτη της λιποφιλικότητας των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκε η-οκτανόλη και ρυθμιστικό διάλυμα PBS. Το σύμπλοκο **3'** έχει $\text{LogP} = 2.60$, ενώ το σύμπλοκο **4'** έχει $\text{LogP} = 1.60$, και τέλος παρατηρούμε ότι το σύμπλοκο **5'** έχει $\text{LogP} = 2.04$. Οι τιμές αυτές είναι αναμενόμενες γιατί το **5'** σύμπλοκο με δύο καρβονύλια περιέχει δύο διαφορετικούς μονοδραστικούς υποκαταστάτες, με αποτέλεσμα η λιποφιλικότητά του να είναι στη μέση .

Πίνακας 14.2.1 Λιποφιλικότητα συμπλόκων ^{99m}Tc

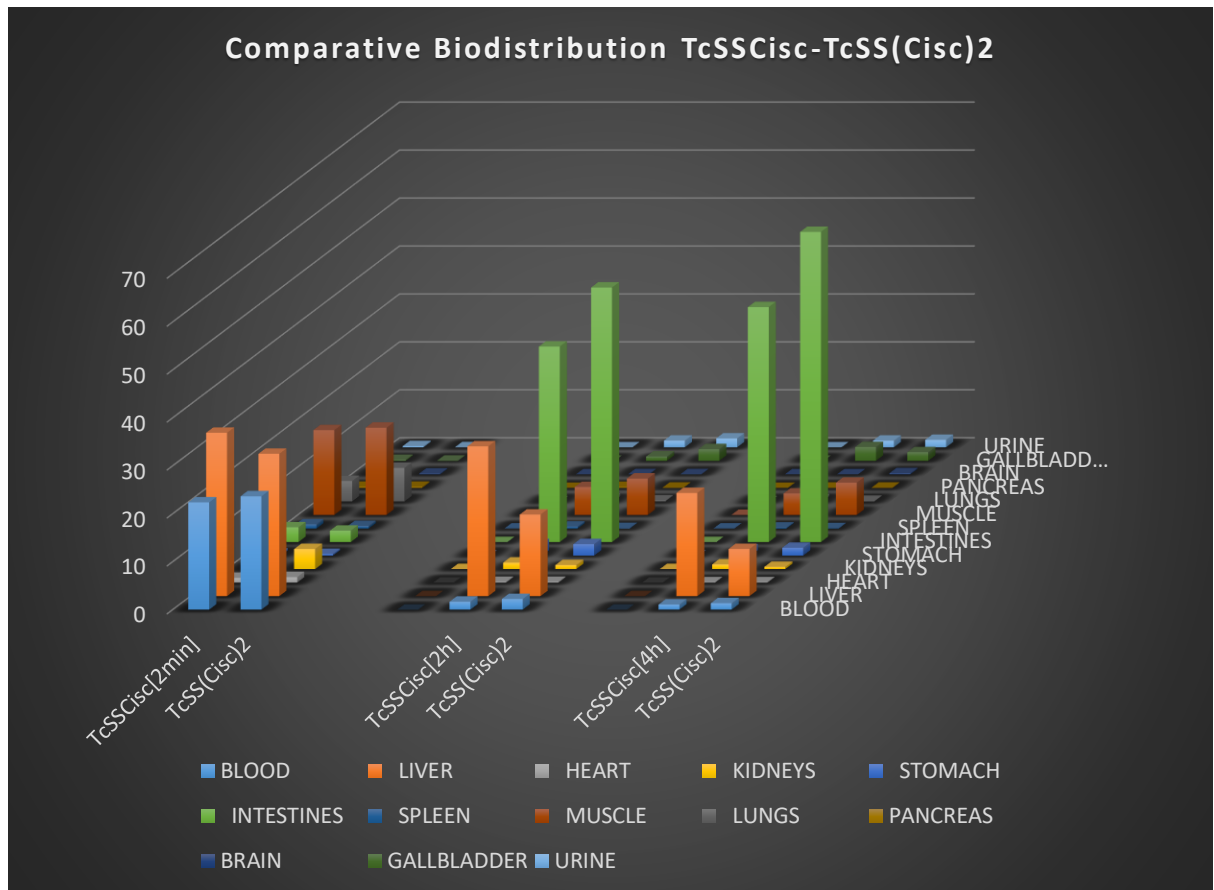
Σύμπλοκο	LogP
<i>fac</i> - $^{99m}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{CO})_3$, 1'	3.39
<i>fac</i> - $^{99m}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_3$, 2'	2.96
<i>cis-trans</i> - $^{99m}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})_2(\text{CO})_2$, 3'	2.60
<i>cis-trans</i> - $^{99m}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})_2$, 4'	1.60
<i>cis</i> - $^{99m}\text{Tc}(\text{DTC})(\text{Cisc})(\text{PPh}_3)(\text{CO})_2$, 5'	2.04

14.3 Βιολογική αξιολόγηση των συμπλόκων

14.3.1 Βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων **1'** και **3'**

Οι βιολογικές κατανομές πραγματοποιήθηκαν για τα χρονικά διαστήματα 2 min, 2 h και 4 h έπειτα από ενδοφλέβια χορήγηση των συμπλόκων **1'** και **3'**.

Στο σχεδιάγραμμα 14.3.1 παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα από τις δύο βιοκατανομές των συμπλόκων για κάθε όργανο ή ιστό εκφραζόμενα ως % ID/όργανο. Στα 2 πρώτα λεπτά παρατηρείται ταχεία πρόσληψη από τον μυ σε ποσοστό 17,7% και 18,2% για το κάθε σύμπλοκο αντίστοιχα, ενώ τις επόμενες ώρες μειώνεται. Μετά από 2 ώρες και τα δύο σύμπλοκα παρουσιάζουν αιματική κάθαρση. Η μελέτη έδειξε επίσης ότι τα σύμπλοκα παρουσιάζουν ταχεία πρόσληψη από το ήπαρ στα 2 πρώτα λεπτά, ενώ απομακρύνονται μετά τις 2 ώρες, το σύμπλοκο **3'** έχει την ταχύτερη και την μεγαλύτερη απομάκρυνση από το ήπαρ με ποσοστό καθήλωσης μόνο 9% στις 4 ώρες. Στις 2 και στις 4 ώρες μετά την χορήγηση, παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα απομακρύνονται κυρίως από το ηπατοχολικό σύστημα, γεγονός που δικαιολογεί τις υψηλές λιποφιλικότητες τους. Επίσης δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο στομάχι, που δείχνει ότι τα σύμπλοκα είναι σταθερά και δεν επανοξειδώνονται *in vivo* σε υπερτεχνητικά. Τέλος, δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο σπλήνα, γεγονός που δείχνει ότι το σύμπλοκο δεν μετατρέπεται σε κολλοειδές.

