

---

# NUEVOS RADIOTRAZADORES BAJO FORMA DE COMPLEJOS DE COORDINACION, PARA DIAGNOSTICO DE TUMORES

D.E. CAMPOS de KREMER, A.M. ROBLES,  
A.S. LEON\*

## RESUMEN

Los tejidos tumorales, en su mayoría proliferantes, presentan incrementada su capacidad de absorción de metabolitos tales como aminoácidos y bases nitrogenadas precursoras del DNA y/o RNA, necesarios para la reproducción celular y la síntesis proteica.

Como dichos metabolitos presentan estructuras apropiadas para actuar como ligandos de metales de transición, el objetivo del presente trabajo es utilizarlos en la síntesis de complejos de  $^{99m}\text{Tc}$ , para su empleo en la localización de tumores.

La etapas desarrolladas comprenden:

- selección de reductores apropiados para el  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  - en medios ácido y alcalino, de acuerdo al pH óptimo de trabajo con cada ligando.
- Puesta a punto de técnicas de marcado.
- Desarrollo de métodos de control a utilizar durante y después de la síntesis (espectrofotometría visible y ultravioleta, radio-cromatografía y distribución biológica en lauchas).
- Inducción de tumores en ratas wistar, por implantación de metilcolantreno, para su utilización en estudios de captación tumoral de los complejos sintetizados.
- Primeras pruebas de captación por tejido tumoral de aminoácidos ácidos marcados con  $^{99m}\text{Tc}$ .

---

\*Cátedra de Radioquímica, Facultad de Química.

## INTRODUCCION

Es lógico suponer que los tejidos tumorales -en su mayoría proliferantes por excelencia- presenten incrementada la absorción de metabolitos necesarios para la reproducción celular y la síntesis de proteínas.

Dado que tales metabolitos presentan en su mayoría estructuras que les permiten funcionar como ligandos -a menudo quelatizantes- de metales de transición, se abre un camino fértil para la preparación de radiofármacos de gran interés en la localización de tumores. Es el caso del ácido glutámico, ya citado en literatura del año 77 como aminoácido de especial actividad en llevar, como quelatizante, a metales centrales hacia células tumorales (1).

En vista de las necesidades crecientes de nitrógeno de los tumores (2) (probablemente causa del éxito en la utilización de selenometionina-<sup>75</sup>Se para visualización de tumores por centellografía (3), se han realizado en el presente trabajo:

1. Pruebas y selección de reductores para llevar el  $Tc^{VII}$  a estados de oxidación menores, aptos para formación de complejos de transición con aminoácidos a distintos pH.
2. Puesta a punto de técnicas de síntesis de complejos de aminoácidos con  $^{99m}Tc$ .
3. Optimización de métodos de control: a) para la selección de reductores del Tc y b) para los complejos obtenidos.
4. Inducción de tumores por implantación de metil-colantreno (trabajo realizado por la Cátedra de Farmacodinamia, bajo la dirección del Prof. Dr. H. Trinidad).
5. Primeras pruebas de captación de los nuevos radiofármacos en tumores.

## PARTE EXPERIMENTAL

### I - Estudio de la eficiencia de distintos agentes reductores para la obtención de $Tc^{IV}$ a partir de $Na^{99m}TcO_4$ .

Los aminoácidos sólo pueden utilizarse como ligandos de complejos de coordinación a pH superior a su punto isoeléctrico. Esto

planteó el problema de la reducción del  $Tc^{VII}$  ( $TcO_4^-$ ) a  $Tc^{IV}$ , a pH no menor de 6 en la mayoría de los casos (por ejemplo: aminoácidos neutros como glicina y alanina, buenos agentes quelatizantes de otros metales de transición).

La dificultad para la reducción del  $Tc^{VII}$  a pH superior a 6 surge de la gran estabilidad del  $TcO_4^-$  (así como del  $ReO_4^-$ ) en solución alcalina (4). En la 3ª edición de "Advanced Inorganic Chemistry" Cotton y Wilkinson recomiendan solamente HCl, HBr y HI como agentes reductores del  $Tc^{VII}$ . Esto resalta el problema de la reducción del  $TcO_4^-$  en medio básico.

