

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA NUCLEAR - DEN
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES - CCTN

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO 5-TIO-D-GLICOSE COMPLEXADO
COM TECNÉCIO, SAMÁRIO, GADOLÍNIO E HÓLMIO
PARA FINS DE DIAGNÓSTICO E TERAPIA

Autoria: Marcelo José de Oliveira Maia
Orientador: Prof. Tarcísio Passos Ribeiro de Campos
Belo Horizonte – Dezembro - 2007

Marcelo José de Oliveira Maia

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO 5-TIO-D-GLICOSE COMPLEXADO
COM TECNÉCIO, SAMÁRIO, GADOLÍNIO E HÓLMIO
PARA FINS DE DIAGNÓSTICO E TERAPIA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências e Técnicas Nucleares da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências e Técnicas Nucleares.

Área de Concentração: Ciências das Radiações.

Orientador: Prof. Tarcísio Passos Ribeiro de Campos.

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte
Departamento de Engenharia Nuclear da UFMG
2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ENGENHARIA NUCLEAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TÉCNICAS NUCLEARES

Dissertação intitulada “*Síntese e caracterização do 5-tio-D-glicose complexado com tecnécio, samário, gadolínio e hólmio para fins de diagnóstico e terapia*”, de autoria do mestrando Marcelo José de Oliveira Maia, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes doutores:

Prof. Dr. Tarcísio Passos Ribeiro de Campos – DEN/UFMG - Orientador

Dra. Stela Dalva Santos Cota – CDTN/CNEN

Dra. Vany Ferraz – ICQ/UFMG

Belo Horizonte, 14 de dezembro de 2007.

DEDICATÓRIA

Para Valéria – minha linda e amada esposa, meu norte, meu chão. Antes de você nascer onde os poetas buscavam inspiração? Agradecer por tudo que você faz por mim seria necessária outra encadernação.

Para Daniel – meu filhinho que, no momento, com sete meses em gestação, já é tão amado e me dá forças para viver cada dia.

Para Edivar, Conceição, Regina, Nápolis, Edirley, Oara, Filipe, Henrique, Carla, Lisinha, Flávio e Lorraine; minha linda família, meu tesouro. Desculpa pela ausência e obrigado pela difícil tarefa de cuidar da minha parte nos churrascos e festas que não pude comparecer.

Para Selmo, Ana, Laila, Felipe e Tati Schmal, Márcio, Andersom e Sílvia, Herman e Tati, Fábio e Rose, Marcão – amigos e irmãos de momentos alegres e tristes. Obrigado pelo apoio espiritual e incentivo de anos.

Para os que me fecharam as portas – não esquecerei seus nomes em minhas orações.

E, acima de tudo, a ti, Senhor Jesus, por me buscar a cada dia.

AGRADECIMENTOS

A Tarcísio P. R. Campos – professor- doutor e orientador; um exemplo de simplicidade, paciência, amor à ciência e à humanidade, acessibilidade e inteligência.

A Vany Ferraz – doutora-chefe do laboratório de cromatografia do departamento de química da UFMG. Um doce anjo colocado por Deus em várias tardes de dúvidas e desespero.

A Cláudia P. B. Lima – coordenadora e professora de Interação das Radiações com a Matéria; obrigado pelo apoio e pelas aulas que despertaram a paixão pelas ciências das radiações.

A Maria Auxiliadora Fortini Veloso – professora de Radioproteção; A nossa Dôra, obrigado pelas aulas que transcendiam o formalismo atingindo a alegria de viver.

A Clemente J. G. Carneiro da Silva – professor de Instrumentação Nuclear; obrigado pelas tardes de aulas irreverentes e por tornar a prática instrumental nuclear acessível.

A Márcia B. S. Rosa e Bernardete Moreira – auxiliares administrativas do departamento de Engenharia Nuclear; obrigado pela compreensão e carinho em dias difíceis.

A Miriam G. Moraes - Professora de Medicina Nuclear; obrigado pela cooperação e pelas amostras de tecnécio.

A Hélio Ribeiro – pesquisador de novos materiais do CDTN; os irmãos podem-se tornar grandes amigos, mas você é o amigo que se tornou meu grande irmão.

O temor do Senhor é o princípio do conhecimento;
mas os insensatos desprezam a sabedoria e a instrução.
Provérbios 1:7.

RESUMO

Sabe-se que tumores e inflamações apresentam uma atividade metabólica acentuada nos locais onde ocorrem e se disseminam. A demanda do organismo por energia aumenta e a presença de glicose é necessária para os processos celulares. Assim, um composto de glicose radiomarcado poderia servir como traçador para permitir a geração de imagens, diagnósticos e terapias dos processos cancerosos.

Uma destas drogas é a fluorodesoxiglicose (FDG), usada na técnica *Positron Emission Tomography* (PET). Para se obter o flúor radioativo (^{18}F) presente nesta droga é necessário um acelerador de partículas. A sua meia-vida é de apenas 110 minutos. Tais exigências tornam as análises clínicas para diagnóstico e terapia com o custo muito elevado.

A investigação e produção de drogas análogas ao FDG devem então se tornar uma vertente alternativa, não tão onerosa, para o diagnóstico por imagem. Uma droga alternativa investigada, análoga ao FDG, é o 5-tio-D-glicose. O 5-tio-D-glicose foi sugerido e patenteado por OZKER em 1998 [1]. O diagnóstico de tecidos isquêmicos no miocárdio tem sido realizado através do 5-tio-D-glicose [2,3]. O mesmo composto tem se mostrado eficaz no diagnóstico de patologias localizadas no cérebro [4,5] e no estudo de tumores nos rins e pulmão e na visualização de tumores experimentais.

Como proposta de um caminho alternativo do uso oneroso da FDG, este trabalho propõe a síntese e caracterização de quatro radiofármacos análogos à droga citada utilizando o monossacarídeo 5-tio-D-glicose. Este açúcar seria então marcado com os núclídeos: tecnécio-99 meta-estável ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), samário-153 (^{153}Sm), gadolínio-158 (^{159}Gd) e hólmio-166 (^{166}Ho); obtendo-se assim respectivos fármacos $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-tio-D-glicose, ^{153}Sm -5-tio-D-glicose, ^{159}Gd -5-tio-D-glicose e ^{166}Ho -5-tio-D-glicose. A droga radiomarcada $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-tio-D-glicose não requer um acelerador de partículas para a sua produção. Para o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ basta um gerador do radionuclídeo, como o que é produzido e comercializado pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, na cidade de São Paulo, que o fornece para várias clínicas de medicina nuclear, inclusive em Belo Horizonte. A droga ^{153}Sm -5-tio-D-glicose requer para a produção do radionuclídeo correspondente um reator nuclear. A pesquisa com estes compostos poderá produzir resultados clínicos aplicáveis na Medicina Nuclear,

especificamente para a aplicação em cintilografia pela técnica SPECT e por Ressonância Magnética, disponíveis em Belo Horizonte.

Foram feitas três tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com cada nuclídeo, onde se variou a concentração destes reagentes objetivando uma análise quantitativa das marcações.

É de suma importância ressaltar aqui que estas marcações não ocorreram com o nuclídeo radioativo, mas sim com seu isótopo estável e mais abundante. O comportamento químico do complexo obtido como produto de marcação do monossacarídeo pelo nuclídeo, radioativo ou estável, é idêntico.

Foram realizadas análises de cromatografia em camada delgada em placas de vidro de dimensões 10 x 10 cm, adsorvidas com sílica F de 0,50 mm de espessura de camada depositada. Aplicou-se à placa, com uso de tubo capilar, a solução de 5-tio-D-glicose, uma solução padrão de um nuclídeo e as três tentativas de marcação. As placas foram eluídas com solução salina de NaCl 0,9%. Os cromatogramas foram revelados em vapor de iodo ressublimado. Analisou-se a solução de 5-tio-D-glicose, do padrão de um nuclídeo e as três tentativas de marcação colocando-se 1 mL destas soluções em cubetas de quartzo num espectrofotômetro Shimadzu UV mini-1240 para leituras na região do ultravioleta e visível, no intervalo de 190 a 900 nm. Foram realizadas análises de cromatografia líquida de alta eficiência num cromatógrafo marca Shimadzu modelo LC 10 AD, com detector de ultravioleta-visível. Antes de se realizar as análises, necessitou-se da remoção de gases da mistura do eluente acetonitrila/água na proporção 3:1, para se evitar interferentes nos resultados via ultravioleta. Para tal, usou-se um aparelho de ultra-som duração de 15 minutos, sob vácuo. Injetou-se, separadamente, 20 µL de solução do padrão e suas marcações. Usou-se uma coluna de aminopropil sílica de 20 cm. Para as leituras usou-se o comprimento de onda adequado a absorção de cada nuclídeo. Foram realizadas análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho num aparelho ABB BOMEM MB series Mid IR, de resolução 4 cm⁻¹, em células de diamante. Analisou-se, separadamente, a solução de 5-TDG, o padrão e as marcações. Mediu-se o pH dos padrões e das marcações com fita indicadora universal marca MERCK (Darmstadt, Alemanha).

O sucesso destas marcações foi confirmado por análises cromatográficas em camada delgada com sílica G, onde os cromatogramas demonstraram o aparecimento de novas manchas que não aquelas próprias para o monossacarídeo.

As análises por espectroscopia eletrônica na região ultravioleta-visível indicaram o deslocamento do comprimento de onda máximo do monossacarídeo puro quando comparado com suas marcações com os nuclídeos, evidenciando a complexação. As análises por espectroscopia molecular vibracional na região do infravermelho indicaram os picos correspondentes à ligação do átomo de enxofre do anel piranosídico ao nuclídeo. Tal afirmação é embasada pela diferença das frequências dos espectrogramas do açúcar puro comparado a sua forma complexada. As análises por cromatografia líquida de alta eficiência indicaram os picos de tempo de retenção dos padrões e dos complexos formados entre o 5-tio-D-glicose e o nuclídeo em questão.

As perspectivas da utilização dos compostos ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose, ^{153}Sm -5-tio-D-glicose, Gd -5-tio-D-glicose e ^{166}Ho -5-tio-D-glicose sugerem a definição de novos protocolos de diagnóstico e terapia. Tais avanços significariam uma enorme economia para a área da saúde, menores gastos para o Estado como instalações físicas e aquisição de tecnologia estrangeira, além de proporcionarem maior acesso dos tratamentos e diagnósticos que requerem imagens médicas pela população menos favorecida.

Palavras-chave: glicose, tecnécio, samário, gadolínio, hólmio e imagem.

ABSTRACT

It is known that tumors and inflammations present a metabolic activity accentuated at the places where happen and they are disseminated. The demand of the organism for energy increases and the glucose presence is necessary for the cellular processes. Like this, a composed of glucose radiolabeled could serve as tracer to allow the generation of images, diagnoses and therapies of the cancerous processes.

One of these drugs is the fluorodesoxiglicose, used in the technique Positron Emission Tomography. A obtain the ^{18}F it is necessary an accelerator of particles and your half-life is of only 110 minutes. Such demand turns the clinical analyses for diagnosis and therapy with the very high cost.

As proposal of an alternative road of the onerous use of the ^{18}F FDG, this work proposes the synthesis and characterization of four radiopharmaceuticals similar to the mentioned drug using the monosaccharide 5-thio-D-glucose. This sugar would be labeled then with the radionuclides: middle-stable technecium-99 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), samarium-153 (^{153}Sm), gadolinium-159 (^{159}Gd) and holmium-166 (^{166}Ho); being obtained like this respective radiopharmaceuticals $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-thio-D-glucose, ^{153}Sm -5-thio-D-glucose, ^{159}Gd -5-thio-D-glucose and ^{166}Ho -5-thio-D-glucose.

The drug radiolabeled $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-thio-D-glucose doesn't request an accelerator of particles for your production. For the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ a generator of the radionuclide is enough, as what it is produced and labeled by the Institute of Energy and Nuclear Researches, in the city of São Paulo, that supplies it for several clinics of nuclear medicine, besides in Belo Horizonte.

The drugs ^{153}Sm -5-thio-D-glucose, ^{159}Gd -5-thio-D-glucose and ^{166}Ho -5-thio-D-glucose already request for the production of the corresponding radionuclide a nuclear reactor, have seen that these radionuclides is produced by the more abundant and stable capture neutronic of the isotope.

The success of these demarcations was confirmed by chromatography in thin layer with silica G, electronic spectrometry in the area of the ultraviolet-visible, molecular spectroscopy in the infrared and liquid chromatography of high efficiency.

The perspectives of the use of the compositions $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-thio-D-glucose, ^{153}Sm -5-thio-D-glucose, ^{159}Gd -5-thio-D-glucose and ^{166}Ho -5-thio-D-glucose suggest

the definition of new diagnosis protocols and therapy. Such progresses would mean an enormous economy for the area of the health, smaller expenses for the State as physical facilities and acquisition of foreign technology, besides they provide larger access of the treatments and diagnoses that request medical images for the less favored population.

The present work means an alternative proposal to the production of new radiopharmaceuticals that they look for techniques economically viable for diagnoses and therapies of pathologies that today would be only possible through PET, inexistent in Belo Horizonte and in most of the great cities of Brazil and of the World due to prohibitive cost.

Lista de ilustrações

Figura 1-1. Fórmula estrutural dos complexos de 5-tio-D-glicose	17
Figura 2-1. 5-tio- α -D-xilopiranosose e ácido 5-amino-5-deoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturônico	19
Figura 2-2. 5-tio-D-manose, Salacinal e Kotalanol.	20
Figura 2-3. Anômeros conformacionais α e β do 5-tio-D-glicose.....	20
Figura 2-4. Distorção de contração do 5-deoxi e 5-tio- α -piranosose.....	21
Figura 2-5. Distorção de contração do 5-deoxi-5-tio- α -piranosose.....	21
Figura 2-6. Agente oral antitrombótico venoso Naroparcil.....	26
Figura 2-7. Fórmula estrutural bi e tridimensional do 5-tio-D-glicose.....	22
Figura 2-8. Equilíbrio químico entre α e β -piranosose.....	23
Figura 2-9. Espectrograma de RMN ^1H do 5-tio-D-glicose puro.....	24
Figura 2-10. Mecanismo de captação do 5-tio-D-glicose.....	28
Figura 2-11. Arranjo geométrico tetraédrico do pertecnetato.....	32
Figura 2-12. Esquema de decaimento do $^{99\text{m}}\text{Tc}$	34
Figura 2-13. Processo de conversão interna.....	34
Figura 2-14. Decaimento do ^{99}Mo e desexcitação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$	35
Figura 3-1. Análises cromatográficas em camada delgada.....	56
Figura 3-2. Equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência.....	57
Figura 4-1. Espectrograma de UV-vis do 5-tio-D-glicose puro.....	59
Figura 4-2. Espectrograma de UV-vis do 5-tio-D-glicose puro.....	60
Figura 4-3. Cromatograma de CLAE do 5-tio-D-glicose a 197 nm.....	61
Figura 4-4. Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose não-marcado.....	62
Figura 4-5. Cromatograma das marcações do 5-tio-D-glicose com tecnécio.....	63
Figura 4-6. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-TDG, Tc e marcações.....	64
Figura 4-7. Espectrograma de UV-Visível do estanho na forma de Sn^{2+}	66
Figura 4-8. Espectrograma de UV-Visível do Tc como pertecnetato de sódio.....	67
Figura 4-9. Sobreposição dos cromatogramas do 5-TDG, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e marcações.....	68
Figura 4-10. Espectrograma de infravermelho do 5-TDG e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose.....	70
Figura 4-11. Cromatograma das marcações do 5-TDG com samário.....	72
Figura 4-12. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-TDG e suas marcações com Sm.....	73
Figura 4-13. Espectrograma de UV-Visível do Sm como cloreto de samário (III).....	74
Figura 4-14. Sobreposição dos cromatogramas do 5-TDG, $\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e marcações.....	75
Figura 4-15. Espectrograma de infravermelho do 5-TDG e do complexo Sm-5-TDG.....	77
Figura 4-16. Cromatograma das marcações do 5-TDG com Gadolínio.....	78
Figura 4-17. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-TDG e suas marcações com Gd.....	79
Figura 4-18. Espectrograma de UV-Visível do Gd como cloreto de gadolínio (III).....	80
Figura 4-19. Sobreposição dos cromatogramas do 5-TDG, $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e suas marcações.....	81
Figura 4-20. Espectrograma de infravermelho do 5-TDG e do complexo Gd-5-tio-D-glicose.....	82
Figura 4-21. Cromatograma das marcações do 5-TDG com hólmio.....	84
Figura 4-22. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-TDG e suas marcações com Ho.....	85
Figura 4-23. Espectrograma de UV-Visível do Ho como óxido de hólmio (III).....	86
Figura 4-24. Sobreposição dos cromatogramas do padrão do Ho_2O_3 e suas marcações.....	87
Figura 4-25. Espectrograma de infravermelho do 5-TDG e do complexo Ho-5-TDG.....	88

Lista de tabelas

Tabela 2-1. Análise do espectro de 1H de 5-tio-D-glicose.....	25
Tabela 2-2. Análise do espectro de ¹³ C de 5-tio-α-D-glicopiranosose.....	25
Tabela 2-3. Exposição crônica: perigoso para o sistema reprodutivo.....	26
Tabela 2-4. Controle de pureza do sistema de gerador de ⁹⁹ Mo/ ^{99m} Tc.....	36
Tabela 2-5. Localização de ^{99m} Tc-5-tio-D-glicose como uma % ID/g de tecido tumoral.....	39
Tabela 2-6. Biodistribuição de ^{99m} Tc-5-tio-D-glicose como uma % ID/órgão em ratos.....	40
Tabela 2-7. Isótopos do samário.....	42
Tabela 2-8. Isótopos de gadolínio.....	47
Tabela 2-9. Isótopos do hólmio.....	50
Tabela 3-1. Estequiometria das marcações com Tc.....	54
Tabela 3-2. Estequiometria das marcações com Sm.....	54
Tabela 3-3. Estequiometria das marcações com Gd.....	55
Tabela 3-4. Estequiometria das marcações com Ho.....	55
Tabela 4-1. Valores de tempo de retenção do 5-TDG não marcado.....	61
Tabela 4-2. Principais freqüências de absorção de radiação infravermelha para 5-tio-D-glicose.....	62
Tabela 4-3. Resultados dos RF para 5-TDG, para o padrão ⁹⁹ Tc e suas marcações.....	64
Tabela 4-4. Valores de comprimento de onda e absorvância do 5-TDG, ⁹⁹ Tc e marcações.....	65
Tabela 4-5. Valores de TR para o padrão ⁹⁹ Tc e suas marcações.....	68
Tabela 4-6. Principais freqüências de absorção de IV para o complexo ⁹⁹ Tc-5-tio-D-glicose.....	71
Tabela 4-7. Resultados dos Rf para o padrão Sm e marcações.....	72
Tabela 4-8. Valores de comprimento de onda e absorvância do Sm ³⁺ livre e complexado.....	73
Tabela 4-9. Valores de TR para o padrão Sm e suas marcações.....	76
Tabela 4-10. Principais freqüências de absorção de IV para o complexo Sm-5-tio-D-glicose.....	77
Tabela 4-11. Resultados dos RF para o padrão GdCl ₃ . 6H ₂ O e marcações.....	79
Tabela 4-12. Valores de comprimento de onda e absorvância do Gd ³⁺ livre e complexado.....	80
Tabela 4-13. Valores de TR para o padrão Gd e suas marcações.....	81
Tabela 4-14. Principais freqüências de absorção de IV para o complexo Gd-5-tio-D-glicose.....	83
Tabela 4-15. Resultados dos RF para o padrão GdCl ₃ . 6H ₂ O e marcações.....	84
Tabela 4-16. Valores de comprimento de onda e absorvância do Ho ³⁺ livre e complexado.....	85
Tabela 4-17. Valores de TR para o padrão Ho e suas marcações.....	87
Tabela 4-18. Principais freqüências de absorção de IV para o complexo Ho-5-tio-D-glicose.....	89

Lista de abreviaturas e siglas

AVC – acidente vascular cerebral

5-TDG – 5-tio-D-glicose

Bq – Becquerel, unidade de medida de decaimento.

CCD – Cromatografia em camada delgada

Ci – Curie, unidade de medida de decaimento.

FDG – Fluorodesoxiglicose

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

IV – Espectrometria vibracional molecular na região do infravermelho

NRI – Núcleo de Radiações Ionizantes

NRC – Nuclear Regulatory Commission

PET – Positron Emission Tomography

RMN – ressonância magnética nuclear

SPECT – Single Photon Emission Computed Tomography

USP – United States Pharmacopeia

UV-vis – Espectroscopia eletrônica molecular na região do ultravioleta e visível

$\lambda_{\text{máx}}$ – comprimento de onda máximo

Nuclídeos e elementos químicos:

^{14}C - carbono

^{18}F – flúor

Gd – gadolínio

Ho – hólmio

Mn – manganês

^{18}O – oxigênio

Re – rênio

Sm – samário

^{99}Tc – tecnécio estável

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ – tecnécio meta estável

Gd-5-TDG - 5-tio-D-glicose complexado com gadolínio

Ho-5-TDG - 5-tio-D-glicose complexado com hólmio

Sm-5-TDG - 5-tio-D-glicose complexado com samário

Tc-5-TDG - 5-tio-D-glicose complexado com tecnécio

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	17
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 – 5-tio-D-glicose	
2.1.1 – A química e a bioquímica do 5-tio-D-glicose	19
2.1.2 – A toxicidade do 5-tio-D-glicose	26
2.1.3 – Atividades biológicas do 5-tio-D-glicose	26
2.2 – Tecnécio	
2.2.1 – A química do tecnécio	31
2.2.2 – A geração de tecnécio	34
2.2.3 – A síntese de Tc-5-tio-D-glicose	37
2.3 – Samário	
2.3.1 – A química do samário	41
2.3.2 – Produção de radioisótopos	41
2.3.3 – A utilização de samário na medicina	44
2.4 – Gadolínio	
2.4.1 – A química do gadolínio	46
2.4.2 – características nucleares do gadolínio	46
2.4.3 – O uso do gadolínio na medicina	48
2.5 – Hólmio	
2.5.1 – A química do hólmio	49
2.5.2 – O uso do gadolínio na medicina	49
2.5.3 – Características nucleares do hólmio	50
3 – MATERIAIS E MÉTODOS	51
3.1 – Materiais e reagentes	53
3.2 – Método de marcação	54
3.2.1 – Tecnécio	54
3.2.2 – Samário	54
3.2.3 – Gadolínio	55
3.2.4 – Hólmio	55
3.3 – Técnicas de análises	55
3.3.1 – Cromatografia em camada delgada	55
3.3.2 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível	56
3.3.3 – Cromatografia líquida de alta eficiência	57
3.3.4 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	58

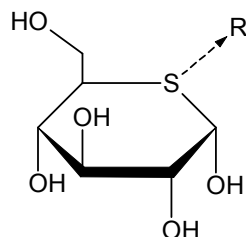
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
4.1 – 5-tio-D-glicose	59
4.1.1 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível	59
4.1.2 – Cromatografia líquida de alta eficiência	60
4.1.3 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	62
4.2 – Tecnécio	63
4.2.1 – Cromatografia em camada delgada	63
4.2.2 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível para o Tc	64
4.2.3 – Determinação do comprimento de onda para o estanho	65
4.2.4 – Determinação do comprimento de onda para o tecnécio	66
4.2.5 – Cromatografia líquida de alta eficiência	67
4.2.6 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	69
4.3 – Samário	72
4.3.1 – Cromatografia em camada delgada	72
4.3.2 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível	73
4.3.3 – Determinação do comprimento de onda	74
4.3.4 – Cromatografia líquida de alta eficiência	75
4.3.5 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	77
4.4 – Gadolínio	78
4.4.1 – Cromatografia em camada delgada	78
4.4.2 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível	79
4.4.3 – Determinação do comprimento de onda	80
4.4.4 – Cromatografia líquida de alta eficiência	81
4.4.5 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	82
4.5 – Hólmio	84
4.5.1 – Cromatografia em camada delgada	84
4.5.2 – Espectroscopia eletrônica no ultravioleta e visível	85
4.5.3 – Determinação do comprimento de onda	86
4.5.4 – Cromatografia líquida de alta eficiência	87
4.5.5 – Espectrometria vibracional molecular no infravermelho	88
5 – CONCLUSÕES	90
6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	91
7 – REFERÊNCIAS	92

1 – INTRODUÇÃO

A atividade metabólica de células tumorais é intensificada nos tecidos e órgãos em que se originam ou migram. A presença de glicose é, então, necessária para os processos celulares, uma vez que a demanda do organismo por energia aumenta. Desta maneira, compostos de glicose radiomarcados poderiam servir como traçadores para permitir a geração de imagens médicas para diagnóstico dos processos cancerosos.

Uma droga usada para a obtenção de imagens médicas para esses fins é o FDG, um análogo da glicose usado na técnica denominada PET. Para se obter o ^{18}F , de meia-vida de 110 minutos, é necessário um acelerador de partículas. Tal exigência, bem como a meia vida, tem tornado o diagnóstico por PET de custo muito elevado, comparado com SPECT e RMN; juntamente com o equipamento PET, a implantação de um acelerador de partículas envolve elevados investimentos.

Como caminho alternativo ao uso oneroso do FDG, a síntese de análogos marcados à glicose torna-se necessária usando-se núclídeos como tecnécio, samário, gadolínio e hólmio marcando o monossacarídeo 5-tio-D-glicose (Fig.1-1).



R = Tc, Sm, Gd ou Ho

Figura 1-1. Possível fórmula estrutural dos complexos de 5-tio-D-glicose.

O 5-tio-D-glicose foi sugerido e patenteado por OZKER em 1998 [1]. O diagnóstico de tecidos isquêmicos no miocárdio tem sido realizado através do 5-tio-D-glicose [2,3]. O mesmo composto tem se mostrado eficaz no diagnóstico de patologias localizadas no cérebro [4,5] e no estudo de tumores nos rins e pulmão e na visualização de tumores experimentais. A marcação do composto 5-tio-D-glicose com tecnécio foi estudada e estabelecido um protocolo do procedimento [1]. O estudo de visualização de tecidos com isquemia aguda em mamíferos foi realizado e requerida a patente nos Estados Unidos [1]. Esta patente detalha a administração

deste composto específico nestes casos e a imagiologia para a localização de tecidos com isquemia aguda, a atividade do radiofármaco administrado, a possibilidade de utilização em seres humanos, a forma de administração deste composto e estabelece que o rendimento de marcação atinge 90%. Com isto, preserva os direitos sobre a venda de um kit comercial especificamente para esta finalidade. Embora a patente proíba a comercialização do composto ou sua utilização efetiva em clínicas para radiodiagnósticos sem o devido pagamento dos direitos correspondentes, ela não proíbe a síntese do composto, tampouco sua utilização experimental na busca por outras técnicas de diagnósticos para processos cancerosos possíveis de serem realizadas com o mesmo ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose. A pesquisa com este composto poderá produzir resultados clínicos aplicáveis na Medicina Nuclear, especificamente para a aplicação em cintilografia pela técnica SPECT, já disponível em Belo Horizonte. As pesquisas com o 5-tio-D-glicose vêm demonstrando sua utilização como ferramenta de diagnóstico [1,3,5,6]. Investigações devem-se estender para tornar o 5-tio-D-glicose uma alternativa do FDG para o diagnóstico por imagem.

Drogas radiomarcadas com ^{153}Sm têm sido aplicadas à terapia de câncer como atenuante das dores causadas devido às metástases ósseas e para o tratamento de artrites reumáticas. Semelhantemente, o ^{166}Ho também é aplicado como marcador molecular para o tratamento de mieloma múltiplo, radiosinovectomia e para a terapia de restenosis.

Por sua vez, o Gd estável é citado em vários artigos científicos como marcador de moléculas, ligado ao DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético), como agente intensificador de contraste por RMN na obtenção de imagens angiográficas, hepáticas, ovarianas, de meninges, de embolia pulmonar e escleroses múltiplas.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – 5-tio-D-glicose

2.1.1 – A Química e a Bioquímica do 5-tio-D-glicose

Como outros monossacarídeos, os azaçúcares, carbaçúcares (com átomo de nitrogênio e carbono, respectivamente, substituindo o átomo de oxigênio no anel piranosídico) e os tioaçúcares (com átomo de enxofre em vez do átomo de oxigênio no anel) ganharam importância em glicobiologia e como drogas potenciais. Quarenta anos da química destes compostos têm produzido um número grande de monotiossacarídeos e de análogos de interesse biológico.

Devido aos açúcares de enxofre poderem participar mais prontamente que os correspondentes de oxigênio em processos heterolíticos, a química dos tioaçúcares e os seus análogos é mais tênue e às vezes mais delicada que a dos aldoses e alditóis correspondentes.

Como cita Robina [7], tioaçúcares com um átomo de enxofre no anel possuem propriedades biológicas interessantes. Em 1961, duas publicações de Schwarz et al.[7] e Aldley et al. [8], simultaneamente, descreveram a síntese de 5-tio- α -D-xilopiranosose (1), o primeiro exemplo de um tioaldose (Fig. 2-1).

Em 1984, o primeiro exemplo de um tioaçúcar natural foi identificado, o ácido 5-amino-5-deoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturônico (2) (Fig.2-1). Este faz parte dos açúcares dos antibióticos de albomicina [10].

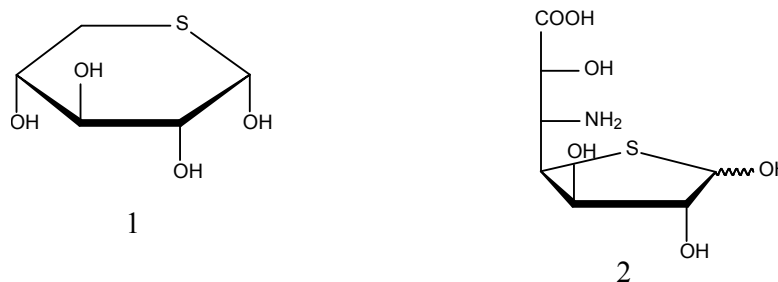


Figura 2-1. 5-tio- α -D-xilopiranosose e ácido 5-amino-5-deoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturônico.

Em 1987, 5-tio-D-manose (3) (Fig.2-2) foi isolado da esponja marinha *Clathria pyramida* (Lendenfled) [11]. Salacinol (4a) (Fig.2-2) e Kotalanol (4b) (Fig.2-2) foram isolados da *Salacia Reticulata*, a erva usada em medicina indiana tradicional para diabetes e mostrado ser um inibidor potencial de α -glucosidases intestinal [12].