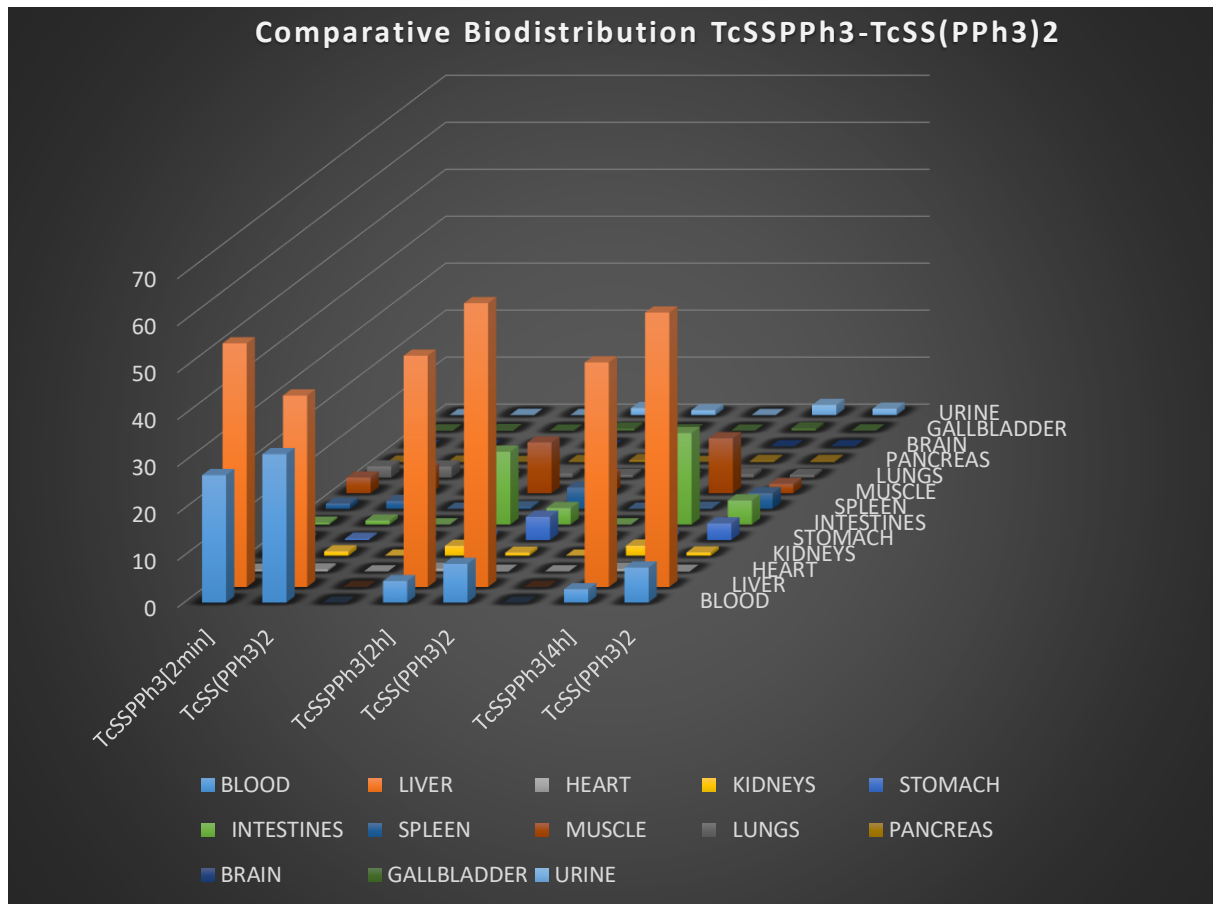


Σχεδιάγραμμα 14.3.1 Κατανομή των συμπλόκων **1'** και **3'** στα όργανα σε συνάρτηση χρόνου

14.3.2 Βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων **2'** και **4'**

Οι βιολογικές κατανομές πραγματοποιήθηκαν για τα χρονικά διαστήματα 2 min, 2 h και 4 h έπειτα από ενδοφλέβια χορήγηση των συμπλόκων **2'** και **4'**.

Στο σχεδιάγραμμα 14.3.2 παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα από τις δύο βιοκατανομές των συμπλόκων για κάθε όργανο ή ιστό εκφραζόμενα ως % ID/όργανο. Στα 2 πρώτα λεπτά παρατηρείται ταχεία πρόσληψη από το ήπαρ σε ποσοστό 51% και 40,7% για το κάθε σύμπλοκο αντίστοιχα, ενώ τις επόμενες ώρες μειώνεται για το σύμπλοκο **2'** και αυξάνεται για το σύμπλοκο **4'**. Μετά από 2 ώρες και τα δύο σύμπλοκα παρουσιάζουν αιματική κάθαρση. Η μελέτη έδειξε επίσης ότι τα σύμπλοκα παρουσιάζουν πρόσληψη από το μυ στα 2 πρώτα λεπτά, ενώ απομακρύνεται μετά τις 2 ώρες το σύμπλοκο **4'**, στο σύμπλοκο **2'** αυξάνεται η πρόσληψη στις 4 ώρες και αγγίζει το 11,6%. Στις 2 και στις 4 ώρες μετά την χορήγηση, παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα δεν απομακρύνονται από το ηπατοχολικό σύστημα, με το σύμπλοκο **2'** να έχει λίγο καλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης από το **4'**. Επίσης, για το σύμπλοκο **4'** ανιχνεύθηκε μικρό ποσοστό ραδιενέργειας στο στομάχι στις 2 ώρες, που δείχνει ότι το σύμπλοκο δεν είναι επαρκώς σταθερό και επανοξειδώνονται *in vivo* σε υπερτεχνητικά. Τέλος, δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο σπλήνα, γεγονός που δείχνει ότι τα σύμπλοκα δεν μετατρέπονται σε κολλοειδές.



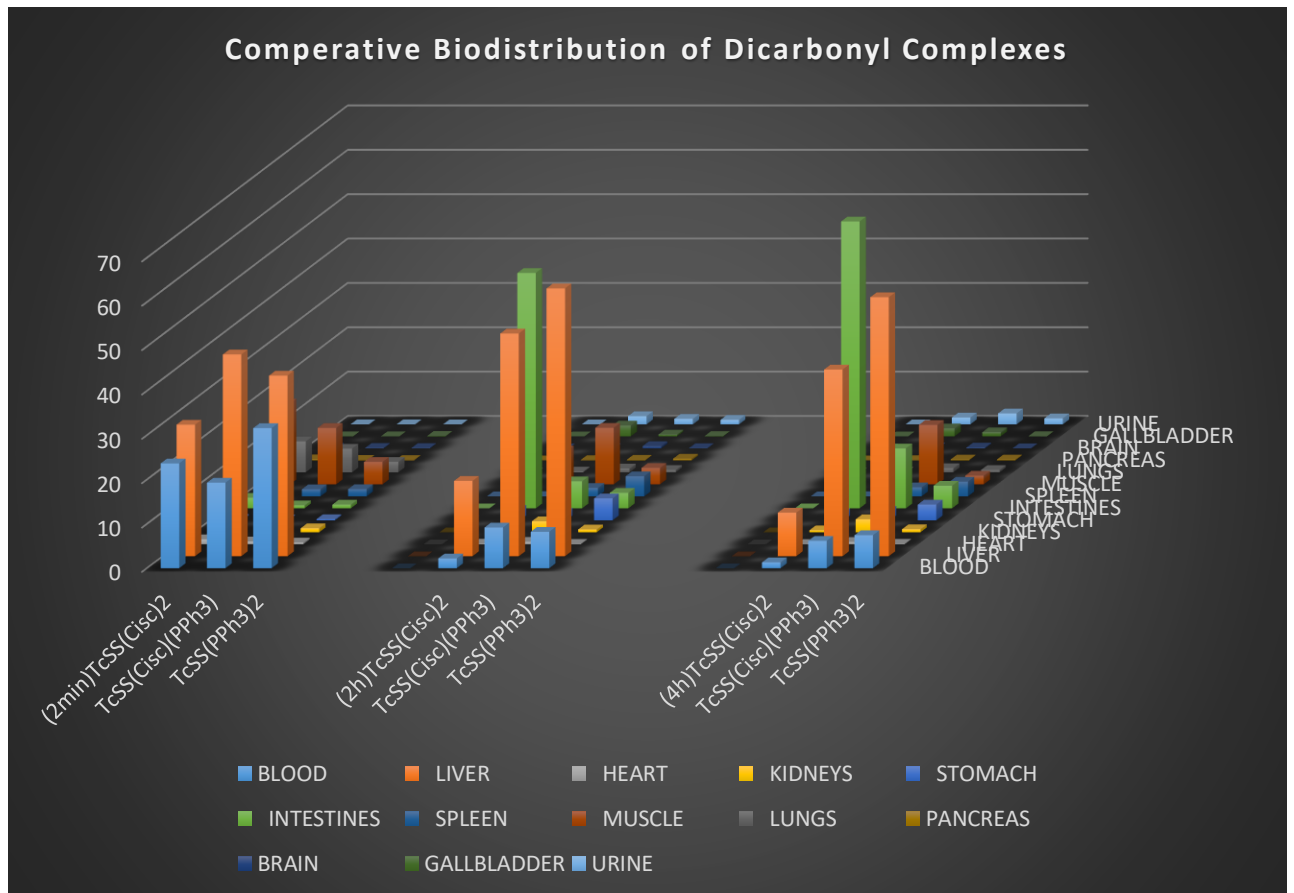
Σχεδιάγραμμα 14.3.2 Κατανομή των συμπλόκων **2'** και **4'** στα όργανα σε συνάρτηση χρόνου