Los reductores elegidos fueron:

a) Los ya reconocidos como efectivos en la síntesis de complejos de  $Tc^{IV}$  a partir de  $^{99m}TcO_4^-$  (5), caso del  $Sn^{II}$  a pH bajo.

b) Los que se destacan en los textos de Química Inorgánica como reductores de bajo potencial de óxido-reducción (en particular frente al potencial del sistema  $Tc^{IV} - Tc^{VII}$ ), caso del  $NO_2^-$  en medio ácido (6), del  $Cu^I$  en medio ácido (7).

c) Reductores de gran versatilidad en su uso como agentes de reducción, caso del ácido hipofosforoso y sus sales, de la hidracina, etc.

d) Mezclas de reductores. Ej.: hidracina-hipofosfito, hidracina-HCL.

## II - Síntesis de complejos de $^{99m}Tc$ con aminoácidos.

Entre los complejos que interesa sintetizar, hay dos grandes grupos:

a) De aminoácidos que mantienen sus características como ligandos a pH bajo.

b) De aminoácidos que, dado su alto punto isoeléctrico, no forman complejos de coordinación a bajo pH.

En el grupo a) se encuentran los aminoácidos ácidos, como el ácido aspártico y ácido glutámico, de puntos isoeléctricos (P.I.) respectivamente 2.98 y 3.22 (8).

En vista de la buena eficiencia del  $Sn^{II}$  como reductor a pH 3.5 (mayor que el P.I. de los ácidos aspártico y glutámico) se sintetizaron los complejos: ácido aspártico- $^{99m}Tc$  y ácido glutámico- $^{99m}Tc$ , utilizando  $SnCl_2$  en medio ácido (pH 3.5.) como reductor.

De los aminoácidos del grupo b), ninguno pudo ser unido al  $Tc^{IV}$  usando el mismo reductor, a pesar de los resultados obtenidos por cromatografía para el triptofano.

De los aminoácidos del grupo b), se trabajó con el aminoácido neutro alanina, dada sus conocidas propiedades como agente quelatizante. El agente reductor que llevó a mejores resultados fue la mezcla  $N_2H_4-Cl^-$  a pH 10. Se logra que todo el  $Tc^{IV}$  obtenido sea complejado por la alanina, como se muestra en la Sección RESULTADOS Y DISCUSION. (Tabla II). En la misma sección se presentan las técnicas de marcado de ácido aspártico, ácido glutámico y alanina con  $^{99m}Tc$ . (Tabla V).

### III - Métodos de control.

#### 1. Para los agentes reductores.

Se utilizó la radiocromatografía sobre papel, como primer método de control de la eficiencia de reducción del  $^{99m}TcO_4^-$ .

Se usaron diversos solventes cromatográficos, dada la dificultad que se encuentra con la mayoría de los mismos para separar el  $Tc^{IV}$  de sus complejos. Aparte de los más ampliamente usados en radiocromatografía de Tc-metil etil cetona<sup>(9)</sup> y solución de NaCl 0.9%—se utilizaron metanol al 85%, butanol-ácido acético-agua (4:1:5) y metil isobutilcetona.

Para superar el problema de los Rf cercanos para  $Tc^{IV}$  y sus complejos de coordinación, se trabajó con EDTA como testigo (y en algunos casos con pirofosfato) en todos los intentos de síntesis de nuevos complejos de  $^{99m}Tc^{IV}$  (alanina  $^{99m}Tc^{IV}$ , triptofano  $^{99m}Tc^{IV}$ , etc.).

