

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

MARIJA D. MIRKOVIĆ

**SINTEZA NOVIH ALIFATIČNIH DIIMINO-
DIOKSIMA I DIAMINO-DIOKSIMA I
NJIHOVIH HELATNIH KOMPLEKSA SA
PRELAZNIM I RADIOAKTIVNIM
METALIMA: POTENCIJALNA PRIMENA
U MEDICINI**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2014.

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY**

MARIJA D. MIRKOVIĆ

**SYNTHESIS OF NEW ALIPHATIC
DIIMINO-DIOXIMES AND DIAMINO-
DIOXIMES AND THEIR CHELATE
COMPLEXES WITH TRANSITIONAL AND
RADIOACTIVE METAL: POTENTIAL
APPLICATIONS IN MEDICINE**

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2014.

Mentori: dr Dušan Mijin, redovni profesor

Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Nadežda Nikolić, naučni savetnik

Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije: dr Nataša Valentić, docent

Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Sanja Vranješ-Đurić, naučni savetnik

Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane doktorske teze: _____

Ova doktorska disertacija je urađena u Laboratoriji za radioizotope Instituta za nuklearne nauke „Vinča”.

Zahvaljujem se:

mentoru, prof. dr Mijin Dušanu, na stručnim savetima, nesebičnoj podršci, strpljenju, razumevanju i posvećenom vremenu tokom izrade i pisanja teze,

mentoru, dr Nadeždi Nikolić, na izboru teme, podršci, posvećenom vremenu tokom izrade i pisanja teze, kao i celokupnog naučnoistraživačkog rada,

dr Sanji Vranješ-Đurić na iskrenoj podršci, pomoći i stručnim savetima tokom izrade eksperimentalnog dela teze i njenog pisanja.

dr Nataši Valentić na podršci i korisnim sugestijama tokom pisanja ove teze,

dr Zoranu Tomiću, dr Drini Janković i prof. dr Milki Avramov Ivić, na podršci i nesebičnoj pomoći tokom izrade eksperimentalnog dela teze,

kolegama iz Laboratorije za radioizotope Instituta za nuklearne nauke „Vinča”, na razumevanju, podršci i kolegijalnosti.

SINTEZA NOVIH ALIFATIČNIH DIIMINO-DIOKSIMA I DIAMINO-DIOKSIMA I NJIHOVIH HELATNIH KOMPLEKSA SA PRELAZNIM I RADIOAKTIVNIM METALIMA: POTENCIJALNA PRIMENA U MEDICINI

U prvom delu ove teze izvršena je sinteza četiri jedinjenja iz klase diimino-dioksima, čijom redukcijom su dobijena četiri jedinjenja iz klase diamino-dioksima koja do sada nisu bila poznata u literaturi.

Sinteza sva četiri diimino-dioksima je izvedena u protičnom rastvaraču (C_2H_5OH ili CH_3OH), uz refluks ili na sobnoj temperaturi, u atmosferi azota i po potrebi u prisustvu katalitičke količine CH_3COOH . Sinteza u aprotičnom rastvaraču (benzenu) izvedena je samo za dva diimino-dioksima. Redukcijom odgovarajućeg diimino-dioksima sa $NaBH_4$ u $C_2H_5OH_{anh}$, sintetisani su diamino-dioksimi.

Jedinjenja su okarakterisana elementarnom analizom, elektronskom apsorpcionom i IR spektroskopijom, 1H i ^{13}C NMR spektroskopijom.

Sintetisani diamino-dioksimi grade komplekse sa radioaktivnim izotopom ^{99m}Tc . Navedena jedinjenja sadrže četiri atoma azota sa slobodnim parovima elektrona i ponašaju se kao donori elektrona pri građenju koordinativne veze sa $^{99m}Tc(V)$. Zbog navedenog svojstva, ispitivano je da li kompleksi sintetisanih diamino-dioksima sa $^{99m}Tc(V)$ mogu imati primenu u SPECT dijagnostičkoj nuklearnoj medicini. U okviru ove faze istraživanja izvršene su sledeće aktivnosti: obeležavanje diamino-dioksima sa $^{99m}Tc(V)$, određivanje prinosa obeleženih jedinjenja, određivanje stabilnosti nagrađenih kompleksa, određivanje lipofilnosti i proteinskog vezivanja obeleženih jedinjenja i praćenje biološke raspodele (biodistribucije) na eksperimentalnim životinjama.

Jedinjenja iz klase diimino-dioksima, lako grade komplekse sa prelaznim metalima, samim tim i sa $Cu(II)$. To je veoma značajno jer bi sintetisana jedinjenja diimino-dioksimske strukture zbog navedenog svojstva mogla biti lako obeležena i radioaktivnim izotopom ^{64}Cu i imati potencijalnu primenu u PET dijagnostičkoj nuklearnoj medicini. Sintetisani su kompleksi jednog odabranog diimino-dioksima i dvovalentnih metala $Cu(II)$,

Co(II) i Ni(II). Kompleksi su okarakterisani elementarnom analizom, IR spektroskopijom i cikličnom voltametrijom. Struktura kompleksa odabranog diimino-dioksima sa Cu(II) u čvrstom stanju je određena primenom metoda rendgensko-strukturne analize na monokristalu. Poređenje kristalne strukture dobijenog jedinjenja sa strukturno sličnim Cu(II) kompleksima ukazuje na uticaj slabe $\text{Cu} \cdots \text{O}(\text{ClO}_3)$ interakcije na strukturna svojstva $\text{Cu}_2\text{O}_2\text{N}_2$ metalocikla. Strukture kompleksa odabranog diimino-dioksima sa Ni(II) i Co(II) su pretpostavljene, jer se nije mogla izvršiti rendgenska strukturna analiza.

Ključne reči: sinteza, diimino-dioksim, diamino-dioksim, nuklearna medicina, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, helatni kompleks, Cu(II), monokristal.

Naučna oblast: hemija i hemijska tehnologija.

UDK broj: 547.

SYNTHESIS OF NEW ALIPHATIC DIIMINO-DIOXIMES AND DIAMINO-DIOXIMES AND THEIR CHELATE COMPLEXES WITH TRANSITIONAL AND RADIOACTIVE METAL: POTENTIAL APPLICATIONS IN MEDICINE

In this thesis, the synthesis of four compounds from classes of diimine-dioximes have been given, and additionally after their reduction four compounds from classes of diamine-dioximes have been obtained, which have not been so far known in the literature.

The synthesis of all four diimine-dioximes have been performed in a protic solvent (CH_3OH or $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), at reflux or at room temperature, under nitrogen atmosphere, and optionally in the presence of a catalytic amount of CH_3COOH . The synthesis in an aprotic solvent (benzene) has been performed for only two diimine-dioximes. After reduction of the corresponding diimine-dioximes with NaBH_4 in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$, diamine-dioximes have been obtained.

All obtained compounds have been characterized by elemental analysis, electronic absorption and IR spectroscopy, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy.

Synthesized diamino-dioximes form complexes with radioactive isotope $^{99\text{m}}\text{Tc}$. They contain four nitrogen atoms with free electron pairs and therefore act as electron donors in coordinating links with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (V). Because of this property, it have been examined whether the synthesized complexes with diamino-dioximes and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (V) may be used in the SPECT diagnostic nuclear medicine. For this purposes the following activities have been carried out: the labelling diamino-dioximes with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (V), the determination of the yield of labeled compounds, the determination of the stability of formed complexes, the determination of lipophilicity and protein binding of labeled compounds and biological monitoring of distribution (biodistribution) in experimental animals.

Compounds from the class of diimine-dioximes easily form complexes with transition metals, and therefore with Cu(II) . This is very important because the synthesized compounds with diimines-dioxime structure could be easily labeled with radioactive isotope ^{64}Cu and could potentially be used in PET diagnostic nuclear medicine. Complexes

of one selected diimine-dioxime and divalent metals of Cu(II), Co(II) and Ni(II) have been synthesized and characterized by elemental analysis, IR spectroscopy and cyclic voltammetry. The structure of the complex of selected diimine-dioxime with Cu(II) in the solid state has been determined using the method of X-ray-structural analysis of the single crystal. Comparison of the crystal structure of the compound obtained from the structurally related Cu(II) complexes indicated the low influence of $\text{Cu} \cdots \text{O}(\text{ClO}_3)$ on the structural properties of the interaction $\text{Cu}_2\text{O}_2\text{N}_2$ metallocycle. The structures of complexes of selected diimine-dioxime with Ni(II) and Co(II) have been predicted, because single crystals have not been of sufficient quality to perform X-ray structural analysis.

Keywords: synthesis, diimino-dioxime, diamino-dioxime, nuclear medicine, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, chelate complex, Cu (II), single crystal.

Area of science: chemistry and chemical technology.

UDC number: 547.

Lista skraćenica

SPECT (single photon emission computerized tomography) → monofotonska emisiona kompjuterska tomografija

PET (positron emission tomography) → pozitronska emisiona tomografija

HMPAO → 3,6,6,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion bis oksim

PnAO → 3,3,9,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion bis oksim

BnAO → 4,9-diaza-3,3,10,10-tetrametildodekan-2,11-dion bis oksim

EnAO → 3,3,8,8-tetrametil-4,7-diazadekan-2,9-dion bis oksim

ECD → etil-cisteinat dimer

DOTANOC → [1,4,7,10-tetraazaciklododekan-1,4,7,10-tetrasircetna kiselina]-1-NaI-octreotrid

FDG → fluor-2-deoksiglukoza

KO → 2-hidroksiimino-3-pentanon

KO-1 → 2,3-butandion monoksim

DI-1 → 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksim

L-1 → 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim

DI-2 → 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim

L-2 → 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim

DI-3 → 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksim

L-3 → 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksim

DI-4 → 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksim

L-4 → 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksim

HPLC (high-performance liquid chromatography) → visokoeфикасна tečna hromatografija

HSA → humani serum albumin

PreH → 2,10-dioksimino-3,9-dimetil-4,8-diazaundeka-3,8-dien

Me₂MEKPreH → 5,13-dioksimino-6,9,9,12-tetrametil-7,11-diazaheptadeka-6,11-dien

ITLC → tankoslojna hromatografija

PC → papirna hromatografija

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	5
2.1. Imini (Schiff-ove baze)	6
2.2. Oksimi	11
2.3. Reakcija sinteze diamino-dioksima	17
2.4. Nuklearna medicina: SPECT i PET dijagnostika	20
2.5. Kompleksi organskih jedinjenja sa tehnecijumom-99m	23
2.6. ^{99m}Tc radiofarmaceutici za scintigrafiju mozga	27
2.7. Kompleksna jedinjenja	31
2.8. Koordinaciona hemija Cu(II) kompleksa	34
2.9. Kompleksi diimino-dioksima	36
3. EKSPERIMENTALNI DEO	39
3.1. Materijal	40
3.2. Aparati	44
3.3. Metode	45
3.4. Sinteze	47
3.4.1. Sinteza 2-hidroksiimino-3-pentanona (KO)	47
3.4.2. Sinteza 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksima (DI-1)....	47
3.4.3. Sinteza 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima (L-1)	48
3.4.4. Sinteza 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima	
(DI-2)	48

3.4.5. Sinteza 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima (L-2)	49
3.4.6. Sinteza 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksima (DI-3)	50
3.4.7. Sinteza 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima (L-3).....	50
3.4.8. Sinteza 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksima (DI-4)	50
3.4.9. Sinteza 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima (L-4)...	51
3.4.10. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II) (1)	51
3.4.11. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Ni(II) (2)	52
3.4.12. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Co(II) (3)	52
3.5. Kompleksi sintetisanih diamino-dioksima sa tehnecijumom-99m	52
3.6. Određivanje prinosa primarnih ^{99m} Tc-diamino-dioksimskih kompleksa	53
3.7. Visokoefikasna tečna hromatografija (HPLC)	54
3.8. In vitro stabilnost primarnih ^{99m} Tc-diamino-dioksimskih kompleksa	54
3.9. Vezivanje primarnih ^{99m} Tc-diamino-dioksimskih kompleksa za proteine	55
3.10. Elektroforeza.....	55
3.11. Određivanje lipofilnosti primarnih ^{99m} Tc-diamino-dioksimskih kompleksa ...	55
3.12. Biološka raspodela primarnih ^{99m} Tc-diamino-dioksimskih kompleksa	56
3.13. Job-ova metoda za određivanje stehiometrije u sintetisanim kompleksima	57
 4. REZULTATI I DISKUSIJA	 58
 4.1. Sinteza jedinjenja 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima	 60
4.2. Kompleksi 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima sa tehnecijumom-99m	68

4.3. In vivo ispitivanje kompleksa 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima sa tehnećijumom-99m	80
4.4. Sinteza jedinjenja 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima i 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima	84
4.5. Kompleksi 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima i 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima sa tehnećijumom-99m	92
4.6. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)	95
4.7. Karakterizacija i elektrohemijsko ispitivanje kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)	98
4.8. Analiza kristalne strukture kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)	100
4.9. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Ni(II) i Co(II)	108
4.10. Karakterizacija i elektrohemijsko ispitivanje kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Ni(II) i Co(II)	114
5. ZAKLJUČAK	117
6. LITERATURA	120
7. PRILOZI	131
Biografija.....	161

1. UVOD

Opšte je poznato korišćenje radiofarmaceutičkih lekova (radiofarmaceutika) u nuklearnoj medicini u terapijske i dijagnostičke svrhe. Radiofarmaceutici su najčešće kompleksi organskih jedinjenja i odgovarajućeg radionuklida. Tehnecijum-99m (^{99m}Tc) je radionuklid koji se najviše koristi u *in vivo* dijagnostičkoj nuklearnoj medicini. Sam postupak građenja kompleksa tehnecijuma-99m i organskog jedinjenja (obeležavanje radioaktivnim izotopima, radioaktivno obeležavanje) obuhvata redukciju slabo reaktivnog pertehnetatnog anjona ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) u niže valentno stanje: $^{99m}\text{Tc}^{3+}$, $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ i $^{99m}\text{Tc}^{5+}$, a zatim građenje kompleksa sa odgovarajućim helatizirajućim jedinjenjem.

Činjenica da jedinjenja tipa diamino-dioksima u obliku radioaktivnih kompleksa, imaju značajnu primenu u SPECT dijagnostici (single photon emission computerized tomography, monofotonska emisija kompjuterska tomografija) u nuklearnoj medicini, pobudila je veće interesovanje za sintezu novih jedinjenja toga tipa. Diamino-dioksima mogu da grade komplekse sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ koji su elektroneutralni, lipofilni i prosečne molarne mase, i kao takvi ispunjavaju sve uslove da mogu proći kroz krvno-moždanu barijeru. U ovoj oblasti su se pokazala kao najznačajnija jedinjenja: 3,3,9,9-tetrametil-4,8-diaza undekan-2,10-dion dioksim (PnAO) i analog 3,6,6,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion dioksim (HMPAO), i sa njima u nuklearnoj medicini počinje primena kompleksa koji u svom sastavu imaju tetradentatna jedinjenja (ligande). Navedena jedinjenja su sintetisana namenski - za scintigrafiju mozga, ali mogu se koristiti i za obeležavanje leukocita [1] u cilju otkrivanja inflamacija.

Osim toga, sve veća je potreba za novim organskim jedinjenjima (ligandima) koji bi sa kratkoživećim radionuklidima gradili komplekse za primenu PET metode (positron emission tomography, pozitronska emisija tomografija) u nuklearnoj medicini. Diimino-dioksim (Shiff-ova baza) koji je sintetisan kondenzacijom 2,3-dimetil-propan-1,2-diamina i heptan-2,3-dion-3-oksima, gradi stabilan, monokatjonski kompleks sa izotopom ^{64}Cu i predstavlja potencijalni PET radiofarmaceutik [2-4]. Zbog svojih izuzetnih potencijala, PET metoda ima značajnu ulogu u savremenoj dijagnostici najtežih i najčešćih (onkoloških, neuroloških i kardioloških) bolesti, pa je važno istraživati nove PET radiofarmaceutike.

U ovoj doktorskoj disertaciji su izložene sinteze četiri diimino-dioksima koji do sada nisu poznati u literaturi, a imaju strukture pogodne za građenje kompleksa sa prelaznim

metalima poput dvovalentnog bakra, a samim tim i za obeležavanje izotopom ^{64}Cu , što bi ih učinilo potencijalnim kandidatima za primenu u PET nuklearno-medicinskoj dijagnostici. Redukcijom diimino-dioksima su sintetisani diamino-dioksimi sa mogućom primenom njihovih kompleksa u SPECT nuklearno-medicinskoj dijagnostici nakon obeležavanja sa izotopom $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$.

Izrada ove doktorske disertacije obuhvata sledeće eksperimentalne faze:

- ✚ Sinteza, izolovanje i karakterizacija četiri diimino-dioksima dobijena na dva načina: u protičnom i aprotičnom rastvaraču.
- ✚ Sinteza, prečišćavanje i karakterizacija kompleksa odabranog diimino-dioksima i dvovalentnih prelaznih metala (Cu(II) , Ni(II) i Co(II)). Ova faza istraživanja daje odgovor o mogućnosti radioaktivnog obeležavanja odabranog, ali i ostalih sintetisanih, a strukturno sličnih diimino-dioksima, sa radioaktivnim izotopom ^{64}Cu , što bi ih učinilo potencijalnim kandidatima za primenu u PET dijagnostici.
- ✚ Sinteza, izolovanje i karakterizacija četiri diamino-dioksima redukcijom diimino-dioksima.
- ✚ Radioaktivno obeležavanje sintetisanih diamino-dioksima (bez prethodne separacije *mezo*- i *dl*-diastereoizomera koji su prisutni zbog postojanja dva hiralna centra u molekulu) sa izotopom $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$. U okviru ove faze istraživanja izvršene su sledeće aktivnosti:
 - priprema, optimizacija uslova i radioaktivno obeležavanje diamino-dioksima sa $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$,
 - određivanje prinosa obeleženih jedinjenja,
 - određivanje stabilnosti obeleženih jedinjenja,
 - određivanje lipofilnosti i proteinskog vezivanja obeleženih jedinjenja,
 - praćenje biološke raspodele (biodistribucije) obeleženih jedinjenja na eksperimentalnim životinjama.

Ova faza istraživanja daje odgovor o mogućnosti primene sintetisanih kompleksa u SPECT nuklearno-medicinskoj dijagnostici.

Za identifikaciju i karakterizaciju sintetisanih jedinjenja (liganada) i kompleksa primenjene su sledeće metode: mikroanaliza, elektronska apsorpciona i IR spektroskopija,

^1H i ^{13}C NMR spektroskopija, analiza kristalne strukture kompleksa rendgenskom difrakcionom analizom, ciklična voltametrija i visokoeфикасна течна hromatografija (HPLC).

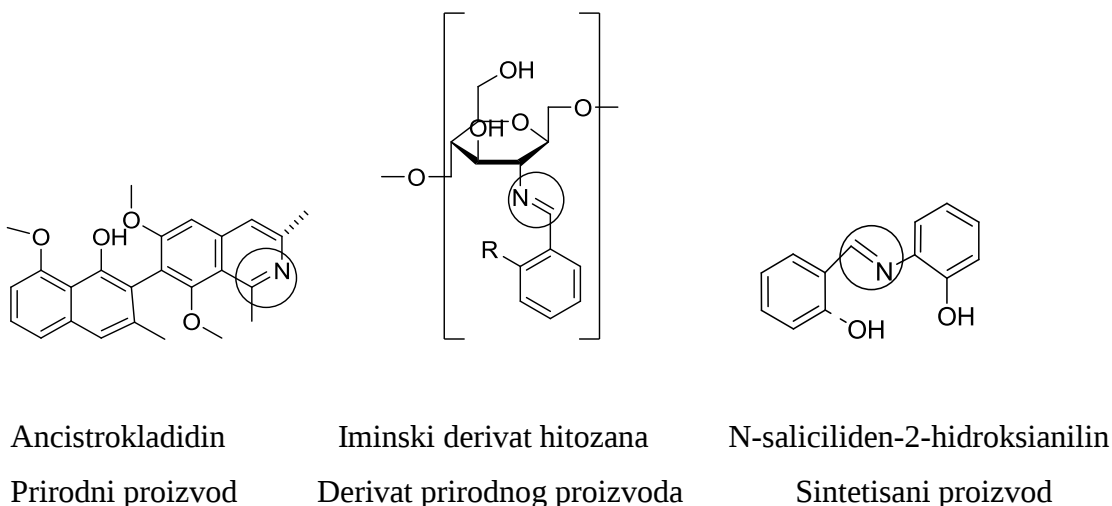
2. OPŠTI DEO

2.1. Imini (Schiff-ove baze)

Imini (stariji naziv je Schiff-ove baze) su jedna od najčešće korišćenih grupa organskih jedinjenja. Sinteza novih Schiff-ovih baza još uvek je fokus mnogih istraživanja zbog njihove široke primene u medicini, industriji, detekciji i identifikaciji jona različitih metala. Jedinjenja tipa Schiff-ovih baza, opšte formule $R_1R_2C=NR_3$, sadrže snažno elektrondonorsko mesto, imino azot, a samim tim poseduju širok spektar bioloških svojstava, uključujući antifungalno [5-8], antibakterijsko [9,10], antitumorsko [11-14], antimalarijsko, antiproliferativno, antiinflamatorno, antivirusno i antipiretičko [15,16] dejstvo. Koriste se kao pigmenti i boje, katalizatori, stabilizatori polimera, intermedijeri u organskim sintezama [15] i za ekstrakciju jona metala [17,18]. Schiff-ove baze predstavljaju veoma važnu klasu helatizirajućih agenasa sa sposobnošću građenja stabilnih kompleksa sa većinom prelaznih metala [19]. Kompleksi prelaznih metala i polidentatnih liganada, kao što su Schiff-ove baze, naročito kod tetradentatnih Schiff-ovih baza, našli su primenu u katalitičkoj hemiji i hemiji materijala [20-23].

Imino grupa je prisutna u različitim prirodnim, derivatima prirodnih i sintetisanim jedinjenjima, a na Slici 1 je prikazano nekoliko primera. Imino grupa prisutna u takvim jedinjenjima je često od ključnog značaja za njihovo biološko dejstvo [24-26].

Hugo Schiff je 1864. godine prvi objavio sintezu imina. Od tada su objavljeni različiti načini za njihovo dobijanje [27]. Klasična sinteza koju je objavio Schiff uključuje kondenzaciju karbonilnog jedinjenja (aldehida ili ketona) sa primarnim aminom uz simultanu eliminaciju vode pomoću Dean-Stark-ovog separatora [28], a mogu se koristiti i molekulska sita u reakcionoj smeši sa istim ciljem [29]. 1990-ih razvijena je *in situ* metoda za eliminaciju vode, koja podrazumeva korišćenje anhidrovanih rastvarača kao što su tetrametil-ortosilikat ili trimetil-ortoformijat [30,31]. 2004. godine Chakraborti i saradnici, pokazali su da efikasnost ovih metoda zavisi od reaktivnosti karbonilnog jedinjenja i nukleofilnosti amina.

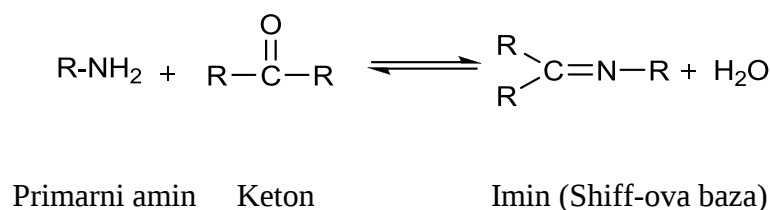


Slika 1. Primeri bioaktivnih Schiff-ovih baza [32]

Isti autori su predložili, kao alternativu, korišćenje Brönsted-Lowry ili Lewis-ovih kiselina za aktivaciju karbonilne grupe aldehida, odnosno, katalizu nukleofilnog napada amina i uklanjanje vode u završnoj fazi [33]. Poslednjih godina objavljen je veliki broj inovacija i novih tehnika u sintezi imina, a među njima je najviše zastupljeno mikrotalasno zračenje zbog jednostavnosti izvođenja sinteze, povećanja brzine reakcije i visoke efikasnosti [34]. Mikrotalasno zračenje je i manji ekološki problem u odnosu na druge metode, jer zamenjuje upotrebu toksičnih aromatičnih rastvarača kao i Dean-Starck-ovog separatora.

Sve češće se sinteza imina odvija u protičnim rastvaračima (etanol, metanol, etil-acetat) [35,36] umesto u aprotičnim rastvaračima (benzen, toluen), jer se na taj način, ostvaruju veći prinosi i dobijaju čistiji sirovi proizvodi.

Strukturno, Schiff-ove baze su azotovi analozi aldehida ili ketona u kojima je C=O grupa zamenjena C=N grupom. Obično nastaju kondenzacijom aldehida ili ketona sa primarnim aminom, prema reakcionoj šemi prikazanoj na Slici 2:

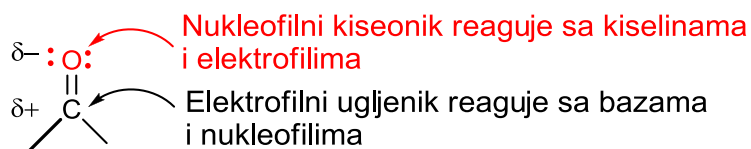


Slika 2. Građenje imina (Shiff-ovih baza)

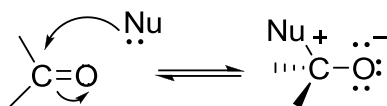
gde R može biti alkil- ili aril-grupa. Shiff-ove baze koje sadrže aril supstituente su stabilnije, brže se sintetišu i imaju izražen efekat konjugacije. Imini koji sadrže alkil supstituente su relativno nestabilni i brzo polimerizuju. Građenje imina je reverzibilan proces i potrebno je preduzeti potrebne mere za pomeranje ravnoteže u željenom smeru. Reakcije se često odvijaju u prisustvu baza ili kiselina kao katalizatora ili uz zagrevanje.

Reakcija se uglavnom odvija kompletnom separacijom produkta ili uklanjanjem vode, ili oboje. Mnoge Shiff-ove baze mogu hidrolizovati ponovo u polazne aldehide (ketone) i amine u vodenim rastvorima kiselina ili baza. Shiff-ove baze su stabilne u inertoj atmosferi. U prisustvu kiseonika ili vode veoma brzo hidrolizuju.

Mehanizam nastajanja Shiff-ovih baza je adiciono-eliminacionog tipa i njega karakteriše brz napad nukleofila i spora eliminacija vode iz intermedijernog proizvoda. U ovom slučaju, nukleofil je amin (Slika 3), a reakcija nukleofilne adicije se odvija na ugljenikovom atomu karbonilne grupe, jer on ima parcijalno pozitivno naelektrisanje (δ^+) (Slika 4).



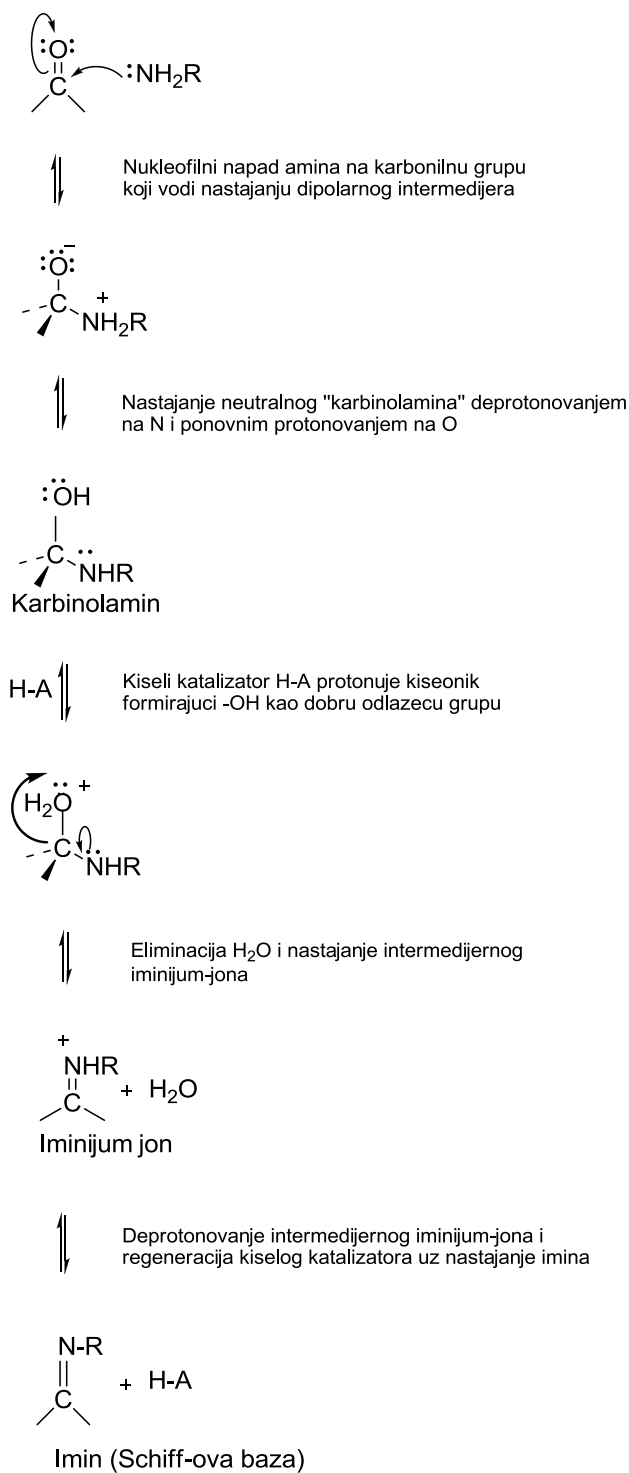
Slika 3. Prikaz karbonilne grupe kao mesta na kome reaguju baza i nukleofil



Slika 4. Reakcija nukleofilne adicije

U prvoj fazi reakcije adicije, amin reaguje sa aldehidom (ketonom) dajući nestabilno intermedijarno jedinjenje „karbinolamin”. U drugoj fazi reakcije dolazi do eliminacije vode iz „karbinolamina” u prisustvu kiseline ili baze kao katalizatora. Ako je „karbinolamin” u alkoholu, odigrava se kiselo katalizovana eliminacija vode. Ova faza je najsporija i kao takva određuje brzinu cele reakcije, a dodatak katalizatora je ubrzava. Ukoliko se koristi kiselina kao katalizator, ne bi trebalo da je bude u višku, jer je amin bazno jedinjenje. Ako je amin protonovan, više nije nukleofil. Ravnoteža se pomera u levo i neutralni „karbinolamin” se ne stvara. Dakle, protonovanje baznijeg azota, vodi samo nazad, u karbonilno jedinjenje. Sinteze mnogih Shiff-ovih baza se najbolje odvijaju u umereno kiseloj sredini. Mehanizam nastajanja imina u kiseloj sredini je prikazan na Slici 5.

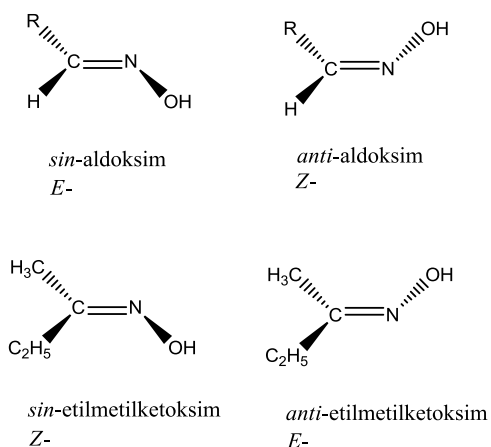
Eliminacija vode iz „karbinolamina” može biti i bazno katalizovana, i reakcija je donekle analogna E₂ mehanizmu eliminacije kod alkil-halogenida [37,38].



Slika 5. Šematski prikaz građenja imina (Schiff-ovih baza) u kiseloj sredini [38]

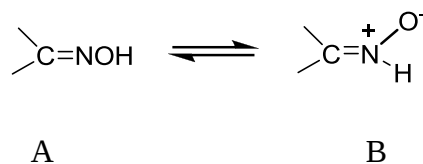
2.2. Oksimi

Oksimi ($RR'C=N-OH$) predstavljaju važnu grupu organskih jedinjenja sa širokim spektrom praktične primene, ali sistematsko ispitivanje strukturne hemije takvih jedinjenja do sada nije izvršeno [39]. Kod oksimske grupe, analogno dvostrukoj vezi kod alkena ($C=C$), takođe, postoji geometrijska izomerija *cis-trans* tipa zbog ograničene rotacije oko $C=N$ veze. Geometrijski izomeri oksima, a kod kojih su samo tri grupe vezane za atome dvostruke veze, označavaju se prefiksima „*syn*” i „*anti*” (umesto *cis* i *trans*). Kod aldoksima *sin* konfiguracija se pripisuje izomeru koji ima H- i OH- sa iste strane dvostruke veze, a kod ketoksima *sin* konfiguracija se pripisuje ako su OH- i alkil-grupa koja se prva navodi u imenu sa iste strane dvostruke veze. Prefiksi *cis*- i *trans*- ne mogu se primeniti kod alkena kada je više od dva različita supstituenta vezano za C-atome dvostruke veze. Za takve slučajeve IUPAC je usvojio alternativni *E,Z*-sistem imenovanja, zasnovan na Cahn-Ingold-Prelog pravilu (CIP sistem prioriteta) [40]. Oksimi se mogu imenovati i po ovom sistemu nomenklature izomera. U tom slučaju, izomer sa grupom višeg prioriteta i OH- grupom na istoj strani dvostruke veze je *Z*-izomer (*zusammen*=zajedno), a drugi je *E*-izomer (*entgegen*= suprotan) [41]. *Z-E* izomerizam na oksimskoj grupi je prikazan na Slici 6.



Slika 6. *Z-E* izomerizam oksimske grupe prema Cahn-Ingold-Prelogovom pravilu

Oksimska grupa je amfoterna jer sadrži slabo bazni azot i slabo kiselu hidroksilnu grupu. Predložene su dve strukture oksima: A i B, koje su u ravnoteži zbog amfoternosti, kao što je prikazano na Slici 7:

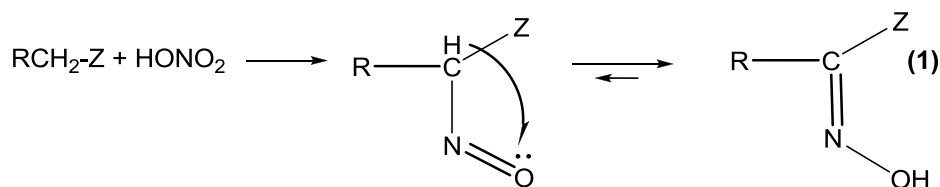


Slika 7. Predložene strukture oksima A i B koje su u ravnoteži [42]

Neki sintetski putevi građenja oksimske grupe su ukratko navedeni u nastavku disertacije [40].

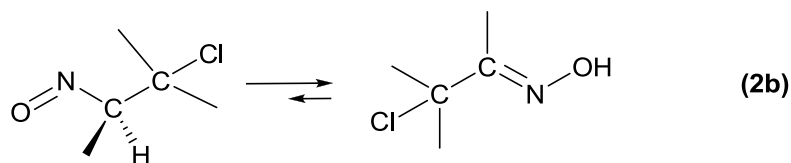
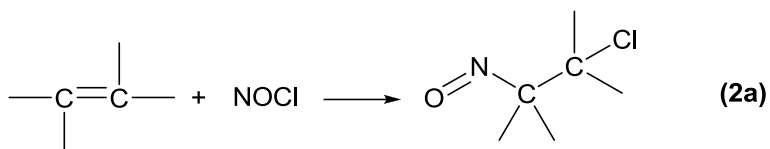
a) Nitrozovanje ugljenika

Atom ugljenika pored Z grupe (gde Z može biti: COOR', COR', CHO, COO⁻, CN, SOOR', SOR', NO₂ ili slične grupe) može se nitrozovati azotastom kiselinom ili alkil-nitratom. Početni produkt je C-nitroso jedinjenje koje je stabilno samo kada ne postoji mogućnost tautomerije nitro-acinitro tipa [43]. Kada postoji mogućnost tautomerije, proizvod reakcije je stabilniji oksim (Reakcija 1).



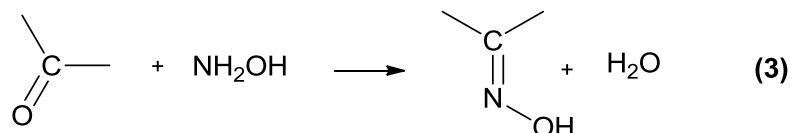
b) Adicija nitrozil-hlorida (NOCl) na olefine

Početni proizvod je uvek β-halo-nitroso jedinjenje koje je stabilno samo ako ugljenik koji je vezan sa azotom nema vodonik (Reakcija 2a). U tom slučaju, nitroso jedinjenje lako prelazi tautomerijom u oksim (Reakcija 2b).



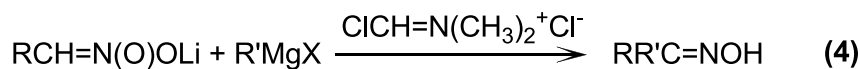
c) *Adicija hidroksilamina na aldehide ili ketone*

Ovo je metoda za sintezu oksimskih jedinjenja koju hemičari najčešće koriste (Reakcija 3).



d) *Adicija Grignard-ovog reagensa na konjugovane baze nitro jedinjenja*

Konjugovane baze nitro jedinjenja nagrađene reakcijom sa BuLi, aktivirane sa Vilsmeier-ovim reagensom $\text{ClCH=N(CH}_3)_2^+\text{Cl}^-$ ((hlorometilen)dimetiliminijum-hlorid) reaguju sa Grignard-ovim reagensom dajući oksime (Reakcija 4).



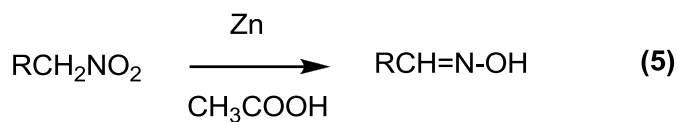
e) *Oksidacija primarnih alifatičnih amina*

Primarni alifatični amini mogu se oksidovati do nitrozo jedinjenja pomoću H_2SO_5 (peroksimonosumporne kiseline) ili H_2O_2 u CH_3COOH . Hidroksilamini, koji su verovatni

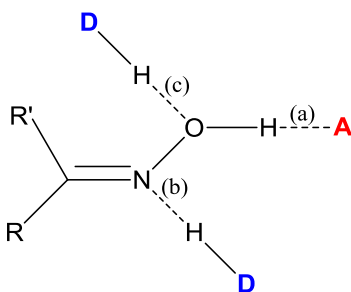
intermedijari u većini slučajeva, mogu ponekad biti izolovani, ali pod ovim uslovima uglavnom se dešava oksidacija do nitrozo jedinjenja. Nitrozo jedinjenje je stabilno samo ako ne postoji vodonik na α -ugljenikovom atomu. U slučaju da postoji, jedinjenje tautomerijom prelazi u oksim.

f) Redukcija alifatičnih nitro jedinjenja

Nitro jedinjenja, koja sadrže vodonik na α -ugljenikovom atomu, mogu biti redukovana do oksima sa cinkom u prahu rastvorenim u CH_3COOH (Reakcija 5), ili sa drugim reagensima, kao što su Co-Cu (II) soli rastvorene u alkandiaminima, $\text{CS}_2\text{-Et}_3\text{N}$ i CrCl_2 .

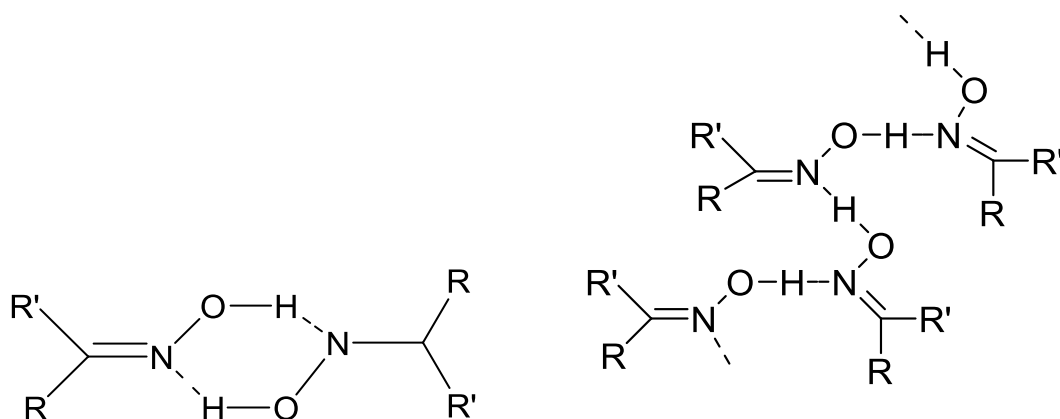


Iako je ranijim istraživanjima dokazana sposobnost oksimske grupe da gradi vodoničnu vezu [44-46], ona je u supramolekularnoj hemiji i kristalografiji [47] manje ispitana u odnosu na druge funkcionalne grupe, kao što su karboksilna [48], amidna [49] i hidroksilna [50]. Oksimi grade tri tipa vodoničnih veza koje su prikazane na Slici 8.

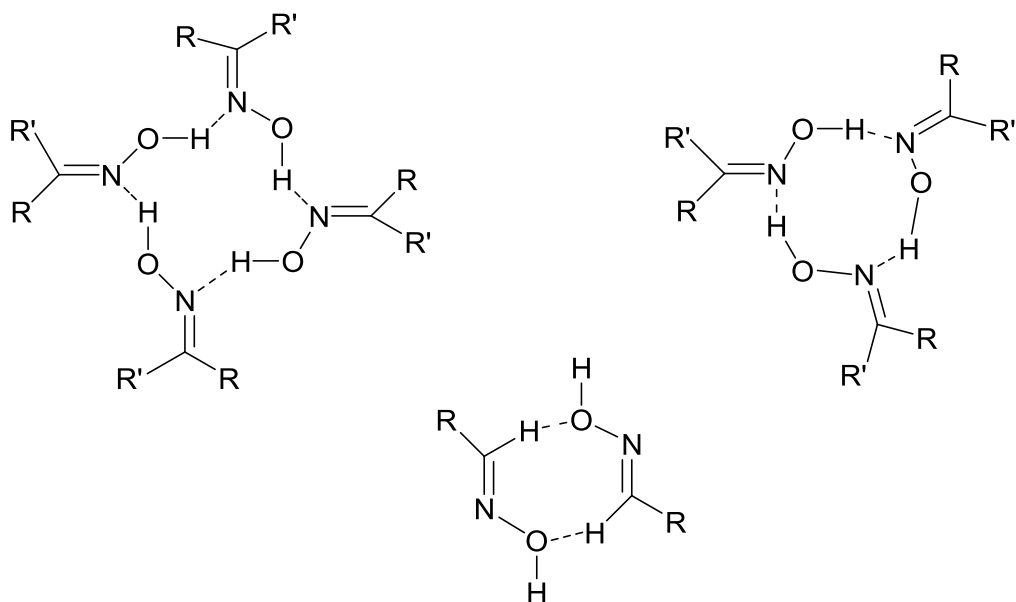


Slika 8. Vodonične veze oksimske grupe (**A**-donor, **D**-akceptor)

Građenje samo vodonične veze tipa $\text{O-H}\cdots\text{A}$ (a) pojavljuje se u slučaju kada je prisutna još jedna jaka akceptorska grupa koja gradi vodoničnu vezu, što je prikazano na primeru piridil oksima [51]. Građenje obe vodonične veze, tipa $\text{O-H}\cdots\text{A}$ i $\text{D-H}\cdots\text{N}$ (b), pojavljuje se usled nedostatka drugih funkcionalnih grupa sa mogućnošću građenja vodonične veze. Na Slici 9 prikazani su uobičajeni načini građenja vodoničnih veza kod oksima, dok su na Slici 10 prikazani načini građenja vodoničnih veza kod oksima koji se ređe pojavljuju.

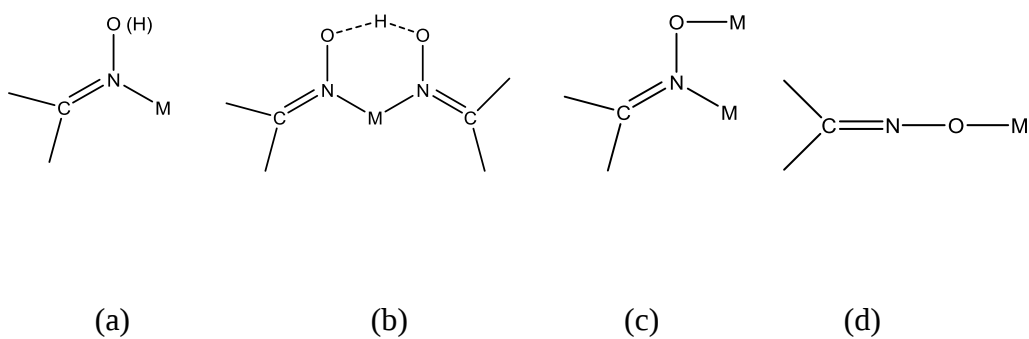


Slika 9. Uobičajeni načini građenja vodoničnih veza kod oksima



Slika 10. Redi načini građenja vodoničnih veza kod oksima

Oksimi, odnosno oksimska grupa može biti povezana sa jonom metala na različite načine [52], a načini koordinacije prikazani su na Slici 11. Oksimska grupa ima dva donorska atoma: azot i kiseonik. Jon metala može koordinirati oba donorska atoma ili svaki od njih ponaosob.



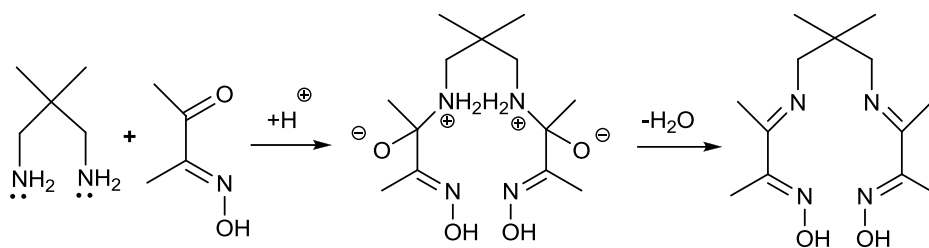
Slika 11. Strukturne formule različitih načina vezivanja oksima sa jonom metala

Strukture (a) i (b) su uobičajene, struktura (c) se pojavljuje kod polinuklearnih kompleksa, dok tipu (d) pripada svega nekoliko vrsta kompleksa. Način koordinacije oksimske grupe mnogo zavisi od ostalih grupa prisutnih u molekulu. Oksimska grupa može biti jedina koordinativna grupa ili može biti praćena ostalim donorskim grupama. Na osnovu toga oksimi mogu biti grupisani na sledeći način: jednostavni oksimi, *vic*-dioksimi, karbonilni oksimi, piridinski oksimi, imino-oksimi, azo-oksimi, hidroksi-oksimi, amino-oksimi i amido-oksimi [53].

2.3. *Reakcija sinteze diamino-dioksima*

Sinteza diamino-dioksima odvija se u dve faze. U prvoj fazi dolazi do kiselo katalizovane kondenzacije diamina i ketoksima, dok u drugoj fazi nastali diimino-dioksim podleže redukciji. Redukuju se samo ketimino grupe, dok ketoksimske grupe ostaju nepromenjene. Na primeru reakcije sinteze 3,6,6,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion dioksima (HMPAO), prikazane su navedene faze.

Prva faza reakcije sinteze diimino-dioksima je adiciono-eliminacionog tipa i ovu fazu karakteriše brzi napad nukleofila i spora eliminacija vode iz intermedijernog proizvoda. Reakcija je kiselo katalizovana da bi se usporila nukleofilna adicija. Naime, protonovanjem amino grupe ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$) gradi se odgovarajuća nereaktivna konjugovana kiselina i tada je napad nukleofila stupanj koji određuje brzinu reakcije. Kisela sredina pomaže eliminaciju, ali usporava adiciju, pa se prinosi ovih reakcija kreću oko 60%. Diamini reaguju sa ketoksimima dajući Shiff-ove baze (diimino-dioksime), tako 2,2-dimetil-1,3-propan diamin reaguje sa 2,3-butadion monoksimom i daje 4,8-diaza-3,6,6,9-tetrametilundekan-3,8-dien-2,10-dion dioksim, što je prikazano na Slici 12:

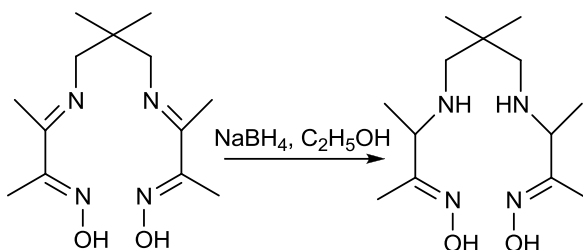


Slika 12. Šema prve faze sinteze HMPAO

Ova reakcija se izvodi u anhidrovanim uslovima i u inertoj atmosferi azota. Aparatura je snabdevena Dean-Stark-ovim separatorom. Kao rastvarač koristi se anhidrovani benzen, katalizator je CH_3COOH , reakciona smeša se zagreva uz refluks pri čemu dolazi do izdvajanja vode u Dean-Stark-ovom separatoru [54].

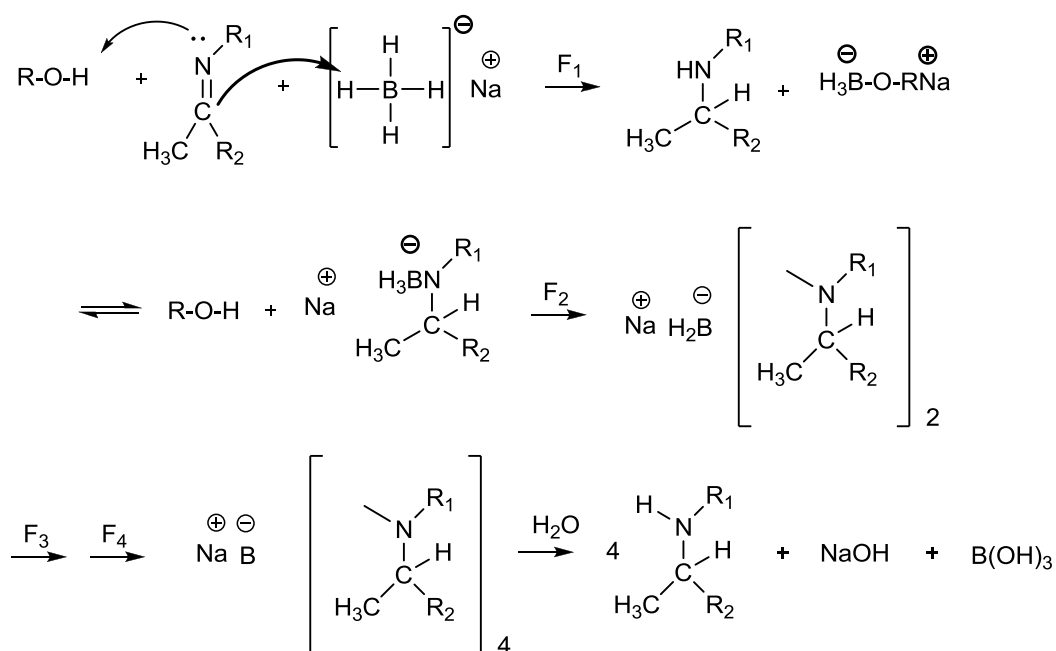
Mnogo veća čistoća i veći prinos sirovog proizvoda diimino-dioksima (oko 80%) se postiže u modifikovanom postupku gde se reakciona smeša 2,2-dimetil-1,3-propan diamina i 2,3-butadion monoksima u protičnom rastvaraču ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) zagreva uz refluks 30 minuta u prisustvu *p*-toluensulfonske kiseline kao katalizatora [55].