14.3.3 Συγκριτική βιολογική αξιολόγηση συμπλόκων **3'** - **5'**

Οι βιολογικές κατανομές πραγματοποιήθηκαν για τα χρονικά διαστήματα 2 min, 2 h και 4 h έπειτα από ενδοφλέβια χορήγηση των συμπλόκων **3'** - **5'**.

Στο σχεδιάγραμμα 14.3.3 παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα από τις τρεις βιοκατανομές των συμπλόκων με δύο καρβονύλια, για κάθε όργανο ή ιστό εκφραζόμενα ως % ID/όργανο. Στα 2 πρώτα λεπτά παρατηρείται ταχεία πρόσληψη από το ήπαρ και στα 3 σύμπλοκα, μέχρι τις 4 ώρες το σύμπλοκο **3'** έχει απομακρυνθεί από το ήπαρ, το ποσοστό του συμπλόκου **4'** έχει αυξηθεί, ενώ το ποσοστό του συμπλόκου **5'** έχει παραμείνει σταθερό στο 42%. Επιπροσθέτως, στα 2 πρώτα λεπτά υπάρχει ταχεία πρόσληψη από το μυ σε ποσοστό 18% και 12,7% για τα σύμπλοκα **3'** και **5'** αντίστοιχα, στις 4 ώρες το σύμπλοκο **3'** έχει απομακρυνθεί από το μυ, ενώ το ποσοστό του συμπλόκου **5'** έχει αυξηθεί στο 13,4%. Στις 2 και στις 4 ώρες μετά την χορήγηση, παρατηρείται ότι κυρίως το σύμπλοκο **3'** απομακρύνεται κυρίως από το ηπατοχολικό σύστημα, μετά ακολουθεί το σύμπλοκο **5'** με ποσοστό 15% στις 4 ώρες, γεγονός που δικαιολογεί τις υψηλές λιποφιλικότητες τους, ενώ το σύμπλοκο **4'** δεν φαίνεται να απομακρύνεται.

Τέλος, δεν ανιχνεύθηκε ραδιενέργεια στο σπλήνα, γεγονός που δείχνει ότι τα σύμπλοκα δεν μετατρέπονται σε κολλοειδές.



Σχεδιάγραμμα 14.3.3 Κατανομή των συμπλόκων 3' - 5' στα όργανα σε συνάρτηση χρόνου

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία σχεδιάστηκαν και παρασκευάστηκαν επιτυχώς πέντε σύμπλοκα ρηνίου. Ως διδραστικός υποκαταστάτης χρησιμοποιήθηκε ο διαιθυλοδιθειοκαρβαμιδικός (DTC) και ως μονοδραστικοί υποκαταστάτες χρησιμοποιήθηκαν το κυκλοεξυλοϊσονιτρίλιο (SS) και η τριφαινυλφωσφίνη (PPh₃). Τα σύμπλοκα που παρουσιάστηκαν παραπάνω ήταν:

- Δύο σύμπλοκα με 2+1 προσέγγιση: *fac*-[Re(DTC)(Cisc)(CO)₃], **1** και *fac*-[Re(DTC)(PPh₃)(CO)₃], **2**
- Τρία σύμπλοκα με 2+1+1 προσέγγιση: *cis-trans*-[Re(DTC)(Cisc)₂(CO)₂], **3**, *cis-trans*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂], **4** και *cis*-[Re(DTC)(Cisc)(PPh₃)(CO)₂], **5**.
- Τη μεγαλύτερη απόδοση την είχαν τα σύμπλοκα της 2+1 προσέγγισης, και το *cis-trans*-[Re(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂], **4** με ποσοστό >80%
- Για την παρασκευή των συμπλόκων με προσέγγιση 2+1+1 απαιτήθηκαν έντονες συνθήκες και η τελική τους απόδοση ήταν σε πολύ μικρότερο ποσοστό 30%-55%
- Η ταυτοποίηση των συμπλόκων έγινε με IR, NMR και κρυσταλλογραφία ακτίνων-X
- Ο διδραστικός υποκαταστάτης, σχηματίζει τετραμελή χηλικό δακτύλιο με το μέταλλο

Μετά τον πλήρη χαρακτηρισμό των συμπλόκων ρηνίου, παρασκευάστηκαν όλα τα σύμπλοκα σε επίπεδο ^{99m}Tc.

- Αντίστοιχα με τα σύμπλοκα σε επίπεδο ρηνίου, τα σύμπλοκα με την προσέγγιση 2+1 σε επίπεδο τεχνητίου είχαν επίσης υψηλές αποδόσεις, όπως επίσης και το [^{99m}Tc]*cis-trans*-[Tc(DTC)(PPh₃)₂(CO)₂], **4'**
- Χαμηλές αποδόσεις είχαν τα σύμπλοκα: [^{99m}Tc]*cis-trans*-[Tc(DTC)(Cisc)₂(CO)₂], **3'** και [^{99m}Tc]*cis*-[Tc(DTC)(Cisc)(PPh₃)₂(CO)₂], **5'**, 40% και 28% αντίστοιχα
- Πραγματοποιήθηκαν μελέτες λιποφιλικότητας και συμπερασματικά όλα τα σύμπλοκα ήταν αρκετά λιπόφιλα εκτός από το **4'**
- Πραγματοποιήθηκαν μελέτες σταθερότητας και αποδείχθηκε ότι όλα τα σύμπλοκα ήταν σταθερά έως και τις 6 ώρες που μελετήθηκαν
- Η τελευταία μελέτη που διεξήχθη, ήταν η βιολογική αξιολόγηση όλων των συμπλόκων για τα χρονικά διαστήματα των 2 min, 2 h και 4 h
 - Όλα τα σύμπλοκα δεν οξειδώθηκαν και ήταν σταθερά, γιατί δεν παρατηρήθηκε ραδιενέργεια στον στόμαχο και στον σπλήνα
 - Απέκκριση από το ηπατοχολικό παρατηρήθηκε σε όλα τα σύμπλοκα εκτός από τα **2'** και **4'** όπου κατακρατήθηκαν κυρίως από το ήπαρ
 - Τα καλύτερα αποτελέσματα τα παρουσίασε το σύμπλοκο **3'**, επειδή είχε αυξημένη πρόσληψη από το μυ στα 2 πρώτα λεπτά κίολας ενώ απομακρύνθηκε ταχεία μέσω του γαστρεντερικού συστήματος
 - Τα πιο ανεπιθύμητα αποτελέσματα τα είχε το σύμπλοκο **4'**, λόγω αυξημένης πρόσληψης στο ήπαρ και παραμονής του μέχρι και τις 4 ώρες. Ενώ, δεν παρουσιάστηκε απομάκρυνση του συμπλόκου από το γαστρεντερικό ή το νεφρικό σύστημα.

- Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι το σύμπλοκο **5'**, έδειξε αυξημένη πρόσληψη στο μυ αλλά και την παραμονή του εκεί, έως και τις 4 ώρες που μελετήθηκε.

Το αξιοσημείωτο είναι ότι τα σύμπλοκα με το κυκλοεξυλοϊσονιτρίλιο είχαν αυξημένη πρόσληψη στο μυ, όμως από το πρώτο δίωρο είχαν απομακρυνθεί. Από την άλλη πλευρά, τα σύμπλοκα με την τριφαινυλοφωσφίνη, είχαν μικρότερη πρόσληψη, όμως μεγάλη παραμονή στο μυ.

Συνοψίζοντας, οι τρεις υποκαταστάτες που σταθεροποιούν τον μεταλλικό πυρήνα, δίνουν τη δυνατότητα πρόσδεσης περισσότερων του ενός φαρμακοφόρων που πιθανόν να ασκούν συνεργιστική δράση, ενώ σε άλλες θέσεις μπορούν να προσδεθούν υποκαταστάτες που θα βελτιώνουν την φαρμακοκινητική του συμπλόκου. Επομένως, το μόριο γίνεται πολυλειτουργικό και είναι φανερό ότι τέτοιου είδους σύμπλοκα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δομικοί λίθοι στην ανάπτυξη νέων εξειδικευμένων ραδιοφαρμάκων του τεχνητίου

Βιβλιογραφία

1. Williams JE. Donner Laboratory: the birthplace of nuclear medicine. *J Nucl Med*. 1999;40(1).
2. Shaw SM, Ice RD. Nuclear pharmacy, part I: Emergence of the specialty of nuclear pharmacy. *J Nucl Med Technol*. 2000;28(1):8-11.
3. Gourtsoyiannis N, McCall I, Reiser M, et al. White paper of the European Society of Radiology (ESR) and the European Association of Nuclear Medicine (EANM) on multimodality imaging. *Eur Radiol*. 2007;17(8):1926-1930. doi:10.1007/s00330-007-0698-7
4. Ε. Χ. *Ραδιοφαρμακευτική Χημεία*. Εκδόσεις Πήγασος 2000; 2004.
5. Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Springer New York; 2010. doi:10.1007/978-1-4419-5860-0
6. Anderson CJ, Welch MJ. Radiometal-labeled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. *Chem Rev*. 1999;99(9):2219-2234. doi:10.1021/cr980451q
7. Williams ED. Radionuclides in diagnosis. *Phys Educ*. 1989;24(4):306. doi:10.1088/0031-9120/24/4/306
8. Sharp PF, Gemmell HG, Murray AD. *Practical Nuclear Medicine*. Springer London; 2005. doi:10.1007/b136183
9. File:GammaCamera.jpg - Wikimedia Commons. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:GammaCamera.jpg>. Accessed December 3, 2019.
10. Mortensen J, Gutte H. SPECT/CT and pulmonary embolism. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(SUPPL. 1). doi:10.1007/s00259-013-2614-5
11. *Clinical Applications of SPECT/CT: New Hybrid Nuclear Medicine Imaging System.*; 2008.
12. Vidal FP, Lazaro-Ponthus D, Legoupil S, Louchet J, Lutton É, Rocchisani JM. Artificial evolution for 3D PET reconstruction. In: *Lecture Notes in Computer Science (Including Subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*. Vol 5975 LNCS. ; 2010:37-48. doi:10.1007/978-3-642-14156-0_4
13. Gambhir SS, Czernin J, Schwimmer J, Silverman DHS, Coleman RE, Phelps ME. A tabulated summary of the FDG PET literature. *J Nucl Med*. 2001;42(5 SUPPL.).
14. Positron Emission Tomography Imaging of Drug-Induced Tumor. <https://www.slideshare.net/AshrafAli84/ashraf-pet>. Accessed December 3, 2019.
15. Kassis AI. Therapeutic Radionuclides: Biophysical and Radiobiologic Principles. *Semin Nucl Med*. 2008;38(5):358-366. doi:10.1053/j.semnuclmed.2008.05.002
16. Volkert WA, Goeckeler WF, Ehrhardt GJ, Ketring AR. Therapeutic radionuclides: Production and decay property considerations. *J Nucl Med*. 1991;32(1):174-185.
17. Volkert WA, Huffman TJ. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem Rev*.

- 1999;99(9):2269-2292. doi:10.1021/cr9804386
18. Abram U, Alberto R. Technetium and rhenium - Coordination chemistry and nuclear medical applications. In: *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Vol 17. Sociedade Brasileira de Quimica; 2006:1486-1500. doi:10.1590/S0103-50532006000800004
 19. *Technetium-99m Radiopharmaceuticals: Status and Trends*. <http://www.iaea.org/Publications/index.html>. Accessed December 10, 2019.
 20. Johnstone E V., Yates MA, Poineau F, Sattelberger AP, Czerwinski KR. Technetium: The First Radioelement on the Periodic Table. *J Chem Educ*. 2017;94(3):320-326. doi:10.1021/acs.jchemed.6b00343
 21. Perrier C, Segrè E. Technetium: The element of atomic number 43 [2]. *Nature*. 1947;159(4027):24. doi:10.1038/159024a0
 22. SMITH EM. INTERNAL DOSE CALCULATION FOR 99MTC. *J Nucl Med*. 1965;6:231-251. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14291076>. Accessed December 10, 2019.
 23. Alberto R. New organometallic technetium complexes for radiopharmaceutical imaging. *Top Curr Chem*. 2005;252:1-44. doi:10.1007/b101223
 24. Husak V, Vlcek J. Some remarks on 99Mo-99mTc generator kinetics. *Eur J Nucl Med*. 1982;7(7):331-332. doi:10.1007/bf00253432
 25. ANDROS G, HARPER P V., LATHROP KA. PERTECHNETATE-99M LOCALIZATION IN MAN WITH APPLICATIONS TO THYROID SCANNING AND THE STUDY OF THYROID PHYSIOLOGY. *J Clin Endocrinol Metab*. 1965;25:1067-1076. doi:10.1210/jcem-25-8-1067
 26. Beasley CW. *Radiopharmaceuticals for Nuclear Cardiac Imaging: Generator Systems for Tc-99m and Rb-82*.
 27. Θ Σ-Π. *Ειδικά Μαθήματα Φαρμακευτικής Ραδιοχημείας.*; 1993.
 28. Pecsok RL. *Modern Methods of Chemical Analysis*. Wiley; 1976.
 29. Radiopharmaceuticals | SpringerLink. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-4233-2_3. Accessed December 10, 2019.
 30. Παπαδόπουλος Μ, Χιωτέλλης Ε, Πιρμεττής Ι. *Ελληνική Πυρηνική Ιατρική.*; 1998.
 31. HARPER P V. TID - Βιβλία Google. Fifth nuclear congress. <https://books.google.gr/books?id=bvdXAAAAYAAJ&pg=PA53&lpg=PA53&dq=Characteristic+and+Manufacture+of+Radioisotopes+for+medical+Purposes+at+the+Argonne+Cancer+Research+Hospital&source=bl&ots=xwVWRW8GKv&sig=ACfU3U0CqW0wojyQav3ajjivA305qWsSDg&hl=el&sa=X&ved=2>. Published 1960. Accessed December 10, 2019.
 32. HARPER P V., LATHROP KA, JIMINEZ F, FINK R, GOTTSCHALK A. TECHNETIUM 99M AS A SCANNING AGENT. *Radiology*. 1965;85:101-109. doi:10.1148/85.1.101
 33. Steigman J, Richards P. Chemistry of technetium 99m. *Semin Nucl Med*. 1974;4(3):269-279. doi:10.1016/S0001-2998(74)80014-0
 34. Deckart H, Cox PH, Joint Committee on Radiopharmaceuticals. *Principles of Radiopharmacology*. Nijhoff; 1987.