Dado que las dificultades para la formación de complejos de  $Tc^{IV}$  aumentan al crecer el pH del medio<sup>(10), (11)</sup> y en vista de que en el presente trabajo no pudieron reproducirse los resultados de "Galateanu, Yoan, et al" con  $N_2H_4$  a pH 11 como reductor, según mostraron las técnicas radiocromatográficas, se recurrió a otro método de control de reducción: espectrofotometría ultravioleta trabajando con Re. Para ello se disolvió el Re metálico, espectrofotométricamente puro, en mezclas de  $HNO_3$  y HCl concentrados, en caliente. Las soluciones de  $ReO_4^-$  así obtenidas<sup>(13)</sup> fueron estudiadas, con y sin los reductores:  $N_2H_4$ ,  $N_2H_4$ -hipofosfito y HCl- $N_2H_4$  a pH finales mayores o iguales a 7.<sup>4</sup>

El éxito en cuanto a la reducción parcial obtenida con HCl  $N_2H_4$  (60% según métodos radiocromatográficos), es corroborado por el espectro ultravioleta. Ver figs. 3, 4 y 5 Sección RESULTADOS.



---

## 2. - Para los complejos de $^{99m}\text{Tc}$ obtenidos.

Se comenzó, como en el caso anterior, por métodos radiocromatográficos. Se buscó verificación de resultados por distribución biológica de los radiofármacos en ratones de laboratorio:

a) Radiofármacos obtenidos por la técnica de reducción con  $\text{Sn}^{\text{II}}\text{-HCl}$ . Mientras los cromatogramas presentaron en todos los casos 100% de actividad en el origen ( $R_f$  0.0) en metil etil cetona -ver Tabla II, Sección RESULTADOS-, los datos de Distribución Biológica corroboraron un marcado exitoso sólo para los aminoácidos ácidos -ver Tabla III, Sección RESULTADOS. En efecto, la actividad específica en hígado, órgano de alta captación de aminoácidos, fue en todos los casos -para ácido aspártico-  $^{99m}\text{Tc}$  y ácido glutámico  $^{99m}\text{Tc}$  muy superior que en otros órganos.

En cuanto a triptofano -ver Tabla II, Sección RESULTADOS-, la acumulación de actividad considerable en pulmones -órganos característicos de captación de  $\text{TcO}_2$  hizo pensar en la posibilidad de que no hubiera formación del complejo, y que la actividad presente en el origen de los radiocromatogramas fuera sólo  $^{99m}\text{TcO}_2$ .

Se utilizó entonces, para verificación, un tercer método de control: espectrofotometría visible. Al contarse con  $\text{Re}$  metálico sólo en cantidades del orden de los miligramos, se comenzó por trabajar con otro ion central bien conocido y fácilmente asequible:  $\text{Ni}^{2+}$ , que permite establecer las características como ligando de los aminoácidos mencionados. En el caso de los ácidos aspártico y glutámico, la formación de los complejos se puede apreciar sin espectrofotómetro, por cambio de coloración de la solución.

En ambos casos se hicieron titulaciones potenciométricas, resultando el pH de viraje levemente superior al punto isoiónico del aminoácido correspondiente. Fig. 1 Sección RESULTADOS.

Los espectros de absorción obtenidos para los complejos de  $\text{Ni}^{\text{II}}$  con ácidos glutámico y aspártico, que se presentan en la Figura I, sección RESULTADOS, coinciden con lo previsto teóricamente: en efecto, al cambiar el ligando  $\text{H}_2\text{O}$ , presente en las soluciones acuosas de las sales de  $\text{Ni}^{\text{II}}$ , por ligandos nitrogenados, debe presentarse un corrimiento de los picos de absorción hacia menores longitudes de onda, tal como lo describe Carlin en "Transition Metal Chemistry"<sup>(14)</sup>.

En lo que respecta a triptofano, trabajando en condiciones similares a las de marcado con  $^{99m}\text{Tc}$ , no se obtuvieron complejos de  $\text{Ni}^{2+}$  precipitando  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  al subir el pH por encima del punto isoiónico. Los resultados de las medidas en el espectrofotómetro, de los complejos de Acido Glutámico y Acido Aspártico con  $\text{Ni}^{2+}$ , confirman la confiabilidad del método de Distribución Biológica para trabajos con complejos de coordinación de Tecnecio.

