

## FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE $^{99m}\text{Tc}$ Y CATIONES ALCALINOS CON LIGANDOS TETRAFOSFORADOS ACÍCLICOS Y MACROCICLICOS

M. Vidal\*, M. Vincens\*, J. T. Grimaldo-Morón\*\*

\* LEDSS IV - Université Joseph Fourier  
BP 53X - 38041 Grenoble - Cedex - France

\*\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química  
Departamento de Química Orgánica  
Av. Venezuela s/n Lima - Perú

**Summary**-The tetraphosphorus ligands, potential complexing agents for radioactive nucleides and alkali metals cations, constitute the essential objective of this work. The study of their complexing ability of these tetraphosphorus ligands are described.

**Key Words** -Tetraphosphorus ligands, tetraphosphorus macrocycles, complexing agents for radioactive nucleides and alkali metals cations.

**Resumen**-Los ligandos tetrafosforados, complejantes potenciales de nucleídos radioactivos y cationes de metales alcalinos, constituyen el objetivo esencial de este trabajo. Ensayos de la habilidad complejante de estos ligandos tetrafosforados son descritos.

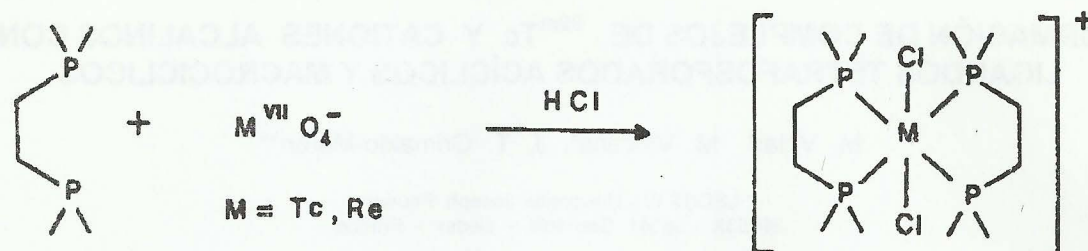
**Palabras Clave**-Ligandos tetrafosforados, macrociclos tetrafosforados, complejantes de nucleídos radioactivos y de cationes de metales alcalinos.

La síntesis de ligandos organofosforados tetradentados y hexadentados que constituye el objetivo esencial de este trabajo, se sitúa en el cuadro de un nuevo tema de investigación que se está desarrollando en nuestro laboratorio: ligandos organofosforados con finalidad biomédica. Vectores de Tecnecio  $^{99m}\text{Tc}$  y sustancias de contraste para la tomografía de resonancia magnética. Debido a la finalidad biomédica de estos temas, nos hemos principalmente consagrado a la investigación de vías de síntesis que nos permitan acceder a nuevos tipos de moléculas organofosforados, ligandos potenciales de iones paramagnéticos ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}$ ) (1,2,3,4,5) y de nucleídos emisores gamma ( $\text{Tc } ^{99m}$ ) (6) que deben presentar una lipofilia adaptada a la captación celular.

Una de las aplicaciones biomédicas de los radioisótopos es el análisis clínico por vía externa con ayuda de técnicas centellográficas, ésta se ha desarrollado durante los últimos 50 años y constituye

una de las actividades esenciales de la medicina nuclear.

El principio es simple; un nucleído radioactivo es inyectado bajo la forma iónica o resto de una molécula orgánica, o un complejo, éste marcador se distribuye en el conjunto de tejidos y órganos y es seguido por intermedio de su radiación. Los radionucleídos más corrientemente usados son los emisores gamma, ellos son detectados en el organismo por diferentes técnicas, una de ellas es las cámaras gamma o cámaras de centellación que poseen un detector fijo que indican la repartición de la radioactividad en el conjunto de órganos. Desde hace algunos años se está desarrollando una segunda generación de marcadores biomédicos: moléculas marcadas por emisores análogos a las moléculas que intervienen en los procesos biológicos. Por esta razón las moléculas de interés biológico son generalmente marcadas con ayuda de heteroátomos (7,8,9,10,11), donde los principales son:



ESQUEMA 1

 $^{123}\text{I}, ^{125}\text{I}, ^{131}\text{I}, ^{99\text{m}}\text{Tc}, ^{153}\text{Sm}$ 

El objetivo que perseguimos en este trabajo es formar complejos apropiados, por ejemplo de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , que se localicen específicamente en los órganos del cuerpo humano. La detección de la radiación gamma nos proporcionará información sobre las anomalías de funcionamiento de los procesos biológicos.