Druga faza sinteze je redukcija diimino-dioksima do diamino-dioksima, odnosno 4,8-diaza-3,6,6,9-tetrametilundekan-3,8-dien-2,10-dion dioksima do 3,6,6,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion dioksima (HMPAO), što je prikazano na Slici 13. Postupkom redukcije sa NaBH_4 u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ postiže se hemoselektivnost, odnosno redukuju se ketimino grupe do sekundarnih amina, dok ketoksimske grupe ostaju nepromenjene.



Slika 13. Šema druge faze sinteze HMPAO

Borohidridi alkalnih metala (hidridi metala) su nukleofilni agensi koji redukuju polarne nezasićene veze prenoseći hidridni anjon na parcijalno pozitivni ugljenikov atom. Sva četiri vodonikova atoma iz hidrida metala učestvuju u reakciji i zato se reakcija odvija u četiri stupnja, a brzinu reakcije određuje stupanj F_1 kao najsporiji. Prenos hidridnog anjona na ugljenikov atom vrši se uz prethodno ili istovremeno protonovanje azota protogenim rastvaračem. Ukoliko je reakcija sporija utoliko sterne smetnje polaznog jedinjenja više utiču na tok reakcije. Mehanizam redukcije ove klase jedinjenja šematski je prikazan na Slici 14 [56].



Slika 14. Mehanizam redukcije imina sa NaBH_4 u protičnom rastvaraču

2.4. Nuklearna medicina: SPECT i PET dijagnostika

Nuklearna medicina je intrerdisciplinarna oblast medicine u okviru koje se radioaktivni izotopi (radionuklidi) koriste u dijagnostičke i terapijske svrhe. Radionuklidi se primenjuju u obliku radiofarmaceutika. Radiofarmaceutici su najčešće kompleksi organskih jedinjenja i odgovarajućeg radionuklida, pri čemu njihove karakteristike zavise od svojstava obe komponente. Zbog činjenice da imaju *in vivo* primenu, radiofarmaceutici moraju da zadovolje sve potrebne kriterijume kontrole kvaliteta konvencionalnog leka, odnosno da ispune uslove kao što su: sterilnost, apirogenost, netoksičnost, izotoničnost i optimalni pH. Pored toga, zbog prisustva radioaktivne komponente, oni moraju da poseduju visoku radiohemijsku i radionuklidnu čistoću. U nuklearnoj medicini se skoro 95% radiofarmaceutika koristi u dijagnostičke svrhe, dok se ostatak koristi u terapiji. Dijagnostički radiofarmaceutici nemaju farmakološko dejstvo, u organizam se unose u veoma malim količinama i većina ne podleže metaboličkim promenama. Mehanizmi biodistribucije radiofarmaceutika su različiti i zavise od fizičko-hemijskih svojstava jedinjenja koja se obeležavaju, svojstava radioaktivnog izotopa, anatomskih i funkcijskih karakteristika organa. Glavni zahtev pri izboru dijagnostičkog radiofarmaceutika je da se selektivno nakuplja u ispitivanom organu, i da, uz što manju dozu zračenja po pacijenta i osoblje, pruže što je moguće više korisnih informacija. Većina radionuklida koji se koriste u medicini dobijeni su nuklearnim transformacijama koje se odigravaju u nuklearnim reaktorima ili akceleratorima. Neki radionuklidi su dobijeni eluiranjem iz generatora u kojima su roditelji radionuklidi dobijeni u reaktorima ili akceleratorima. $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator je najčešće korišćeni radionuklidni generator u nuklearnoj medicini širom sveta još od 1965. godine kada je prvi put uveden u komercijalnu upotrebu. Njegovim eluiranjem dobija se $^{99\text{m}}\text{Tc}$ koji je već decenijama nezamenljiv u dijagnostici. Fizičko-hemijska svojstva tehnecijuma-99m, kratko vreme poluraspada (6h) i energija gama fotona (142 keV) koja je pogodna za detekciju γ -kamerom, čine ga skoro idealnim radionuklidom za nuklearno-medicinska ispitivanja. Najčešće indikacije za primenu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -radiofarmaceutika

u dijagnostici su: scintigrafija mozga, štitaste žlezde, miokarda, pluća, jetre, slezine, bubrega, skeleta, pljuvačnih žlezda, itd [57-62].

Monofotonska emisiona kompjuterska tomografija je dijagnostička tehnika koja se koristi u nuklearnoj medicini, a zasnovana je na detekciji γ -zračenja upotrebom poziciono osetljivog γ -detektora. Ovom tehnikom, nakon intravenskog injektovanja radiofarmaceutika, upotrebom kolimatora vrši se merenje radioaktivnog zračenja, koje dolazi samo iz ispitivanih delova tela ili pojedinih delova organa pacijenta. Scintilacije, nastale u scintilacionom detektoru (γ -detektoru), stvaraju u fotomultiplikatorima električne impulse koji se dalje, kompjuterskom rekonstrukcijom, pretvaraju u SPECT snimak - scintigram. ^{99m}Tc se koristi u oko 85% dijagnostičkih procedura u nuklearnoj medicini, odnosno, u svetu se godišnje obavi oko 20 miliona dijagnostičkih procedura koristeći ovaj radionuklid. U zavisnosti od vrste oboljenja i organa koji se ispituje, neophodno je primeniti odgovarajući radiofarmaceutik koji se selektivno nakuplja u ispitivanom organu. Na primer, kompleks $^{99m}\text{Tc(V)}$ sa HMPAO prolazi kroz krvno-moždanu barijeru mehanizmom pasivne difuzije, ulazi u krvne sudove mozga, tako da je moguće pratiti moždani protok krvi. Zato se navedeni radiofarmaceutik koristi za ispitivanje cerebrovaskularnih oboljenja. Sa ovim radiofarmaceutikom mogu se obeležiti i leukociti (*in vitro*), a zatim injektovati u pacijenta sa ciljem *in vivo* vizualizacije infektivnih žarišta.

Dijagnostička tehnika u usponu je *pozitronska emisiona tomografija*. Primenom biološki aktivnih supstanci obeleženih pozitronskim emiterima (^{18}F , ^{11}C , ^{13}N i ^{15}O) ova tehnika pruža mogućnost *in vivo* ispitivanja obolelih tkiva na celularnom i molekulskom nivou. Time se omogućava detekcija tumora kojih nije moguće vizualizovati drugim metodama, kao i razumevanje razvoja bolesti posebno u nedostupnim tumorima. PET tehnika se zasniva na principu da pozitronski radiofarmaceutici po unošenju u telo pacijenta učestvuju u specifičnim metaboličkim procesima koji se razlikuju u obolelim u odnosu na zdrava tkiva i organe. Registrovanjem zračenja iz ispitivanih tkiva ili celog tela pacijenta, pomoću posebnih uređaja (PET skeneri), dobija se vizuelni prikaz lokalizacije i obima oboljenja i/ili poremećaja. Dijagnostički potencijal PET tehnike se povećava proizvodnjom novih, senzitivnijih i selektivnijih pozitronskih radiofarmaceutika. Danas ih je preko 120 na raspolaganju od kojih su najvažniji: ^{18}F [FDG] je fluoro-dezoksiglukoza koja se primenjuje

u detekciji tumora, $^{15}\text{O}[\text{H}_2\text{O}]$ sa primenom u ispitivanju cerebrovaskularnih bolesti, $^{11}\text{C}[\text{Metionin}]$ za ispitivanje primarnih tumora mozga, $^{13}\text{N}[\text{Amonijum}]$ i ^{82}Rb sa primenom u ispitivanju perfuzije miokarda, $^{68}\text{Ga}[\text{DOTANOC}]$ je peptid za detekciju neuroendokrinih tumora, itd.

Sa izuzetkom ^{18}F , vreme poluraspada najčešće korišćenih pozitronskih emitera se meri minutama. Stoga oni moraju da se proizvode na licu mesta - u samoj zdravstvenoj ustanovi. Zato, savremeni centri za sveobuhvatnu PET dijagnostiku, pored uređaja za snimanje pacijenata, poseduju i namenske uređaje za proizvodnju pozitronskih emitera (medicinski ciklotron) i sintezu pozitronskih radiofarmaceutika (automatizovana radiohemijska laboratorija).

Postoji interes za razvoj pozitronskih radiofarmaceutika sa izotopima dužeg vremena poluraspada kao što su ^{124}I , $t_{1/2} = 4.2 \text{ d}$; $^{94\text{m}}\text{Tc}$, $t_{1/2} = 52 \text{ min}$; ^{64}Cu , $t_{1/2} = 12.7 \text{ h}$. Zbog pogodnog vremena poluraspada i jednostavnosti proizvodnje, ^{64}Cu je izotop na kojem će se u budućnosti sigurno bazirati čitava porodica PET radiofarmaceutika.

Pored dijagnostičkih, posebno u onkologiji se koriste terapijski radiofarmaceutici, čija je uloga da emisijom odgovarajućeg zračenja omoguće tumorocidni efekat, odnosno uništavanje obolelog tumorskog tkiva, sa minimalnim sporednim efektom na okolno zdravo tkivo. Kod terapije, za razliku od dijagnostike kod koje je tehnecijum-99m nezamenljiv, ne postoji dominantan radionuklid koji bi bio primenjiv u svim indikacijama. Za terapiju u obzir, pre svega, dolaze oni koji emituju čestično zračenje. To su alfa- i beta-emiteri kao i radionuklidi koji, nakon elektronskog zahvata i/ili unutrašnje konverzije, emituju elektrone. Efekat terapije, osim od fizičkih osobina radionuklida, zavisi i od vrste i lokalizacije tumora, prokrvljenosti, itd. Glavne indikacije za primenu radiofarmaceutika u terapiji su: hipertireoza, karcinomi štitaste žlezde, neuroblastom (izotop ^{131}I); endovaskularna radioterapija, palijativna terapija (izotop ^{188}Re); sinovektomija, tumori jetre, primarne i sekundarne metastaze (izotop ^{90}Y), itd [63].

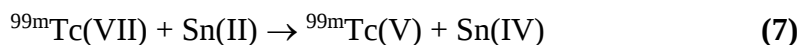
2.5. Kompleksi organskih jedinjenja sa tehnecijumom- 99m

Proceduru građenja kompleksa organskog jedinjenja (liganda) i odgovarajućeg radionuklida nazivamo obeležavanje radioaktivnim izotopima. Nagrađeni koordinacioni kompleks je najčešće helatnog tipa. Sa „obeleženim” hemijskim jedinjenjima ili „obeleženim” biološkim elementima vrši se ispitivanje morfologije i funkcije pojedinih organa. ^{99m}Tc je prelazni metal VIIB grupe periodnog sistema i dobija se eluiranjem $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generatorskog sistema fiziološkim rastvorom (0,9% rastvor NaCl). U eluatu ^{99m}Tc je u obliku natrijum-pertehnetata ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) sa oksidacionim stanjem +7, a to je najstabilnije i samim tim najmanje reaktivno stanje ovog izotopa. Organska jedinjenja koja se koriste kao ligandi grade stabilne komplekse sa $^{99m}\text{Tc}(\text{I-VI})$, odnosno sa ^{99m}Tc u nižim oksidacionim stanjima. Kompleksi tipa $^{99m}\text{Tc}(\text{I-VI})\text{-L}$ imaju afinitet prema određenim tkivima u telu [64,65].

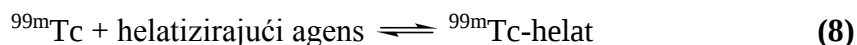
Rastvor liganda se liofilizuje i koristi se u formi tzv. „kita” (pribora za „instant” obeležavanje), koji se rekonstituiše dodatkom eluata tehnecijuma u nuklearno-medicinskim centrima neposredno pre intravenske primene na pacijentu. Liofilizovani rastvor pored liganda koji se obeležava, sadrži i redukujući agens, najčešće kalaj(II)-hlorid koji se dodaje u cilju redukcije $^{99m}\text{Tc}(\text{VII})$ u niže oksidaciono stanje. Redukcijom ^{99m}Tc iz stabilnog (+7) u reaktivnije, niže oksidaciono stanje [66] dolazi do građenja kompleksa izotopa i različitih organskih jedinjenja. Sn(II) jon je pogodan za pripremanje ^{99m}Tc -radiofarmaceutika jer lako oksiduje do Sn(IV) prema reakciji:



Redukcija ^{99m}Tc u kiseljoj sredini može da se prikaže opštom reakcijom:



Vezivanje ^{99m}Tc za čitav niz helatizirajućih agenasa (liganada) uz nastajanje helata (kompleksnih jedinjenja kod kojih je ligand koordinaciono vezan za centralni atom preko svoja dva, ili više atoma), može da se prikaže sledećom reakcijom:



Ligandi sadrže elektrondonorske atome azota i/ili kiseonika koji omogućavaju građenje koordinativnih veza sa ^{99m}Tc . Hemijske grupe poput: $-\text{COO}^-$ (karboksilni anjon), $-\text{NH}_2$ (amino grupa), $-\text{SH}$ (sulfhidrilna grupa) su donori elektrona u jedinjenjima kao što su DTPA (dietil-triamino-penta-sirćetna kiselina), EDTA (etilen-diamino-tetra-sirćetna kiselina), DMSA (dimerkaptoćilibarna kiselina), MDP (metilen-difosfonat), DPD (2,3-dikarboksipropan-1,1-difosfonska kiselina) i druga [67].

Iako je koncentracija tehnećijumskog jona u eluatu mala, reda veličine 10^{-8} do 10^{-9} M, kalaj(II) joni se dodaju u višku, kako bi se osigurala potpuna redukcija $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u $^{99m}\text{Tc(V)}$ [1]. Molski odnos Sn(II) jona prema $^{99m}\text{Tc(VII)}$ bi trebalo da bude $10^6:1$. U prisustvu kiseonika ili drugih oksidanasa, $^{99m}\text{Tc(V)}$ veoma lako oksiduje do Tc(VII). Da bi se to sprečilo, u rastvor koji se liofilizuje dodaje se i askorbinska kiselina, natrijum-askorbat ili neki drugi antioksidans.

Sn(II) jon u vodenim rastvorima, naročito pri pH vrednostima većim od 2, veoma lako hidrolizuje i gradi različite nerastvorne hidrolitičke komplekse (Sn(OH)Cl , Sn(OH)_2) [68]. Da bi se sprečila hidroliza Sn(II) pre redukcije $^{99m}\text{Tc(VII)}$ dodaje se hlorovodonična kiselina do $\text{pH} < 2$. Hidroliza Sn(II) i $^{99m}\text{Tc(VII)}$ se takođe može sprečiti dodatkom helatizirajućeg agensa u višku. Odnos koncentracije helatizirajućeg agensa prema Sn(II) mora da bude dovoljno veliki da obezbedi potpunu redukciju $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u $^{99m}\text{Tc(V)}$ i njegovo vezivanje samo za ligand.

U radiofarmaceutiku radionuklid - $^{99m}\text{Tc(V)}$, može biti prisutan u tri oksidaciona stanja, i to kao:

- „slobodni” - nevezani $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u obliku pertehnetatnog anjona, koji nije redukovan kalaj(II)-hloridom;

- „hidrolizovani”- redukovani $^{99m}\text{Tc(IV)}$ koji nije reagovao sa ligandom već sa vodom i nagradio nerastvoran TcO_2 ;

- „vezani” - $^{99m}\text{Tc(V)}$, koji je i cilj obeležavanja, nastao je vezivanjem za ligand. U nekim radiofarmaceuticima mogu se identifikovati i dve kompleksne vrste.

Nevezani $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u obliku pertehnetatnog anjona i redukovani $^{99m}\text{Tc(IV)}$ koji nije reagovao sa ligandom predstavljaju radiohemijske nečistoće koje su nepoželjne usled drugačijeg biološkog ponašanja u odnosu na sam radiofarmaceutik, što može dovesti do pogrešne interpretacije rezultata i neželjenih bioloških efekata. Tako se $^{99m}\text{TcO}_4^-$ akumulira u nekim žlezdanim tkivima, posebno u tiroidnoj, i sluznici želuca, a $^{99m}\text{TcO}_2$ u jetri.

Određivanje lipofilnosti. Lipofilnost (stepen rastvorljivosti u mastima) nekog jedinjenja/kompleksa je važna pri prolasku kroz krvno-moždanu barijeru. Specifičnost strukture ove membrane je u prisustvu tzv. „čvrstih veza” među endotelnim ćelijama kapilara. Čvrste veze su sačinjene od transmembranskih proteina (klaudin, okludin, itd.) i onemogućavaju slobodan prolaz supstanci iz krvotoka u nervni sistem. Krvno-moždana barijera je praktično nepropusna za velike i hidrofilne molekule, dok mali (O_2 , CO_2 , H_2O) i lipofilni molekuli lako prolaze [69-72].

Kod radiofarmaceutika stepen rastvorljivosti u mastima je važna karakteristika. Lipofilnost se određuje preko podeonog koeficienta, a on se izračunava korišćenjem sledeće formule [73]:

$$\log P_{o/w} = \log \left(\frac{\text{broj impulsa frakcije u 1-oktanolu}}{\text{broj impulsa frakcije u puferu ili vodi}} \right)$$

odnosno, logaritam količnika radioaktivnosti frakcije preparata koja je rastvorljiva u organskom rastvaraču (hloroform, 1-oktanol, dietil-etar) i radioaktivnosti frakcije u vodenoj fazi. Kod radiofarmaceutikaza za scintigrafiju mozga, $^{99m}\text{Tc-PnAO}$ i $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$, su određene vrednosti ovog koeficijenta ($\log P_{o/w}=1,75$) [74]. U funkciji vremena vrednosti $\log P_{o/w}$ opadaju jer se gradi termodinamički stabilniji sekundarni kompleks koji je

hidrofilan i kao takav ne prolazi krvno-moždanu barijeru, što za posledicu ima manju akumulaciju radiofarmaceutika u moždanom tkivu [75,76].

Određivanje proteinskog vezivanja. Raspodela radiofarmaceutika u organizmu, kao i brzina i način njegovog nakupljanja u nekom organu, u velikoj meri zavise od stepena vezivanja radiofarmaceutika za proteine plazme. Pošto je osnovni vezujući protein u plazmi albumin, koji čini 40-60% od ukupne količine proteina plazme, on se najčešće koristi kao model za određivanje procenta proteinskog vezivanja radiofarmaceutika. Vezivanje radiofarmaceutika za proteine ispituje se TCA-taložnom metodom koja se zasniva na taloženju kompleksa radiofarmaceutik-HSA sa trihlorsirćetnom kiselinom (TCA) nakon interakcije ispitivanog radiofarmaceutika sa HSA na 37 °C u određenom vremenskom intervalu.

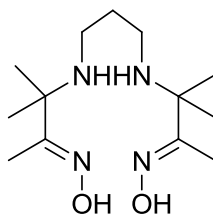
Biodistribucija radiofarmaceutika. Biološka raspodela radiofarmaceutika u organizmu zavisi od sledećih faktora: vrste jedinjenja koje se obeležava, valence radionuklida, pH vrednosti radiofarmaceutika, veličine molekula radioaktivnog kompleksa, njegovog afiniteta ka vezivanju za proteine plazme, kao i mogućnosti vezivanja kompleksa za ćelijske receptore. Radiohemijski čist i homogen radiofarmaceutik će imati kvantitativno i kvalitativno određene i ponovljive puteve biodistribucije. Step i jačina vezivanja pojedinih radiofarmaceutika za ćelije tkiva određeni su brojem i vrstom funkcionalnih grupa u molekulu obeleženog jedinjenja (liganda) kao i njegovom konfiguracijom, ili u slučaju da je radiofarmaceutik u formi samog radionuklida, fizičko-hemijskim svojstvima radionuklida. Raspodela radiofarmaceutika u tkivima, brzina i način nakupljanja, pa stoga i klirens (mera renalne ekskrecione sposobnosti, kapaciteta organizma da se oslobodi leka u jedinici vremena) u velikoj meri zavise od stepena njegovog vezivanja za proteine plazme. Pertehnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) se brzo eliminiše iz organizma zbog slabog vezivanja za proteine plazme. Lipofilna jedinjenja kao što su $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ i $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ lako prolaze kroz ćelijsku membranu mehanizmom pasivne difuzije, dok hidrofilna jedinjenja mehanizmom aktivnog transporta ulaze u ćeliju.

2.6. ^{99m}Tc -radiofarmaceutici za scintigrafiju mozga

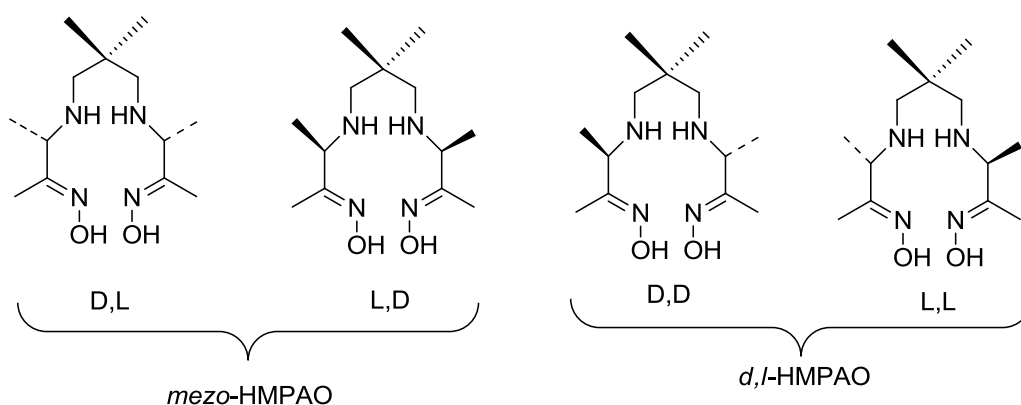
^{99m}Tc radiofarmaceutici za scintigrafiju mozga moraju biti elektroneutralni, lipofilni kompleksi, relativno male veličine ($M_w < 600$ D) da bi se omogućio njihov prolazak kroz krvno-moždanu barijeru. Njihova upotreba je bazirana na kvantifikaciji regionalnog cerebralnog protoka krvi i igra veoma važnu ulogu u dijagnozi različitih cerebrovaskularnih i neuroloških oboljenja, kao što su moždani udar, demencija, epilepsija i psihijatrijska oboljenja [77,78].

Sintetisane su različite klase organskih jedinjenja čiji ^{99m}Tc -kompleksi mogu da prođu krvno-moždanu barijeru mehanizmom pasivne difuzije [79,80]. Razvijeno je nekoliko radiofarmaceutika za snimanje cerebralnog protoka krvi SPECT tehnikom [81-87].

Kompleks $\text{Tc(V)}\text{-PnAO}$ su sintetisali Troutner i saradnici [83], i okarakterisali njegovu hemijsku strukturu [88], a zatim su istraživanja proširena da bi se našao sličan ligand za formiranje $^{99m}\text{Tc(V)}$ -kompleksa sa većom akumulacijom u mozgu. Tetradentatni diamino-dioksim HMPAO je izdvojen kao najbolji iz serije od oko stotinu sintetisanih organskih jedinjenja [89], a njegov kompleks sa Tc(V) su sintetisali i spektroskopski karakterisali isti autori [90]. Navedena jedinjenja (PnAO i HMPAO) su strukturni izomeri sa istom bruto formulom $\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2$. Dok PnAO (3,3,9,9-tetrametil-4,8-diazaundekan-2,10-dion dioksim) koji je prikazan na Slici 15, nema hiralni centar, HMPAO ima dva hiralna centra (optički aktivna ugljenikova atoma), tako da ovo jedinjenje ima dva diastereoizomera: *mezo*- HMPAO i racemsku smesu *d,l*- HMPAO (Slika 16). Diastereoizomeri HMPAO se mogu razdvojiti preparativnom HPLC-metodom ili frakcionom kristalizacijom u cilju dobijanja $^{99m}\text{Tc-d,l-HMPAO}$, koji ima veću akumulaciju i bolju retenciju u mozgu u odnosu na $^{99m}\text{Tc-mezo-HMPAO}$.



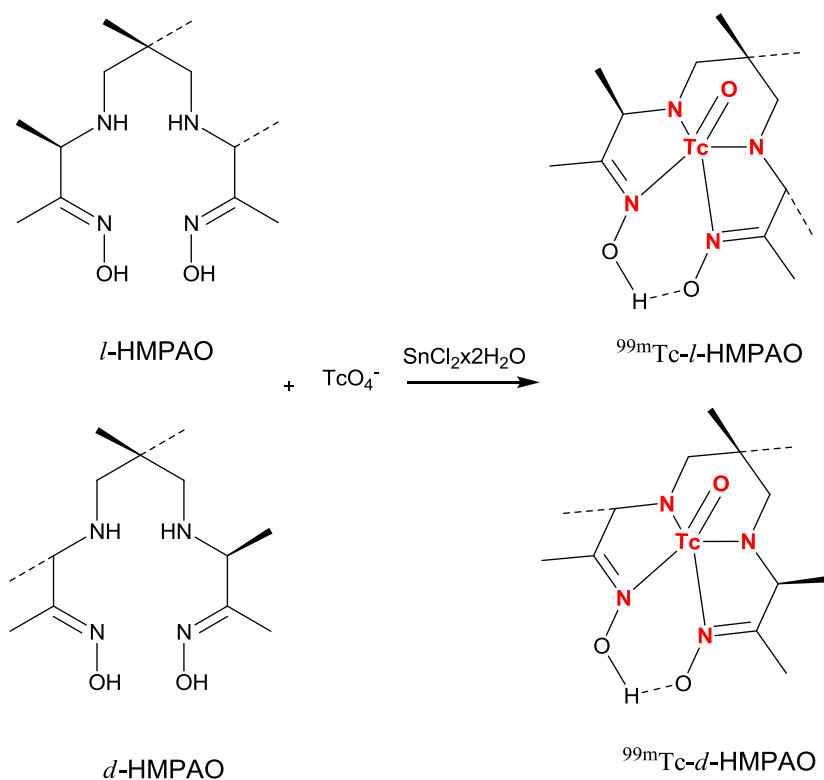
Slika 15. Strukturna formula PnAO



Slika 16. Strukturne formule diastereoizomera HMPAO

Oba kompleksa diastereoizomera HMPAO sa Tc(V) su sintetisana, izolovana i karakterisana pomoću UV-Vis spektrofotometrije, IR, ^1H - i ^{13}C -NMR i FAB-masene spektroskopije, kao i analizom difrakcije X-zraka.

Analizom kristalne strukture diastereoizomera HMPAO sa Tc(V) pomoću difrakcije X-zraka utvrđeno je da se okso-grupa nalazi na apeksu kvadratne piramide i da se Tc(V) atom nalazi na srednjem rastojanju od 68 pm iznad ravni definisane sa 4 atoma azota u ovom tetradentatnom diamino-dioksimu. U oba slučaja ligand gubi tri protona pri koordinaciji sa Tc(V) centrom, grade se četiri veze između atoma azota i tehnećijuma, kao i vodonična veza između oksimskih kiseonika. Oksimske hidroksilne grupe gube jedan proton gradeći intramolekulsku vodoničnu vezu. Molekul kompleksa je elektroneutralan.



Slika 17. *d*- i *l*- enantiomeri $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO

Na Slici 17 prikazani su *d*- i *l*- enantiomeri HMPAO i njihovi helatni $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$ -kompleksi stabilizovani vodoničnom vezom između oksimskih hidroksilnih grupa.

Radiofarmaceutik $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ je prvi komercijalni proizvod namenjen snimanju perfuzije mozga [91], a šira primena ovog radiofarmaceutika je obeležavanje nekih krvnih ćelija [92]. Mogućnost ovog radioaktivnog kompleksa da se koristi na dva načina (snimanje mozga i obeležavanje leukocita) je vezana za njegovu manju termodinamičku stabilnost u odnosu na $^{99\text{m}}\text{Tc-mezo-HMPAO}$. Naime, lipofilni kompleks $^{99\text{m}}\text{Tc-d,l-HMPAO}$ *in vivo* prolazi krvno-moždanu barijeru, dolazi do njegove brze degradacije u hidrofilni kompleks koji ne prolazi barijeru i zato ostaje u moždanom tkivu, te je pogodan za scintigrafiju mozga. Kompleks $^{99\text{m}}\text{Tc-mezo-HMPAO}$, koji je takođe lipofilan, prolazi krvno-

moždanu barijeru, ali *in vivo* ne dolazi do degradacije jer je termodinamički stabilniji, on se kroz barijeru vraća u krvotok i zato nije pogodan za scintigrafiju mozga. Međutim, ^{99m}Tc -*mezo*-HMPAO je pogodniji za obeležavanje leukocita baš zbog svoje veće stabilnosti. Manju stabilnost ^{99m}Tc -*d,l*-HMPAO ilustruje podatak da neposredno po obeležavanju, procenat lipofilnog, primarnog kompleksa je >90%, ali se smanjuje na >80% u toku pola časa [93-95].

Pored ^{99m}Tc -*d,l*-HMPAO, drugi najčešće korišćeni radiofarmaceutik za scintigrafiju mozga, koji nema diamino-dioksimsku strukturu, je ^{99m}Tc -*l,l*-ECD (etil-cisteinat dimer). Ovi radioaktivni kompleksi (^{99m}Tc -*d,l*-HMPAO i ^{99m}Tc -*l,l*-ECD) poseduju najbolje karakteristike koje uključuju visoku akumulaciju i fiksnu regionalnu distribuciju u mozgu, laku pripremu radiofarmaceutika i distribuciju u mozgu koja je proporcionalna cerebralnom protoku krvi [96,97]. ^{99m}Tc -*d,l*-HMPAO se zadržava u mozgu duže od ^{99m}Tc -*l,l*-ECD, ali su vremena retencije oba radiofarmaceutika i duža od potrebnog za prikupljanje podataka [98-100]. Rezultati nekoliko studija izvedenih sa ^{99m}Tc -*d,l*-HMPAO i ^{99m}Tc -*l,l*-ECD pokazali su da njihovo direktno poređenje nije moguće jer se oni koriste za uspostavljanje različitih kliničkih dijagnoza.

Još jedan veoma interesantan primer je ^{99m}Tc -BnAO kompleks (4,9-diaza-3,3,10,10-tetrametildodekan-2,11-dion dioksim, BnAO), takođe poznat i kao ^{99m}Tc -HL-91. Kompleks ^{99m}Tc -BnAO je sintetisan 1984, a studije pokazuju da je on hidrofilan i sa slabom akumulacijom u mozgu (0,12% ID/organ) [101-104]. Međutim, ovaj kompleks je kasnije našao primenu kao hipoksični marker, pa se u te svrhe dosta koristi i komercijalno je dostupan. ^{99m}Tc -HL-91 je radiofarmaceutik sposoban da selektivno bude prihvaćen od strane hipoksičnih ćelija.

2.7. Kompleksna jedinjenja

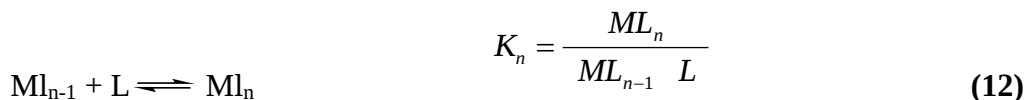
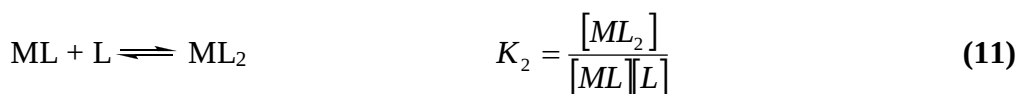
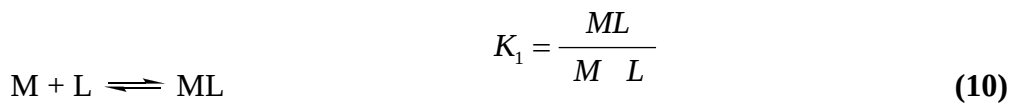
Najrasprostranjenije reakcije jona metala su reakcije građenja kompleksnih jedinjenja. One predstavljaju proces izmene jednog ili više molekula rastvarača, iz solvatisanog jona metala, drugim ligandnim grupama, sve do građenja kompleksa $[ML_n]$:



gde je M centralni jon metala, L ligand, tj. organski ili neorganski jon ili molekul, a n broj liganda u kompleksu. Kompleksi koji nastaju u vodenim rastvorima su mešoviti kompleksi, pri čemu pojam ligand uključuje i jone OH^- i molekule vode. Reakcija hidrolize kako jona metala tako i liganda predstavlja konkurentnu reakciju građenju kompleksa.

Građenje kompleksnih jedinjenja objašnjeno je pomoću više teorija [105].

Pri proučavanju ravnoteža građenja kompleksa, kao kvantitativna karakteristika reakcije koriste se konstante ravnoteže. Ako se iz jednačine (9) izostave molekuli vode radi preglednosti, postepeno građenje kompleksa može da se opiše nizom konstanti ravnoteža:



Konstante ravnoteže navedenih reakcija u isto vreme predstavljaju i konstante stabilnosti kompleksa koji se tom prilikom obrazuje. Ovako izražene konstante $K_1, K_2, \dots$

K_n , nazivaju se sukcesivne konstante stabilnosti, a računaju se primenom zakona o dejstvu masa. One mogu biti termodinamičke, koncentracione ili mešovite.

Ako su količine reaktanata i produkata izražene kao koncentracije, konstante stabilnosti se nazivaju koncentracionim konstantama stabilnosti. Ove konstante se odnose na određenu jonsku jačinu rastvora, te stoga važe samo pod određenim eksperimentalnim uslovima.

Termodinamičke konstante stabilnosti odnose se na bilo koji sastav sistema metal-ligand. Sve veličine u izrazu za konstantu stabilnosti izražene su preko aktivnosti prisutnih jona:

$$K_n^0 = \frac{a_{ML_n}}{a_{ML_{n-1}} a_L} \quad (13)$$

gde je $a = c \times f$ (a =aktivnost jona; c =koncentracija; f =koeficijent aktivnosti), pri čemu je K_n^0 termodinamička konstanta stabilnosti za opštu ravnotežnu reakciju građenja kompleksa (jednačina 12). Između koncentracione i termodinamičke konstante stabilnosti postoji zavisnost, imajući u vidu da aktivnost predstavlja proizvod koncentracije i koeficijenta aktivnosti, tj.:

$$K_n^0 = K_n \cdot F_n = K_n \frac{f_{ML_n}}{f_{ML_{n-1}} f_L} \quad (14)$$

Ponekad se koriste i mešovite konstante stabilnosti, kod kojih se umesto koncentracije jedne jonske vrste, najčešće protona, koristi aktivnost, koja se dobija direktnim potencijometrijskim merenjem pH vrednosti.

Osim sukcesivnih, u literaturi se često koriste i ukupne ili kumulativne konstante stabilnosti, β_n , koje predstavljaju konstante ravnoteže ukupne reakcije:



i mogu da se predstave kao proizvod parcijalnih konstanti stabilnosti $K_1, K_2, \dots K_n$:

$$\beta_n = K_1 K_2 \dots K_n = \prod_1^n K_n = \frac{[ML_n]}{[M][L^n]} \quad (16)$$

Konstante stabilnosti se odnose na navedene ravnotežne reakcije (10-12) i ne uključuju uticaj mogućih paralelnih reakcija: reakcija hidrolize kako jona metala tako i liganda, građenje kompleksa sa delimično disociranim kiselim ili baznim ligandima, kao ni stvaranje kompleksa metala ili liganda sa drugim prisutnim jonima, na primer komponentama pufera ili elektrolita. U tu svrhu je uvedena uslovna konstanta K' :

$$K' = \frac{[ML]}{[M'][L']} \quad (17)$$

pri čemu su $[M']$ i $[L']$ koncentracije slobodnog metala i liganda u odnosu na glavnu reakciju i/ili sporednim hemijskim ravnotežama sadrže koncentracije svih jonskih vrsta nastalih učešćem M i L u paralelnim reakcijama.

Na stabilnost kompleksa utiču i temperatura, pritisak, jonska jačina rasvora i relativna permitivnost sredine.

Ako se kompleks izoluje u čvrstom stanju, ligandi zauzimaju pravilan geometrijski raspored oko centralnog jona metala. Geometrijski raspored zavisi od koordinacionog broja centralnog atoma metala, dok je on obično narušen u rastvoru. U Tabeli 1 date su vrednosti koordinacionog broja i mogući prostorni raspored liganada oko centralnog atoma (geometrijski oblik).

Tabela 1. Geometrija kompleksa

Koordinacioni broj metala (n)	Geometrija kompleksa	Primer
2	Linearni	$[\text{H}_3\text{N-Ag-NH}_3]^+$
3	Trigonalni	$[\text{HgCl}_3]^-$
	Trigonalno piramidalni	$[\text{SnCl}_3]^-$
4	Tetraedarski	$[\text{AlCl}_4]^-$
	Kvadratni	XF_4
5	Trigonalno bipiramidalni	$\text{Fe}(\text{CO})_5$
	Četvorostrano piramidalni	$\text{VO}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_7)_2$
6	Oktaedarski	$[\text{Cr}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$
	Trigonalno prizmatični	$[\text{Mo}(\text{C}_2\text{H}_2\text{S}_2)_6]$

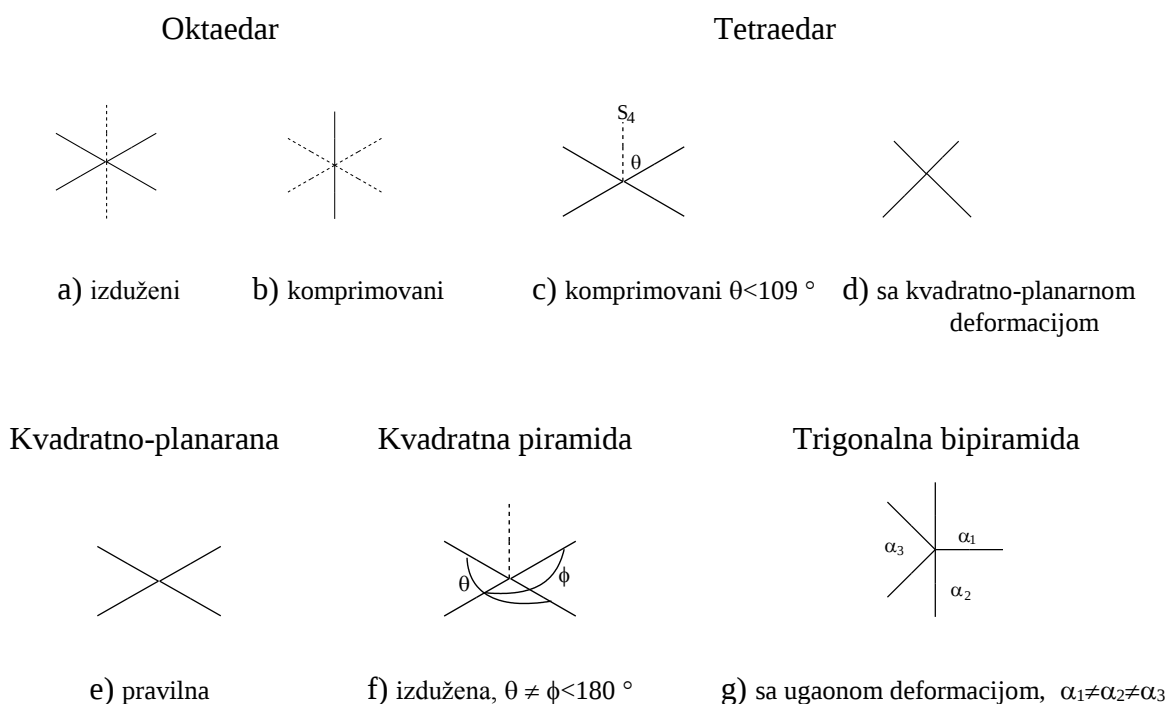
2.8. Koordinaciona hemija Cu(II) kompleksa

Bakar se u svojim jedinjenjima može naći u oksidacionim stanjima +1, +2, +3 i +4. Stabilna jedinjenja ovog metala su u oksidacionom stanju +2 u vodenim rastvorima, a jedinjenja oksidacionog stanja +1 lako se mogu oksidovati u jedinjenja sa oksidacionim stanjem +2, dok je dalja oksidacija teža. Cu(II) kompleksi se lako grade, tako da u literaturi postoje podaci za veliki broj opisanih kompleksa kao i spektroskopska svojstva korisna u tumačenju geometrije i stabilnosti ovih jedinjenja. Detaljno tumačenje spektroskopskih i magnetnih svojstva Cu(II) kompleksa je komplikovano zbog relativno niske simetrije okruženja u kojima se Cu(II) joni nalaze. Predviđanje strukture kompleksa je takođe teško, jer ne postoji uvek direktna veza između izgleda spektra i odgovarajuće strukture.

Cu(II) jon ima konfiguraciju d^9 koja je razlog njegovoj koordinacionoj fleksibilnosti. Kada se ovaj jon nađe u jakom ligandnom polju grade se kompleksi čija je geometrija ili kvadratno-planarna ili tetragonalna sa koordinacionim brojem šest, a u slučaju slabog ligandnog polja može nastati bilo koja geometrija. U kompleksima Cu(II) najčešći koordinacioni broj je 4, 5 i 6. Moguće geometrije kompleksa Cu(II) date su na Slici 18.

Kada je koordinacioni broj 4, geometrija nastalih kompleksa može da bude tetraedarska ili kvadratno-planarna, ili struktura između ove dve sa određenim stepenom distorzije. Od svih geometrija samo je kvadratna bez deformacije, mada u nekim

slučajevima može da sadrži slabu tetraedarsku distorziju. Tetraedarska geometrija uvek ima znatnu kompresiju duž S_4 ose simetrije (Slika 18c). Kompleksi sa koordinacionim brojem 5 mogu imati geometriju kvadratne piramide, trigonalne bipiramide ili između ove dve. Retki su kompleksi ovog koordinacionog broja koji imaju pravilnu strukturu, već često imaju izduženu piramidu i trigonalnu deformaciju u ravni ili retko tetraedarsku deformaciju. Struktura trigonalne bipiramide može da postoji bez deformacije, ali su znatno češći slučajevi deformacija koje su između trigonalne bipiramide i kvadratne piramide.



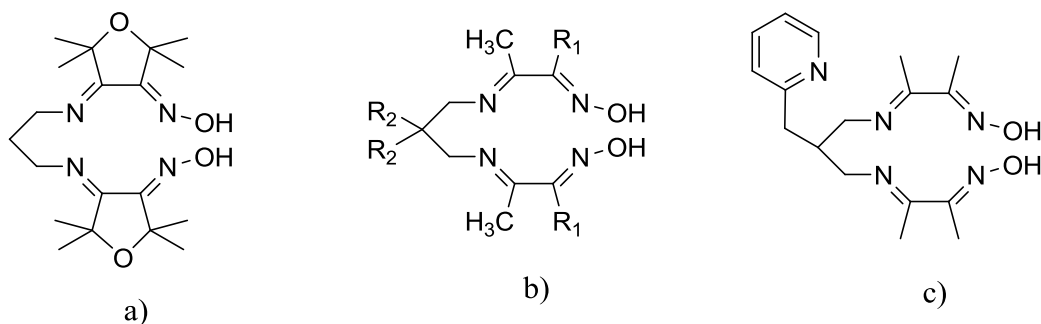
Slika 18. Geometrije Cu(II) kompleksa

U kompleksima u kojima je koordinacioni broj 6, strukture variraju od komprimovane oktaedarske, preko pravilne, do izdužene oktaedarske. Ovoj grupi kompleksa pripadaju i kompleksi u kojima uglovi između veza odstupaju od 90° . Većina kompleksa sa koordinacionim brojem 6 ima izduženu tetragonalnu ili rombičnu oktaedarsku strukturu, sa

samo nekoliko primera komprimovanih oktaedara što se objašnjava Jahn-Teller-ovim efektom [106,107].

2.9. Kompleksi diimino-dioksima

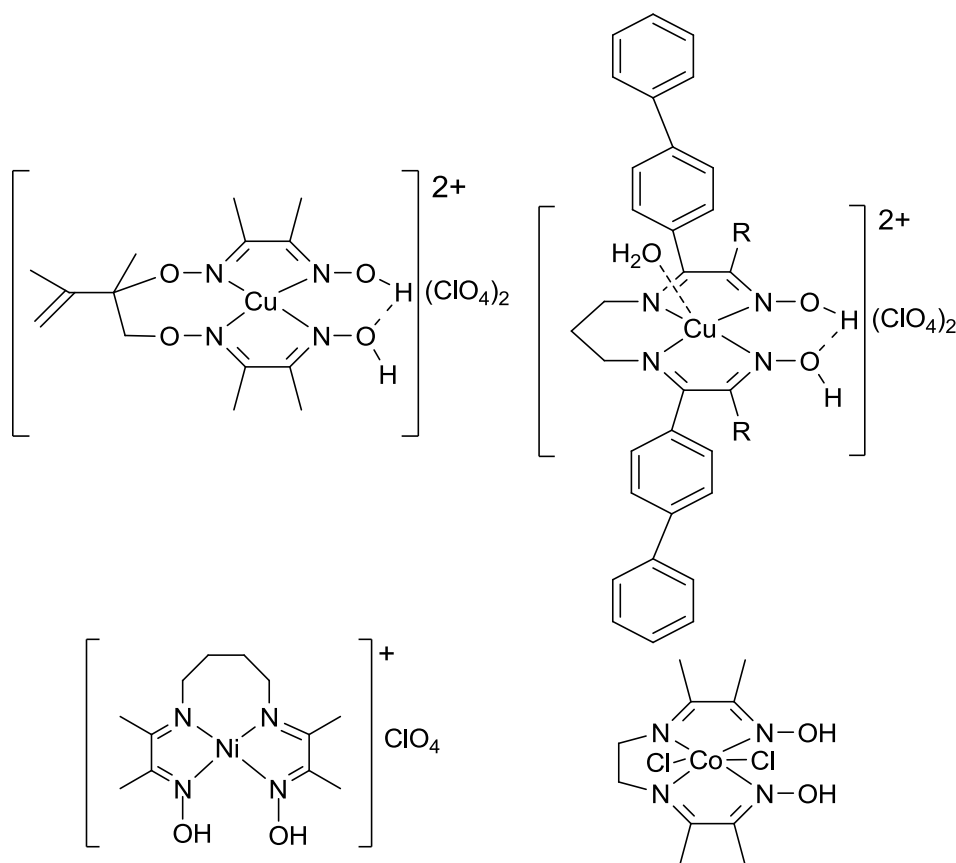
Neka ranija istraživanja fokusirana su i na razvoju novih Schiff-ovih baza koje sadrže diimino-dioksimsku strukturu, potencionalnih liganada za ^{64}Cu radiofarmaceutike [4,108,109]. Na Slici 19 su prikazani neki od sintetisanih diimino-dioksima, kao potencijalni ligandi za ^{64}Cu -radiofarmaceutike (tetrametil diimino-dioksimski derivat furanona (a), 2,10-dioksimino-3,9-dimetil-4,8-diazaundeka-3,8-dien (PreH) i 5,13-dioksimino-6,9,9,12-tetrametil-7,11-diazaheptadeka-6,11-dien (Me₂MEKPreH) (b) i diimino-dioksimski derivat piridila (c)). Ove studije takođe obuhvataju ispitivanje lipofilnih, katjonskih Cu(II) kompleksa diimino-dioksima kao potencijalnih PET radiofarmaceutika za ispitivanje perfuzije miokarda [110,111].



Diimino-dioksim:	R ₁ :	R ₂ :
PreH	CH ₃	H
Me ₂ MEKPreH	(CH ₂) ₃ CH ₃	CH ₃

Slika 19. Strukturne formule diimino-dioksima - potencijalnih liganada za ^{64}Cu radiofarmaceutike

Diimino-dioksimske Schiff-ove baze sa četiri atoma azota (dva iminska i dva oksimska atoma azota) brzo grade komplekse sa prelaznim metalima [109]. Za vreme građenja kompleksa jedna od oksimskih grupa gubi proton i gradi se vodonična veza između dve oksimske grupe. Jačina vodoničnih veza zavisi od veličine jona metala, dužine ugljovodoničnog lanca kao i od hemijskog okruženja jona metala [112]. Na Slici 20 su prikazani neki od sintetisanih kompleksa diimino-dioksima sa dvovalentnim prelaznim metalima kao što su Cu, Ni, Co [18,112,113].



Slika 20. Kompleksi diimino-dioksima sa prelaznim metalima

Određivanje kristalne strukture kompleksa Cu(II) sa tetradentatnim ligandom 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksimom, nagrađenog u prisustvu perhloratnog anjona, omogućilo je ispitivanje uticaja strukture liganda na kristalnu

strukturu kompleksa. Ligand 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim se od sličnih jedinjenja, čiji su kompleksi ranije opisani [114,115], razlikuje u tome što su za atome C3 i C10 vezane etil- umesto metil-grupa.

Prisustvo četiri atoma kiseonika u perhloratnom anjonu čini ga pogodnim za građenje različitih tipova veza, i što je naročito značajno u hemiji kompleksnih jedinjenja, za građenje bi- i polinuklearnih kompleksa. Međutim, voluminoznost ClO_4^- anjona u velikoj meri ograničava njegovu mogućnost koordinacije, naročito u prisustvu manje voluminoznih liganada [116]. Analizom koordinacionih svojstava ClO_4^- anjona u prisustvu jona Cu(II) [117,118] (Kristalografska banka podataka - Cambridge Structural Databank) [119] potvrđeno je da je u većini kristalnih kompleksa ClO_4^- anjon prisutan kao nekoordinisani jon.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. *Materijal*

Reagensi:

- ✚ 3-pentanon, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}(\text{CH}_2)_2$ (J.T. Baker)
- ✚ natrijum-nitrit, NaNO_2 (J.T. Baker)
- ✚ amonijum-hlorid, NH_4Cl (J.T. Baker)
- ✚ 1,2-diaminoetan, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$ (J.T. Baker)
- ✚ 1,4-diaminobutan, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ (J.T. Baker)
- ✚ 1,5-diaminopentan, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$ (J.T. Baker)
- ✚ 1,6-diaminoheksan, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$ (J.T. Baker)
- ✚ kalaj(II)-hlorid, SnCl_2 (Merck)
- ✚ natrijum-borhidrid, NaBH_4 (Merck)
- ✚ 2,3-butandion monoksim, $\text{CH}_3\text{C}(=\text{NOH})\text{COCH}_3$ (Sigma Aldrich)
- ✚ natrijum-hidroksid, NaOH (Merck)
- ✚ hlorovodonična kiselina, HCl (Merck)
- ✚ natrijum-perhlorat, NaClO_4 (Merck)
- ✚ trihlorsirćetna kiselina, CCl_3COOH (Merck)
- ✚ sumporna kiselina, H_2SO_4 (Merck)
- ✚ sirćetna kiselina, CH_3COOH (Merck)
- ✚ magnezijum-sulfat, MgSO_4 (Merck)
- ✚ 1-oktanol, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$ (Sigma Aldrich)

- benzen, C_6H_6 (Merck)
- heksan, C_6H_{14} (Merck)
- metanol, CH_3OH (Merck)
- etanol, C_2H_5OH (Merck)
- dietil-etar, $(C_2H_5)_2O$ (J.T. Baker)
- acetonitril, CH_3CN (Fluka)
- petrol-etar (Sigma Aldrich)
- ITLC/SG traka (Gelman instrument company, Ann Arbor, Michigan)
- PC/ Whatman 1MM (Whatman International Ltd., Maidstone, Kent, UK)
- PC/Whatman 3MM (Whatman International Ltd., Maidstone, Kent, UK)
- kobalt(II)-hlorid-heksahidrat, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (Sigma Aldrich)
- bakar(II)-acetat-monohidrat, $Cu(COOCH_3)_2 \cdot xH_2O$ (Sigma Aldrich)
- nikal(II)-hlorid-heksahidrat, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (Sigma Aldrich)
- kalcijum(II)-hlorid, $CaCl_2$ (Merck)
- metil-etil-keton, $CH_3COCH_2CH_3$ (Merck)
- hloroform, $CHCl_3$ (Merck)

^{99m}Tc ($t_{1/2}=6$ h, $E\gamma=140$ keV) je dobijen eluiranjem $^{99}Mo/^{99m}Tc$ generatora (Institut za nuklearne nauke Vinča, Beograd, Srbija). U eksperimentima je korišćen humani serum albumin, 20% (HSA, Nacionalni Institut za transfuziju krvi, Beograd, Srbija).