Como afirman Hambright, et. al. (15), el hecho de que el radiofármaco vaya al organo de captación preferencial previsto, luego de una gran dilución en el organismo, está señalando la presencia de complejos estables de  $^{99m}\text{Tc}$ .

En vista de los resultados favorables de los controles de los dos nuevos radiofármacos, Ac.Glutámico- $^{99m}\text{Tc}$  y Ac. Aspártico- $^{99m}\text{Tc}$ , se pasó a probarlos en ratas de laboratorio con tumores inducidos por implantación de Metil-Colantreno.

#### b) Método por reducción con $\text{N}_2\text{H}_4\text{-Cl}^-$

Como ya se dijo en la Sección CONTROLES PARA REDUCTORES, la nueva mezcla reductora presentó resultados concordantes por radiocromatografía y espectrofotometría ultravioleta - ver Sección RESULTADOS Y DISCUSION. Tabla II y Fig. 3. En cuanto a la obtención del complejo alanina  $^{99m}\text{Tc}$  según los resultados de los radiocromatogramas fue necesario ajustar el tiempo óptimo de reacción como se ve en la Sección RESULTADOS, tabla II.

La inducción de tumores en animales de laboratorio por implantación de metil-colantreno, estuvo a cargo de la Cátedra de Farmacodinamia de la Facultad de Química, bajo la dirección del Prof. Titular Dr. Hugo Trinidad. En el Anexo figura el Informe elevado por dicho docente.

El tejido tumoral, una vez realizada la Distribución Biológica de los radiofármacos, es entregado a la Cátedra de Patología General de la Facultad de Veterinaria para su estudio histológico. Esta labor estuvo a cargo del Prof. Titular Dr. E. De Stefani.

En la Sección RESULTADOS se presentan tres microfotografías del primer tumor entregado para su identificación. Fig. 2, 3 y 4.

El informe histopatológico revela el éxito de la inducción química del tumor. En el Anexo se presenta el Informe correspondiente.

Se contó solamente con cuatro ratas con tumor, que se utilizaron en: a) determinación de tiempo óptimo de espera después de la inyección i.v., que resultó ser de 30 minutos; b) distribución biológica del complejo Acido Aspártico-<sup>99m</sup>Tc, de resultado negativo; c) distribución biológica en dos ratas del complejo - Acido Glutámico- <sup>99m</sup>Tc, de las cuales una dio resultado positivo, ver tabla III, Sección RESULTADOS, donde se observa captación preferencial por el tumor.

## RESULTADOS Y DISCUSION

**TABLA I:** Eficiencia de reducción para distintos agentes reductores determinada por cromatografía ascendente sobre papel.

Agente reductor	pH	Fase móvil	Rf (Actividad máxima Tc <sup>IV</sup> )	Tc <sup>VII</sup>
H <sub>3</sub> PO <sub>2</sub>	3.5	MEC	---	0.9
H <sub>3</sub> PO <sub>2</sub>	3.5	NaCl 0.9%	---	0.7-0.8
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	3.5	MEC	---	0.9
	1.0	MEC	---	0.9
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	3.5	NaCl 0.9%	---	0.7-0.8
HCl	3.5	MEC	---	0.9
HCl	3.5	NaCl 0.9%	---	0.7-0.8
CuCl	1.0	Metil isobutil cetona	---	0.3
		MeOH 85%	---	0.8
		MEC	---	0.9
		NaCL 0.9%	---	0.7-0.8
SnCl <sub>2</sub>	3.5	MEC	0.0	---
		NaCl 0.9%	0.0	---
N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	11.0	Acetona	---	0.9
N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -H <sub>3</sub> PO <sub>2</sub>	11.0	Acetona	---	0.9
N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -Cl <sup>-</sup>	10.0	Acetona	0.0	---

TABLA II

Control de rendimiento de marcado por cromatografía ascendente.

a) Método de reducción:  $\text{Sn}^{\text{II}}\text{-HCl}$ .