La química del tecnecio  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  se ha desarrollado rápidamente a la escala de trazas pues este nucleído reemplazará en los próximos años a la mayor parte de otros nucleídos actualmente usados en medicina nuclear. Así, el ión pertecnetato  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  constituye uno de los emisores gamma puesto en obra bajo la forma de sal de sodio para la exploración de la tiroides, las centellografías cerebrales y pulmonares. El  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  es el nucleído escogido en medicina nuclear, pues teniendo en cuenta su corto período de vida media (6,02 horas), su disponibilidad y su emisión gamma pura, este nucleído está perfectamente adaptado sobre el plan de sus propiedades nucleares a las aplicaciones biomédicas. Hoy en día se sabe que este isótopo interviene en más del 80 % de las técnicas de análisis clínico fundadas sobre la centellografía.

Un estudio general publicado en la literatura sobre los vectores emisores gamma susceptibles de aplicaciones en el dominio de la centellografía nos ha conducido a la investigación de complejos  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  lipófilo, neutros o cargados positivamente. Así, es conocido que ciertas difosfinas, como la 1,2-bis (difenilfosfino)

etano(12) y la 1,2- bis (dimetilfosfino) etano (13,14) han sido usados como ligandos del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  y del renio (esquema 1).

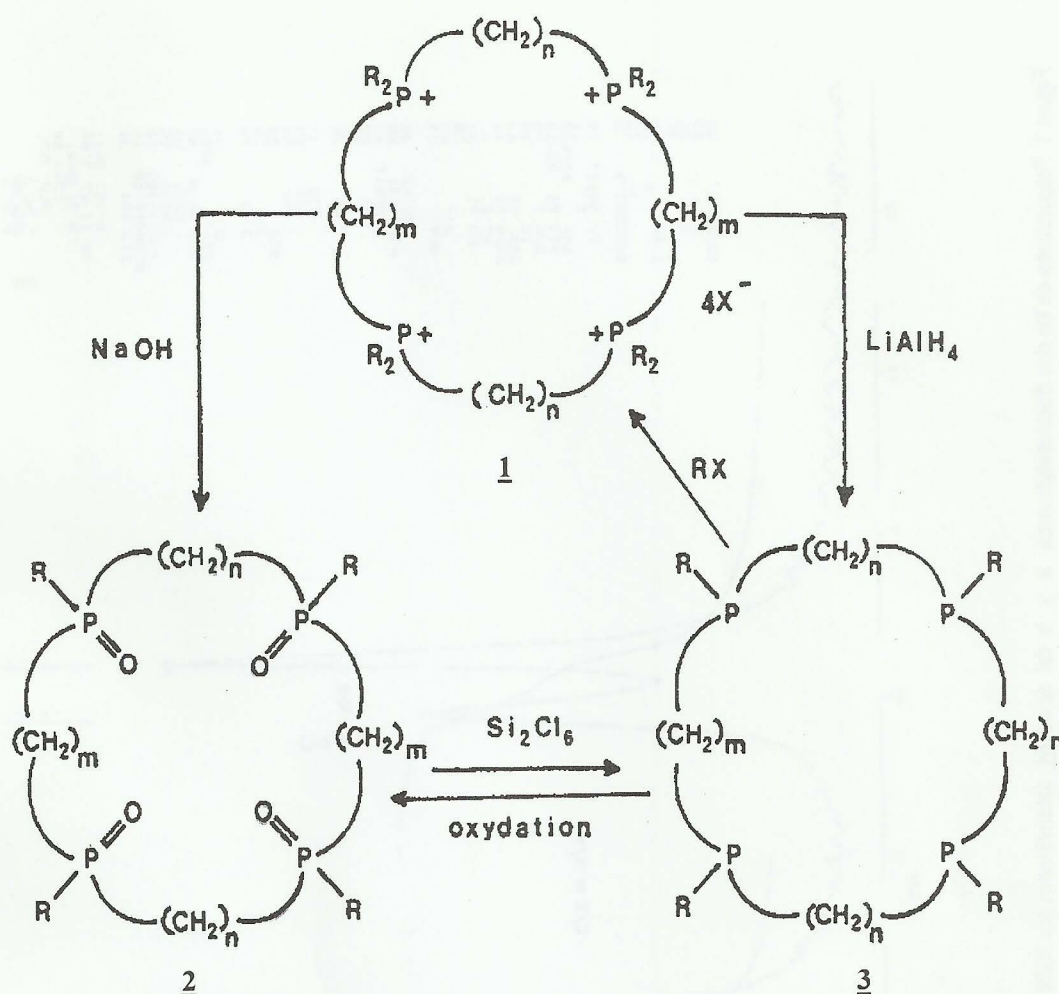
Este complejo es bien captado por el miocardio en el animal, en cambio el complejo  $[\text{Tc}(\text{DMPE})_2\text{Cl}_2]^+$  presenta por este órgano un tropismo netamente inferior en el hombre; la constante de estabilidad del complejo es en este caso verdaderamente insuficiente. Se puede esperar que compuestos tetrafosforados acíclicos y macrocíclicos 2 y 3 de talla conveniente aumentarán de manera notable la estabilidad del complejo (esquema 2).