Apsolutizovani su rastvarači:

benzen $\geq 99,0\%$ je anhidrovan uvođenjem Na-žice $\rightarrow \text{C}_6\text{H}_{6\text{anh}}$

etanol $\geq 99,0\%$ je anhidrovan molekulskim sitima $3\text{\AA}$ (Sigma Aldrich) $\rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$

Rastvori:

2 M HCl (8,6 mL HCl_{conc} u 50 mL H_2O)

Kalaj(II)-hlorid - pripreman je rastvaranjem odmerene količine SnCl_2 u HCl_{conc} (da bi se sprečila hidroliza metala), a zatim se doda bidestilovana voda do potrebne zapremine

0,02 M NaHCO_3 / Na_2CO_3 pufer pH=9,0 - odmereno je 0,168 g NaHCO_3 u 100 mL H_2O i 0,212 g Na_2CO_3 u 100 mL H_2O , izmerene su pH vrednosti oba rastvora, a zatim je rastvor više pH vrednosti dodavan u kapima u rastvor niže pH vrednosti do pH=9,0

0,025 M Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 pufer pH=7,4 - odmereno je 0,355 g Na_2HPO_4 u 100 mL H_2O i 0,300 g NaH_2PO_4 u 100 mL H_2O , izmerene su pH vrednosti oba rastvora, a zatim je rastvor više pH vrednosti dodavan u kapima u rastvor niže pH vrednosti do pH=7,4

Zasićeni vodeni rastvor NaHCO_3 - odmereno je 20 g u 200 mL H_2O

Za spektrofotometrijska snimanja korišćeni su rastvori ispitivanog jedinjenja u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, a koncentracija svih rastvora je $1,5 \times 10^{-5}$ M. Uzorci Schiff-ovih baza pripremani su na sledeći način: rastvoreno je 3,8 mg (DI-1), 4,2 mg (DI-2), 4,0 mg (DI-3) odnosno 4,2 mg (DI-4) u 10 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, od tih rastvora uzeto je po 0,1 mL i razblaženo sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ do 10 mL. Koncentracija Schiff-e baze u razblaženom uzorku je $1,5 \times 10^{-5}$ M. Uzorci iz postupaka redukcije su pripremani na sledeći način:

50 μL reakione smeše razblaženo je sa 5 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, od tog razblaženja uzeto je 0,1 mL i razblaženo sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ do 10 mL. Procena koncentracija L-1, L-2, L-3 i L-4 u razblaženom uzorku je oko $1,5 \times 10^{-5}$ M. Uzorci sintetisanih kompleksa pripremani su na sledeći način: rastvoreno je 13 mg kompleksa sa Cu(II), 6,6 mg kompleksa sa Ni(II), odnosno 6,2 mg kompleksa sa Co(II) u 10 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, od tog rastvora uzeto je 0,1 mL i razblaženo sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ do 10 mL

- ✚ Uzorci za HPLC metodu su rastvori kompleksa $^{99\text{m}}\text{Tc-L-1}$ i $^{99\text{m}}\text{Tc-L-2}$ koji su filtrirani kroz "Millipore" membranski filter (veličine pora 0,45 μm). Injektovani su alikvoti reakcionih smeša (5-20 μL). Za eksperimente u okviru tačne hromatografije korišćena je dejonizovana bidestilovana voda filtrirana kroz "Millipore" membranski filter (veličine pora 0,45 μm)
- ✚ Za određivanje stehiometrije u sintetisanim kompleksima, uzorci su pripremani na sledeći način: rastvoreno je 1,7 mg kompleksa sa Ni(II) odnosno 1,6 mg kompleksa sa Co(II) u 10 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, od tih rastvora uzeto je po 0,1 mL i razblaženo sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ do 10 mL. Koncentracija kompleksa u razblaženim uzorcima je $0,37 \times 10^{-5}$ M
- ✚ 0,05 M NaHCO_3 - odmereno je 0,42 g u 100 mL H_2O
- ✚ Fiziološki rastvor (0,9% rastvor NaCl u H_2O) - odmereno je 0,9 g u 100 mL H_2O
- ✚ Rastvori humanog seruma albumina: 4,6% i 12% (HSA). Za 4,6% rastvor odmereno je 1,84 mL 20% rastvora u 6,16 mL H_2O . Za 12% rastvor odmereno je 4,8 mL 20% rastvora u 3,2 mL H_2O
- ✚ 20% CCl_3COOH - odmereno je 20 g u 100 mL H_2O
- ✚ Za elektrohemijske eksperimente korišćeni su rastvori sintetisanih kompleksa koji su pripremani na sledeći način: rastvoreno je po 2 mg ispitivanog kompleksa sa Cu(II), sa Ni(II), odnosno sa Co(II) u 100 mL 0,05 M NaHCO_3 . 2 mg liganda (DI-2) se rastvori u 1 mL CH_3OH i doda u 100 mL 0,05 M NaHCO_3

3.2. *Aparati*

U radu su korišćeni sledeći aparati:

- ✚ Bomem MB 100 FTIR spektrometar (ABB Bomem Inc., MB series, Quebec, Kanada)
- ✚ NMR spektrometar Varian Gemini 2000, 200 MHz (Palo Alto, Sjedinjene Američke Države)
- ✚ Analize sadržaja elemenata (C, H, N) rađene su na aparatu sa ELEMENTAR Vario EL III C, H, N, S/O analizatorom (Elementar, Nemačka)
- ✚ Aparat za određivanje temperature topljenja Townson & Mercer LTD. Tip V (Croydon, Engleska)
- ✚ Merenja radioaktivnosti su izvedena na NaI(Tl) gama brojaču (LKB Wallac Compu Gamma Counter, Finska)
- ✚ Spektrofotometrijska ispitivanja izvedena su na spektrofotometru UVICON 810/820 (Kottron Instruments, Austrija)
- ✚ pH-metar (Beckman, Sjedinjene Američke Države) sa kombinovanom elektrodom tip pH3001 (Radiometer, Danska)
- ✚ Hewlett-Packard HPLC sistem Model HP 1050 serije opremljen kvaternom pumpom, autosemplerom sa automatskim injektorom, komorom sa degazatorom i grejačem (Palo Alto, Sjedinjene Američke Države), UV-detektorom HP 1100 serije i Raytest gama detektorom. Programski softver je HP ChemStation za tečnu hromatografiju. Korišćena je analitička kolona Zorbax C18 (150 mm x 4,6 mm ID) sa punjenjem granulacije 5 μ m (Merck, Nemačka)
- ✚ Elektrohemijski eksperimenti su izvedeni na standardnoj opremi za cikličnu voltametriju tj. na sistemu koji se sastoji od elektrohemijske ćelije (Tacusel) sa tri elektrode, potencioštata (Pine Instrument Company, RDE4) i pisača (Philips, PM 8134) što je detaljno opisano u literaturi [120,121].
- ✚ Četvorokružni difraktometar Oxford Diffraction Gemini S sa CCD detektorom (Santa Clara, Sjedinjene Američke Države)

3.3. Metode

Sintetisani diimino- i diamino-dioksimi su okarakterisani temperaturom topljenja, UV, FTIR, NMR i mikroanalizom.

Sintetisani kompleksi su okarakterisani temperaturom topljenja, cikličnom voltametrijom, UV, FTIR i mikroanalizom. Kompleks koji je izolovan u obliku monokristala, karakterisan je analizom kristalne strukture difrakcijom X-zraka.

IR spektri su snimani u obliku KBr tableta. ^1H i ^{13}C NMR merenja su izvedena na sobnoj temperaturi sa deuterisanim hloroformom ($d^1\text{-CDCl}_3$) i DMSO ($d^6\text{-DMSO}$) koji su korišćeni kao rastvarači uz tetrametilsilan (TMS) kao unutrašnji standard (δTMS 0.0 ppm). Analize sadržaja elemenata (C, H, N) rađene su standardnim mikrometodama. Za spektrofotometrijska merenja korišćene su kvarcne kivete od 10 mm. pH-metar je kalibrisan standardnim puferskim rastvorima: ftalatni pH $4,01 \pm 0,02$, fosfatni pH $7,00 \pm 0,02$ i glicin/hlorovodonična kiselina $1,00 \pm 0,02$.

Molecular Modeling System HyperChem™ Release 7.5 za Windows je korišćen za modelovanje [122]. Pretpostavljene strukture su optimizovane uz pomoć molekulskog modelovanja koji koristi MM+ polje sila. Polak-Ribiere konjugovani gradient algoritam je korišćen za pronalaženje minimuma za energiju konvergencije od 0,001 kcal/(Å mol).

Elektrohemijski eksperimenti su izvedeni u elektrohemijskoj ćeliji sa tri elektrode potopljene u izabranom elektrolitu: staklena ugljenična elektroda kao stacionarna radna elektroda, zlatna žica kao kontra elektroda i zasićena kalomelova elektroda (SCE) kao referentna elektroda. Staklena ugljenična elektroda (površine $0,500 \text{ cm}^2$) se pripremi na sledeći način: polirana je dijamantskom pastom, očišćena mešavinom $18 \text{ M}\Omega$ vode i sumporne kiseline i nakon toga očišćena u ultrazvučnom kupatilu sa $18 \text{ M}\Omega$ vodom. $0,05 \text{ M NaHCO}_3$ je izabran za elektrolit i pre elektrohemijskih merenja je deaeriran uvođenjem azota. Sintetisani kompleksi i ligand (DI-2), ispitivani cikličnom voltametrijom, rastvoreni su i ispitivani u pomenutom elektrolitu. Ligand je rastvoren u $1 \text{ mL CH}_3\text{OH}$ i dodat u rastvor elektrolita. CH_3OH je elektrohemijski neaktivan pod opisanim eksperimentalnim uslovima [123]. Ciklična voltametrija je izvršena pri brzini promene potencijala od 50 mV

s⁻¹. Primenjeni opseg potencijala je od – 0,5 V do 0,8 V. Svi eksperimenti su izvedeni na sobnoj temperaturi.

Intenziteti refleksija kod monokristala su izmereni na četvorokružnom difraktometru sa CCD detektorom. Korišćeno je molibdensko K α zračenje, uz grafitni monohromator. Intenziteti su korigovani za Lorencov i polarizacioni faktor korišćenjem programa CRYCALISPRO [124]. Uticaj apsorpcije na intenzitete je modeliran primenom empirijske metode korišćenjem programa SCALE3 ABSPACK [124]. Položaji nevodoničnih atoma su određeni primenom direktnih metoda korišćenjem programa SIR92 [125], u okviru programskog paketa WinGX [126]. Jedan od atoma kiseonika iz perhloratne grupe je neuređen i nalazi se u dva položaja sa faktorima zauzeća, 70% i 30%. Kada su određeni položaji svih atoma u elementarnoj ćeliji, potrebno je izvršiti optimizovanje njihovih koordinata. Položaji nevodoničnih atoma su optimizovani programom SHELXL-97 [127], primenom metode najmanjih kvadrata uz korišćenje kvadrata strukturnih faktora (F^2) svih refleksija. Položaji atoma vodonika u OH grupi su određeni na osnovu položaja pikova u diferentnoj Furijeovoj mapi. Položaji atoma vodonika, koji pripadaju CH₃ i CH₂ grupama, su definisani na osnovu idealizovane geometrije. Svi atomi vodonika su optimizovani primenom modela "očitanja". Geometrijski parametri su izračunati korišćenjem programa PARST [128] i PLATON [129]. Programi CAMERON [130], Mercury [131] i ORTEP [132] su korišćeni za vizuelni prikaz kristalne i molekulske strukture.

Nakon radioaktivnog obeležavanja sintetisanih diamino-dioksima sa izotopom ^{99m}Tc(V) analiziran je prinos primarnih ^{99m}Tc-diamino-dioksimskih kompleksa papirnom (PC) i tankoslojnom hromatografijom (ITLC), kao i HPLC metodom.

Elektroforezom je određeno naelektrisanje ispitivanih ^{99m}Tc-kompleksa (anjonski, katjonski ili neutralni kompleks).

Lipofilnost (stepen rastvorljivosti u mastima) je izračunata kod primarnih ^{99m}Tc-kompleksa kako bi se utvrdilo da li mogu da prođu krvno-moždanu barijeru, a određene su i vrednosti vezivanja ^{99m}Tc-kompleksa za proteine „*in vitro*”.

3.4. Sinteze

3.4.1. Sinteza 2-hidroksiimino-3-pentanona (KO)

2-hidroksiimino-3-pentanon je sintetisan metodom opisanoj u literaturi [133] sa neznatnim modifikacijama u cilju postizanja većeg prinosa. Reakcija se odvija u troglrom balonu (koji je snabdeven kondenzatorom i sa dve cevi koje služe za uvođenje gasova CH_3NO_2 i HCl). HCl gas se razvija u Kipp-ovom aparatu reakcijom H_2SO_4 i NH_4Cl u granulama. Gas CH_3NO_2 se dobija ukapavanjem 50 mL razblažene H_2SO_4 (1:2 v/v) u smešu NaNO_2 (29 g), CH_3OH (18 mL) i H_2O (17 mL). U rastvor 3-pentanona (36,9 mL, 30,1 g, 0,35 mol) u dietil-etru (230 mL) uvode se istovremeno gasovi CH_3NO_2 i HCl . Rastvor 3-pentanona dobija žuto-zelenu boju i nakon 10 minuta počinje refluktovati usled zagrevanja toplotom egzotermne reakcije. Potrebno je oko 2 h za uvođenje CH_3NO_2 . Mešanje reakcione smeše i uvođenje HCl se nastavlja još 30 minuta. Kada se završi sa uvođenjem gasova, reakciona smeša se neutrališe zasićenim vodenim rastvorom NaHCO_3 (20 g u 200 mL). Etarski sloj se odvoji, a vodeni se ekstrahuje tri puta sa dietil-etrom (ukupno 300 mL). Spojeni organski slojevi suše se sa MgSO_4 (25 g). Rastvarač dietil-etar se ukloni na rotacionom uparivaču dajući žuto ulje koje kristališe stajanjem. Prekristalizacijom iz heksana dobija se finalni proizvod.

3.4.2. Sinteza 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksima (DI-1)

Metod 1 [133]. U troglrom balonu, koji je snabdeven Dean-Stark-ovim separatorom, levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je 2-hidroksiimino-3-pentanon (13,27 g, 115,4 mmol) u $\text{C}_6\text{H}_{6\text{anh}}$ (50 mL) i dodata je katalitička količina CH_3COOH (75 μL). Rastvor se zagreva da refluktuje i lagano se dodaje rastvor 1,2-diaminetana (3,27 mL, 49 mmol) u $\text{C}_6\text{H}_{6\text{anh}}$ (100 mL) u toku 5 h. Reakciona smeša se zagreva uz refluks dodatnih 16 h u atmosferi azota, a zatim se ohladi na sobnu temperaturu. Nagrađeni talog se filtrira na vakuumu i ispere sa hladnim CH_3CN . Proizvod obično sadrži

u tragovima (2-3%) neizreagovanog ketoksima, ali se on potpuno uklanja ponovljenom prekrystalizacijom iz benzena.

Metod 2 [114,134]. U dvogrloj balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je 2-hidroksiimino-3-pentanon (2,42 g, 0,021 mol) u 5 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$. U reakcionu balonu se dodaje 1,2-diaminoetana ($0,674 \text{ cm}^3$, 0,6 g, 0,01 mol) u kapima. Smeša se meša na sobnoj temperaturi 1 h. Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Nastali talog se odvoji filtracijom, ispere hladnim CH_3OH , dietil-etrom i suši u eksikatoru. Prekrystalizacijom iz CH_3OH dobija se finalni proizvod.

3.4.3. *Sinteza 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima (L-1)*

U suspenziju DI-1 (0,5 g) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ (7,5 mL) dodaje se NaBH_4 (0,074 g) u malim porcijama uz mešanje u toku 2 h (dvogrli balon, refluks kondenzator sa CaCl_2 u cevi, magnetna mešalica). Balon se hladi ledom jer je reakcija egzotermna. Po završenom dodavanju NaBH_4 , rastvor se uz dalje mešanje, održava na istoj temperaturi. Nastajanje L-1 se prati spektrofotometrijskom UV metodom koristeći $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepu probu. Kada je reakcija završena doda se H_2O (1,7 mL) i nastavi sa mešanjem još 1 h. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ se ukloni na rotacionom uparivaču i doda još H_2O (0,9 mL). pH se podesi na 11 sa 2 M HCl. Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Izdvojeni talog se odvoji filtracijom i ispere sa malo H_2O . Dvostrukom prekrystalizacijom iz CH_3CN dobija se 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim (L-1).

3.4.4. *Sinteza 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima (DI-2)*

Metod 1. U trogrloj balonu, koji je snabdeven Dean-Stark-ovim separatorom, levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je 2-hidroksiimino-3-pentanon (13,27 g, 115,4 mmol) u $\text{C}_6\text{H}_6_{\text{anh}}$ (50 mL) i dodata je katalitička količina CH_3COOH (75 μL). Rastvor se zagreva da refluktuje i lagano se dodaje rastvor 1,4-diaminbutana (5,00 g, 5,88 mL, 49 mmol) u $\text{C}_6\text{H}_6_{\text{anh}}$ (100 mL) u toku 5 h. Reakciona smeša se zagreva uz refluks dodatnih 16 h u atmosferi azota, a zatim se ohladi na sobnu temperaturu. Nagrađeni talog se filtrira na

vakuumu i ispere sa hladnim CH_3CN . Proizvod obično sadrži u tragovima (2-3%) neizreagovanog ketoksima, ali se on kompletno uklanja ponovljenom prekriztalizacijom iz benzena.

Metod 2 [135]. U dvogrlom balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je uz mešanje 1,4-diaminbutan (1 mL, 0,88 g, 0,01 mol) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ (5 mL). U reakcionu balon se dodaje u kapima u toku 30 minuta rastvor 2-hidroksiimino-3-pentanona (2,42 g, 0,021 mol) u 7 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$. Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi 20 minuta, a zatim se doda CH_3COOH (40 μL) i zagreva uz refluks 3 h. Rastvarač se zatim upari na vakuumu. U uljasti ostatak se doda petrol-etar i reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi, pri čemu dolazi do građenja taloga. Rastvarač se dekantuje. Proizvod se prečisti iz hladnog CH_3OH . Talog se nakon filtracije ispere hladnim CH_3OH , dietil-etrom i suši u eksikatoru. Dvostrukom prekriztalizacijom iz vrućeg CH_3OH dobija se finalni proizvod.

3.4.5. Sintaza 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima (L-2)

U suspenziju DI-2 (0,5 g) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ (7,5 mL) dodaje se NaBH_4 (0,067 g) u malim porcijama uz mešanje u toku 2 h (dvogrli balon, refluks kondenzator sa CaCl_2 u cevi, magnetna mešalica). Balon se hladi ledom jer je reakcija egzotermna. Po završenom dodavanju NaBH_4 , rastvor se uz dalje mešanje, održava na istoj temperaturi. Nastajanje L-2 se prati spektrofotometrijskom UV metodom koristeći $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepu probu. Po završetku reakcije se doda H_2O (1,7 mL) i nastavi sa mešanjem još 1 h. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ se ukloni na rotacionom uparivaču i doda još H_2O (0,9 mL). pH se podesi na 11 sa 2 M HCl . Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Izdvojeni talog se odvoji filtracijom i ispere sa malo H_2O . Dvostrukom prekriztalizacijom iz CH_3CN dobija se 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim (L-2).

3.4.6. *Sinteza 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksima (DI-3)*

DI-3 se priprema koristeći metod opisan kod sinteze DI-1 u protičnom rastvaraču. U dvogrlom balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je 2,3-butandion monoksim (2,02 g, 0,02 mol) u 15 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$. U reakcionu balon se dodaje 1,5-diaminopentan (1,16 mL, 0,01 mol) u kapima. Smeša se meša na sobnoj temperaturi 2 h. Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Nastali talog se odvoji filtracijom, ispere hladnim $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, dietil-etrom i suši u eksikatoru. Prekristalizacijom iz $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ dobija se finalni proizvod.

3.4.7. *Sinteza 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima (L-3)*

U suspenziju DI-3 (0,5 g) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ (7,5 mL) dodaje se NaBH_4 (0,071 g) u malim porcijama uz mešanje u toku 2 h (dvogrlni balon, refluks kondenzator sa CaCl_2 u cevi, magnetna mešalica). Balon se hladi ledom jer je reakcija egzotermna. Po završenom dodavanju NaBH_4 , rastvor se uz dalje mešanje, održava na istoj temperaturi. Nastajanje L-3 se prati spektrofotometrijskom UV metodom koristeći $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepu probu. Zatim se doda H_2O (1,7 mL) i nastavi sa mešanjem još 1 h. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ se ukloni na rotacionom uparivaču i doda još H_2O (0,9 mL). pH se podesi na 11 sa 2 M HCl. Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Izdvojeni talog se odvoji filtracijom i ispere sa malo H_2O . Dvostrukom prekristalizacijom iz CH_3OH dobija se 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksim (L-3).

3.4.8. *Sinteza 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksima (DI-4)*

DI-4 se, kao i DI-3, priprema koristeći metod opisan kod sinteze DI-1 u protičnom rastvaraču. U dvogrlom balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i kondenzatorom, rastvoren je 2,3-butandion monoksim (2,02 g, 0,02 mol) u 15 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$. U reakcionu balon se dodaje 1,5-diaminoheksan (1,38 mL, 0,01 mol) u kapima. Smeša se meša na sobnoj temperaturi 2 h. Rastvor se ostavi preko noći na 0 °C. Nastali talog se odvoji

filtracijom, ispere hladnim $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, dietil-etrom i suši u eksikatoru. Prekristalizacijom iz $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ dobija se finalni proizvod.

3.4.9. *Sinteza 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima (L-4)*

U suspenziju DI-4 (0,5 g) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ (7,5 mL) dodaje se NaBH_4 (0,067 g) u malim porcijama uz mešanje u toku 2 h (dvogrlni balon, refluks kondenzator sa CaCl_2 u cevi, magnetna mešalica). Balon se hladi ledom jer je reakcija egzotermna. Po završenom dodavanju NaBH_4 , rastvor se uz dalje mešanje, održava na istoj temperaturi. Nastajanje L-4 se prati spektrofotometrijskom UV metodom koristeći $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepu probu. Zatim se doda H_2O (1,7 mL) i nastavi sa mešanjem još 1 h. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ se ukloni na rotacionom uparivaču i doda još H_2O (0,9 mL). pH se podesi na 11 sa 2 M HCl . Rastvor se ostavi preko noći na 0°C . Izdvojeni talog se odvoji filtracijom i ispere sa malo H_2O . Dvostrukom prekristalizacijom iz CH_3OH dobija se 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksim (L-4).

3.4.10. *Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II) (1)*

U dvogrlom balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i refluks kondenzatorom sa CaCl_2 u cevi, suspendovan je bakar(II)-acetat-monohidrat (110 mg, 0,625 mmol) u CH_3OH (10 mL). U reakcionu balon se dodaje vrući CH_3OH rastvor DI-2 (175 mg, 0,625 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks 3 h. Braon talog se izoluje u obliku perhloratnih soli dodatkom zasićenog rastvora NaClO_4 . Kristali odgovarajućih karakteristika, potrebnih za analizu difrakcijom X zraka, formiraju se stajanjem na sobnoj temperaturi tokom 3 dana. Kristali se nakon filtracije suše u eksikatoru i dobrih su karakteristika za određivanje kristalografske strukture difrakcijom X zraka.

3.4.11. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Ni(II) (2)

Ovaj kompleks je dobijen na isti način kao kompleks (1) koristeći nikal(II)-hlorid-heksahidrat (148 mg, 0,625 mmol) umesto bakar(II)-acetat-monohidrata. Kristali narandžaste boje se grade veoma brzo, ali nisu dobrih karakteristika za određivanje kristalografske strukture difrakcijom X zraka.

3.4.12. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Co(II) (3)

U dvogrlom balonu, koji je snabdeven levkom za ukapavanje i refluks kondenzatorom sa CaCl_2 u cevi, suspendovan je kobalt(II)-hlorid-heksahidrat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (135 mg, 0,625 mmol) u CH_3OH (10 mL). U reakcionu balon se dodaje vrući CH_3OH rastvor DI-2 (175 mg, 0,625 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks 2 h. Sintaza nije izvedena u inertoj atmosferi azota. Rastvarač se ukloni sporim uparavanjem kako bi se formirao zeleni kristalni talog. Nastali talog se nakon filtracije, ispere hladnim CH_3OH i dietil-etrom. Kristalni zeleni talog se obrazuje dodavanjem dietil-etra u CH_3OH rastvor kompleksa. Kristali rastu polako difuzijom dietil-etra u CH_3OH rastvor kompleksa. Izdvojeni kristali se suše u eksikatoru, ali nisu dobrih karakteristika za određivanje kristalografske strukture difrakcijom X zraka.

3.5. Kompleksi sintetisanih diamino-dioksima sa tehnecijumom-99m

Za građenje kompleksa diamino-dioksima sa $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$ korišćen je anhidrovani SnCl_2 kao redukcionno sredstvo, a postupak pripremanja je isti za svaki ispitivani diamino-dioksim. Rastvor diamino-dioksima (L-1, L-2, L-3 ili L-4) u bidestilovanoj H_2O oslobođenoj kiseonika se zakiseli sa HCl_{conc} do $\text{pH}=1,5-2$. Rastvor se hladi ledom i uvodi se gas azot. Zatim se doda određena zapremina rastvora SnCl_2 (5 mg anhidrovanog SnCl_2 u 0,05 ml HCl_{conc} rastvori se do 10 mL sa H_2O) i pH se podesi na odgovarajuću vrednost.

Nakon dodatka natrijum-pertehnetata ($^{99m}\text{TcO}_4^-$, 18,5-37 MBq/mL), rastvor se lagano promeša i ostavi na sobnoj temperaturi.

U cilju određivanja optimalnih uslova građenja kompleksa diamino-dioksima sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ urađena je serija eksperimenata sa promenom reakcionih parametara kao što su: koncentracija liganda (0,1-0,4 mg/mL), koncentracija SnCl_2 (1-4 $\mu\text{g/mL}$), molarni odnos Sn(II):L (1:25, 1:40, 1:55 i 1:70), pH reakcione smeše (7-10), ukupna zapremina (3-5 mL) i reakciono vreme (5-30 minuta).

3.6. *Određivanje prinosa primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa*

Prinos nagrađenih primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa, odnosno prinos obeležavanja diamino-dioksima sa $^{99m}\text{Tc(V)}$, određuje se ispitivanjem radiohemijske čistoće ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa i izražen u procentima predstavlja odnos radioaktivnosti radioizotopa prisutnog u uzorku u obliku ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa i ukupne radioaktivnosti radioizotopa u uzorku. Osim željenog kompleksa, u ispitivanom uzorku mogu biti prisutne sledeće radiohemijske nečistoće: ^{99m}Tc -sekundarni kompleks, ^{99m}Tc -hidrolizat ($^{99m}\text{TcO}_2$) i slobodni $^{99m}\text{TcO}_4^-$. Za kvantitativno odvajanje i određivanje svake komponente potrebno je kombinovanje različitih metoda, a u ovom slučaju korišćena je kombinacija tri hromatografska sistema:

1. PC na Whatman 1MM u mobilnoj fazi acetonitril: fiziološki rastvor (1:1) ($^{99m}\text{TcO}_2$ na $R_f=0,0$, slobodni $^{99m}\text{TcO}_4^-$ i ^{99m}Tc -kompleksi na $R_f=0,9-1,0$).
2. ITLC/SG traka u fiziološkom rastvoru kao mobilnoj fazi ($^{99m}\text{TcO}_2$ i ^{99m}Tc -kompleksi na $R_f=0,0$, slobodni $^{99m}\text{TcO}_4^-$ na $R_f=0,9-1,0$).
3. ITLC/SG traka u metil-etil-ketonu (MEK) kao mobilnoj fazi ($^{99m}\text{TcO}_2$ i ^{99m}Tc -sekundarni kompleks na $R_f=0,0$, slobodni $^{99m}\text{TcO}_4^-$ i ^{99m}Tc -primarni kompleks na $R_f=0,9-1,0$) [136].

Alikvot reakcione smeše (5-10 μL) se nanese na 2 cm od početka trake (2,5 x 20 cm) i razvija u odgovarajućoj mobilnoj fazi. Trake se osuše, seku se na jednake segmente (1 cm). Raspodela radioaktivnosti duž trake se određuje merenjem radioaktivnosti svakog cm trake na NaI(Tl) scintilacionom brojaču. Sadržaj svake komponente izračunava se u

odnosu na ukupnu radioaktivnost na traci i na taj način se određuje prinos primarnog ^{99m}Tc -diamino-dioksimskog kompleksa, izražen u procentima.

3.7. Visokoeфикасна течна hromatografija-HPLC

Prinos primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa se može odrediti, pored navedene, i metodom visokoeфикаsne tečne hromatografije (HPLC). Uzorci su ispitani na Hewlett Packard 1050, hromatografskom sistemu koji poseduje zajedno UV detektor na 225 nm i Raytest gama detektor. Korišćena je analitička Zorbax C18 (150 mm x 4,6 mm ID) kolona sa punjenjem granulacije 5 μm , koja je eluirana binarnim sistemom sa protokom od 0,90 mL/min. Mobilna faza A je H_2O , dok je mobilna faza B CH_3CN . Eluacioni gradiјent je od 0 do 10 minuta 100% A, praćen linearnim gradientom do 100% B narednih 5 minuta za ^{99m}Tc -L-1 (odnosno 6 minuta za ^{99m}Tc -L-2); ovakav sastav je zadržan narednih 15 minuta. Kolona se ispere sa 100% A 10 minuta pre svakog sledećeg injektovanja uzorka.

3.8. In vitro stabilnost primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa

In vitro stabilnost obeleženog jedinjenja prati se ispitivanjem radiohemijske čistoće radiofarmaceutika u toku vremena.

Stabilnost ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa u fiziološkom rastvoru ispitivana je u različitim vremenskim intervalima (do 4 h) koristeći PC i ITLC radiohromatografske metode, nakon inkubacije uzoraka na sobnoj temperaturi.

Za određivanja stabilnosti primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa u serumu, 0,1 mL uzorka odabranog ^{99m}Tc -kompleksa u 0,9 ml 4,6% rastvora humanog serum albumina se termostatira na 37 °C u toku 1 h, a procenat radiohemijskih nečistoća određuje se ispitivanjem uzoraka koji se uzimaju u toku inkubacije takođe koristeći PC i ITLC metode.

3.9. Vezivanje primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa za proteine

Vezivanje ^{99m}Tc -kompleksa za proteine ispitivano je praćenjem interakcije radiofarmaceutika sa albuminom iz humanog seruma (HSA). Vrednosti vezivanja radiofarmaceutika za proteine „*in vitro*” određene su TCA-taložnom metodom [137,138]. 0,1 mL obeleženog jedinjenja se dodaje u kivete sa 1,5 mL 12% HSA i termostatira na 37 °C u toku 20 minuta. Posle termostatiranja vrši se taloženje proteina dodatkom 3 mL 20% CCl_3COOH . Talog se izdvoji iz rastvora centrifugiranjem (5 minuta, 3000xG) i ispere fiziološkim rastvorom. Procedura se ponovi tri puta. Radioaktivnost prisutna u supernatantu i talogu se meri u gama scintilacionom brojaču.

3.10. Elektroforeza

Trake hromatografskog papira Whatman 3MM (2,5 x 30 cm) nakvase se puferskim rastvorom 0,02 M $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ pH=9,0 pre upotrebe. Alikvot (5-10 μL) reakcione smeše nanese se na sredinu trake. Primenom visokog napona (250 V) u toku 1 h, komponente ispitivane reakcione smeše koje poseduju naelektrisanje migriraju ka jednom ili drugom kraju trake, odnosno prema odgovarajućoj elektrodi shodno svom naelektrisanju. Elektroneutralne komponente ostaju na mestu nanošenja. Nakon završene elektroforeze, trake se suše, seku na jednake segmente (1 cm) i meri se njihova radioaktivnost u gama scintilacionom brojaču.

3.11. Određivanje lipofilnosti primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa

Lipofilnost, odnosno particioni koeficijent, primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa je određena prethodno opisanom metodom sa neznatnim modifikacijama [139]. Uzorci primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa (0,1 mL u 0,9 mL 0,025 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ pufera pH=7,4) u 1-oktanolu (1,0 mL) mešani su Vortexom na sobnoj

temperaturi 1 minut, da bi se obezbedila raspodela radiofarmaceutika između dve tečne faze (vodene i organske), a zatim su centrifugirani na 3500 rpm 10 minuta. Iz obe faze, uzeti su alikvoti od 0,1 mL i izmerena njihova radioaktivnost u gama scintilacionom brojaču. Koeficijent je izračunat korišćenjem formule: $\log P_{o/w} = \log (\text{broj impulsa u 1-oktanolu/broj impulsa u puferu})$.

Ispitivanju lipofilnosti je prethodilo izdvajanje primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa iz reakcione smeše ekstrakcionom metodom sa CHCl_3 [140]. Samo lipofilni kompleks je rastvoran u organskom rastvaraču, a nečistoće ostaju u vodenoj fazi. Rastvarač se ukloni u struji gasa azota na sobnoj temperaturi. Suvi ostatak se rekonstituiše sa fiziološkim rastvorom. Radiohemijska čistoća ekstrahovane komponente proverava se TLC i ITLC metodom.

3.12. Biološka raspodela primarnih ^{99m}Tc -diamino-dioksimskih kompleksa

Biološka raspodela (biodistribucija) diamino-dioksima obeleženih sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ je ispitivana na oglednim životinjama, pri čemu je za svaki eksperiment bilo neophodno koristiti bar tri životinje. Korišćeni su zdravi Wistar beli pacovi, osam nedelja stari, težine 200-250 g. U repnu venu životinje se injektuje 0,1 mL primarnog ^{99m}Tc -diamino-dioksima (aktivnosti $\sim 0,5\text{--}1,0$ MBq). Radiohemijska čistoća primarnog ^{99m}Tc -diamino-dioksimskog kompleksa se proverava pre injektovanja i mora biti $>90\%$. Životinje se zatim žrtvuju dislokacijom kičmenog stuba 2, 5, 15, 30 i 60 minuta posle injektovanja. Uzorak krvi i organi od interesa (srce, pluća, jetra, slezina, bubrezi, želudac, creva, mišić, kost i mozak) se izdvoje i izmere težine. Radioaktivnost organa merena je u odnosu na standard koji predstavlja aktivnost one zapremine radiofarmaceutika (0,1 mL) koja je injektovana životinji. Iz odnosa injektovane (radioaktivnost standarda) i izmerene radioaktivnosti organa izračunata je raspodela radioaktivnosti u procentima u organima i krvi. Ukupna krv i mišići računaju se kao 6,7% i 40% od celokupne težine [141].

3.13. Job-ova metoda za određivanje stehiometrije u sintetisanim kompleksima

Odnos komponenata u kompleksima DI-2 sa Ni(II) i Co(II) određen je spektrofotometrijski korišćenjem Job-ove metode molskih odnosa [142] na $\lambda_{\text{max}}=255$ nm, uz modifikaciju koja uključuje korišćenje C₂H₅OH umesto H₂O. Rastvori metala (NiCl₂·6H₂O ili CoCl₂·6H₂O) i diimino-dioksima (DI-2), iste koncentracije ($0,37 \times 10^{-5}$ M) su pripremljeni i pomešani u zapreminskim odnosima od 1:9 do 9:1.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

U okviru ove doktorske disertacije prvo su sintetisana četiri jedinjenja iz klase diimino-dioksima, a njihovom redukcijom dobijena su četiri jedinjenja iz klase diamino-dioksima koja do sada nisu poznata u literaturi. Za sintezu dva diimino-dioksimska jedinjenja kao polazno jedinjenje korišćen je 2-hidroksiimino-3-pentanon, koji nije komercijalno dostupan i zbog toga je prethodno sintetisan. Za sintezu preostala dva diimino-dioksimska jedinjenja korišćen je komercijalno dostupan 2,3-butandion monoksim (KO-1).

Sinteza sva četiri diimino-dioksimska jedinjenja je izvedena u protičnom rastvaraču ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ili CH_3OH), uz refluks ili na sobnoj temperaturi, u atmosferi azota i po potrebi u prisustvu katalitičke količine CH_3COOH . Sinteza u aprotičnom rastvaraču (benzen) izvedena je samo za dva diimino-dioksimska jedinjenja: DI-1 i DI-2. Ostvareni prinosi diimino-dioksima koji su sintetisani u protičnom i u aprotičnom rastvaraču, što je zahtevalo samim tim i nešto drugačije reakcione uslove, su upoređeni.

Sinteza diamino-dioksimskih jedinjenja je izvedena redukcijom odgovarajućeg diimino-dioksima sa NaBH_4 u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$.

Sintetisani diamino-dioksimi grade komplekse sa radioaktivnim izotopom $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$, jer sadrže četiri atoma azota sa slobodnim parovima elektrona i ponašaju se kao donori elektrona pri građenju koordinativne veze. Ispitivano je da li $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}$ -diamino-dioksimski kompleksi mogu imati primenu u SPECT nuklearno-medicinskoj dijagnostici.

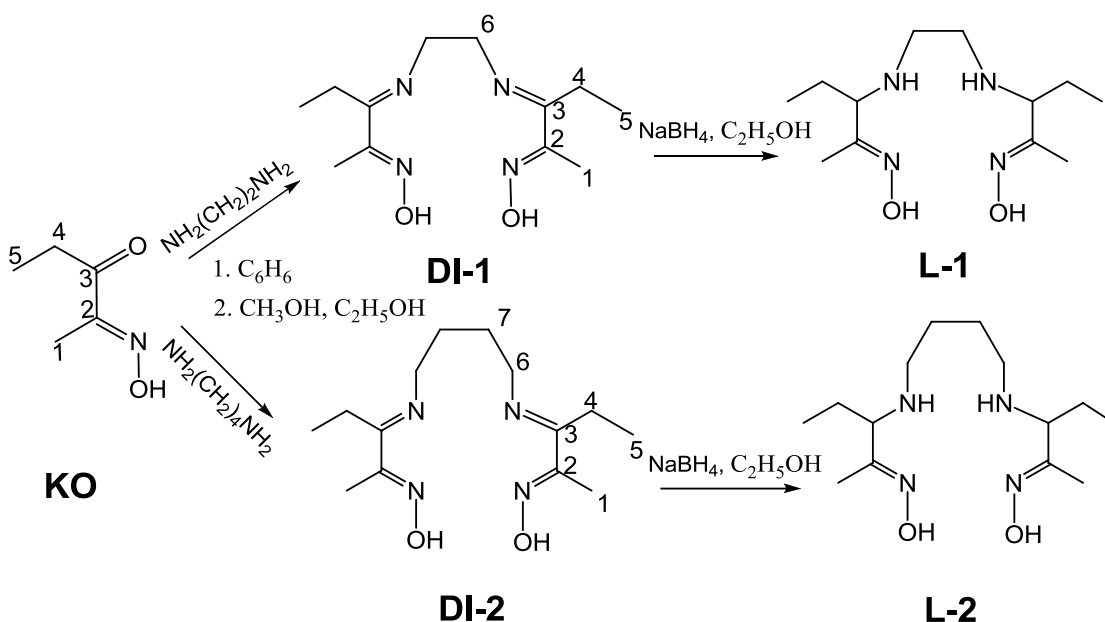
Jedinjenja tipa diimino-dioksima lako grade komplekse sa prelaznim metalima, samim tim i sa Cu(II) . To je veoma značajno jer bi sintetisana jedinjenja diimino-dioksimskog tipa, a pogodne strukture, mogla biti obeležena i radioaktivnim izotopom ^{64}Cu i imati potencijalnu primenu u PET nuklearno-medicinskoj dijagnostici. Sintetisani su kompleksi jednog odabranog diimino-dioksima (DI-2) i dvovalentnih metala Cu(II) , Co(II) i Ni(II) . Struktura kompleksa odabranog diimino-dioksima sa Cu(II) u čvrstom stanju je određena primenom metoda rendgensko-strukturne analize na monokristalu. Poređenje kristalne strukture dobijenog jedinjenja sa strukturno sličnim Cu(II) kompleksima ukazuje na uticaj slabe $\text{Cu}\cdots\text{O}(\text{ClO}_3)$ interakcije na strukturna svojstva $\text{Cu}_2\text{O}_2\text{N}_2$ metalocikla.

4.1. Sinteza jedinjenja 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima

Polazeći od 2-hidroksiimino-3-pentanona i odgovarajućih diamina (1,2-diaminoetan i 1,4-diaminbutan) sintetisana su dva diamino-dioksimska jedinjenja: 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim (L-1) i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim (L-2).

Sinteza jedinjenja L-1 i L-2 je postupak koji se odvija u dve faze. Prva faza je klasična kondenzacija karbonilnog jedinjenja sa aminom uz nastajanje imina. U ovoj reakciji adiciono-eliminacionog tipa, brzi nukleofilni napad azota iz amina na C=O grupu ketona praćen je sporom eliminacijom vode iz intermedijernog jedinjenja, a finalni proizvod su DI-1 i DI-2. Ova faza sinteze je izvedena u protičnom i aprotičnom rastvaraču, i to u anhidrovanim uslovima. Veći prinos oba navedena imina postiže se reakcijom u protičnom rastvaraču (CH₃OH ili C₂H₅OH) u odnosu na reakciju u aprotičnom rastvaraču (benzen). Korišćenjem protičnog rastvarača sintetisane su Schiff-ove baze DI-1 i DI-2 sa prinosom od 74% i 78%, dok su korišćenjem aprotičnog rastvarača ostvareni prinosi od 32% i 30%. Još jedna prednost sinteze u protičnom rastvaraču je znatno veća hemijska čistoća proizvoda u odnosu na proizvod iz sinteze u aprotičnom rastvaraču [55]. Druga faza u sintezi L-1 i L-2 je selektivna redukcija dve imino grupe Schiff-ovih baza DI-1 i DI-2 sa NaBH₄ u C₂H₅OH_{anh}, sa prinosom diamino-dioksima od 80% i 74%.

Šema 1 prikazuje sintetski put građenja diamino-dioksimskih jedinjenja L-1 i L-2. Numeracija C-atoma u Šemi 1 je korišćena za interpretaciju ¹H NMR i ¹³C NMR spektara.



Šema 1. Sintetski put za jedinjenja L-1 i L-2

Karakterizacije sintetisanih jedinjenja prikazanih na Šemi 1 (KO, DI-1, L-1, DI-2 i L-2) date su u nastavku.

- *Karakterizacija jedinjenja 2-hidroksiimino-3-pentanona (KO)*

Prinos jedinjenja KO: 75%.

Temperatura topljenja jedinjenja KO: 60-61 °C (60-61 °C [133]).

Hemijska čistoća jedinjenja KO je potvrđena:

1. elementarnom analizom (% C=52,02; % H=7,58; % N=12,30), što je u saglasnosti sa bruto formulom $C_5H_9NO_2$ (% C=52,16; % H=7,88; % N=12,17).
2. 1H NMR spektroskopskom analizom u $CDCl_3/TMS$ (deuterisani hloroform kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 1,13 ($CH_3(C_5)$, 3H, t, $J=7,5$ Hz), 2,03 ($CH_3(C_1)$, 3H, s), 2,82 ($CH_2(C_4)$, 2H, q, $J=7,5$ Hz), 9,66 (OH, 1H, s).
3. ^{13}C NMR spektroskopskom analizom u $CDCl_3/TMS$ (deuterisani hloroform kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 7,90 C(1), 30,50 C(2), 200,45 C(3), 156,48 C(4), 8,23 C(5).

4. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu = 1668$ s ($\text{C}=\text{N}$) (s, 'strong'-jaka traka).

- *Karakterizacija jedinjenja 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksima (DI-1)*

Prinos jedinjenja DI-1 ako se reakcija odvija u aprotičnom rastvaraču: 32 %.

Prinos jedinjenja DI-1 ako se reakcija odvija u protičnom rastvaraču: 74 %.

Temperatura topljenja jedinjenja DI-1: 175-177 °C.

Jedinjenje DI-1 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=56,37; % H=9,00; % N=22,00), što je u saglasnosti sa bruto formulom $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$ (% C=56,67; % H=8,72; % N=22,03).
2. ^1H NMR spektroskopskom analizom u d_6 -DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 0,97 ($\text{CH}_3(\text{C}5)$, 3H, t, $J=7,5$ Hz), 1,87 ($\text{CH}_3(\text{C}1)$, 3H, s), 2,55 ($\text{CH}_2(\text{C}4)$, 2H, q, $J=7,5$ Hz), 3,77 ($\text{CH}_2(\text{C}6)$, 2H, s), 11,45 (OH, 1H, s).
3. ^{13}C NMR spektroskopskom analizom u d_6 -DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 9,29 C(1), 155,45 C(2), 168,85 C(3), 19,84 C(4), 11,70 C(5), 51,75 C(6).
4. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu=3124$ (OH), $\nu=1621$, s ($\text{C}=\text{N}, \text{C}=\text{NOH}$), $\nu=1376$, 1462 (CH_3 , CH_2).
5. UV spektrofotometrijskom analizom: $\lambda_{\text{max}} = 230$ nm ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

- *Karakterizacija jedinjenja 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima (L-1)*

Prinos jedinjenja L-1: 80 %.

Temperatura topljenja jedinjenja L-1: 133-134 °C.

Jedinjenje L-1 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=55,52; % H=9,98; % N=21,41), što je u saglasnosti sa bruto formulom $\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2$ (% C=55,79; % H=10,14; % N=21,69).

- ¹H NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 0,76 (CH₃(C5), 3H, t, *J*=7,5 Hz), 1,35-1,50 (CH₂(C4), 2H, m), 1,62 (CH₃(C1), 3H, s), 2,34 (CH₂(C6), 2H, s), 2,90 (CH(C3), 1H, t, *J*=7,3 Hz), 10,32 (OH, 1H, s).
- ¹³C NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 10,89 C(1), 157,56 C(2), 63,12 C(3), 25,83 C(4), 8,37 C(5), 46,50 C(6).
- IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm⁻¹): ν=3264 (OH), ν=3212 (OH, NH), ν=1659 (oksimska C=N), ν=1364, 1463 (CH₃, CH₂),
- UV spektrofotometrijskom analizom: λ_{max}= 205 nm (C₂H₅OH).

- Karakterizacija jedinjenja 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima (DI-2)*

Prinos jedinjenja DI-2 ako se reakcija odvija u aprotičnom rastvaraču: 30 %.

Prinos jedinjenja DI-2 ako se reakcija odvija u protičnom rastvaraču: 78 %.

Temperatura topljenja jedinjenja DI-2: 138-139 °C.

Jedinjenje DI-2 je okarakterisano:

- elementarnom analizom (% C=59,25; % H=9,39; % N=19,74), što je u saglasnosti sa bruto formulom C₁₄H₂₆N₄O₂ (% C=59,55; % H=9,28; % N=19,84).
- ¹H NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 0,97 (CH₃(C5), 3H, t, *J*=7,5 Hz), 1,91 (CH₃(C1), 3H, s), 2,55 (CH₂(C4), 2H, q, *J*=7,5 Hz), 1,71 (CH₂(C7), 2H, t, *J*=7,5 Hz), 3,48 (CH₂(C6), 2H, t, *J*=7,5 Hz), 11,41 (OH, 1H, s).
- ¹³C NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 9,28 C(1), 155,52 C(2), 167,96 C(3), 19,67 C(4), 11,70 C(5), 50,30 C(6), 29,00 C(7).
- IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm⁻¹): ν=3229 (OH), ν=1622 s (C=N, C=NOH), ν=1363, 1463 (CH₃, CH₂).

5. UV spektrofotometrijskom analizom: $\lambda_{\max}$ = 225 nm ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

- *Karakterizacija jedinjenja 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima (L-2)*

Prinos jedinjenja L-2: 74 %.

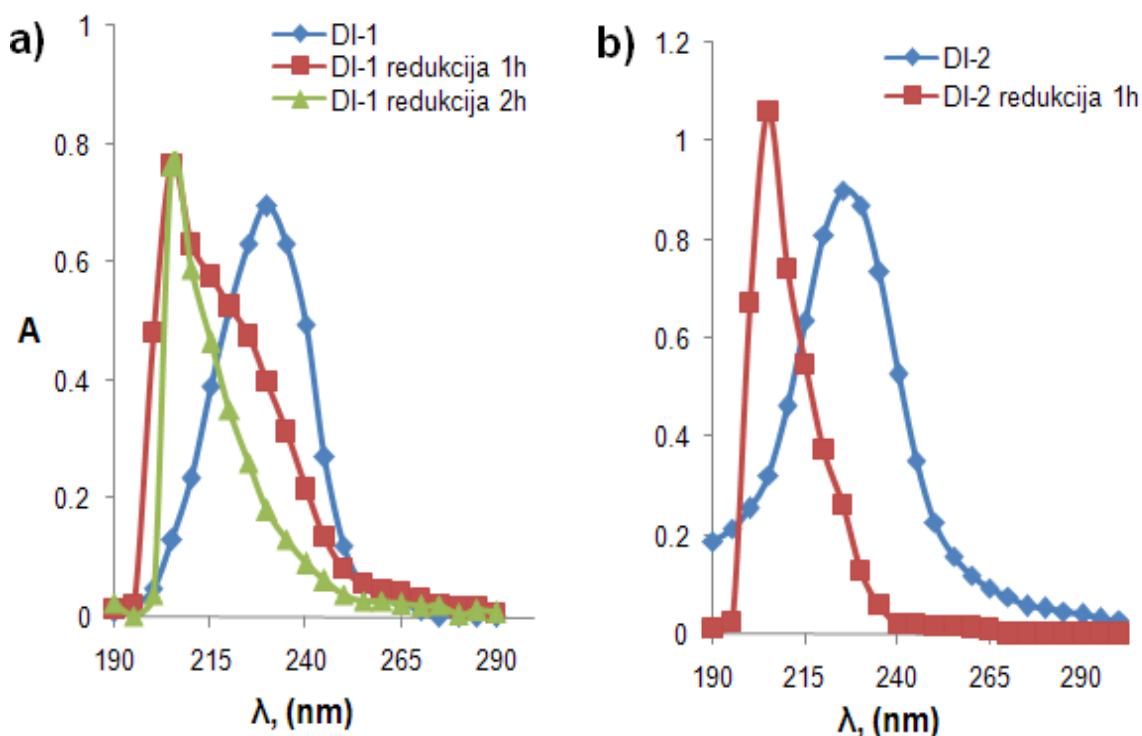
Temperatura topljenja jedinjenja L-2: 155-157 °C.