35. Schwochau K. The Present Status of Technetium Chemistry. *Radiochim Acta*. 1983;32(1-3):139-152. doi:10.1524/ract.1983.32.13.139
36. Eckelman W, Richards P. Instant 99mTc-DTPA. *J Nucl Med*. 1970;(11):761.
37. Volkert WA, Hoffman TJ, Seger RM, Troutner DE, Holmes RA. 99mTc-propylene amine oxime (99mTc-PnAO); a potential brain radiopharmaceutical. *Eur J Nucl Med*. 1984;9(11):511-516. doi:10.1007/bf00263256
38. Ell PJ, Cullum I, Costa DC, et al. REGULAR CEREBRAL BLOOD FLOW MAPPING WITH 99m Tc-LABELLED COMPOUND. *Lancet*. 1985;326(8445):50-51. doi:10.1016/S0140-6736(85)90110-2
39. Ell PJ, Hocknell JML, Jarritt PH. A99Tcm-labelled radiotracer for the investigation of cerebral vascular disease. *Nucl Med Commun*. 1985;6(8):437-441. doi:10.1097/00006231-198508000-00002
40. Neirinckx RD, Canning LR, Piper IM, et al. 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.
41. Babich JW. Technetium-99m-HMPAO retention and the role of glutathione: The debate continues. *J Nucl Med*. 1991;32(9):1681-1683.
42. Leonard JP, Nowotnik DP, Neirinckx RD. Technetium-99m-d,l-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.
43. Sharp PF, Smith FW, Gemmell HG, et al. Technetium-99m HM-PAO stereoisomers as potential agents for imaging regional cerebral blood flow: human volunteer studies. *J Nucl Med*. 1986;27(2):171-177. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3712035>. Accessed December 10, 2019.
44. Jurisson S, Schlemper EO, Troutner DE, Canning LR, Nowotnik DP, Neirinckx RD. Synthesis, characterization, and x-ray structural determinations of technetium(V)-oxo-tetradentate amine oxime complexes. *Inorg Chem*. 1986;25(4):543-549. doi:10.1021/ic00224a031
45. Gemmell HG, Sharp PF, Besson JA, et al. Differential diagnosis in dementia using the cerebral blood flow agent 99m Tc HM-PAO: A spect study. *J Comput Assist Tomogr*. 1987;11(3):398-402. doi:10.1097/00004728-198705000-00005
46. Subramanian G, McAfee JG. A new complex of 99mTc for skeletal imaging. *Radiology*. 1971;99(1):192-196. doi:10.1148/99.1.192
47. Wilson GM, Pinkerton TC. 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
48. Pinkerton TC, Heineman WR, 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
49. Jurisson S, Berning D, Jia W, Ma D. Coordination compounds in nuclear medicine. *Chem Rev*. 1993;93(3):1137-1156. doi:10.1021/cr00019a013
50. Lin TH, Khentigan A, Winchell HS. A (99m)Tc chelate substitute for organoradiomercurial renal agents. *J Nucl Med*. 1974;15(1):34-35.

51. Loberg MD, Cooper M, Harvey E. Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid. *J Nucl Med.* 1984;25(10):1144-1149.
52. Baker R, Beller J, Ronai P. Technetium 99m-pyridoxylidene-glutamate: a new hepatobiliary radiopharmaceutical. I. Experimental aspects. - PubMed - NCBI. *Journal of Nuclear Medicine.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/240915>. Published 1975. Accessed December 10, 2019.
53. Troutner DE, Volkert WA, Hoffman TJ, Holmes RA. A neutral lipophilic complex of 99mTc with a multidentate amine oxime. *Int J Appl Radiat Isot.* 1984;35(6):467-470. doi:10.1016/0020-708x(84)90165-0
54. Biersack HJ, Linke D, Brassel F, et al. Technetium-99m 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. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3499495>. Accessed December 10, 2019.
55. Reid RH, Gulenchyn KY, Ballinger JR. Clinical use of technetium-99m HM-PAO for determination of brain death. *J Nucl Med.* 1989;30(10):1621-1626. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2795202>. Accessed December 10, 2019.
56. Laurin NR, Driedger AA, Hurwitz GA, et al. 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. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2795203>. Accessed December 10, 2019.
57. Zuckier LS, Kolano J. Radionuclide Studies in the Determination of Brain Death: Criteria, Concepts, and Controversies. *Semin Nucl Med.* 2008;38(4):262-273. doi:10.1053/j.semnuclmed.2008.03.003
58. Deutsch E, Bushong W, Glavan KA, et al. Heart imaging with cationic complexes of technetium. *Science (80-).* 1981;214(4516):85-86. doi:10.1126/science.6897930
59. Holman BL, Hellman RS, Goldsmith SJ, et al. Biodistribution, dosimetry, and clinical evaluation of technetium-99m ethyl cysteinyl dimer in normal subjects and in patients with chronic cerebral infarction. *J Nucl Med.* 1989;30(6):1018-1024.
60. Walovitch RC, Hill TC, Garrity ST, et al. 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(11):1892-1901. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2809756>. Accessed December 10, 2019.
61. Léveillé J, Demonceau G, De Roo M, et al. Characterization of technetium-99m-L,L-ECD for brain perfusion imaging, Part 2: Biodistribution and brain imaging in humans. *J Nucl Med.* 1989;30(11):1902-1910. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2809757>. Accessed December 10, 2019.
62. Fritzberg AR, Kasina S, Eshima D, Johnson DL. Synthesis and biological evaluation of technetium-99m MAG3 as a hippuran replacement. *J Nucl Med.* 1986;27(1):111-116.
63. Taillefer R, Laflamme L, Dupras G, Picard M, Phaneuf DC, Léveillé J. Myocardial perfusion imaging with 99mTc-methoxy-isobutyl-isonitrile (MIBI): comparison of short and long time intervals between rest and stress injections. Preliminary results. *Eur J Nucl Med.* 1988;13(10):515-522. doi:10.1007/bf00256627
64. Lindell O, Kivisaari A, Lehtonen T. 99mTc-DTPA and 99mTc-DMSA renal gamma imaging in the surveillance of patients with conduit urinary diversion. *Eur J Nucl Med.*