## RESULTADOS

### Síntesis de ligandos tetrafosforados acíclicos.

El primer objetivo de este trabajo ha sido realizar la síntesis de fosfinas, óxidos de fosfina, difosfinatos y ácidos difosfínicos tetrafosforados acíclicos; pues es en efecto plausible considerar a priori que tales ligandos son buenos complejantes y conducirán a complejos de la forma reducida del  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  más estables que aquellos publicados en la literatura (12,13,14).

Hemos realizado la síntesis del ácido difosfínico tetrafosforado 84 (ácido 1, 5, 8, 12 - tetrafenil-5,8-dioxo-5,8-difosfa-1,12-dodecadifosfínico) con rendimiento de 80%(15). El espectro RMN $^{31}\text{P}$  muestra el número y las proporciones de los diastereoisómeros para el compuesto 84 (fig.1).



ESQUEMA 2

### Complejación de las formas reducidas de Pertecnetato $^{99m}\text{TcO}_4^-$ por el ácido difosfínico 84

Estos ensayos han sido realizados en los laboratorios de la Société ORIS-INDUSTRIE à Saclay - París.

Las reducciones del  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  en presencia del ligando, el ácido difosfínico 84, han sido conducidas en las condiciones usuales por:

- El ácido formamidinosulfínico (FSA) a temperatura ambiente y a  $90^\circ\text{C}$ .
- El  $\text{SnCl}_2$  a temperatura ambiente.

El análisis por conteo muestra que el FSA no reduce al  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  mientras que el  $\text{SnCl}_2$  sí lo reduce casi totalmente. La mezcla obtenida después de la reducción

ha sido inyectada al animal y la radioactividad visualizada a la gamma cámara dos horas después de la inyección venosa (i.v.). La imagen obtenida muestra que el complejo de  $\text{Tc } 99\text{m}$  está esencialmente fijado en las vísceras y en el sistema óseo; dos horas después de la i.v., la región renal y la vejiga presentan muy poca radioactividad (**fig. 2**). Esta forma de visualizar la radioactividad en un determinado órgano o tejido se realiza mediante los colores. Así por ejemplo el color rojo indica que la radioactividad se localiza fuertemente en un órgano, el color amarillo (un poco de radioactividad), el color azul (muy poca radioactividad) y el color blanco (indica casi nada de radioactividad).



Se puede pues concluir que el complejo de tecnecio del ácido 84, poco hidrófilo, no es rápidamente excretado y no parece que el complejo presente un tropismo suficientemente marcado con respecto a un órgano para que éste marcador tenga interés biomédico. Por estas razones el análisis estructural del complejo no ha sido abordado.

### Síntesis de ligandos tetrafosforados macrocíclicos.

El segundo objetivo ha sido la síntesis de macrociclos tetrafosforados originales, pues las moléculas fosforadas descritas en la literatura no están adaptadas a nuestras necesidades. En efecto podemos preparar complejos que presenten un tropismo interesante, pues los ensayos descritos en la literatura indican que los complejos de tecnecio de la 1,2,-bis(dimetilfosfino)etano (12,13,14) presenta un balance lipofilia-hidrofilia aceptable en el animal y una biodistribución interesante.

Hemos sintetizado macrociclos tetrafosforados bifuncionales y tetraóxidos de fosfina macrocíclicos. Por ejemplo, la síntesis del tetraóxido de fosfina macrocíclico 96 (1,4,8,12,-tetrafenil-1, 4, 8,12-tetraoxo-1,4,8,12-tetrafosfaciclopentadecano) ha sido identificado por espectrografía de masas y otras técnicas espectroscópicas (16). En el espectro de masa realizado por impacto electrónico se observa para el macrociclo 96 un pico situado a  $651(M+1)^+$ , el pico molecular  $(M^+ = 650)$  y otros fragmentos son igualmente detectados tal como  $649(M-1)^+$  (fig. 3).

### Complejación de las formas reducidas de Pertecnetato $^{99m}\text{TcO}_4^-$ por tetraóxido de fosfina macrocíclico 96.

Las condiciones de reducción de la mezcla de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  en presencia de 96 y en medio acuoso son idénticas a aquellas realizadas con el ácido difosfínico 84, se obtienen resultados comparables: El  $\text{SnCl}_2$  es mejor reductor que el FSA.