Jedinjenje L-2 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=58,39; % H=10,56; % N=19,35), što je u saglasnosti sa bruto formulom $\text{C}_{14}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$ (% C=58,71; % H=10,56; % N=19,56).
2. ^1H NMR spektroskopskom analizom u $\text{d}_6\text{-DMSO/TMS}$ (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 0,76 ($\text{CH}_3(\text{C}5)$, 3H, t, $J=7,5$ Hz), 1,27-1,34 ($\text{CH}_2(\text{C}7)$, 2H, m), 1,34-1,46 ($\text{CH}_2(\text{C}4)$, 2H, m), 1,61 ($\text{CH}_3(\text{C}1)$, 3H, s), 2,27 ($\text{CH}_2(\text{C}6)$, 2H, t, $J=7,5$ Hz), 2,90 ($\text{CH}(\text{C}3)$, 1H, t, $J=7,3$ Hz), 10,3 (OH, 1H, s).
3. ^{13}C NMR spektroskopskom analizom u $\text{d}_6\text{-DMSO/TMS}$ (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: (200 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 10,90 C(1), 157,74 C(2), 63,43 C(3), 25,81 C(4), 8,40 C(5), 47,09 C(6), 27,70 C(7).
4. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu=3257$ (OH), $\nu=3190$ (OH, NH), $\nu=1656$ (oksimska C=N), $\nu=1364$, 1461 (CH_3 , CH_2).
5. UV spektrofotometrijskom analizom: $\lambda_{\max}$ = 205 nm ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

UV spektrofotometrijskom metodom prati se tok reakcija redukcije Schiff-ovih baza (DI-1 i DI-2) i građenja reakcionih produkata (L-1 i L-2). Uzorci reakcionih smeša i polaznih Schiff-ovih baza snimani su u opsegu 190-300 nm sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepom probom. Ispitivani uzorci su rastvoreni u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, a koncentracije svih rastvora su $1,5 \times 10^{-5}$ M. Apsorpcioni spektri L-1 i L-2 sa apsorpcionim maksimumom $\lambda_{\max} = 205$ nm i Schiff-ovih baza sa $\lambda_{\max} = 230$ i 225 nm, prikazani su na Slici 21. Apsorpcioni spektri uzoraka reakcione smeše iz reakcije redukcije DI-1 (a) i DI-2 (b) pokazuju veliki sadržaj polaznog

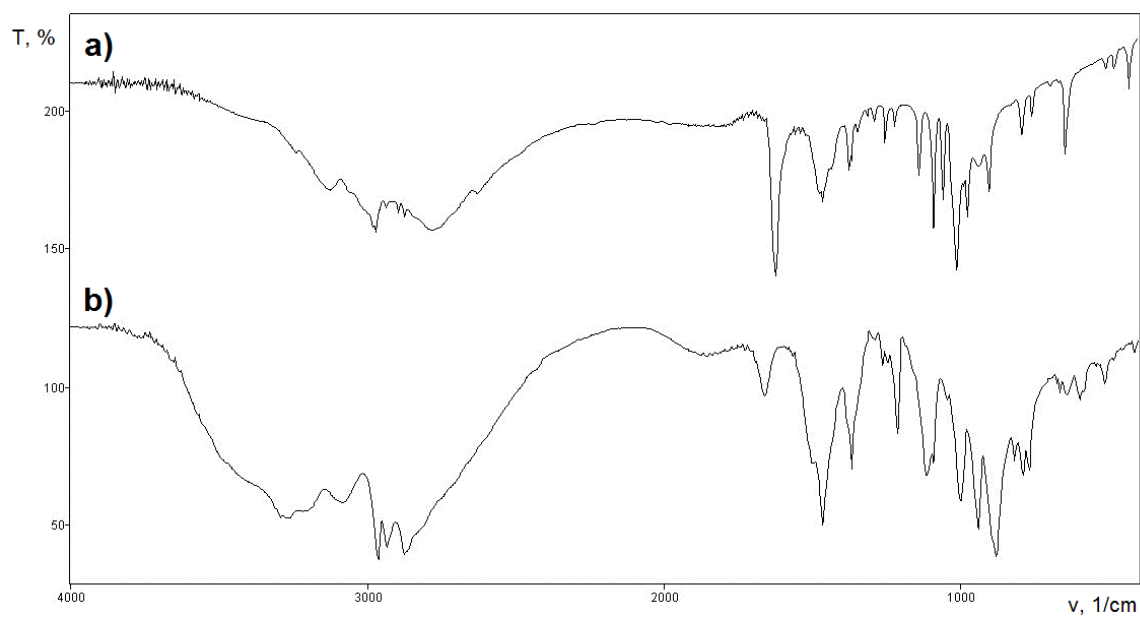
DI-1 i minimalan sadržaj polaznog DI-2, 1 h od početka reakcije. Može se zaključiti da je redukcija DI-1 sporija reakcija u poređenju sa redukcijom DI-2, kao i da je kompletno završena tek nakon 2 h. Spektroskopska ispitivanja jedinjenja L-1 i L-2 sa apsorpcionim maksimumom $\lambda_{\text{max}} = 205 \text{ nm}$ pokazuju slaganja sa literaturnim vrednostima za HMPAO koji ima apsorpcioni maksimum $\lambda_{\text{max}} = 203 \text{ nm}$ [56].



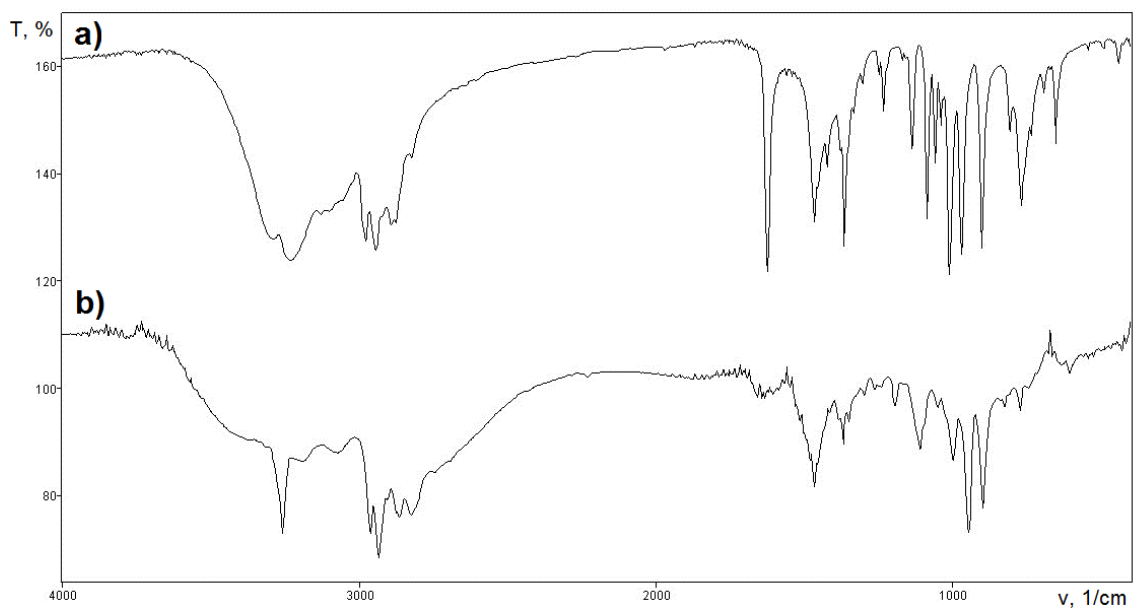
Slika 21. UV apsorpcioni spektri DI-1 (a) i DI-2 (b) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (koncentracije $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$) i uzoraka redukcionih smeša DI-1 i DI-2 nakon 1 h i 2 h

Iminska veza u jedinjenjima DI-1 i DI-2 okarakterisana je apsorpcionim trakama u IR spektrima na 1621 cm^{-1} i 1622 cm^{-1} (Slike 22 (a) i 23 (a)). Nestajanje te trake u IR spektrima polaznih jedinjenja, karakteristične za $\text{C}=\text{N}$ grupu, kao i pojava apsorpcione trake karakteristične za sekundarnu amino grupu koja nastaje nakon redukcije ketimino grupe, ukazuje na građenje novog jedinjenja. Sekundarna amino grupa u jedinjenjima L-1 i

L-2 okarakterisana je apsorpcionim trakama u IR spektrima na 3212 cm^{-1} i 3190 cm^{-1} (Slike 22 (b) i 23 (b)). Sintetisani diamino-dioksima pokazuju stereoizomeriju, jer redukcijom DI-1 ili DI-2 nastaju dva optički aktivna (hiralna) atoma ugljenika, odnosno nastaju kao *d,l*- i *mezo*-diastereoizomeri. U ovom radu su istraživanja urađena bez diastereo-enantio razdvajanja izomernih smeša. Strukture jedinjenja L-1 i L-2 su potvrđene ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopskom analizom, a snimanja su izvedena na sobnoj temperaturi u d^6 -DMSO kao rastvaraču. Hemijska pomeranja su izražena u ppm. ^1H NMR spektri diimino-dioksima (DI-1 i DI-2) i diamino-dioksima (L-1 i L-2) daju jedan signal (singlet) na $\delta \approx 10,30\text{--}11,40$ ppm za protone oksimskih grupa. Signali u ^1H NMR spektrima koji se nalaze na $\delta \approx 0,97(\text{C5})$ i $\delta \approx 1,87(\text{C1})$ ppm kod DI-1 i $\delta \approx 0,97(\text{C5})$ i $\delta \approx 1,91(\text{C1})$ ppm kod DI-2 pripisani su metil-grupama, prvi kao triplet, a drugi kao singlet. U ^1H NMR spektrima jedinjenja L-1 i L-2, signali na $\delta \approx 1,35\text{--}1,50(\text{CH}_2(\text{C4}))$ i $\delta \approx 1,34\text{--}1,46(\text{CH}_2(\text{C4}))$ ppm kao multipleti pripisani su metilenskoj grupi, što je još jedna potvrda da je došlo do redukcije jedinjenja DI-1 i DI-2. Signali u ^{13}C NMR spektrima na $\delta \approx 46,50(\text{C6})$ ppm kod L-1 i $\delta \approx 47,09(\text{C6})$ i $\delta \approx 27,70(\text{C7})$ ppm kod L-2 pokazuju prisustvo $-(\text{CH}_2)_2-$ odnosno $-(\text{CH}_2)_4-$ ugljovodoničnog lanca između dve sekundarne amino grupe. Ostale vrednosti hemijskih pomeranja za ^1H NMR i ^{13}C NMR spektre prikazane su u delu koji se odnosi na karakterizaciju jedinjenja (DI-1, DI-2, L-1 i L-2). Ove vrednosti su u saglasnosti sa objavljenim za slična jedinjenja [133].



Slika 22. IR spektri sintetisanih jedinjenja DI-1 (a) i L-1 (b)



Slika 23. IR spektri sintetisanih jedinjenja DI-2 (a) i L-2 (b)

4.2. Kompleksi 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima sa tehnecijumom-99m

Kod radiofarmaceutika na bazi ^{99m}Tc koristi se najčešće Sn(II) jon za redukciju ^{99m}Tc iz +7 u potrebno oksidaciono stanje [143]. Koncentracija Sn(II) jona mora biti optimalna, jer niske koncentracije mogu uzrokovati neadekvatno oksidaciono stanje ^{99m}Tc , a samim tim i loše obeležavanje jedinjenja, dok visoke koncentracije mogu izmeniti strukturu nagrađenog kompleksa sa ^{99m}Tc , što je slučaj kod kompleksa $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ [144]. Da bi se nagradili stabilni ^{99m}Tc -kompleksi diamino-dioksima potrebno je redukovati $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u $^{99m}\text{Tc(V)}$ oksidaciono stanje. U cilju utvrđivanja optimalnih uslova za reakciju ^{99m}Tc -obeležavanja ispitivanih jedinjenja, urađen je niz eksperimenata sa promenom nekoliko reakcionih parametara. Ispitivan je uticaj pH vrednosti rasvora u intervalu $7 < \text{pH} < 10$, a najbolje obeležavanje je postignuto na $\text{pH}=9,0$. Uticaj molskog odnosa Sn(II):L ispitivan je od 1:25 do 1:75. Utvrđeno je da se maksimalan prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ veći od 90% odnosno 95%, postiže pri molskom odnosu $\text{Sn(II):L}=1:55$ za L-1 i L-2 , 10 minuta nakon pripremanja kompleksa (Tabela 2). Prinos se smanjuje sa smanjenjem molskog odnosa. Reakciono vreme od 10 minuta na sobnoj temperaturi najviše odgovara postizanju maksimalnog prinosa.

Tabela 2. Prinos obeležavanja jedinjenja L-1 i L-2 sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ pri različitim molskim odnosima Sn(II):L na pH~9,0 i na različitim pH vrednostima za Sn(II):L=1:55; rezultati su izraženi kao srednja vrednost od najmanje 3 merenja $\pm$ S.D.

	Sn(II):L				pH			
	1:25	1:40	1:55	1:70	7	8	9	10
$^{99m}\text{Tc-L-1}$ (%)								
primarni	77,8 $\pm$ 0,6	81,7 $\pm$ 1,1	88,2 $\pm$ 1,2	87,1 $\pm$ 0,8	80,8 $\pm$ 1,2	89,7 $\pm$ 0,7	90,2$\pm$1,0	84,3 $\pm$ 0,7
$^{99m}\text{Tc-L-1}$ (%)								
sekundarni	8,8 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 0,1	9,9 $\pm$ 0,4	9,2 $\pm$ 0,3	8,6 $\pm$ 0,5	6,6 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,6	7,8 $\pm$ 0,4
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	12,8 $\pm$ 0,1	11,0 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,3	10,1 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,1	7,6 $\pm$ 0,2
$^{99m}\text{TcO}_2$	0,6 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,2
$^{99m}\text{Tc-L-2}$ (%)								
primarni	81,2 $\pm$ 0,8	89,3 $\pm$ 1,2	94,7 $\pm$ 0,9	92,5 $\pm$ 1,2	88,2 $\pm$ 0,8	93,9 $\pm$ 1,0	95,0$\pm$0,8	92,3 $\pm$ 0,4
$^{99m}\text{Tc-L-2}$ (%)								
sekundarni	9,8 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,2	3,3 $\pm$ 0,5	4,6 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,4	3,7 $\pm$ 0,5	3,1 $\pm$ 0,3
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	8,5 $\pm$ 0,3	6,1 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,3	8,6 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 0,1
$^{99m}\text{TcO}_2$	0,5 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2

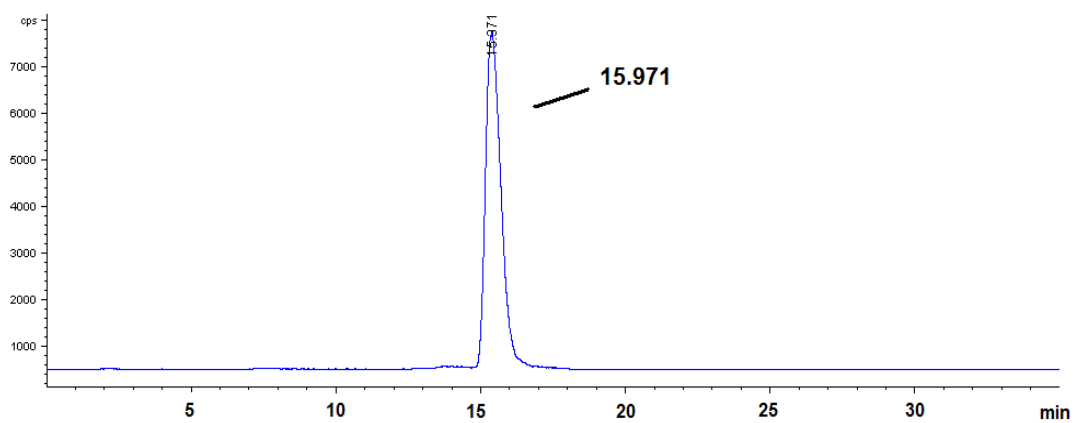
Najveći prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa postiže se pri koncentracijama $8,7 \times 10^{-4}$ M (L-1) i $9,7 \times 10^{-4}$ M (L-2) i koncentraciji Sn(II) od $1,6 \times 10^{-5}$ M (za L-1) i $1,8 \times 10^{-5}$ M (za L-2). U optimizovanim uslovima, proba koja sadrži 1 mg L-1 (ili L-2) i 12,1 μg SnCl_2 (odnosno 13,4 μg SnCl_2 za L-2), obeležena je sa $^{99m}\text{TcO}_4^-$ na sobnoj temperaturi u konačnoj zapremini od 4 mL. Posle 10 minuta od obeležavanja, uzeti su uzorci za ispitivanje prinosa primarnih ^{99m}Tc -kompleksa primenom PC i ITLC metode. Rezultati ovih ispitivanja, sa metil-etil-ketonom kao mobilnom fazom, ukazuju na građenje dve kompleksne vrste: lipofilni-primarni i hidrofilni-sekundarni kompleks. Ranija istraživanja amino-oksimskih jedinjenja [145-147] ukazuju na to da građenje njihovih kompleksa sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ zavisi od pH. Prema rezultatima koji su dobijeni (Tabela 2), jasno je da oba jedinjenja daju maksimalni prinos primarnih ^{99m}Tc -kompleksa na pH=9,0. Prinos

primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa, pri molaskom odnosu Sn(II):L od 1:55 ($\text{pH}=9,0$) je $90,2\pm 1,0\%$, odnosno $95,0\pm 0,8\%$.

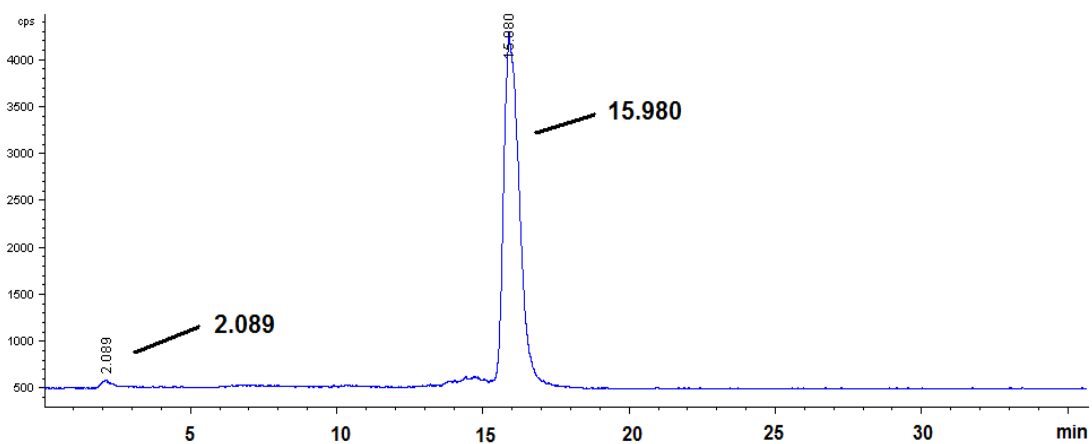
Rezultati ispitivanja ^{99m}Tc -obeležavanja diamino-dioksima L-1 i L-2, primenom HPLC-metode, takođe potvrđuju građenje primarnih ^{99m}Tc -kompleksa u visokom prinosu. Retenciono vreme (R_t) za $^{99m}\text{TcO}_4^-$ je na 2,00 minuta pri navedenim eksperimentalnim uslovima. Radioaktivni maksimumi na 15,97 minuta (Slika 24) i 15,98 minuta (Slika 25) pripadaju $^{99m}\text{Tc-L-1}$ kompleksu ispitanim 10 minuta i 1 h od obeležavanja. Radioaktivni maksimumi na 17,59 minuta (Slika 26) i 17,52 minuta (Slika 27) pripadaju $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksu ispitanim 10 minuta i 1 h od obeležavanja. Rezultati ovih ispitivanja, ukazuju da se navedeni radioaktivni maksimumi odnose na lipofilne primarne ^{99m}Tc -komplekse jer silaze sa kolone sa organskom fazom. U oba slučaja je na 2,00 minuta evidentan minimalni sadržaj $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 10 minuta i 1 h od obeležavanja. Radioaktivni maksimum koji se odnosi na hidrofilni sekundarni ^{99m}Tc -kompleks oba obeležena jedinjenja, nalazi se uz radioaktivni maksimum primarnog ^{99m}Tc -kompleksa i izlazi neposredno pre njega sa vodenom fazom. Evidentan je i minimalan sadržaj sekundarnih ^{99m}Tc -kompleksa 10 minuta nakon obeležavanja, koji se pojavljuju na istom mestu, ali u nešto većem procentu, i 1 h nakon obeležavanja (radioaktivni maksimum na 14,80 minuta pripada sekundarnom $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i 15,80 minuta pripada sekundarnom $^{99m}\text{Tc-L-2}$, Slike 25 i 27). Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima papirne i tankoslojne hromatografije.

Nedostatak primenjenog binarnog sistema $\text{H}_2\text{O-CH}_3\text{CN}$ je što ne razdvaja *-d,l* od *-mezo* oblika kod primarnog ^{99m}Tc -diamino-dioksimskog kompleksa, tako da se površine radioaktivnih maksimuma odnose, pod ovim uslovima, na njihov zbir.

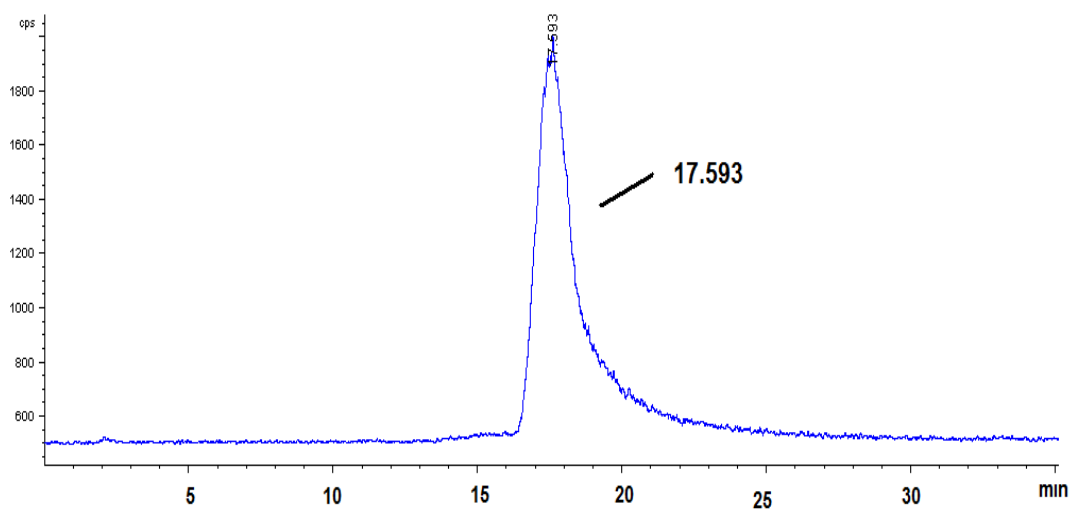
$^{99m}\text{TcO}_2$ se ne vidi na radirohromatogramu jer je prisutan u vidu čestica i ostaje na koloni.



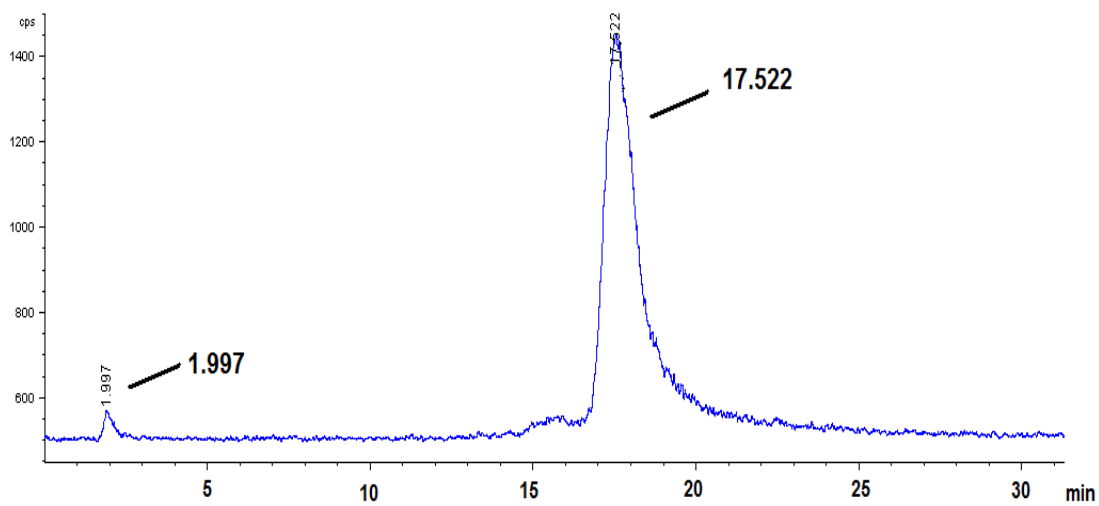
Slika 24. HPLC radiohromatogram ^{99m}Tc -L-1 kompleksa 10 minuta nakon obeležavanja



Slika 25. HPLC radiohromatogram ^{99m}Tc -L-1 kompleksa 1 h nakon obeležavanja



Slika 26. HPLC radiohromatogram $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L-2 kompleksa 10 minuta nakon obeležavanja

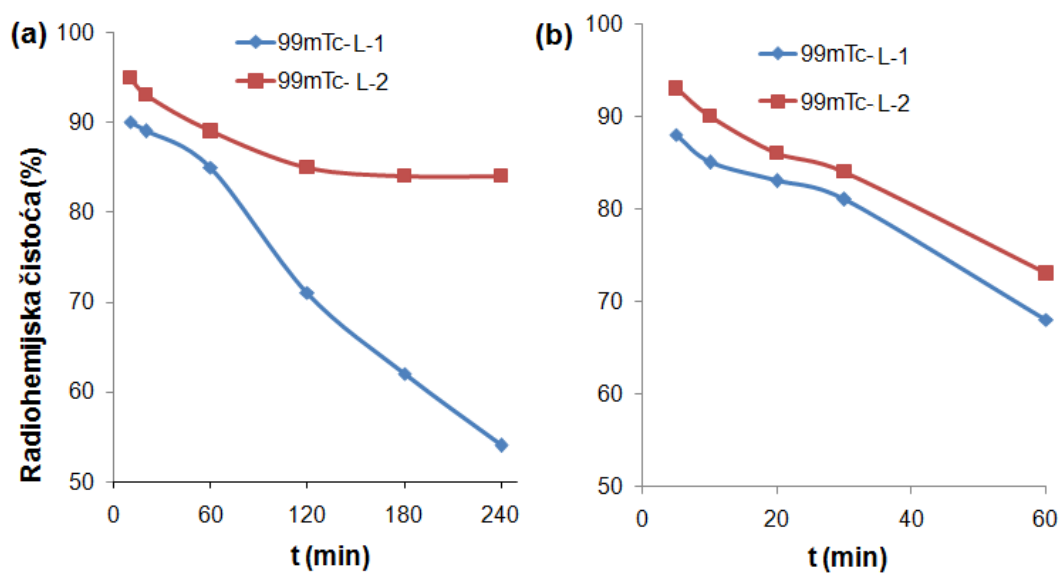


Slika 27. HPLC radiohromatogram $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L-2 kompleksa 1 h nakon obeležavanja

Dalja ispitivanja (proteinsko vezivanje, lipofilnost, biološka raspodela) su izvedena sa radioaktivnim kompleksima pripremljenim pri optimalnim uslovima. Takođe, zbog činjenice da je prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa visok (~90% i ~95%), dalje prečišćavanje nije bilo potrebno za eksperimente određivanja proteinskog vezivanja i biološku raspodelu, a za određivanje lipofilnosti urađena je hloroformska ekstrakcija primarnih kompleksa.

Rezultati elektroforeze ukazuju da su primarni ^{99m}Tc -kompleksi oba jedinjenja elektroneutralni jer ostaju na mestu nanošenja. Elektroforezom se takođe određuje i sadržaj $^{99m}\text{TcO}_4^-$ jona. Prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa ne menja se sa povećanjem aktivnosti ^{99m}Tc (od 3,7 do 370 MBq).

Ispitivanje *in vitro* stabilnosti primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$, pripremljenih pod optimizovanim uslovima, praćeno je do 4 h od obeležavanja na sobnoj temperaturi u fiziološkom rastvoru (Slika 28a) određivanjem radiohemijske čistoće PC i ITLC radiohromatografskim metodama. Možemo zaključiti da se procenat primarnog $^{99m}\text{Tc-L-1}$ kompleksa značajno smanjuje u periodu do 4 h, sa 85% nakon 60 minuta na 55% nakon 240 minuta. Nasuprot tome, $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleks pokazuje veću stabilnost u istom vremenskom periodu, 90% nakon 60 minuta i 85% nakon 240 minuta. *In vitro* ispitivanja u 4,6% rastvoru humanog serum albumina ukazuju na nešto manju, ali zadovoljavajuću, stabilnost u odnosu na fiziološki rastvor i vrednosti su >80% 30 minuta od obeležavanja za oba primarna kompleksa (Slika 28b). Uočena je minimalna konverzija oba primarna kompleksa u sekundarni na sobnoj temperaturi u periodu od 30 minuta (do 3%). Dekompozicija primarnog u sekundarni kompleks ograničava vremenski period u kome je moguće koristiti $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ komplekse, što je potvrđeno *in vivo* ispitivanjima.



Slika 28. Ispitivanje stabilnosti primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa u fiziološkom rastvoru na sobnoj temperaturi do 4 h (a) i u 4,6% humanom serumu na 37°C do 1 h (b) praćenjem njihove radiohemijske čistoće

Akumulacija radiofarmaceutskog kompleksa u mozgu zavisi od lipofilnosti, proteinskog vezivanja i stepena jonizacije kompleksa na pH krvi [148]. Zbog toga je ispitivana interakcija lipofilnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa sa HSA, koji je važna komponenta krvi i može uticati na biološko ponašanje kompleksa. Rezultati proteinskog vezivanja lipofilnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa za HSA, određeni TCA taložnom metodom pokazuju vrednosti od $61,3 \pm 3,4\%$ i $63,1 \pm 4,5\%$. Uprkos značajnom vezivanju za HSA, $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksi pokazuju značajnu akumulaciju u mozgu nakon intravenske aplikacije. Ovo navodi na zaključak da bi kinetika vezivanja za protein trebalo da se desi relativno brzo, a posebno, da se kompleksi brzo i odvoje od proteina seruma kako bi mogli da prođu krvno-moždanu barijeru odmah nakon intravenske aplikacije.

Da bi se odredili particioni koeficienti kompleksa, reakcione smeše $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ su prečišćene ekstrakcionom metodom pomoću hloroforma. Dobijeni su primarni $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksi sa prinosom od 97,6% i 98,5%. Lipofilni

karakter primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa potvrđen je određivanjem particionog koeficienta (P) i izražen je kao $\log P_{o/w}$. Particioni koeficienati od 1,45 (za $^{99m}\text{Tc-L-1}$) i 1,33 (za $^{99m}\text{Tc-L-2}$) ukazuju na to da su oba ^{99m}Tc -kompleksa lipofilna (Tabela 3). Ove vrednosti su u rasponu koji je očekivan za lekove koji su sposobni da pređu krvno-moždanu barijeru ($\log P_{o/w}=0,5-2,5$) [149].

Tabela 3. Vrednosti particionog koeficienta za $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ komplekse

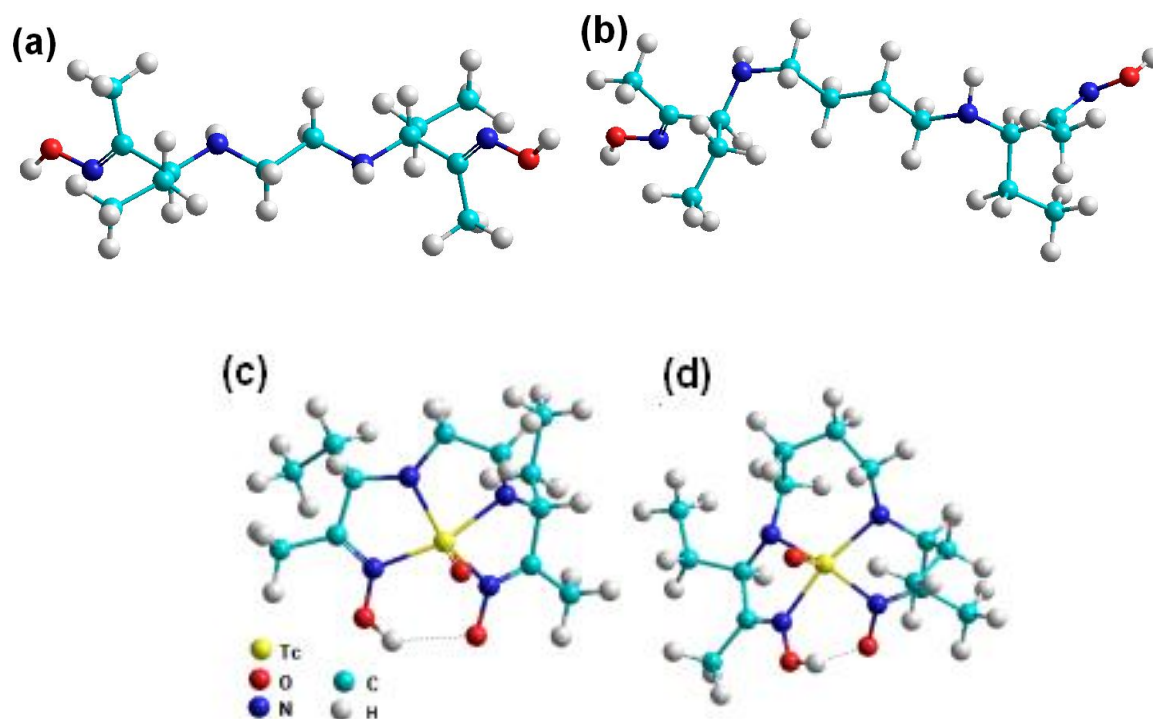
Kompleksi	$^{99m}\text{Tc-L-1}$	$^{99m}\text{Tc-L-2}$
$\log P_{o/w}$	$1,45 \pm 0,08$	$1,33 \pm 0,05$

Jurisson i saradnici [90,150] definisali su strukture lipofilnih i elektroneutralnih Tc(V)-kompleksa iz serije tetradentatnih diamino-dioksimskih jedinjenja (HMPAO, PnAO, EnAO, itd.), a koja su strukturno slična jedinjenjima sintetisanim u ovom radu. Jedinjenja iz klase diamino-dioksima sadrže četiri elektrodonorska N-atoma koji se vezuju za $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon gradeći makrociklične komplekse (helate) koji sadrže četiri prstena. Peto-koordinirani monookso-tehnecijum(V) jon, prikazan kao $^{99m}\text{TcO}^{3+}$, je centralno jezgro kompleksa i poseduje kvadratno-planarnu geometriju. U reakciji građenja kompleksa, diamino-dioksimsko jedinjenje gubi tri protona (jedan oksimski i dva amino protona), i gradi elektroneutralni kompleks sa jakom intramolekulskom vodoničnom vezom između oksimskih hidrosilnih grupa. Četvrti prsten kompleksa je zatvoren ovom vezom, što dodatno stabilizuje makrociklični kompleks. Očigledno je da su sterna ograničenja važan faktor u procesu koordinacije.

Jedinjenje L-1 sa dve $-\text{CH}_2-$ grupe u mostu između azotovih atoma amino grupa gradi petočlani prsten sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ jonom, a četiri atoma azota i $^{99m}\text{Tc(V)}$ nalaze se u istoj ravni. Jedinjenje L-2 sa četiri $-\text{CH}_2-$ grupe u mostu gradi sedmočlani helatni prsten, $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon se nalazi izvan ravni u kojoj se nalaze četiri atoma azota, samim tim i makrociklični kompleks L-2 sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ je veći u odnosu na kompleks L-1. Petočlani prsten je manje fleksibilan, odnosno sterna napon je veći u odnosu na sedmočlani prsten, takođe, manja veličina makrocikličnog kompleksa L-1 izaziva dodatne sterne smetnje.

Posledica ovih okolnosti je manja stabilnost primarnog $^{99m}\text{Tc-L-1}$ u odnosu na primarni $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleks.

Strukture jedinjenja L-1 i L-2 sa minimalnom energijom, kao i pretpostavljene strukture primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa su prikazane na Slici 29 [122]. Strukture $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ su pretpostavljene na osnovu kristalografskih podataka za slične Tc(V)-diamino-dioksime [88,90,150,151].

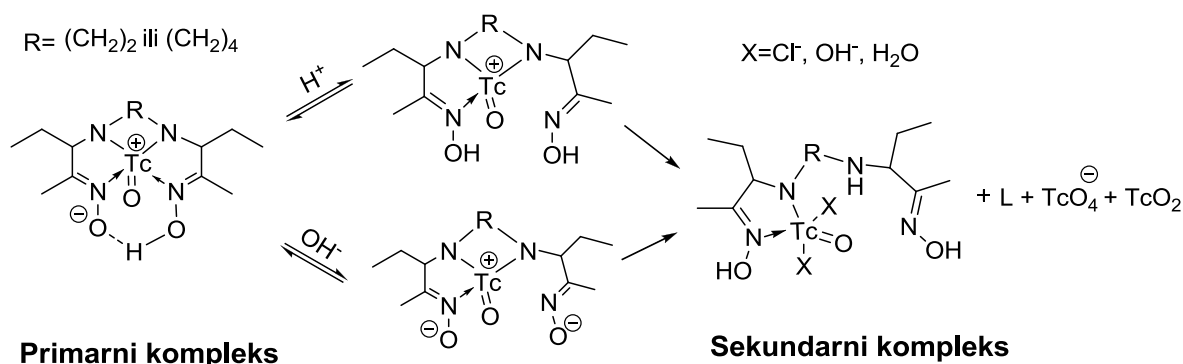


Slika 29. Strukture jedinjenja L-1(a) i L-2 (b) i pretpostavljene strukture primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ (c) i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ (d) kompleksa sa minimalnom energijom

Nakon obeležavanja sa tehnecijumom-99m, radiohemijska čistoća oba primarna ^{99m}Tc -kompleksa opada tokom vremena zbog nastanka tri radiohemijske nečistoće: sekundarni ^{99m}Tc -kompleks koji nastaje transformacijom primarnog kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-1}$ ili $^{99m}\text{Tc-L-2}$, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ nastao degradacijom kompleksa i $^{99m}\text{TcO}_2$ nastao hidrolizom $^{99m}\text{TcO}_4^-$. Literaturni podaci ukazuju da sekundarni kompleks nastaje kada je primarni

kompleks izložen: višku Sn(II), usled prisustva nečistoća u $^{99m}\text{TcO}_4^-$ -eluatu, usled radiolize ili zbog neodgovarajuće vrednosti pH rastvora (više ili niže) [152-155].

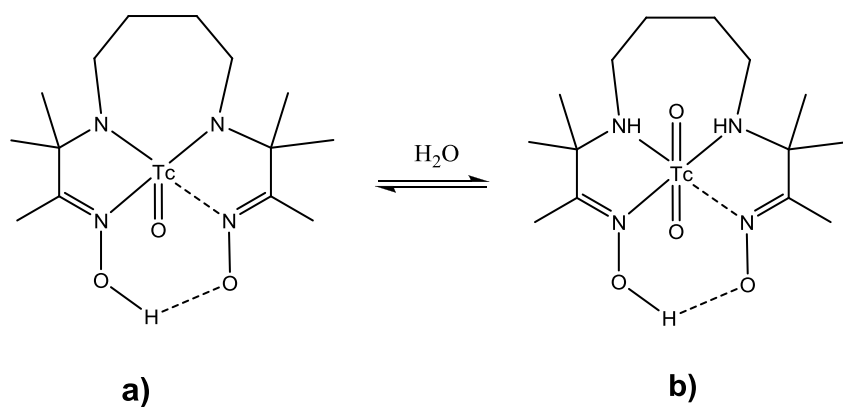
Na nižim vrednostima pH (manjim od 7), atomi azota i atomi kiseonika (u oksimskim grupama) u jedinjenjima L-1 i L-2 su delimično ili kompletno protonovani i samim tim nisu dostupni za građenje kompleksa sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ jonom [156]. U primarnim $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksima, na višim vrednostima pH (iznad 10), dolazi do disocijacije atoma vodonika iz intramolekulske vodonične veze. Samim tim, vodonične veze u oba primarna kompleksa nestaju, makrociklični kompleksi su destabilizovani i formiranje sekundarnih kompleksa dolazi do izražaja, kao što je prikazano na Šemi 2.



Šema 2. Pretpostavljeni mehanizam razgradnje primarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa

Čini se da na nižim pH vrednostima, $^{99m}\text{Tc(VII)}$ u obliku $^{99m}\text{TcO}_4^-$ jona ima težnju da se redukuje do oksidacionog stanja +4 i da samim tim utiče na stvaranje više $^{99m}\text{TcO}_2$ vrste, dok u jako alkalnoj sredini Sn(II) ima težnju da hidrolizuje tako da je umanjena redukcija $^{99m}\text{TcO}_4^-$. Maksimalni prinos u dobijanju primarnih ^{99m}Tc -kompleksa prilikom obeležavanja i minimalan udeo radiohemijskih nečistoća ostvaren je pri pH=9,0 [157]. Dakle, pretpostavljamo da $^{99m}\text{Tc(V)}$ u sekundarnom kompleksu ostvaruje vezu samo sa dva atoma azota helatizirajućeg jedinjenja, ali dodatno koordinira sa dva OH⁻, Cl⁻ ili H₂O molekula.

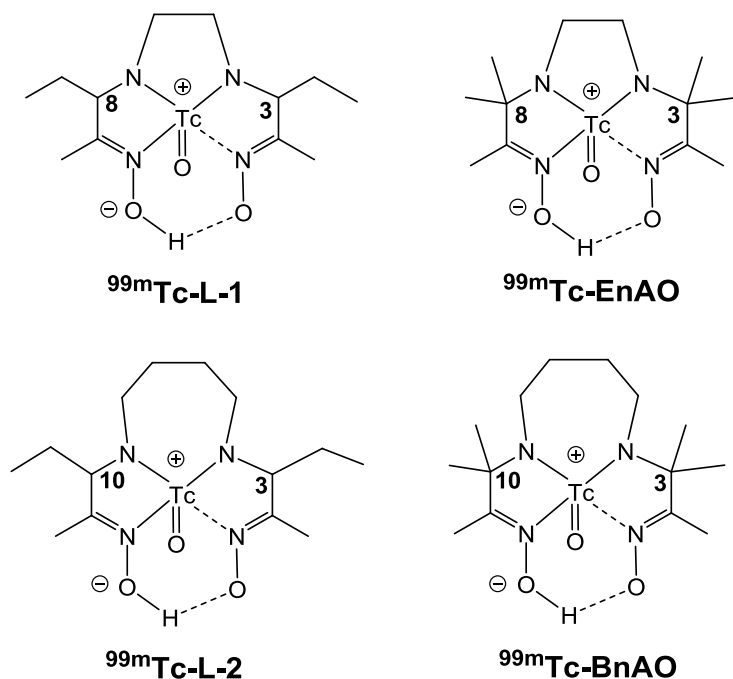
Dužina ugljovodoničnog lanca kod diamino-dioksima u mostu između amino grupa značajno utiče da li će $^{99m}\text{Tc(V)}$ formirati jon $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ ili $^{99m}\text{TcO}_2^+$ [90,150]. Kao što je do sada utvrđeno, kristalografskim ispitivanjem kompleksa diamino-dioksima sa dugoživećim tehnecijumom (^{99}Tc), $^{99m}\text{Tc(V)}$ u kompleksima sa diamino-dioksima koji sadrže $-(\text{CH}_2)_2-$ ili $-(\text{CH}_2)_3-$ grupu u mostu gradi peto-koordinirani Tc(V) -monookso jon ($^{99m}\text{TcO}^{3+}$). U slučaju diamino-dioksima sa $-(\text{CH}_2)_5-$ u mostu tehnecijum-99m je prisutan kao šesto-koordinirani Tc(V) -diokso jon ($^{99m}\text{TcO}_2^+$). Za kompleks $^{99m}\text{Tc(V)}$ sa diamino-dioksimom koji sadrži $-(\text{CH}_2)_4-$ u mostu, a koji nije kristalografski karakterisan, pojedini autori veruju da mogu biti prisutna oba pomenuta jona, pri čemu je pretpostavljeno da dolazi do interkonverzije jednog u drugi, odnosno $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ u $^{99m}\text{TcO}_2^+$ (Slika 30) [101,158,159]. Suprotno ovim literaturnim zaključcima, sasvim drugačije ponašanje ^{99m}Tc -PentAO u odnosu na ^{99m}Tc -BnAO kada se razmatra sposobnost da selektivno budu prihvaćeni od strane hipoksičnih ćelija, navodi neke druge autore na zaključak da ^{99m}Tc -BnAO nije prisutan kao Tc(V) -diokso kompleks, već isključivo kao Tc(V) -monookso kompleks [102].



Slika 30. Interkonverzija peto-koordiniranog Tc(V) -monookso kompleksa (^{99m}TcO -BnAO, a) u šesto-koordinirani Tc(V) -diokso kompleks ($^{99m}\text{TcO}_2$ -BnAO, b), oba su elektroneutralna

Stabilnost $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ i $^{99m}\text{TcO}_2^+$ jona zavisi od veličine prstena koji formiraju $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon i ugljovodonični lanac. Veći helatni prsten utiče na veću stabilnost $^{99m}\text{TcO}_2^+$ jona [159].

Razmatran je i uticaj strukture diamino-dioksima na lipofilnost i biodistribuciju ^{99m}Tc -kompleksa. Prema literaturi, $^{99m}\text{Tc-BnAO}$ je hidrofilan ($\log P_{o/w} = -0,76$), dok je $^{99m}\text{Tc-EnAO}$ neznatno lipofilan ($\log P_{o/w} = 0,53$) [101,160]. Upoređujući $\log P_{o/w}$ vrednosti primarnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-1}$ ($\log P_{o/w} = 1,45 \pm 0,08$) i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ ($\log P_{o/w} = 1,33 \pm 0,05$) sa literaturnim podacima, može se zaključiti da modifikacije u strukturi liganda mogu znatno uticati na promenu lipidne rastvorljivosti kompleksa i njegovu akumulaciju u mozgu. Moguće objašnjenje ovih razlika je da kompleksi koje smo ispitivali imaju etil-grupu u položajima C-3 i C-8 (u $^{99m}\text{Tc-L-1}$) i C-3 i C-10 ($^{99m}\text{Tc-L-2}$) u alkil lancu, koja je lipofilnija u odnosu na metil-grupu prisutnu u istim položajima kod njihovih analoga: $^{99m}\text{Tc-EnAO}$ i $^{99m}\text{Tc-BnAO}$ (Šema 3).



Šema 3. Strukture $^{99m}\text{Tc-L-1}$, $^{99m}\text{Tc-L-2}$, $^{99m}\text{Tc-EnAO}$ i $^{99m}\text{Tc-BnAO}$ kompleksa

4.3. *In vivo* ispitivanje kompleksa 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksima i 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksima sa tehnecijumom-99m

Biološka raspodela primarnih ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa je urađena na životinjskom modelu (zdravi muški Wistar pacovi), u cilju ispitivanja njihove sposobnosti prolaska kroz krvno-moždanu barijeru. Akumulacija oba ^{99m}Tc -kompleksa je ispitivana nakon 2, 5, 15, 30 i 60 minuta od injektovanja u repnu venu, a rezultati su prikazani kao procenat injektovane doze (%ID) po organu i dati su u Tabeli 4 i 5.

Tabela 4. Biodistribucija kompleksa ^{99m}Tc -L-1* kod Wistar pacova

Organ	2 min	5 min	15 min	30 min	1h
Srce	1,20±0,11	1,02±0,10	0,76±0,06	0,60±0,07	0,44±0,02
Pluća	4,56±0,52	3,24±0,52	2,56±0,34	2,02±0,45	1,80±0,19
Jetra	22,12±1,97	21,70±1,63	19,54±2,40	17,96±1,33	16,03±1,66
Slezina	0,72±0,08	0,59±0,05	0,50±0,03	0,41±0,02	0,45±0,01
Bubrezi	10,40±0,45	5,90±0,54	5,20±0,41	4,29±0,44	3,10±0,48
Želudac	2,03±0,12	1,49±0,15	1,26±0,09	1,11±0,10	0,97±0,08
GIT**	19,92±2,46	22,90±3,10	27,70±2,68	33,4±2,08	39,00±2,07
Krv	12,94±1,40	10,24±0,08	8,69±1,28	7,32±0,46	6,29±0,52
Mišić	21,31±3,27	19,20±1,22	17,60±1,30	17,01±1,52	14,55±0,57
Kost	1,15±0,02	0,98±0,03	0,66±0,02	0,60±0,01	0,47±0,03
Mozak	2,10±0,02	2,30±0,04	1,80±0,02	1,52±0,01	1,23± 0,02

* Vrednosti izražene kao % ID/organu, rezultati su izraženi kao srednja vrednost od najmanje 3 merenja ±S.D.

**GIT-gastrointestinalni trakt

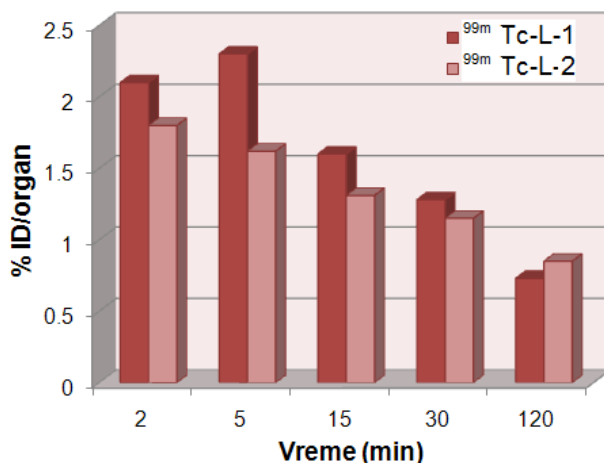
Tabela 5. Biodistribucija primarnih ^{99m}Tc -L-2* kompleksa kod Wistar pacova

Organ	2 min	5 min	15 min	30 min	1h
Srce	0,85±0,07	0,78±0,04	0,63±0,10	0,37±0,02	0,34±0,04
Pluća	3,03±0,27	2,91±0,23	2,54±0,53	1,96±0,41	1,90±0,09
Jetra	25,90±2,11	27,00±1,65	32,30±2,30	28,60±1,98	23,00±1,76
Slezina	1,11±0,12	1,23±0,07	1,31±0,02	1,96±0,04	1,45±0,11
Bubrezi	6,00±0,56	5,97±0,31	5,80±0,49	5,04±0,77	2,10±0,98
Želudac	2,34±0,35	2,03±0,13	1,63±0,30	1,32±0,46	1,07±0,09
GIT**	17,90±2,40	21,20±3,03	26,90±2,70	36,00±3,13	45,00±2,67
Krv	11,39±0,86	10,96±0,59	10,36±0,61	8,21±1,53	7,29±0,42
Mišić	22,60±1,12	22,40±1,37	22,00±1,42	20,00±1,76	16,00±0,57
Kost	0,95±0,02	0,90±0,01	0,74±0,04	0,63±0,02	0,42±0,01
Mozak	1,80±0,08	1,62±0,05	1,31±0,10	1,15±0,07	0,95±0,01

* Vrednosti izražene kao % ID/organu, rezultati su izraženi kao srednja vrednost od najmanje 3 merenja ±S.D.

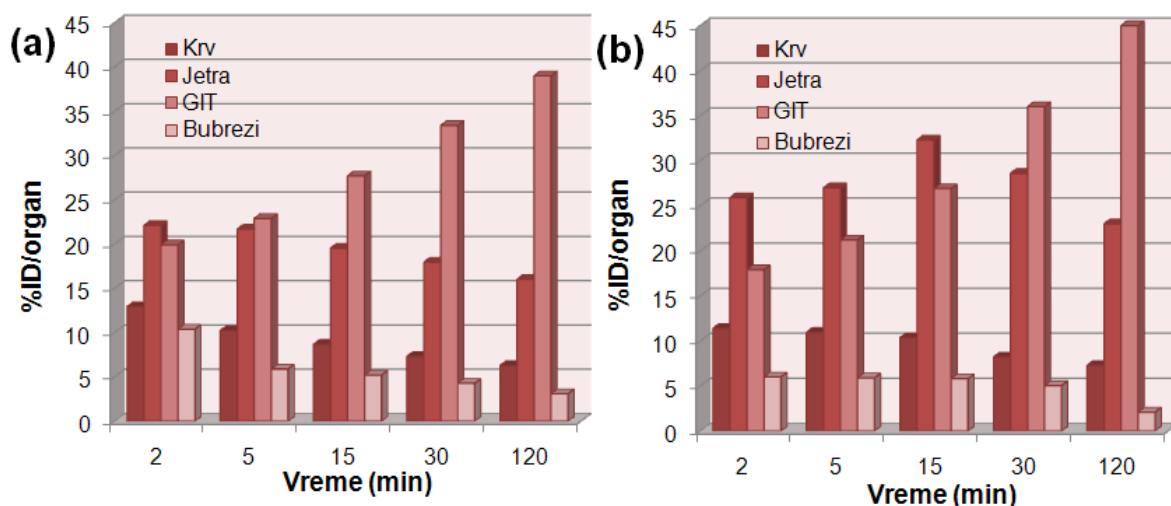
**GIT-gastrointestinalni trakt

Ispitivani kompleksi pokazuju dobru akumulaciju u mozgu. Akumulacija ^{99m}Tc -L-1 kompleksa 2 minuta nakon injektovanja (2,10% ID) je nešto veća nego ^{99m}Tc -L-2 (1,80% ID). Eliminacija oba ^{99m}Tc -kompleksa iz mozga je veoma spora, 60 minuta nakon injektovanja, u mozgu je prisutno 1,23% ^{99m}Tc -L-1 i 0,95% ^{99m}Tc -L-2 kompleksa. Rezultati akumulacije ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa u mozgu prikazani su na Slici 31.