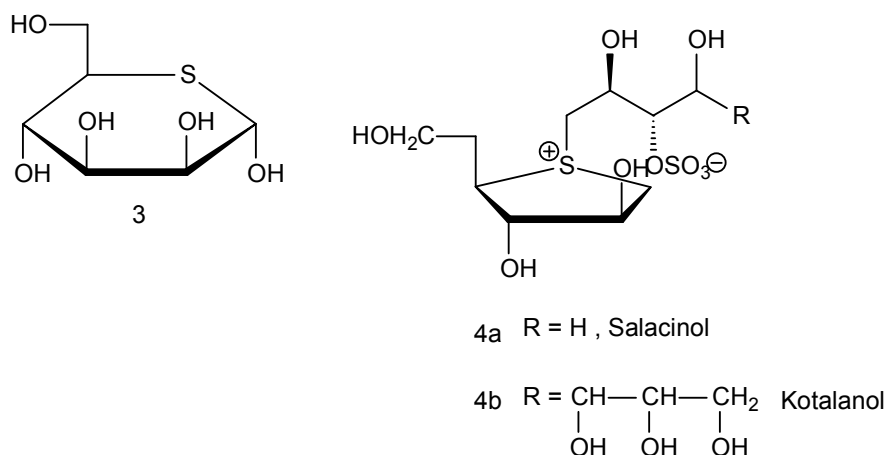


Figura 2-2. 5-tio-D-manose, Salacinol e Kotalanol.

A substituição do átomo de oxigênio do anel de piranosídeos (cadeia cíclica com 6 átomos) e furanosídeos (cadeia cíclica com 5 átomos) por um átomo de enxofre é suficiente para modificar a reatividade anomérica (conformações α ou β) dos monossacarídeos correspondentes, para afetar seu estado conformacional fundamental e, além de tudo, sua flexibilidade [13].

A substituição do átomo de oxigênio no anel do D-glicopiranosose pelo átomo de enxofre produz o 5-tio-D-glicopiranosose (Fig. 2-3).

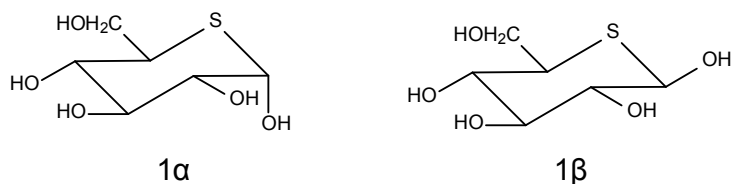


Figura 2-3. Anômeros conformacionais α e β do 5-tio-D-glicose.

A diferença entre D-glicopirranose e 5-tio-D-glicopirranose pode ser atribuída aos efeitos eletrônicos de substituição do oxigênio pelo enxofre ou para efeitos estéricos conformacionais da alternância do comprimento da ligação e ângulo de valência.

A ligação de C-S é mais longa (1,80 Å versus 1,43 Å de C-O) e o ângulo de C-S-C é menor (96-100° versus 110-113° de C-O-C) que a estrutura correspondente contendo o oxigênio (Fig. 2-4).

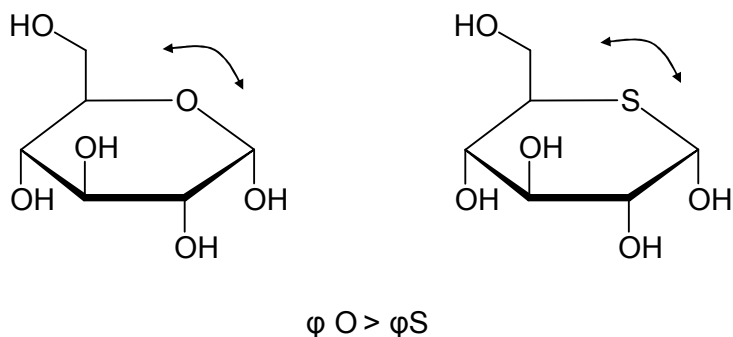


Figura 2-4. Distorção de contração do 5-deoxi e 5-tio- α -piranose.

Comparando os espectros de RMN-¹H que acoplam constantes de pares de prótons vicinais de tioaçúcares com esses dos açúcares de oxigênio correspondentes, distorções de contração significativas foram achadas nos α -anômeros do 5-tio-D-glicopirranose (5) (Fig.2-5) e 5-deoxi-5-tio-D-xilopirranose (1) [14]. Distorções menores foram descobertas dentre os β -anômeros. As distorções de contração são acompanhadas por um movimento dos grupos hidroxila vicinal. Quando ambos ocupam posições equatoriais, eles se põem mais próximos uns para com os outros, considerando que quando eles ocupam posições axial e equatorial (HO-C1, HO-C2 em 1, 5), a separação entre eles aumenta.

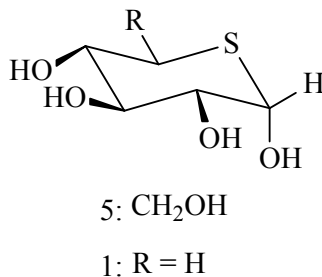
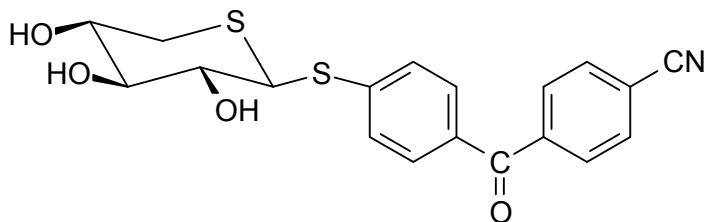


Figura 2-5: distorção de contração do 5-deoxi-5-tio- α -piranose.

Para o agente oral antitrombótico venoso Naroparcil[®] ([4-(4-cianobenzoil)fenil] 5-ditio- β -D-xilopiranosídeo) [15] dados de raio-X e RMN-¹H sugerem uma falta de influência estabilizadora que surge do efeito de exo-anômérico [16] quando uma sucessão de C-S-C-S é envolvida, conferindo assim uma maior flexibilidade sobre o acoplamento glicosídico do exocíclico piranosídeo [17].



Naroparcil

Figura 2-6. Agente oral antitrombótico venoso Naroparcil[®] ([4-(4-cianobenzoil)fenil] 5-ditio- β -D-xilopiranosídeo).

Comparado com um furanosídeo natural, a flexibilidade conformacional de 4-tiohexofuranosídeo é afetada pela maior ligação C-S, pelo menor ângulo de C-S-C e pelos efeitos diferenciais anoméricos entre o S-C-O e O-C-O [18].

O tioaçúcar de interesse neste trabalho, pelas suas propriedades bioquímicas que serão citadas a seguir, é o monossacarídeo 5-tio-D-glicose (Fig. 2-7).

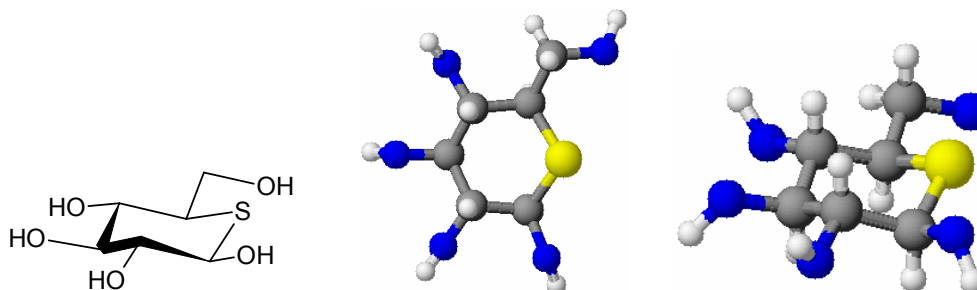


Figura 2-7. Fórmula estrutural bi e tridimensional do 5-tio-D-glicose. A coloração azul refere-se aos átomos de oxigênio, em cinza os átomos de carbono, em branco os átomos de hidrogênio e em amarelo, enxofre.

As diferenças das atividades biológicas entre tioaçúcares e os análogos de oxigênio dependem do arranjo geométrico, conformacional e das diferenças de flexibilidade. Elas também dependem das diferenças eletrônicas destes compostos uma vez que o enxofre é menos eletronegativo e mais polarizável que o etéreo correspondente. Em uma tentativa para entender a maior doçura de 5-tio-D-glicose comparado com o D-glicose, cálculos de mecânica quântica mostraram as diferenças em distribuição de carga que poderia fazer um papel significativo nas interações entre o açúcar e o receptor [19].

Em água, o 5-tio-D-glicose existe em uma razão de 85:15 em equilíbrio de α -piranose (5) (Fig. 2-8) e seu β -anômero (7) quando comparado com D-glicose para qual a razão é 32:68 da mistura de α -piranose e β -piranose. 5-tio- α -D-glicopiranose (5) passa por mutarotações mais rápido que α -D-glicopiranose em etanol aquoso [20]. Em contraste, 4-tio-D-glicose em água prefere a forma de furanose (6) [21].

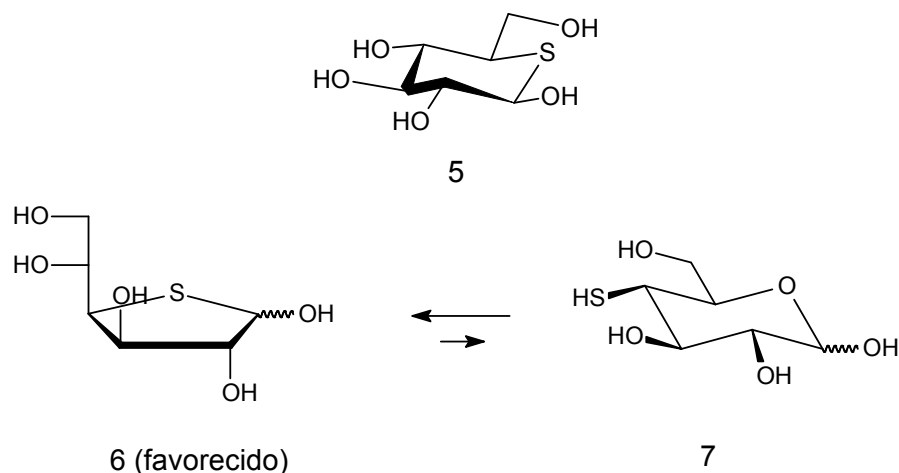


Figura 2-8. Equilíbrio químico entre α e β -piranose. A conformação α sobrepõe à β para o 5-tio-D-glicose.

Por causa do interesse crescente na bioquímica pelo 5-tio-D-glicose, uma rota alternativa para sua síntese foi altamente desejada. É Chung [22] que afirma, “desde que açúcares de cloro têm provado ser valiosos intermediários na preparação de deoxi e amino açúcares, eles poderiam ser usados para prover uma síntese mais curta de 5-tio-D-glicose”.

Whistler e Nayak [23] elaboraram duas rotas de síntese improvisadas para o 5-tio-D-glicose usando 5,6-anidro-3-O-benzil-1,2-O-isopropilideno- β -L-idofranose e 5,6-anidro-1,2-O-isopropilideno- β -L-idofuranose. Driguez propõe a rota de síntese do 5-TDG [24].

Embora não se tenha feito análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) para o 5-tio-D-glicose e suas marcações, encontrou-se na *home-page* do fabricante do açúcar estudado seu espectrograma (Fig. 2-9).

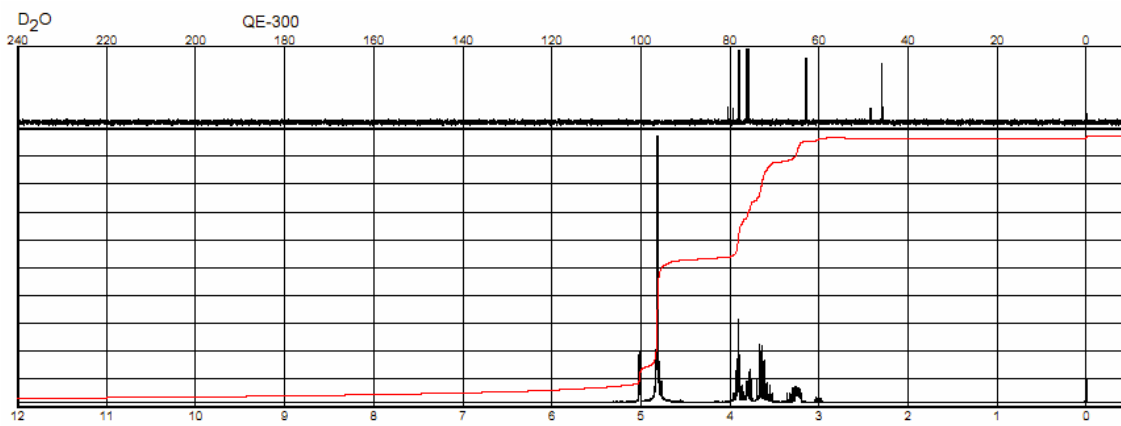


Figura 2-9. Espectrograma de RMN ^1H do 5-tio-D-glicose puro.

Provavelmente a ferramenta mais efetiva para se estudar as propriedades geométricas em solução é a espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Foram usadas as espectroscopias de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C para explorar as trocas de conformação que ocorrem na substituição do oxigênio do anel no D-glicose pelo átomo de enxofre [14].

Estes experimentos foram cuidadosamente iniciados com 2,1 T e foram confirmados com 8,4 T. Para efeito de comparação, foram também obtidos espectros de ^1H e ^{13}C do D-glicopiranosose sob condições idênticas com aquelas usadas para o análogo tioaçúcar.

O 5-tio-D-glicose existe primariamente como o α anômero em D_2O e em $\text{Me}_2\text{SO}/\text{D}_2\text{O}$. Os espectros de ^1H mostraram que a razão α/β em D_2O foi estável sobre 85/15. Análise de espectro de ^1H do α anômero apresentou que o anel é dobrado em comparação com que de D-glicopiranosose.

O mais curto ângulo da ligação C-S-C deforma o anel de modo que o caminho que os vários carbonos são elevadas mais adiante do plano comum. A deformação é geral em todo o anel. Completa atribuição foi feita para ambos espectros ^1H e ^{13}C , mas este último não produz informação conformacional.

Espectro de ^1H do 5-tio-D-glicose foi obtido com 360 MHz em D_2O pura e em 10:1 $\text{Me}_2\text{SO}d_6/\text{D}_2\text{O}$. O espectro foi analisado primeiro manualmente e então por simulação computacional. Os resultados das análises são mostrados na tabela 1-4.

Tabela 2-1. Análise do espectro de ^1H de 5-tio-D-glicose. ^a em partes por milhão campo-baixo por Me_4Si . ^b para 5-tio-D-glicopiranosose. ^c em hertz. ^d para D-glicopiranosose. ^e ver coluna J(S) para notação.

Próton	Anômero	δ (S) ^{a,b}	J (S) ^{b,c}	δ (O) ^{a,d}	J (O) ^{c-e}
H ₁	α	5,00	³ J _{1,2} = 3,1	5,25	3,8
	β	4,77	³ J _{1,2} = 9,3	4,65	8,1
H ₂	α	3,78	³ J _{2,3} = 9,4	3,54	9,8
H ₃	α	3,65	³ J _{3,4} = 8,9	3,73	9,5
H ₄	α	3,60	³ J _{4,5} = 9,1	3,42	9,5
	β		³ J _{4,5} = 9,8		9,0
H ₅	α	3,23	³ J _{5,6'} = 3,0	3,82	1,5 ^f
	β	2,98	³ J _{5,6'} = 3,6	3,49	1,8
H _{6'}	α	3,87	³ J _{6',6''} = -11,4	3,98	-12,0
	β				-12,2
H _{6''}	α	3,91	³ J _{5,6''} = 5,1	3,90	3,9
	β		³ J _{5,6''} = 6,2		5,2

O espectro de ^{13}C foi obtido com 20 e 90 MHz em D_2O pura. As frequências espectrais para o maior anômero (α) é apresentado na tabela 1-5.

Tabela 2-2. Análise do espectro de ^{13}C de 5-tio- α -D-glicopiranosose. ^a em partes por milhão campo-baixo por Me_4Si . ^b para 5-tio- α -D-glicopiranosose. ^c frequência simples, desacoplamento de ressonância. ^d a única ligação ^{13}C - ^1H acoplamento, em hertz.

Carbono	δ (S) ^{a,b}	Multiplicidade ^c	1J ^{b,d}	δ (O) ^a
C ₁	75,4	d	158	92,8
C ₂	77,6	d	146	72,2
C ₃	75,9	d	144	73,6
C ₄	75,9	d	144	70,3
C ₅	45,4	d	137	72,1
C ₆	62,6	t	149	61,5

2.1.2 – A Toxicidade do 5-tio-D-glicose

Como se pretende dar continuidade à presente pesquisa usando o 5-tio-D-glicose marcado pelo tecnécio, gadolínio, samário e hólmio, e ainda, estudar a biodistribuição *in vivo* de cada um destes radiofármacos buscou-se junto ao fabricante informações quanto à toxicidade do tioaçúcar em questão [25].

Nota-se, pela tabela 1-1, que o órgão-alvo é o sistema reprodutivo masculino. Estudos biológicos iniciais têm mostrado que o 5-tio-D-glicose é não-tóxico. Apresenta uma LD₅₀ de 14 g/kg para ratos [26].

Tabela 2-3. Exposição crônica: perigoso para o sistema reprodutivo.

Espécie alvo	Via de administração	Tempo de exposição	LD ₅₀ mg/kg	Resultado
Ratazana	oral	56 dias	2800	Efeito sobre o aparelho reprodutor masculino: testículos, epidídimo e túbulos seminíferos.
Ratazana	oral	56 dias	1400	Efeitos sobre a fertilidade: índice de fertilidade.
Rato	oral	49 dias	2450	Efeito sobre o aparelho reprodutor masculino: testículos, epidídimo e túbulos seminíferos. Efeitos sobre a fertilidade: índice de fertilidade.

2.1.3 – Atividades Biológicas do 5-tio-D-glicose

Há uma infinidade de artigos científicos tratando das atividades biológicas do 5-tio-D-glicose *in vitro* e *in vivo*. Porém, percebe-se que tais artigos baseiam-se em três principais abordagens, a saber:

i) 5-tio-D-glicose como inibidor de transporte e metabolismo celular.

Nagle [27] mediu os níveis intracelulares de trifosfato adenosina (ATP) em culturas hipóxica e aeróbica de células de hamsteres chineses tratadas com 5-tio-D-glicose. Este análogo da glicose, um conhecido inibidor de transporte e metabolismo de D-glicose, reduz ATP em culturas de células permitindo se tornar hipóxica através de metabolismo celular, mas não em culturas aeróbias tratadas semelhantemente. Resultados mostraram que 5-tio-D-glicose contribui para reduzir o metabolismo energético em células dependentes em glicólise para produção de ATP. A interferência para radioterapia é que a inibição seletiva do metabolismo de glicose

diminui as reservas de energia em células hipóxicas do que aquelas células mais radiosensíveis conduzindo a um tratamento de tumor mais efetivo.

Whistler e Lake et al [26] reportaram também os efeitos diabetogênicos do 5-tio-D-glicose como um inibidor do processo de transporte celular quando administrado oral ou intraperitonealmente em ratos. Ocorre um rápido desenvolvimento de glicosuria e hiperglicemia. Com uma dose de 50 mg/kg, a concentração de açúcar no sangue aumenta de um valor basal de 80 mg/100 ml para 300 mg/100 ml dentro de 2,5 horas e pode ser mantido com doses auxiliar de 5-tio-D-glicose. Administração de insulina anula a ação diabetogênica. A maior parte do 5-tio-D-glicose é excretada na urina, indicando uma baixa taxa de metabolismo (Hoffman e Whistler, 1968). Além disto, resultados in vivo mostram um decréscimo na concentração de D-glicose no fígado, rim e diafragma com baixas concentrações de 5-tio-D-glicose. 5-tio-D-glicose não inibe o metabolismo de D-glicose nos rins (Hoffman e Whistler, 1968). Foi sugerido que, devido à similaridade estrutural dos dois açúcares, 5-tio-D-glicose pode interferir no sistema de transporte celular utilizando a D-glicose. A ação diabetogênica produzida pelo 5-tio-D-glicose é devida, em parte, pela capacidade do análogo em interferir com o processo de transporte celular que usa D-glicose.

Whistler e Lake et al [26] mostraram que o 5-tio-D-glicose é competitivo no transporte celular ativo, inibindo a D-glicose. Depois, Chen e Whistler [28] informaram que 5-tio-D-glicose e seu 1-fosfato interferiram com a produção de D-glicose-6-fosfato. Ambos efeitos contribuem para a redução do metabolismo energético em células hipóxicas que dependem principalmente glicólise anaeróbica para produção de trifosfato adenosina.

O radiofármaco 5-tio-D-glicose é um análogo da glicose e é usado como um traçador do metabolismo da glicose. Ele penetra na célula pelo mesmo transporte que a glicose, e dentro da célula sofre o processo de fosforilação pela hexoquinase para 5-tio-D-glicose-6-fosfato. A partir deste ponto ela não pode prosseguir no caminho metabólico da glicose (figura 2-10), mas fica retida dentro da célula na mesma proporção que a taxa glicolítica da célula. Uma característica das células malignas é o alto metabolismo da glicose. O córtex cerebral usa principalmente a glicose como fonte de energia, conseqüentemente o acúmulo de 5-tio-D-glicose no cérebro é alto.

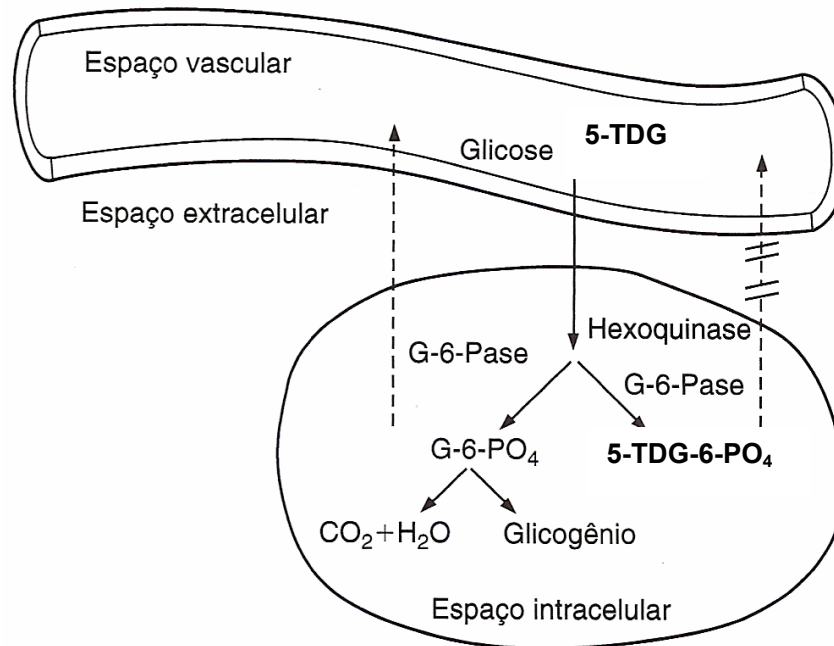


Figura 2-10. Mecanismo de captação do 5-tio-D-glicose. O 5-tio-D-glicose é um análogo da glicose, e tal como esta é transportado para dentro da célula e fosforilado pela hexoquinase; entretanto, ao contrário da glicose, a glicose-6-fosfatase não tem ação sobre ele e não pode progredir no caminho metabólico. Ele não pode atravessar a membrana celular e fica retido dentro da célula. O grau de captação é determinado pelo metabolismo celular.

O miocárdio usa vários substratos dependendo da disponibilidade e do estado do metabolismo. No estado de jejum o miocárdio usa primeiramente os ácidos graxos livres, mas na fase pós-prandial ou após sobrecarga de glicose, a utilização da glicose e a captação de 5-tio-D-glicose aumenta. Assim, para estudos cardíacos uma dose extra de glicose é administrada, mas para obter a imagem tumoral o jejum é necessário. Níveis elevados de glicose no sangue competem com o 5-tio-D-glicose e resultam em baixa captação tumoral.

ii) 5-tio-D-glicose como inibidor espermatogênico.

Song e Clement et al. [29] concluíram que a espermatogênese e a fertilidade de ratos masculinos poderiam ser completamente prejudicadas quando alimentados com 30 mg/kg de 5-tio-D-glicose por dia por 3 semanas. A diferença de citotoxicidade do 5-tio-D-glicose para células aeróbicas e hipóxicas observada é atribuída por um mecanismo similar. A produção de energia é diminuída sob

condições hipóxicas devido a ineficiente utilização de glicose na via glicólise anaeróbica. A inibição do metabolismo e transporte de glicose através da membrana celular decresceria a produção de energia mais adiante e, conseqüentemente, reduz a viabilidade de células hipóxicas.

iii) 5-tio-D-glicose como intensificador dos efeitos letais de radiação ionizante e hipertermia em células hipóxicas.

Lambert e Wharry et al. [30] citaram que “este composto têm uma grande variedade de atividade fisiológica. São efetivos em células hipóxicas, particularmente em combinação com hipertermia. É inibidor de transporte de D-glicose e às células hipóxicas sensíveis à radiação. Também é um agente antifertilidade não-tóxico em machos por inibição espermatogênica e um inibidor de parasitas com uma alta demanda de glicose.”

Nagle e Moss et al. [27] afirmam que o 5-tio-D-glicose tem si mostrado eficiente no aumento dos efeitos letais de radiação ionizante e hipertermia de certa maneira. O índice de morte de células hipóxicas foi aumentado, considerando a pequena toxicidade do 5-tio-D-glicose observada para células óxicas. Acredita-se que células hipóxicas existam em tumores humanos. Então, agentes que exibem seletivamente efeitos tóxicos em células hipóxicas podem ser de grande valor em clínica de radioterapia.

O 5-tio-D-glicose prejudica o metabolismo de glicose em células hipóxicas sendo responsável por aumentar assim a sensibilidade destas células para radiação e calor. Exposição crônica de ratos masculinos para 5-tio-D-glicose conduz para a inibição de espermatogêneses com resultante esterilidade temporária. Espermatogêneses é caracterizada por níveis altos de glicólise anaeróbica. Estes relatos de Maugh e Zysk et al. [31,32] levaram a investigar o efeito de 5-tio-D-glicose em metabolismo energético celular diretamente medindo o nível de ATP celular em ambas culturas de células aeróbias e hipóxicas.

Song e Clement et al. [29] relataram em seus trabalhos sobre os efeitos citotóxicos e a radiosensibilidade de células hipóxicas pelo 5-tio-D-glicose. A freqüente falha de radioterapia para a conclusão do completo controle de localização de tumores é geralmente acreditada em parte pela presença de células hipóxicas tumorais radorresistentes. O uso de radiação de alta LET, como nêutrons, tem sido

sugerido como um meio de eliminação de modo à proteção hipóxica; entretanto, avanços clínicos de certas radiações não têm mostrado resultados encorajadores. Recentemente um grande número de autores tem informado que vários compostos são hábeis para sensibilizar células hipóxicas por radiação. Alguns destes compostos têm sido reportados por serem efetivos não somente in vitro, mas também in vivo em tumores animais; entretanto, a sua efetividade clínica tem de ser provada. A limitação principal de tal composto para uso humano parece ser a sua toxicidade aos níveis necessários para se obter uma sensibilização significativa. Trabalhos recentes têm sugerido o uso de compostos químicos especificamente citotóxicos para células hipóxicas como outro meio de minimizar a proteção hipóxica em radioterapia. A mais proeminente diferença metabólica entre células óxicas e hipóxicas é o metabolismo de glicose. Sob condições hipóxicas, a glicose é preferivelmente ineficiente pela glicólise anaeróbica. Isto implica que à medida que mais glicose seja necessária na ausência de oxigênio que sob condições aeróbicas para produzir a mesma quantidade de energia. Conseqüentemente, células hipóxicas podem ser mais sensíveis para o suprimento de glicose que as células óxicas ou aeróbicas. Um efeito inibidor do metabolismo e transporte de glicose pela membrana celular é o 5-tio-D-glicose. Este composto é especificamente citotóxico para células hipóxicas. O 5-tio-D-glicose sensibiliza células hipóxicas para irradiação e protege células aeróbicas de danos de radiação. Tal substância tem se mostrado um potente adjuvante para radioterapia para melhor controle tumoral.

Schulz e Bongiorno et al. [33] também estudaram o efeito tóxico do 5-tio-D-glicose para células hipóxicas. A toxicidade é marcadamente dependente da concentração de oxigênio. Os autores expuseram células de hamsteres chineses a 5 mM de 5-tio-D-glicose e 50 ppm de atmosfera de O₂ resultando na sobrevivência de 1% em 6 horas, quando se aumentou a concentração de O₂ para 100 ppm, a sobrevivência aumentou para 90%. A combinação do efeito de raios X e 5-tio-D-glicose é para reduzir a sobrevivência de células hipóxicas a um nível abaixo daquele atingível com qualquer agente isolado. Células se tornaram hipóxicas com 5 ppm O₂ dando 10% de sobrevivência depois de três horas de exposição para 5 mM 5-tio-D-glicose.

Schuman e Levitt et al. [34] investigaram o efeito de radioproteção do 5-tio-D-glicose em tecidos normais. A LD₅₀ do 5-tio-D-glicose em ratos injetados intraperitonealmente é 5,5 g/kg. Os animais foram injetados intraperitonealmente

com soro e 5-tio-D-glicose, seguido de irradiação de corpo inteiro e radiação localizada nos pés. Ratos injetados com 1,5 g/kg de 5-tio-D-glicose foram protegidos de lesões letais gastrointestinal ou medula óssea seguida de irradiação de corpo inteiro. As mesmas doses de 5-tio-D-glicose protegeram ratos de danos na pele dos pés entre 0 e 40 dias pós-irradiação. As reações da pele dos pés indicam que o 5-tio-D-glicose provem máxima radioproteção após 4 horas de injeção intraperitoneal. Os autores concluíram que o 5-tio-D-glicose, seletivamente, é letal e radiosensibiliza células hipóxicas. Conseqüentemente, é possível usá-lo como um adjuvante à radioterapia em ordem para lesar ou radiosensibilizar células hipóxicas e radioprotoger células normais.

Markoe e Risch [35] trabalharam intensamente na biodistribuição e farmacocinética do 5-tio-D-glicose. Nestes estudos, o monossacarídeo mostrou efeitos profundos em tecidos de metabolismo rápido. Os autores usaram cintilação para estudar a distribuição e farmacocinética em tecido do 5-tio-D-glicose marcado com ^{35}S em modelos de tumores pancreáticos de hamster. No hamster normal, a taxa de dose inicial de atividade de ^{35}S em rim, fígado, e sangue era alto, mas rapidamente diminuiu com tempo. Estes estudos provêm grande tendência para o uso de 5-tio-D-glicose como uma combinação para a síntese de agentes potencialmente úteis para descoberta clínica de tumores pancreáticos.

2.2 – Tecnécio

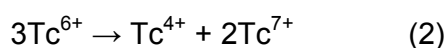
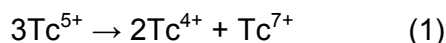
2.2.1 – A Química do Tecnécio

Tecnécio é um metal de transição prateado pertencente ao grupo VIIB da tabela periódica (Mn, Tc e Re) e tem número atômico 43. Não há isótopos estáveis de Tc na natureza.

O ^{99}Tc tem uma meia-vida de $2,1 \times 10^5$ anos. A estrutura eletrônica do átomo de Tc neutro é $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 4p^6, 4d^5$ e $5s^2$. O Tc pode existir em oito estados de oxidação, no intervalo de 1- a 7+, resultado da perda de seus elétrons dos subníveis 4d e 5s ou ganho de elétrons no orbital 4d.