La mezcla (complejo+ ligando +  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) es inyectado al animal y la radioactividad visualizada a la gamma

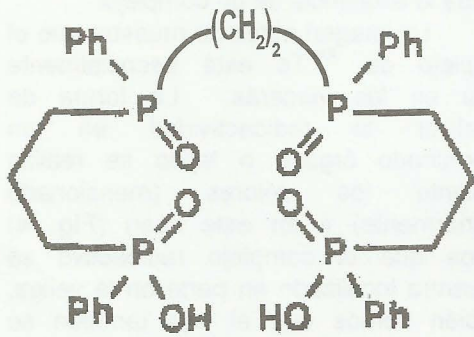
cámara dos horas después de la inyección venosa. La biodistribución es diferente a aquella del  $^{99m}\text{Tc}$  no complejado lo que prueba la existencia de un complejo.

La imagen obtenida muestra que el complejo de  $^{99m}\text{Tc}$  está esencialmente fijado en las vísceras. La forma de visualizar la radioactividad en un determinado órgano o tejido se realiza mediante los colores (mencionado anteriormente) y en este caso (Fig. 4) vemos que el complejo radioactivo se encuentra localizado en parte en la vejiga, también vemos que el rojo también se encuentra en la parte renal y, en el corazón hay muy poca radioactividad (color azul). El tropismo no parece muy interesante y en consecuencia el estudio estructural del complejo no ha sido realizado.

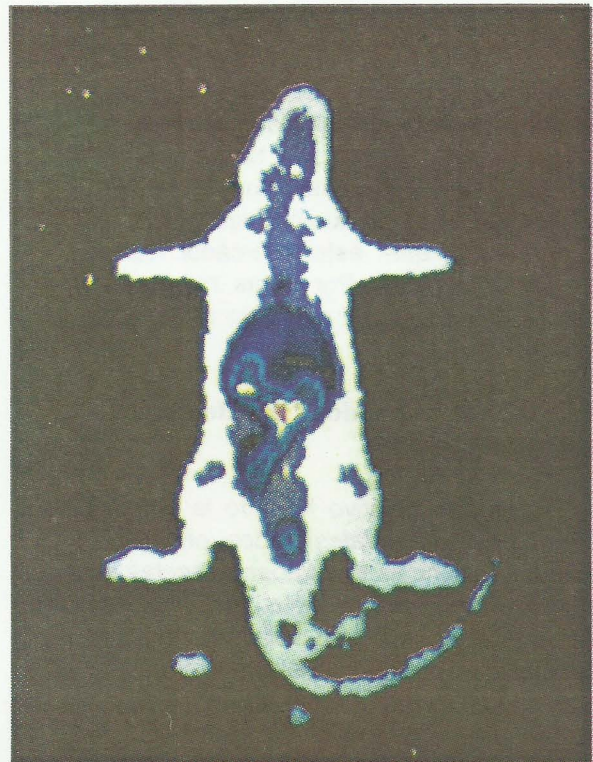
### Complejación de cationes alcalinos por el tetraóxido de fosfina macrocíclico 96.

La investigación de complejos con finalidad biomédica expone necesariamente a los problemas ligados a la complejación de alcalinos por el ligando. En efecto la abundancia natural en el cuerpo de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y las perturbaciones que ocasionan una baja de la tasa de estos cationes implican que independientemente del estudio del complejo, donde la finalidad biomédica es investigada, sean consideradas las complejaciones parásitas y eventualmente perturbadoras de estos iones.