Slika 31. Akumulacija primarnih ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa u mozgu Wistar pacova žrtvovanih u različitim vremenskim intervalima nakon injektovanja

Kao što bi se i očekivalo za lipofilna jedinjenja, prisutna je visoka i brza akumulacija oba ^{99m}Tc -kompleksa u jetri koja opada sa vremenom. Akumulacija ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa u jetri 2 minuta nakon injektovanja pokazuje srednju vrednost od 22,12% i 25,90%. Najveći procenat preostale ID kompleksa nalazi se u gastrointestinalnom traktu (GIT), što ukazuje da oba lipofilna kompleksa imaju ekskreciju pre svega preko hepatobilijarnog trakta. Početna akumulacija u bubrezima za ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 komplekse je 10,40% i 6,00% 2 minuta nakon injektovanja i opada na 3,10% i 2,10% nakon 1 h. Značajan deo ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa nalazi se u krvi 2 minuta nakon injektovanja (12,94% i 11,39% ID) i praćen je fazom laganog smanjenja (Slika 32).



Slika 32. Akumulacija ^{99m}Tc -L-1 (a) i ^{99m}Tc -L-2 (b) kompleksa u krvi, jetri, gastrointestinalnom traktu (GIT) i bubrezima u Wistar belim pacovima žrtvovanim u različitim vremenskim intervalima nakon injektovanja

Podaci akumulacije u mozgu ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksa i literaturni podaci za ^{99m}Tc -komplekse sličnih diamino-dioksima prikazani su u Tabeli 6. ^{99m}Tc -L-1 i ^{99m}Tc -L-2 kompleksi u poređenju sa ^{99m}Tc -HMPAO [133] pokazuju bolju akumulaciju 2 minuta nakon injektovanja i približnu nakon 1 h. Akumulacija ^{99m}Tc -PnAO [160] i ^{99m}Tc -EnAO

[102] u mozgu u poređenju sa $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksima je značajno manja. Zbog hidrofilnog karaktera, $^{99m}\text{Tc-BnAO}$ [102] pokazuje zanemarljivu akumulaciju u mozgu.

Tabela 6. Akumulacija u mozgu ^{99m}Tc -diamino-dioksimsih kompleksa u Wistar belim pacovima

^{99m}Tc -kompleksi	Mozak (% ID/vreme od injektovanja)		Ref.
$^{99m}\text{Tc-L-1}$ (<i>mezo/d,l</i>)	2,1/2min	1,23/1h	Ovaj rad
$^{99m}\text{Tc-L-2}$ (<i>mezo/d,l</i>)	1,8/2min	0,95/1h	Ovaj rad
$^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ (<i>mezo/d,l</i>)	1,5/2min	1,2/1h	[133]
$^{99m}\text{Tc-PnAO}$	0,97/1min	0,22/10min	[160]
$^{99m}\text{Tc-EnAO}$	0,74/30sec	/	[102]
$^{99m}\text{Tc-BnAO}$	0,12/30sec	/	[102]

Sumirajući prethodne rezultate za primarne komplekse $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ može se konstatovati nekoliko veoma bitnih činjenica. $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ su elektroneutralni i dovoljno lipofilni ($\log P_{o/w}=1,45$ i $\log P_{o/w}=1,33$) da mogu proći krvno-moždanu barijeru. Praćenje biološke raspodele na eksperimentalnim životinjama, u zdravim muškim Wistar pacovima, pokazuje da primarni kompleksi $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$, kao diastereoizomerne smeše, imaju visoku akumulaciju u mozgu u kombinaciji sa dobrom retencijom. Akumulacija kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-1}$ u mozgu (2,10% ID) je neznatno veća nego $^{99m}\text{Tc-L-2}$ (1,80% ID) 2 minuta nakon injektovanja. Eliminacija oba kompleksa iz mozga je spora; 1,23% $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i 0,95% $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa je još uvek prisutno u mozgu 60 minuta nakon injektovanja. Ostvareni rezultati vezani za akumulaciju u mozgu ukazuju na to da oba kompleksa ispunjavaju uslove da kao novi agensi budu kandidati za scintigrafiju mozga, naročito lipofilniji $^{99m}\text{Tc-L-1}$.

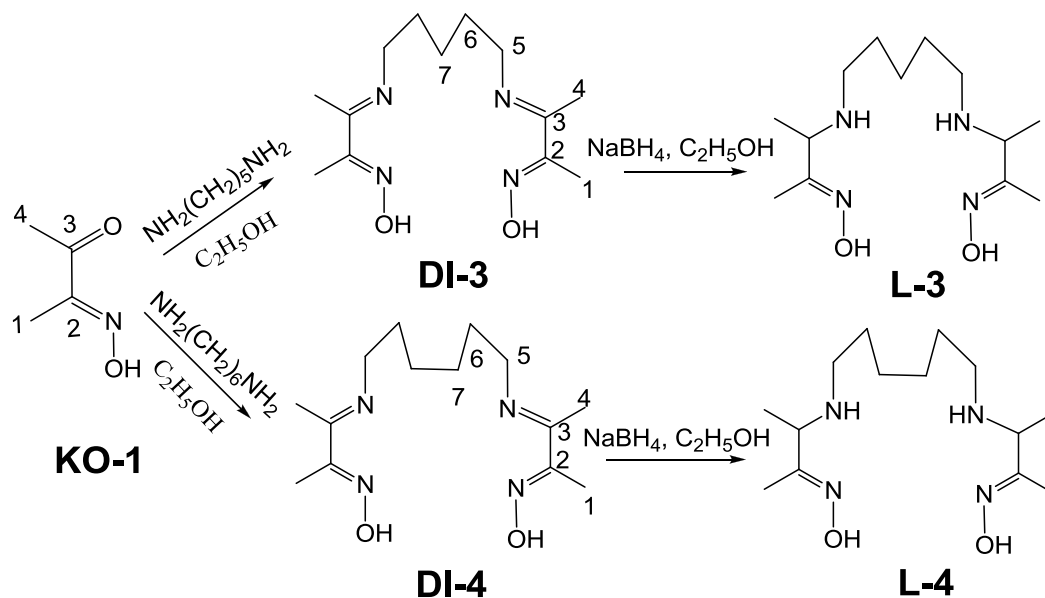
4.4. Sinteza jedinjenja 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima i 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima

Polazeći od 2,3-butandion monoksima i odgovarajućih diamina (1,5-diaminopentan i 1,6-diaminheksan), sintetisana su dva diamino-dioksimska jedinjenja: L-3 i L-4.

Sinteza ovih jedinjenja se odvija u dve faze kao i sinteza jedinjenja L-1 i L-2: kondenzacija karbonilnog jedinjenja sa aminom uz nastajanje imina (Schiff-ovih baza) i selektivna redukcija dve imino grupe Schiff-ovih baza DI-3 i DI-4 sa NaBH_4 u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_{\text{anh}}$ uz nastajanje diamino-dioksima sa prinosom od 77% i 82%. Jedinjenja L-3 i L-4 imaju u alkil lancu metil-grupu u položajima C-3 i C-11 (u L-3) i C-3 i C-12 (u L-4), za razliku od jedinjenja L-1 i L-2 koji imaju etil-grupu u položajima C-3 i C-8 (u L-1) i C-3 i C-10 (u L-2).

Za nastajanje Schiff-ovih baza (DI-3 i DI-4) korišćena je samo sinteza u protičnom rastvaraču, jer je kod sinteze Schiff-ovih baza (DI-1 i DI-2) zaključeno da se veći prinosi ostvaruju reakcijom kondenzacije u protičnom rastvaraču (CH_3OH ili $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) umesto korišćenjem aprotičnog rastvarača u sintezi, a takođe se dobija dovoljno hemijski čist sirovi proizvod koji ne zahteva veći broj prekrystalizacija u cilju prečišćavanja.

Šema 4 pokazuje sintetski put za nastajanje diamino-dioksimskih jedinjenja L-3 i L-4. Numeracija C-atoma u Šemi 4 je korišćena za interpretaciju ^1H NMR i ^{13}C NMR spektara.



Šema 4. Sintetski put za jedinjenja L-3 i L-4

Karakterizacije sintetisanih jedinjenja prikazanih na Šemi 4 (DI-3, L-3, DI-4 i L-4) date su u nastavku:

- *Karakterizacija jedinjenja 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksima (DI-3)*

Prinos jedinjenja DI-3: 68%.

Temperatura topljenja jedinjenja DI-3: 113-114 °C.

Jedinjenje DI-3 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=57,90; % H=9,30; % N=20,86), što je u saglasnosti sa bruto formulom $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$ (% C=58,18; % H=9,01; % N=20,88).
2. ^1H NMR spektroskopskom analizom u $\text{d}_6\text{-DMSO/TMS}$ (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 1,40-1,51 ($\text{CH}_2(\text{C}7)$, 2H, m), 1,59-1,69 ($\text{CH}_2(\text{C}6)$, 2H, m), 1,91 ($\text{CH}_3(\text{C}1)$, 3H, s), 1,99 ($\text{CH}_3(\text{C}4)$, 3H, s), 3,36 ($\text{CH}_3(\text{C}5)$, 3H, t, $J=7,5$ Hz), 11,40 (OH, 1H, s).

- ¹³C NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 13,14 (C1), 156,78 (C2), 163,57 (C3), 9,18 (C4), 51,28 (C5), 30,47 (C6), 25,28 (C7).
- IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm⁻¹): ν=3149 (OH), ν=1629 s (C=N, C=NOH), ν=1365, 1460 (CH₃, CH₃).
- UV spektrofotometrijskom analizom: λ_{max}= 225 nm (C₂H₅OH).

- Karakterizacija jedinjenja 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima (L-3)*

Prinos jedinjenja L-3: 77%.

Temperatura topljenja jedinjenja L-3: 159-160 °C.

Jedinjenje L-3 je okarakterisano sa:

- elementarnom analizom (% C=57,45; % H=10,18; % N=20,24), što je u saglasnosti sa bruto formulom C₁₃H₂₈N₄O₂ (% C=57,32; % H=10,36; % N=20,56).
- ¹H NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetilsulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 1,03 (CH₃(C4), 3H, d, J=6,7 Hz), 1,27 (CH₂(C7), 2H, m), 1,31 (CH₂(C6), 2H, m), 1,64 (CH₃(C1), 3H, s), 2,26 (CH₂(C5), 2H, t, J=7,2 Hz), 3,15 (CH(C3), 1H, q, J=6,7 Hz), 10,29 (OH, 1H, s).
- ¹³C NMR spektroskopskom analizom u d₆-DMSO/TMS (deuterisani dimetilsulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 19,40 (C1), 158,82 (C2), 56,76 (C3), 8,40 (C4), 47,13 (C5), 29,81 (C6), 24,92 (C7).
- IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm⁻¹): ν=3261 (OH), ν=3183 (OH, NH), ν=1654 (oksimska C=N), ν=1372, 1470 (CH₃, CH₃).
- UV spektrofotometrijskom analizom: λ_{max}= 205 nm (C₂H₅OH).

- Karakterizacija jedinjenja 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksima (DI-4)*

Prinos jedinjenja DI-4: 73%.

Temperatura topljenja jedinjenja DI-4: 121-122 °C.

Jedinjenje DI-4 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=59,25; % H=9,56; % N=19,84), što je u saglasnosti sa bruto formulom $C_{14}H_{26}N_4O_2$ (% C=59,55; % H=9,28; % N=19,84).
2. 1H NMR spektroskopskom analizom u d_6 -DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 1,40 (CH_2 (C7), 2H, t, $J=7,5$ Hz), 1,59-1,69 (CH_2 (C6), 2H, m), 1,91 (CH_3 (C1), 3H, s), 1,98 (CH_3 (C4), 3H, s), 3,36 (CH_3 (C5), 3H, t, $J=7,5$ Hz), 11,40 (OH, 1H, s).
3. ^{13}C NMR spektroskopskom analizom u d_6 -DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 13,10 (C1), 156,78 (C2), 163,55 (C3), 9,20 (C4), 51,24 (C5), 30,61 (C6), 27,12 (C7).
4. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu=3174$ (OH), $\nu=1626$ s (C=N, C=NOH), $\nu=1364$, 1484 (CH_3 , CH_3).
5. UV spektrofotometrijskom analizom: $\lambda_{max}=225$ nm (C_2H_5OH).

- *Karakterizacija jedinjenja 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima (L-4)*

Prinos jedinjenja L-4: 82%.

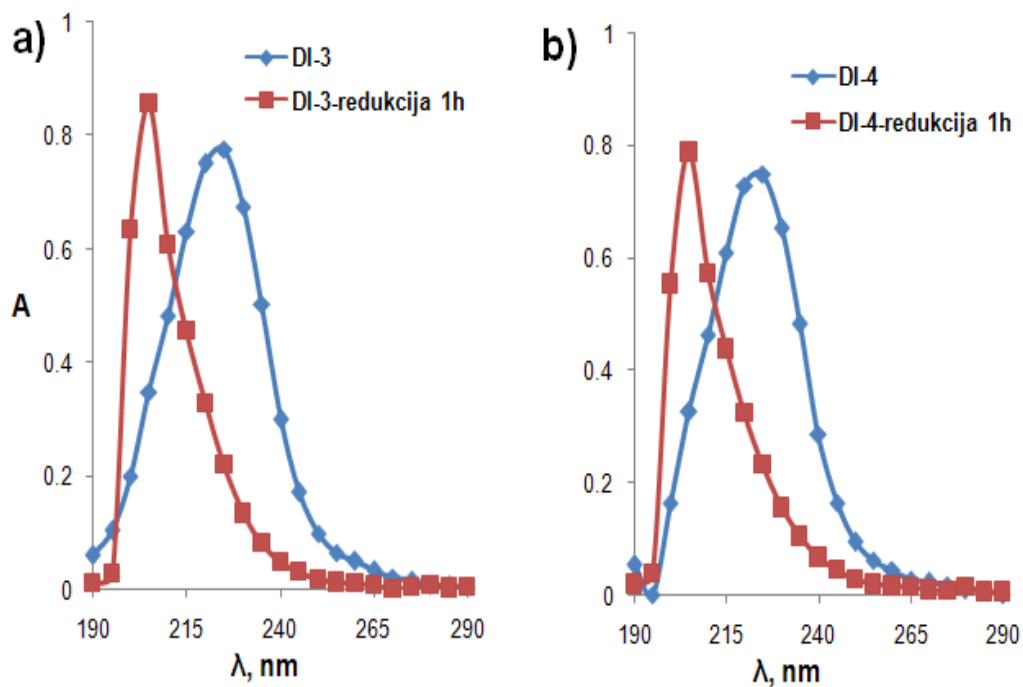
Temperatura topljenja jedinjenja L-4: 155-156 °C.

Jedinjenje L-4 je okarakterisano:

1. elementarnom analizom (% C=58,50; % H=10,54; % N=19,22), što je u saglasnosti sa bruto formulom $C_{14}H_{30}N_4O_2$ (% C=58,71; % H=10,56; % N=19,56).
2. 1H NMR spektroskopskom analizom u d_6 -DMSO/TMS (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 1,03 (CH_3 (C4), 3H, d, $J=6,7$ Hz), 1,24 (CH_2 (C7), 2H, m), 1,32 (CH_2 (C6), 2H, m), 1,64 (CH_3 (C1), 3H, s), 2,26 (CH_2 (C5), 2H, t, $J=7,2$ Hz), 3,15 (CH(C3), 1H, q, $J=6,7$ Hz), 10,28 (OH, 1H, s).

3. ^{13}C NMR spektroskopskom analizom u $\text{d}_6\text{-DMSO/TMS}$ (deuterisani dimetil-sulfoksid kao rastvarač i tetrametilsilan kao standard) na 200 MHz, δ u ppm: 19,40 (C1), 158,83 (C2), 56,74 (C3), 8,42 (C4), 47,09 (C5), 29,85 (C6), 27,06 (C7).
4. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu=3262$ (OH), $\nu=3190$ (OH, NH), $\nu=1648$ (oksimska C=N), $\nu=1370, 1476$ (CH_3 , CH_3).
5. UV spektrofotometrijskom analizom: $\lambda_{\text{max}}=205$ nm ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

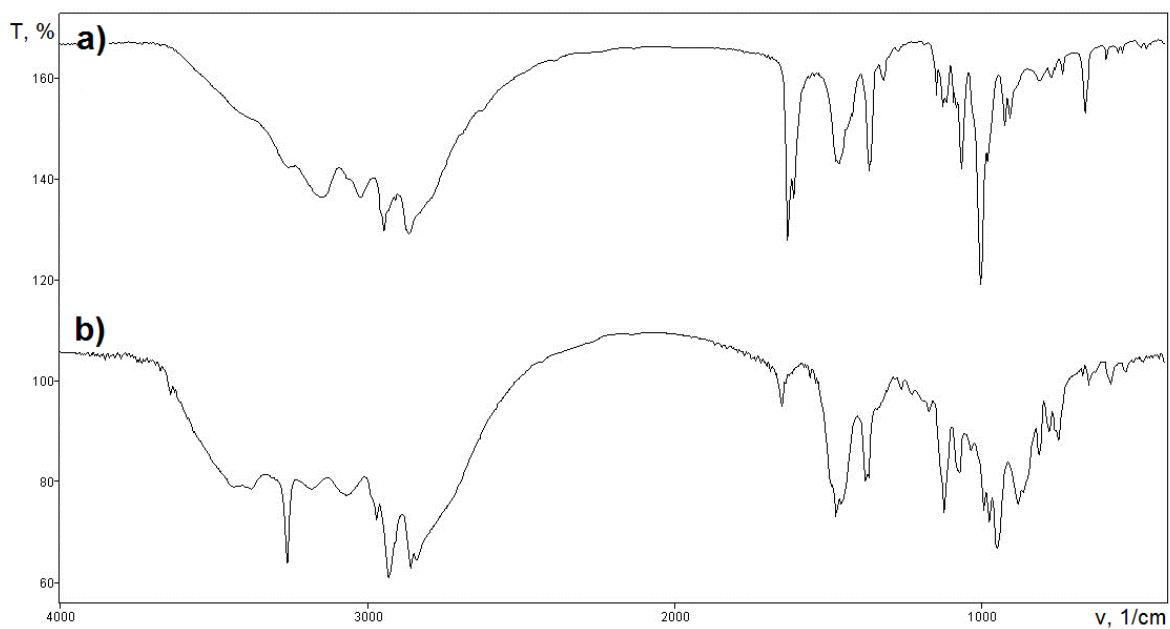
UV spektrofotometrijskom metodom prati se tok reakcija redukcije Schiff-ovih baza (DI-3 i DI-4) i građenja reakcionih proizvoda (L-3 i L-4). Uzorci reakcionih smeša i polaznih Schiff-ovih baza snimani su u opsegu 190-300 nm sa $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ kao slepom probom. Ispitivani uzorci su rastvoreni u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, a koncentracije svih rastvora su $1,5 \times 10^{-5}$ M. Apsorpcioni spektri L-3 i L-4 sa apsorpcionim maksimumom $\lambda_{\text{max}} = 205$ nm i Schiff-ovih baza sa $\lambda_{\text{max}} = 225$ nm, prikazani su na Slici 33. Apsorpcioni spektri uzoraka reakcione smeše iz reakcije redukcije DI-3 (a) i DI-4 (b) pokazuju minimalan sadržaj polaznih DI-3 i DI-4 već 30 minuta od početka reakcije. Može se zaključiti da je redukcija jedinjenja DI-3 i DI-4 brza reakcija, kompletno završena nakon 30 minuta. Spektrofotometrijska ispitivanja jedinjenja L-3 i L-4 sa apsorpcionim maksimumom $\lambda_{\text{max}} = 205$ nm, takođe pokazuju slaganja sa literaturnim podacima za HMPAO koji ima apsorpcioni maksimum $\lambda_{\text{max}}=203$ nm [56].



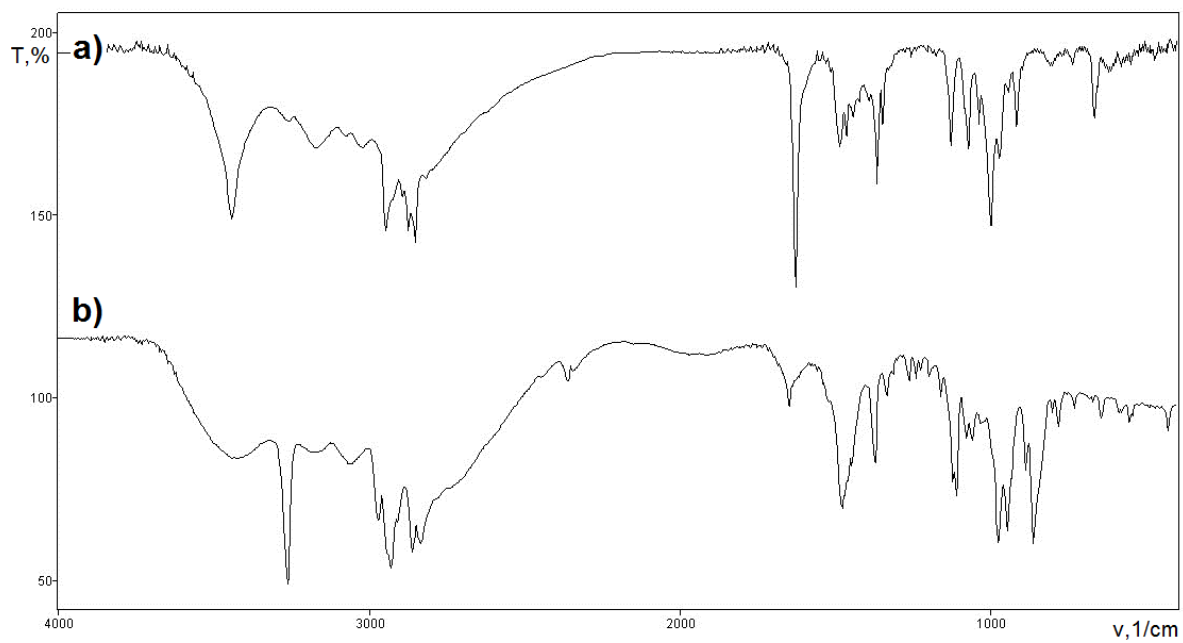
Slika 33. UV apsorpcioni spektri DI-3 (a) i DI-4 (b) u $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (koncentracije $1,5 \times 10^{-5}$ M) i uzoraka redukcionih smeša DI-3 i DI-4 nakon 1 h

Iminska veza u jedinjenjima DI-3 i DI-4 okarakterisana je apsorpcionim trakama u IR spektrima na 1629 cm^{-1} i 1626 cm^{-1} (Slike 34(a) i 35(a)). Nestajanje te trake u IR spektrima polaznih jedinjenja, karakteristične za $\text{C}=\text{N}$ grupu, kao i pojava apsorpcione trake karakteristične za sekundarnu amino grupu koja nastaje nakon redukcije ketimino grupe, ukazuje na građenje novog jedinjenja. Sekundarna amino grupa u jedinjenjima L-3 i L-4 okarakterisana je apsorpcionim trakama u IR spektrima na 3183 cm^{-1} i 3190 cm^{-1} (Slike 34(b) i 35(b)). Sintetisani diamino-dioksimi L-3 i L-4, kao L-1 i L-2, pokazuju stereoizomeriju, jer redukcijom dve imino-grupe u DI-3 ili DI-4 nastaju dva optički aktivna (hiralna) atoma ugljenika, odnosno nastaju *d,l*- i *mezo*-diastereoizomeri. Strukture jedinjenja L-3 i L-4 su potvrđene ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopskom analizom, a snimanja su izvedena na sobnoj temperaturi u d^6 -DMSO kao rastvaraču. ^1H NMR spektri diimino-dioksima (DI-3 i DI-4) i diamino-dioksima (L-3 i L-4) daju jedan signal (singlet)

na $\delta \approx 10,28-11,40$ ppm za protone oksimskih grupa. Signali u ^1H NMR spektrima koji se nalaze na $\delta \approx 1,91(\text{C1})$ i $\delta \approx 1,99(\text{C4})$ ppm kod DI-3 i $\delta \approx 1,91(\text{C1})$ i $\delta \approx 1,98(\text{C4})$ ppm kod DI-4 pripisani su metil-grupama, oba kao singleti. U ^1H NMR spektrima jedinjenja L-3 i L-4, signali na $\delta \approx 1,03(\text{C4})$ ppm kao dubleti pripisani su metil-grupi, što je još jedna od potvrda da je došlo do redukcije jedinjenja DI-3 i DI-4. Signali u ^{13}C NMR spektrima na $\delta \approx 24,92(\text{C7})$ i $\delta \approx 29,81(\text{C6})$ ppm kod L-3 i $\delta \approx 27,06(\text{C7})$ i $\delta \approx 29,85(\text{C6})$ ppm kod L-4 pokazuju prisustvo $-(\text{CH}_2)_5-$ odnosno $-(\text{CH}_2)_6-$ ugljovodoničnog lanca između dve amino grupe. Ostale vrednosti hemijskih pomeranja za ^1H NMR i ^{13}C NMR spektre prikazane su u delu koji se odnosi na karakterizaciju jedinjenja (DI-3, DI-4, L-3 i L-4). Ove vrednosti su u saglasnosti sa objavljenim za slična jedinjenja [133].



Slika 34. IR spektri sintetisanih jedinjenja DI-3 (a) i L-3 (b)



Slika 35. IR spektri sintetisanih jedinjenja DI-4 (a) i L-4 (b)

4.5. Kompleksi 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksima i 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksima sa tehnecijumom-^{99m}

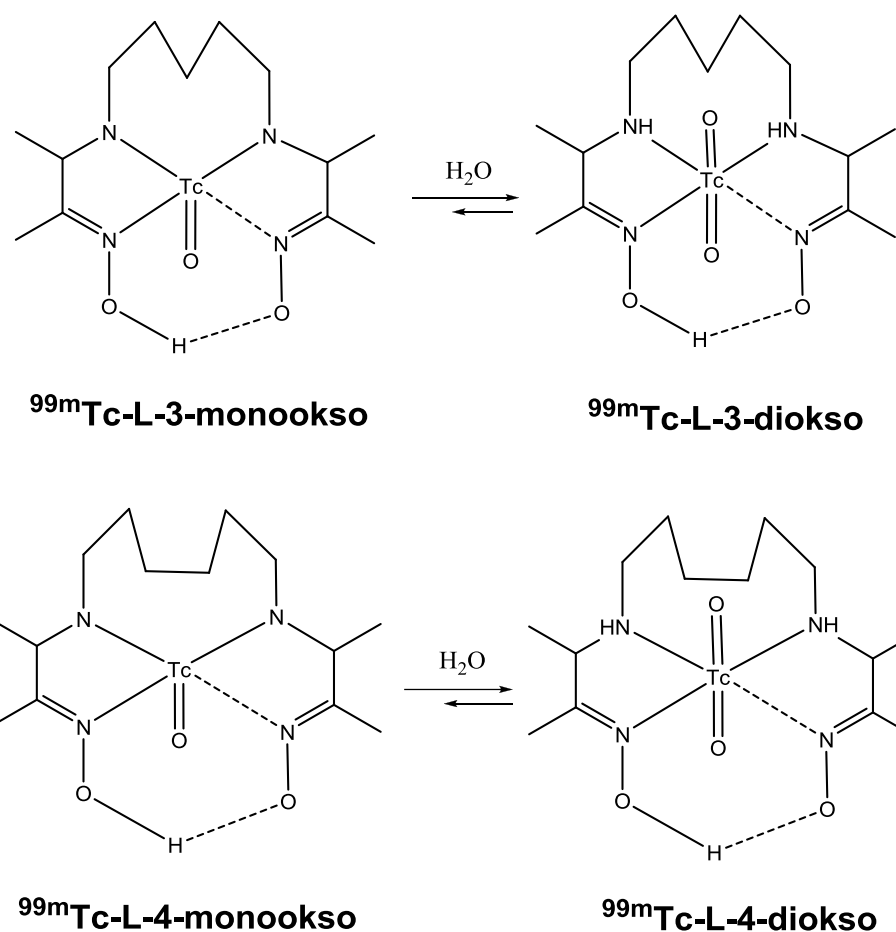
Oksidaciono stanje tehnecijuma nakon redukcije $^{99m}\text{TcO}_4^-$ zavisi od vrste redukcionog sredstva, tipa liganda i reakcionih uslova. Kao i u slučaju građenja kompleksa sa diamino-dioksimimkim jedinjenjima L-1 i L-2, cilj je redukcija Tc(VII) koji je u obliku $^{99m}\text{TcO}_4^-$ jona, u niže oksidaciono stanje i građenje stabilnih kompleksa. Urađen je niz eksperimenata sa promenom nekoliko reakcionih parametara, u cilju utvrđivanja optimalnih uslova za ^{99m}Tc -obeležavanje ispitivanih diamino-dioksimskih jedinjenja L-3 i L-4. Ispitivan je uticaj koncentracije liganda i redukcionog sredstva, reakcionog vremena, pH vrednosti reakcione smeše, molskog odnosa Sn(II):L i reakcione zapremine.

Utvrđeno je da se najveći prinos primarnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ postiže u optimizovanim uslovima gde svaka proba sadrži 1 mg L-3 (ili L-4) i 12,6 μg SnCl_2 (odnosno, 13,4 μg SnCl_2 za L-4), a obeležavanje sa $^{99m}\text{TcO}_4^-$ je izvedeno na sobnoj temperaturi u konačnoj zapremini od 4 mL. Posle 10 minuta od obeležavanja, uzeti su uzorci za ispitivanje prinosa obeležavanja primenom PC i ITLC metode. Rezultati ovih ispitivanja, sa metil-etil-ketonom kao mobilnom fazom, ukazuju da pored primarnih-lipofilnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$, dolazi i do građenje radiohemijskih nečistoća: ^{99m}Tc -sekundarni-hidrofilni kompleks, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ i $^{99m}\text{TcO}_2$. Utvrđeno je da se maksimalan prinos primarnih ^{99m}Tc -kompleksa postiže pri molskom odnosu Sn(II):L=1:55 za L-3 i za L-4. Prinos se smanjuje kako se smanjuje molski odnos Sn(II):L. Kao i kod diamino-dioksima L-1 i L-2, i kod L-3 i L-4 očigledna je zavisnost od pH prilikom građenja kompleksa sa $^{99m}\text{Tc(V)}$. Prinos oba primarna kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ raste od nižih ka višim vrednostima pH, a optimalne vrednosti su postignute na pH=9,0. Maksimalni prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$, ostvaren pri molskom odnosu Sn(II):L=1:55 na pH=9,0, 10 minuta nakon pripremanja je $25,0 \pm 1,0$ % i $60,0 \pm 0,5$ % (Tabela 7). Procenat neželjenih, sekundarnih hidrofilnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ je evidentno veći nego kod $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$.

Tabela 7. Prinos obeležavanja jedinjenja L-3 i L-4 sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ pri molском odnosu $\text{Sn(II):L}=1:55$ na različitim pH vrednostima; rezultati su izraženi kao srednja vrednost od najmanje 3 merenja $\pm\text{S.D.}$

	pH			
	7	8	9	10
$^{99m}\text{Tc-L-3}$ (%) primarni	15,7 $\pm$ 1,1	23,8 $\pm$ 0,4	25,0$\pm$1,0	21,5 $\pm$ 0,8
$^{99m}\text{Tc-L-3}$ (%) sekundarni	72,2 $\pm$ 1,0	66,5 $\pm$ 0,5	73,8 $\pm$ 0,8	72,7 $\pm$ 0,4
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	11,7 $\pm$ 0,2	7,7 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,1
$^{99m}\text{TcO}_2$	0,4 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1
$^{99m}\text{Tc-L-4}$ (%) primarni	51,4 $\pm$ 0,5	57,6 $\pm$ 1,2	60,0$\pm$0,5	54,9 $\pm$ 0,8
$^{99m}\text{Tc-L-4}$ (%) sekundarni	38,0 $\pm$ 0,7	38,1 $\pm$ 1,0	39,1 $\pm$ 0,3	41,9 $\pm$ 0,6
$^{99m}\text{TcO}_4^-$	10,3 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,1
$^{99m}\text{TcO}_2$	0,3 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,2

Kada $^{99m}\text{Tc(V)}$ gradi kompleks sa diamino-dioksimima, stabilnost $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ i $^{99m}\text{TcO}_2^+$ jona zavisi od veličine helatnog prstena koji formiraju $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon i ugljovodonični lanac [159]. Zbog veće dužine ugljovodoničnog lanca kod jedinjenja L-3 i L-4, nego kod L-1 i L-2, možemo pretpostaviti da dolazi do interkonverije $^{99m}\text{TcO}^{3+}$ u $^{99m}\text{TcO}_2^+$ jon i da je ravnoteža pomerena u desno, u smeru nastajanja stabilnijeg $^{99m}\text{Tc(V)}$ -diokso kompleksa, sa intramolekulskom vodoničnom vezom između oksimskih hidroksilnih grupa koja ga, zatvaranjem četvrtog helatnog prstena, stabilizuje (Slika 36). Diokso kompleksi su hidrofilniji u odnosu na monookso komplekse zbog dva protonovana azotova atoma amino grupa [150].



Slika 36. Pretpostavljena interkonverzija peto-koordiniranog Tc(V)-monoosko kompleksa u šesto-koordinirani Tc(V)-diokso kompleks kod $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$

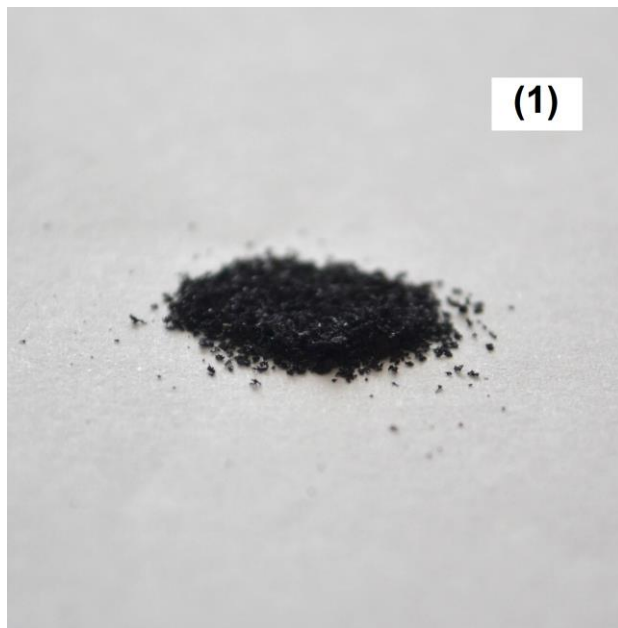
Diamino-dioksimi L-3 i L-4 se vezuju za $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon gradeći makrociklične diokso komplekse (helate) koji sadrže četiri helatna prstena. Jedinjenje L-3 sa pet $-\text{CH}_2-$ grupa u mostu između azotovih atoma amino grupa gradi jedan osmočlani prsten sa $^{99m}\text{Tc(V)}$ jonom, dok jedinjenje L-4 sa šest $-\text{CH}_2-$ grupa u mostu gradi jedan devetočlani prsten. Sterna ograničenja su zbog toga sigurno važan faktor u ovom procesu koordinacije. Makrociklični kompleksi $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ su znatno voluminozniji u odnosu na komplekse $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$, a samim tim i mnogo manje stabilni. Zbog velike dužine ugljovodoničnog lanca kod diamino-dioksima L-3 i L-4 sterna ograničenja su veoma izražena i zato su intramolekulske vodonične veze, koje zatvaraju četvrti prsten

stabilizujući makrociklične $^{99m}\text{Tc(V)}$ -diokso komplekse čineći ih elektroneutralnim, oslabljene. Pretpostavljamo da je posledica destabilizacija $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ makrocikličnih kompleksa, intramolekulske vodonične veze se raskidaju, dolazi do adicije atoma vodonika na oksimski kiseonik i formiranje sekundarnih kompleksa dolazi do izražaja. $^{99m}\text{Tc(V)}$ jon u sekundarnom kompleksu verovatno ostvaruje vezu sa dva atoma azota, jednim iz amino grupe i drugim iz oksimske grupe helatizirajućeg jedinjenja, jer je koordinacija dva azota iz amino grupa kao kod sekundarnih $^{99m}\text{Tc-L-1}$ i $^{99m}\text{Tc-L-2}$ kompleksa, zbog sternih ograničenja manje izražena. Još jedno moguće objašnjenje za manji udeo željenih, lipofilnih $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ kompleksa, verovatno leži i u činjenici da ligandi L-3 i L-4 imaju metil-grupu u položajima C-3 i C-11 (u L-3) i C-3 i C-12 (u L-4) u alkil lancu, za razliku od liganada L-1 i L-2 koji imaju etil-grupu u položajima C-3 i C-8 (u L-1) i C-3 i C-10 (u L-2). Za metil-grupu je već napomenuto u diskusiji da je manje lipofilna u odnosu na etil-grupu i istom položaju.

Zbog velikog procenta hidrofilnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$, ovi radioaktivni kompleksi nisu od interesa sa stanovišta ispitivanja njihove raspodele po organima, a pre svega akumulacije u mozgu, što je predmet datih istraživanja.

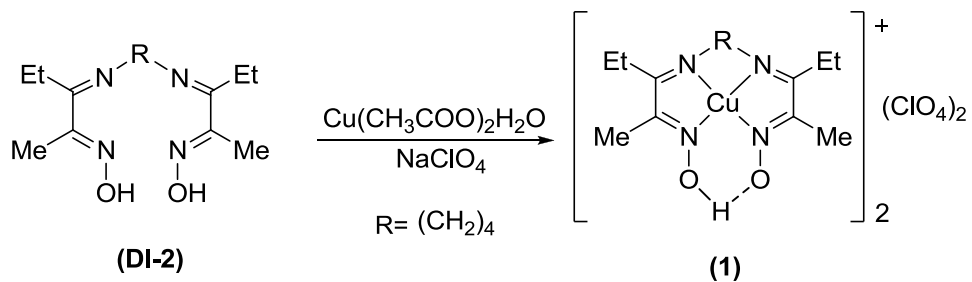
4.6. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)

U okviru istraživanja fokusiranih na razvoju novih Schiff-ovih baza koje sadrže diimino-dioksimsku strukturu, potencionalnih liganada za ^{64}Cu -radiofarmaceutike, ispitana je najpre mogućnost građenja kompleksa između odabranog diimino-dioksima i dvovalentnog bakra, a zatim i sa nekim drugim dvovalentnim prelaznim metalima. Kompleks diimino-dioksima (4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim, DI-2) sa bakar(II)-acetatom monohidratom (1) je sintetisan i okarakterisan. Sinteza kompleksa je vrlo brza kada se reakcija odvija u CH_3OH , sa bakar(II)-acetatom i diimino-dioksimom u molaskom odnosu 1:1.



Slika 37. Izgled kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II) (1)

Nagrađeni kompleks crno-braon boje, prikazan je na Slici 37, dok je sintetički put za njegovo dobijanje prikazan na Šemi 5.



Šema 5. Sintetički put za kompleks 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim sa Cu(II) (1)

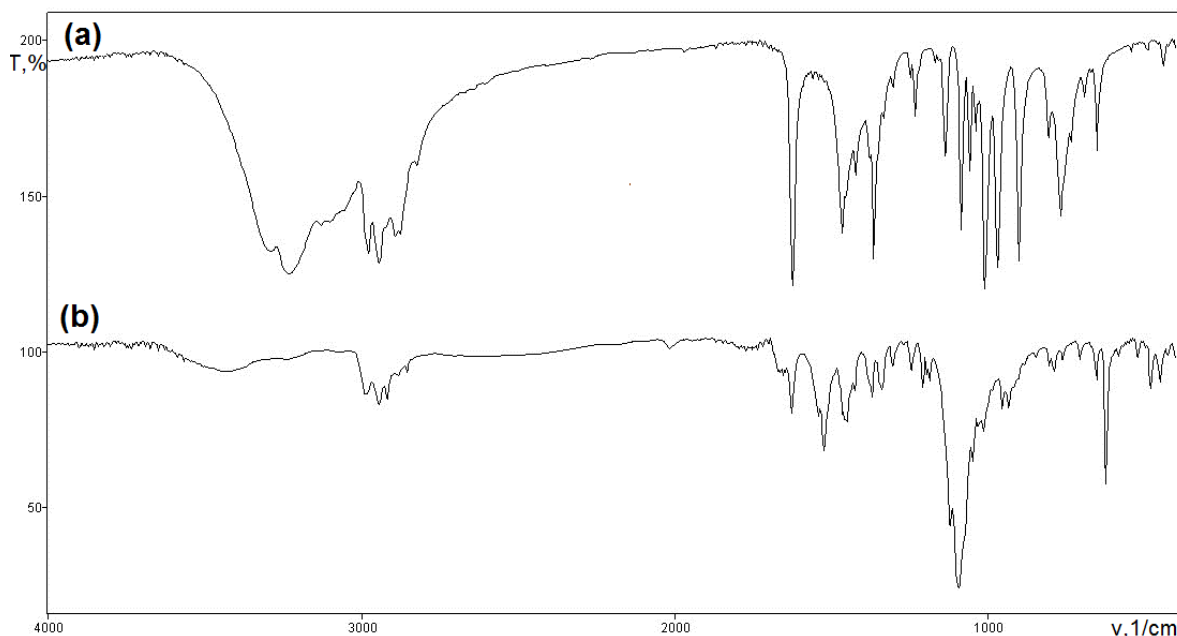
Kompleks (1) prikazan na Šemi 5 sintetisan je sa prinosom od 68% i eksplozivan je na 225 °C.

Kompleks (1) je okarakterisan:

1. elementarnom analizom (% C=37,67; % H=5,99; % N=12,38), što je u saglasnosti sa bruto formulom $C_{28}H_{50}Cl_2Cu_2N_8O_{12}$ (% C=37,84; % H=5,67; % N=12,61).
2. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu = 1522$ m, 1625 w (C=N) (m, 'medium'-traka srednje jačine; w, 'weak'-slaba traka).

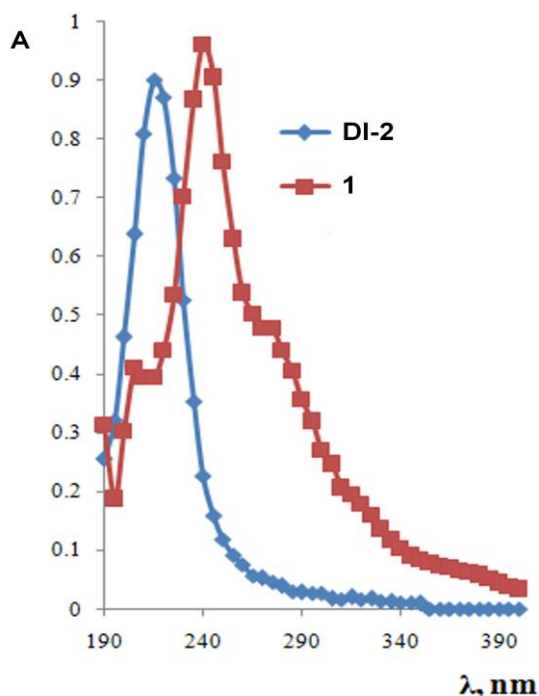
Kompleks (1) je izolovan u obliku monokristala. Analiza kristalne strukture kao i elektrohemijsko ponašanje ovog kompleksa opisani su u nastavku.

Vibracione frekvence za karakteristične hemijske veze u diimino-dioksimu DI-2 i u kompleksu (1) su prikazane na Slici 38. Kada se gradi kompleks DI-2 sa Cu(II), $\nu(C=N)$ apsorpcione trake imaju različite frekvence kod slobodnog diimino-dioksima i kompleksa što je u saglasnosti sa koordinacijom oksimskih i imino azota u kompleksu. IR spektar DI-2 pokazuje $\nu(C=N)$ jaku apsorpcionu traku na 1622 cm^{-1} (a), dok IR spektar kompleksa (1) pokazuje $\nu(C=N)$ slabu apsorpcionu traku na 1625 cm^{-1} (b).



Slika 38. IR spektri sintetisanih jedinjenja DI-2 (a) i kompleksa (1) (b)

Apsorpcioni spektri diimino-dioksima (DI-2) sa $\lambda_{\max}$ na 225 nm i njegovog kompleksa sa Cu(II) (1) sa $\lambda_{\max}$ oko 240 nm, koristeći C₂H₅OH kao slepu probu su prikazani na Slici 39. Koncentracije oba rastvora su $1,5 \times 10^{-5}$ M, a uzorci su rastvoreni u C₂H₅OH.

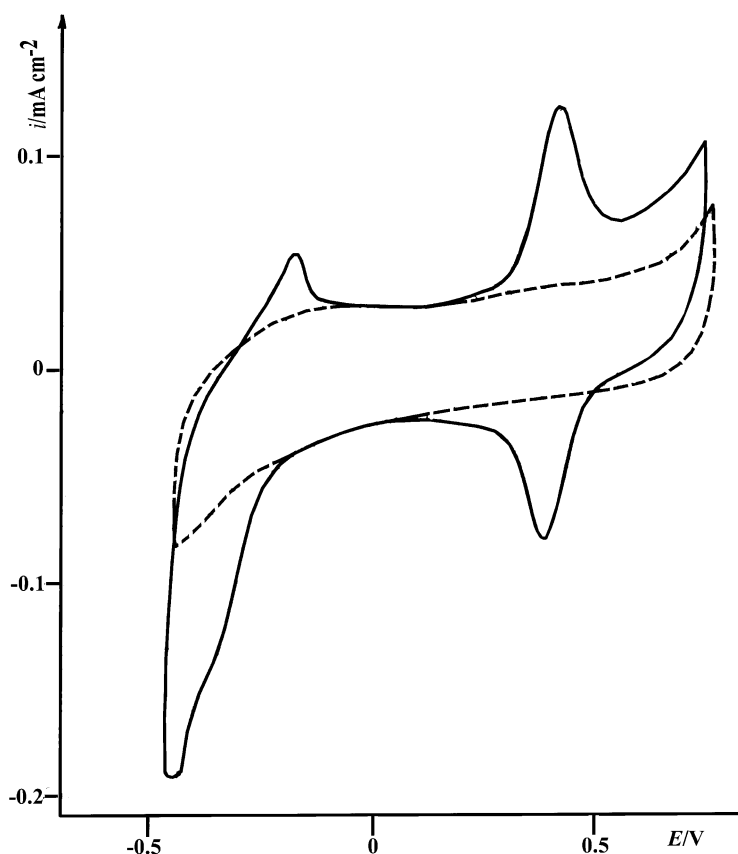


Slika 39. UV apsorpcioni spektri DI-2 i njegovog kompleksa sa Cu(II) u C₂H₅OH (koncentracije $1,5 \times 10^{-5}$ M)

4.7. Karakterizacija i elektrohemijsko ispitivanje kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)

Ciklični voltamogrami ugljenične staklene elektrode u 0,05 M NaHCO₃ (isprekidana linija) i nakon dodatka Cu(II) kompleksa (puna linija) prikazani su na Slici 40. Na ovoj slici se uočava reverzibilni oksido redukциони proces na 0,45 V, izražena reakcije redukcije između -0,3 V i -0,5 V, reakcija oksidacije na 0,7 V i mali anodni pik na -0,30 V. Može se pretpostaviti da se posmatrani elektrohemijski procesi mogu pripisati i reaktivnim grupama

diimino-dioksima. Da bi proverili ovu pretpostavku, pod istim eksperimentalnim uslovima ispitivan je diimino-dioksim DI-2 koji sadrži donorski set od četiri atoma azota. Utvrđeno je da diimino-dioksim DI-2 ima iste reverzibilne oksido redukione procese na 0,45 V. Dakle, Cu(II) kompleks je elektrohemijski karakterisan reverzibilnim oksido redukcionim procesom na 0,45 V, koji proizilazi od diimino-dioksima. Cu (II) kompleks pokazuje na početku još jednu dodatnu reakciju oksidacije na 0,7 V koja može poticati od centralnog atoma Cu [161,162]. Reakcija redukcije koja je uočena između -0,3 V i -0,5 V i mali anodni pik na -0,30 V se mogu pripisati interakciji centralnog atoma Cu sa DI-2.



Slika 40. Ciklični voltamogrami ugljenične staklene elektrode u 0,05 M NaHCO_3 (isprekidana linija) i nakon dodatka Cu(II) kompleksa (puna linija), koncentracija $2,0 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$, brzina promene potencijala: 50 mV s^{-1} .

4.8. Analiza kristalne strukture kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa Cu(II)

Napomena: Radi lakšeg tumačenja analize kristalne strukture, kompleks odabranog diimino-dioksima (4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksim, DI-2) sa bakar(II)-acetatom monohidratom označen je kao $[\text{Cu}_2(\text{LH})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**I**), odnosno ligand DI-2 napisan je kao LH₂, a skraćena oznaka za kompleks (**1**) napisana je kao (**I**).

Osnovni kristalografski podaci su prikazani u Tabeli 8.

Tabela 8. Osnovni kristalografski podaci za kompleks $[\text{Cu}_2(\text{LH})_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$

Empirijska formula	$\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{Cu}_2\text{N}_8\text{O}_{12}$
Molarna masa	888,74
Talasna dužina (Å)	0,71073
Kristalni sistem	Monokliničan
Prostorna grupa	P21/n
a (Å)	7,6214(2)
b (Å)	20,2174(6)
c (Å)	12,4894(3)
b(°)	94,204(3)
Zapremina (Å ³)	1919,25(9)
Z	2
Gustina kristala (izračunata)(mg/m ³)	1,538
Koeficijent apsorpcije(mm ⁻¹)	1,315
F(000)	924
Opseg ugla θ (°)	3,44- 29,12
Broj izmerenih refleksija	8595
Broj neekvivalentnih refleksija/ broj parametara	4399 / 246
Korekcionni faktor	0,940
R [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0371, wR2 = 0,0870

R [svi podaci]	R1 = 0,0620, wR2 = 0,0918
Najveći i najmanji pik u diferentnoj Furijeovoj mapi ($e/\text{\AA}^{-3}$)	0,431, -0,322

Kristalnu strukturu kompleksa grade asimetrične jedinice sastavljene od $\text{Cu}[\text{LH}]^+$ katjona i ClO_4^- anjona. Atom bakra je peto-koordiniran, pri čemu ligand LH^+ koordinira preko četiri atoma azota, a peto koordinaciono mesto zauzima oksimino kiseonik iz susednog katjonskog $\text{Cu}[\text{LH}]^+$ fragmenta (Slika 41). U Tabeli 9 su dati osnovni geometrijski parametri molekulske strukture kompleksa.