A estabilidade destes estados de oxidação depende do tipo de agente ligante quimicamente envolvido. Os estados 7+ e 4+ são mais estáveis e são encontrados como óxidos, sulfetos, haletos e pertecnetatos.

Os estados mais baixos, 1-, 1+, 2+ e 3+ são normalmente estabilizados por complexação com ligantes, por exemplo, Tc^{+1} complexado com seis grupos isonitrila em ^{99m}Tc -sestamibi. Os estados 5+ e 6+ se decompõem em 4+ e 7+ conforme as equações químicas (1) e (2).



O número de coordenação de ^{99m}Tc -complexado pode variar entre 4 e 9. A baixa concentração de ^{99m}Tc livre ($\sim 10^{-9}$ M) em muitos compostos marcados com este radionuclídeo apresenta um grande problema em determinações químicas.

A maioria das informações relativo à química do tecnécio foi obtida a partir do ^{99}Tc , sua forma estável, válida em concentrações de 10^{-4} a 10^{-5} M, pela aplicação em várias técnicas analíticas como polarografia, espectroscopia de massa, cristalografia de raios-X, cromatografia e outras.

O íon pertecnetato tem a geometria tetraédrica com o átomo de Tc^{7+} como átomo central e os quatro átomos de oxigênio nos vértices do tetraedro (Fig. 2-11).

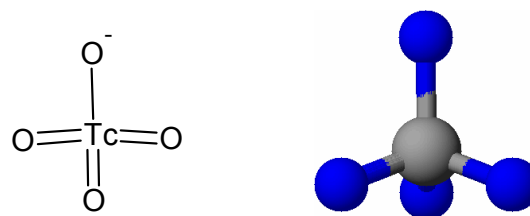
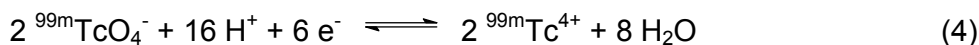


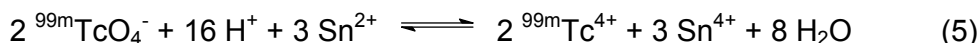
Figura 2-11. Arranjo geométrico tetraédrico do pertecnetato (TcO_4^-).

Quimicamente, o pertecnetato é uma espécie de baixíssima reatividade e não complexa em reações de adição direta. Em muitos compostos de ^{99m}Tc marcados é prioritária a redução do Tc^{7+} . Vários agentes redutores tem sido usados, dentre eles cloreto estanoso biidratado ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$), citrato estanoso, tartarato estanoso, HCl concentrado, borohidreto de sódio ($NaBH_4$), ditionita e sulfato ferroso. Destes, o cloreto estanoso biidratado é o mais usado.

As reações que ocorrem na redução do tecnécio pelo cloreto estanho hidratado em meio ácido são apresentadas nas equações químicas 3, 4 e 5.

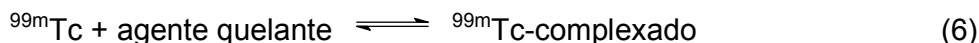


adicionando as equações 3 e 4, tem-se:



A equação (4) indica que ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{7+}$ está sendo reduzido para Tc^{4+} . Outros estados de oxidação como ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{3+}$ e ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{5+}$ podem ser formados sob diferentes condições físico-químicas. Experiências com quantidades milimolares de ${}^{99}\text{Tc}$ tem mostrado que Sn^{2+} reduz ${}^{99}\text{Tc}^{7+}$ para o estado 5+ e, lentamente, para o estado 4+, usando o tampão citrato com pH 7. ${}^{99}\text{Tc}^{7+}$ é reduzido para o estado 4+ por Sn^{2+} em HCl concentrado.

A quantidade de átomos ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ eluído é muito baixa ($\sim 10^{-9}$ M), e somente uma quantidade mínima de Sn^{2+} é requerida para a redução. A razão de íons Sn^{2+} sobre ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ pode ser maior que 10^6 . O ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ reduzido é uma espécie quimicamente reativa e combina com uma grande variedade de agentes quelantes. Um esquema da reação pode ser apresentado pela equação química 6.



O agente quelante dispõe de, pelo menos, um par de elétrons não-ligantes para formar ligações covalentes coordenadas com o ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ reduzido. Os estados de oxidação do tecnécio em muitos Tc-complexados não são conhecidos com certeza. Medidas polarográficas e titração iodométrica tem sido usadas para determinar os estados de oxidação de tecnécio nestes compostos. A biodistribuição e cinética de radiofármacos de ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ são influenciadas pela estereoquímica estrutural. Compostos marcados com Tc representam mais de 80% de todos os radiofármacos usados em Medicina Nuclear mundialmente. A razão para o preeminente uso clínico do ${}^{99\text{m}}\text{Tc}$ está nas suas características química, física e nuclear.

2.2.2 – A Geração do Tecnécio

A meia-vida física do ^{99m}Tc é de 6 horas e a pequena quantidade de elétrons emitidos permite a administração de quantidades de milicurie de ^{99m}Tc radioativo sem dose de radiação significativa para o paciente. Além disso, o fóton monocromático de 140 keV (Fig. 2-12) é colimado para gerar imagens de alta resolução. Ainda, o ^{99m}Tc está prontamente válido na esterilidade, livre de pirogênese e fácil manipulação do gerador ^{99}Mo - ^{99m}Tc .

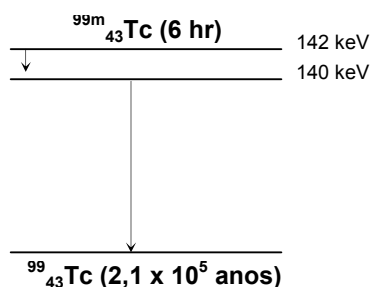


Figura 2-12. Esquema de decaimento do ^{99m}Tc ilustrando a transição isomérica. 10% do decaimento se dá por conversão interna.

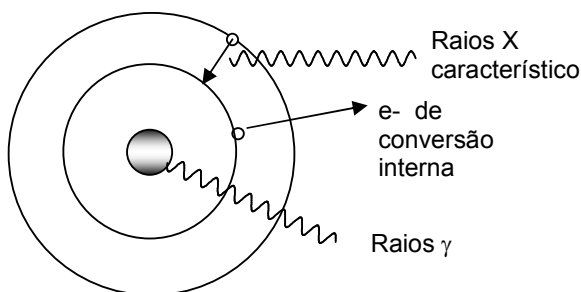


Figura 2-13. Processo de conversão interna. A energia de excitação do núcleo é transferida ao e^- da camada K, o qual é emitido e gera uma vaga eletrônica. Esta vaga por sua vez é preenchida por um e^- da camada L. A energia entre as camadas L e K corresponde ao raio X característico do Tc.

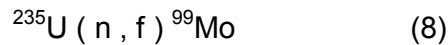
Todos os radionuclídeos de uso clínico são produzidos em reatores nucleares, em cíclotrons ou outros tipos de aceleradores. Radionuclídeos que ocorrem na natureza têm meia-vida longa, são pesados e tóxicos; incluem o urânio, o actínio, o tório, o rádio e o radônio. Nenhum deles tem função clínica ou diagnóstica em Medicina Nuclear.

Bombardeios de núcleos de massa atômica média com nêutrons de baixa energia em reatores nucleares originam radionuclídeos ricos em nêutrons que sofrem decaimento beta negativo (β^-). Esta reação é referida como *Ativação Neutrônica*.

Uma vez que o produto filho é o mesmo elemento, os átomos radioativos e os estáveis não podem ser separados, resultando num produto de baixa atividade

específica, com quantidade significativa de carreador do material alvo original, ou seja, do nuclídeo estável.

A ativação neutrônica do molibdênio-98 (^{98}Mo) foi o primeiro método usado para obter o molibdênio-99 (^{99}Mo) para o sistema gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, de acordo com a equação da reação nuclear (7). O ^{99}Mo é produzido hoje pela reação de fissão do urânio-235 (^{235}U) enriquecido com nêutrons em reatores nucleares (8).



O ^{99}Mo tem meia-vida física de 2,8 dias (ou 66 horas) e seu principal decaimento beta negativo (β^-) tem energia de 740 keV com uma abundância de 12%.

A figura 2-5 apresenta as formas de decaimento do molibdênio (^{99}Mo) e a desexcitação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [36].

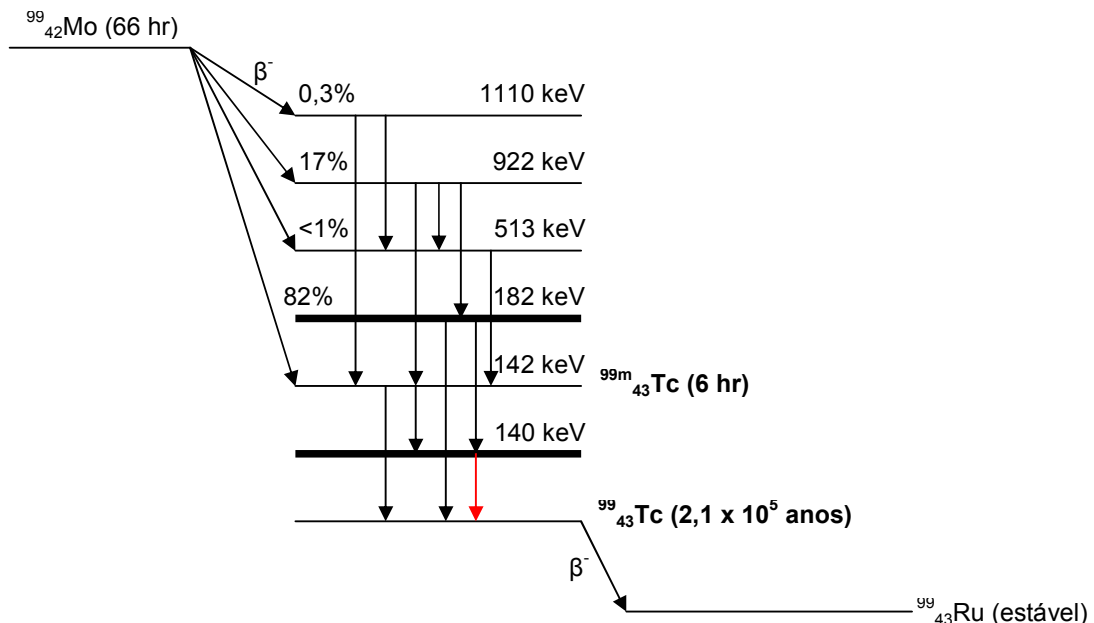


Figura 2-14. Decaimento do ^{99}Mo e desexcitação do $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Esta é uma transição isomérica do nível 140 keV, na qual ocorre por transição interna. Aproximadamente 87% do ^{99}Mo decai para $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e o restante, 13%, decai por ^{99}Tc .

Uma das questões enfrentadas pela Medicina Nuclear é o desejo de utilizar núclídeos de meia-vida curta e ao mesmo tempo a necessidade de ter os radiofármacos entregues de forma comercialmente em hospitais e clínicas [37]. Uma forma de contornar este problema é o sistema de gerador de radionuclídeo. Este sistema consiste num radionuclídeo pai de meia-vida longa com um filho de meia-vida curta, e com esta combinação o gerador pode ser entregue em lugares distantes e o radionuclídeo filho deve ter meia-vida razoável para aplicações clínicas.

O gerador mais importante atualmente é o gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. Neste gerador há uma coluna cromatográfica de troca iônica composta pela alumina (Al_2O_3) e pelo pai ^{99}Mo . A coluna carregada é colocada num recipiente de chumbo, com dois tubos inseridos nas extremidades da coluna para permitir a eluição. No primeiro tubo encontra-se uma solução salina, mais precisamente soro fisiológico, NaCl a 0,9%. Na extremidade da saída da coluna, a porta coletora, coloca-se no momento de se obter o radionuclídeo nas clínicas, um frasco estéril evacuado contendo um fármaco, sob a forma liofilizada, a ser marcado pelo radionuclídeo.

Os volumes da eluição variam de 5 a 20 mL. Os geradores passam por um controle de qualidade rigoroso antes de serem entregues às clínicas. A tabela 2-4 apresenta o controle de qualidade das eluições do gerador $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Tabela 2-4. Controle de pureza do sistema de gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Pureza	Problema	Padrão
Radionuclídica	Excesso de ^{99}Mo no eluato.	< 5,55 kBq $^{99}\text{Mo}/\text{mCi}$ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ no momento da administração da dose.
Química	Al_2O_3 da coluna de troca iônica do gerador na eluição.	< 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (gerador de fissão).
Radioquímica	Estados de oxidação reduzidos do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (4+, 5+ ou 6+ em lugar do 7+).	95% da atividade do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ deve estar no estado de valência 7+.

Quanto à pureza radionuclídica, o único radionuclídeo desejado no eluato do gerador é o $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Qualquer outro radionuclídeo presente na amostra é considerado como impureza radionuclídica e é indesejável, pois resultará em dose extra de irradiação para o paciente. O radionuclídeo contaminante mais comum é o radionuclídeo pai, ou seja, o ^{99}Mo . A quantidade de ^{99}Mo no eluato é sujeita a limites estipulados pela NRC (Nuclear Regulatory Commission) e deve ser testada em cada eluição. A forma mais fácil e mais utilizada de fazer este teste seja tirar proveito de

sua alta energia de 740 e 780 keV dos fótons do ^{99}Mo , fazendo uma contagem de duplo pico. O eluato é colocado num recipiente de chumbo com espessura suficiente para barrar os fótons de 140 keV do $^{99\text{m}}\text{Tc}$, bloqueando apenas 50% dos fótons do ^{99}Mo . O limite permitido pela NRC é de 5,55 kBq (0,15 μCi) de ^{99}Mo para cada 1 mCi de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ na dose administrada ao paciente.

Em relação à pureza química, uma impureza indesejável e que afeta a biodistribuição de fármacos no organismo é a alumina que compõe a fase estacionária da coluna cromatográfica. A concentração máxima permitida de alumina no eluato é de 10 $\mu\text{g/mL}$. Um teste colorimétrico utiliza o ácido aurintricarboxílico. A reação para uma amostra padrão com 10 $\mu\text{g/mL}$ é comparada com a amostra proveniente do eluato. Os níveis aceitáveis são quando a cor do eluato é menos intensa que a do padrão. A comparação é visual e qualitativa.

A pureza radioquímica relaciona-se aos variados estados de oxidação do Tc no eluato. A valência esperada do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ no eluato é 7+, na forma química de pertecnetato TcO_4^- . A USP (United States Pharmacopeia) padroniza que, no mínimo, 95% do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ presente no eluato seja na valência 7+. Estados de oxidação reduzidos de 4+, 5+ e 6+ podem estar presentes e podem ser detectados por cromatografia em camada delgada.

2.2.3 – A Síntese do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-tio-D-glicose e sua biodistribuição em ratos

O 5-tio-D-glicose tem maior seletividade pelas células hipóxicas. Sabe-se que tais células compõem os tecidos isquêmicos (tecidos em que há suspensão ou deficiência da circulação do sangue que irriga um órgão) responsáveis pelo infarto agudo do miocárdio e pelo acidente vascular cerebral (AVC).

As imagens médicas obtidas do miocárdio e cerebrais através do ^{18}F flúor, como o radiofármaco FDG, não permitem a observação de tecido que apresentam células necróticas, hipóxicas ou de baixa taxa metabólica. Assim, o uso do complexo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -5-tio-D-glicose vem a proporcionar o preenchimento desta lacuna deixada pelo FDG e com a grande vantagem de não requerer um acelerador de partículas para a obtenção do radionuclídeo traçador.

Ressalta-se que o ^{99m}Tc , como já mencionado, é facilmente obtido através de um gerador de ^{99}Mo e que o ^{18}F é produzido em aceleradores de partículas pelo bombardeamento protônico do ^{18}O , nuclídeo importado pelas instituições brasileiras de interesse.

Ozker e Collier [38] estudaram a fundo e patentearam a síntese do complexo ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose. Estes autores ainda pesquisaram sobre a obtenção de imagens de tecido isquêmico agudo in vivo.

Em suas pesquisas, a quantidade de complexo injetada está entre 5 e 10 MBq por kg do corpo alvo. O complexo foi administrado intravenosamente. A composição do radiofármaco inclui aproximadamente 10 mg de 5-tio-D-glicose e entre aproximadamente 0,01 a 2 mg íons de estanoso como cloreto estanoso biidratado.

No método de complexação, a solução de ^{99m}Tc incluiu entre 185 a 370 MBq por mg de 5-tio-D-glicose. Para tumores de imagem em ratos, um volume de solução de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose suficiente para distribuir entre aproximadamente 9 a 10 MBq de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose/kg de corpo foi injetado intravenosamente.

Em humanos, a injeção de um volume de solução de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose, que contém aproximadamente 370-740 MBq no paciente para ser imaginado (5 a 10 MBq/kg de corpo), será satisfatória para imagem de tecido.

Preferivelmente, o agente traçador é administrado intravenosamente não mais que 3 horas depois de preparação. Preferivelmente, escanea-se o paciente entre 1 e 6 horas depois da administração. ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose é preparado usando 74 μg de íon estanoso, 10 mg de 5-Tio-D-glicose e 50-100 mCi (1,85-3,7 GBq) Tc-99m pertecnetato em um volume final de 2 a 4 mL.

Depois de 30 minutos de incubação a temperatura ambiente, a solução foi cromatografada usando tiras de papel Whatman 3MM eluída com metiletilcetona e camada delgada de sílica gel eluídas com solução salina. A eficiência de marcação do ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose foi de $98,5 \pm 0,8\%$, estável por mais de 24 horas. Qualquer impureza não-reativa presente apareceria nos cromatogramas; espécies de Tc-99m insolúveis apareceriam à origem do cromatograma.

Foram executadas experiências de localização de tumor usando ratos masculinos (18-20 g) induzidos a carcinoma de cólon. 5 μCi (185 kBq) de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose foram injetadas na veia do rabo dos ratos. Os animais foram sacrificados através de deslocamento cervical com 1, 2 e 3 horas depois de injeções.

Espécimes de tecido foram removidos de cada rato, pesados e contados em um contador de cintilação de NaI.

A biodistribuição de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose em ratos com carcinoma de cólon foi usada para determinar a localização de tumor e razão tumor/não-tumor. Em uma hora, o índice de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose em tiróide ($0,17 \pm 0,06\%$) e estômago ($0,46 \pm 0,13\%$) abaixou.

Os níveis de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose foram reduzidos, com o passar do tempo, na tiróide e estômago a $0,05 \pm 0,02\%$ e $0,2 \pm 0,05\%$ respectivamente. Isto confirma a hipótese que ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose é altamente estável em vivo, exibindo mínimo ou nenhuma decomposição química para Tc-99m-pertecnetato.

A biodistribuição de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose nos órgãos restantes, expressa como índice de porcentagem de dose injetada por órgão, é apresentada nas tabelas 2-2 e 2-3. Rim ($2,62 \pm 0,24\%$) e fígado ($2,54 \pm 0,37\%$) tiveram o maior índice. O índice de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose no fígado diminuído com o passar do tempo, considerando que rim mostrou um aumento.

Em ratos injetados com D-glicose não radioativa, dados de biodistribuição usando o modelo de câncer de cólon mostraram altas concentrações de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose no sangue e background. Estes achados sugerem que o índice de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose esteja relacionado ao transporte de D-glicose.

Tabela 2-5. Localização de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose como uma porcentagem de Dose Injetada por grama (% ID/g) de tecido tumoral. Valores são medidos % ID/g e desvio padrão da medida (n = 5).

Tecido	1 Hora	2 Horas	3 Horas
Tumor	$1,6 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,3$
Músculo	$0,6 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$
Tumor/Músculo	2,7/1	4,0/1	

A biodistribuição radiográfica de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose mostrou uma maior e mais persistente localização de tumor para ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose quando comparado a D-glicose radioativa com carbono-14 (C^{14} -DG). Acúmulos de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose e C^{14} -DG no mesmo tumor mostraram padrões significativamente diferentes. ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose concentrou ao centro dos tumores enquanto que a C^{14} -DG teve diminuída a sua atividade nesta área central, sugerindo uma maior avidéz de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose pela área central de necrose.

Tabela 2-6. Biodistribuição de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose como uma porcentagem de dose injetada por órgão (% ID/órgão) em ratos. Valores são medidos % ID/órgão e desvio padrão medido (n = 5).

Tecido	1 Hora	2 Horas	3 Horas
Coração	0,17 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,03
Pulmões	0,41 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,29 ± 0,07
Fígado	2,54 ± 0,37	2,33 ± 0,17	1,88 ± 0,77
Rins	2,62 ± 0,24	2,43 ± 0,20	2,95 ± 0,49
Tiróide	0,17 ± 0,06		0,05 ± 0,02

Os achados de Ozker e Collier informados aqui provêm evidências de que ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose é útil como um agente de imagem e seu uso facilitará os planejamentos de terapia responsáveis ao tratamento de tumores. O acúmulo de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose em necrose de infartos de miocárdio e danos cerebrais foi descrito por Orlandi et al. [2] e Yaoita, et al. [4]. Estes dados indicam uma diferenciação clara entre as localizações de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose e 2-deoxiglicose em tumores, sugerindo um grande potencial para o uso de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose na imagem de tecido de tumor isquêmico.

O mecanismo de localização de ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose em tumores e dano isquêmico é desconhecido. Tumores e tecido isquêmico são regiões de baixa concentração de oxigênio. A baixa disponibilidade de oxigênio aumenta a extração de glicose por uma via anaeróbica. Foram estudados vários ligantes de carboidratos marcados com ^{99m}Tc para acumular em tumores e células hipóxicas através de sistema de transporte de açúcar. O infarto agudo apresenta uma mistura de necrose e tecido isquêmico. Então, ambas as abordagens hipotéticas que envolvem transporte anaeróbico em áreas de isquemia e ligantes mitocondriais em células necróticas podem ter um papel em extração e retenção dos ligantes de carboidrato em infarto agudo.

2.3 – Samário

2.3.1 – A Química do Samário

Samário é um metal de transição interna pertencente ao grupo IIIB, da série dos lantanídeos e tem número atômico 62. Faz parte do grupo das terras raras.

É usado em lâmpadas de eletrodos de carbono na indústria cinematográfica. Sob a forma metálica inflama-se no ar a temperatura de 150°C.

A estrutura eletrônica do átomo de samário neutro é $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 4p^6, 4d^{10}, 5p^6, 6s^2, 4f^6$.

Os principais compostos do samário são: $\text{SmF}_2, \text{SmF}_3, \text{SmBr}_2, \text{SmBr}_3, \text{SmCl}_2, \text{SmCl}_3, \text{SmI}_2, \text{SmI}_3, \text{Sm}_2\text{O}_3, \text{Sm}_2\text{S}_3, \text{Sm}_2\text{Se}_3$ e Sm_2Te_3 . Em todos eles o samário se encontra com o estado de oxidação 2+ ou 3+, resultado da perda de seus elétrons dos subníveis $6s^2$ e um elétron do subnível $4f^6$.

2.3.2 – Produção de radioisótopos do Samário em Reatores de Pesquisa

A meia-vida, características de decaimento e energia das partículas emitidas são os fatores que governam a seleção de um radionuclídeo para terapia.

Contudo outra consideração importante é a pronta disponibilidade dos isótopos em quantidades adequadas.

Grande parte dos radioisótopos usada na Índia é produzida no reator de Dhruva de 100 MW. O fluxo de nêutron para produção de radioisótopo neste reator varia de $0,6$ a $1,4 \times 10^{14}$ n/cm²/s quando o reator está operando com sua capacidade máxima. Nestas aplicações terapêuticas são processados radioisótopos como o ^{153}Sm e ^{166}Ho (este radioisótopo será abordado no tópico 2.5).

O desenvolvimento de radiofármacos terapêuticos envolve pesquisas dentro de diversas áreas. Estes incluem a produção e radioquímica dos isótopos, a síntese de ligantes, a complexação com radiometais, a conjugação do ligante como molécula portadora de ação bioquímica e bioavaliação dos produtos em modelos animais.

De todos anteriores, a produção e separação de isótopos radioquímicos para terapia é a exigência primária. Porém, este trabalho é limitado para alguns

laboratórios que têm acesso a reatores nucleares. A maioria dos laboratórios depende de fontes comerciais para a provisão de radioisótopo.

Um número grande de radioisótopo é proposto para ser usado para aplicações terapêuticas [39–43]. As três qualidades principais que são observadas em um radioisótopo a ser usado in vivo em aplicações médicas são: a pureza radionuclídica, atividade específica e pureza radioquímica.

A exigência com respeito à atividade específica e pureza radioquímica depende do tipo de molécula do portador usado. Porém, a pureza radionuclídica do isótopo deveria ser muito alta, independente do tipo de aplicação e do tipo de molécula de portador selecionado.

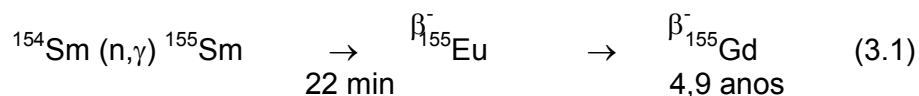
O samário-153 tem uma meia-vida física de 46,3 h (1,9 dia) e decai com emissões de partículas beta (β) e de raios gama (γ). As energias máximas das partículas beta são 810 keV (20%), 710 keV (50%) e 640 keV (30%) com um poder de penetração máximo de 3 mm e médio de 0,8 mm; e dos fótons gama é 103 keV (29%).

Tabela 2-7. Isótopos do samário. Modos de decaimento: IT (transição isomérica), ϵ (captura eletrônica), β^+ (emissor de pósitron), α (emissor alfa), p (emissor de prótons) e β^- (emissor de elétrons). Meia-vida física: a (anos), d (dias), h (horas), m (minutos) e s (segundos) [44].

Nuclídeo	Z	N	Modo de decaimento	Meia-vida	E_x (keV)	Abundância (%)
^{139m} Sm	62	77	IT, $\epsilon+\beta^+$	10,7 s	457.8	
^{141m} Sm	62	79	$\epsilon+\beta^+$, IT	22,6 m	175.8	
^{143m} Sm	62	81	IT, $\epsilon+\beta^+$	66 s	754.0	
^{143m2} Sm	62	81	IT	30 ms	2794.7	
¹⁴⁴ Sm	62	82		Estável	0	3.1
¹⁴⁵ Sm	62	83	ϵ	340 d	0	
¹⁴⁶ Sm	62	84	α	1,03E8 a	0	
¹⁴⁷ Sm	62	85	α	1,06E+11 a	0	15,0
¹⁴⁸ Sm	62	86	α	7E+15 a	0	11,3
¹⁴⁹ Sm	62	87		>2E+15 a	0	13,8
¹⁵⁰ Sm	62	88		Estável	0	7,4
¹⁵¹ Sm	62	89	β^-	90 a	0	
¹⁵² Sm	62	90		Estável	0	26,7
¹⁵³ Sm	62	91	β^-	46,284 h	0	
^{153m} Sm	62	91	IT	10,6 ms	98.37	
¹⁵⁴ Sm	62	92		Estável	0	22,7
¹⁵⁵ Sm	62	93	β^-	22,3 m	0	
¹⁵⁶ Sm	62	94	β^-	9,4 h	0	
¹⁵⁷ Sm	62	95	β^-	482 s	0	

O Samário-153 é um radiofármaco com alto poder de ionização [45]. Considerado um radiocomposto, o Samário-153-EDTMP é obtido através do acoplamento de Samário-153 ao EDTMP, um ácido quelante de cálcio. O EDTMP, ácido etileno-amino-tetrametileno fosfônico, é um composto fosfonado disponível comercialmente, que atua como carreador do isótopo radioativo terapêutico, o Samário-153, e apresenta grande afinidade por metástases ósseas. A associação Samário-153-EDTMP permite a formação de um complexo estável, com capacidade de emissão de ondas beta de média energia, proporcionando-lhe propriedades terapêuticas, além de capacidade de emissão de fótons gama, permitindo condições ideais para produção de imagens em gama-câmaras comuns, de forma semelhante às imagens obtidas em mapeamento ósseo com Tecnécio-99-MDP.

Foram elaboradas a produção e a radioquímica que processam ^{153}Sm na forma de SmCl_3 . A atividade específica de ^{153}Sm corresponde a aproximadamente 82 Ci/g (3,1 TBq/g) e 260 Ci/g (9,6 TBq/g) quando usado o isótopo natural e o ^{152}Sm enriquecido, respectivamente. Embora a atividade específica realizável, tendo como alvo o Sm natural, é adequada para aplicações terapêuticas, a contaminação com ^{155}Eu ($T_{1/2}$ 4,9 anos), formado pela ativação de ^{154}Sm (equação 3.1), é um problema grave [45].



Uma amostra que contém aproximadamente 70 mCi (2,59 GBq) de ^{153}Sm , preparado irradiando Sm natural, apresentou 30 μ Ci (1,1 MBq) de ^{155}Eu . Nenhum outro gama emitido por impurezas poderia ser identificado no espectro. Conseqüentemente, uma dose terapêutica de 70 mCi (2,59 GBq) dada a um paciente conterá invariavelmente 30 μ Ci (1,1 MBq) de ^{155}Eu que é no sentido exato uma impureza. O ^{153}Sm preparado poderia ser usado para marcar ligantes de fosfonatos [46].

A disponibilidade de radionuclídeos satisfatórios para terapia com atividade específica apropriada, pureza radionuclídica, pureza radioquímica e pureza de substância química é a exigência primária para a produção de radiofármacos terapêuticos. O fluxo de nêutron disponível no reator influencia a atividade específica, entretanto, esta pode ser aumentada usando alvos enriquecidos. Os

isótopos radioquímicos discutidos, ^{153}Sm e ^{166}Ho , podem ser preparados para terapia dentro de quantidades adequadas com atividades específicas apropriadas que usam fluxo de nêutrons na ordem de 10^{13} a 10^{14} n/cm²s.

2.3.3 – A Utilização do Samário na Medicina

O uso de radiofármacos com samário para terapia de câncer, como paliativo das dores causadas devido à metástase óssea e para o tratamento de artrites reumáticas, tem se intensificado nos últimos anos. Isótopos que decaem pela emissão de partículas β^- são preferidos na maioria destas aplicações.

^{153}Sm ($T_{1/2}$ 47 h) é um radionuclídeo que é extensamente usado para aplicações terapêuticas [59]. ^{152}Sm tem uma captura de nêutrons térmicos com alta seção de choque (204 barn). Conseqüentemente, ^{153}Sm de atividade específica adequada pode ser preparado em reatores de pesquisa. Isto poderia ser usado para terapia paliativa, radiosinovectomia e para anticorpos e peptídeos marcados.

O uso de radioisótopos como terapia sistêmica tornou-se uma idéia muito atrativa pela possibilidade real de tratar todas as lesões de forma simultânea. Em 1942, Pecher et al relataram as primeiras tentativas de uso dos radioisótopos beta emissores no tratamento de metástases ósseas com o cálcio e o estrôncio. Desde então, vários radioisótopos vêm sendo pesquisados e, em 1979, Goeckeler et al descreveram a localização e distribuição óssea do samário-153 e a sua potencialidade como um agente terapêutico para a paliação da dor provocada por metástases ósseas. Atualmente o Estrôncio-89 ($^{89}\text{SrCl}$) [Metastron] e o EDTMP- ^{153}Sm são os dois principais radioisótopos utilizados com esta aplicação clínica e estão aprovados para comercialização em nível internacional. O EDTMP- ^{153}Sm é produzido em reator nuclear, através do bombardeamento de nêutrons em Samário-152 enriquecido. A seguir o mesmo é submetido a quelação pelo ácido etilenodiaminotetrametilenofosfônico (EDTMP- ^{153}Sm).