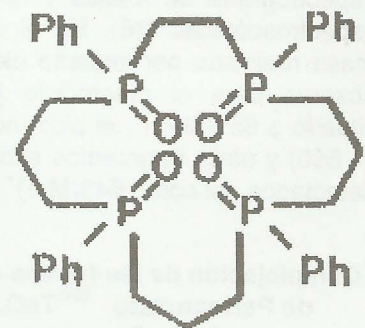
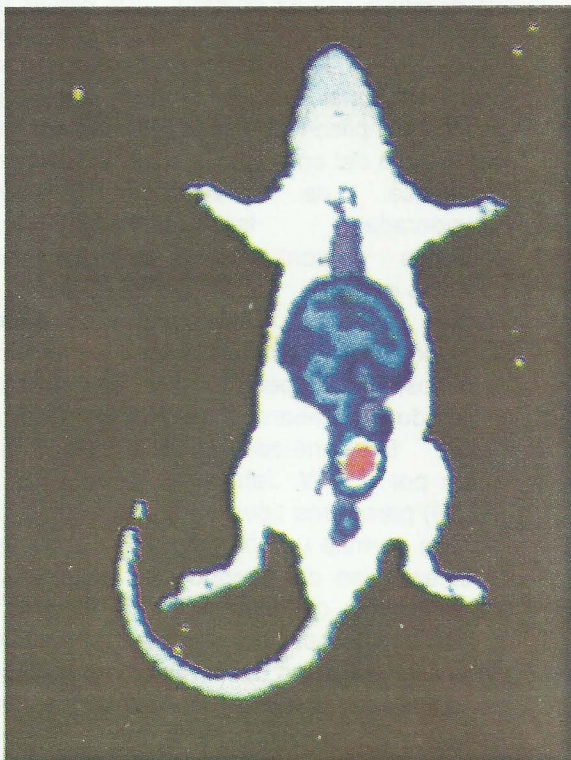
Hemos puesto en obra como técnica de detección de complejos de los iones alcalinos, la espectrografía de masas utilizando el bombardeo por átomos rápidos (FAB). Este método ha sido puesto a punto por R.A.W. Johnstone y M.E. Rose (17,18) para otros tipos de compuestos. El método permite una observación directa de la selectividad del ligando con respecto a los diferentes cationes alcalinos:  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ , y  $\text{Cs}^+$  así como también un estudio de la concentración del complejo en función de la concentración del catión. Presentamos los resultados preliminares que hemos obtenido y el estudio comparativo de la complejación de cationes alcalinos por el macrociclo 96.



84



**Figura 2.** Visualización de la radioactividad del complejo de Tecnecio del ácido 84, en los órganos del animal.



96

**Figura 4.** Visualización de la radioactividad del complejo de Tecnecio del macrociclo 96, en los órganos del animal.

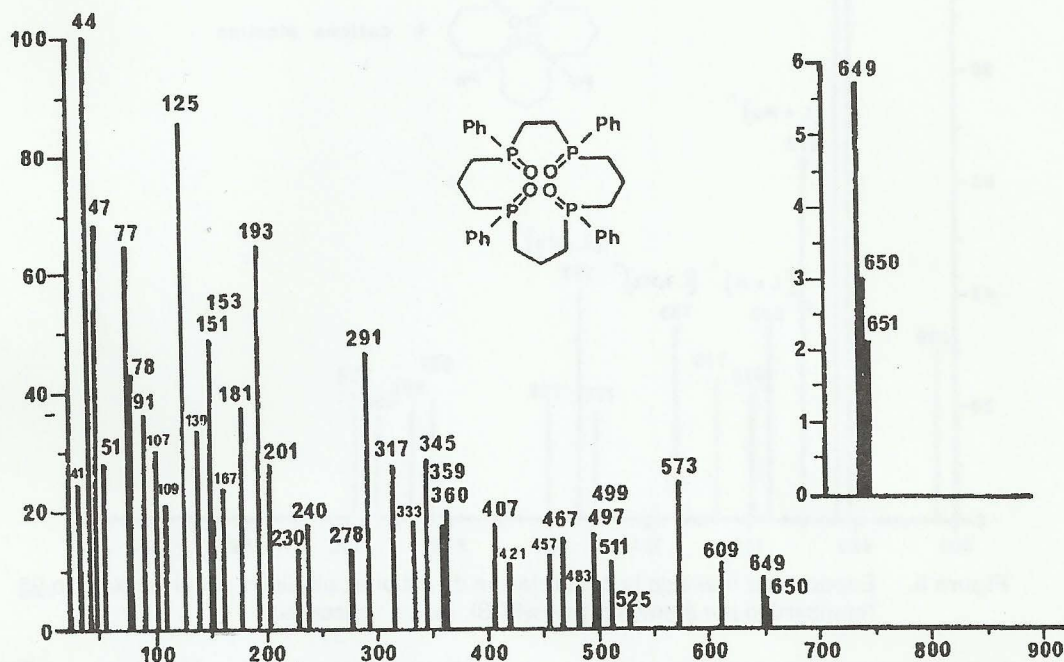


Figura 3. Espectro de masa del macrociclo 96, por impacto electrónico (70 eV) a 250 °C.

Dos soluciones de agua - glicerina (1:2) son preparadas conteniendo la una ioduros de litio, sodio, potasio, rubidio y césio, cada una a la concentración 0.005 M, y la otra del macrociclo 96 a la concentración 0.005 M. Las dos soluciones son mezcladas a volúmenes iguales: en estas condiciones los iones de concentraciones idénticas son puestas en competición con respecto a una cantidad limitada del ligando.

Uno a dos  $\mu\text{l}$  de esta mezcla son puestas en la superficie de una matriz (glicerina) y la espectrografía de masa FAB es efectuada en las condiciones normales.