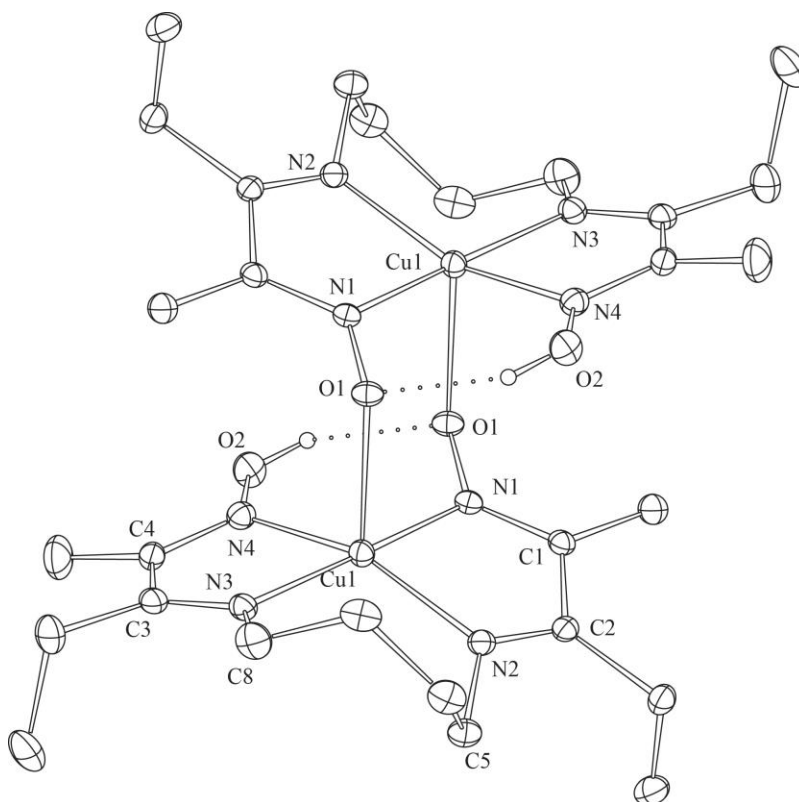
Tabela 9. Dužine veza ($\text{\AA}$) i uglovi ($^\circ$) u kompleksu $[\text{Cu}_2(\text{LH})_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$.

Cu1-O1 ⁱ 2.318(2)	N1-C1 1.288(3)	N1-Cu1-N2 80.54(8)	O1 ⁱ -Cu1-N3 92.23(7)
Cu1-N1 1.954(2)	N4-C4 1.281(3)	N1-Cu1-N3 174.26(9)	O1 ⁱ -Cu1-N4 96.21(7)
Cu1-N2 1.970(2)	N2-C2 1.277(3)	N1-Cu1-N4 94.52(9)	O1 ⁱ -Cu1-O4 174.71(8)
Cu1-N3 1.992(2)	N2-C5 1.464(3)	N2-Cu1-N3 103.13(8)	O4-Cu1-N1 90.23(8)
Cu1-N4 1.977(2)	N3-C8 1.473(4)	N2-Cu1-N4 153.98(9)	O4-Cu1-N2 75.98(9)
Cu1-O4 2.947(3)	N3-C3 1.275(4)	N3-Cu1-N4 80.25(9)	O4-Cu1-N3 86.43(9)
O1-N1 1.341(2)		O1 ⁱ -Cu1-N2 109.31(7)	O4-Cu1-N4 78.53(8)
O2-N4 1.378(3)		O1 ⁱ -Cu1-N1 90.68(7)	Cu1-O1-Cu1 ⁱ 97.76(5)

oznaka simetrijske operacije: $i=1-x,-y,1-z$

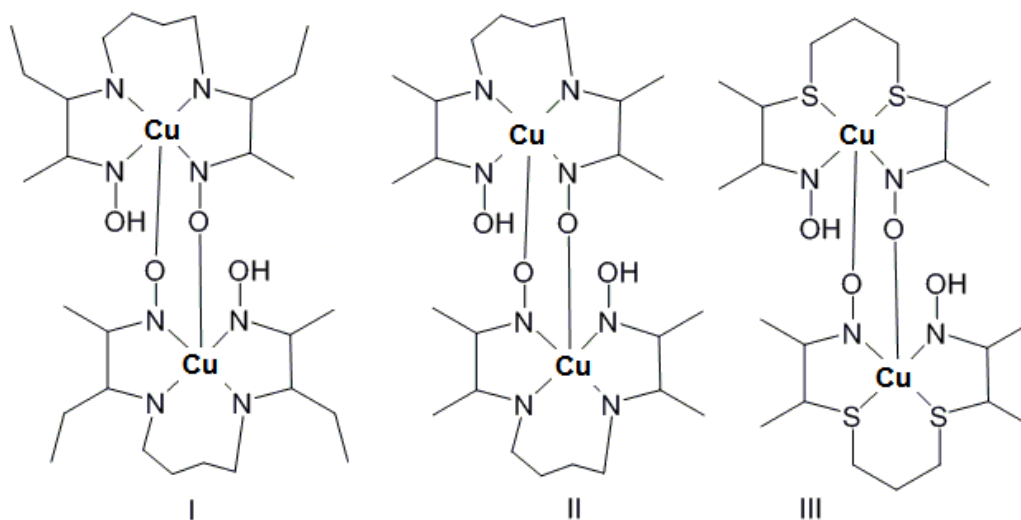
Dva katjonska fragmenta su simetrijski ekvivalentna i grade binuklearni kompleks kod koga su dva atoma bakra povezana preko deprotonovanih atoma kiseonika (Slika 41). Ovakvo povezivanje strukturno sličnih kompleksa $\text{Cu}(\text{II})$ je opaženo i ranije [163]. Koordinacioni poliedar kod peto-koordiniranih jona metala se može opisati korišćenjem

parametra distorzije τ [164], pri čemu vrednost $\tau=1$ odgovara idealnoj trigonalnoj bipiramidi, a $\tau=0$ odgovara idealnoj kvadratnoj piramidi. U ovoj strukturi parametar distorzije τ ima vrednost 0,34 što odgovara vrlo deformisanoj kvadratnoj piramidi. Ekvatorijalnu ravan formiraju atomi N1, N2, N3 i N4, pri čemu atom metala odstupa za 0,24 Å od ove ravni u pravcu aksijalnog položaja koji zauzima kiseonik O1. Unutarmolekulsko rastojanje dva atoma bakra je 3,9424(4) Å.



Slika 41. Molekulska struktura $[\text{Cu}_2(\text{LH})_2]^{2+}$. Atomi vodnika iz CH_3 i CH_2 grupa su izbrisani zbog jasnijeg prikaza. Intrarmolekulska vodonična veza $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ je označena isprekidanom linijom.

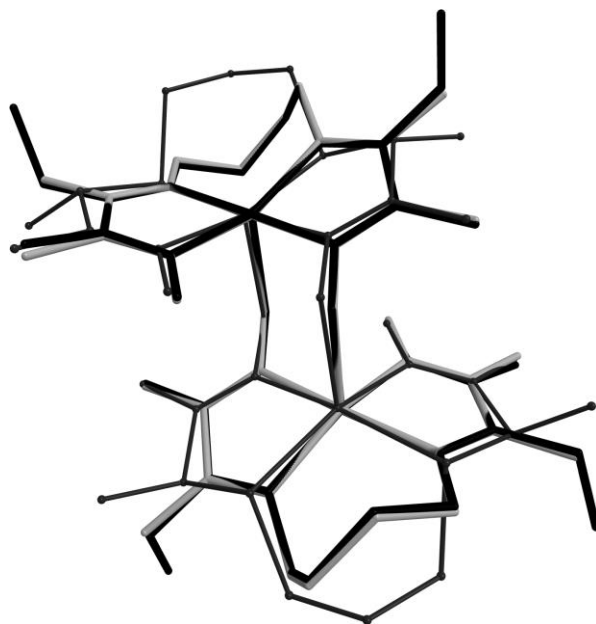
Da bi se dobio bolji uvid u strukturna svojstva ispitivanog kompleksa **I** (Šema 6), dobijeni rezultati su upoređeni sa kristalnim strukturama sličnih kompleksa. Strukturne formule kompleksa koje su korišćene za poređenje su prikazane na Šemi 6, uz napomenu da su i dvostruke veze prikazane kao jednostruke. Kompleksi koji su korišćeni za poređenje takođe sadrže bakar, diimino-dioksimski ligand i perhloratni anjon. To su dva polimorfna kompleksa bakra sa deprotonovanim anjonom 4,9-diaza-3,10-dimetil-3,9-dodekadien-2,11-diona [125,126] i sa strukturno sličnim tio-oksimskim ligandom [165], a čije su strukture **II** i **III** prikazane na Šemi 6.



Šema 6. Strukturne formule ispitivanog kompleksa (**I**) i katjonskih kompleksa (**II** i **III**) korišćenih za poređenje.

Kompleks koji je ispitivan sadrži etil-grupu vezanu za helatni prsten dok je kod kompleksa **II** i **III** prisutna metil-grupa. Kompleks **III** se od ispitivanog kompleksa razlikuje i u tome što umesto dva koordinirana atoma azota sadrži dva atoma sumpora. Poređenje geometrijskih parametara pokazuje da postoji sličnost u konformaciji $\text{Cu}_2\text{O}_2\text{N}_2$

prstena i obliku koordinacionog poliedra kod ispitivanog kompleksa **I** i struktura ranije proučavanih jedinjenja **II** i **III**. Preklapanje molekulskih struktura prikazano na Slici 42 ilustruje ovu sličnost.



Slika 42. Preklapanje molekulskih struktura kompleksa **I** (crno), **II** (svetlo sivo) i **III** (tamno sivo).

I pored opšte sličnosti struktura kompleksa **I**, **II** i **III**, postoje male, ali značajne razlike. Dužina Cu-O1 veze (Slika 41) u kompleksima **I** i **III** je 2,318(2) i 2,293 Å što je duže od ekvivalentnog rastojanja nađenog u dva polimorfna kompleksa **II** gde je dužina te veze 2,266 i 2,262 Å. Treba ponovo naglasiti da varijacije u geometriji, po sastavu identičnih fragmenata, nisu neočekivane kod kompleksa bakra i posledica su „plastičnosti” (pojam se odnosi na osobinu materijala da se pod dejstvom sile savija, a po prestanku dejstva sile se ne vraća u prvobitni položaj) koordinacione sfere. Međutim, interesantno je primetiti da su varijacije u geometriji metalocikla u kompleksima **I**, **II** i **III** praćene i varijacijama položaja perhloratne grupe u odnosu na atom bakra. Rastojanje između bakra

i najbližeg atoma kiseonika iz perhloratne grupe je 2,947(3) u kompleksu **I** i 2,907 Å u kompleksu **III**.

Ove vrednosti su bliske graničnim vrednostima semikoordinirane perhloratne grupe [166,167], pa se može reći da postoji slaba hemijska veza između bakra i kiseonika iz perhloratne grupe. U odnosu na ovu vezu u *trans* položaju se nalazi Cu-O1 veza. Međutim u kristalu kompleksa **II**, najbliži perhloratni kiseonik se nalazi na znatno većem rastojanju, 3,767 i 3,766 Å (kod dve polimorfne strukture) i u ovom slučaju ne postoji hemijska veza između bakra i perhloratnog kiseonika.

Ovo ukazuje da je duža veza Cu-O1 u jedinjenjima **I** i **III**, u poređenju sa istom vezom u kompleksu **II**, posledica postojanja *trans* efekta, tj. da postojanje Cu-O(ClO₃) veze izaziva slabljenje veze koja je u *trans* položaju. Kod kompleksa **II** nema interakcije između bakra i perhlorata, pa nema ni uticaja na Cu-O1 vezu, koja je zbog toga jača.

Najkraće međumolekulsko Cu...Cu rastojanje u strukturi **I** je 7,621(5)Å. To je duže od istog rastojanja u strukturama **II** (6,484 i 6,480Å u dva polimorfna kompleksa **II**) i **III** (6,016Å). Ovo povećanje Cu...Cu rastojanja kod kompleksa **I** se može pripisati sternim razlozima, odnosno povećanoj zapremini molekula, usled postojanja dodatne metil-grupe u poređenju sa jedinjenjima **II** i **III**.

U kompleksu **I** se formira intramolekulska vodonična veza između dve *cis*-oksimske grupe, pri čemu je O...O rastojanje 2,593(3) Å, H...O = 1,83Å a O-H...O a ugao je 154°. Pri tome dva kiseonika učestvuju na različit način u građenju ove hemijske veze. Kiseonik O1 je akceptor, a O2 je donor u vodoničnoj vezi. Različita uloga dva *cis* kiseonika u vodoničnoj vezi utiče i na gemetruju N-O veza. Tako su veze u fragmentu koji sadrži akceptor (N1-O1 i N1-Cu1) kraće od ekvivalentnih veza u fragmentu koji sadrži donor (N4-O2 i N4-Cu1).

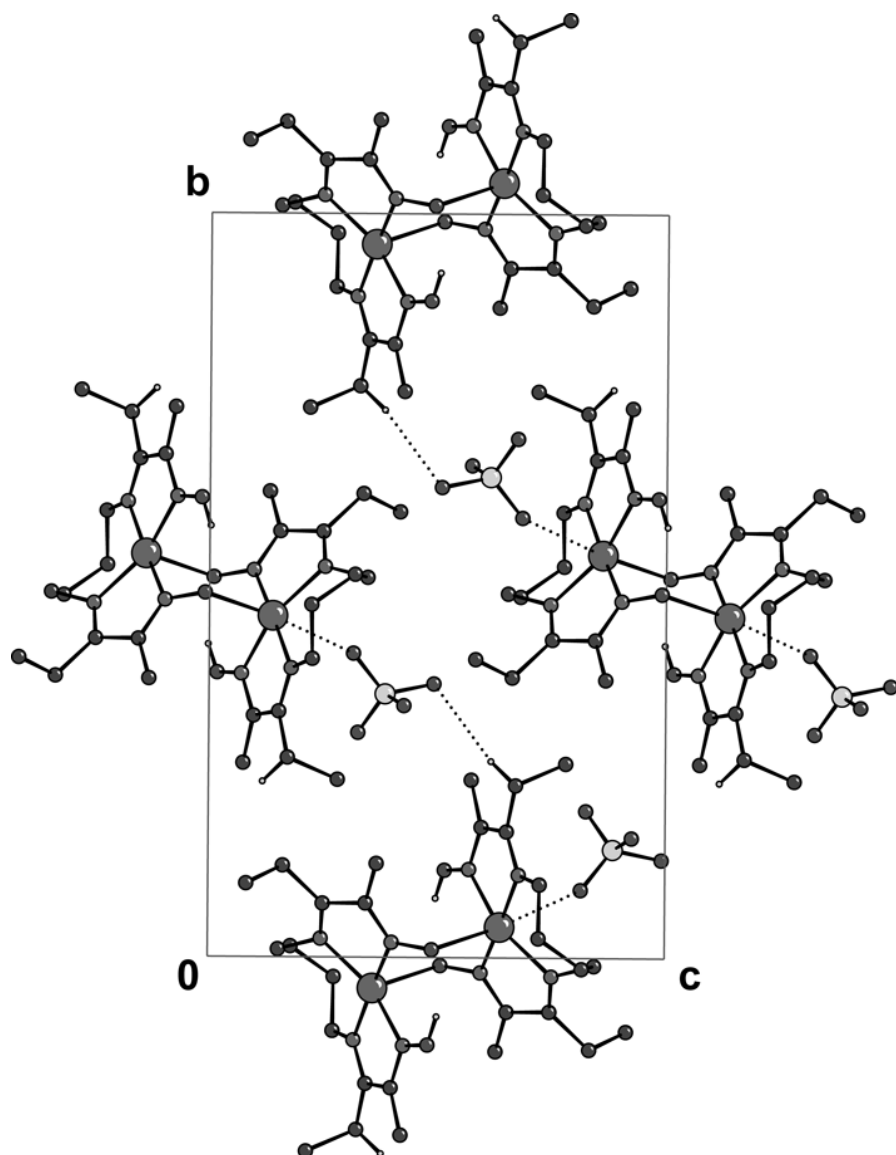
Kada se razmatra pakovanje ovih molekula u čvrstom stanju, interesantno je istaći da u ovom molekulu nema jakih donora vodoničnih veza, koji mogu da učestvuju u međumolekulskim kontaktima. Jedinu jači donor je fragment O2-H, koji učestvuje u intramolekulskoj vezi u kojoj je akceptor O1 (Slika 41). Usled sternih zahteva mala je verovatnoća da O2-H učestvuje u dodatnim kontaktima koji bi pritom bili i intermolekulski. S obzirom na sastav kristala jedini preostali donori i akseptori su C-H grupe i perhloratni

kiseonici. Imajući to u vidu može se pretpostaviti da će na udruživanje molekula u kristalu najviše uticati intermolekulski kontakti između C-H donora i perhlorato kiseonika kao akceptora. Rezultati rendgeno-strukturne analize pokazuju da ClO_4^- učestvuje kao akceptor u slabim vodoničnim vezama u kojima je C-H grupa donor. Na Slici 43 je pokazano kako slabe Cu-O(perhlorato) i C-H $\cdots$ O interakcije (Tabela 10) određuju udruživanje molekula u kristalu kompleksa **I**.

Tabela 10. Geometrijska svojstva vodoničnih veza.

D-H... A	H...A(Å)	D-H...A(°)
O2-H1... O1	1,83	154
C13-H5... O61 ⁱ	2,67	171
C12-H36... O6 ⁱ	2,67	145

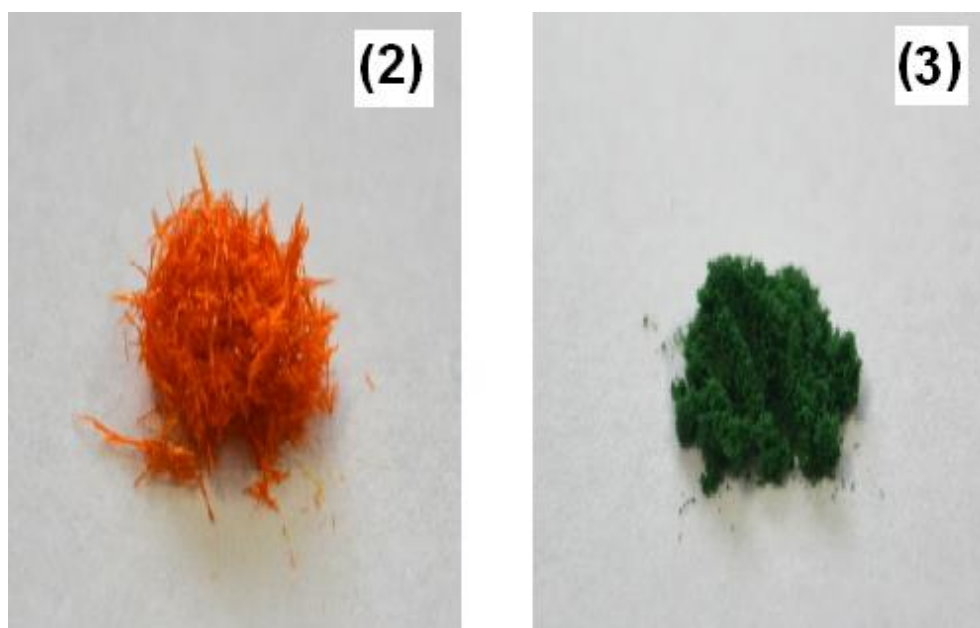
simetrijska operacija: $i=x-1/2,-y+1/2,+z-1/2$



Slika 43. Deo kristalne strukture kompleksa $[\text{Cu}_2(\text{LH})_2] \cdot (\text{ClO}_4)_2$ sa označenim intermolekulskim kontaktima koji određuju način udruživanja molekula kompleksa u kristalu. Atomi vodonika koji ne učestvuju u vodoničnim vezama su izostavljeni radi jasnijeg prikaza.

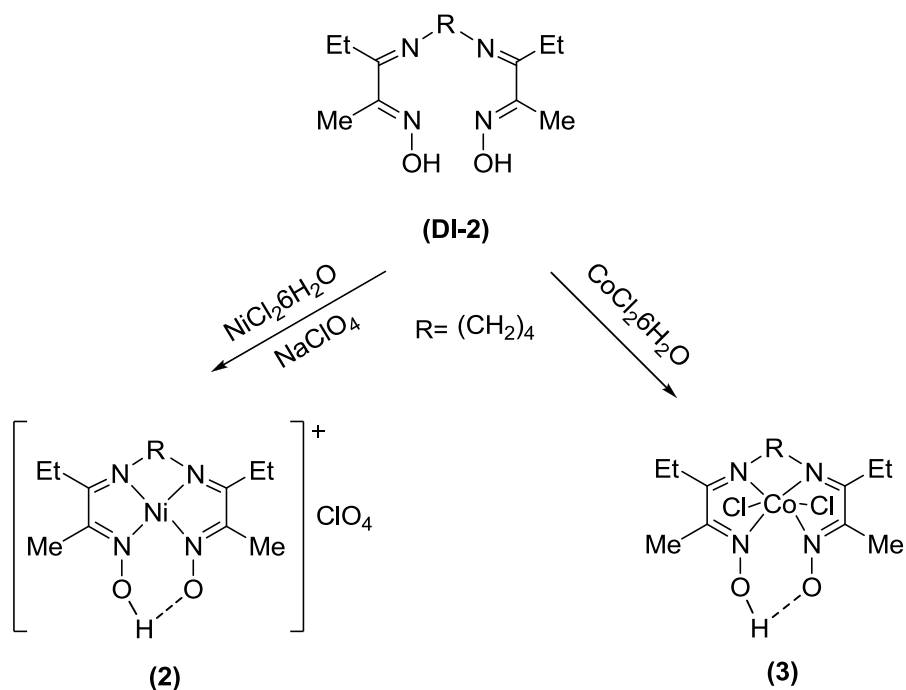
4.9. Sinteza kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksima sa Ni(II) i Co(II)

Kompleksi diimino-dioksima (4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksim, DI-2) sa nikal(II)-hloridom heksahidratom (2) i kobalt(II)-hloridom heksahidratom (3) su sintetisani i okarakterisani. Sinteza kompleksa (2) i (3) je vrlo brza kada se reakcija odvija u CH₃OH, sa navedenim solima metala i diimino-dioksimom (DI-2) u molaskom odnosu 1:1.



Slika 44. Izgled kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksim sa Ni(II) (2) i Co(II) (3)

Nagrađeni kompleksi (2) i (3), narandžaste boje sa niklom i zelene boje sa kobaltom, prikazani su na Slici 44, dok je sintetski put za njihovo dobijanje sa pretpostavljenim strukturama prikazan na Šemi 7.



Šema 7. Sintetski put za komplekse 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksim sa Ni(II) (2) i Co(II) (3); njihove pretpostavljene strukture

Kompleks (2) prikazan na Šemi 7 sintetisan je u prinosu od 47%.

Temperatura topljenja kompleksa (2) je 214-216 °C.

Kompleks (2) je okarakterisan:

1. elementarnom analizom (% C=37,98; % H=5,95; % N=12,53), što je u saglasnosti sa bruto formulom C₁₄H₂₅ClN₄NiO₆ (% C=38,26; % H=5,73; % N=12,75).
2. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm⁻¹): ν= 1515 m, 1609 w (C=N)

Kompleks (2) je izolovan u obliku monokristala nakon sinteze, ali monokristal nije bio dovoljno kvalitetan da bi se izvršila rendgenska strukturna analiza, kao kod kompleksa (1). Zato je njegova struktura pretpostavljena, nakon analize svih eksperimentalnih podataka

vezanih za taj kompleks i poređenja sa literaturnim podacima za druge slične komplekse diimino-dioksima sa Ni(II). Elektrohemijsko ponašanje ovog kompleksa opisano je u nastavku.

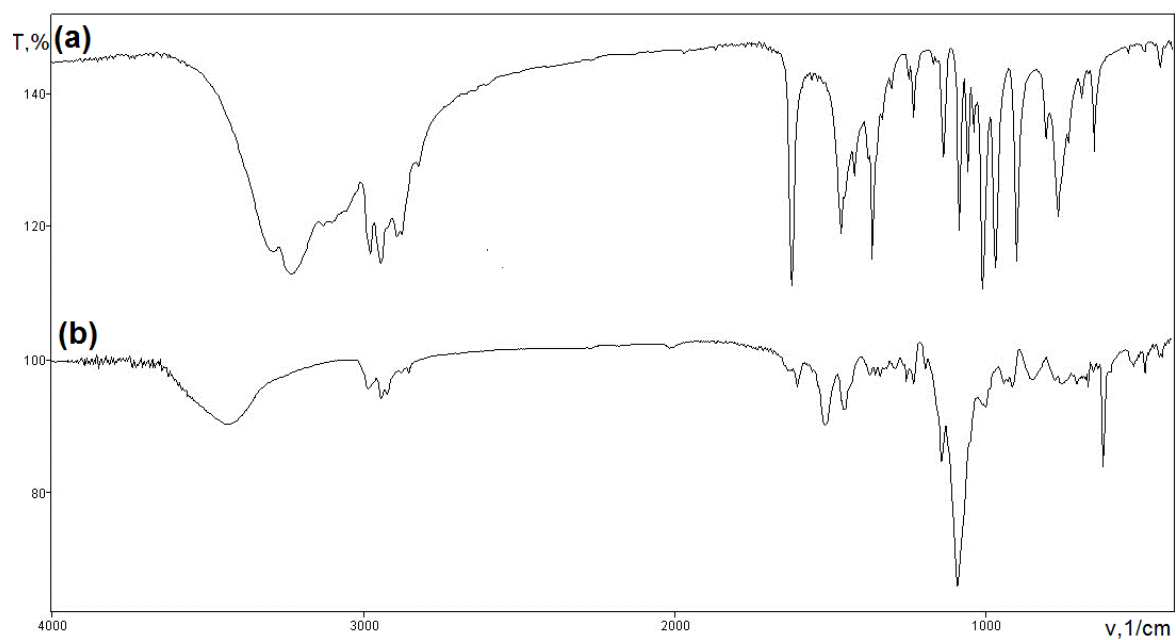
Kompleks (3) prikazan na Šemi 7 sintetisan je u prinosu od 63%. Temperatura topljenja kompleksa (3) je 220 °C.

Kompleks (3) je okarakterisan:

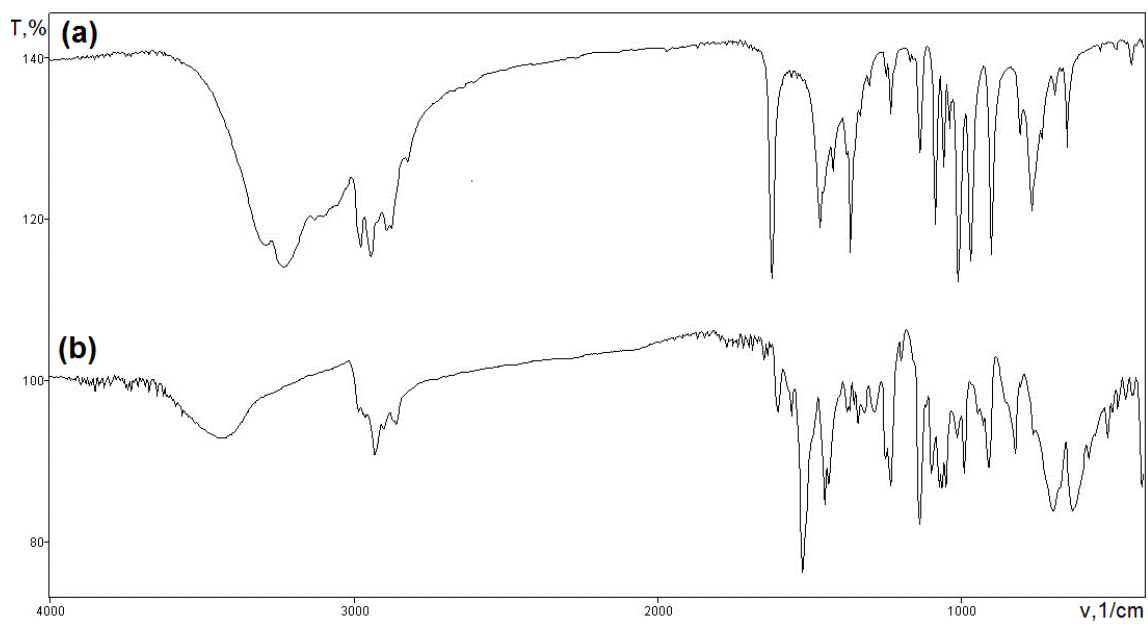
1. elementarnom analizom (% C=40,62; % H=6,48; % N=13,55), što je u saglasnosti sa bruto formulom $C_{14}H_{25}Cl_2CoN_4O_2$ (% C=40,89; % H=6,13; % N=13,62).
2. IR spektroskopskom analizom (KBr tableta, cm^{-1}): $\nu=1520$ m, 1603 w (C=N).

Kompleks (3) je takođe izolovan u obliku monokristala nakon sinteze, ali monokristal nije bio dovoljno kvalitetan da bi se izvršila rendgenska strukturna analiza, kao kod kompleksa (1). Zato je njegova struktura pretpostavljena kao i kod kompleksa (2), nakon analize svih eksperimentalnih podataka vezanih za taj kompleks i poređenja sa literaturnim podacima za druge slične komplekse diimino-dioksima sa Co(II). Verovatno je došlo do građenja Co(III) kompleksa, jer sinteza nije izvedena u inertnoj atmosferi azota [112]. Elektrohemijsko ponašanje ovog kompleksa opisano je u nastavku.

Vibracione frekvence za karakteristične hemijske veze u diimino-dioksimu DI-2 i u kompleksima (2) i (3) su prikazane na Slikama 45 i 46. Kada se gradi kompleks DI-2 sa Ni(II) i Co(II), $\nu(C=N)$ apsorpcione trake imaju različite frekvence kod slobodnog diimino-dioksima i kompleksa što je u saglasnosti sa koordinacijom oksimskih i imino azota u kompleksu. IR spektar DI-2 pokazuje $\nu(C=N)$ jaku apsorpcionu traku na 1622 cm^{-1} (Slika 45 (a) i Slika 46 (a)), dok IR spektri kompleksa (2) i (3) pokazuju $\nu(C=N)$ slabu apsorpcionu traku na 1609 cm^{-1} i 1603 cm^{-1} (Slika 45(b) i Slika 46 (b)).

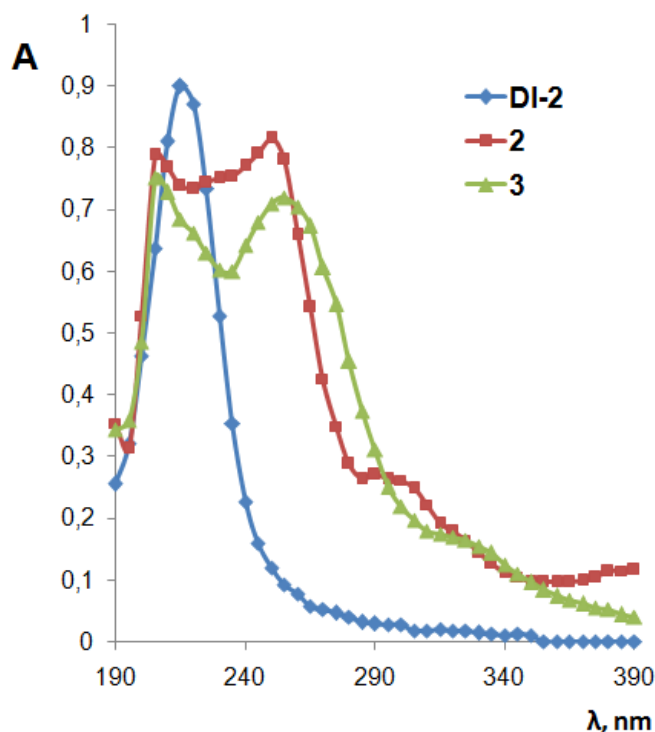


Slika 45. IR spektri sintetisanih jedinjenja: DI-2 (a) i kompleks (2) (b)



Slika 46. IR spektri sintetisanih jedinjenja: DI-2 (a) i kompleks (3) (b)

Apsorpcioni spektri diimino-dioksima (DI-2) sa $\lambda_{\max}$ na 225 nm i njegovih kompleksa sa Ni (II) (2) i Co(II) (3) sa $\lambda_{\max}$ oko 255 nm, koristeći C₂H₅OH kao slepu probu su prikazani na Slici 47. Koncentracije oba rastvora su $1,5 \times 10^{-5}$ M, a uzorci su rastvoreni u C₂H₅OH.

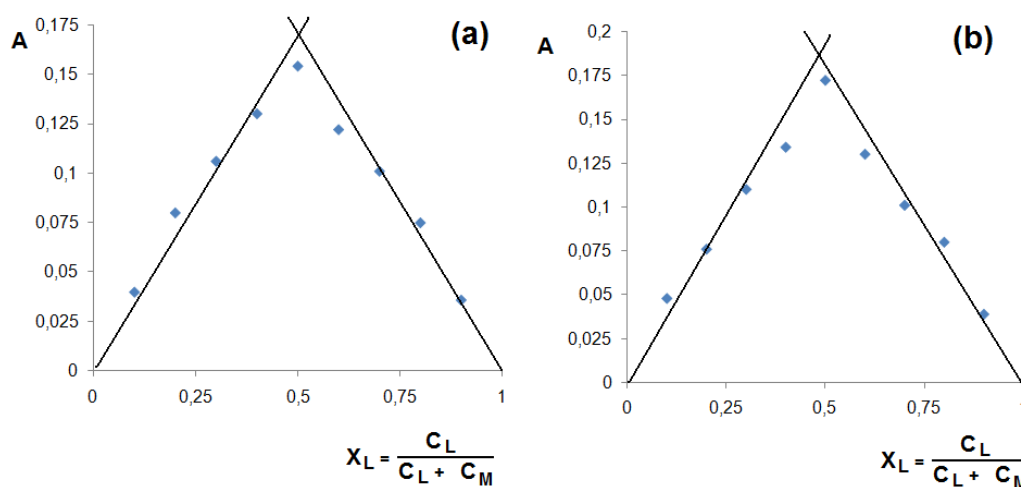


Slika 47. UV apsorpcioni spektri DI-2 i njegovih kompleksa sa Ni(II) (2) i Co(II) (3) u C₂H₅OH (koncentracije $1,5 \times 10^{-5}$ M)

U kompleksima (2) i (3), kod kojih monokristali nisu bili zadovoljavajućeg kvaliteta da bi se uz pomoć rengenske difrakcije analizirala njihova kristalna struktura, za određivanje stehiometrijskog odnosa metala i jedinjenja sa kojim metal gradi kompleks, korišćena je Job-ova metoda molskih odnosa. Ova metoda se koristi u analitičkoj hemiji i instrumentalnoj analizi za određivanje stehiometrije u kompleksu. U Job-ovoj metodi, ukupna molarna koncentracija jona metala i jedinjenja sa kojim metal gradi kompleks

ostaju nepromenjene, ali se njihove molske frakcije menjaju. Merljivi parameter koji je proporcionalan građenju kompleksa (kao što je apsorpcioni signal) je prikazan u odnosu na molske frakcije ove dve komponente. Maksimum krive odgovara stehiometriji dve vrste. Ovaj metod je dobio ime po P. Job-u, koji je prvi put predstavio metodologiju 1928 [142]. Job-ova metoda je najjednostavnija za definisanje formule kompleksa. Najefikasnija je kada se nagradi samo jedan kompleks. Da bi Job-ova metoda mogla da se koristi mora biti ispunjeno nekoliko uslova: sistem bi trebalo da odgovara Lambert-Berovom zakonu, jedan kompleks mora biti dominantan pod datim eksperimentalnim uslovima, ukupna koncentracija vrsta koje se udružuju mora biti konstantna, pH i jonska jačina se moraju održavati konstantnim [168].

Stehiometrijski odnos jona metala i DI-2 u kompleksima (2) i (3) određen je Job-ovom metodom, ali sa malom modifikacijom koja uključuje korišćenje C₂H₅OH umesto H₂O za rastvaranje DI-2 i jona metala. Job-ove krive za ove sisteme prikazane su na Slici 48. Maksimum na $X_L = 0,5$ ukazuje na građenje kompleksa u kojima je odnos Ni(II) i Co(II) sa DI-2 1:1.



Slika 48. Job-ove krive ekvimolarnih rastvora na 255 nm u C₂H₅OH za komplekse 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dione bis oksima sa Ni(II) (a) i Co(II) (b).

Elementarna analiza i spektrofotometrijski podaci kompleksa (2) i (3) ukazuju da dolazi do koordinacije oksimskih i imino azota diimino-dioksima ($C=N$) sa jonom metala i građenja mononuklearnih kompleksa nikla i kobalta. Prema literaturnim podacima za slične komplekse diimino-dioksima sa $Ni(II)$ i $Co(II)$ [109,112], elementarnoj analizi i na osnovu spektrofotometrijskog ispitivanja, strukture sintetisanih kompleksa sa niklom i kobaltom su pretpostavljene i prikazane na Šemi 7.

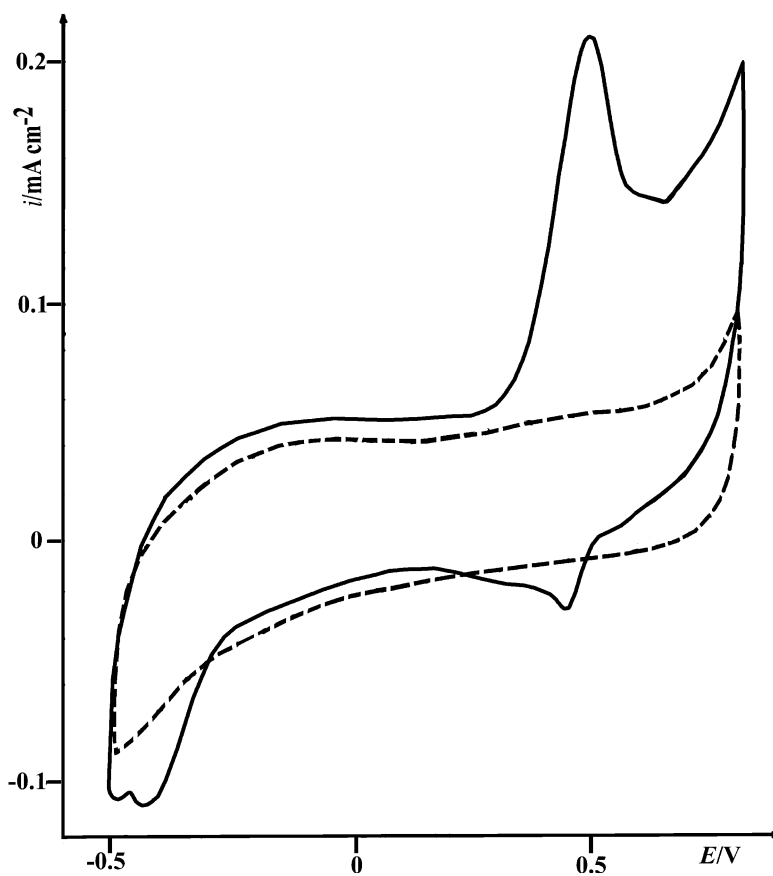
4.10. Karakterizacija i elektrohemijsko ispitivanje kompleksa 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksima sa $Ni(II)$ i $Co(II)$

Ciklični voltamogrami ugljenične staklene elektrode u 0,05 M $NaHCO_3$ (isprekidana linija) i nakon dodatka $Ni(II)$ i $Co(III)$ kompleksa (puna linija) prikazani su na Slikama 49 i 50.

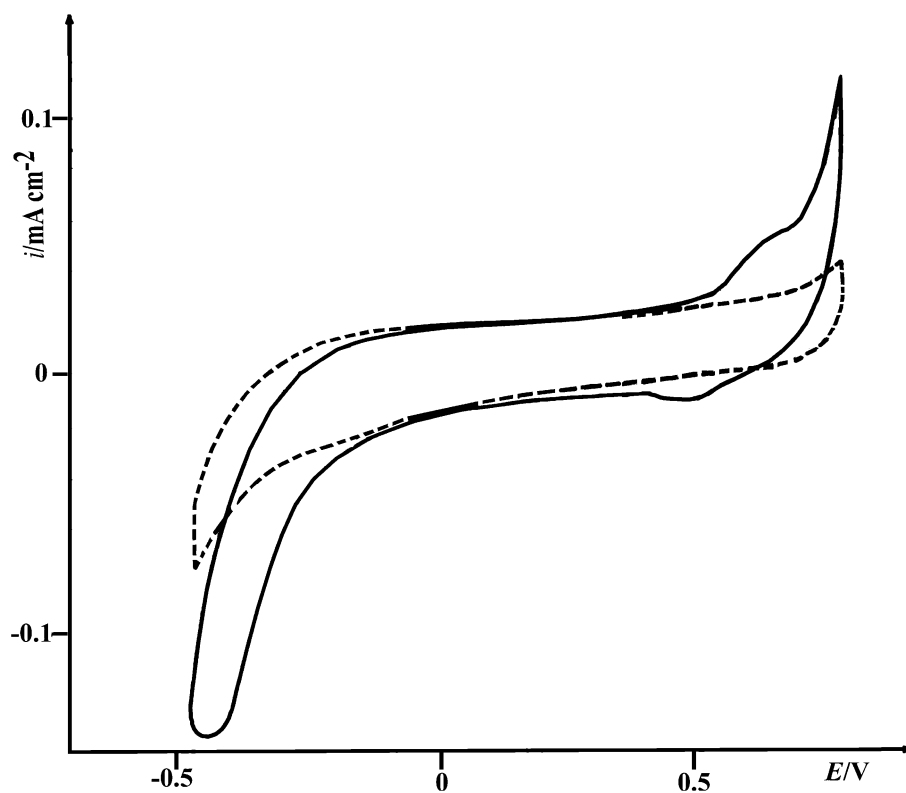
Na Slici 49 je izražen reverzibilni oksido redukcionni proces Ni kompleksa na 0,45 V, dok do reakcije redukcije dolazi između -0,3 V i -0,5 V. Obzirom da je utvrđeno da diimino-dioksim DI-2 sadrži iste reverzibilne oksido redukcionne procese na 0,45 V, $Ni(II)$ kompleks je elektrohemijski karakterisan reverzibilnim oksido redukcionnim procesima na 0,45 V koji proizilazi od DI-2. Na Slici 49 možemo uočiti početak još jedne dodatne reakcije oksidacije koja se pojavljuje na 0,7 V, a koja može poticati od centralnog metalnog atoma Ni .

Ciklični voltamogram $Co(III)$ kompleksa (Slika 50) ukazuje na jednu očiglednu redoks reakciju između -0,2 V i -0,5 V koja je uočena i kod $Ni(II)$ kompleksa. Reverzibilni oksido redukcionni proces koji se može pripisati reaktivnim grupama DI-2 koji je uočen kod $Ni(II)$ kompleksa na 0,45 V je prisutan i kod $Co(III)$ kompleksa, ali je malo pomeren i manje očigledan. $Co(III)$ kompleks je takođe elektrohemijski karakterisan reverzibilnim oksido redukcionni procesom na 0,45 V, koji potiče od DI-2. Različite visine pikova za reverzibilne oksido redukcionne procese koji se pripisuju DI-2 (Slika 49 i 50), mogu se objasniti različitim uticajima centralnih atoma Ni i Co . Posmatrani procesi su očigledno

favorizovani atomom Ni i delimično potisnuti atomom Co. Očigledniji anodni pik na 0,7 V može se pripisati centralnom atomu Co [169]. Posmatrane reakcije redukcije između -0,3 V i -0,5 V za Ni(II) kompleks i između -0,2 V i -0,5 V za Co(III) kompleks mogu se pripisati interakcijama Ni i Co centralnog atoma metala sa DI-2.



Slika 49. Ciklični voltamogrami ugljenične staklene elektrode u 0,05 M $NaHCO_3$ (isprekidana linija) i nakon dodatka Ni(II) kompleksa (puna linija), koncentracija $2,0 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$, brzina promene potencijala: 50 mV s^{-1} .



Slika 50. Ciklični voltamogrami ugljenične staklene elektrode u 0,05 M NaHCO_3 (isprekidana linija) i nakon dodatka Co(III) kompleksa (puna linija), koncentracija $2,0 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$, brzina promene potencijala od 50 mV s^{-1} .

5. ZAKLJUČAK

- ✚ U ovoj doktorskoj disertaciji su izložene sinteze osam novih organskih jedinjenja: četiri jedinjenja iz klase diimino-dioksima i četiri jedinjenja iz klase diamino-dioksima. Sintetisani diimino-dioksimi i diamino-dioksimi do sada nisu poznati u literaturi. Ova jedinjenja su alifatična, aciklična i dužine niza od dvanaest do šesnaest atoma, ponašaju se kao tetradentatni ligandi jer imaju četiri donorska atoma azota, a samim tim imaju i pogodnu strukturu da grade stabilne komplekse posebno sa jonima prelaznih metala.
- ✚ Diimino-dioksimska jedinjenja DI-1 i DI-2 su sintetisana u protičnom i aprotičnom rastvaraču. Potvrđeno je da se veći prinos postiže reakcijom u protičnom rastvaraču (CH_3OH ili $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) za razliku od reakcije u aprotičnom rastvaraču (benzen). Korišćenjem protičnog rastvarača dobijeni su diimino-dioksimi DI-1 i DI-2 u prinosu od 74% i 78%, dok su korišćenjem aprotičnog rastvarača prinosi istih bili 32% i 30%. Još jedna prednost sinteze u protičnom rastvaraču je što je sirovi proizvod hemijski čistiji i ne zahteva veći broj prekrizalizacija kao nakon sinteze u aprotičnom rastvaraču. Za sintezu diimino-dioksimskih jedinjenja DI-3 i DI-4 korišćena je iz ovih razloga jedino metoda u protičnom rastvaraču i ostvareni su takođe visoki prinosi nakon prečišćavanja (68% i 73%).
- ✚ Diamino-dioksimska jedinjenja L-1 i L-2 su sintetisana u visokom prinosu kroz dvostepeni proces, okarakterisana i uspešno obeležena sa tehnecijumom-99m. Prinos primarnih $^{99\text{m}}\text{Tc-L-1}$ i $^{99\text{m}}\text{Tc-L-2}$ je $90,2 \pm 1,0\%$ odnosno $95,0 \pm 0,8\%$ pri molskom odnosu $\text{Sn(II):L}=1:55$ ($\text{pH}=9,0$) 10 minuta nakon pripremanja kompleksa. Kompleksi $^{99\text{m}}\text{Tc-L-1}$ i $^{99\text{m}}\text{Tc-L-2}$ su elektroneutralni i dovoljno lipofilni ($\log P_{\text{o/w}}=1,45 \pm 0,08$ i $\log P_{\text{o/w}}=1,33 \pm 0,05$) da mogu proći krvno-moždanu barijeru. Ispitivanje biološke raspodele u zdravim muškim Wistar pacovima pokazuje da kompleksi $^{99\text{m}}\text{Tc-L-1}$ i $^{99\text{m}}\text{Tc-L-2}$, kao diastereoizomerne smeše, imaju visoku akumulaciju u kombinaciji sa dobrom retencijom u mozgu. Akumulacija $^{99\text{m}}\text{Tc-L-1}$ kompleksa (2,10% ID) u mozgu je neznatno veća nego $^{99\text{m}}\text{Tc-L-2}$ (1,80% ID) 2 minuta nakon injektovanja. Eliminacija oba kompleksa iz mozga je

spora; 1,23% (za $^{99m}\text{Tc-L-1}$) i 0,95% (za $^{99m}\text{Tc-L-2}$) početne aktivnosti je još uvek prisutno u mozgu 60 minuta nakon injektovanja. Ostvareni rezultati vezani za akumulaciju u mozgu ukazuju na to da oba kompleksa ispunjavaju uslove da kao novi agensi budu kandidati za scintigrafiju mozga, naročito lipofilniji $^{99m}\text{Tc-L-1}$.

✚ Diamino-dioksimska jedinjenja L-3 i L-4 su takođe sintetisana u visokom prinosu, okarakterisana i uspešno obeležena sa tehnecijumom-99m. Međutim, prinos primarnih $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$, pri molskom odnosu $\text{Sn(II):L}=1:55$ ($\text{pH}=9,0$) je $25,0\pm 1,0\%$ odnosno $60,0\pm 0,5\%$. Zbog građenja dve kompleksne vrste: malog udela lipofilne, a velikog udela hidrofilne vrste $^{99m}\text{Tc-L-3}$ i $^{99m}\text{Tc-L-4}$ u sastavu ^{99m}Tc -diamino-dioksima, zaključeno je da ovi radioaktivni kompleksi nisu od interesa sa stanovišta ispitivanja njihove biološke raspodele po organima tj. prolaska kroz krvno-moždanu barijeru i akumulacije u mozgu što je predmet istraživanja ove doktorske disertacije, tako da dalje nisu razmatrani u ovom radu.

✚ Kao potvrda da diimino-dioksimka jedinjenja mogu lako graditi komplekse sa jonima prelaznih metala, uspešno su sintetisana tri kompleksa odabranog diimino-dioksima (DI-2) i prelaznih metala (Cu(II) , Ni(II) i Co(II)). Sintetisanom kompleksu DI-2 sa Cu(II) je određena kristalografska struktura rendgenskom difrakcijom, dok su za komplekse sa Ni(II) i Co(II) strukture pretpostavljene. Zbog ove činjenice, kao deo budućih istraživanja nameće se obeležavanje DI-2 i drugih sintetisanih diimino-dioksima, sa radioaktivnim izotopom ^{64}Cu , a samim tim i ispitivanje mogućnosti primene ovakvih obeleženih jedinjenja u PET nuklearno-medicinskoj dijagnostici.

6. LITERATURA

- [1] N. Vanlić-Razumenjić, N. Pujić, N. Dedović, K. Kostić, D. Nastić-Mirić, *Nucl. Med. Biol.* 19 (1992) 251-256.
- [2] O. Anderson, A. Packard, *Inorg. Chem.* 19 (1980) 2941-2945.
- [3] O. Anderson, A. Packard, *Inorg. Chem.* 18 (1979) 1940-1947.
- [4] A. Packard, J. Kronauge, E. Barbarics, S. Kiani, S. Treves, *Nucl. Med. Biol.* 29 (2002) 289-294.
- [5] S.K. Sridhar, M. Saravanan, A. Ramesh, *Eur. J. Med. Chem.* 36 (2001) 615-625.
- [6] S.N. Pandeya, D. Sriram, G. Nath, E. DeClercq, *Eur. J. Pharm. Sci.* 9 (1999) 25-31.
- [7] K. Singh, M.S. Barwa, P. Tyagi, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 147-153.
- [8] P. Panneerselvam, R.B. Nair, G. Vijayalakshmi, E.H. Subramanian, S.K. Sridhar, *Eur. J. Med. Chem.* 40 (2005) 225-229.
- [9] M.S. Karthikeyan, D.J. Prasad, B. Poojary, K.S. Bhat, B.S. Holla, N.S. Kumari, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 7482-7489.
- [10] A.A.A. Abu-Hussen, *J. Coord. Chem.* 59 (2006) 157-176.
- [11] R. Mladenova, M. Ignatova, N. Manolova, T. Petrova, I. Rashkov, *Eur. Polym. J.* 38 (2002) 989-999.
- [12] D. R. Williams, *Chem. Rev.* 72 (1972) 203-213.
- [13] M. Verma, S.N. Pandeya, K.N. Singh, J.P. Stables, *Acta. Pharm.* 54 (2004) 49-56.
- [14] N. Sari, S. Arslan, E. Logoglu, I. Sakiyan, *G. U. J. Sci.* 16 (2003) 283-288.
- [15] D. Dhar, C. Taploo, *J. Sci. Ind. Res.* 41 (1982) 501-506.
- [16] P. Przybylski, A. Huczynski, K. Pyta, B. Brzezinski, F. Bartl, *Curr. Org. Chem.* 13 (2009) 124-148.
- [17] B. Dede, F. Karipcin, M. Cengiz, *J. Hazard. Mater.* 163 (2009) 1148–1156.
- [18] B. Dede, F. Karipcin, M. Cengiz, *J. Chem. Sci.* 121 (2009) 163–171.
- [19] M.K. Taylor, J. Reglinski, D. Wallace, *Polyheron* 23 (2004) 3201-3209.
- [20] J.J. Lopez-Garriga, S. Hanton, G.T. Hanton, G.T. Babcock, J.F. Harisson, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 7251-7254.
- [21] A.B. Oki, S.J. Hodgson, *Inorg. Chim. Acta.* 170 (1990) 65-73.
- [22] E.J. Larson, V.L. Pecoraro, *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 3810-3818.
- [23] C.A. Salata, M.T. Youinou, C.J. Burrows, *Inorg. Chem.* 30 (1991) 3454-3461.