O adenocarcinoma de próstata é a neoplasia mais freqüente no homem, representando 30% de todos os casos identificados [47, 48]. O tumor raramente é visto antes dos 50 anos de idade, e a incidência aumenta com a idade, de modo que acima dos oitenta anos, mais de 40% dos homens apresentam a doença. A neoplasia de próstata, especialmente em estágios avançados, tem uma elevada

predisposição para produzir metástases nas estruturas ósseas. Mais de 50% dos pacientes afetados com este tipo de neoplasia acabam desenvolvendo metástases ósseas. Os efeitos clínicos das metástases ósseas incluem fraturas patológicas, imobilidade, hipercalcemia, perda da independência e grandes seqüelas emocionais. A dor é o sintoma mais freqüente e representa um importante problema na abordagem clínica destes pacientes. O tratamento da dor óssea por metástases permanece paliativo até o presente momento e pode consistir de analgésicos sistêmicos, agentes antitumorais, hormônios, quimioterapias, esteróides, cirurgia local, anestesia, radioterapia e terapia sistêmica com radioisótopos. Em geral, um único método isoladamente não irá manter o paciente livre dos sintomas por um período longo de tempo, e normalmente uma combinação das modalidades sistêmica e local pode ser requerida. A progressão da doença leva a tratamento prolongado a base de narcóticos, com dosagens crescentes ou uso de forma contínua, acabando por aumentar significativamente os custos de uso destes agentes. Além disso, há uma redução da qualidade e do estilo de vida destes pacientes, que podem apresentar letargia e constipação, como efeitos colaterais. Já a radioterapia, efetiva em lesões isoladas, passa a ser limitante quando há disseminação e surgimento de múltiplos focos de lesões ósseas.

Apresentando meia-vida física de 46,3 horas e biológica de 50,6 dias, o Samário-153-EDTMP é infundido via endovenosa, em doses variáveis de 0,5 a 3,0 mCi/Kg, e logo após sua administração, aproximadamente 50% da dose empregada fixa-se nos ossos, havendo maior afinidade nas regiões ósseas metastáticas, em proporção de concentração, em relação ao tecido ósseo normal, em média de 4,8:1. O restante da dose empregada, quase 50%, apresenta eliminação renal, no período variável de 6 a 8 horas. É interessante ressaltar que a fixação da dose utilizada, em áreas extra-ósseas, não excede 1 a 2% da dose total empregada. A excreção do Samário-153-EDTMP ocorre preferencialmente por via urinária, e em dose emitida que não ultrapassa os limites de radiorresistência dos rins e bexiga.

Os efeitos analgésicos do Samário-153-EDTMP atingem até 60 dias, havendo relatos na literatura mundial de melhora em até 35 semanas. Um possível efeito colateral deve ser monitorizado, e refere-se à possibilidade de ocorrência de toxicidade medular transitória, acometendo qualquer das três séries sangüíneas (levando a anemia e/ou leucopenia e/ou plaquetopenia) de forma variável, com reversão espontânea em até 8 semanas. A terapia analgésica com o

Samário-153-EDTMP apresenta respostas globais amplas (30 a 90%), variando amplamente em função das séries estudadas, com melhora da dor óssea metastática de forma completa ou muito acentuada, em 1/3 dos casos.

Não se sabe ainda o mecanismo completo de alívio da dor no tratamento paliativo com radioisótopos, porém acredita-se que este se deva provavelmente a destruição das seguintes células alvos, com diminuição de seus possíveis mediadores químicos: células tumorais, osteoblastos e osteoclastos, macrófagos e mastócitos, linfócitos, epitélios vasculares e fibras nervosas (em menor proporção, pois são muito radorresistentes).

2.4 – Gadolínio

2.4.1 – A Química do Gadolínio

Gadolínio é um metal de transição interna pertencente ao grupo IIIB, da série dos lantanídeos e tem número atômico 64. Faz parte do grupo das terras raras.

É fortemente magnético em temperatura ambiente, pelo fato de ser o único metal a apresentar propriedade ferromagnética, a exceção dos metais de transição do 4º período da tabela periódica.

A estrutura eletrônica do átomo de gadolínio neutro é $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 4p^6, 4d^{10}, 5p^6, 6s^2, 4f^7$ e $5d^1$.

Os principais compostos do gadolínio são: $GdF_3, GdCl_3, GdBr_3, GdI_3, Gd_2O_3, Gd_2S_3$ e GdN . Em todos eles o gadolínio se encontra com o estado de oxidação 3+, resultado da perda de seus elétrons dos subníveis $5d^1$ e $6s^2$.

2.4.2 – Características Nucleares do Gadolínio

O gadolínio tem a mais elevada seção de captura de nêutrons térmicos conhecida entre os elementos, 49.000 barns, sendo usado na composição das barras de controle em centrais de fissão nuclear.

Tabela 2-8. Isótopos de gadolínio. Modos de decaimento: IT (transição isomérica), ϵ (captura eletrônica), β^+ (emissor de pósitron), α (emissor alfa), p (emissor de prótons) e β^- (emissor de elétrons). Meia-vida física: a (anos), d (dias), h (horas), m (minutos) e s (segundos).

Nuclídeo	Z	N	Modo de decaimento	Meia-vida física	E_x (keV)	Abundância (%)
¹³⁷ Gd	64	73	$\epsilon + \beta^+$	7 s	0	
¹³⁹ Gd	64	75	$\epsilon + \beta^+, \beta^+ p$	4.9 s	0.0	
¹⁴⁰ Gd	64	76	$\epsilon + \beta^+$	15.8 s	0.0	
¹⁴¹ Gd	64	77	$\epsilon + \beta^+, \epsilon p$	14 s	0	
^{141m} Gd	64	77	$\epsilon + \beta^+, IT$	24.5 s	377.8	
¹⁴² Gd	64	78	$\epsilon + \beta^+$	70.2 s	0	
¹⁴³ Gd	64	79	$\epsilon + \beta^+, \epsilon p$	39 s	0	
^{143m} Gd	64	79	$\epsilon + \beta^+$	112 s	152.6	
¹⁴⁴ Gd	64	80	$\epsilon + \beta^+$	4.5 m	0	
¹⁴⁵ Gd	64	81	$\epsilon + \beta^+$	23.0 m	0	
^{145m} Gd	64	81	IT, $\epsilon + \beta^+$	85 s	748.7	
¹⁴⁶ Gd	64	82	ϵ	48.27 d	0	
¹⁴⁷ Gd	64	83	$\epsilon + \beta^+$	38.06 h	0	
¹⁴⁸ Gd	64	84	α	74.6 a	0	
¹⁴⁹ Gd	64	85	$\epsilon + \beta^+, \alpha$	9.28 d	0	
¹⁵⁰ Gd	64	86	α	1.79 E6 a	0	
¹⁵¹ Gd	64	87	ϵ, α	124 d	0	
¹⁵² Gd	64	88	α	1.08 E14 a	0	0.20
¹⁵³ Gd	64	89	ϵ	240.4 d	0	
¹⁵⁴ Gd	64	90		estável	0	2.18
¹⁵⁵ Gd	64	91		estável	0	14.80
^{155m} Gd	64	91	IT	31.97 ms	121.05	
¹⁵⁶ Gd	64	92		estável	0	20.47
¹⁵⁷ Gd	64	93		estável	0	15.65
¹⁵⁸ Gd	64	94		estável	0	24.84
¹⁵⁹ Gd	64	95	β^-	18.479 h	0	
¹⁶⁰ Gd	64	96		estável	0	21.86
¹⁶¹ Gd	64	97	β^-	3.66 m	0	
¹⁶² Gd	64	98	β^-	8.4 m	0	
¹⁶³ Gd	64	99	β^-	68 s	0	
¹⁶⁴ Gd	64	100	β^-	45 s	0	

Vários radioisótopos tem sido caracterizados, sendo os mais estáveis, conforme tabela 4-1, o ¹⁶⁰Gd com uma meia-vida de $1,3 \cdot 10^{21}$ anos, o ¹⁵²Gd com uma meia-vida de $1,08 \cdot 10^{14}$ anos e o ¹⁵⁰Gd com uma meia-vida de $1,79 \cdot 10^6$ anos. Todos os demais isótopos radioativos apresentam meias-vidas abaixo de 74,7 anos, e a maioria destes com meias-vidas abaixo de 24,6 segundos. Este elemento tem 4 metaestáveis, sendo ^{141m}Gd ($t_{1/2}$ 24,5 s), ^{143m}Gd ($t_{1/2}$ 110 s), ^{145m}Gd ($t_{1/2}$ 85 s) e o ^{155m}Gd ($t_{1/2}$ 31,97 ms).

O primeiro modo de decaimento antes do isótopo mais estável, ^{158}Gd , é a captura eletrônica, e o primeiro modo após é a emissão beta menos. Os primeiros produtos de decaimento antes do ^{158}Gd são os isótopos do elemento Eu (Európio) e os primeiros produtos após são os isótopos do elemento Tb (térbio) [44].

O gadolínio nunca é encontrado livre na natureza, porém compõem diversos minerais como a gadolinita, monazita e bastnasita. É preparado, atualmente, por técnicas como troca iônica e extração de solvente, ou por redução de seu fluoreto anidro com cálcio metálico. Depois de purificado, o gadolínio obtido, isótopo mais abundante ^{158}Gd , é enriquecido em reatores nucleares por captura de nêutron gerando o radioisótopo ^{159}Gd , segundo a equação nuclear 4.1.



2.4.3 – O Uso do gadolínio na Medicina

Diversos artigos científicos têm mencionado o uso do gadolínio:

- i. como agente de contraste na obtenção de imagens angiográficas em casos como hemorragia na aorta. O nuclídeo intensifica a imagem tridimensional por RMN [49];
- ii. intensificador de imagens de hepatocélulas carcinomas em pacientes cirróticos por RMN [50];
- iii. como potencial agente de contraste em RMN quelado pela DOTA [51];
- iv. como agente de contraste em RMN para diagnósticos de tumores ovarianos [52];
- v. a alta relaxividade do Gd III e alta seletividade frente a células hepáticas [53];
- vi. intensificador de imagem por RMN de meningiomas em sinus cavernoso [54];
- vii. em aerosol marcando o DTPA para imagem RMN de obstruções pulmonares e embolia pulmonar [55];
- viii. para obtenção de imagem por RMN de intensificação de esclerose múltipla Gd-DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético) [56];

2.5 – Hólmio

2.5.1 – A Química do Hólmio

Hólmio é um metal de transição interna pertencente ao grupo IIIB, da série dos lantanídeos e tem número atômico 67. Faz parte do grupo das terras raras. É usado como gerador de campos magnéticos, em reatores nucleares e na produção de laser. Possui o mais elevado momento magnético (10,6 μB) de todos os elementos naturais. O hólmio absorve nêutrons de fissão nuclear, sendo usado para controlar e moderar as reações nos reatores nucleares.

A estrutura eletrônica do átomo de hólmio neutro é $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 4p^6, 4d^{10}, 5p^6, 6s^2, 4f^{11}$.

O principal composto do hólmio é o Ho_2O_3 em que seu estado de oxidação é 3+, resultado da perda de seus elétrons dos subníveis $6s^2$ e um elétron do subnível $4f^{11}$.

2.5.2 – O Uso do Hólmio na Medicina

São raras as publicações científicas que abordam trabalhos de pesquisa que tenham como assunto central o uso de ^{166}Ho . Aqui, algumas são citadas:

- i. ^{166}Ho -DOTMP (1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetrametilenofosfonato) usado para estimativa de dose radiação absorvida para radioterapia de esqueleto [57, 58];
- ii. tratamento de pacientes com mieloma múltiplo usando altas doses de ^{166}Ho -DOTMP [59];
- iii. ^{166}Ho , emissor de radiações 1,8 MeV e raios de 81 KeV (6%), usado para palição de dor óssea e para a preparação de agentes de radiosinovectomia [39-45, 60];
- iv. ^{166}Ho pode ser considerado como um radionuclídeo potencial para terapia de radiação intravascular (IVRT). O uso de ^{166}Ho -ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA) como possível agente para IVRT para a prevenção de restenosis [61].

2.5.3 – Características Nucleares do Hólmio

¹⁶⁶Hólmio apresenta características de decaimento favoráveis. Com meia-vida de 26,8 horas, energias de partícula beta de 1,85 MeV (51%) e 1,77 MeV (48%), fótons gama de 80,6 keV (6.6%) e 1,38 MeV (0,9%) tem disponibilidade com uma atividade específica de 3,7 a 4,4 GBq/mg de um reator de fluxo moderado.

Tabela 2-9. Isótopos do hólmio. Modos de decaimento: IT (transição isomérica), ϵ (captura eletrônica), β^+ (emissor de pósitron), α (emissor alfa), p (emissor de prótons) e β^- (emissor de elétrons). Meia-vida física: a (anos), d (dias), h (horas), m (minutos) e s (segundos) [44].

Nuclídeo	Z	N	Modo de decaimento	Meia-vida	E (keV)	Abundância (%)
^{148m2} Ho	67	81	IT	2,35 ms	694,4	
^{149m} Ho	67	82	$\epsilon+\beta^+$	56 s	48,8	
^{150m} Ho	67	83	$\epsilon+\beta^+$	23,3 s	80E+1	
¹⁵¹ Ho	67	84	$\epsilon+\beta^+$, α	35,2 s	0	
^{151m} Ho	67	84	α , $\epsilon+\beta^+$	47,2 s	41,0	
¹⁵² Ho	67	85	α , $\epsilon+\beta^+$	161,8 s	0	
^{152m} Ho	67	85	α , $\epsilon+\beta^+$	50,0 s	160	
¹⁵³ Ho	67	86	$\epsilon+\beta^+$, α	2,01 m	0	
^{153m} Ho	67	86	$\epsilon+\beta^+$, α	9,3 m	68,7	
¹⁵⁴ Ho	67	87	$\epsilon+\beta^+$, α	11,76 m	0	
^{154m} Ho	67	87	$\epsilon+\beta^+$, α	3,10 m	3,2E	
¹⁵⁵ Ho	67	88	$\epsilon+\beta^+$	48 m	0	
¹⁵⁶ Ho	67	89	$\epsilon+\beta^+$	56 m	0	
^{156m} Ho	67	89	IT, $\epsilon+\beta^+$	9,5 s	52,2	
¹⁵⁷ Ho	67	90	$\epsilon+\beta^+$	12,6 m	0	
¹⁵⁸ Ho	67	91	$\epsilon+\beta^+$	11,3 m	0	
^{158m} Ho	67	91	$\epsilon+\beta^+$, IT	28 m	67,2	
^{158m2} Ho	67	91	$\epsilon+\beta^+$, IT	21,3 m	180	
¹⁵⁹ Ho	67	92	$\epsilon+\beta^+$	33,05 m	0	
^{159m} Ho	67	92	IT	8,30 s	205,91	
¹⁶⁰ Ho	67	93	$\epsilon+\beta^+$	25,6 m	0	
^{160m} Ho	67	93	IT, $\epsilon+\beta^+$	5,02 h	59,98	
^{160m2} Ho	67	93	IT	3 s	169,6	
¹⁶¹ Ho	67	94	ϵ	2,48 h	0	
^{161m} Ho	67	94	IT	6,76 s	211,14	
¹⁶² Ho	67	95	$\epsilon+\beta^+$	15,0 m	0	
^{162m} Ho	67	95	IT, $\epsilon+\beta^+$	67,0 m	106	
¹⁶³ Ho	67	96	ϵ	4570 a	0	
^{163m} Ho	67	96	IT	1,09 s	297,88	
¹⁶⁴ Ho	67	97	ϵ , β^-	29 m	0	
^{164m} Ho	67	97	IT	37,5 m	140	
¹⁶⁵ Ho	67	98		Estável	0	100
¹⁶⁶ Ho	67	99	β^-	26,83 h	1850	
^{166m} Ho	67	99	β^-	1,20E3 a	5,985	
¹⁶⁷ Ho	67	100	β^-	3,1 h	0	
¹⁶⁸ Ho	67	101	β^-	2,99 m	0	
^{168m} Ho	67	101	IT, β^-	132 s	59	
^{170m} Ho	67	103	β^-	43 s	120	

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

A sistemática das sínteses do 5-tio-D-glicose com cada nuclídeo separadamente não requer uma metodologia experimental laboriosa como é de praxe em sínteses de fármacos. Isto é facilmente comprovado pela funcionalidade de obtenção de radiofármacos usando o gerador de ^{99m}Tc .

O eluato oriundo da coluna de alumina incorporada de ^{99}Mo é sugado pelo vácuo de um recipiente colocado na porta de saída do gerador. Este frasco evacuado contém agentes quelantes liofilizados de interesse dependendo de cada caso clínico. O simples contato entre o eluato, que contém o pertecnetato com ^{99m}Tc , é necessário para a reação de complexação entre o agente quelante de interesse com o ^{99m}Tc , sendo necessário, dependendo do radiofármaco almejado, a adição de substâncias redutoras, como o íon estanoso, e aditivos antioxidantes, juntamente ao agente quelante que possui uma bioafinidade com o tecido ou órgão alvo do radiofármaco.

Com base neste prelúdio e com as aplicações clínicas de cada um dos nuclídeos em questão para obtenção de imagens médicas pretende-se ratificar as sínteses do açúcar citado, separadamente, com o tecnécio (sob a forma química de ^{99}Tc), samário, gadolínio e hólmio estáveis.

É de suma importância ressaltar que todas as tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com estes nuclídeos ocorreram com os mesmos no seu estado fundamental de energia nuclear, ou seja, com os nuclídeos não radioativos. Baseia-se que o comportamento químico dos nuclídeos estáveis e radioativos, frente às reações de complexação com o açúcar, se assemelha uma vez que envolve apenas ligações covalentes coordenadas de nível eletrônico. Portanto, visando precaver de exposições desnecessárias e cuidados de radioproteção, tanto as sínteses quanto suas caracterizações a serem mencionadas ocorreram entre o monossacarídeo e um nuclídeo estável por vez. Espera-se que todos os dados obtidos de análises cromatográficas e espectrométricas sejam idênticos àqueles que seriam obtidos quando se fizer uso dos nuclídeos radioativos.

Para se confirmar as marcações do 5-tio-D-glicose com estes nuclídeos fez-se uso de técnicas analíticas, a saber, análise cromatográfica por CLAE, análise de espectrometria eletrônica na região do ultravioleta e visível, análises de espectrometria vibracional na região do infravermelho, cálculos de fator de retenção

em análise cromatográfica em camada delgada e medições de pH, antes e após às tentativas de marcação.

Justifica-se a técnica por CLAE baseando-se que a marcação seria bem sucedida pelo aparecimento de um novo pico no cromatograma que representasse o complexo entre o açúcar e o nuclídeo em questão tão almejado. Fez-se a eluição numa coluna de amino, que apresentou uma boa resposta quanto à interação de sua fase estacionária com açúcares. Deparou-se inicialmente com a dificuldade de se encontrar a fase móvel, ou eluente, que se demonstrasse ideal para a eluição do açúcar livre e da sua versão marcada pelo nuclídeo, chegando-se, após algumas tentativas, ao eluente formado pela mistura acetonitrila/água 3:1. Conhecendo-se as fases estacionária e móvel necessárias para as análises, eluiu-se então, por exemplo, um padrão puro como o ^{99}Tc e obteve-se seu cromatograma correspondente no qual via-se o pico característico que reportava seu tempo de retenção (TR) na coluna cromatográfica bem como a sua concentração. Em seguida, após a devida limpeza da coluna pelo próprio aparelho, eluiu-se a mistura contendo o suposto produto da marcação do açúcar com o ^{99}Tc e, também, obteve-se seu cromatograma. Por comparação, observou-se primeiro a diminuição do pico referente ao padrão puro e o aparecimento de um novo pico caracterizando o produto marcado. Todos os cromatogramas com seus valores de TR estão expostos e interpretados nos próximos capítulos.

O uso da técnica de espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível é apoiado em efeitos de aparecimento de bandas de absorção desta radiação, tanto pelo nuclídeo puro (padrão) quanto pelo nuclídeo marcando o açúcar. A teoria de orbitais moleculares ressalta a ocorrência de deslocamento de comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) de um composto quando este sofre efeitos de interação com outros grupos ou átomos pelo preenchimento parcial de seus orbitais atômicos em ligações covalentes coordenadas em que os elétrons não-ligantes do átomo de enxofre ocupam aqueles orbitais eletrônicos vazios do tipo d ou f, dependendo do nuclídeo ligante. O efeito de deslocamento do comprimento de onda máximo para um valor maior que o do nuclídeo puro é denominado pela literatura como deslocamento Batocrômico. Os espectrogramas de cada nuclídeo puro e das marcações serão discutidos em seus respectivos capítulos.

Com a técnica de análise dos compostos por espectrometria vibracional na região do infravermelho pretendeu-se obter os espectrogramas apresentando os

picos característicos das vibrações das ligações não somente do açúcar, mas também da ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o nuclídeo, fato que ratificaria a complexação.

Uma técnica rápida e consistente que também caracterizaria a obtenção dos complexos é a análise por cromatografia em camada delgada. Usando-se como suporte placas de vidro de 10 x 10 cm de dimensão as quais adsorveu-se sílica G. Aplicou-se às suas bases, respectivamente, o padrão puro e suas três tentativas de marcação. Novamente, foram feitas várias tentativas para se conhecer qual seria o eluente ideal que desse uma boa resolução de análise para cada tipo de nuclídeo. Após a eluição, os cromatogramas revelados em vapor de iodo ressublimado foram documentados por fotos digitais. Os valores de fator de retenção foram calculados, comparados e interpretados.

3.1 – REAGENTES

Para as marcações foram preparadas soluções de 5-tio-D-glicose (Sigma-Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) na concentração 10^{-2} M, soluções de cloreto estanoso biidratado (Synth, Brasil) na concentração 10^{-2} M, soluções de tecnécio-99 estável (gerador de molibdênio, IPEN, Brasil) na concentração 10^{-8} M, soluções de cloreto de samário (III) hexaidratado (Sigma-Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) na concentração 10^{-2} M, soluções de cloreto de gadolínio (III) hexaidratado (Sigma-Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) na concentração 10^{-2} M e soluções de óxido de hólmio (III) (Sigma-Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) na concentração 10^{-2} M.

3.2 – MÉTODO DE MARCAÇÃO

3.2.1 - Tecnécio

Foram feitas três tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com tecnécio, referidas como Tc1, Tc2 e Tc3, dissolvendo-se o monossacarídeo para 1 mL de soro fisiológico (NaCl 0,9 %) num béquer de 10 mL. Adicionou-se cloreto estanoso

biidratado e, em seguida, 1 mL de solução de pertecnetato de sódio. A atividade medida do ^{99m}Tc , como NaTcO_4 , 6 horas antes de sua manipulação, era 9,62 Gbq (26 mCi). No entanto, as marcações foram realizadas com o nuclídeo em seu estado estável, ^{99}Tc . A estequiometria destas marcações está expressa na tabela 3-1.

Tabela 3-1. Estequiometria das marcações com Tc.

Soluções	5-tio-D-glicose 196 g/mol	NaTcO_4 186 g/mol	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 118,7 g/mol
Tc padrão	-	$5,25 \times 10^{-8}$ M	-
Tc1	$4,08 \times 10^{-2}$ M	$8,90 \times 10^{-8}$ M	$7,0 \times 10^{-2}$ M
Tc2	$2,55 \times 10^{-2}$ M	$5,25 \times 10^{-8}$ M	$2,1 \times 10^{-2}$ M
Tc3	$1,28 \times 10^{-2}$ M	$5,25 \times 10^{-8}$ M	$6,5 \times 10^{-2}$ M

3.2.2 - Samário

Foram feitas três tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com samário, referidas como Sm1, Sm2 e Sm3, dissolvendo-se o monossacarídeo e sal de samário para 1 mL de soro fisiológico (NaCl 0,9 %) num béquer de 10 mL. A estequiometria destas marcações está expressa na tabela 3-2.

Tabela 3-2. Estequiometria das tentativas de marcação.

Soluções	5-tio-D-glicose 196 g/mol	$\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 364,8 g/mol
Sm padrão	-	$9,9 \times 10^{-2}$ M
Sm1	$2,6 \times 10^{-2}$ M	$7,7 \times 10^{-2}$ M
Sm2	$2,6 \times 10^{-2}$ M	$1,9 \times 10^{-1}$ M
Sm3	$3,6 \times 10^{-2}$ M	$3,8 \times 10^{-2}$ M

3.2.3 - Gadolínio

Foram feitas três tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com gadolínio, referidas como Gd1, Gd2 e Gd3, dissolvendo-se o monossacarídeo e sal de gadolínio para 1 mL de soro fisiológico (NaCl 0,9 %) num béquer de 10 mL. A estequiometria destas marcações está expressa na tabela 3-3.

Tabela 3-3. Estequiometria das tentativas de marcação.

Soluções	5-tio-D-glicose 196 g/mol	GdCl₃.6H₂O 371,7 g/mol
Gd padrão	-	8,1 x 10 ⁻² M
Gd1	7,7 x 10 ⁻² M	4,0 x 10 ⁻² M
Gd2	1,0 x 10 ⁻¹ M	2,7 x 10 ⁻² M
Gd3	5,1 x 10 ⁻² M	5,4 x 10 ⁻² M

3.2.4 - Hólmio

Foram feitas duas tentativas de marcação do 5-tio-D-glicose com hólmio, referidas como Ho2 e Ho3, dissolvendo-se o óxido de hólmio (III) em 1,5 mL de solução de HCl 1 M num béquer de 10 mL e, a esta, uma certa quantidade de 5-tio-D-glicose.

A estequiometria destas marcações está expressa na tabela 3-4.

Tabela 3-4. Estequiometria das tentativas de marcação.

Soluções	5-tio-D-glicose 196 g/mol	Ho₂O₃ 337,9 g/mol
Ho (padrão)	-	5,9 x 10 ⁻² M
Ho2	5,6 x 10 ⁻² M	2,1 x 10 ⁻² M
Ho3	4,6 x 10 ⁻² M	6,8 x 10 ⁻² M

3.3 – TÉCNICAS DE ANÁLISE

3.3.1 - Cromatografia em camada delgada

Foram realizadas análises de cromatografia em camada delgada em placas de vidro de dimensões 10 x 10 cm, adsorvidas com sílica F de 0,50 mm de espessura de adsorvente. Para cada nuclídeo separadamente, aplicou-se à placa, com uso de tudo capilar, a solução de 5-tio-D-glicose, a solução padrão do nuclídeo e as suas três tentativas de marcação. As placas foram eluídas com 50 mL de solução salina de NaCl 0,9% (Fig. 3-1). Os cromatogramas foram revelados em vapor de iodo ressublimado.



Figura 3-1. Análises cromatográficas em camada delgada com placas de vidro 10 x 10 cm, com adsorvente de sílica F e revelador de vapor de iodo ressublimado.

3.3.2 - Espectrometria Eletrônica no Ultravioleta e Visível

Analisou-se a solução de 5-tio-D-glicose, a solução padrão do nuclídeo e as suas três tentativas de marcação colocando-se 1 mL destas soluções em cubetas de quartzo num espectrofotômetro UVPC Personal Spectroscopy (Shimadzu Scientific Instruments, Inc.) de feixe duplo, com detector de fotodiodo para leituras na região do ultravioleta e visível, no intervalo de 190 a 900 nm. O comprimento de onda de corte no ultravioleta para a água corresponde a 190 nm. Abaixo deste valor o solvente absorve fortemente. Acima, torna-se transparente nesta região de absorção [62].

3.3.3 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Foram realizadas análises de cromatografia líquida de alta eficiência num cromatógrafo marca Shimadzu modelo LC 10 AD, com detector de ultravioleta-visível (Fig. 3-2).



Figura 3-2. Equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência. Shimadzu modelo LC 10 AD.

Antes de se realizar as análises, necessitou-se da remoção de gases da mistura do eluente acetonitrila/água, na proporção 3:1, para se evitar interferentes nos resultados via ultravioleta. Para tal, usou-se um aparelho de ultra-som duração de 15 minutos, sob vácuo.

Injetou-se, separadamente, 20 μ L de solução padrão do nuclídeo e suas marcações. Usou-se uma coluna de aminopropil sílica de 20 cm. Para as leituras usou-se o canal correspondente ao comprimento de onda de máxima absorção para cada nuclídeo.

O cromatógrafo utilizado nestas análises possui um detector de UV-vis. Assim, antes de cada eluição, foi necessária a medida do comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) para cada padrão dos nuclídeos por este detector.

3.3.4 - Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

As análises de espectroscopia de infravermelho foram realizadas no Laboratório de Ensaio de Combustíveis do departamento de química da UFMG.

Foram realizadas análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho num aparelho ABB BOMEM MB series Mid IR, de resolução 4 cm^{-1} , adicionando-se 1 mL de cada solução em células de diamante. Analisou-se, separadamente, a solução de 5-tio-D-glicose, a solução padrão de cada nuclídeo e as suas marcações.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – 5-TIO-D-GLICOSE

4.1.1 – Análise do 5-tio-D-glicose por Espectroscopia no Ultravioleta-Visível

Analisando-se em um espectrofotômetro UVPC Personal Spectroscopy, o 5-tio-D-glicose apresentou comprimento de onda máximo em 209 nm (absorvância 2,901), como pode ser visto na figura 4-1. Este resultado será usado como referência para se comparar o deslocamento do comprimento de onda máximo dos produtos de marcação que serão apresentados nos respectivos itens para cada nuclídeo.

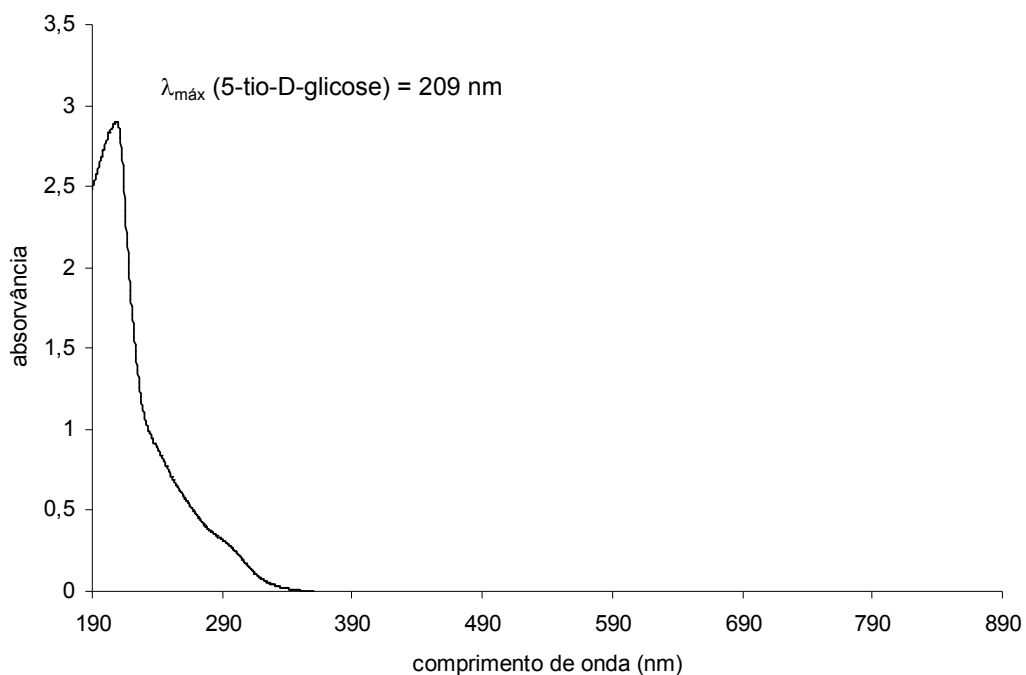


Figura 4-1. Espectrograma de UV-vis do 5-tio-D-glicose puro analisado em um espectrofotômetro UVPC Personal Spectroscopy (Shimadzu Scientific Instruments, Inc.)