Si sólo se tiene en cuenta a los picos  $(LM)^+$ , es decir si no se toma en cuenta los picos correspondientes a las asociaciones del tipo  $[L+M^+ (Li I)_n]$  ver de otras asociaciones tales que  $[L+M^+ (Li I)_n + X]$  (L: ligando,  $M^+$  ion alcalino, X toda molécula presente en la mezcla), se obtiene las proporciones siguientes

evaluadas con respecto al pico el más intenso  $(LLi)^+$  notado 100:(**fig.5**).

$Li^+$ : 100 ;  $Na^+$ : 64 ;  $K^+$ : 34 ;  
 $Rb^+$ : 34 ;  $Cs^+$ : 40 ;  $LH^+$  restante: 94.

Para todos los cationes, sólo el más abundante ha sido tomado en cuenta. R:A:W: Johnstone y Col. han comparado las proporciones obtenidas experimentalmente a aquellas determinadas teóricamente a partir de la constante de estabilidad de complejos establecidas por un método que no utiliza a la espectrografía de masa en una serie de éteres corona: 15C5 ; 18C6 ; DCH18C6 ; DB24C8 ; C222. Ellos, así, han demostrado que existe a menudo, una buena correspondencia (dos valores de los quince propuestos divergen) entre las constantes de estabilidad y la abundancia de los iones  $(LM)^+$ .

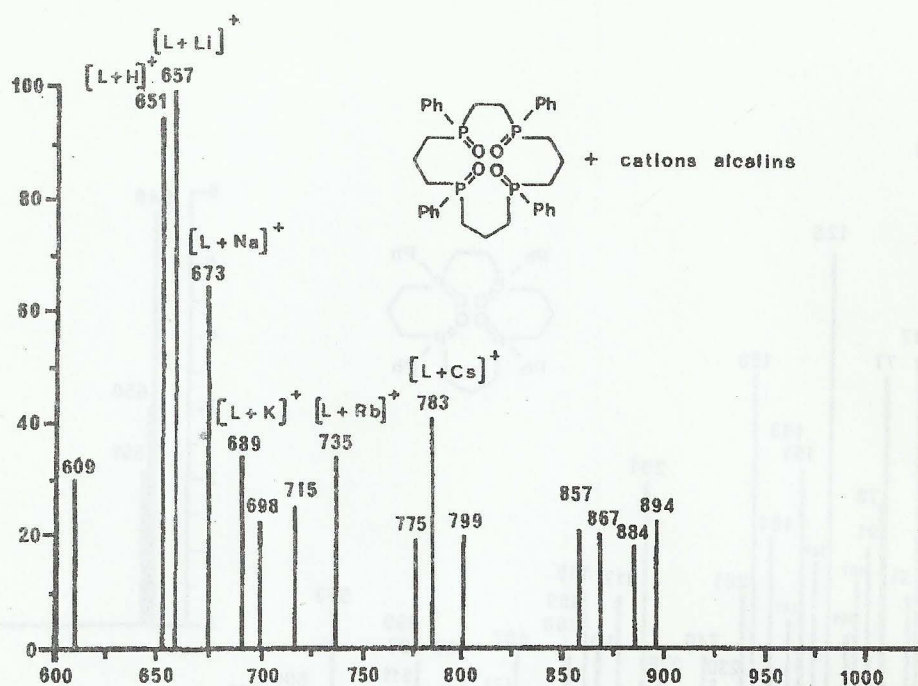


Figura 5. Espectro de masa de la complejación de cationes alcalinos por el macrociclo 96 (bombardeo por átomos rápidos (FAB), matriz: glicerina).

Los espectros demuestran que:

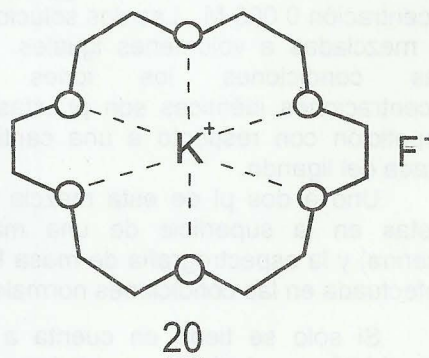
- Los complejos entre el macrociclo 96 y los iones alcalinos se forman bien en el solvente utilizado. Notamos que R.A.W. Johnstone indica que él no ha encontrado diferencia en la abundancia de iones cuando utiliza como solvente el agua o bien mezcla glicerina - agua.