- 1986;12(2):80-85. doi:10.1007/bf00364734
65. Verbruggen AM. Radiopharmaceuticals: state of the art. *Eur J Nucl Med.* 1990;17(6-8):346-364. doi:10.1007/bf01268027
 66. Meegalla SK, Plössl K, Kung M-P, et al. Specificity of Diastereomers of [^{99m}Tc]TRODAT-1 as Dopamine Transporter Imaging Agents. *J Med Chem.* 1998;41(4):428-436. doi:10.1021/jm970742b
 67. Meltzer PC, Madras BK, Kung HF, et al. Imaging of dopamine transporters in humans with technetium-99m TRODAT-1 (multiple letters) [2]. *Eur J Nucl Med.* 1997;24(4):462-463. doi:10.1007/bf00881822
 68. Kung M-P, Stevenson DA, Plössl K, et al. [^{99m}Tc]TRODAT-1: A novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent. *Eur J Nucl Med.* 1997;24(4):372-380. doi:10.1007/bf00881808
 69. Herrmann G. Technetium or masurium - a comment on the history of element 43. *Nucl Physics, Sect A.* 1989;505(2):352-360. doi:10.1016/0375-9474(89)90379-5
 70. De Jonge FAA, Pauwels EKJ. Technetium, the missing element. *Eur J Nucl Med.* 1996;23(3):336-344. doi:10.1007/BF00837634
 71. Riley GH. *Isotopic Analysis of Rhenium from a Thermal Ionization Source Related Content The Limits of Measurement with Mass Spectroscopy R A Saunders-Mass Spectrometry of Solids H W Wilson and N R Daly-Ratiometer for Low-Current Mass Spectrometry F D S Butement and N P Finkelstein-Recent Citations Isotopic Analysis of Rhenium from a Thermal Ionization.* Vol 44.; 1967.
 72. Luck JM, Allègre CJ. The study of molybdenites through the ¹⁸⁷Re-¹⁸⁷Os chronometer. *Earth Planet Sci Lett.* 1982;61(2):291-296. doi:10.1016/0012-821X(82)90060-7
 73. Schwochau K. The Chemistry of Technetium and rhenium. Von R. D. Peacock. Topics in Inorganic and General Chemistry, Monography 6. Herausgeg. von P. L. Robinson. Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York 1965. 1. Aufl., IX, 137 S., 14 Abb., 29. Tab., geb. 55s; Dfl. 27.50. *Angew Chemie.* 1968;80(2):88-88. doi:10.1002/ange.19680800217
 74. Deutsch E, Libson K, Vanderheyden JL, Ketring AR, Maxon HR. The chemistry of rhenium and technetium as related to the use of isotopes of these elements in therapeutic and diagnostic nuclear medicine. *Int J Radiat Appl Instrumentation.* 1986;13(4):465-477. doi:10.1016/0883-2897(86)90027-9
 75. Nicolini M, Bandoli G, Mazzi U, International Symposium on Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine (3rd : 1989 : Padua I. *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3.* Cortina International; 1990.
 76. Benedetto AR. *Fundamentals of Nuclear Medicine* edited by N. P. Alazraki and F. S. Mishkin. *Med Phys.* 1985;12(1):115-115. doi:10.1118/1.595724
 77. Πνευματικάκης Γ. *Μαθήματα Χημείας Στοιχείων Μετάπτωσης.* Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών; 1987.
 78. Τσουκαλάς Χ, Παπαδόπουλος Μ, Μάινα Θ, Χιωτέλλης Ε. *Νεότερες Προσεγγίσεις Στο Σχεδιασμό Ραδιοφαρμάκων Του ^{99m}Tc.* Ελληνική Πυρηνική Ιατρική; 1999.

79. Carbon Monoxide and backbonding - Chemistry LibreTexts.
https://chem.libretexts.org/Courses/Johns_Hopkins_University/030.356_Advanced_Inorganic_Laboratory/Lab_BCD%3A_Four_Coordinate_Nickel_Complexes%3A_Ligand_Effects_and_Organometallic_Catalysis/3_Carbon_Monoxide. Accessed December 12, 2019.
80. Ben Mills. Advanced Inorganic Chemistry/ Dative ligands: CO and phosphine. In: wikibooks.
81. Jurisson SS, Lydon JD. Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals. *Chem Rev.* 1999;99(9):2205-2218. doi:10.1021/cr980435t
82. Alberto R, Egli A, Abram U, Hegetschweiler K, Gramlich V, Schubiger PA. Synthesis and reactivity of [NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃]. Formation and structural characterization of the clusters [NEt₄][Re₃(μ₃-OH)(μ-OH)₃(CO)₉] and [NEt₄][Re₂(μ-OH)₃(CO)₆] by alkaline titration. *J Chem Soc Dalton Trans.* 1994;(19):2815-2820. doi:10.1039/DT9940002815
83. Alberto R, Schibli R, Abram U, Egli A, Knapp FF, Schubiger PA. Potential of the "[M(CO)₃]" (M = Re, Tc) Moiety for the Labeling of Biomolecules. *Radiochim Acta.* 1997;79(2):99-103. doi:10.1524/ract.1997.79.2.99
84. Structural and ⁹⁹Tc NMR Investigations of Complexes with fac-[Tc(CO)₃]⁺ Moieties and Macrocyclic Thioethers of Various Ring Sizes: Synthesis and X-ray Structure of the Complexes fac-[Tc(9-ane-S₃)(CO)₃]Br, fac-[Tc₂(tosylate)₂(18-ane-S₆)(CO)₆], and fac-[Tc₂(20-ane-S₆-OH)(CO)₆][tosylate]₂ | Inorganic Chemistry.
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ic980112f>. Accessed December 12, 2019.
85. Alberto R, Schibli R, Egli A, et al. Steps towards [(C₅Me₅)TcO₃]: Novel synthesis of [(C₅Me₅)Tc(CO)₃] from [{Tc(μ₃-OH)(co)₃]₄] and oxidation of [(C₅Me₅)M(CO)₃] (M=Tc, Re) with Br₂. *Polyhedron.* 1998;17(7):1133-1140. doi:10.1016/S0277-5387(97)00500-7
86. Alberto R, Schibli R, Egli A, Schubiger AP, Abram U, Kaden TA. A novel organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: Synthesis of [99mTc(OH₂)₃(CO)₃]⁺ from [99mTcO₄]⁻ in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand [8]. *J Am Chem Soc.* 1998;120(31):7987-7988. doi:10.1021/ja980745t
87. Alberto R, Schibli R, Schubiger AP, Abram U, Pietzsch HJ, Johannsen B. First application of fac-[(99m)Tc(OH₂)₃(CO)₃]⁺ in bioorganometallic chemistry: Design, structure, and in vitro affinity of a 5-HT(1A) receptor ligand labeled with (99m)Tc. *J Am Chem Soc.* 1999;121(25):6076-6077. doi:10.1021/ja990765a
88. Triantis C, Shegani A, Kiritsis C, et al. Dicarbonyl cis-[M(CO)₂(N,O)(C)(P)] (M = Re, ^{99m}Tc) Complexes with a New [2 + 1 + 1] Donor Atom Combination. *Inorg Chem.* 2018. doi:10.1021/acs.inorgchem.8b01014
89. Sagnou M, Tsoukalas C, Triantis C, et al. A new tricarbonyl fac-[M(acac)(isc)(CO)₃] complex (M = Re, ^{99m}Tc) with acetylacetonate (acac) and isocyanide (isc) in a 2+1 combination. *Inorganica Chim Acta.* 2010;363(8):1649-1653. doi:10.1016/j.ica.2010.01.004
90. Hayes TR, Bottonff SC, Slocumb WS, Barnes CL, Clark AE, Benny PD. Influence of bidentate ligand donor types on the formation and stability in 2 + 1: Fac -[MI(CO)₃]⁺ (M = Re, ^{99m}Tc) complexes. *Dalt Trans.* 2017;46(4):1134-1144.