4.1.2 – Análise por Cromatografia Líquida de Alta eficiência do 5-tio-D-glicose

Antes de se analisar o 5-tio-D-glicose por CLAE, fez-se uma varredura por espectroscopia de UV-vis usando o próprio detector do cromatógrafo Shimadzu modelo LC 10 AD para se determinar o comprimento de onda máximo do açúcar.

Como se pode perceber pelo espectrograma da figura 4-2, o comprimento de onda máximo do 5-tio-D-glicose, segundo este detector, corresponde a 197 nm. Nas análises dos produtos de marcação dos nucléos com o monossacarídeo por CLAE, usou-se o canal 197 nm para a percepção da presença do monossacarídeo não complexado, visando uma análise quantitativa, ainda que aproximada, do rendimento de marcação.

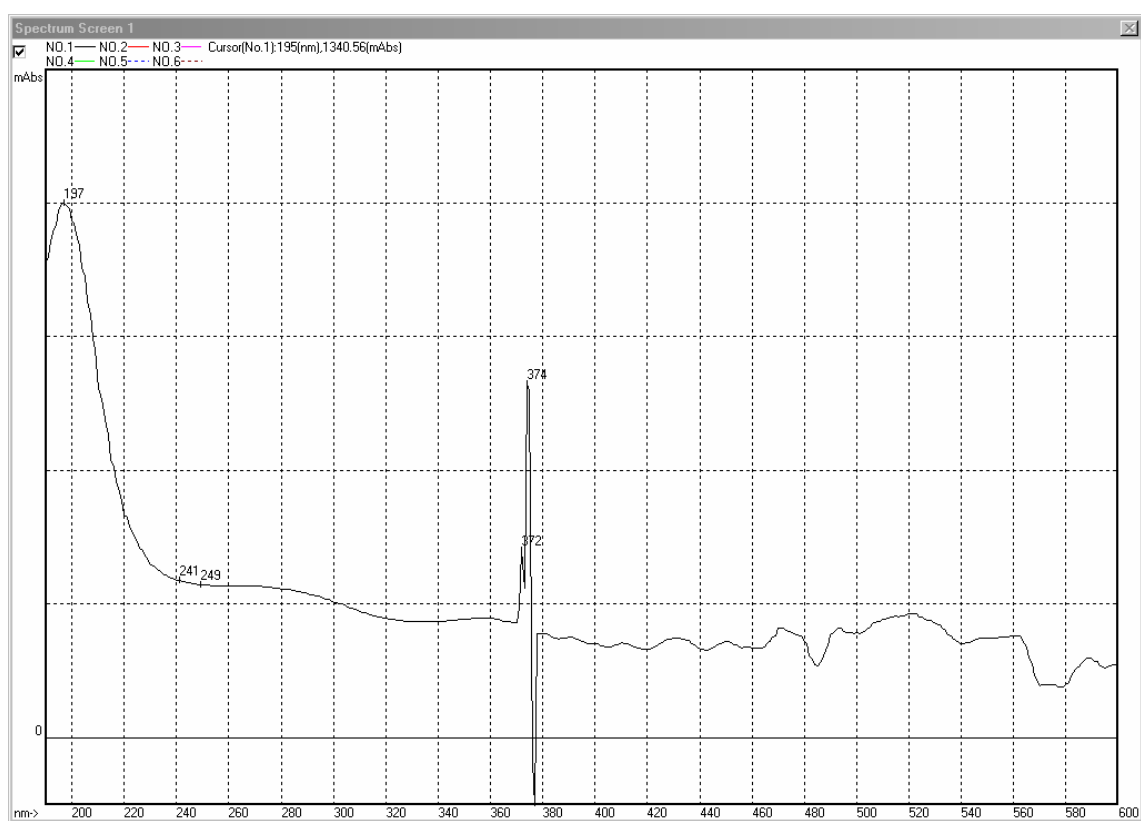


Figura 4-2. Espectrograma de UV-vis do 5-tio-D-glicose puro, segundo o detector UV-vis do cromatógrafo Shimadzu LC 10 AD.

Conforme observado no cromatograma da figura 4-3, o 5-tio-D-glicose apresentou três picos de tempo de retenção. Seus valores são mostrados na tabela 4-1.

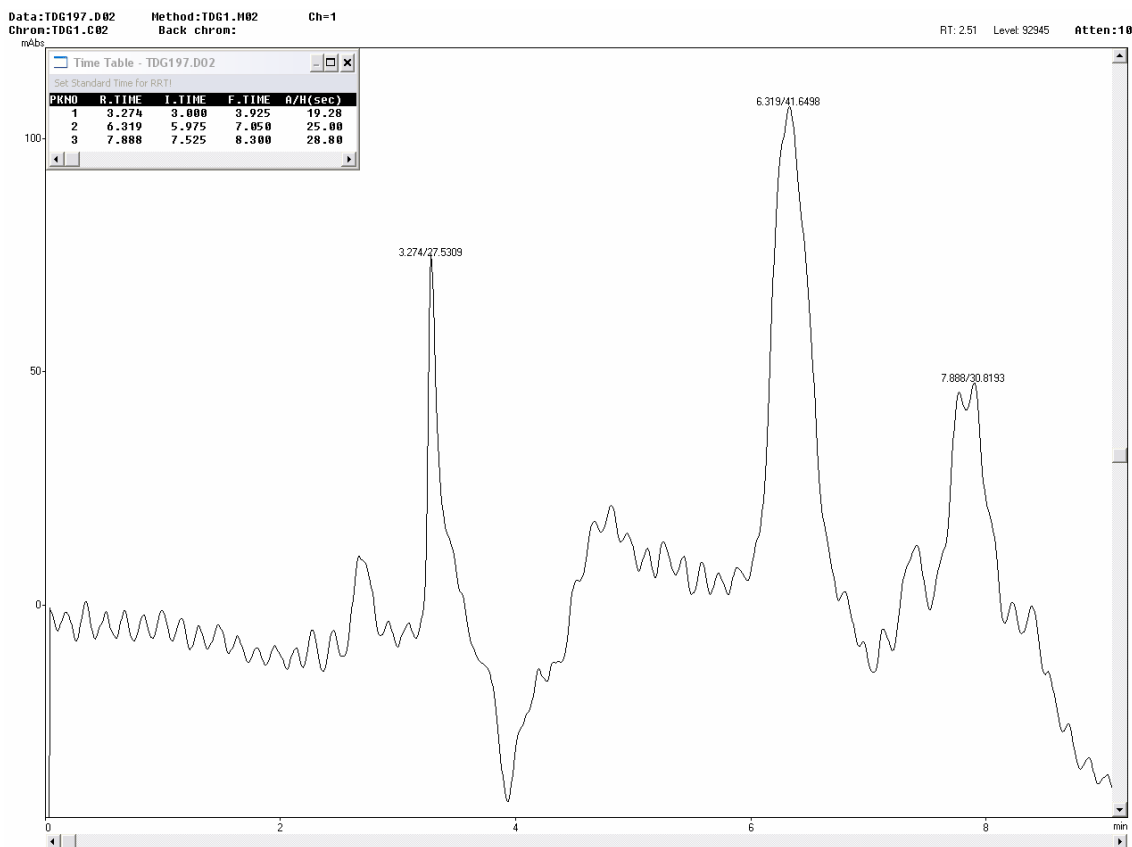


Figura 4-3. Cromatograma de CLAE do 5-tio-D-glicose a 197 nm.

Quando marcado, o 5-tio-D-glicose possibilita o aparecimento de novo pico que não estes correspondentes ao monossacarídeo puro, certamente aumentando seu tempo de retenção devido à formação da ligação coordenada do átomo de enxofre ao metal.

Tabela 4-1. Valores de tempo de retenção (TR), no canal 197 nm, para os picos presentes no cromatograma do 5-TDG não marcado.

Eluente	Canal (nm)	Pico	TR (min)	Contribuição dos picos (%)
Acetonitrila/ água 3:1	197	Tr1	3,274	27,5
		Tr2	6,319	41,7
		Tr3	7,888	30,8

4.1.3 – Análise do 5-tio-D-glicose por Espectroscopia no Infravermelho

A figura 4-4 apresenta o espectro de infravermelho do 5-tio-D-glicose e seus principais picos de absorção. A tabela 4-2 apresenta as principais frequências de absorção de radiação IV, experimental e teórica, para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose, bem como o modo vibracional das ligações interatômicas.

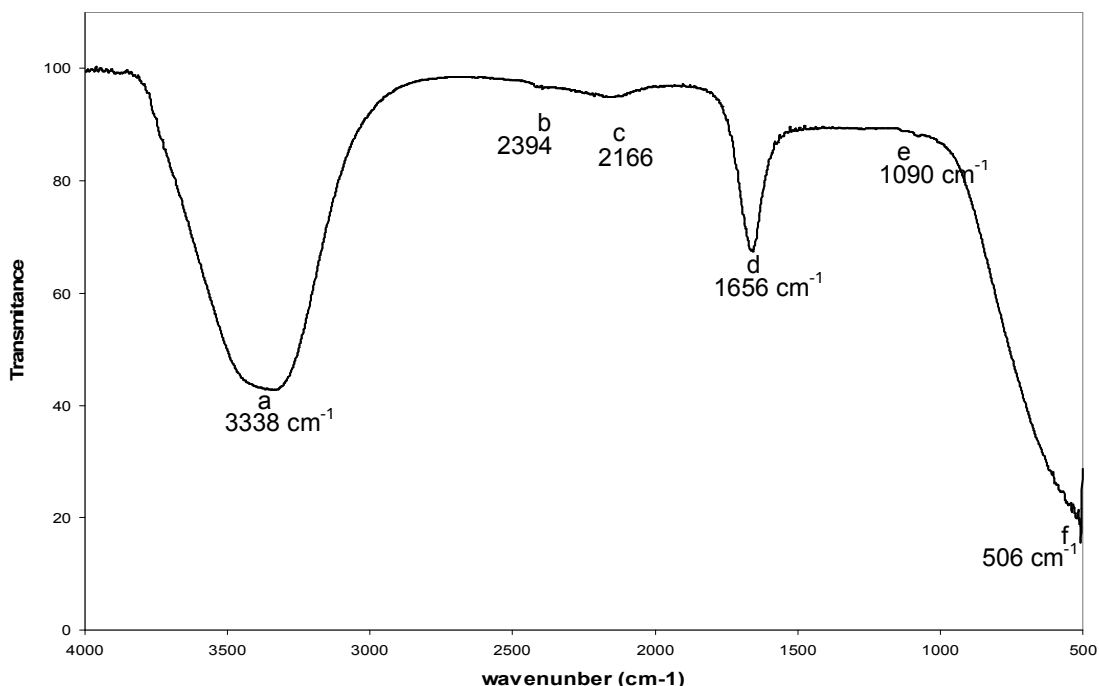


Figura 4-4. Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose não-marcado.

Tabela 4-2. Principais frequências de absorção de radiação infravermelha para 5-tio-D-glicose. Os valores de frequência entre parênteses são valores de referência literários [63].

Pico	Grupo	Frequência (cm ⁻¹)	Modo vibracional	Observações
a	R-CH ₂ -OH	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
a	(R) ₂ CH-OH	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
b	R'-CH ₂ -R''	2394 (2843-2863)	Estiramento simétrico	
b	(R) ₃ CH	2394 (2880-2900)	Estiramento	
c		2166		
d	CH	1656	Deformação	
e	R-CH ₂ -OH	1090 (1000-1075)	Estiramento	Álcool primário
e	(R) ₂ CH-OH	1090 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
e	C-S-C	1090 (1090-1110)	Estiramento	Éter no anel de 6 átomos
f		506	assimétrico	

4.2 – TECNÉCIO

4.2.1 – Análise por Cromatografia em Camada Delgada do 5-tio-D-glicose com Tecnécio

De acordo com o cromatograma na figura 4-5, nota-se o aparecimento da mancha “a”, cujo RF médio correspondeu a 0,25. Acredita-se que tal mancha esteja associada ao produto da complexação ^{99}Tc -5-tio-D-glicose, ratificando o sucesso das marcações. Todos os valores de RF estão apresentados na tabela 4-3.

Observa-se ainda que o 5-tio-D-glicose (mancha “b”) também pode ser visto nas marcações. Provavelmente, devido ao excesso quantitativo proporcional ao necessário para a complexação com o nuclídeo ^{99}Tc .

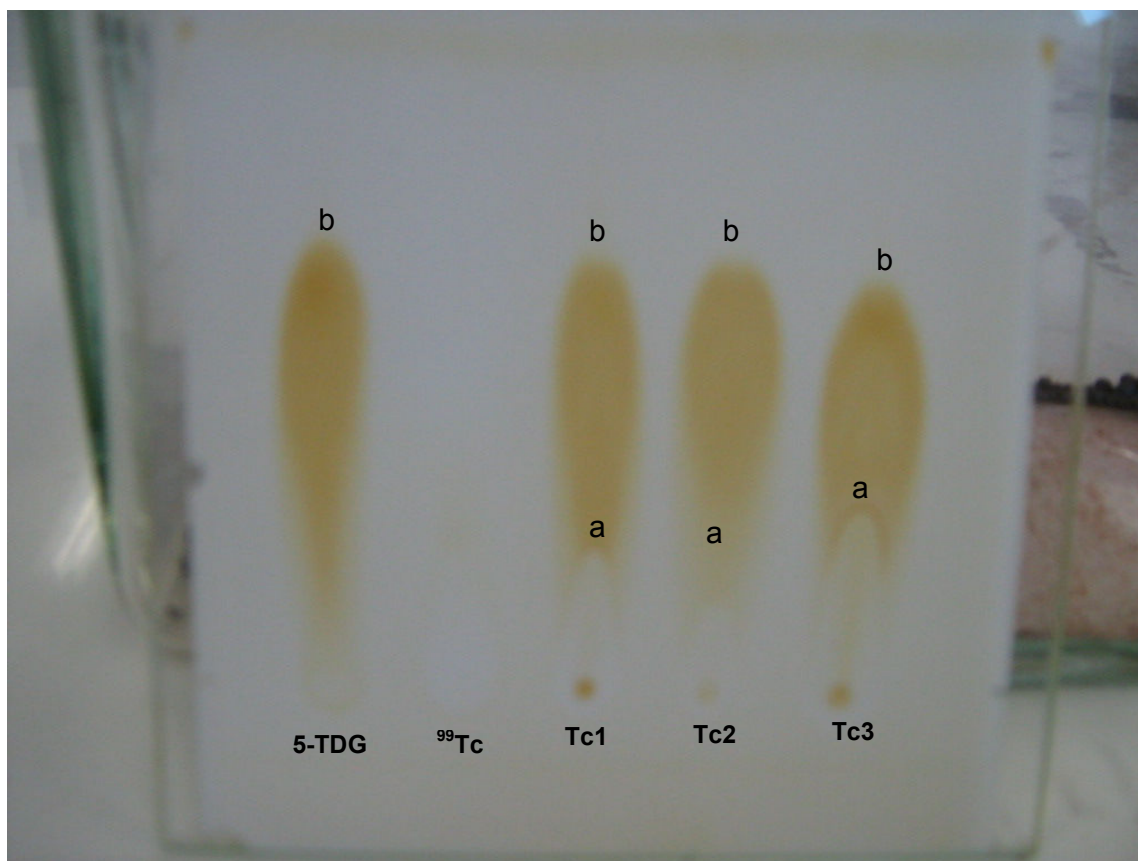


Figura 4-5. Cromatograma das marcações do 5-tio-D-glicose com tecnécio. Na ordem: 5-tio-D-glicose, tecnécio padrão, como ^{99}Tc , marcação Tc1, Tc2 e Tc3.

Tabela 4-3. Resultados dos fatores de retenção (Rf) para 5-TDG, para o padrão ^{99}Tc e suas marcações.

Fatores de Retenção (RF)						
Mancha	5-TDG	^{99}Tc	Tc1	Tc2	Tc3	RF médio das marcações
a	-	-	0,23	0,14	0,30	0,25
b	0,67	-	0,64	0,66	0,64	0,65

4.2.2 – Análise Espectroscópica no UV-vis do 5-tio-D-glicose com Tecnécio

A figura 4-6 apresenta a sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose, o padrão tecnécio e suas marcações.

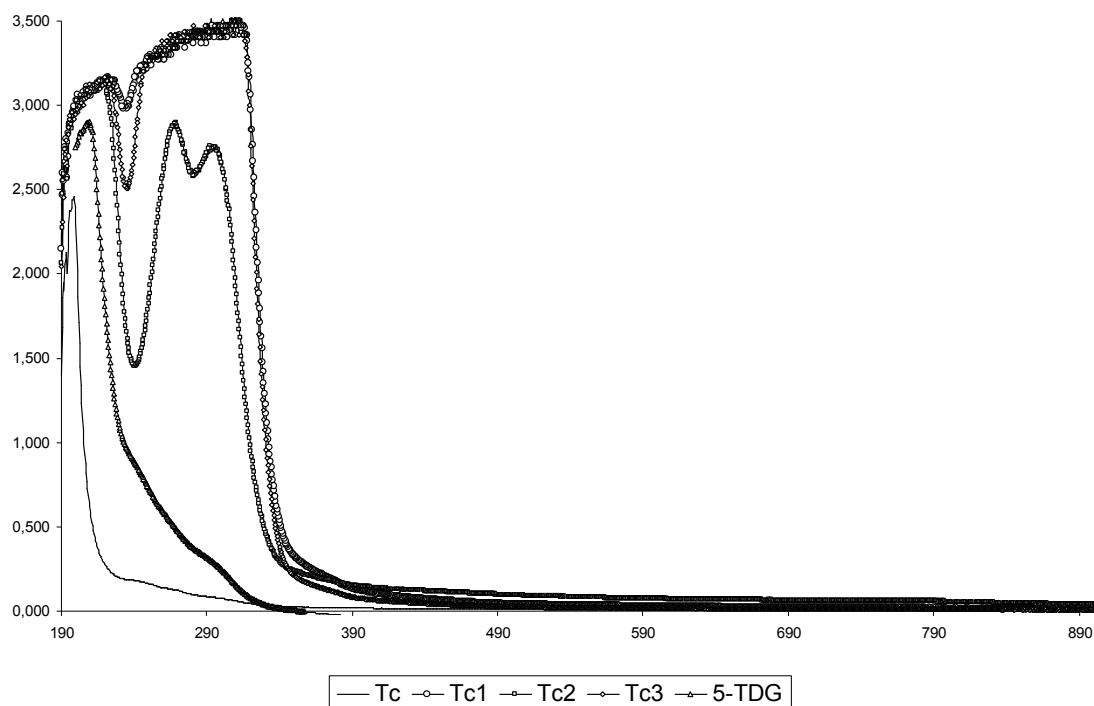


Figura 4-6. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-tio-D-glicose, tecnécio padrão e suas marcações.

Os valores de comprimento de onda máximos foram extraídos do gráfico da figura 4-6 estão dispostos na tabela 4-4 para serem analisados.

Tabela 4-4. Valores de comprimento de onda e absorvância do 5-TDG, ⁹⁹Tc e marcações.

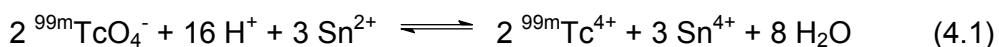
Padrões e produtos marcados									
5-TDG		Padrão ⁹⁹Tc		Tc1		Tc2		Tc3	
[5-TDG] = 2,55x10 ⁻²		[⁹⁹ Tc] = 5,25x10 ⁻⁸		[⁹⁹ Tc] = 8,90x10 ⁻⁸		[⁹⁹ Tc] = 5,25x10 ⁻⁸		[⁹⁹ Tc] = 5,25x10 ⁻⁸	
[5-TDG] = 2,55x10 ⁻²		[5-TDG] = 4,08x10 ⁻²		[5-TDG] = 2,55x10 ⁻²		[5-TDG] = 2,55x10 ⁻²		[5-TDG] = 1,28x10 ⁻²	
$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	A
209,0	2,8983	198,5	2,4623	222,5	3,1639	218,5	3,1356	220,0	3,1639
				271,0	3,4188	269,0	2,8983	268,5	3,4188
				306,5	3,5166	295,0	2,7520	293,0	3,5166

Percebe-se, pela análise dos dados da tabela 4-4, o deslocamento do comprimento de onda do padrão ⁹⁹Tc (198,5 nm). As marcações Tc1, Tc2 e Tc3 apresentaram, individualmente, três comprimentos de onda máximo em 220, 270 e 300 nm aproximadamente.

Destas observações, pressupõe-se que as aproximações dos orbitais atômicos dos átomos de enxofre no ligante 5-tio-D-glicose não ocorram orientadas pelos eixos cartesianos (o que levaria a um aumento da energia de repulsão e, conseqüentemente, a uma diminuição do comprimento de onda), mas sim pelas bissetrizes dos eixos, onde esta energia repulsiva é menor, acarretando num deslocamento do comprimento de onda mais alto, o denominado deslocamento Batocrômico.

4.2.3 – Determinação do comprimento de onda máximo do íon Sn²⁺ por UV

Pela equação química (4.1) percebe-se a presença tanto de íons Sn²⁺, responsável pela redução do Tc⁷⁺ a Tc, quanto de íons Sn⁴⁺ após a complexação.



Havia então a possibilidade destes íons presentes nas soluções das tentativas de marcação interferirem nos resultados pelo aparecimento de picos nos cromatogramas levando a interpretações equivocadas. Para se evitar tal possibilidade analisou-se uma solução contendo apenas íons de estanho por espectrometria na região UV-vis.

Como se pode observar pelo espectrograma da figura 4-7, não houve absorção de radiação UV-visível para o estanho no intervalo de leitura do equipamento (190 – 600 nm). Logo, sua presença na marcação, objetivando a redução do Tc^{+7} , não indicará pico algum nos cromatogramas de CLAE, descartando-se, assim, a sua interferência.

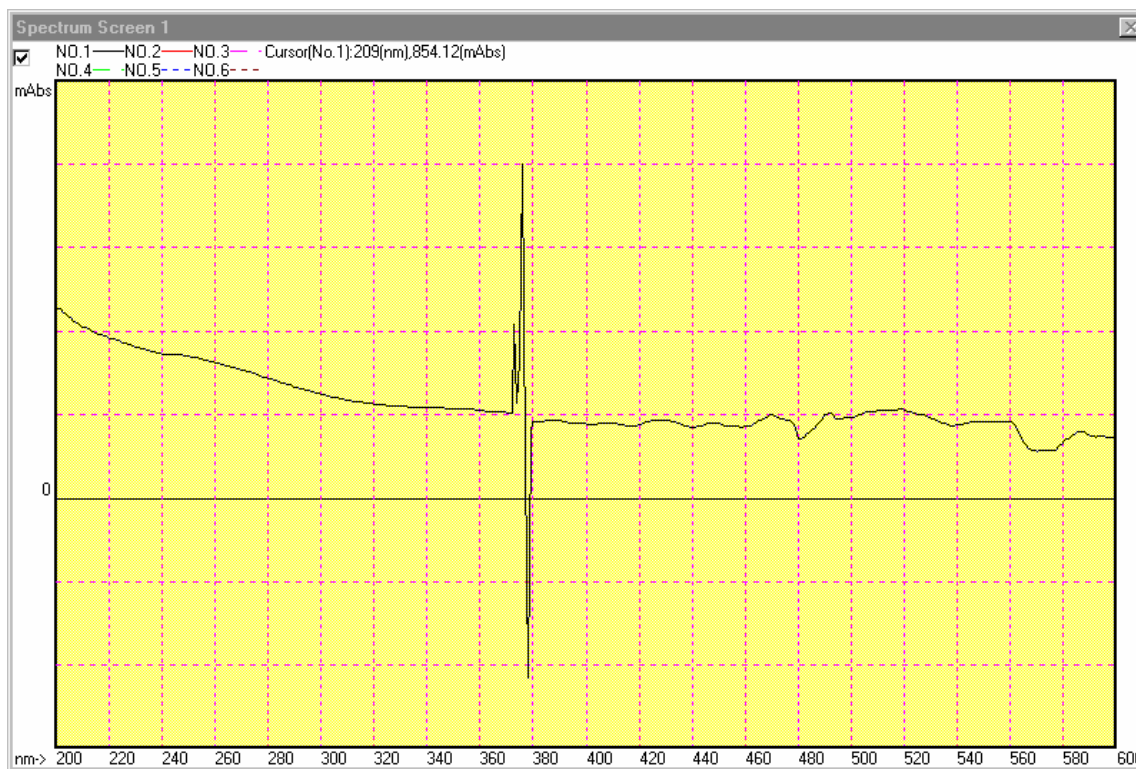


Figura 4-7. Espectrograma de UV-Visível do estanho na forma de Sn^{2+} .

Os picos observados no espectrograma da figura 4-7 correspondem à mudança de lâmpada do detector. As leituras feitas de 190 nm até aproximadamente 380 nm ocorrem devido ao uso da lâmpada de deutério, que corresponde à região do ultravioleta. As leituras feitas de 380 nm até 600 nm ocorrem devido ao uso da lâmpada de tungstênio, que corresponde à região das radiações visíveis.

4.2.4 – Determinação do comprimento de onda máximo do ^{99}Tc por UV

Observa-se pela figura 4-8 que o comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) do tecnécio correspondeu a 197 nm. Como o equipamento de CLAE permite a análise simultânea em dois canais, ou seja, dois comprimentos de onda, optou-se então, pela detecção em 197 nm no primeiro canal e 210 nm para o segundo canal, haja vista a alta absorção do pertecnetato eluído e seus sub-produtos pelas radiações UV nestas proximidades.

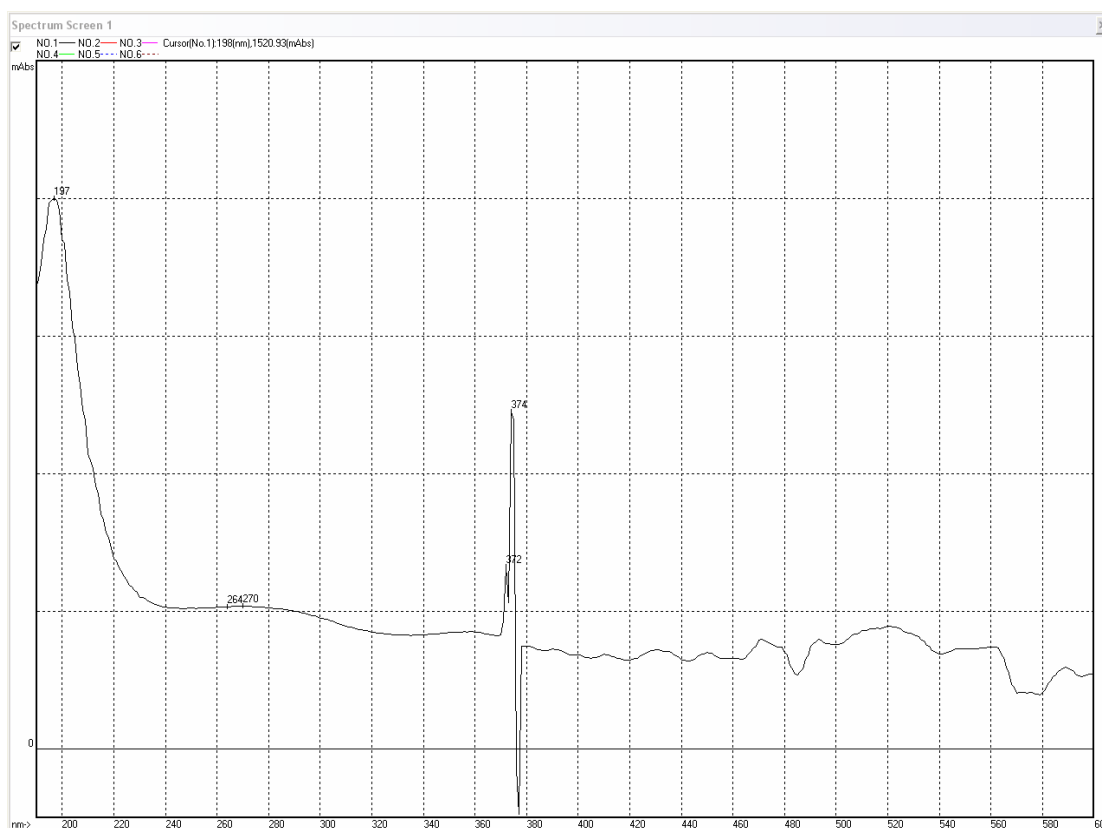


Figura 4-8. Espectrograma de UV-Visível do Tc como pertecnetato de sódio.

4.2.5 – Análises por CLAE das marcações do 5-tio-D-glicose com ^{99}Tc

Eluiu-se, inicialmente, apenas o padrão contendo ^{99}Tc a fim de conhecer seu tempo de retenção (TR) para, posteriormente, compará-lo aos valores de TR das marcações Tc1, Tc2 e Tc3.

A figura 4-9 apresenta os cromatogramas sobrepostos do 5-TDG, do padrão ^{99}Tc e das marcações, no canal 197 nm. Todos os valores de TR são apresentados na tabela 4-5 juntamente com as interpretações de seus valores. Observa-se que as impurezas da eluição do gerador estão presentes na amostra.