- Todos los cationes forman complejos en particular  $\text{Li}^+$  y  $\text{Na}^+$ , pues en la abundancia relativa de los iones  $(\text{LM})^+$ , éstos son netamente preponderantes. Esto corresponde verdaderamente a una buena correspondencia entre el diámetro del ciclo y la talla del invitado. Por otra parte los óxido de fosfina son bases duras y podemos remarcar que los ácidos los más duros forman los mejores complejos.

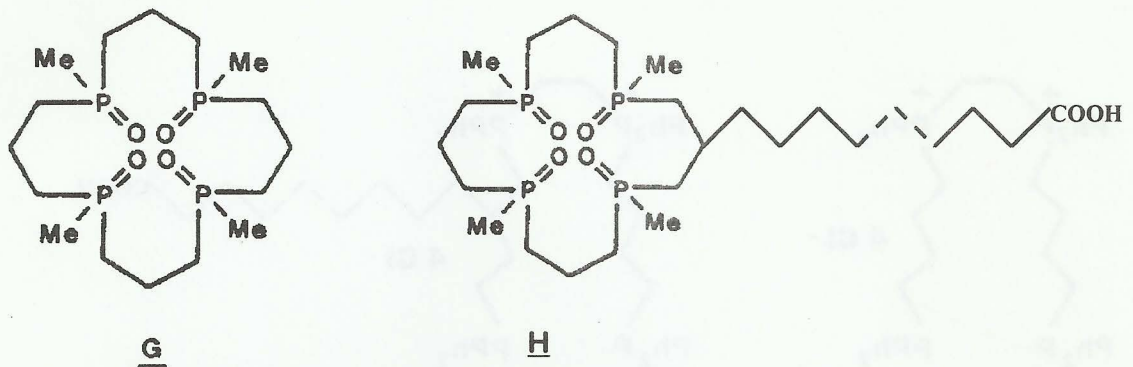
- Del ligando que subsiste en solución, ninguna experiencia ha sido realizada para determinar el coeficiente de proporcionalidad entre el pico del ligando y los picos de los complejos, no es posible interpretar cuantitativamente los datos espectrales.

- Resultado parecidos a los nuestros entre poliéteres macrocíclicos (Crown ether) y algunos metales alcalinos

encontramos en la literatura. Estos macrociclos tienen la propiedad de solvatar específicamente a cationes tales como  $\text{Li}^+$  y  $\text{Na}^+$ . Por ejemplo, en presencia de el [18]-corona-6; el KF es soluble en benceno y además el anión fluoruro actúa como un nucleófilo bastante reactivo en varios procesos químicos (19), pues el ether corona forma un complejo 20 con el catión  $\text{K}^+$ .







### CONCLUSIONES

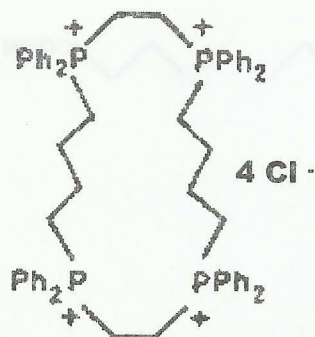
- El estudio comparativo de la complejación de los iones alcalinos por el tetraóxido de fosfina 96 a demostrado por la técnica FAB en espectrografía de masas que el orden preferencial de captación es:  $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+$ . La estequiometría preferencial es 1/1:  $(\text{LM})^+$ .
- Como se ha verificado experimentalmente la biodistribución de los complejos de Tc  $99\text{m}$  obtenidos a partir de dos ligandos polifenilados, el ácido difosfínico 84 y el Tetraóxido de fosfina 96, no presentan interés: El tropismo frente a un órgano no es suficientemente marcado y el estudio de las estructuras de los complejos no ha sido realizado.
- La finalidad biomédica de estas investigaciones es buscar complejos que se localicen específicamente en el miocardio y otros órganos del cuerpo humano. En el caso de ligandos fosforados tal como 1,2 - bis (dimetilfosfino) etano (13,14) forma complejo con el  $99\text{mTc}$  y este es bien captado por el miocardio en el animal. Esperamos que complejos de  $99\text{mTc}$  con

ligandos macrocíclicos alquilados del tipo G (20) o ligandos derivados de ácidos grasos H cuya síntesis está en curso en nuestro laboratorio sean también captados por el miocardio. Es conocido que el metabolismo de los ácidos grasos proporciona el 65 % de la energía necesaria al miocardio y que ácidos grasos marcados en posición  $\omega$  (omega) con el  $^{123}\text{I}$  (**esquema 3**) permite seguir la captación del ácido por la célula y evaluar la cinética de su metabolismo. Además este tipo de marcador proporciona no solamente información sobre la deficiencia coronaria sino que permite detectar igualmente las disfunciones del miocardio (7).