doi:10.1039/c6dt04282a

91. Shegani A, Triantis C, Nock BA, et al. Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes with (2-Hydroxyphenyl)diphenylphosphine as PO Bidentate Ligand. *Inorg Chem.* 2017;56(14):8175-8186. doi:10.1021/acs.inorgchem.7b00894
92. Schutte M, Kemp G, Visser HG, Roodt A. Tuning the reactivity in classic low-spin d⁶ Rhenium(I) Tricarbonyl radiopharmaceutical synthon by selective bidentate ligand variation (L,L'-Bid; L,L' = N,N', N,O, and O,O' Donor Atom Sets) in fac-[Re(CO)₃(L,L'-Bid)(MeOH)]_n Complexes. *Inorg Chem.* 2011;50(24):12486-12498. doi:10.1021/ic2013792
93. Riondato M, Camporese D, Martín D, Suades J, Alvarez-Larena A, Mazzi U. Synthesis and Characterisation of [Re(CO)₃(SS)(P)] Complexes: A [2+1] Concept for ^{99m}Tc- and ¹⁸⁸Re-Radiopharmaceutical Applications. *Eur J Inorg Chem.* 2005;2005(20):4048-4055. doi:10.1002/ejic.200500247
94. Agorastos N, Borsig L, Renard A, et al. Cell-specific and nuclear targeting with [M(CO)₃]⁺ (M = ^{99m}Tc, Re)-based complexes conjugated to acridine orange and bombesin. *Chem - A Eur J.* 2007;13(14):3842-3852. doi:10.1002/chem.200700031
95. Ferreira CL, Ewart CB, Bayly SR, et al. Glucosamine Conjugates of Tricarbonylcyclopentadienyl Rhenium(I) and Technetium(I) Cores. *Inorg Chem.* 2006;45(17):6979-6987. doi:10.1021/ic0605672
96. Hallett AJ, Pope SJA. Towards near-IR emissive rhenium tricarbonyl complexes: Synthesis and characterisation of unusual 2,2'-biquinoline complexes. *Inorg Chem Commun.* 2011;14(10):1606-1608. doi:10.1016/j.inoche.2011.06.021
97. Papagiannopoulou D, Triantis C, Vassileiadis V, et al. Synthesis, structural characterization and radiochemistry of di- and tricarbonyl Re(I) and ^{99m}Tc(I) complexes with 8-hydroxyquinoline or 8-mercaptoquinoline and triphenylphosphine. *Polyhedron.* 2014;68:46-52. doi:10.1016/j.poly.2013.09.039
98. Sagnou M, Benaki D, Triantis C, et al. Curcumin as the OO bidentate ligand in "2 + 1" complexes with the [M(CO)₃]⁺ (M = Re, ^{99m}Tc) tricarbonyl core for radiodiagnostic applications. *Inorg Chem.* 2011;50(4):1295-1303. doi:10.1021/ic102228u
99. J. Berry D, Torres Martin de Rosales R, Charoenphun P, J. Blower P. Dithiocarbamate complexes as radiopharmaceuticals for medical imaging. *Mini-Reviews Med Chem.* 2012;12(12):1174-1183. doi:10.2174/138955712802762112
100. Rowbottom JF, Wilkinson G. Dithiocarbamate- and carbonyldithiocarbamate-complexes of rhenium-(I), -(III), -(IV), and -(V). *J Chem Soc Dalton Trans.* 1974;(7):684-689. doi:10.1039/DT9740000684
101. Akbar MU, Ahmad MR, Shaheen A, Mushtaq S. A review on evaluation of technetium-^{99m} labeled radiopharmaceuticals. *J Radioanal Nucl Chem.* 2016;310(2):477-493. doi:10.1007/s10967-016-5019-7
102. Hayes TR, Kasten BB, Barnes CL, Benny PD. Rhenium and technetium bi- and tricarbonyl complexes in a new strategy for biomolecule incorporation using click chemistry. *Dalt Trans.* 2014;43(19):6998-7001. doi:10.1039/c4dt00684d
103. Roughley PJ, Whiting DA. Experiments in the biosynthesis of curcumin. *J Chem Soc Perkin Trans 1.* 1973:2379-2388. doi:10.1039/p19730002379

104. Ko C-C, Lo LT-L, Ng C-O, Yiu S-M. Photochemical Synthesis of Intensely Luminescent Isocyano Rhenium(I) Complexes with Readily Tunable Structural Features. *Chem - A Eur J.* 2010;16(46):13773-13782. doi:10.1002/chem.201000793
105. Gorshkov NI, Schibli R, Schubiger AP, Lumpov AA, Miroslavov AE, Suglobov DN. "2 + 1" Dithiocarbamate-isocyanide chelating systems for linking M(CO)₃⁺ (M = ^{99m}Tc, Re) fragment to biomolecules. In: *Journal of Organometallic Chemistry.* Vol 689. Elsevier B.V.; 2004:4757-4763. doi:10.1016/j.jorganchem.2004.09.019
106. Pirmettis IC, Papadopoulos MS, Chiotellis E. Novel ^{99m}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):2539-2546. doi:10.1021/jm960273y

Νέα [2+1+1] προσέγγιση μεικτών συμπλόκων Re/^{99m}Tc

Τα [2+1] μεικτά σύμπλοκα, *fac*-ML₁L₂(CO)₃ (M=^{99m}Tc/Re), χαρακτηρίζονται από κινητική σταθερότητα και προσφέρουν ένα μοναδικό συνδυαστικό πλεονέκτημα, δεδομένου ότι επιτρέπουν την ευελιξία να προσαρμόσουν τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, με την πρόσδεση διδραστικών, L₁, και/ή μονοδραστικών L₂ υποκαταστατών αλλά και την πρόσδεση φαρμακοφόρων στους υποκαταστάτες. Πρόσφατα αποδείξαμε ότι όταν ο διδραστικός υποκαταστάτης είναι το κιναιδικό οξύ (NO) και μονοδραστικός υποκαταστάτης είναι η τριφαινυλφωσφίνη ή το ισοκυανίδιο (C), M(NO)(P)(CO)₃ ή M(NO)(C)(CO)₃, το καρβονύλιο που βρίσκεται σε *trans* θέση με τους υποκαταστάτες P ή C, καθίσταται ευκίνητο και μπορεί να αντικατασταθεί από μία δεύτερη φωσφίνη ή ισοκυανίδιο οδηγώντας στην [2+1+1] προσέγγιση των *cis-trans*-M(NO)(P)₂(CO)₂ ή *cis-trans*-M(NO)(P)(C)(CO)₂ δικαρβόνυλο συμπλόκων. Αυτό επεκτείνει περισσότερο τα πλεονεκτήματα της [2+1] προσέγγισης, προσφέροντας περισσότερο χώρο για δομική μεταβλητότητα. Στοχεύοντας σε περαιτέρω διερεύνηση της [2+1] προσέγγισης με διαφορετικό διδραστικό υποκαταστάτη λόγω της δυσκολίας πρόσδεσης φαρμακοφόρου στο κιναιδικό, αναφέρουμε στην συγκεκριμένη μεταπτυχιακή εργασία τη σύνθεση και το χαρακτηρισμό δέκα συμπλόκων ρηνίου και τεχνητίου, τέσσερα τρικαρβόνυλο *trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(isc)(CO)₃] **1**, **1'** και *trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)(CO)₂] **2**, **2'** και έξι δικαρβόνυλο *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(isc)₂(CO)₂] **3**, **3'**, *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)₂(CO)₂] **4**, **4'** και *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)(isc)(CO)₂] **5**, **5'**, όπου (SS) είναι ο διδραστικός διθειοκαρβαμιδικός υποκαταστάτης, (P) είναι η τριφαινυλφωσφίνη και (isc) είναι το κυκλοξυλοισονιτρίλιο.

Αντίδραση του *fac*-[NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃] πυρήνα με ισομοριακές ποσότητες (SS) και (isc) ή (P) σε μεθανολικό διάλυμα υπό βρασμό με κάθετο ψυκτήρα για 4 ώρες, μας έδωσε τα [2+1] τρικαρβόνυλο σύμπλοκα *fac*-[Re(SS)(isc)(CO)₃] **1** και *fac*-[Re(SS)(P)(CO)₃] **2**. Για να λάβουμε τα σύμπλοκα **3-4**, ισομοριακές ποσότητες του precursor *fac*-[NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃] και (SS) αντέδρασαν με περίσσεια (isc) ή (P) αντίστοιχα σε διάλυμα τολουλίου, σε βρασμό υπο κάθετο ψυκτήρα για 7 ώρες. Το σύμπλοκο **5** το λάβαμε με αντίδραση του συμπλόκου **1** με περίσσεια (P) ή με την αντίδραση του συμπλόκου **2** με περίσσεια του (isc) σε διάλυμα τολουλίου υπό βρασμό για for 7 hours. Τα αντίστοιχα ^{99m}Tc συντέθηκαν με μια παρόμοια διαδικασία: Αντίδραση του precursor [^{99m}Tc]fac-[Tc (H₂O)₃(CO)₃]⁺ με (SS) και (isc) (10⁻³M) ή (P) (10⁻³M) στους 70 °C για 30 min απέδωσαν τα σύμπλοκα **1'** or **2'** αντίστοιχα. Αντίδραση του [^{99m}Tc]fac-[Tc (H₂O)₃(CO)₃]⁺ με (SS) και (isc) ή (P) (10⁻³ M) στους 95 °C για 1 ώρα έδωσαν τα σύμπλοκα **3'** και **4'** αντίστοιχα. Το σύμπλοκο **5'** το λάβαμε με αντίδραση του συμπλόκου **1'** με (P) (10⁻³M) στους 95 °C για 45 min.