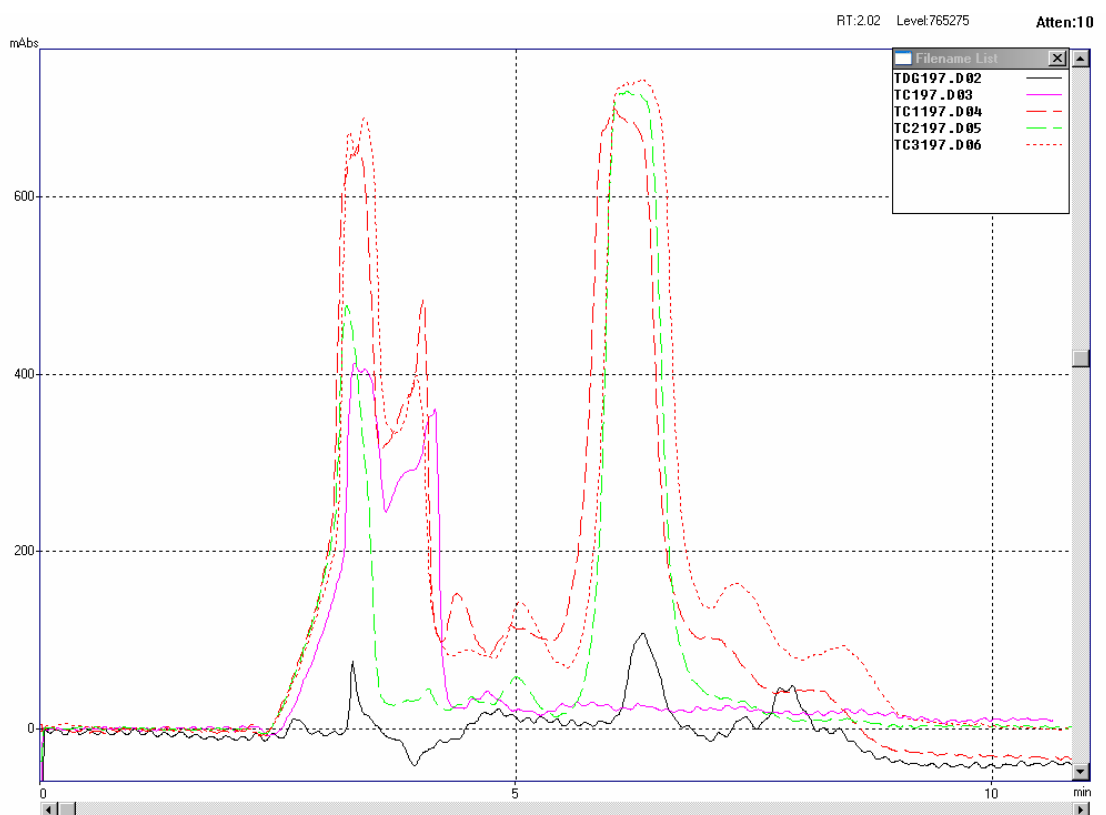


Figura 4-9. Sobreposição dos cromatogramas do 5-TDG, ^{99}Tc e marcações Tc1, Tc2 e Tc3 a 197 nm.

Tabela 4-5. Valores de TR para os picos presentes nos cromatogramas do padrão ^{99}Tc e suas marcações nos canais 197 e 210 nm. Eluente acetonitrila/água 3:1.

Canal	197 nm			210 nm			
	Solução	Pico	TR (min)	%	Pico	TR (min)	%
5-TDG		Tr1	3,274	27,5	Tr1	3,271	32,5
		Tr2	6,319	41,7	Tr2	6,331	40,7
		Tr3	7,888	30,8	Tr3	7,892	26,8
Tc		Tr1	3,295	55,4	Tr1	3,286	50,4
		Tr2	4,126	44,6	Tr2	4,163	49,6
Tc1		Tr1	3,320	29,2	Tr1	3,337	29,5
		Tr2	4,006	18,1	Tr2	4,043	5,7
		Tr3	6,022	52,7	Tr3	6,035	64,8
Tc2		Tr1	3,214	29,3	Tr1	3,209	2,5
		Tr2	6,095	70,7	Tr2	6,147	97,5
Tc3		Tr1	3,396	37,9	Tr1	3,390	8,6
		Tr2	3,935	11,3	Tr2	4,017	3,7
		Tr3	6,273	50,8	Tr3	6,189	87,7

Considera-se aqui, primariamente, que o chamado padrão ^{99}Tc é na verdade uma mistura da eluição oriunda da coluna do gerador de tecnécio. Esta, por sua vez, apresenta impureza química, como mencionado na literatura especializada [37], que podem ser permolibdenato MoO_4^- , metais livres como Mo e Tc e ainda seus óxidos, nos quais seus estados de oxidação podem variar de 1+ a 7+.

Para o pico Tr1, a 197 nm, nota-se pouca alteração do tempo de retenção do padrão ^{99}Tc (3,295 min) para as tentativas de marcação Tc1 (3,320 min), Tc2 (3,214) e Tc3 (3,396 min). O mesmo pico Tr1, no canal 210 nm, apresentou comportamento similar ao do canal 197 nm com Tc (3,286 min) e as marcações Tc1 (3,337 min), Tc2 (3,209 min) e Tc3 (3,390 min). Logo, o pico Tr1 pode ser o nuclídeo livre tanto na solução do padrão quanto nas soluções das tentativas de marcação, porém como nuclídeo livre e não marcando 5-TDG.

O pico Tr2 (4,126 min), em 197 nm, identificado no padrão Tc parece sofrer um deslocamento com ganho de tempo nos produtos de marcação, originando o pico Tr3 nas marcações como Tc1 (6,022 min), Tc2 (6,095 min) e Tc3 (6,273 min). Em 210 nm, observa-se que Tr2 apresenta-se em 4,163 min e nas marcações como Tc1 (6,035 min), Tc2 (6,147 min) e Tc3 (6,189 min). Sugere-se que Tr3 então seja ao nuclídeo tecnécio marcando 5-tio-D-glicose.

4.2.6 – Análise Espectroscópica no Infravermelho do 5-TDG com Tecnécio

A figura 4-10 apresenta o espectrograma do 5-tio-D-glicose e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose em seus principais picos de absorção.

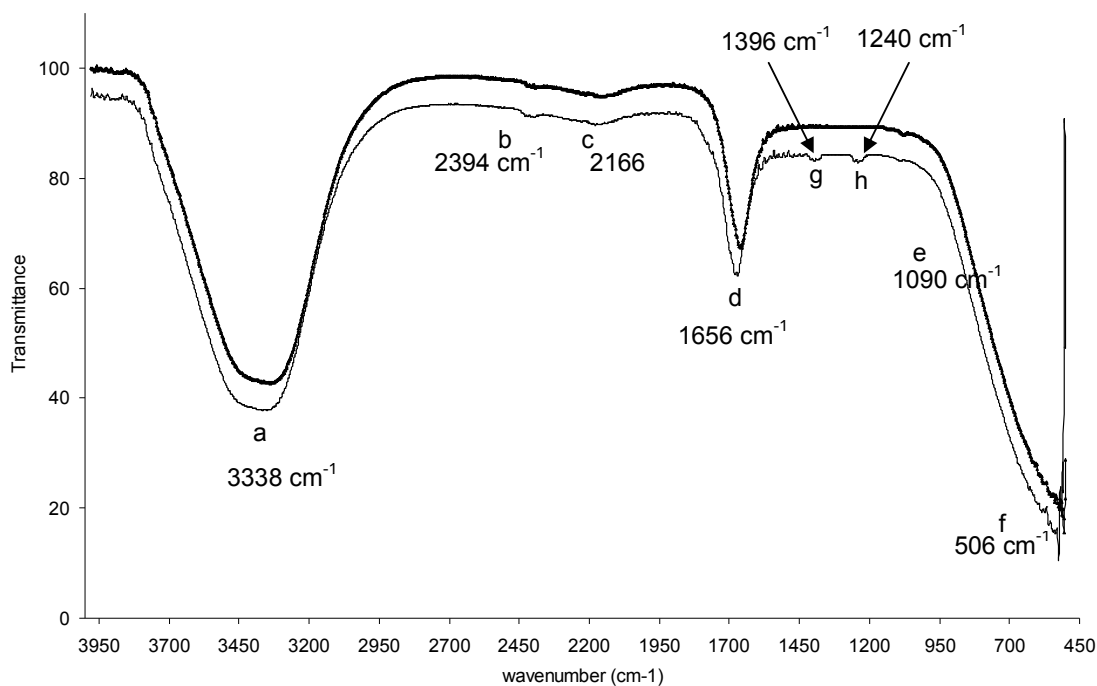


Figura 4-10. Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose (linha fina) e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose (linha com marcador).

A seguir é apresentada a tabela 4-6 a qual pode-se perceber a concordância dos valores de frequência entre o monossacarídeo 5-tio-D-glicose e o complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose. É importante ressaltar a ocorrência de dois picos no espectrograma do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose, a saber, 1396 e 1240 cm^{-1} , que não são encontrados no espectrograma do açúcar puro. Logo, acredita-se que tais picos correspondam à ligação tão esperada entre os dois compostos.

Tabela 4-6. Principais freqüências de absorção de radiação infravermelha para o complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose. Os valores de freqüência entre parênteses são de referência encontrados na literatura [63], os valores anteriores são experimentais.

Pico	Grupo	Freqüência (cm^{-1})	Modo vibracional	Observações
a	R-CH ₂ -OH	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
a	(R) ₂ CH-OH	3338 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
b	R'-CH ₂ -R''	2394 (2843-2863)	Estiramento simétrico	
b	(R) ₃ CH	2394 (2880-2900)	Estiramento	
c		2166		
d	CH	1656	Deformação	
e	R-CH ₂ -OH	1090 (1000-1075)	Estiramento	Álcool primário
e	(R) ₂ CH-OH	1090 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
e	C-S-C	1090-1110	Estiramento assimétrico	Éter no anel de 6 átomos
f	C-S-C	850-820	Estiramento simétrico	
g	S→ ^{99}Tc	1396		
h	S→ ^{99}Tc	1240		

Pela sobreposição dos espectrogramas do açúcar 5-tio-D-glicose e do complexo ^{99}Tc -5-tio-D-glicose, observa-se:

i) as freqüências comuns entre os dois compostos (linhas sombreadas na tabela 4-6) em que são nítidas as ligações OH e CH;

ii) as freqüências que apareceram apenas no espectrograma do produto complexado ^{99}Tc -5-tio-D-glicose indicam corresponder à ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o íon ^{99}Tc . Porém, não se pode confirmar claramente tal ligação, pois não há menção na literatura no que se refere à análise por infravermelho envolvendo metais de transição interna como o tecnécio.

iii) a intensidade de transmitância dos picos g e h referem-se à baixa concentração do tecnécio nas amostras.

4.3 – SAMÁRIO

4.3.1 – Análise por Cromatografia em Camada Delgada do 5-tio-D-glicose com samário

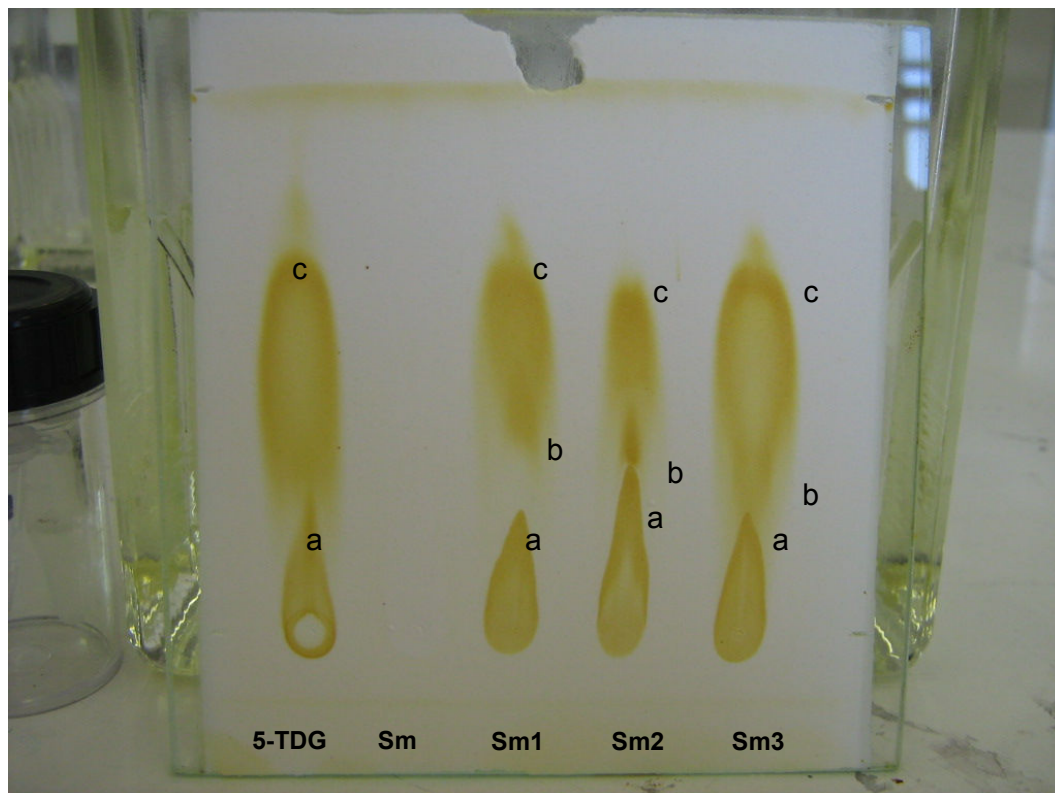


Figura 4-11. Cromatograma das marcações do 5-tio-D-glicose com samário. Na ordem: 5-tio-D-glicose, samário padrão (como $\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), marcações Sm1, Sm2 e Sm3.

Tabela 4-7. Resultados dos fatores de retenção (Rf) para o padrão Sm e marcações.

Mancha	Fatores de Retenção (RF)					RF médio das marcações
	5-TDG	Sm padrão	Sm1	Sm2	Sm3	
a	0,25	-	0,21	0,30	0,16	0,22
b	-	-	0,49	0,47	0,44	0,47
c	0,69	-	0,69	0,66	0,68	0,68

Observa-se pela tabela 4-7 que 5-tio-D-glicose apresentou dois valores de RF, a saber, 0,25 (mancha “a”) e 0,69 (mancha “c”). Tal composto também pôde ser visto nas marcações com RF médio igual a 0,22 (mancha “a”) e 0,68 (mancha “c”); provavelmente, devido ao excesso quantitativo proporcional ao necessário para a complexação com o nuclídeo Sm. Nota-se ainda, o aparecimento da mancha “b”, cujo RF médio correspondeu a 0,47. Acredita-se que tal mancha esteja associada ao produto da complexação Sm-5-tio-D-glicose, ratificando o sucesso das marcações.

4.3.2 – Análise Espectroscópica no UV-vis do 5-tio-D-glicose com Samário

A figura 4-12 apresenta a sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para 5-tio-D-glicose, para o padrão samário e suas marcações com o monossacarídeo.

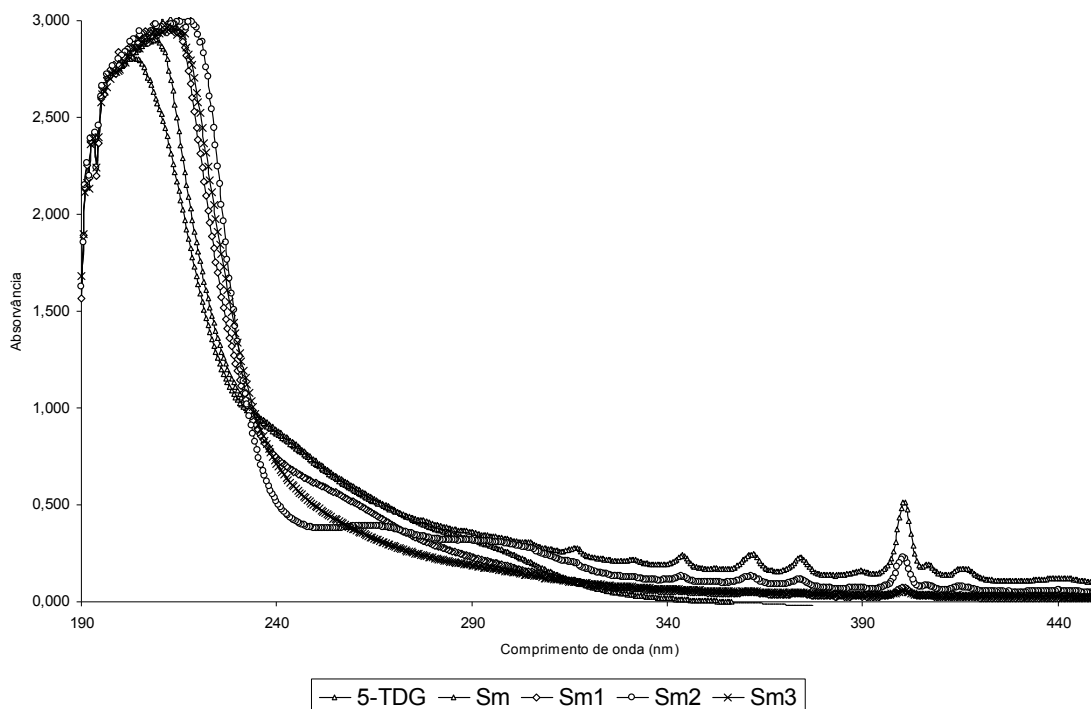


Figura 4-12. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-tio-D-glicose e suas marcações com samário.

Tabela 4-8. Valores de comprimento de onda e absorvância do Sm^{3+} livre e complexado.

Padrões e produtos marcados										
	5-TDG		Sm^{3+} padrão		Sm1		Sm2		Sm3	
	$2,55 \times 10^{-2}$		$4,94 \times 10^{-2}$		[Sm^{3+}] = $3,84 \times 10^{-2}$ [5-TDG] = $1,28 \times 10^{-2}$		[Sm^{3+}] = $9,6 \times 10^{-2}$ [5-TDG] = $1,28 \times 10^{-2}$		[Sm^{3+}] = $1,92 \times 10^{-2}$ [5-TDG] = $1,79 \times 10^{-2}$	
	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A
$\lambda_{\text{máx}}$	209,0	2,901	203,0	2,8123	213,0	3,0176	215,0	3,0314	212,0	2,9724

Observa-se na tabela 4-8 o deslocamento do comprimento de onda máximo tanto do açúcar (209 nm) quanto do padrão do samário Sm (203 nm) para um valor médio de 213 nm nas marcações, Sm1 (213 nm), Sm2 (215 nm) e Sm3 (212 nm). Estes novos valores de comprimentos de onda máximos aparecem devido ao efeito de deslocamento do comprimento de onda do 5-tio-D-glicose pela influência da ligação covalente coordenada entre um par de elétrons não-ligantes do enxofre do anel piranosídico e os vários orbitais 4f do Sm^{3+} .

4.3.3 – Determinação do comprimento de onda máximo do Samário por UV

Observa-se na figura 4-13 que o comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) do samário corresponde aproximadamente a 201 nm.

Como o equipamento de CLAE permite a análise simultânea em dois canais, ou seja, dois comprimentos de onda, optou-se, então pela análise em 210 nm para o segundo canal, haja vista a alta absorção do samário pela radiação UV correspondente.

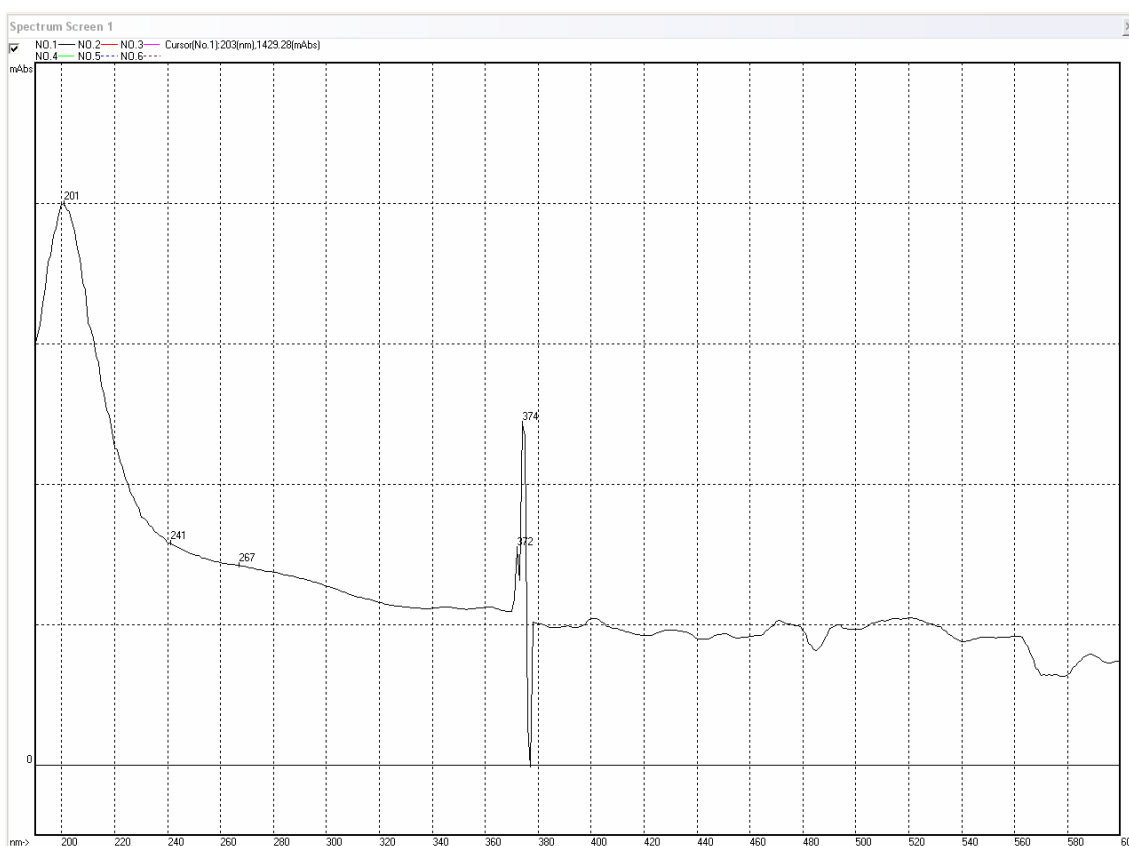


Figura 4-13. Espectrograma de UV-Visível do Sm como cloreto de samário (III) hexaidratado.

Eluiu-se, inicialmente, apenas o padrão contendo Sm^{3+} puro a fim de conhecer seu tempo de retenção (TR) e posteriormente compará-lo aos valores de TR das marcações Sm1, Sm2 e Sm3.

4.3.4. – Análises por CLAE das marcações do 5-tio-D-glicose com Sm

A figura 4-14 apresenta a sobreposição dos cromatogramas do 5-tio-D-glicose, do padrão Sm e das marcações, nos canais 190 e 210 nm. Todos os valores de TR são apresentados na tabela 4-9 juntamente com as interpretações de seus valores.

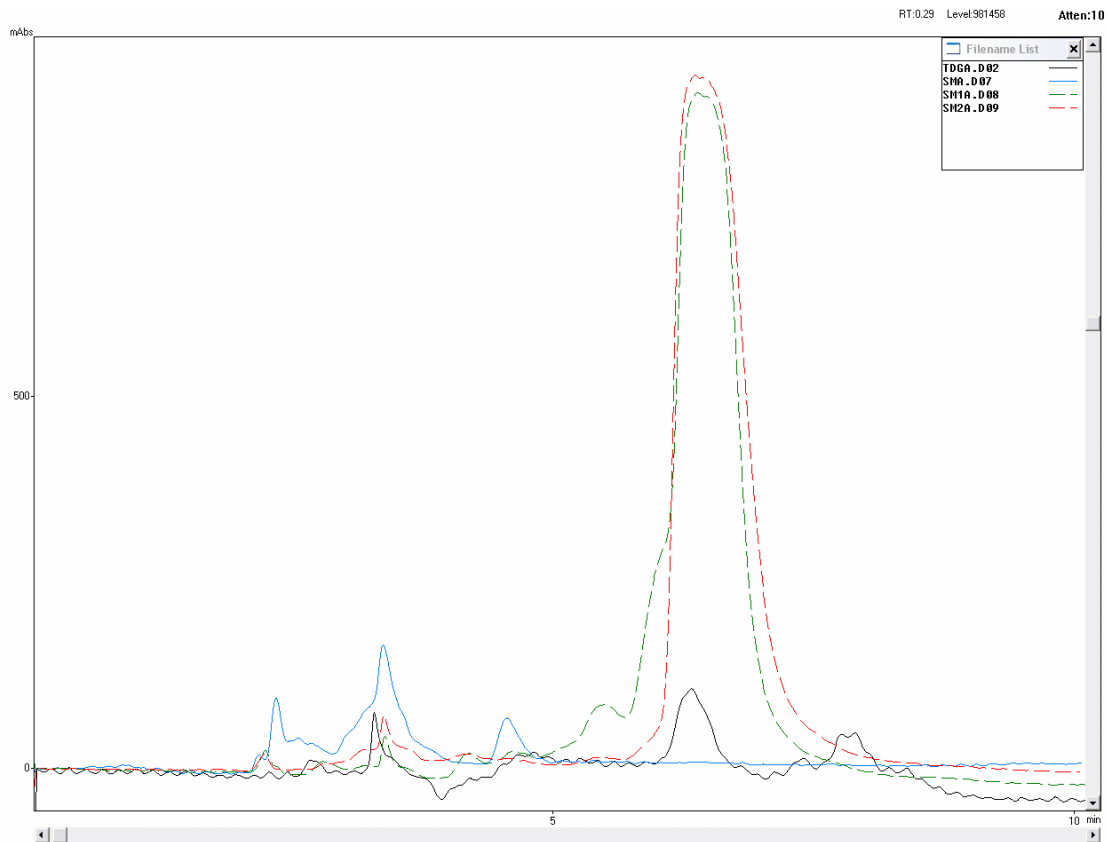


Figura 4-14. Sobreposição dos cromatogramas do 5-tio-D-glicose, padrão do $\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com as marcações Sm1, Sm2 e Sm3 a 190 nm.

Tabela 4-9. Valores de TR para os picos presentes nos cromatogramas do padrão Sm e suas marcações nos canais 190 e 210 nm.

Solução	Pico	TR (min)	%	Pico	TR (min)	%
Canal	197 nm			210 nm		
5-TDG	Tr1	3,274	27,5	Tr1	3,271	32,5
	Tr2	6,319	41,7	Tr2	6,331	40,7
	Tr3	7,888	30,8	Tr3	7,892	26,8
Sm	Tr1	2,326	11,0	Tr1	2,325	15,0
	Tr2	3,357	69,0	Tr2	3,357	66,6
	Tr3	4,547	20,0	Tr3	4,544	18,4
Canal	201 nm			206 nm		
Sm1	Tr1	2,206	0,6	Tr1	2,222	0,6
	Tr2	3,371	0,7	Tr2	3,370	0,6
	Tr3	6,385	94,0	Tr3	6,397	93,1
Canal	201 nm			215 nm		
Sm2	Tr1	2,215	0,4	Tr1	2,217	0,6
	Tr2	3,365	2,5	Tr2	3,360	1,4
	Tr3	6,360	97,1	Tr3	6,390	98,0

Para o pico Tr1, a 197 nm, nota-se pouca alteração do tempo de retenção do padrão Sm (2,326 min) para as tentativas de marcação Sm1 (2,206 min) e Sm2 (2,215 min). O mesmo comportamento foi observado a 210 nm, onde o padrão Sm (2,325 min) difere pouco das marcações Sm1 (2,222 min) e Sm2 (2,217 min). O pico Tr2, a 197 nm, apresentou tempo de retenção no padrão Sm (3,357 min) e nas tentativas de marcação Sm1 (3,371 min) e Sm2 (3,365 min). O mesmo comportamento foi observado a 210 nm, onde o padrão Sm (3,357 min) difere pouco das marcações Sm1 (3,370 min) e Sm2 (3,360 min). Presumi-se que estes picos caracterizem o íon Sm^{3+} livre ou seja não marcando 5-tio-D-glicose.

O pico Tr3 no padrão Sm apresentou em 4,547 min no canal 197 nm e em 4,544 min em 210 nm. Nota-se que tal pico obteve um incremento de tempo nas marcações, sendo em Sm1 (6,385 min) no canal 197 nm e (6,397 min) em 210 nm. a marcação Sm2 também apresentou o mesmo ganho sendo em 197 nm (6,360 min) e em 210 nm (6,390 min). Logo, pressupõe-se que Tr3 corresponda ao produto da complexação do nuclídeo Sm com 5-tio-D-glicose.

4.3.5 – Análise Espectroscópica no IR do 5-tio-D-glicose com Samário

A figura 4-15 apresenta o espectrograma do 5-tio-D-glicose e do complexo Sm-5-tio-D-glicose em seus principais picos de absorção.

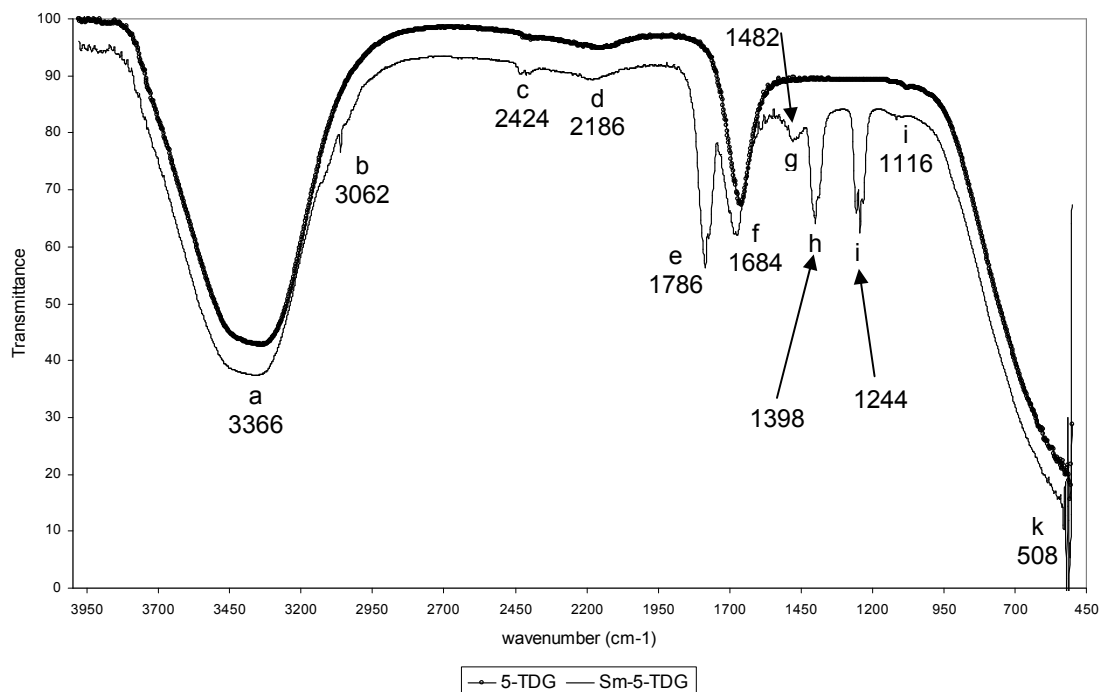


Figura 4-15. Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose (linha com marcador) e do complexo Sm-5-tio-D-glicose (linha fina).

Tabela 4-10. Principais freqüências de absorção de radiação infravermelha para o complexo Sm-5-tio-D-glicose. Os valores de freqüência entre parênteses são valores de referência encontrados na literatura [63]. Os valores anteriores são experimentais. As linhas sombreadas indicam a concordância de freqüências entre o 5-TDG e o seu complexo com samário Sm-5-tio-D-glicose.