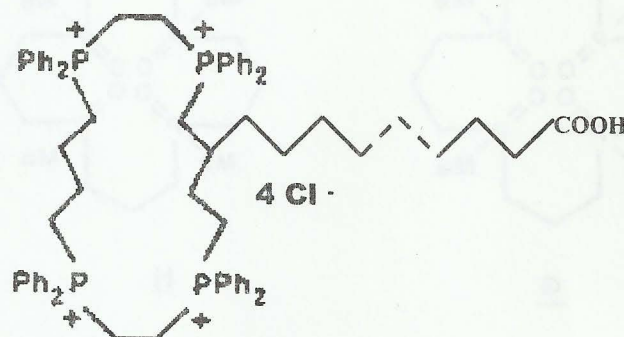
- También el estudio directo de la complejación del  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{N}_3^-$ , etc., por las sales de tetrafosfonio macrocíclicas de tipo 1 y 103 (21) están en marcha en el laboratorio. Las síntesis de otras sales de fosfonio macrocíclicas tal como el ácido graso 104 están en curso y servirán para hacer ensayos de complejación con el  $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$  y otros aniones.



**ESQUEMA 3**



103



104

**Acknowledgements.**- Nuestro agradecimiento a La COMPAGNIE ORIS INDUSTRIE (GIF-SUR-YVETTE FRANCE) así como también a Le Pôle Biomédical Rhône - Alpes por su ayuda financiera.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) G.L. WOLF, E.S. FOBEEN, Invest. Radiol., 19, 324 (1984).
- (2) G.L. WOLF, K.R. BURNETT, E.J. GOLDSTEIN, P.M. JOSEPH, Mag. Res. Annual, 231 (1985).
- (3) M.F. CHEVALLIER, Rev. Quest. Scientifiques, 155, 73 (1984).
- (4) DE CERTEAINES J., Compte. Rendu du Séminaire de RENNES (FRANCE): Les produits de contraste en Imagerie par Résonance Magnétique, R.N. MULLER, M.H. MEDONGA, P.C. LAUTERBUR, M. MASSOL (1985).
- (5) D. PARKER, J.A.G. WILLIAMS, J. Chem. Soc., Dalton Trans. 3613 (1996).
- (6) J.R. DILWORTH, S.J. PARROTT, Chem. Soc. Rev., 278, 43 (1998).
- (7) F. RICHE, J.P. MATHIE, M. VINCENS, A. BARDY, M. COMET, M. VIDAL, Bull. Soc. Chim. Fr. II, 49 (1984).
- (8) A. G. JONES, A. DAVISON, Int. J. Appl. Radiat. Isot., 33, 867 (1982).
- (9) A.G. DAVISON, A.G. JONES, Int. J. Appl. Radiat. Isot., 33, 875 (1982).
- (10) J. DE LIVERANT, W. WOLF, Int. J. Appl. Radiat. Isot., 33 857 (1982).
- (11) K. LIBSON, E. DEUTSCH, B.L. BARNETT., Int. J. Appl. Radiat. Isot., 102, 2476 (1980).
- (12) R. MUENZE B. GROSSMAN, J. Radioanal. Nucl. Chem., 86, 89 (1984).
- (13) E. DEUTSH, W. BUSHONG, K.A. GLAVAN, R.C. ELDER, V.J. SCHOLZ, K.L. Scholz, D.L. FORMAN, S.J. LUKES, Science, 214, 85 (1981).
- (14) J.L. VANDERHEYDEN, M.J. HEEG, E. DEUTSCH, Inorg. Chem., 24, 1666 (1985).
- (15) M. VINCENS, J.T. GRIMALDO MORON, M. VIDAL, Bull. Soc. Chim. Fr., 703 (1989).
- (16) M. VINCENS, J.T. GRIMALDO MORÓN, M. VIDAL, Tetrahedron, 47, 403 (1991).
- (17) R.A.W. JOHNSTONE, I.A.S. LEWIS, M.E. ROSE, Tetrahedron, 39, 1597 (1983).
- (18) R.A.W. JOHNSTONE, I.A.S. LEWIS, M.E. ROSE, J. Chem. Soc., Chem. Comm., 1268 (1983).
- (19) C.L. LIOTTA, H.P. HARRIS, J. Am. Chem. Soc., 96, 2250 (1974).
- (20) M. VINCENS, F. GONG - CHENC, C. TOULHOAT, J.T. GRIMALDO MORON, M. VIDAL, Tetrahedron Letters, 29, 6247 (1988).
- (21) M. VINCENS, J.T. GRIMALDO MORON, R. PASQUALINI, M. VIDAL, Tetrahedron Letters, 28, 1259 (1987).