Τα σύμπλοκα **1** και **2** τα λάβαμε σε μεγάλη απόδοση, ενώ τα σύμπλοκα **3-5** σε απόδοση 55%, 85% και 30% αντίστοιχα. Όλα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν πλήρως από IR και NMR φασματοσκοπικές μέθοδοι, ενώ οι δομές των συμπλόκων **1-4** επιβεβαιώθηκαν με X-ray κρυσταλλογραφία.

Οι αποδόσεις των συμπλόκων **1'** και **2'** ήταν >90%, ενώ οι αποδόσεις των δικαρβόνυλο συμπλόκων **3'-5'** ήταν 40%, >95% και 28% αντίστοιχα. Όλα τα σύμπλοκα απομονώθηκαν από την HPLC και χαρακτηρίστηκαν μετά από συγκριτικές μελέτες με την HPLC χρησιμοποιώντας τα ήδη χαρακτηρισμένα ρήνια για ταυτοποίηση 1-5. Όλα τα σύμπλοκα του ^{99m}Tc ήταν σταθερά στους 37 °C υπό την παρουσία ανταγωνιστών ιστιδίνης ή κυστεΐνης σε pH 7.4 για τουλάχιστον 6 ώρες. Οι τιμές LogP για τα σύμπλοκα **1'-5'** ήταν 3.39, 2.96, 2.60, 1.06 και 2.04, αντίστοιχα. Όλα τα σύμπλοκα αξιολογήθηκαν βιολογικά *in vivo*, μετά από ενδοφλέβια ένεση των συμπλόκων σε ποντίκια swiss albino για τα χρονικά διαστήματα 2 λεπτών, 2 ωρών και 4 ωρών. Τέλος, όλα τα σύμπλοκα αποδείχτηκαν σταθερά και *in vivo* και τα βιολογικά αποτελέσματα διέφεραν ανόλογα με τον υποκαταστάτη που χρησιμοποιήθηκε.

Συμπερασματικά, με επιτυχία συνθέσαμε και χαρακτηρίσαμε τα έξι δικαρβόνυλο σύμπλοκα *cis-trans-M(SS)(isc)₂(CO)₂*, *cis-trans-M(SS)(P)₂(CO)₂* και *cis-trans-M(SS)(P)(isc)(CO)₂* (M= $^{99m}\text{Tc}/\text{Re}$), μετά από αντικατάσταση του καρβόνυλο παραγώγου από το ισοκυανίδιο ή τη φωσφίνη. Αυτοί οι δομικοί λίθοι μπορούν να αποδειχτούν χρήσιμοι για την ανάπτυξη νέων πολυλειτουργικών συμπλόκων με εφαρμογή στην πυρηνική ιατρική.

ABSTRACT

New [2+1+1] approach of mixed Re/^{99m}Tc complexes

[2+1] mixed ligand complexes, *fac*-ML₁L₂(CO)₃ (M=^{99m}Tc/Re), are characterized by kinetic stability and offer a unique combinatorial advantage since they allow the flexibility to tailor their physicochemical properties by adjusting the bidentate, L₁, and/or monodentate, L₂, ligands. Recently, it was shown that when L₁ is quinaldic acid (NO) and L₂ is triphenylphosphine or isocyanide, M(NO)(P)(CO)₃ or M(NO)(C)(CO)₃, the carbonyl ligand found in *trans* position to the P or C donor atom is labilized and can be substituted by a second triphenylphosphine or isocyanide leading to [2+1+1] *cis-trans*-M(NO)(P)₂(CO)₂ or *cis-trans*-M(NO)(P)(C)(CO)₂ dicarbonyl complexes. This expands even more the advantages of the [2+1] approach, offering more room for structural variability. Aiming at investigating further the [2+1] mixed ligand approach with a different bidentate ligand, herein is reported the synthesis and characterization of ten Re/^{99m}Tc complexes; two tricarbonyl *trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(isc)(CO)₃] **1**, **1'** and *trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)(CO)₂] **2**, **2'** and three dicarbonyl *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(isc)₂(CO)₂] **3**, **3'**, *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)₂(CO)₂] **4**, **4'** and *cis-trans*-[Re/^{99m}Tc(SS)(P)(isc)(CO)₂] **5**, **5'**, where (SS) is diethythiocarbamate, (P) is triphenylphosphine and (isc) is cyclohexylisocyanide.

Reaction of *fac*-[NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃] with equimolar amounts of (SS) and (isc) or (P) in refluxing methanol for 4 hours yielded the intermediate [2+1] tricarbonyl complexes *fac*-[Re(SS)(isc)(CO)₃] **1** and *fac*-[Re(SS)(P)(CO)₃] **2**. To obtain complexes **3-4**, equimolar amounts of precursor *fac*-[NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃] and (SS) were reacted with excess of (isc) or (P) respectively in refluxing toluene for 7 hours. Complex **5** was obtained by reacting **1** with excess of (P) or by reacting **2** with excess of (isc) in refluxing toluene for 7 hours. The corresponding ^{99m}Tc complexes were synthesized in a similar procedure: Reaction of precursor [^{99m}Tc]*fac*-[Tc(H₂O)₃(CO)₃]⁺ with (SS) and (isc) (10⁻³M) or (P) (10⁻³M) at 70 °C for 30 min resulted in complexes **1'** or **2'** respectively. Reaction of [^{99m}Tc]*fac*-[Tc(H₂O)₃(CO)₃]⁺ with (SS) and (isc) or (P) (10⁻³ M) at 95 °C for 1 hour afforded complexes **3'** and **4'** respectively. Complex **5'** was obtained by reacting **1'** with (P) (10⁻³M) at 95 °C for 45 min.

Complexes **1** and **2** were resulted in high yield and complexes **3-5** were obtained in 55%, 85% and 30% yield, respectively. All complexes were fully characterized by elemental analysis and spectroscopic methods. The structure of 1-4 was confirmed by X-ray crystallography.

The yields of complexes **1'** and **2'** were >90%; on the other hand, the dicarbonyl complexes **3'-5'** yielded 40%, >95% and 28% respectively. All complexes were purified by HPLC and characterized by HPLC comparative studies, using as references the analogous well characterized Re complexes 1-5. All ^{99m}Tc complexes were stable at 37 °C in the presence of excess of histidine or cysteine at pH 7.4 for at least 6 hours. LogP values for **1'-5'** were

3.39, 2.96, 2.60, 1.06 and 2.04, respectively. All complexes were evaluated biologically *in vivo*, after intravenous injection of the complexes into Swiss Albino mice at 2 minutes, 2 hours, and 4 hours intervals. Finally, all the complexes proved to be stable also *in vivo* and the biological results differed according to the ligand used.

We successfully synthesized and characterized three novel dicarbonyl *cis-trans*-M(SS)(isc)₂(CO)₂, *cis-trans*-M(SS)(P)₂(CO)₂ and *cis-trans*-M(SS)(P)(isc)(CO)₂ (M=^{99m}Tc/Re), by gradual replacement of a carbonyl ligand by isocyanide and/or triphenylphosphine. These model compounds may prove useful for the development of multimodal complexes for nuclear medicine applications.