- [24] G. Bringmann, M. Dreyer, H. Faber, W. Dalsgaard, D. Staerk, J. W. Jaroszewski, J. Nat. Prod. 67 (2004) 743-748.
- [25] A. O. deSouza, F. C. S. Galetti, C. L. Silva, B. Bicalho, M. M. Parma, S. F. Fonseca, A. J. Marsaioli, A. C. L. B. Trindade, R. P. Freitas Gil, F. S. Bezerra, M. Andrade-Neto and M. C. F. de Oliveira, Quim. Nova. 30 (2007) 1563-1566.
- [26] Z. Y. Guo, R. Xing, S. Liu, Z. Zhong, X. Ji, L. Wang and P. C. Li, Carbohydr. Res. 342 (2007) 1329-1332.
- [27] Y. Zheng, K. Ma, H. Li, J. Li, J. He, X. Sun, Catal. Lett. 128 (2009) 465-474.
- [28] B. Moffett, In: N. Rabjohn, editor. Organic Syntheses, vol.4. New York, USA: Yohn Wiley: Yohn Wiley & Sons, Inc; 1963. p.605.
- [29] K. Taguchi, H. Westheimer, J. Org. Chem. 36 (1971) 1570-1572.
- [30] B. E. Love, J. Ren, J. Org. Chem. 58 (1993) 5556-5557.
- [31] C. Look, M. Murphy, A. Cambell, A. Gallop, Tetrahedron lett. 36 (1995) 2937-2940.
- [32] C. M. da Silva, D. L. da Silva, L. V. Modolo, R. B. Alves, M. A. de Resende, C. V. B. Martins, Â. de Fátima, J. Adv. Res. 2 (2011) 1-8.
- [33] K. Chakraborti, S. Bhagat, S. Rudrawar, Tetrahedron lett. 45 (2004) 7641-7644.
- [34] M. Gopalakrishnan, P. Sureshkumar, V. Kanagarajan, J. Thanusu, Res. Chem. Intermed. 33 (2007) 541-548.
- [35] S. Chandra, S. Raizada, S. Rani, Spectrochim Acta A 71 (2008) 720–724.
- [36] A.K. Singh, S. Kumari, T.N.G. Row, J. Prakash, K.R. Kumar, B. Sridhar, T.R. Rao, Polyhedron 27 (2008) 3710–3716.
- [37] Doktorska disertacija "Synthesis and Biological Studies of Some Schiff Base Compound and Their Transition Metal Complexes", Abdul Rauf, Department of Chemisty Bahauddin Zakariya University Multan, Pakistan (2005).
- [38] J. McMurry, T. Begley, The Organic Chemistry of Biological Pathways, First Edition (2005) Robert & Company Publishers.
- [39] C. B. Aakeröy, A. S. Sinha, K. N. Epa, P. D. Chopade, M. M. Smith, J. Desper, Cryst. Growth Des. 13 (2013) 2687–2695.
- [40] J. March, Advanced Organic Chemistry, 4th ed., Wiley, New York, 1992, pp. 109, 110, 127, 128, 592, 593, 818, 906, 907, 934, 935, 1198, 1223.

- [41] For reviews on isomerizations about C=N bonds, see: S. Patai (Ed.), *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bonds*, Wiley, New York, (1970).
- [42] A. Chakravorty, *Coord. Chem. Rev.* 13 (1974) 1-46.
- [43] M. Mihailović, *Osnovi teorijske organske hemije i stereochemije*, Gradjevinska knjiga, Beograd (1970) p. 409, 410.
- [44] V. Bertalosi, G. Gilli, *Acta Crystallogr.* 38 (1982) 502-511.
- [45] F. Bachechi, L. Zambonelli, *Acta Crystallogr.* 29 (1973) 2598-2600.
- [46] T. Bierlein, E. Lingafelter, *Acta Crystallogr.* 4 (1951) 450-453.
- [47] E. Bruton, L. Brammer, F. Pigge, C. Aakeröy, D. Leinen, *New. J. Chem.* 27 (2003) 1084-1094.
- [48] D. Braga, L. Maini, M. Polito, L. Scaccianoce, G. Cojazzi, F. Grepioni, *Coord. Chem. Rev.* 225 (2001) 216-217.
- [49] S. Kuduva, D. Blaser, R. Boese, G. Desiraju, *J. Org. Chem.* 66 (2001) 1621-1626.
- [50] M. Tremayne, C. Glidewell, *Chem. Comm.* 24 (2000) 2425-2426.
- [51] C. Aakeröy, A. Beatty, D. Leinen, *Cryst. Eng. Comm.* 4 (2002) 310-314.
- [52] A. Pombeiro, V. Kukushin, In: J. McCleverty, T. Mayer, (Eds.), *Comprehensive Coordination Chemistry II*, vol. 1., Elsevier, Amsterdam (2004) p. 631.
- [53] B. Singh, S. Garg, P. Singh, *Talanta* 26 (1979) 425-444.
- [54] L. Canning, D. Nowotnik, R. Neirinckx, I. Piper, European patent application 0194843 A2, Amersham International, (1986).
- [55] *Technetium-99m Radiopharmaceuticals: Manufacture of Kits*, International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, (2008).
- [56] N. Nikolić, D. Veselinović, S. Vladimirov, K. Karljiković-Rajić, H. Lingeman, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 34 (2004) 285-293.
- [57] J. Vučina, N. Nikolić, R. Han, *Arhiv za farmaciju*, 2 (2003) 437-450.
- [58] D. Djokić, "Tehnecijum u radiofarmaciji", u: *Tehnecijum-99m generator na bazi molibdena-99 visoke specifične radioaktivnosti*, ur. J. Vučina, Institut za nuklearne nauke "Vinča", Beograd, str. 85-116 (2003).
- [59] G. B. Saha, (2004), *Fundamentals of Radiopharmacy*, 5th edn. Springer Berlin.

- [60] J. Vučina, «Radionuklidni generator molibden-99/tehnecijum-99m: Status i perspektive», u: Tehnecijum-99m generator na bazi molibdena-99 visoke specifične radioaktivnosti, Proizvodnja, kontrola i vidovi primene, ur. J. Vučina, Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Beograd, str. 23-50, (2003).
- [61] W. C. Eckelman, B. M. Coursey, eds. (1982). Technetium - 99m : generators, chemistry and preparation of radiopharmaceuticals. Oxford: Pergamon.
- [62] M. Bogićević, S. Ilić, Nuklearna medicina, metodologija i klinika. SKC, Niš, (2007).
- [63] J. Vučina, R. Han, Med. Pregled, 54 (2001) 245-250.
- [64] O. Hjelstuen, Analyst. 120 (1995) 863-866.
- [65] N. Vanlić-Razumenjić, T. Maksin, Lj. Vuksanović, J. Chem. Serb. Soc. 60 (1995) 641-658.
- [66] Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine. I. Zolle, ed. New York, NY: Springer, (2007).
- [67] G. Saha, Fundamental of Nuclear Pharmacy, Springer –Verlag New York Inc. (1979).
- [68] D. Đokić, Doktorska disertacija: „Ispitivanje hidrolize i kompleksa kalaj(II)-jona sa glicinom, β -alaninom i hipurnom kiselinom”. Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, (1993).
- [69] A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop, L.Y. Galichet, Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons, 4th Edition, (2011).
- [70] F. Lombardo, M. Shalaeva, K. Tupper, F. Gao, ElogDoct: A Tool for Lipophilicity Determination in Drug Discovery. 2. Basic and Neutral Compounds, J. Med. Chem. 44 (2001) 2490–2497.
- [71] J. Arnott, S. Planey, Expert Opin. Drug Discov. 7 (2012) 863-875.
- [72] P. Wills, A. Warnery, V. Phung-Ba, S. Legrain, D. Scheman, 1994, J. Pharmacol. Exp. Ther. 269 (1994) 654-658.
- [73] S. Zoghbi, R. Baldwin, J. Seybul, D. Charney, R. Innis, A radiotracer technique for determining apparent pKa of receptor-binding ligands. XIIth International Symposium of radiopharmaceutical Chemistry, June 15-19, 1997, Uppsala, Sweden, Abstracts and programme: 136-138.

- [74] N. Vanlić-Razumenić, M. F. Čuperlović, S. N. Đurica, E. D. Jakšić, E. G. Kamenjicki, K. M. Kostić, V. S. Lukić, N. D. Paunković, J. L. Vučina, S. I. Vujošević, *Radiofarmaceutici: sinteza, osobine i primena*, Velarta, Beograd (1998)
- [75] K. Nakamura, Y. Tukatani, A. Kubo, S. Hashimoto, Y. Terayama, T. Amano, F. Goto, *Eur. J. Nucl. Med.* 15 (1989) 100-107.
- [76] W. Volkert, T. Hoffman, R. Seger, D. Trountr, R. Holmes, *Eur. J. Nucl. Med.* 9 (1984) 511-516.
- [77] Ö. L. Kapucu, F. Nobili, A. Varrone, J. Booi, B. T. Vander, K. Någren, J. Darcourt K. Tatsch, K. J. Van Laere, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 36 (2009) 2093-2102.
- [78] B. A. Nock, T. Maina, D. Yannoukakos, I. C. Pirmettis, M. S. Papadopoulos, E. Chiotellis, *J. Med. Chem.* 42 (1999) 1066-1075.
- [79] H. F. Kung, *Nucl. Med. Biol.* 28 (2001) 505-508.
- [80] B. Johannsen, H. J. Pietzsch, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 29 (2002) 263-275.
- [81] H. F. Kung, K. M. Trampusch, M. Blau, *J. Nucl. Med.* 24 (1983) 66-72.
- [82] J. F. Bruine, E. A. Royen, J. M. B. V. Vyth, J. B. Shoot, *J. Nucl. Med.* 26 (1985) 925-930.
- [83] D. E. Troutner, W. A. Volkert, T. J. Hoffman, R. A. Holmes, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 35 (1984) 467-470.
- [84] S. Vallabhajosula, R. E. Zimmerman, M. Picard, P. Stritzke, I. Mena, *J. Nucl. Med.* 30 (1989) 599-604.
- [85] J. Zhang, X. Wang, J. Liu, *Appl. Radiat. Isot.* 62 (2005) 33-39.
- [86] J. Zhang, X. Wang, C. Jin, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 272 (2007) 91-94.
- [87] J. Zhang, Y. Lin, X. Sheng, X. B. Wang, *Appl. Radiat. Isot.* 67 (2009) 79-82.
- [88] C. Fair, D. Troutner, E. Schlemper, R. Murmann, M. Hoppe, *Acta. Crystallogr. Sec C*, C 40 (1984) 1544-1546.
- [89] R. Neirickx, L. Canning, I. Piper, D. Nowotnik, *J. Nucl. Med.* 28 (1987) 191-207.
- [90] S. Jurisson, E. Schlemper, D. Troutner, L. Canning, D. Nowotnik, R. Neirickx, *Inorg. Chem.* 25 (1986) 543-549.
- [91] D. Nowotnik, L. Canning, W. Volkert, *Nucl. Med. Commun.* 6 (1985) 499-506.

- [92] D. Nowotnik, Textbook of radiopharmacy, Sampson CB (ed), Gordon & Breach Science Publishers, Amsterdam (1994), pp. 35, 38, 41.
- [93] S. Asenbaum, T. Brücke, W. Pirker, U. Pietrzyk, I. Podreka, J. Nucl. Med. 39 (1998) 613-618.
- [94] K. Inoue, M. Nakagawa, R. Goto, S. Kinomura, T. Sato, K. Sato, H. Fukuda, Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 30 (2003) 1489-1497.
- [95] S. Kim, J. Mountz, Int. J. Mol. Imaging 2011 (2011) 1-9.
- [96] A. Inugami, I. Kanno, K. Uemura, J. Cereb. Blood Flow Metab. 8 (1988) 52-60.
- [97] F. Shishido, K. Uemura, M. Murakami, A. Inugami, T. Ogawa, H. Fujita, E. Shimosegawa, I. Kanno, Y. Aizawa, K. Nagata, J. Cereb. Blood Flow Metab. 14 (1994) 66-75.
- [98] N. A. Lassen, A. R. Andersen, L. Friberg, O. B. Paulson, J. Cereb. Blood Flow Metab. 8 (1988) 13-22.
- [99] L. Friberg, A. R. Andersen, N. A. Lassen, S. Holm, M. Dam, J. Cereb. Blood Flow Metab. 14 (1994) 19-27.
- [100] K. Ishizu, Y. Yonekura, Y. Magata, H. Okazawa, H. Fukuyama, F. Tanaka, N. Hattori, H. Kitano, T. Fujita, N. Tamaki, J. Konishi, J. Nucl. Med. 37 (1996) 1600-1604.
- [101] X. Sun, T. Chu, X. Wang, Nucl. Med. Biol. 37 (2010) 117-123.
- [102] C. Archer, J. Burke, L. Canning, B. Edwards, A. King, US Patent 5997843, Amersham International, (1999).
- [103] X. Zhang, T. Melo, A. M. Rauth, J. R. Ballinger, Nucl. Med. Biol. 28 (2001) 949-957.
- [104] A. Abrantesa, M. Serra, A. Gonçalves, J. Rio, B. Oliveiros, M. Laranjo, A. Rocha-Gonsalves, A. Sarmiento-Ribeiro, M. Botelho, Nucl. Med. Biol. 37 (2010) 125-132.
- [105] M. Obradović, D. Veselinović, P. Đurđević, Fizičko-hemijske metode ispitivanja ravnoteža u kompleksirajućim sredinama. Filozofski fakultet, Niš; Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, (1996).
- [106] V. Stanić, Magistarski rad: „Dinuklearni Co(II) kompleksi sa alifatičnim ili aromatičnim karboksilatima i N-funkcionalizovanim ciklamom”, Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu (2005).

- [107] F. Cotton, G. Wilkinson, C. Murillo, M. Bochmman, "Advanced Inorganic Chemistry", 6th Ed., John Wiley & Sons, New York, (1999) pp. 815-817, 836-838.
- [108] S. Kiani, R. J. Staplesb, A. B. Packarda, *Acta. Cryst.* C58 (2002) 593-595.
- [109] S. Kiani, R. Staples, S. Treves, A. Packard, *Polyhedron* 28 (2009) 775-781.
- [110] A. B. Packard, P. J. Day, J. F. Kronauge, P. Wen, S. T. Treves, *J. Labelled Compds. Radiopharm.* 40 (1997) 484-486.
- [111] A. B. Packard, J. F. Kronauge, P. J. Day, S. T. Treves, *Nucl. Med. Biol.* 25 (1998) 531-537.
- [112] P. Kitiphaisalnont, S. Thohinung, P. Hanmungtum, N. Chaichit, S. Patrarakorn, S. Siripaisarnpipat, *Polyhedron* 25 (2006) 2710-2716.
- [113] A. Kucukdumlu, N. Karabocek, S. Karabocek, *Transition Metal Chemistry* 32 (2007) 1096-1100.
- [114] J. H. Timmons, J. W. L. Martin, A. E. Martell, P. Rudolf, A. Clearfield, R. C. Buckley, *Inorg. Chem.* 20 (1981) 3056-3060.
- [115] Y. M. Wang, C. C. Wang, S. L. Wang, C. S. Chung, *Acta Cryst.* C46 (1990) 1770-1972.
- [116] J. L. Pascal, F. Favier, *Coord. Chem. Rev.* (1998) 865-902.
- [117] S. Schnitzler, M. -D. Serb, U. Englert, *Acta Cryst.* C68 (2012) 251-254.
- [118] I. Banerjee, M. Dolai, A. D. Jana, K. K. Das, M. Ali, *Cryst. Eng. Comm.* 14 (2012) 4972-4975.
- [119] F. H. Allen, S. Bellard, M. D. Bryce, B. A. Cartwright, A. Doubleday, H. Higgs, T. Hummelink, B. G. Hummeunk-Peters, O. Kennard, W. D. S. Motherwell, J. R. Rodgegs, D. G. Watson, *Acta Cryst.* B35 (1979) 2331-2339.
- [120] M. L. Avramov Ivić, S. D. Petrović, D. Ž. Mijin, F. Vanmoos, D. Ž. Orlović, D. Ž. Marjanović, V. V. Radović, *Electrochim. Acta* 54 (2008) 649-654.
- [121] K. M. Drljević-Djurić, V. D. Jović, U. Č. Lacnjevac, M. L. Avramov Ivić, S. D. Petrović, D. Ž. Mijin, S. B. Djordjević, *Electrochim. Acta* 56 (2010) 47-52.
- [122] Hyper Chem Program Release 7.5 for Windows, Hypercube, Inc., Gainesville, FL, (2002).

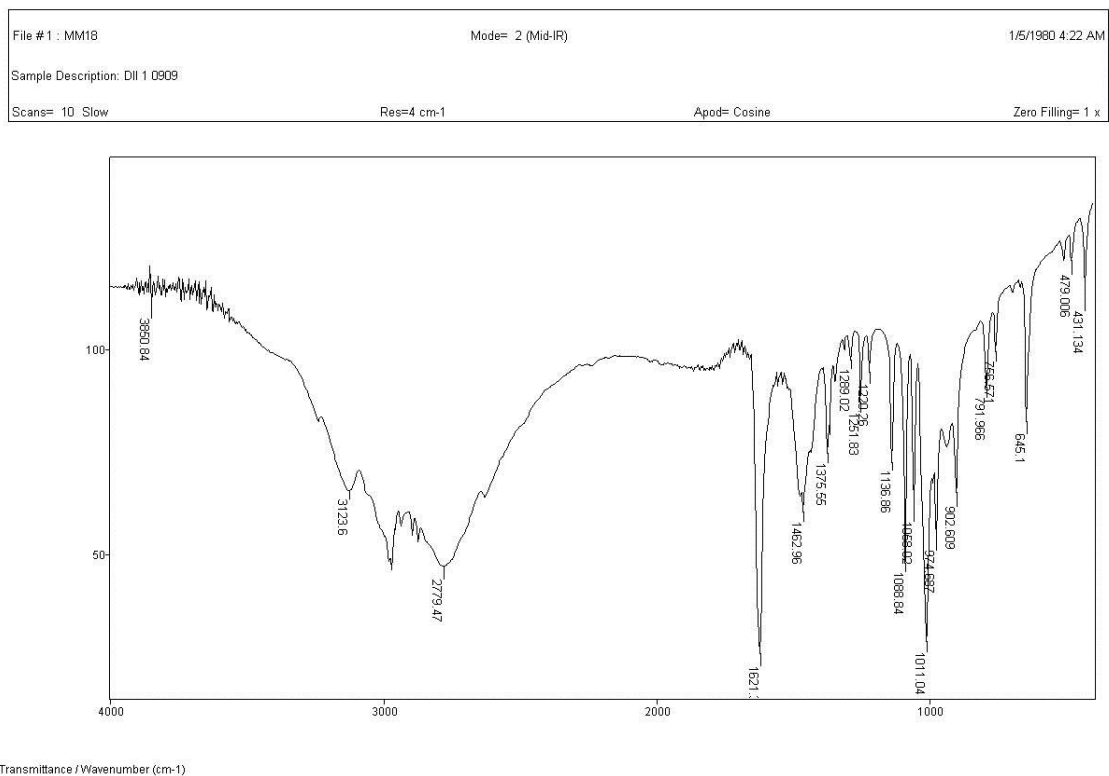
- [123] M. L. Avramov Ivić, S. Štrbac, V. Mitrović, *Electrochim. Acta* 46 (2001) 3175-3180.
- [124] Oxford Diffraction, CrysAlisPro Version 1.171.32.24. Oxford Diffraction Ltd., Abington, England, (2008).
- [125] A. Altomare, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, *J. Appl. Crystallogr.* 26 (1993) 343-350.
- [126] L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 32 (1999) 837-838.
- [127] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* 64 (2008) 112-122.
- [128] M. Nardelli, *J. Appl. Crystallogr.* 28 (1995) 659-659.
- [129] A. L. J. Spek, *J. Appl. Crystallogr.* 36 (2003) 7-13.
- [130] D. J. Watkin, C. K. Prout, L. J. Pearce, CAMERON, Chemical Crystallography Laboratory, University of Oxford, Oxford, UK, (1996).
- [131] J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. K. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, *Acta Crystallogr. B* 58 (2002) 389-397.
- [132] L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.* 30 (1997) 565-566.
- [133] L. Canning, D. Nowotnik, R. Neirinckx, I. Piper, United States Patent 4789736, Amersham International (1988).
- [134] R. R. Gange, J. L. Allison, M. Ingle, *Inorg. Chem.* 18 (1979) 2767-2774.
- [135] N. Raman, Y. P. Raja, A. Kulandaisamy, *Proc. Indian Acad. Sci.* 113 (2001) 183-189.
- [136] R. D. Neirinckx, L. R. Canning, I. M. Piper, D. P. Nowotnik, R. D. Pickett, R. A. Holmes, W. A. Volkert, A. M. Forster, P. S. Weisner, J. A. Marriott, et al., *J. Nucl. Med.* 28 (1987) 191-202.
- [137] N. Vanlic-Razumenic, N. Vukicevic, *J. Serb. Chem. Soc.* 51 (1986) 63-66.
- [138] C. W. Klingensmith, R. A. Fritzberger, M. V. Spitzer, *J. Nucl. Med.* 25 (1984) 42-48.
- [139] N. Malek-Saied, R. El Aissi, S. Ladeira, E. Benoist, *Appl. Organometallic Chem.* 25 (2011) 680-686.
- [140] S. Chattopadhyay, M. K. Das, R. Vanaja, N. Ramamoorthy, *Nucl. Med. Biol.* 28 (2001) 741-744.

- [141] K. Kothari, M. R. A. Pillai, P. R. Unni, H. H. Shimpi, O. P. D. Noronha, A. M. Samuel, *Appl. Radiat. Isot.* 51 (1999) 43-49.
- [142] P. Job, *Ann. Chim.* 9 (1928) 113-203.
- [143] K. Tubergen, M. Corlija, W.A. Volkert, R.A. Holmes, *J. Nucl. Med.* 32 (1991) 111-115.
- [144] General procedures in quality control. In *Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits*. Technical reports series No. 466, International Atomic Energy Agency Vienna (2008) p. 50.
- [145] J. D. Hueisch, J. Y. Si, *Appl. Radiat. Isot.* 43 (1992) 1013-1017.
- [146] S. Banerjee, G. Samuel, K. Kothari, H.D. Sarma, M.R.A. Pillai, *Nucl. Med. Biol.* 26 (1999) 327-338.
- [147] K. Kothari, S. Banerjee, H. D. Sarmab, M. R. A. Pillai, *Appl. Radiat. Isot.* 52 (2000) 69-76.
- [148] S. I. Rapoport, K. Ohno, K. D. Pettigrew, *Brain Res.* 172 (1979) 354-359.
- [149] W. A. Volkert, T. J. Hoffmann, C. Roth, M. Corlija, R. A. Holmes, *Radiochim. Acta* 63 (1993) 205-208.
- [150] S. Jurisson, K. Aston, K. Fair, E. Schlemper, P. Sharp, D. Troutner, *Inorg. Chem.* 26 (1987) 3576-3582.
- [151] J. Cyr, D. Nowotnik, Y. Pan, J. Gougoutas, M. Malley, J. DiMarco, A. Nunn, K. Linder, *Inorg. Chem.* 40 (2001) 3555-3561.
- [152] J. C. Hung, M. Corlija, W. A. Volkert, R. A. Holmes, *J. Nucl. Med.* 29 (1988) 1568-1576.
- [153] J. C. Hung, W. A. Volkert, R. A. Holmes, *Nucl. Med. Biol.* 16 (1989) 675-680.
- [154] N. Ramamoorthy, M. R. A. Pillai, D. E. Troutner, *Nucl. Med. Biol.* 20 (1993) 307-310.
- [155] M. E. Pillai, E. O. Schlemper, W. A. Volkert, *Nucl. Med. Biol.* 21 (1994) 997-1003..
M. E. Pillai, E. O. Schlemper, W. A. Volkert, *Nucl. Med. Biol.* 21 (1994) 997-1003.
- [156] H. Y. Ding, S. J. Yeh, C. C. Yang, J. T. Hsu, C. C. Tzeng, *Appl. Radiat. Isot.* 48 (1997) 311-317.

- [157] N. Mirahmadi, M. H. Babaei, A. M. Vali, F. J. Daha, F. Kobarfard, S. Dadashzadeh, *Nucl. Med. Biol.* 35 (2008) 387-392.
- [158] J. M. Lo, K. S. Lin, *Appl. Radiat. Isot.* 44 (1993) 1139-1146.
- [159] H. M. Jia, D. C. Feng, J. Y. Zhang, W. B. Fan, L. Zhu, *Theor. Chem. Account.* 121 (2008) 271-278.
- [160] D. E. Troutner, W. A. Volkert, United States Patent 4615876, (1986).
- [161] R. R. Gagne, J. L. Allison, R. S. Gall, C. A. Coval, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 7170-7178.
- [162] Y. Sulfab, F. M. Al-Sogair, *Transit. Metal Chem.* 27 (2002) 299-306.
- [163] B. Cervera, R. Ruiz, F. Lloret, M. Julve, J. Cano, J. Faus, C. Bois, J. Mrozinski, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1997) 395–401.
- [164] A. W. Addison, T. N. Rao, J. Reedijk, J. Vanriijn, G. C. Verschoor, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1984) 1349–1356.
- [165] M. J. Prushan, A. W. Addison, R. J. Butcher, L. K. Thompson, *Inorg. Chim. Acta* 358 (2005) 3449-3456.
- [166] S. Youngme, G. A. van Albada, H. Kooijman, O. Roubeau, W. Somjitsripunya, A. L. Spek, C. Pakawatchai, J. Reedijk, *Eur. J. Inorg. Chem.* 9 (2002) 2367-2374.
- [167] A. M. Schuitema, P. G. Aubel, I. A. Koval, M. -Engelen, W. L. Driessen, J. Reedijk, M. Lutz, A. L. Spek, *Inorg. Chim. Acta* 355 (2003) 374-385.
- [168] P. MacCarthy, H. Zachary, *Journal of Chemical Education* 63 (1986) 162–167.
- [169] A. J. Blake, G. Reid, M. Schroder, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 22 (1994) 3291-3297.

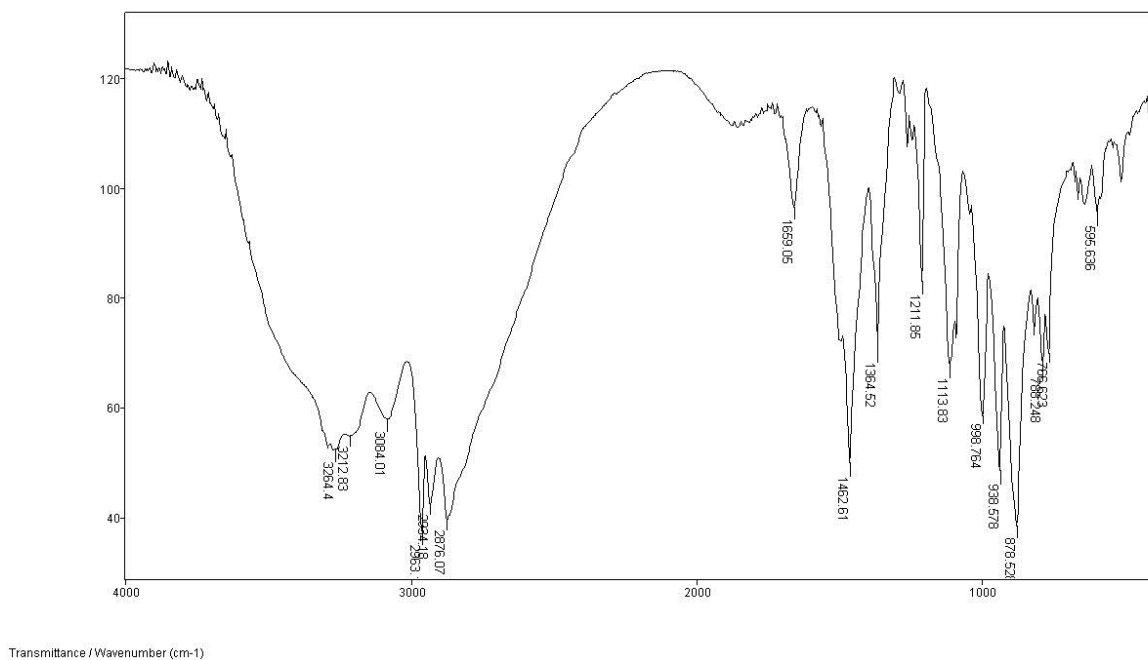
7. PRILOZI

PRILOG 1. IR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksim (DI-1)

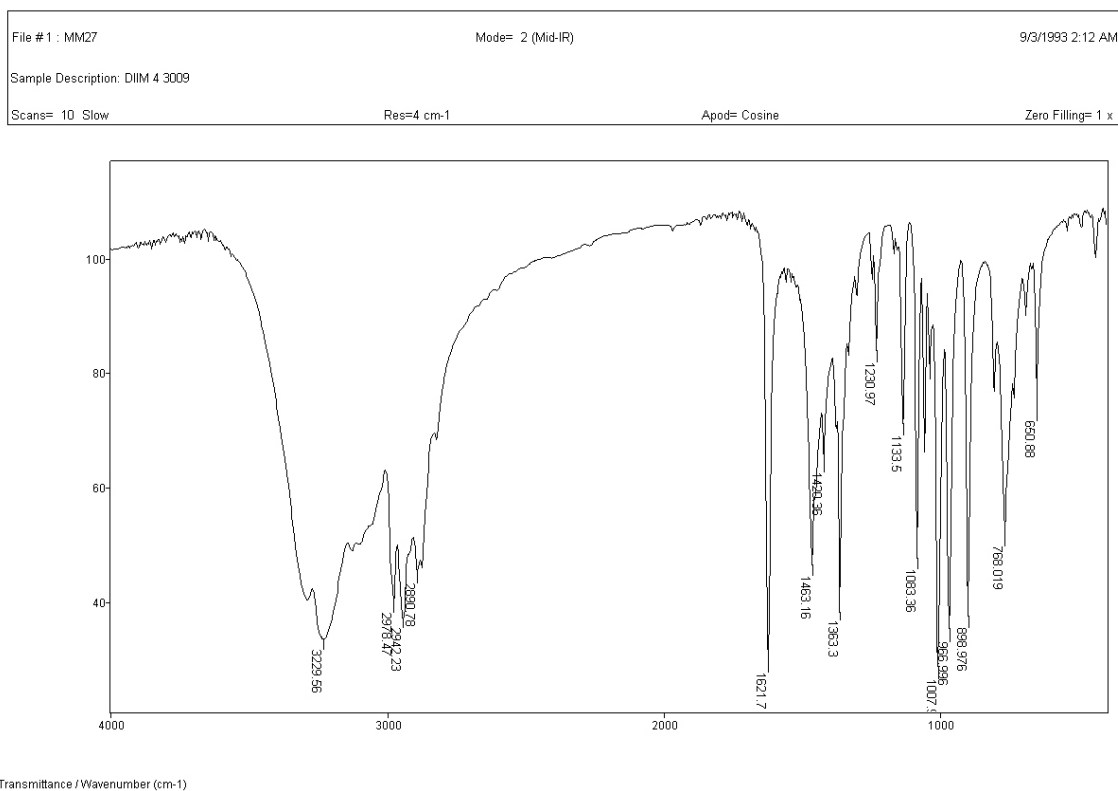


PRILOG 2. IR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim (L-1)

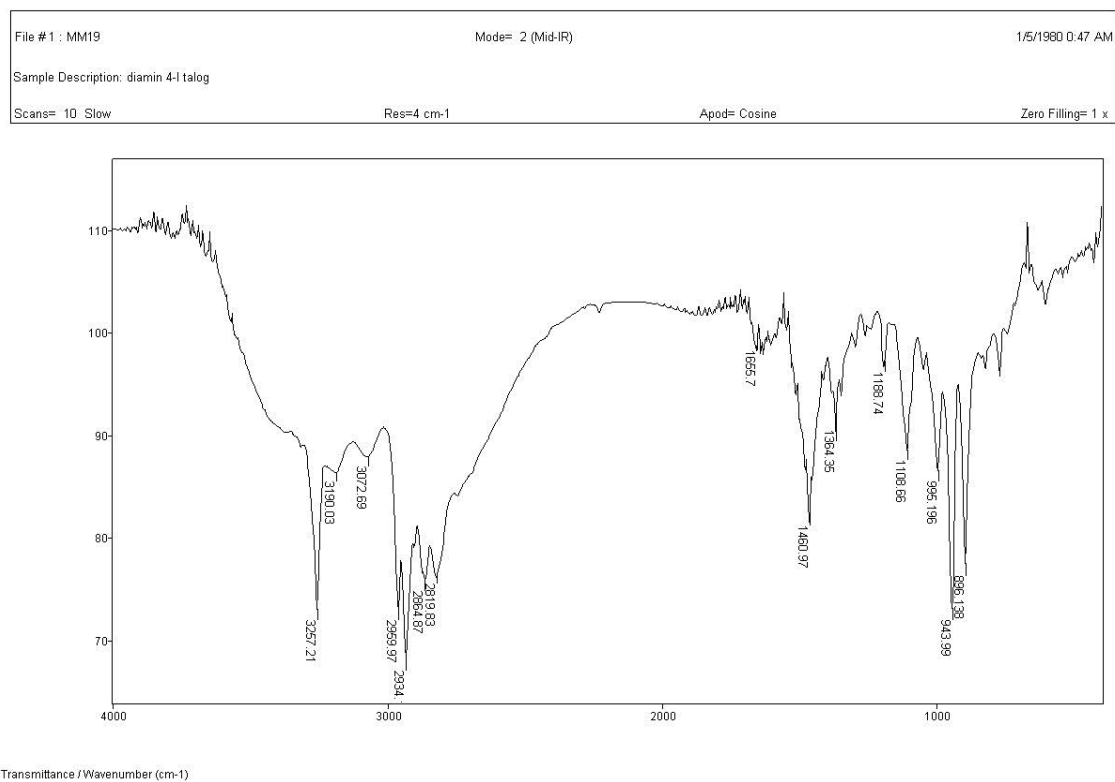
File # 1 : MM20 Mode= 2 (Mid-IR) 1/5/1980 0:56 AM
Sample Description: diamin 1-l talog
Scans= 10 Slow Res=4 cm-1 Apod= Cosine Zero Filling= 1 x



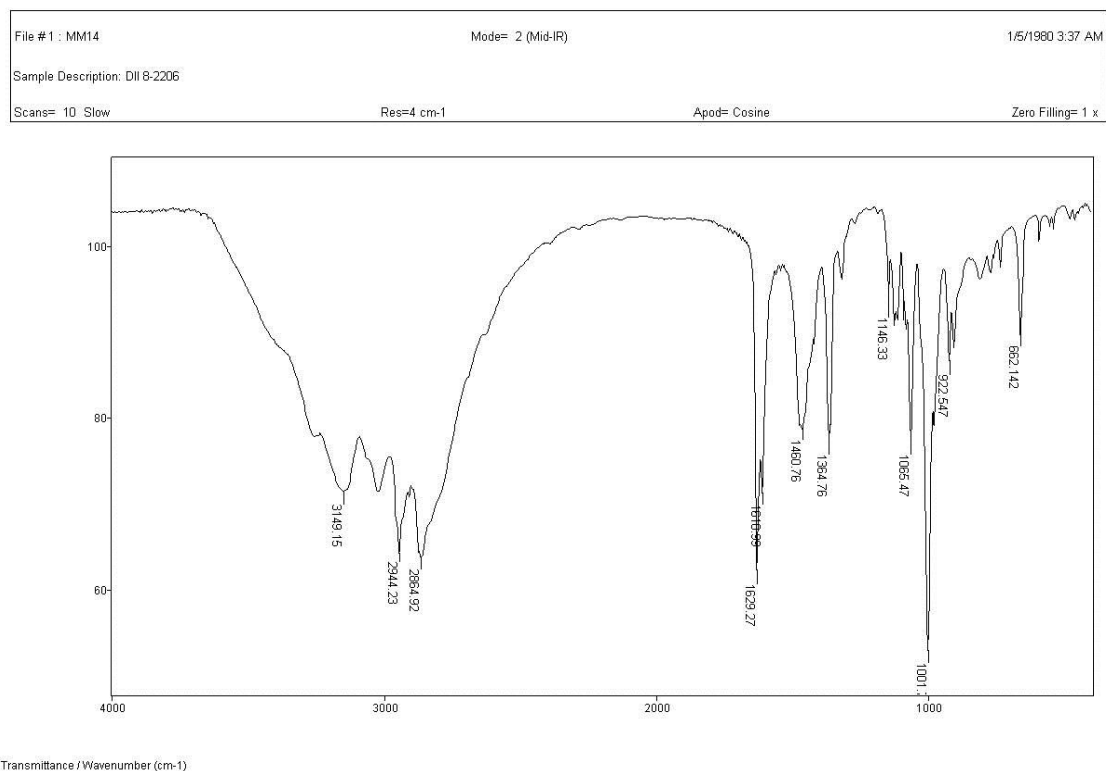
PRILOG 3. IR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis
oksim (DI-2)



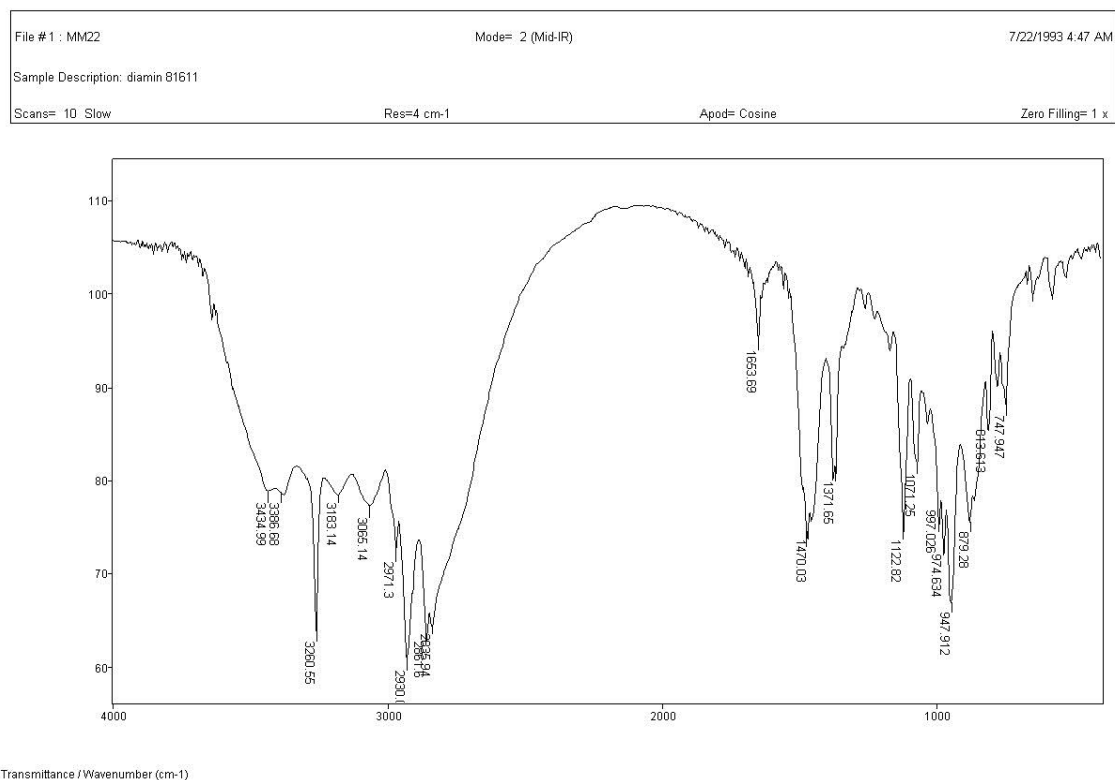
PRILOG 4. IR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim (L-2)



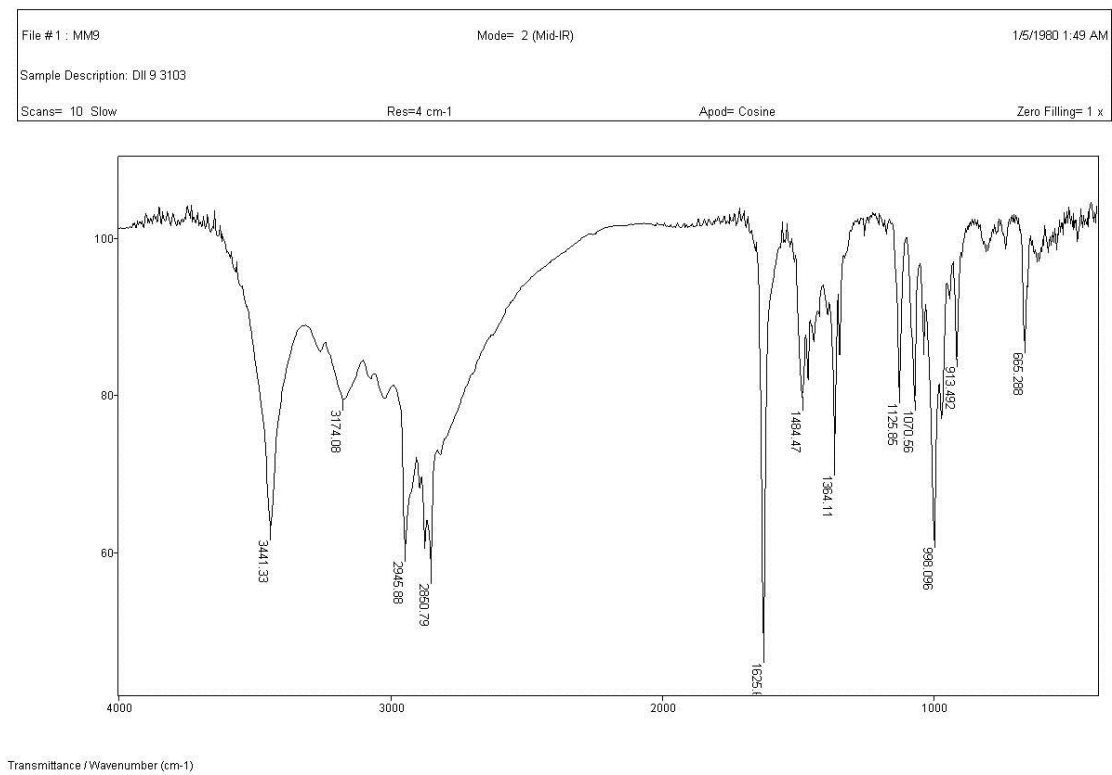
PRILOG 5. IR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksim (DI-3)



PRILOG 6. IR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksim
(L-3)

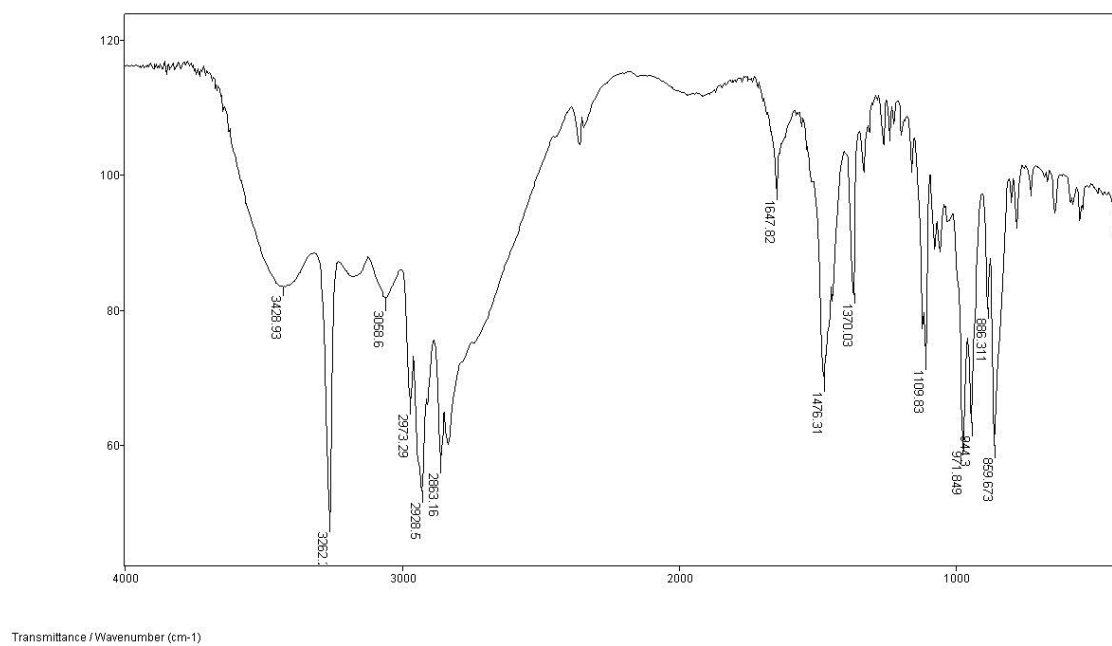


PRILOG 7. IR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksim (DI-4)



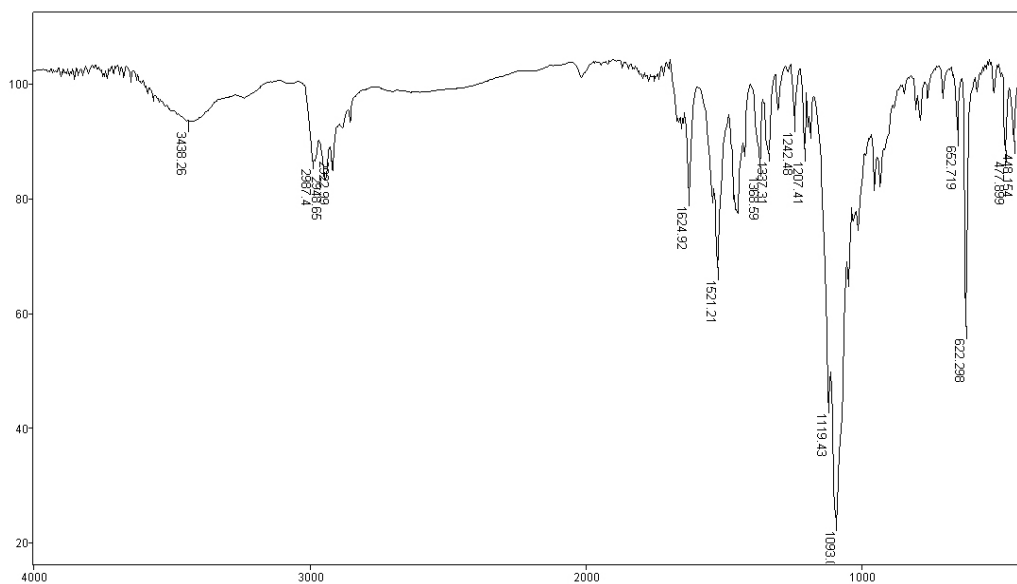
PRILOG 8. IR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksim (L-4)

File # 1 : MM21 Mode= 2 (Mid-IR) 7/22/1993 4:38 AM
Sample Description: diamin 91611
Scans= 10 Slow Res=4 cm-1 Apod= Cosine Zero Filling= 1 x



PRILOG 9. IR spektar za kompleks 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis
oksima sa Cu(II)

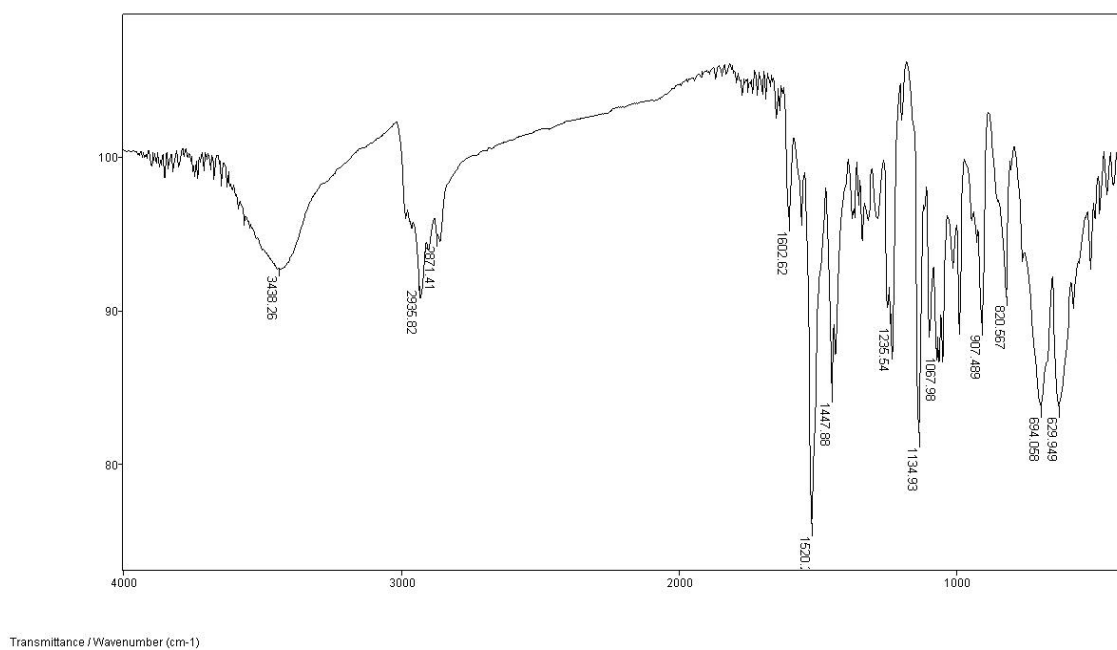
File # 1 : MM28 Mode= 2 (Mid-IR) 9/3/1993 4:04 AM
Sample Description: KOM Cu 103
Scans= 10 Slow Res=4 cm-1 Apod= Cosine Zero Filling= 1 x



Transmittance / Wavenumber (cm-1)

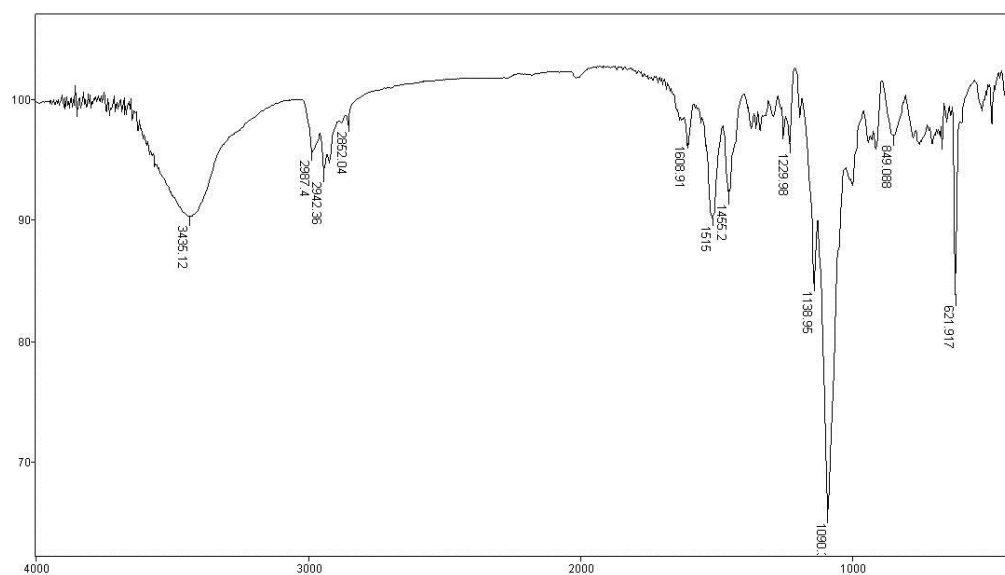
PRILOG 10. IR spektar kompleks 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis
oksima sa Co(II)