Pico	Grupo	Freqüência (cm ⁻¹)	Modo vibracional	Observações
a	R-CH ₂ -OH	3366 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
a	(R) ₂ CH-OH	3366 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
b	R'-CH ₂ -R''	3062 (2916-2936)	Estiramento assimétrico	
c		2424		
d		2186		
e		1786		
f		1684		
g	R'-CH ₂ -R''	1482 (1445-1485)	Deformação	
h	CH(R) ₃	1398 (1320-1350)	Deformação	
i	R-CH ₂ -OH	1244 (1260-1350)	Deformação	
i	(R) ₂ CH-OH	1244 (1260-1350)	Deformação	
j	(R) ₂ CH-OH	1116 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
j	C-S-C	1116 (1090-1100)	Estiramento assimétrico	Tioéter no anel
k		508		

Pela sobreposição dos espectrogramas do açúcar 5-tio-D-glicose e do complexo Sm-5-tio-D-glicose, observa-se:

i) as frequências comuns entre os dois compostos (linhas sombreadas na tabela 3-7) em que são nítidas as ligações OH e CH;

ii) as frequências que apareceram apenas no espectrograma do produto complexado Sm-5-tio-D-glicose indicam corresponder à ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o íon Sm^{3+} . Porém, não se pode confirmar claramente tal ligação, pois não há menção na literatura no que se refere à análise por infravermelho envolvendo metais de transição interna como o samário.

4.4 – GADOLÍNIO

4.4.1 – Análise por Cromatografia de Camada Delgada das marcações do 5-tio-D-glicose com Gadolínio

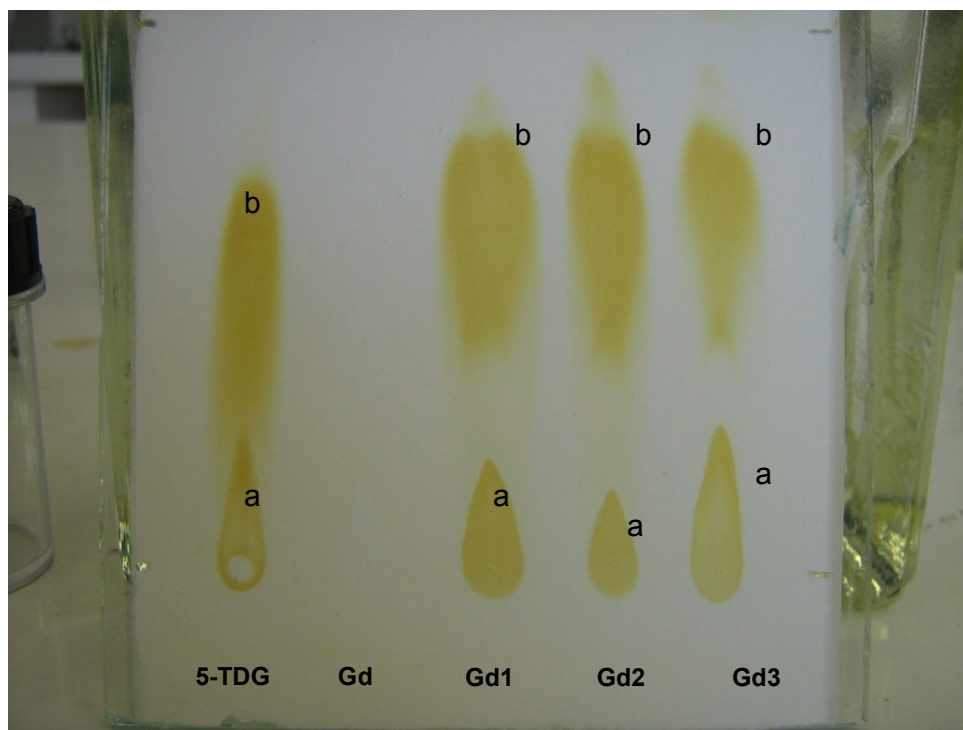


Figura 4-16. Cromatograma das marcações do 5-tio-D-glicose com Gadolínio. Na ordem: 5-tio-D-glicose padrão, Gadolínio padrão, como $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Gd), marcação Gd1, Gd2 e Gd3.

Tabela 4-11. Resultados dos fatores de retenção (Rf) para o padrão GdCl₃. 6H₂O e marcações.

Mancha	Fator de Retenção (RF)					RF médio das marcações
	5-TDG	GdCl ₃ .6H ₂ O	Gd1	Gd2	Gd3	
a	0,16	-	0,17	0,13	0,25	0,22
b	0,65	-	0,73	0,73	0,75	0,74

De acordo com o cromatograma (figura 4-11), observa-se que o 5-tio-D-glicose puro apresentou dois valores de RF, a saber, 0,16 (mancha “a”) e 0,65 (mancha “b”). Já o padrão GdCl₃.6H₂O não revelou nenhuma mancha. Nota-se que os valores de RF aumentaram para ambas as manchas nas marcações, evidenciando a formação de um novo composto, o complexo Gd-5-tio-D-glicose.

4.4.2 – Análise Espectroscópica de UV-vis do 5-tio-D-glicose com Gadolínio

A figura 4-17 apresenta a sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para 5-tio-D-glicose, para o padrão gadolínio e suas marcações com o monossacarídeo 5-tio-D-glicose.

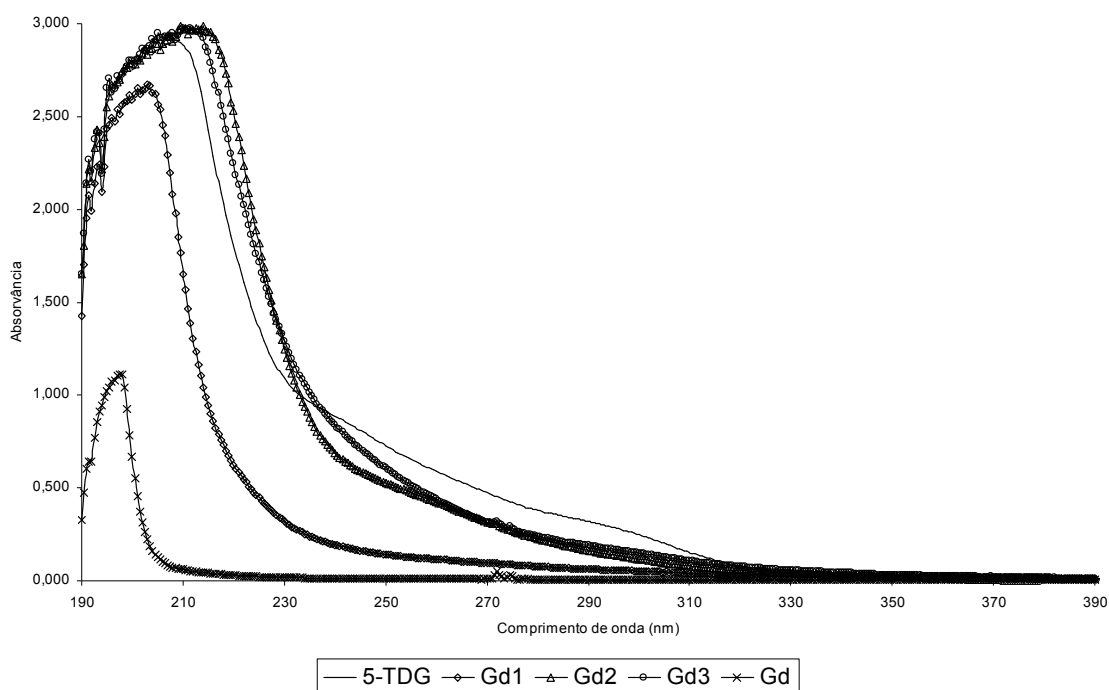


Figura 4-17. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-tio-D-glicose e suas marcações com gadolínio.

Tabela 4-12. Valores de comprimento de onda e absorvância do Gd³⁺ livre e complexado.

<i>Padrões e produtos marcados</i>										
	5-TDG		GdCl ₃ .6H ₂ O		Gd1		Gd2		Gd3	
	2,55x10 ⁻² M		4,05x10 ⁻² M		[Gd ³⁺]=2,0x10 ⁻² [5-TDG]=3,83x10 ⁻²		[Gd ³⁺]=1,35x10 ⁻² [5-TDG]=5,1x10 ⁻²		[Gd ³⁺]=2,7x10 ⁻² [5-TDG]=2,55x10 ⁻²	
	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A
λ _{máx}	209,0	2,8983	198,0	1,1139	203,0	2,6745	209,5	2,9849	210,0	2,9724

Observa-se na tabela 4-12 o deslocamento do comprimento de onda máximo do padrão do gadolínio Gd (198 nm) para um valor médio de 207,5 nm nas marcações, Gd1 (203 nm), Gd2 (209,5 nm) e Gd3 (210 nm). Acredita-se que tal deslocamento deve-se à a ligação covalente coordenada entre um par de elétrons não-ligantes do enxofre do anel piranosídico e os vários orbitais 4f do Gd³⁺.

4.4.3 – Determinação do comprimento de onda máximo do Gd por UV

Observa-se pela figura 4-2 que o comprimento de onda máximo do gadolínio padrão GdCl₃.6H₂O, corresponde aproximadamente a 197 nm. Como o equipamento de CLAE permite a análise simultânea em dois canais optou-se então pela análise em 220 nm para o segundo canal.

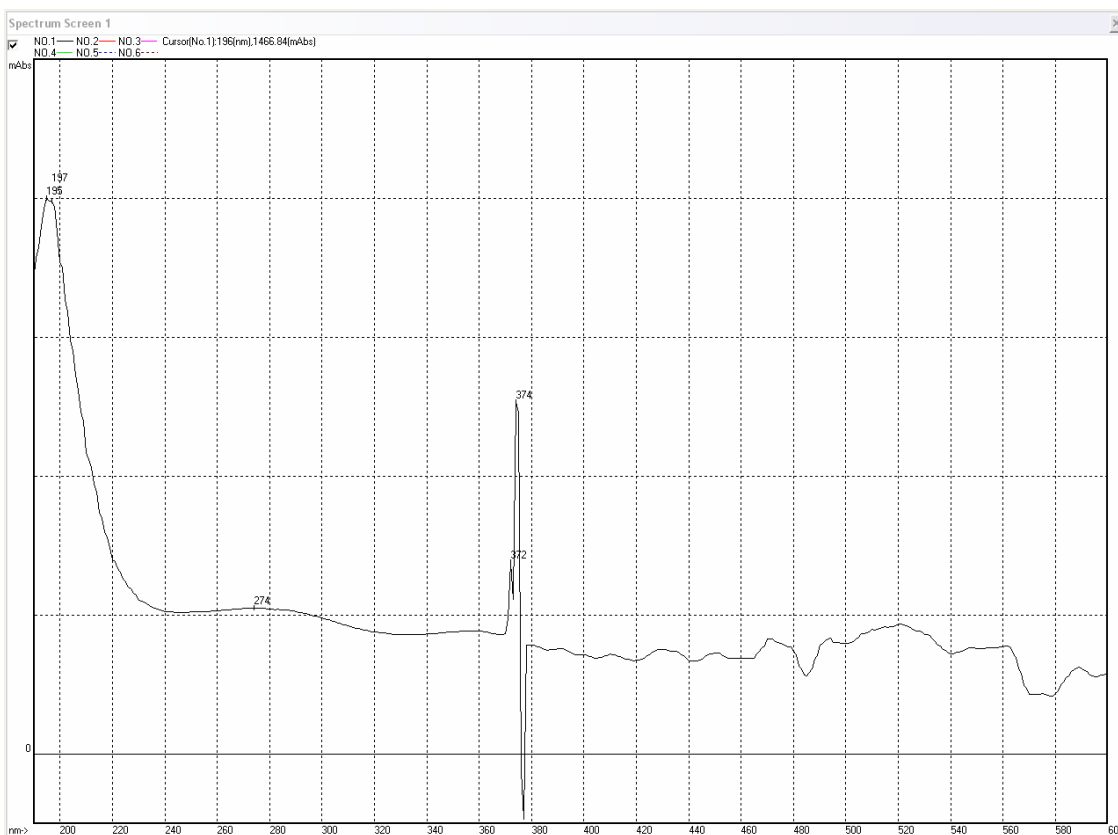


Figura 4-18. Espectrograma de UV-Visível do Gd como cloreto de gadolínio (III) hexaidratado.

4.4.4 – Análises por CLAE das marcações do 5-tio-D-glicose com Gd

Eluiu-se, inicialmente, apenas o padrão contendo $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ puro a fim de conhecer seu tempo de retenção (TR) e posteriormente compará-lo aos valores de tempo de retenção das marcações Gd1, Gd2 e Gd3. A figura 4-19 apresenta a sobreposição dos cromatogramas do 5-tio-D-glicose, do padrão Gd e das marcações no canal 197 nm. Os valores de TR são apresentados na tabela 4-13.

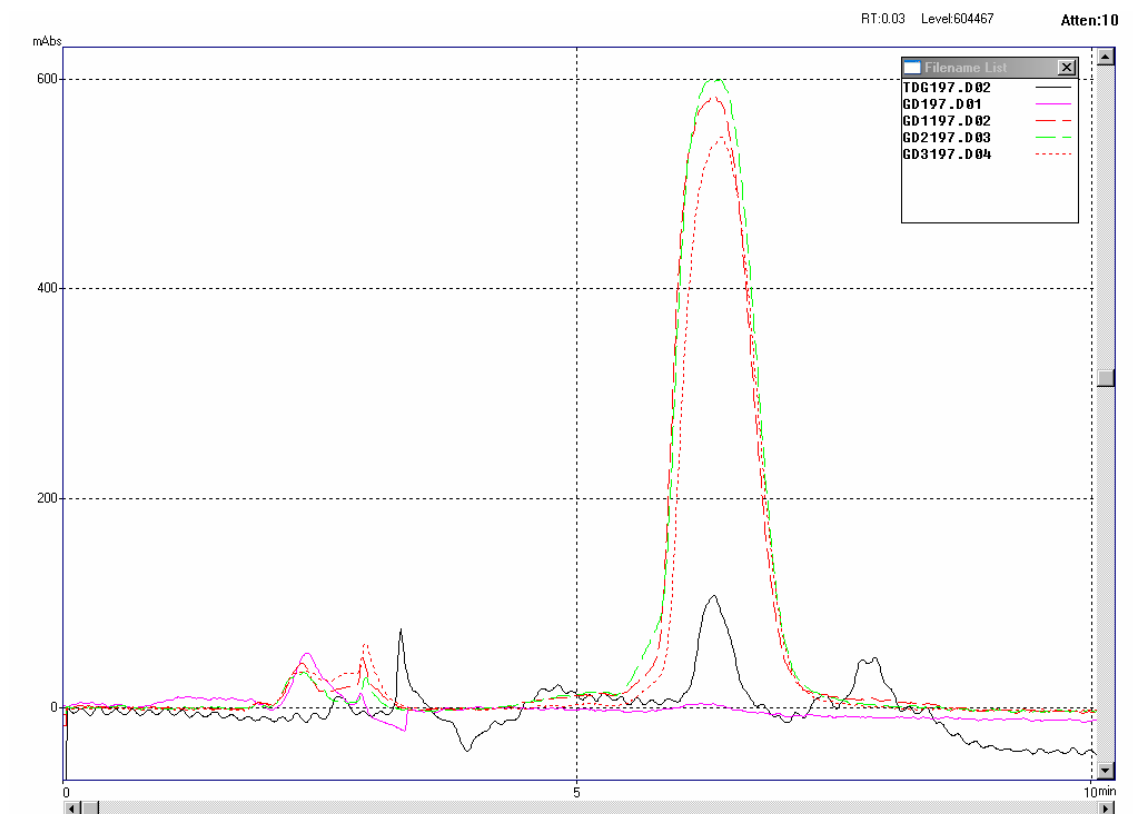


Figura 4-19. Sobreposição dos cromatogramas do 5-tio-D-glicose, padrão do $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ e suas marcações Gd1, Gd2 e Gd3 a 197 nm. Eluente: acetonitrila/ H_2O 3:1.

Tabela 4-13. Valores de TR para os picos presentes nos cromatogramas do padrão Gd e suas marcações nos canais 197 e 220 nm.

Canal (nm)	Pico	Gd (min)	%	Gd1 (min)	%	Gd2 (min)	%	Gd3 (min)	%
197	Tr1	2,363	83,3	2,314	3,4	2,331	19,8	2,342	1,5
	Tr2	2,883	16,7	2,905	3,1	2,934	6,9	2,930	0,6
	Tr3	-	-	6,318	93,5	6,292	73,3	6,394	97,9
220	Tr1	2,478	74,3	2,395	4,4	2,408	6,0	2,750	14,4
	Tr2	2,885	25,7	2,911	14,0	2,939	3,7	2,937	14,8
	Tr3	-	-	6,321	81,6	6,339	90,3	6,367	70,8

Para o pico Tr1, a 197 nm, nota-se pouca alteração do tempo de retenção do padrão Gd (2,363 min) para as tentativas de marcação Gd1 (2,314 min), Gd2 (2,331 min) e Gd3 (2,342 min). O mesmo comportamento foi observado a 220 nm, onde o padrão Gd (2,478 min) difere pouco das marcações Gd1 (2,395 min), Gd2 (2,395 min) e Gd3 (2,750 min). O pico Tr2, a 197 nm, apresentou tempo de retenção no padrão Gd (2,883 min) e nas tentativas de marcação Gd1 (2,905 min), Gd2 (2,934 min) e Gd3 (2,930 min). O mesmo comportamento foi observado a 220 nm, onde o padrão Gd (2,885 min) difere pouco das marcações Gd1 (2,911 min), Gd2 (2,939 min) e Gd3 (2,937 min). Presumi-se que estes picos caracterizem o íon Gd^{3+} livre ou seja não marcando 5-TDG. Note-se o aparecimento do pico Tr3 nas marcações. A 197 nm, em Gd1 (6,318 min), Gd2 (6,292 min) e Gd3 (6,394 min). No canal 220 nm, Gd1 (6,321 min), Gd2 (6,339 min) e Gd3 (6,367 min) Logo, pressupõe-se que Tr3 corresponda ao produto da complexação do nuclídeo Gd com 5-TDG.

4.4.5 – Análise Espectroscópica de IR do 5-tio-D-glicose com Gadolínio

A figura 4-20 apresenta o espectrograma do 5-TDG e do complexo Gd-5-TDG em seus principais picos de absorção.

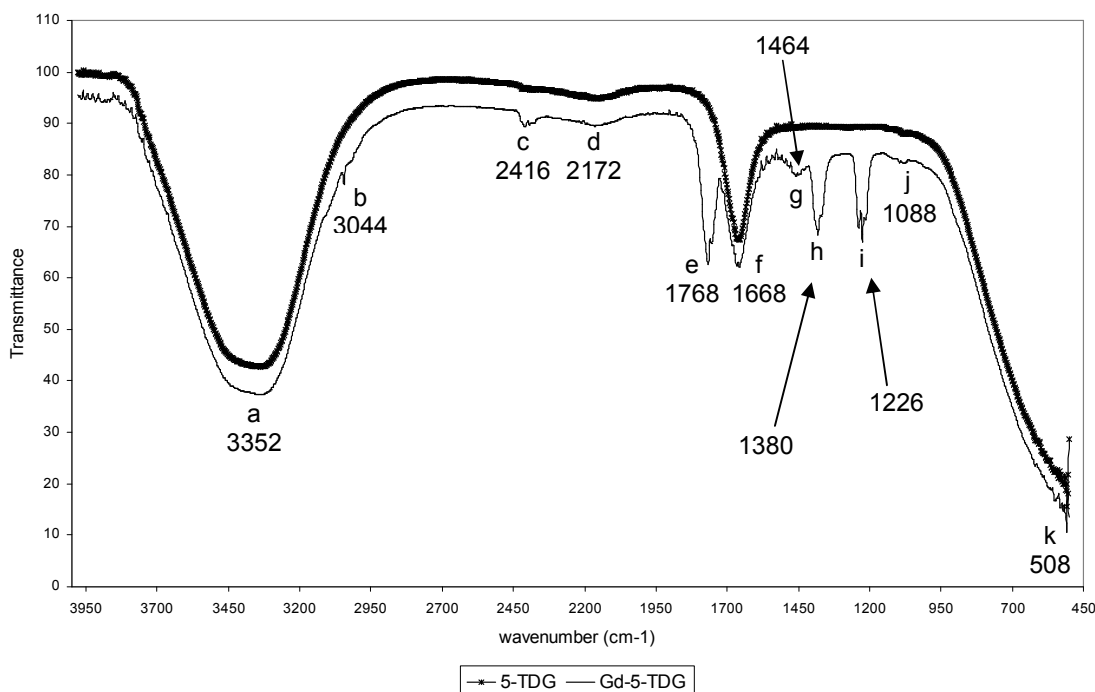


Figura 4-20. Espectrograma de infravermelho do 5-TDG e do complexo Gd-5-tio-D-glicose.

A tabela 4-14 apresenta as principais frequências de absorção de radiação infravermelha, teórica e experimental, para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose complexado com gadolínio, bem como o modo vibracional das ligações interatômicas.

Tabela 4-14. Principais frequências de absorção de radiação infravermelha para o complexo Gd-5-tio-D-glicose. Os valores de frequência entre parênteses são valores de referência encontrados na literatura [63]. Os valores anteriores são experimentais. As linhas sombreadas indicam a concordância de frequências entre o 5-tio-D-glicose e o seu complexo com gadolínio Gd-5-tio-D-glicose.

Pico	Grupo	Frequência (cm ⁻¹)	Modo vibracional	Observações
a	R-CH ₂ -OH	3352 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
a	(R) ₂ CH-OH	3352 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
b	R'-CH ₂ -R"	3044 (2916-2936)	Estiramento assimétrico	
c		2416		
d		2172		
e		1768		
f		1668		
g	R'-CH ₂ -R"	1464 (1445-1485)	Deformação	
h	CH(R) ₃	1380 (1320-1350)	Deformação	
i	R-CH ₂ -OH	1226 (1260-1350)	Deformação	
i	(R) ₂ CH-OH	1226 (1260-1350)	Deformação	
j	(R) ₂ CH-OH	1088 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
j	C-S-C	1088 (1090-1100)	Estiramento assimétrico	Tioéter no anel
k		508		

Pela sobreposição dos espectrogramas do açúcar 5-tio-D-glicose e do complexo Gd-5-tio-D-glicose, observa-se:

i) as frequências comuns entre os dois compostos (linhas sombreadas na tabela 4-5) em que são nítidas as ligações OH e CH;

ii) as frequências que apareceram apenas no espectrograma do produto complexado Gd-5-tio-D-glicose indicam corresponder à ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o íon Gd³⁺. Porém, não se pode confirmar claramente tal ligação, pois não há menção na literatura no que se refere à análise por infravermelho envolvendo metais de transição interna como o gadolínio.

4.5 – HÓLMIO

4.5.1 – Análise por CCD das marcações do 5-tio-D-glicose com Hólmio

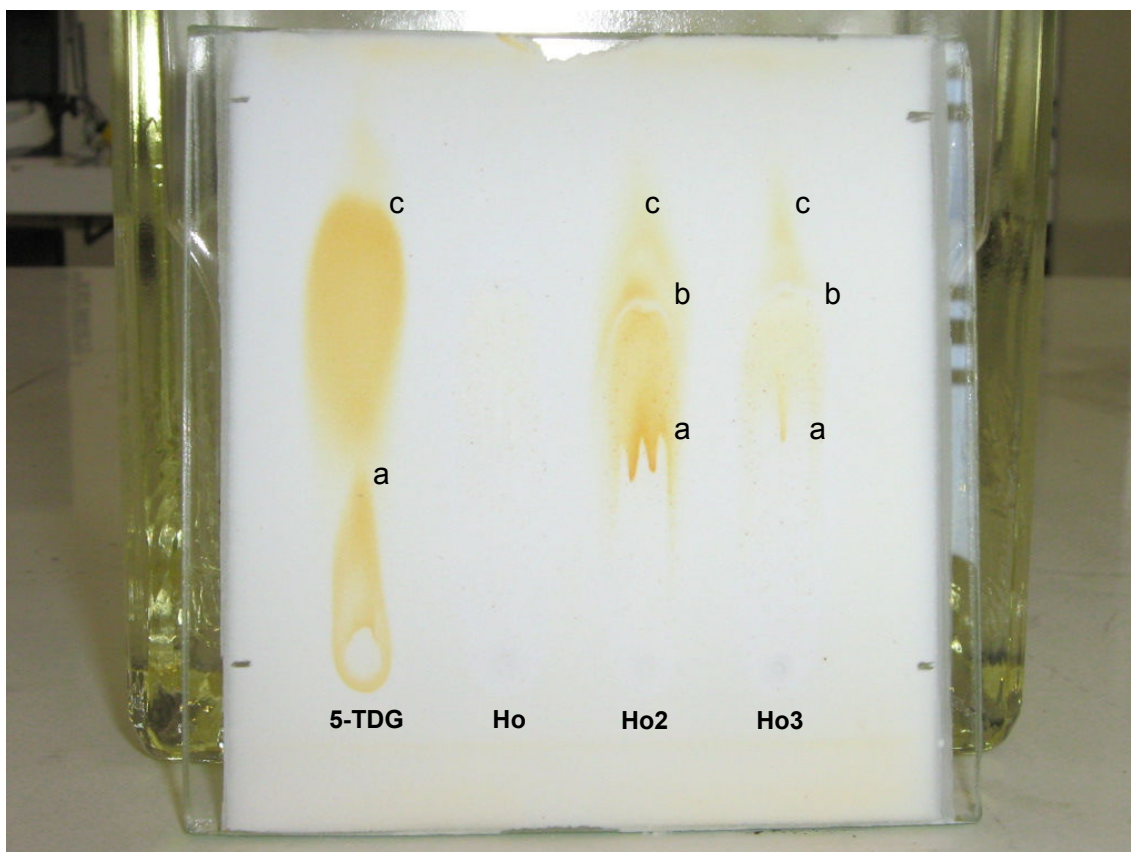


Figura 4-21. Cromatograma das marcações do 5-tio-D-glicose com hólmio. Na ordem: 5-tio-D-glicose padrão, hólmio padrão, como Ho_2O_3 (Ho), marcação Ho2 e Ho3.

Tabela 4-15. Resultados dos fatores de retenção para o padrão $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e marcações.

Mancha	Fatores de Retenção (RF)				
	5-TDG	Ho^{3+}	Ho2	Ho3	RF médio das marcações
a	0,29	-	0,37	0,40	0,39
b	-	-	0,57	0,58	0,58
c	0,72	-	0,71	0,71	0,71

De acordo com o cromatograma (figura 4-21), observa-se que o 5-tio-D-glicose puro apresentou dois valores de RF, a saber, 0,29 (mancha “a”) e 0,72 (mancha “c”). Já o padrão Ho^{3+} não revelou nenhuma mancha. Nota-se o aparecimento de uma nova mancha (b) nas marcações, cujo RF médio é 0,58. Como esta mancha não foi revelada nem no açúcar 5-tio-D-glicose e nem no padrão Ho^{3+} , acredita-se ser este composto o complexo Ho-5-tio-D-glicose.

4.5.2 – Análise Espectroscópica no UV-vis do 5-tio-D-glicose com Hólmio

A figura 4-22 apresenta a sobreposição dos espectrogramas de UV-vis para 5-TDG, para o padrão hólmio e suas marcações com o monossacarídeo.

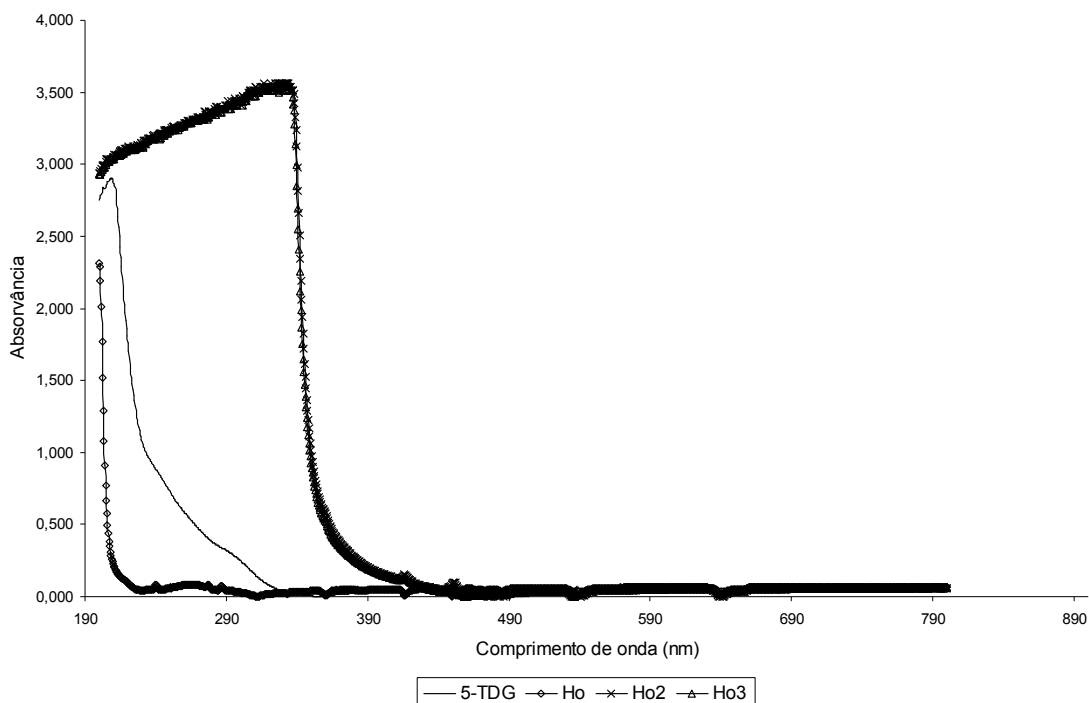


Figura 4-22. Sobreposição dos espectrogramas de UV-vis do 5-TDG e suas marcações com hólmio.

Tabela 4-16. Valores de comprimento de onda e absorvância do Ho^{3+} livre e complexado.

<i>Padrões e produtos marcados</i>								
	5-TDG		Ho padrão		Ho2		Ho3	
	$2,55 \times 10^{-2} \text{ M}$		$[\text{Ho}^{3+}] = 2,0 \times 10^{-2}$		$[\text{Ho}^{3+}] = 7,0 \times 10^{-3}$ $[\text{5-TDG}] = 1,85 \times 10^{-2}$		$[\text{Ho}^{3+}] = 2,25 \times 10^{-2}$ $[\text{5-TDG}] = 1,55 \times 10^{-2}$	
	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A	λ (nm)	A
$\lambda_{\text{máx}}$	209,0	2,901	200,0	2,3150	332,5	3,562	333,5	3,562

Pelos valores de comprimento de onda máximo, presentes na tabela 4-16, nota-se um aumento significativo para o nuclídeo livre (200 nm) para o valor médio das marcações correspondente a 333 nm. Tal observação sugere à ligação covalente coordenada entre um par de elétrons não-ligantes do enxofre do anel piranosídico e os vários orbitais 4f do Ho^{3+} .

4.5.3 – Determinação do Comprimento de Onda máximo do Hólmio

Observa-se na figura 4-23 que o hólmio apresentou comprimento de onda máximo correspondente a aproximadamente 204 nm. Como o equipamento de CLAE permite a análise simultânea em dois canais, foram feitas leituras também em 250 nm. Estes dois canais de máximo de absorção foram usados para as análises de CLAE.

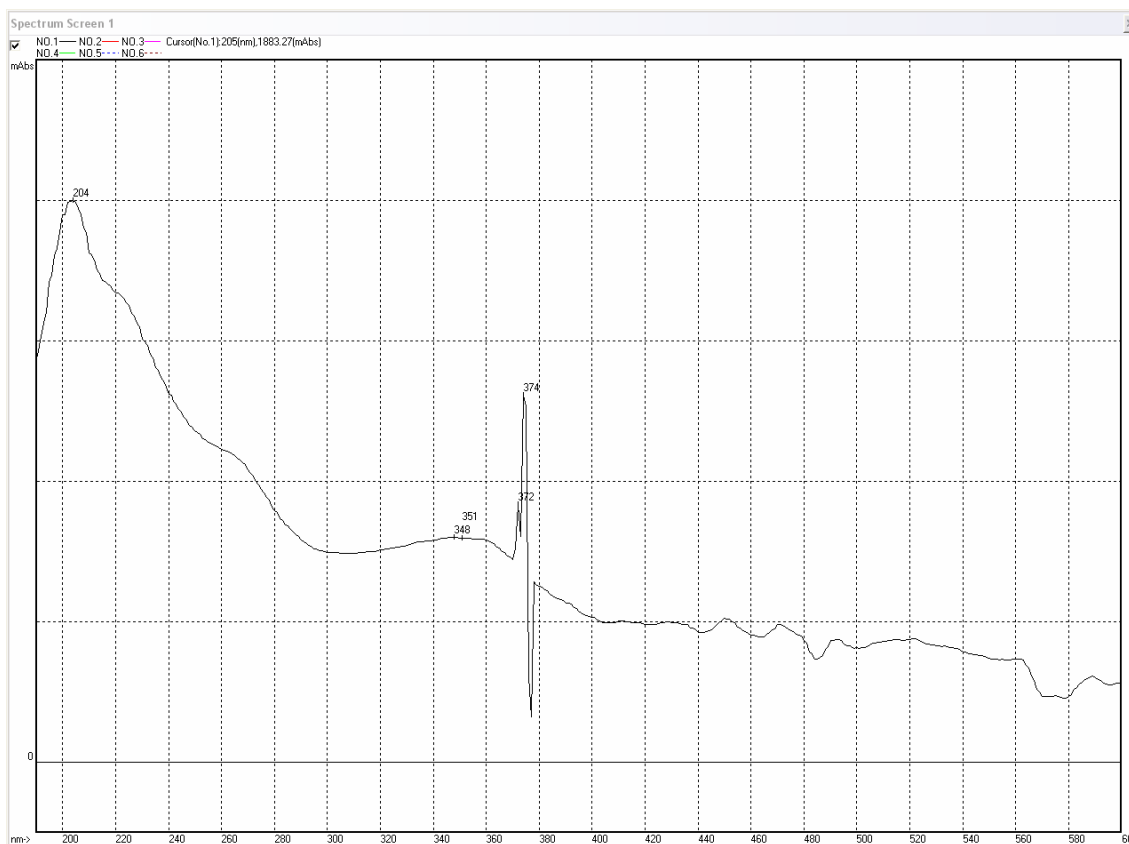


Figura 4-23. Espectrograma de UV-Visível do Ho como óxido de hólmio (III).

4.5.4 – Análise por CLAE das Marcações do 5-tio-D-glicose com Hólmio

Eluiu-se, inicialmente, apenas o padrão contendo Ho^{3+} puro a fim de conhecer seu tempo de retenção (TR) para, posteriormente, compará-lo aos valores de TR das marcações Ho2 e Ho3.

A figura 4-24 apresenta a sobreposição dos cromatogramas do 5-tio-D-glicose, do padrão de Ho e das marcações, no canal 205 nm. Todos os valores de TR são apresentados na tabela 4-17.

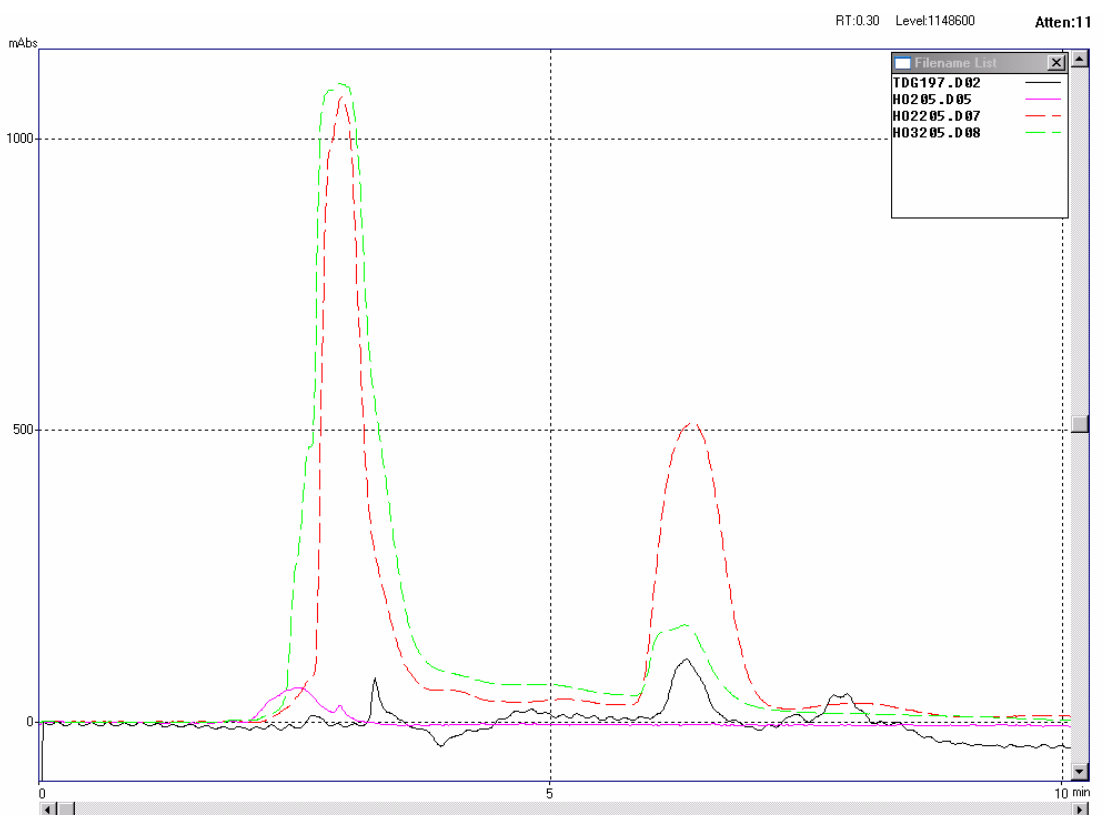


Figura 4-24. Sobreposição dos cromatogramas do padrão do Ho_2O_3 com as marcações Ho2 e Ho3 a 205 nm. Eluente: acetonitrila/ H_2O 3:1

Tabela 4-17. Valores de TR para os picos presentes nos cromatogramas do padrão Ho e suas marcações nos canais 205 e 250 nm.

Canal (nm)	Pico	Ho (min)	%	Ho2 (min)	%	Ho3 (min)	%
205	Tr1	2,499	85,9	2,948	59,1	2,931	90,9
	Tr2	2,926	14,1	6,392	40,9	6,299	9,1
250	Tr1	2,624	71,9	2,925	100	2,886	100
	Tr2	2,927	28,1	-	-	-	-

Analisando o canal 205 nm, percebe-se que o pico Tr2 do padrão (2,926 min) Ho aparece nas marcações como pico Tr1, em Ho2 (2,948 min) e Ho3 (2,931 min). Nota-se também nas marcações a ausência do pico identificado por Tr1 do padrão Ho (2,499 min). Sugere-se que a marcação de fato ocorre pelo aparecimento do pico Tr2 das marcações Ho2 (6,392 min) e Ho3 (6,299 min) indicando o surgimento do complexo Ho-5-tio-D-glicose.

4.5.5 – Análise Espectroscópica no IR das marcações do 5-tio-D-glicose com Hólmio

A figura 5-16 apresenta o espectrograma do 5-tio-D-glicose e do complexo Ho-5-tio-D-glicose em seus principais picos de absorção.

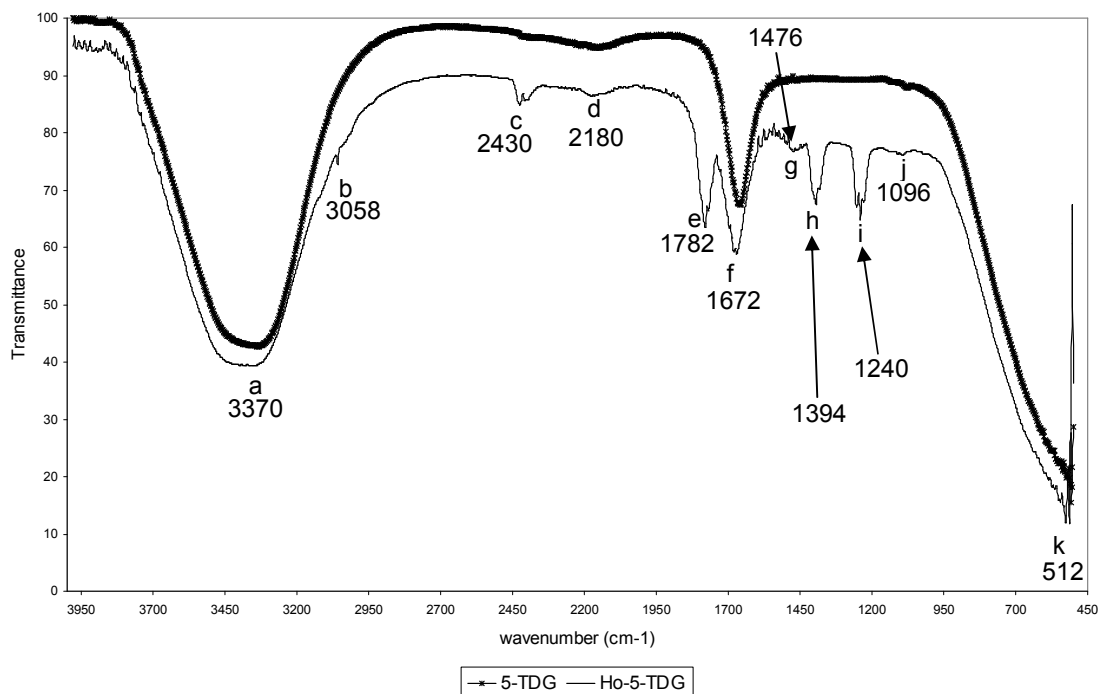


Figura 4-25. Espectrograma de infravermelho do 5-tio-D-glicose (linha preta) e do complexo Ho-5-tio-D-glicose (linha vermelha).

A tabela 4-18 apresenta as principais frequências de absorção de radiação infravermelha, teórica e experimental, para o monossacarídeo 5-tio-D-glicose complexado com hólmio, bem como o modo vibracional das ligações interatômicas.

Tabela 4-18. Principais freqüências de absorção de radiação infravermelha para o complexo Ho-5-tio-D-glicose. Os valores de freqüência entre parênteses são valores de referência encontrados na literatura [63]. Os valores anteriores são experimentais. As linhas sombreadas indicam a concordância de freqüências entre o 5-tio-D-glicose e o seu complexo com hólmio Ho-5-tio-D-glicose.

Pico	Grupo	Freqüência (cm ⁻¹)	Modo vibracional	Observações
a	R-CH ₂ -OH	3370 (3200-3400)	Estiramento	Banda larga devido à ligação de hidrogênio
a	(R) ₂ CH-OH	3370 (3200-3400)	Estiramento	
b	R'-CH ₂ -R''	3058 (2916-2936)	Estiramento assimétrico	
c		2430		
d		2180		
e		1782		
f		1672		
g	R'-CH ₂ -R''	1476 (1445-1485)	Deformação	
h	CH(R) ₃	1394 (1320-1350)	Deformação	
i	R-CH ₂ -OH	1240 (1260-1350)	Deformação	
i	(R) ₂ CH-OH	1240 (1260-1350)	Deformação	
j	(R) ₂ CH-OH	1096 (1090-1125)	Estiramento	Álcool secundário
j	C-S-C	1096 (1090-1100)	Estiramento assimétrico	Tioéter no anel
k		512		

Pela sobreposição dos espectrogramas do açúcar 5-tio-D-glicose e do complexo Ho-5-tio-D-glicose, observa-se:

i) as freqüências comuns entre os dois compostos (linhas sombreadas na tabela 35) em que são nítidas as ligações OH e CH;

ii) as freqüências que apareceram apenas no espectrograma do produto complexado Ho-5-tio-D-glicose indicam corresponder à ligação covalente coordenada do átomo de enxofre do anel piranosídico com o íon Ho³⁺. Porém, não se pode confirmar claramente tal ligação, pois não há menção na literatura no que se refere à análise por infravermelho envolvendo metais de transição interna como o hólmio.

5 – CONCLUSÕES

Neste trabalho realizou-se a síntese e caracterização de análogos da glicose utilizando o monossacarídeo 5-tio-D-glicose marcado com os núclídeos tecnécio, samário, gadolínio e hólmio, obtendo-se assim seus respectivos fármacos.

A eficácia das reações de marcação foi verificada pelos resultados qualitativos por análises cromatográficas em camada delgada com sílica G, onde os cromatogramas demonstraram o aparecimento de novas manchas que não aquelas próprias para o monossacarídeo puro.

As análises por espectroscopia eletrônica na região ultravioleta-visível indicaram o deslocamento do comprimento de onda máximo do monossacarídeo puro quando comparado com o comprimento de onda de suas marcações com os núclídeos, evidenciando a complexação.

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência indicaram, com certa acurácia, os picos de tempo de retenção dos núclídeo puros e dos complexos formados entre estes separadamente e o 5-tio-D-glicose.

As análises por espectroscopia molecular vibracional na região do infravermelho indicaram os picos correspondentes à ligação do átomo de enxofre do anel piranosídico do monossacarídeo a cada núclídeo. Tal afirmação é embasada pela diferença das frequências dos espectrogramas do monossacarídeo puro comparadas àquelas de suas formas complexadas.

6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

As perspectivas da utilização dos compostos ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose, ^{153}Sm -5-tio-D-glicose, Gd-5-tio-D-glicose e ^{166}Ho -5-tio-D-glicose sugerem a definição de novos protocolos de diagnóstico e terapia. Tais avanços significariam uma enorme economia para a área da saúde, menores gastos para o Estado como instalações físicas e aquisição de tecnologia estrangeira, além de proporcionarem maior acesso dos tratamentos e diagnósticos que requerem imagens médicas pela população menos favorecida.

Assim, o grupo de pesquisa NRI/CNPq/UFMG pretende dar continuidade a estas pesquisas quando se espera a) avaliar a biocinética destes fármacos pela distribuição in vivo; b) obter imagem pela técnica SPECT in vivo para o radiofármaco ^{99m}Tc -5-tio-D-glicose; c) obter imagens por ressonância magnética utilizando como agente de contraste o complexo Gd-5-tio-D-glicose; d) identificar os órgãos-alvos de cada radiofármaco e e) investigar as aplicações terapêuticas dos complexos ^{153}Sm -5-tio-D-glicose e ^{166}Ho -5-tio-D-glicose.

7 – REFERÊNCIAS

- [1] OZKER, K.; COLLIER, B. D.; LINDNER, D. J.; KABASAKAL, L.; LIU, Y.; KRASNOW, A. Z.; HELLMAN, B. S.; EDWARDS, D. S.; BOURQUE, C. B.; CRANE, P. D. Tc-99m-labeled 5-thio-D-glucose, *J. Nucl. Med.*, n. 39, p.217, 1998.
- [2] ORLAND, C.; CRANE, P.; EDWARDS, D.; PLATTS, S.; BERNARD, L.; LAZEWATSKY, J.; THOOLEN, M. Early scintigraphic detection of experimental myocardial infarction in dogs with technetium-99m-glucaric acid, *J. Nucl. Med.*, n.32, p.263-268, 1991.
- [3] KHAW, B. A.; NAKAZAWA, A.; O'DONNELL, S. M.; PAK, K. Y.; NARULA, J. N. Avidity of technetium 99m glucarate for the necrotic myocardium: and in vivo assessment, *J. Nucl. Cardiol.*, n.4, p.283-290, 1997.
- [4] YAOITA, H.; UEHARA, T.; BROWNE, A. L.; RABITO, C. A.; AHMAD, M.; KHAW, B. A.; FISCHMAN, A. J.; STRAUS, H. W. Localization of technetium-99m-glucarate in zones of acute cerebral injury, *J. Nucl. Med.*, n.32, p.272-278, 1991.
- [5] LEVEILLE, J.; PISON, C.; KARAKAND, Y.; LEMIEUX, R.; VALLIERES, B. Technetium-99m glucoheptonate in brain-tumor detection: An important advance in radiotracer technique, *J. Nucl. Med.*, n.18, p.957-961, 1977.
- [6] BEANLANDS, R. S. B.; CORADO, T. D.; BIELAWSKI, L.; JOHANSEN, H.; Differentiation of myocardial ischemia and necrosis by technetium 99m glucaric acid kinetics, *J. Nucl. Cardiol.*, n.4, p.274-282, 1997.
- [7] ROBINA, I.; VOGEL, P.; WITCZAK, Z. Synthesis and Biological Properties of Monothiosaccharides, *Current Organic Chemistry*, vol. 5, n. 12, p.1177-1214, 2001
- [8] SCHWARZ, J. C. P.; YULE, K. C. *Proc. Chem. Soc.*, p.417, 1961.
- [9] ADLEY, T. J.; OWEN, L. N. *Proc. Chem. Soc.*, p.418, 1961.
- [10] BENZ, G.; BORN, L.; BRIEDEN, M.; GROSSER, R.; KURZ, J.; PAULSEN, H.; SINNWELL, V.; WEBER, B. *Liebigs Ann. Chem.*, p.1408, 1984.
- [11] CAPON, R. J.; MACLEOD, J. K. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, p.1200, 1987.
- [12] YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; SHIMADA, H.; MATSUDA, H.; YAMAHARA, J.; TANABE, G.; MURAKO, O. *Tetrahedron Lett.*, n.38, p.8367, 1997.
- [13] CLAYTON, C. J.; HUGHES, N. A. *CARBOHYDR. RES.*, n.4, p.32, 1967.
- [14] LAMBERT, J. B.; WHARRY, S. M. Conformational Analysis of 5-Thio-D-Glucose. *J. Org. Chem.*, n.46, p.3193-3196, 1981.
- [15] BELLAMY, F.; HORTON, D.; MILLET, J.; PICARD, F.; SAMRETH, S.; CHAZAN, J. B. *J. Med. Chem.*, n.36, p.898, 1993.
- [16] EDWARD, J. T. *CHEM. IND.* London, p.1102, 1955.
- [17] LE QUESTEL, J.Y.; MOUHOU-SRIOU, N.; PÉREZ, S. *Carbohydr. Res.*, n.35, p.284, 1996.
- [18] CIRERO, D.; VARELA, O. *Tetrahedron*, n.46, p.8019, 1990;
- [19] WOODS, R. J.; SMITH, V. H.; SZAREK, W. A.; FARAZDEL, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p.937, 1987.
- [20] SUZUKI, M.; WHISTLER, R. L. *Carbohydr. Res.*, n.22, p.473, 1972.

-
- [21] VEGH, L.; HARDEGGER, E. *Helv. Chim. Acta*, n.56, p.2020, 1973.
- [22] CHUNG, C.; WHISTLER, R. L. An Alternate Synthesis of 5-Thio-D-glucose Pentaacetate, *J. Org. Chem.*, vol. 38, n.4, 1973.
- [23] WHISTLER, R. L.; NAYAK, U. G.; Improved Syntheses of 5-thio-D-glucose. *J. Org. Chem.*, vol. 34, n.1, 1969.
- [24] DRIGUEZ, H.; HENRISSAT, B. A Novel Synthesis Of 5-thio-D-glucose, *Tetrahedron Letters* ,Vol.22 ,n.50, p.5061-5062,1981.
- [25] SIGMA-ALDRICH. Disponível em: <www.sigma-aldrich.com>. Acesso em: 08 mar. 2007.
- [26] WHISTLER, R. L.; LAKE, W. C.: Inhibition of cellular transport processes by 5-thio-D-glucopyranose. *Biochem J.*,n. 130, p.919-925, Dec. 1972.
- [27] NAGLE, W. A.; MOSS, A. J. JR.; ROBERTS, H. G., JR.; B.A.; BAKER, M. L.; Effects of 5-Thio-D-Glucose on Cellular Adenosine Triphosphate Levels and Deoxyribonucleic Acid Rejoining in Hypoxic and Aerobic Chinese Hamster Cells. *Radiology*, n. 137, p.203-211, october, 1980.
- [28] CHEN, M.; WHISTLER, R. L.: Action of 5-thio-o-glucose and Its 1-phosphate with hexokinase and phosphoglucomutase. *Arch Biochem Biophys*, n.169, p.392-396, Aug. 1975.
- [29] SONG, C. W.; CLEMENT, J. J.; LEVITT, S. H. Cytotoxic and radiosensitizing effects of 5-thio-D-glucose on hypoxic cells. *Radiology*, n.123, p.201-205, april 1977.
- [30] LAMBERT, J. B.; WHARRY, S. M.; Conformational analysis of 5-thio-D-glucose. *J. Org. Chem.* 1981, 46, 3193-3196.
- [31] MAUGH, T. 5-thio-o-glucose: a unique male contraceptive. *Science*, n.186, p.431, Nov. 1974.
- [32] ZYSK, J. R.; BUSHWAY, A. A.; WHISTLER, R. L.: Temporary sterility produced in male mice by 5-thio-o-glucose. *J Reprod Fert*, n.45, p.69-72, Oct. 1975.
- [33] SCHULZ, R. J.; BONGIORNI, P. The combined effects of oxygen tension, X radiation and 5-thio-D-glucose on the survival of mammalian cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, n.8, p.491-4, Mar-Apr 1982.
- [34] SCHUMAN, V. L.; LEVITT, S. H.; SONG, C. W. The radioprotective effect of 5-thio-D-glucose on normal tissue in vivo. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, n.8, p.589-91, Mar-Apr 1982.
- [35] MARKOE, E; RISCH, V. R.; HEINDEL, N. D.; EMRICH, J.; LIPPINCOTT, W.; HONDA, T.; BRADY, L. W.: Biodistribution and pharmacokinetics of S-35 labeled 5-thio-D-glucose in hamsters bearing pancreatic tumors. *J Nucl Med.*, n.20, p.753-60, 1979.
- [36] SAHA, GOPAL B. *Fundamentals of nuclear pharmacy*. 4th. ed. Springer. 1997.
- [37] ZIESSMAN, H. A.; THRALL, J. H. *Medicina Nuclear*. 2. ed.. Guanabara. 2001.
- [38] OZKER, S.K.; COLLER, B.D. US patent 6099822. Imaging methods and compositions. August 8, 2000. Disponível em < <http://www.patentstorm.us/patents/6099822-fulltext.html> >. Acesso em: 8 mai. 2007.
- [39] ATKINS, H.L. Overview of nuclides for bone pain palliation, *Appl. Radiat. Isot.* n.49, p.277-283, 1998.
- [40] SPENCER, R.P. Short-lived radionuclides in therapy, *Nucl. Med. Biol.* n.14, p.537-538, 1987.
- [41] TROUTNER, D.E. Chemical and physical properties of radionuclides. *Nucl. Med. Biol.* n.14, p.171-176, 1987.
-

-
- [42] DEUTSCH, E., BRODACK, J.W., DEUTSCH, K.F. Radiation synovectomy revisited., *Eur. Nucl. Med.* n.20, p.1113–1127, 1993.
- [43] KNAPP, F.F. JR., MIRZADEH, S., BEETS, A.L. Reactor production and processing of therapeutic radioisotopes for application in nuclear medicine. *J. Rational. Nucl. Chem.*, n.10, p.19–32, 1996.
- [48] LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY. Gadolinium. Disponível em: < <http://periodic.lanl.gov/elements/64.html> >. Acesso em: 15 ago. 2007.
- [45] SARASWATHI, P., NARASIMHAN, D.V.S., BALASUBRAMANIAN, P.S., RANGANATHA, D.K., NAYAK U.N., PATEL R.B., RAMANATHAN P. Preparation and evaluation of ¹⁵³Sm-EDTMP using natural Sm₂O₃ targets- Applicability for palliative treatment of metastatic bone pain. *Indian. J. Nucl. Med.* n.12, p.191–197, 1997.
- [46] MAJALI, M.A., MATHAKAR, A.R., SAMUEL, G., BANERJEE, S., PILLAI, M.R.A., SHIMPI, H.H., NORONHA, O.P.D. SAMUEL A.M. ¹⁵³Sm Complexes of phosphonic acid ligands. International Seminar on “Therapeutic Applications of radiopharmaceuticals” IAEA, Hyderabad, India. 1999.
- [47] MACEDO A.; ARAÚJO A.; CARVALHO F.; NUNES G.; CANTINHO G.; AMORIM I. ANÁLISE CUSTO-EFECTIVIDADE DO SAMÁRIO-153-EDTMP VERSUS TERAPÊUTICA CONVENCIONAL DA DOR. *Acta Med Port.*, n.19, p.421-426, 2006.
- [48] FUSTER D, HERRANZ R, ALCOVER J, MATEOS JJ, MARTÍN F, VIDAL-SICART S ET AL. Tratamiento del dolor óseo metastásico con dosis repetidas de Estroncio-89 en pacientes con neoplasia de próstata. *Rev Esp Med Nuclear*; n.19, p.270-4, 2000.
- [49] SHARMA, A.; MAKWANE, U. K; SHARMA N. Aortic dissection-contrast enhanced 3D MR angiography - a case report. *Indian J Radiol Imaging*, n.13, p.147-149. Oct 2003.
- [50] GUIU, B.; LOFFROY, R.; BEN SALEM, D.; LEPAGE, C.; GUIU, S.; AHO, S.; JOUVE, J.L.; KRAUSÉ, D.; CERCUEIL, J.P. Combined SPIO-gadolinium magnetic resonance imaging in cirrhotic patients: negative predictive value and role in screening for hepatocellular carcinoma. *Abdom Imaging. PMID*, n.17912584, Oct 2007.
- [51] LEBDUKOVÁ, P.; HERMANN, P.; HELM, L.; TÓTH, E.; KOTEK, J.; BINNEMANS, K.; RUDOVSKÝ, J.; LUKE, I.; MERBACH, A. Gadolinium(III) complexes of mono- and diethyl esters of monophosphonic acid analogue of DOTA as potential MRI contrast agents: solution structures and relaxometric studies. *Dalton Trans.*, p.493 - 501, 2007.
- [52] GRANOT D, ADDADI Y, KALCHENKO V, HARMELIN A, KUNZ-SCHUGHART LA, NEEMAN M. In vivo imaging of the systemic recruitment of fibroblasts to the angiogenic rim of ovarian carcinoma tumors. *Cancer Research*, n.67, p.9180-9189, October 1, 2007.
- [53] ASSFALG M.; GIANOLIO E.; ZANZONI S.; TOMASELLI S.; RUSSO V.; CABELLA C.; RAGONA L.; AIME S.; MOLINARI H. NMR Structural Studies of the Supramolecular Adducts between a Liver Cytosolic Bile Acid Binding Protein and Gadolinium(III)-Chelates Bearing Bile Acids Residues: Molecular Determinants of the Binding of a Hepatospecific Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent. *J. Med. Chem.*, ASAP Article 10.1021/jm070397i S0022-2623(07)00397-4.
- [54] FRIGHETTO L.; GRANDE C.; SOLBERG ; CABATAN-AWANG C.; SELCH ; WALLACE R.; FORD J. Radiosurgery and Stereotactic Radiation Therapy of Skull Base Meningiomas: Proposal of a Grading System. *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, n.76, p.218-229, 2001.
- [55] OGASAWARA N.; SUGA K.; KAWAKAMI Y.; YAMASHITA T.; ZAKI M.; MATSUNAGA N. Assessment of regional lung function impairment in airway obstruction and pulmonary embolic dogs with combined noncontrast electrocardiogram-gated perfusion and gadolinium diethylenetriaminepentaacetic acid aerosol magnetic resonance images. *J. Magn. Reson. Imaging*; n.20, p.46-55, 2004.
-

[56] SMITH, M. E., STONE L. A., ALBERT P. S., FRANK J. A., MARTIN R., ARMSTRONG M., MALONI H., MCFARLIN D. E., MCFARLAND H. F., Clinical worsening in multiple sclerosis is associated with increased frequency and area of gadopentetate dimeglumine-enhancing magnetic resonance imaging lesions. *Annals of Neurology*. Vol. 33, n.5, p.480 – 489.

[57] BREITZ B.; WENDT E.; STABIN S.; SHEN S; ERWIN D.; RAJENDRAN G.; EARY F.; DURACK L; DELPASSAND E; MARTIN W; MEREDITH F. ^{166}Ho -DOTMP Radiation-Absorbed Dose Estimation for Skeletal Targeted Radiotherapy, *J Nucl Med*, n.47, p.534–542, 2006.

[58] RAJENDRAN, J G.; EARY, J F.; BENSINGER, W.; DURACK, L D.; VERNON, C.; FRITZBERG, A. High-dose ^{166}Ho -DOTMP in myeloablative treatment of multiple myeloma: pharmacokinetics, biodistribution, and absorbed dose estimation. *J. Nuc. Med.*, n.43, p.1383-90, oct 2002.

[59] GIRALT S.; BENSINGER W.; GOODMAN M.; PODOLOFF D.; EARY J.; WENDT R.; ALEXANIAN RAYMOND, WEBER D.; MALONEY D.; HOLMBERG L.; RAJANDRAN J.; BREITZ H.; GHALIE R.; CHAMPLIN R. ^{166}Ho -DOTMP plus melphalan followed by peripheral blood stem cell transplantation in patients with multiple myeloma: results of two phase 1/2 trials. *The American Society of Hematology* vol.102, n.7, oct 2003.

[60] MUMPER, R.J., BETTY JO A.M., YUN RYO, U., JAY, M., Polymeric microspheres for radionuclide synovectomy containing neutron activated holmium-166. *J. Nucl. Med.* n.33, p.398–402, 1992.

[61] DAS T.; CHAKRABORTY S.; BANERJEE S.; SAMUEL G.; SARMA H. D.; VENKATESH M.; PILLAI M. R. A. Preparation and animal biodistribution of ^{166}Ho labeled DOTA for possible use in intravascular radiation therapy (IVRT). *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, vol. 46, n.3, p.197–209.

[62] SNYDER, L.R. In High-performance chromatography, C.Horváth ed., vol. 3 (New York: Academic Press, 1983); Burdick & Guide, 3rd ed. (Muskegon, MI: Burdick & Jackson Laboratories, 1990)).

[63] ROBERT M.; SILVERSTEIN, G.; BASSLER C.; MORRIL C. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1987.