File # 1 : MM25 Mode= 2 (Mid-IR) 9/3/1993 1:53 AM
Sample Description: KOM Co-103
Scans= 10 Slow Res=4 cm-1 Apod= Cosine Zero Filling= 1 x



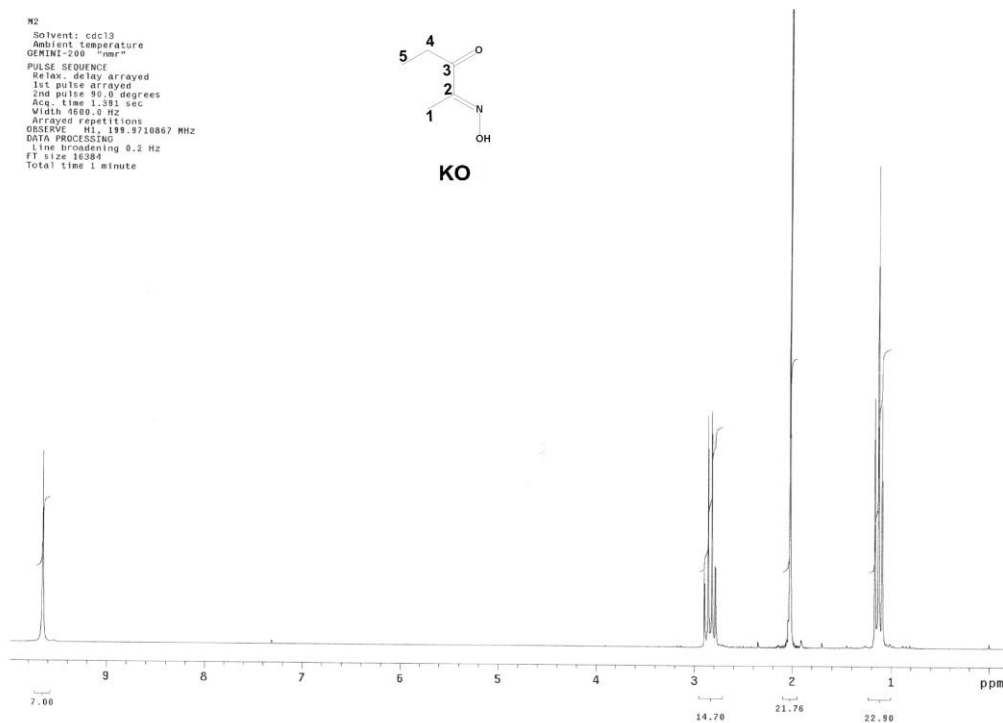
PRILOG 11. IR spektar za kompleks 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis
oksima sa Ni(II)

File #1 : MM15 Mode= 2 (Mid-IR) 1/5/1980 3:46 AM
Sample Description: Ko M 4 Ni 3007
Scans= 10 Slow Res=4 cm-1 Apod= Cosine Zero Filling= 1 x

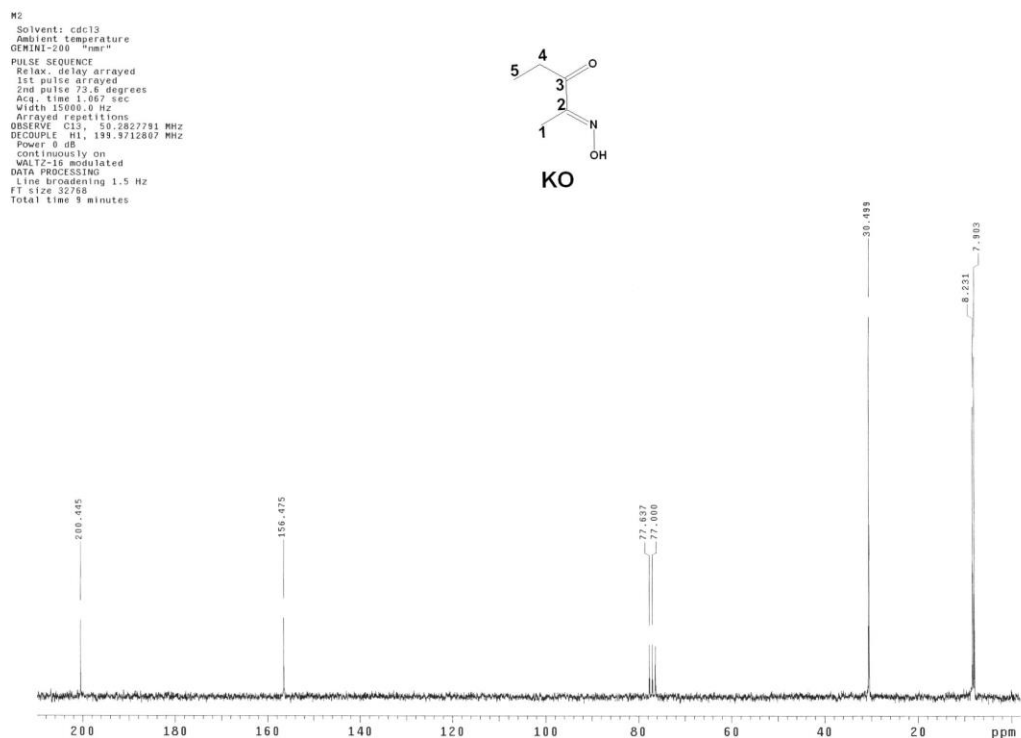


Transmittance / Wavenumber (cm-1)

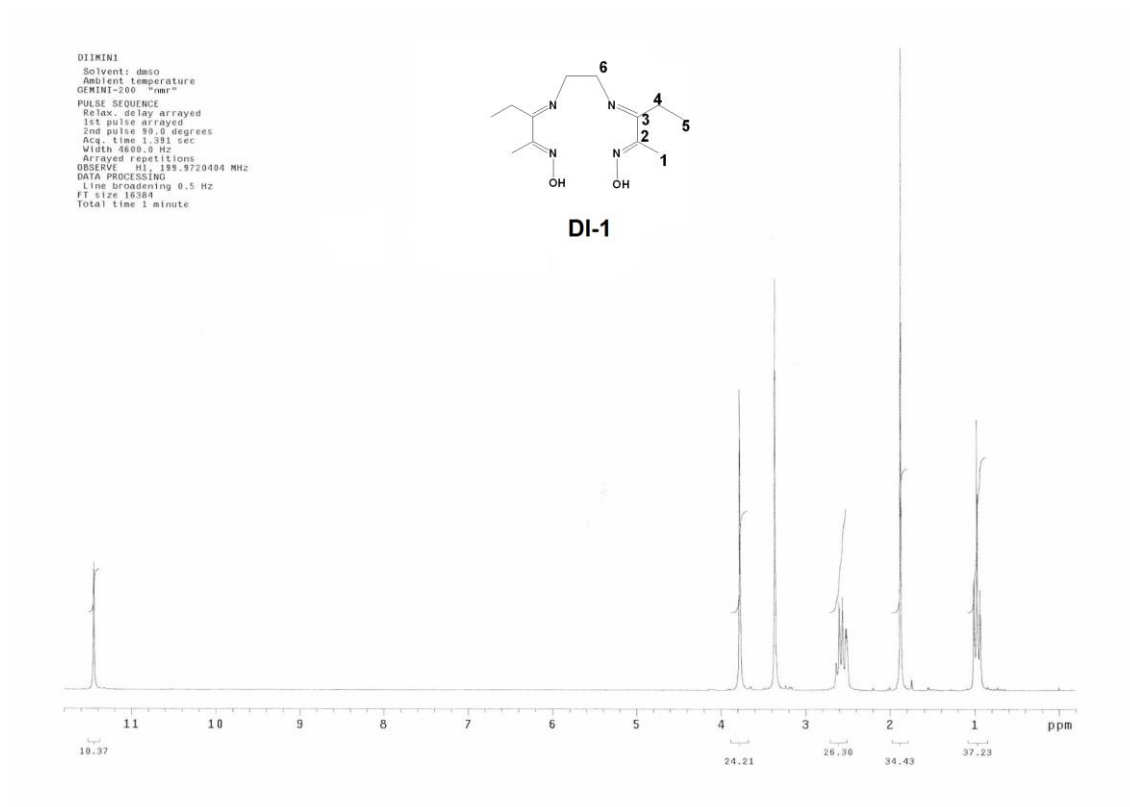
PRILOG 12. ^1H NMR spektar za jedinjenje 2-hidroksiimino-3-pentanon (KO)



PRILOG 13. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 2-hidroksiimino-3-pentanon (KO)

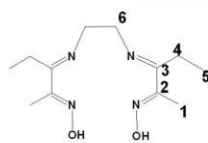


PRILOG 14. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksim (DI-1)

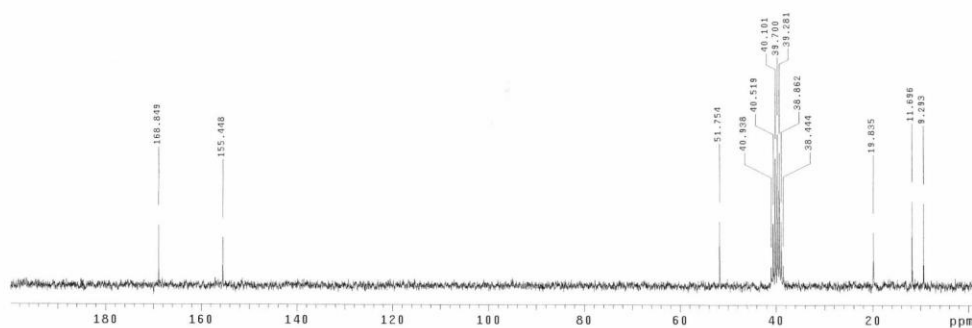


PRILOG 15. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietil-3,7-dekadien-2,9-dion bis oksim (DI-1)

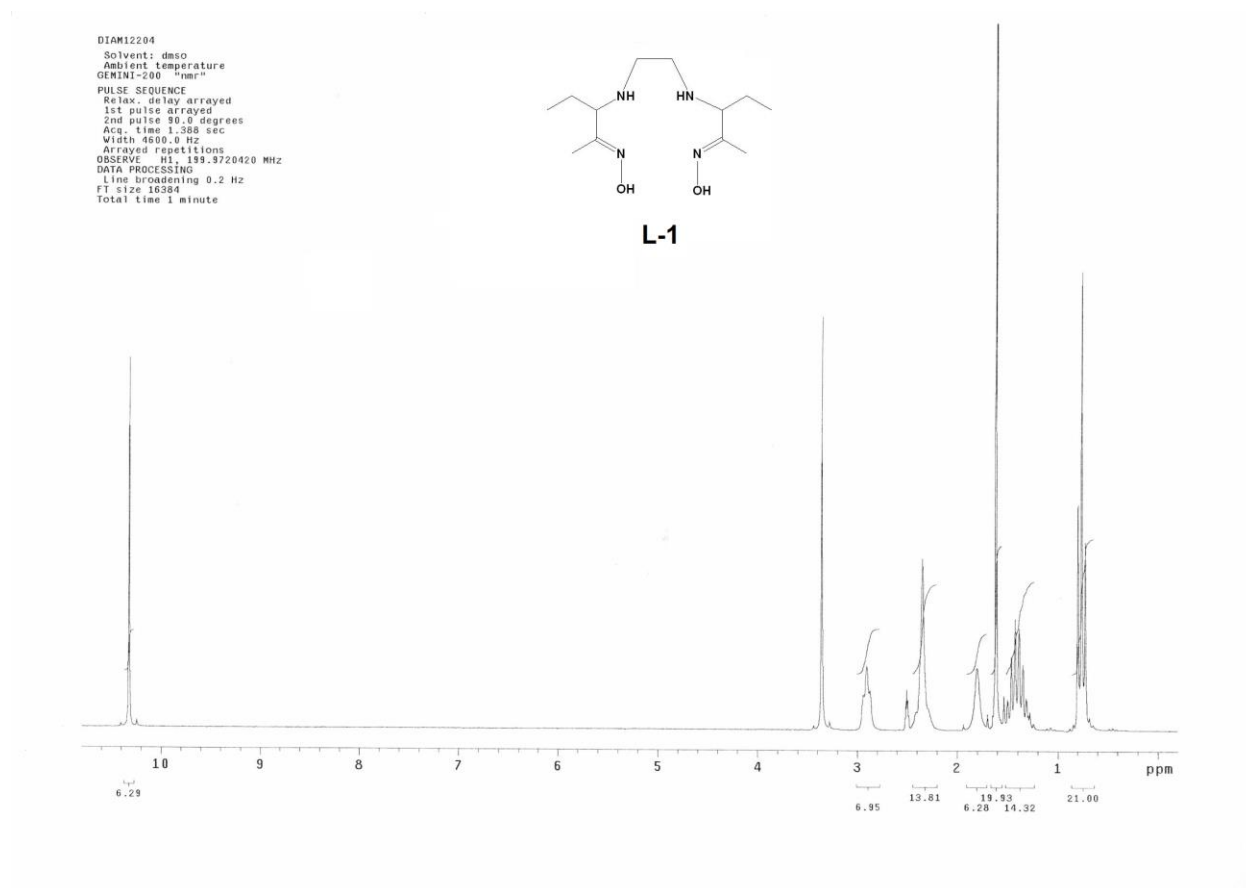
DI1M1N1
 Solvent: dmsd
 Ambient temperature
 GEMINI-200 "nmr"
 PULSE SEQUENCE
 Relax, delay arrayed
 1st pulse arrayed
 2nd pulse 73.6 degrees
 Acq. time 1.387 sec
 Width 15000.0 Hz
 Arrayed repetitions
 OBSERVE C13, 50.2829610 MHz
 DECOUPLE H1, 199.9722306 MHz
 Power 0 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.5 Hz
 FT size 32768
 Total time 13 minutes



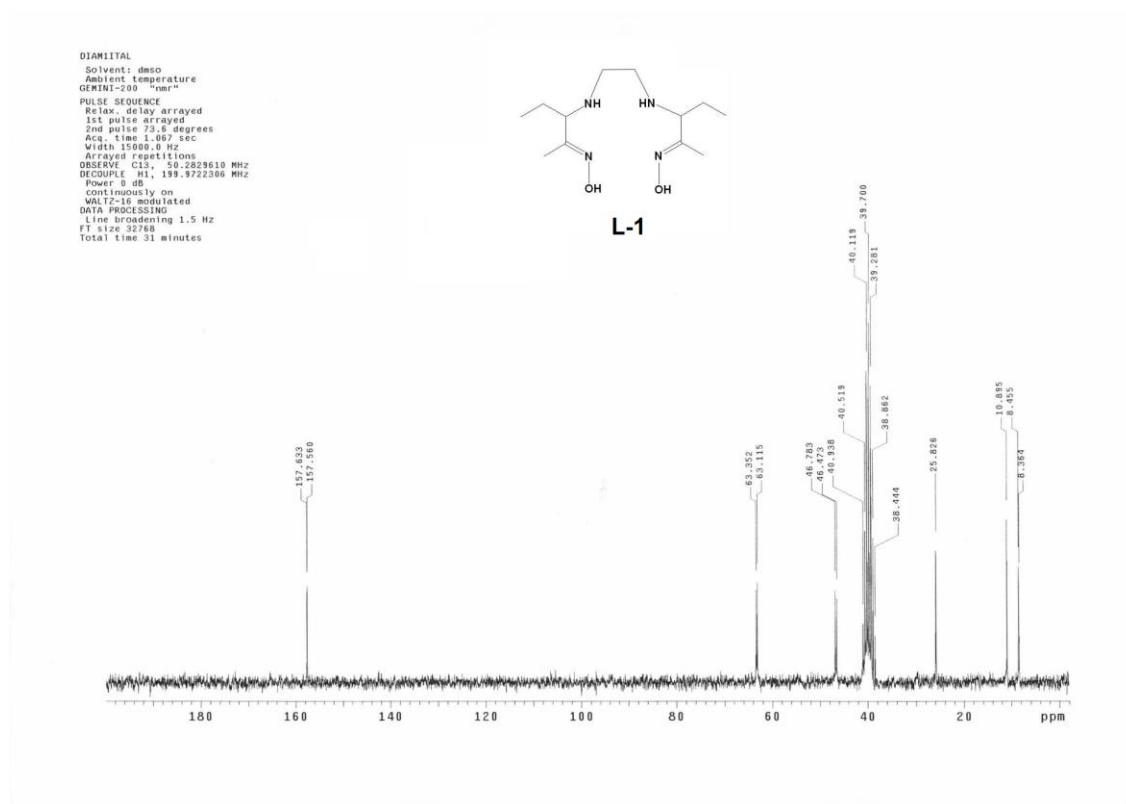
DI-1



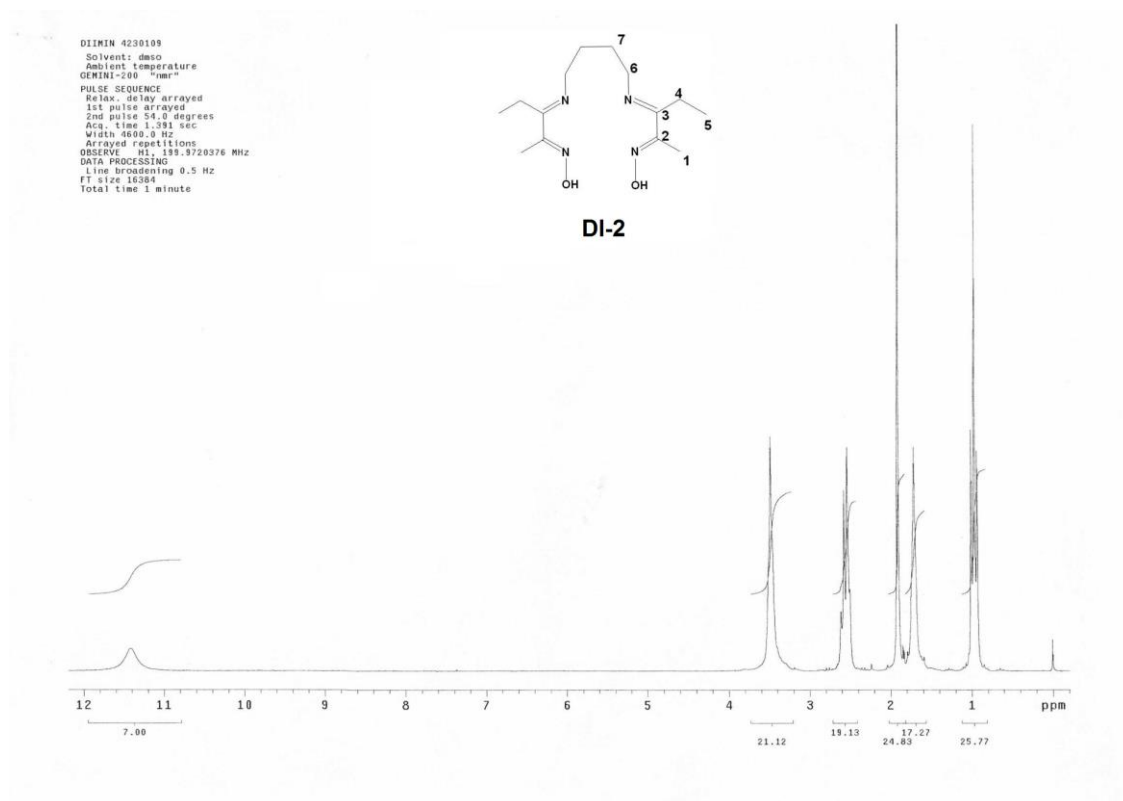
PRILOG 16. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim
(L-1)



PRILOG 17. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,7-diaza-3,8-dietildekan-2,9-dion bis oksim (L-1)

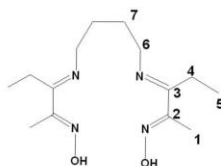


PRILOG 18. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim (DI-2)

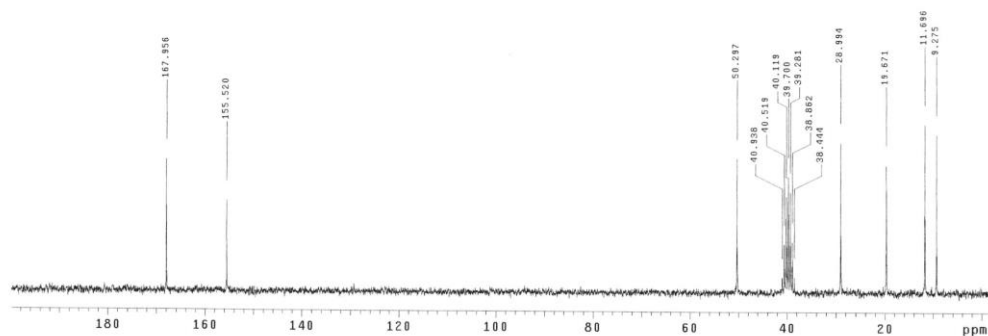


PRILOG 19. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietil-3,9-dodekadien-2,11-dion bis oksim (DI-2)

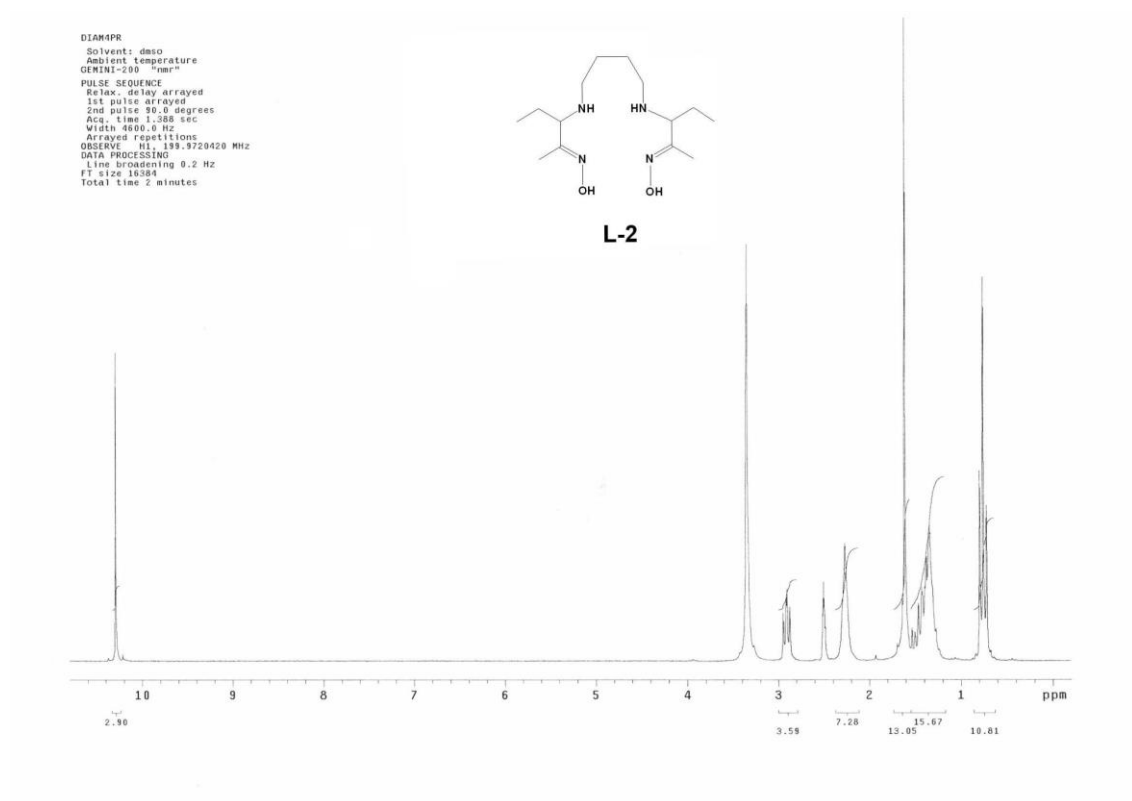
DIIMIN 4238109
 Solvent: dmsd
 Ambient temperature
 GEMINI-200 "nmr"
 PULSE SEQUENCE
 Relax, delay arrayed
 1st pulse arrayed
 2nd pulse 75.6 degrees
 Acq. time 1.087 sec
 Width 15000.0 Hz
 Arrayed repetitions
 OBSERVE C15, 50.2825582 MHz
 DECOUPLE H1, 199.9722366 MHz
 Power 0 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.5 Hz
 FT size 32768
 Total time 9 minutes



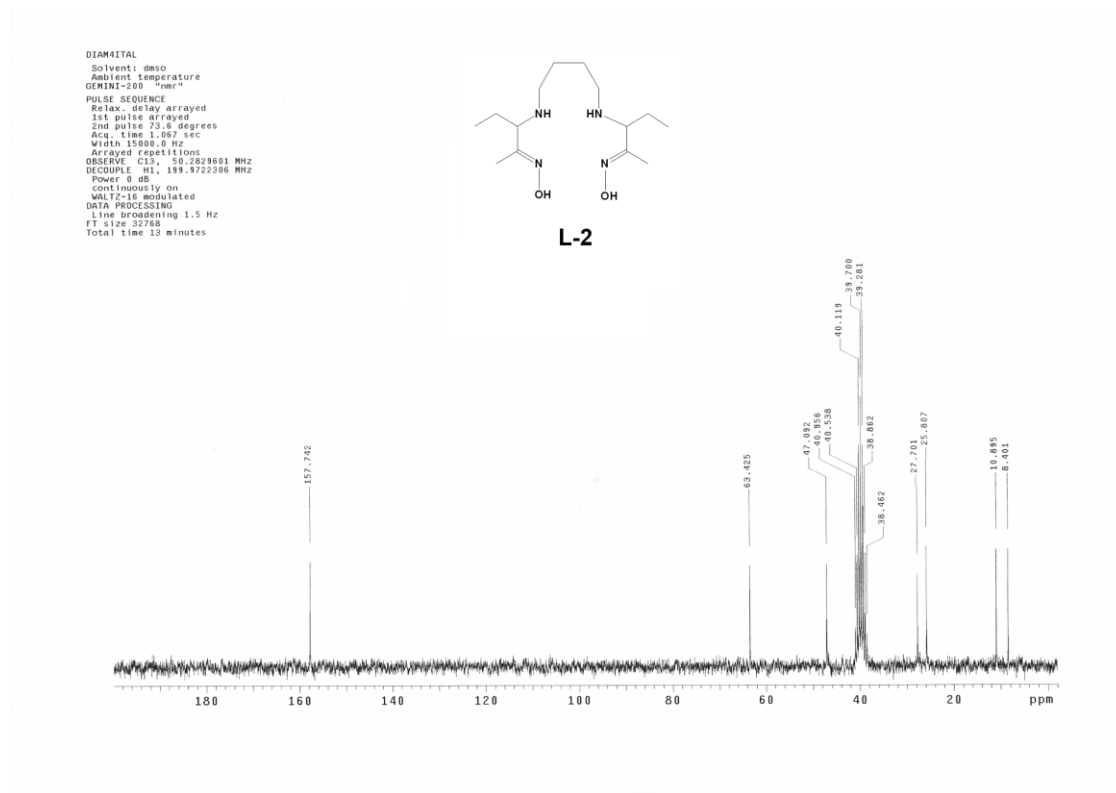
DI-2



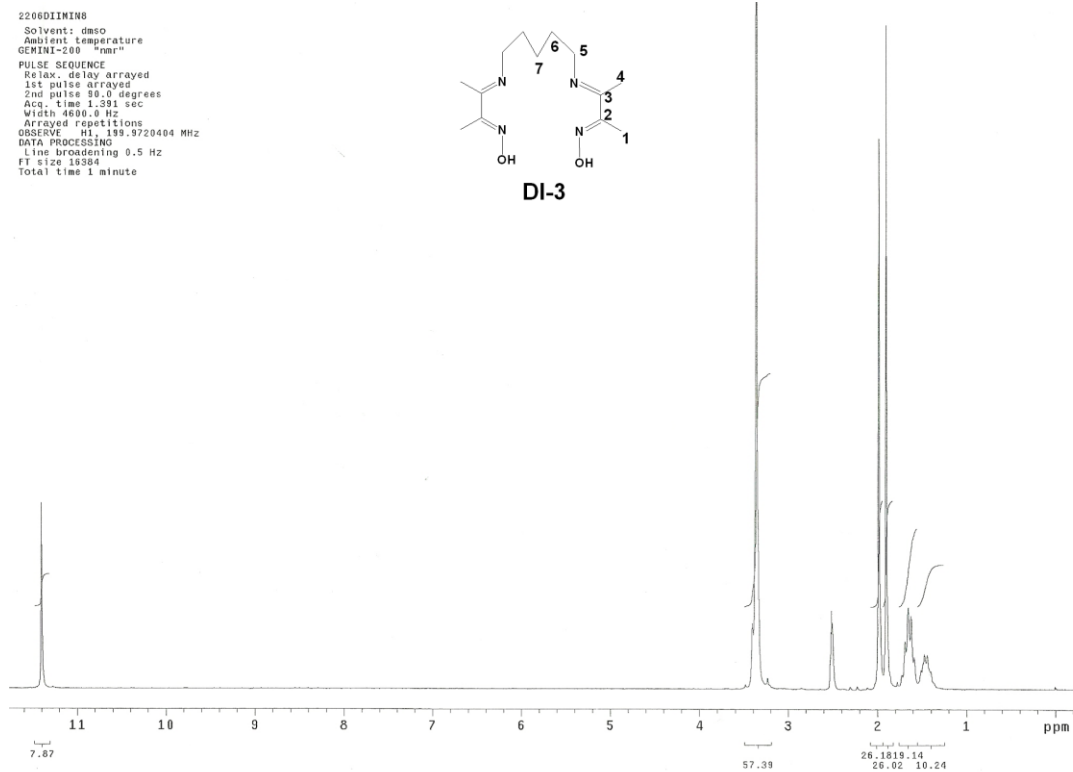
PRILOG 20. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim (L-2)



PRILOG 21. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,9-diaza-3,10-dietildodekan-2,11-dion bis oksim (L-2)

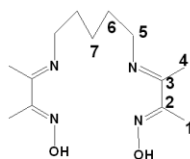


PRILOG 22. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksim (DI-3)

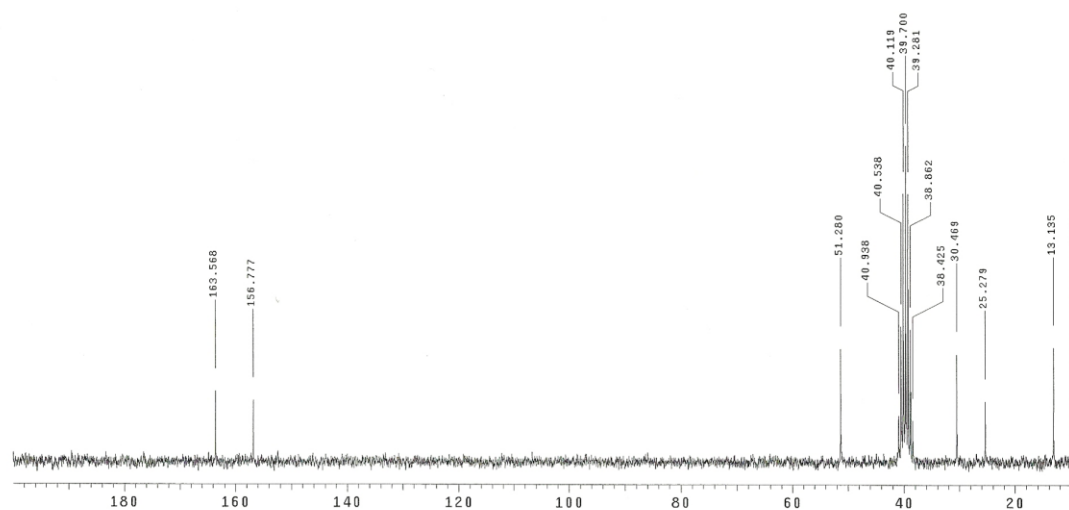


PRILOG 23. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetil-3,10-tridekadien-2,12-dion bis oksim (DI-3)

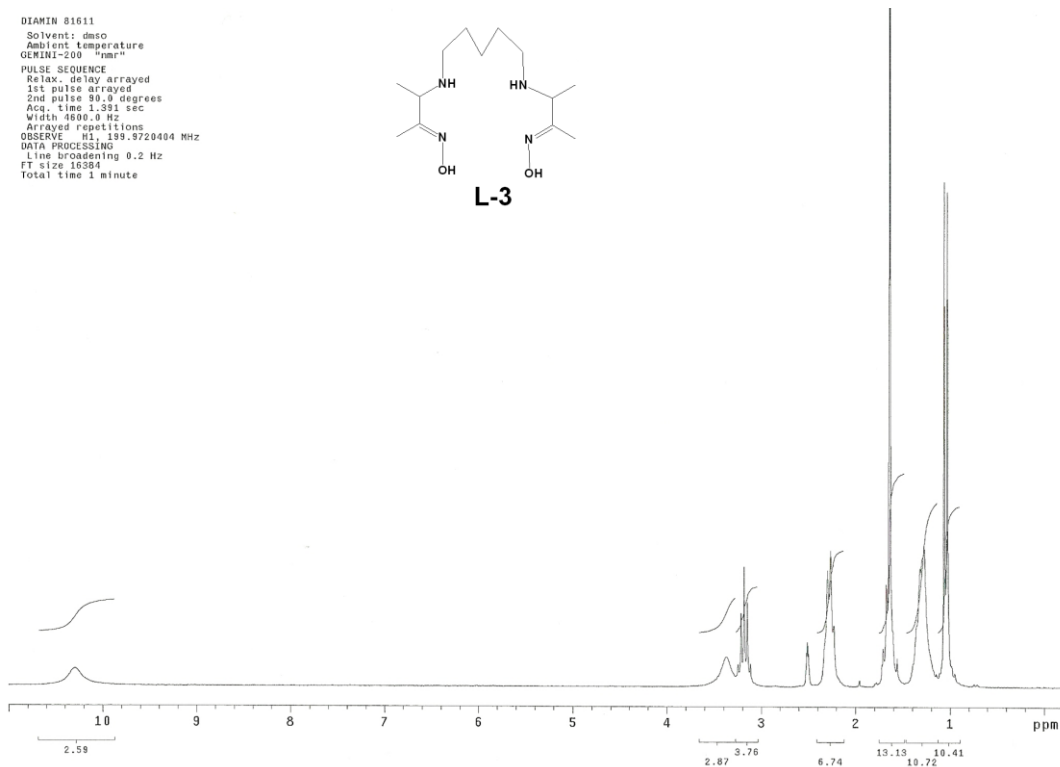
2206DIIMIN8
Solvent: dmsc
Ambient temperature
GENINI-200 "nmr"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay arrayed
1st pulse arrayed
2nd pulse 73.9 degrees
Acq. time 1.067 sec
Width 15000.0 Hz
Arrayed repetitions
OBSERVE C13, 50.2829610 MHz
DECOUPLE H1, 199.9722306 MHz
Power 0 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.5 Hz
FT size 32768
Total time 35 minutes



DI-3

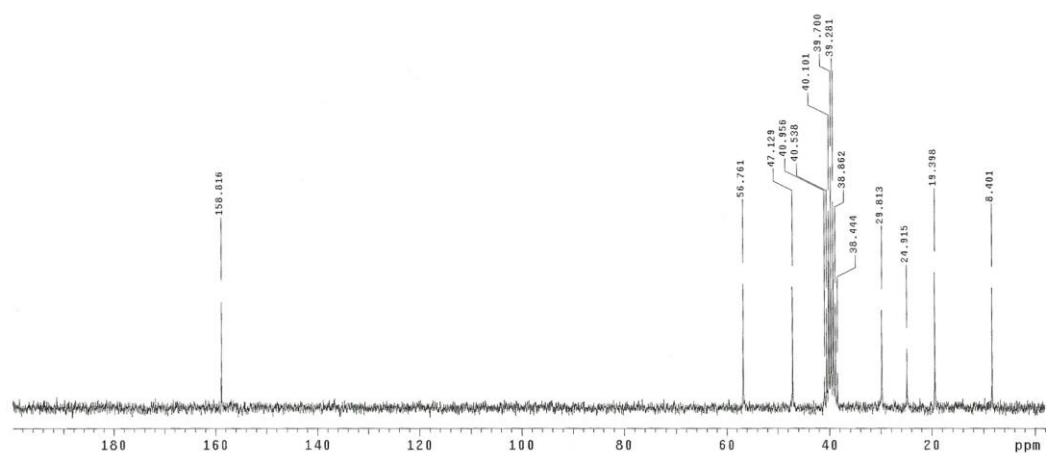
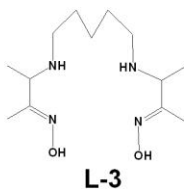


PRILOG 24. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis
oksim (L-3)

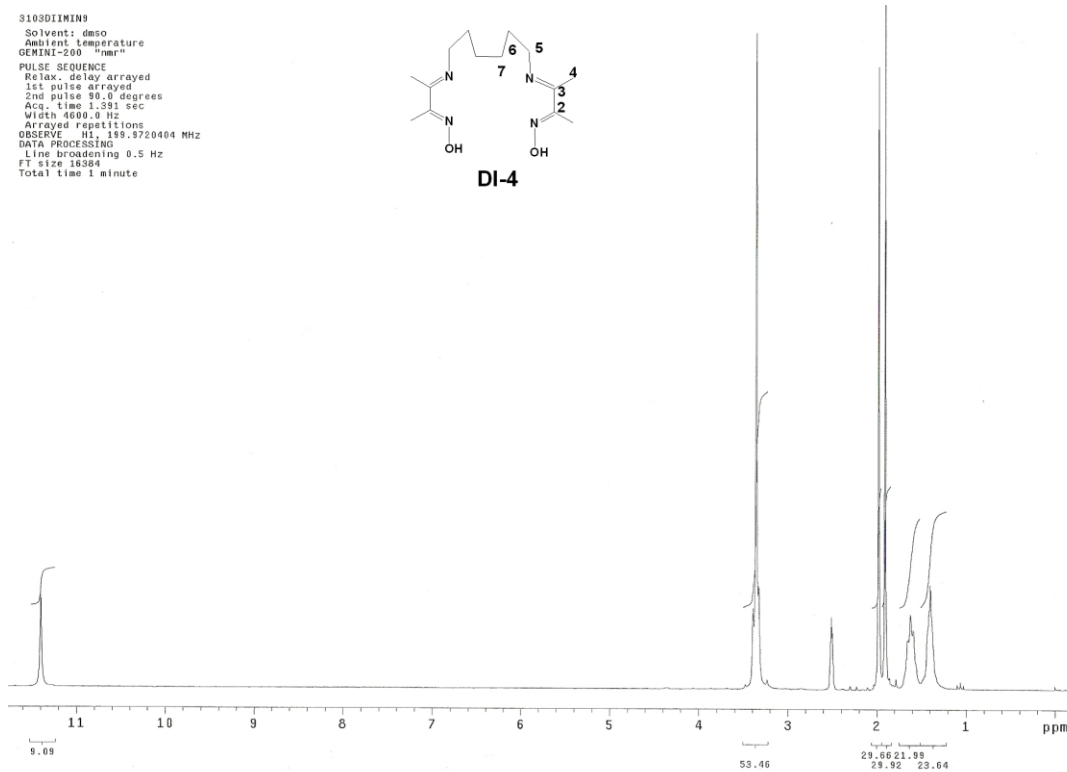


PRILOG 25. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,10-diaza-3,11-dimetiltridekan-2,12-dion bis oksim (L-3)

DIAMIN 81611
Solvent: dmsd
Ambient temperature
GEMINI-200 "nm"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay arrayed
1st pulse arrayed
2nd pulse 73.9 degrees
Acq. time 1.007 sec
Width 15000.0 Hz
Arrayed repetitions
OBSERVE C13, 50.2829601 MHz
DECOUPLE H1, 199.8722306 MHz
Power 0 dB
continuously on
WALTZ-16 mode/letted
DATA PROCESSING
Line broadening 1.5 Hz
FT size 32768
Total time 19 minutes

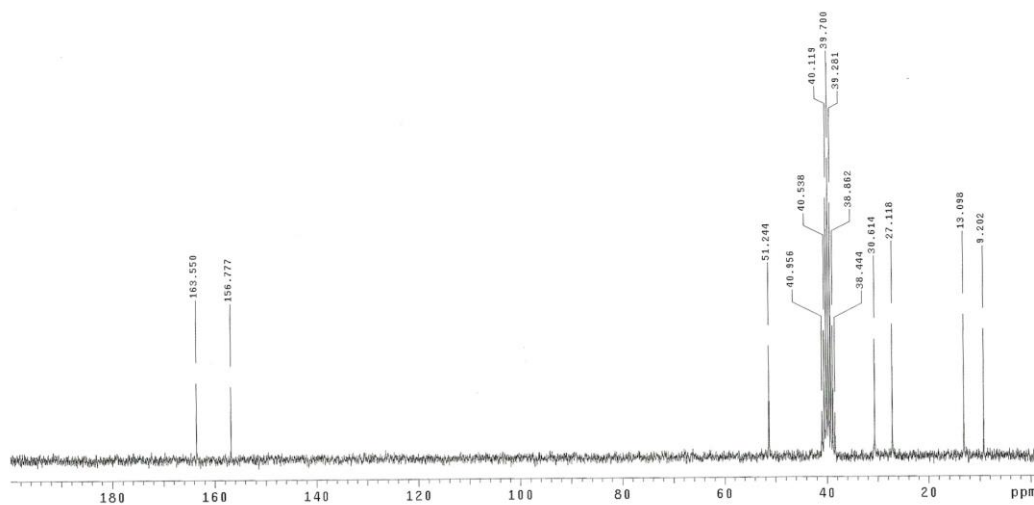
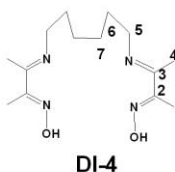


PRILOG 26. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksim (DI-4)

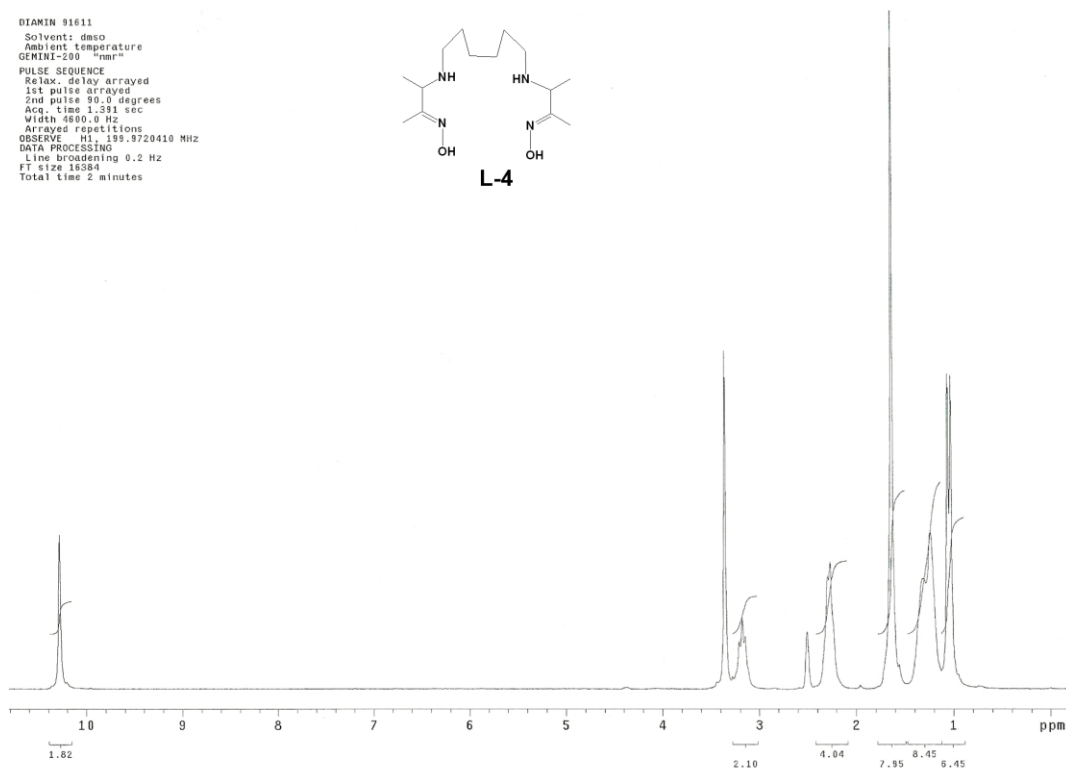


PRILOG 27. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetil-3,11-tetradekadien-2,13-dion bis oksim (DI-4)

S1030IIMIN9
 Solvent: dmsd
 Ambient temperature
 GEMINI-200 "nmr"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay arrayed
 1st pulse arrayed
 2nd pulse 75.6 degrees
 Acq. time 1.067 sec
 Width 15000.0 Hz
 Arrayed repetitions
 OBSERVE C13, 50.2829610 MHz
 DECOUPLE H1, 199.9722306 MHz
 Power 0 db
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.5 Hz
 FT size 32768
 Total time 37 minutes

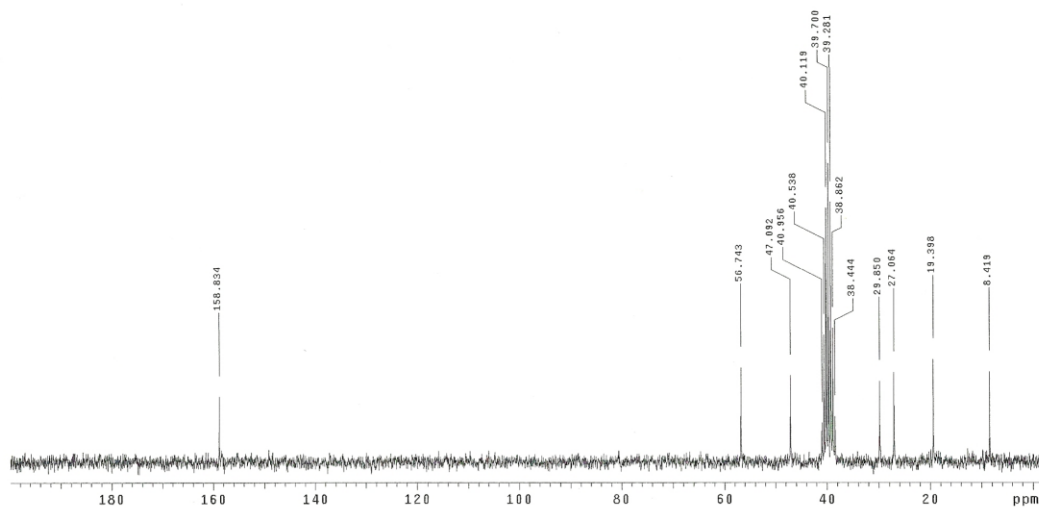
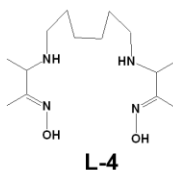


PRILOG 28. ^1H NMR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion bis oksim (L-4)



PRILOG 29. ^{13}C NMR spektar za jedinjenje 4,11-diaza-3,12-dimetiltetradekan-2,13-dion
bis oksim (L-4)

DIAMIN 91611
Solvent: dmsd
Ambient temperature
GEMINI-200 "nmr"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay arrayed
1st pulse arrayed
2nd pulse 73.6 degrees
Acq. time 1.067 sec
Width 15000.0 Hz
Arrayed repetitions
OBSERVE C13, 50.2829601 MHz
DECOUPLE H1, 199.9722306 MHz
Power 0 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.5 Hz
FT size 32768
Total time 21 minutes



BIOGRAFIJA

Marija D. Mirković, dipl. inž. tehnologije biohemijškog inženjerstva i biotehnologije, rođena je 20.06.1978. godine u Beogradu. Studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu započela je školske 1997/98. godine, a diplomirala 04.11.2003. godine sa prosečnom ocenom 8,65. Diplomski rad pod nazivom „Uticaj rastvarača na reaktivnost i apsorpcione maksimume izomernih piridin i *N*-oksipiridin karbonskih kislina” odbranila je sa ocenom 10,00 na Katedri za organsku hemiju. Školske 2004/05. godine upisala je magistarske studije na Katedri za organsku hemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta. Odlukom Nastavno-naučnog veća održanog 23.04.2007. godine (odluka br. 35/88) prelazi sa magistarskih na doktorske studije Tehnološko-metalurškog fakulteta na istom studijskom programu. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija, uključujući i završni ispit.

Zaposlena je od avgusta 2004. godine u Institutu za nuklearne nauke „Vinča” u Laboratoriji za radioizotope gde i danas radi. Naučno-istraživačka aktivnost Marije D. Mirković usmerena je ka sintezi i fizičko-hemijskoj karakterizaciji organskih jedinjenja i njihovih kompleksa, kao i optimizaciji uslova obeležavanja organskih liganada sa odgovarajućim radionuklidima za potrebe nuklearne medicine.

Marija D. Mirković je bila učesnik na projektu Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije iz oblasti tehnološkog razvoja ev. br. 6919 pod nazivom „Razvoj i primena novih radiofarmaceutika za dijagnosticku primenu u nuklearnoj medicini: ^{99m}Tc -Ciprofloksacin (za vizualizaciju infektivnih žarišta) i ^{99m}Tc -HMPAO (za vizualizaciju disfunkcija mozga)”, kao i na projektu osnovnih istraživanja ev. br. 145073: „Citotoksični, citoprotektivni i imunomodulatorni efekti nanočestica” u periodu 01.01.2005-31.03.2008. godine. Takođe je bila učesnik na projektu Ministarstva nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije iz oblasti osnovnih istraživanja ev. br. 169009 pod nazivom „Bifunkcionalni helatori za terapijske radiofarmaceutike na bazi ^{90}Y , $^{188/188}\text{Re}$, ^{177}Lu i ^{152}Sm ” u periodu 01.04.2008-31.12.2010. godine. Sada je učesnik na projektima Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije iz oblasti integralnih i interdisciplinarnih

istraživanja: ev. br. III 45015 pod nazivom „Magnetni i radionuklidima obeleženi nanostrukturni materijali za primenu u medicini” i ev. br. 43009 pod nazivom „Nove tehnologije za monitoring i zaštitu životnog okruženja od štetnih hemijskih supstanci i radijacionog opterećenja” (period 01.01.2011-31.12.2015. godine).

Autor je ili koautor 7 radova publikovanih u međunarodnim časopisima, 1 rada u časopisu nacionalnog značaja, kao i više saopštenja na međunarodnim i domaćim naučnim skupovima. Koautor je poglavlja u knjizi istaknutog međunarodnog izdavača, kao i koautor 1 tehničkog i razvojnog rešenja-novi proizvod.

Изјава о ауторству

Потписана Марија Д. Мирковић

број индекса ДС 46/06

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза нових алифатичних диимино-диоксима и диамино-диоксима и њихових
хелатних комплекса са прелазним и радиоактивним металима: потенцијална
примена у медицини

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 04. 10. 2014.

Марија Мирковић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Марија Д. Мирковић

Број индекса ДС 46/06

Студијски програм Хемија и хемијска технологија

Наслов рада Синтеза нових алифатичних диимино-диоксима и диамино-диоксима и њихових хелатних комплекса са прелазним и радиоактивним металима: потенцијална примена у медицини

Ментор проф. др Мијин Душан

др Николић Надежда

Потписана Марија Д. Мирковић

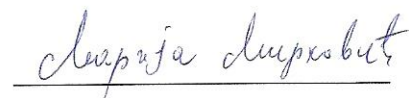
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 04. 10. 2014.



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Синтеза нових алифатичних диимино-диоксима и диамино-диоксима и њихових хелатних комплекса са прелазним и радиоактивним металима: потенцијална примена у медицини

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

☒ 2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

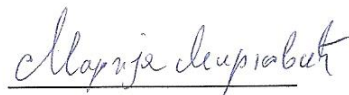
5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 04. 10. 2014.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.