Soporte: Papel Whatman 1 MM.

Solvente: MEC.

Determinación Nº	% Actividad en Rf 0.0 en los siguientes compuestos:		
	Ac. Glutámico	Ac. Aspártico	Triptofano
1	100	100	99
2	100	100	93
3	100	100	100
4	100	100	100
5	95	100	99
6	100	100	100

b) Método de reducción:  $\text{N}_2\text{H}_4\text{-Cl}^-$ , pH 10.

Soporte: Papel Whatman 1 MM.

Solvente: Acetona.

% Actividad en Rf 0.0 de:	#		
$^{99\text{mTc}}\text{-N}_2\text{H}_4\text{-Cl}^-$ pH 10	$^{99\text{mTc}}\text{-N}_2\text{H}_4\text{-Cl}^-$ alanina pH 10		
	t = 0	t = 20 mint.	t = 40 mint.
60%	30%	60%	30%

# Los resultados tabulados son valores medios.  
Ver también fig. 3



TABLA III

Distribución Biológica de los complejos sintetizada, en animales de experimentación normales.

Compuesto	Relación act. tejido/act. hígado							
	Sangre	Riñón	Bazo	Tiroides	Pulmón	Corazón	Músculo	Hígado
Ac. Glut. $^{99m}\text{Tc}$	0.04	0.06	0.14-0.15	0.05	0.14	0.015	0.03	1.00
Ac. aspártico $^{99m}\text{Tc}$	0.17	0.16	0.25	0.02	0.32	0.02	0.02	1.00
Triptófano $^{99m}\text{Tc}$	1.13	3.72	0.47	0.46	0.35	0.13	0.00	1.00

Se aprecia en la Tabla III, con respecto al ácido glutámico:

1. La fijación en bazo puede llegar al 20 y hasta 25% respecto a hígado, dado que el primero es un órgano típico de fijación de ácido glutámico.

Se ve que la nueva MM, ácido glutámico  $^{99m}\text{Tc}$  ofrece muy buenas posibilidades como radiofármaco de elección para centellografía hepática. En el caso del triptófano  $^{99m}\text{Tc}$  la absorción relativamente alta en bazo y pulmón, señala presencia de  $^{99m}\text{Tc}$  coloidal, a más de presentarse  $^{99m}\text{Tc}$  como  $\text{TcO}_4^-$  en vista de la alta actividad por gramo de órgano que se presenta en tiroides.

TABLA III B

Distribución Biológica de los complejos: Acido Glutámico  $^{99m}\text{Tc}$  y Acido Aspártico- $^{99m}\text{Tc}$ , en animales con tumores inducidos por implantación de metilcolantreno.

Complejo: Acido Aspártico- $^{99m}\text{Tc}$ .

Relación: Actividad tejido/Actividad tumor, (#)							
Sangre	Riñón	Bazo	Hígado	Pulmón	Corazón	Músculo	Tumor
4.9	24.8	26.8	80.4	25.0	1.5	0.9	1.0

Complejo: Acido Glutámico -<sup>99m</sup>Tc.

Relación: Actividad tejido/Actividad tejido peritumoral. (#)

Sangre	Riñón	Bazo	Tiroides	Hígado	Pulmón	Corazón	Músculo	Tumor	Tejido peritu moral
0.69	1.70	0.19	0.18	0.43	0.39	0.16	0.23	0.13	1.0

(#)- Actividad por gramo de tejido húmedo. Tiempo de espera de distribución biológica en cada estudio = 30 minutos.

Se aprecia, para el Acido Aspártico-<sup>99m</sup>Tc, resultado negativo de captación del complejo por parte del tumor.

En el caso del Acido Glutámico -<sup>99m</sup>Tc se aprecia una captación preferencial del complejo en la zona de tejido peritumoral (con buena vascularización) frente a la zona central necrosada del tumor.

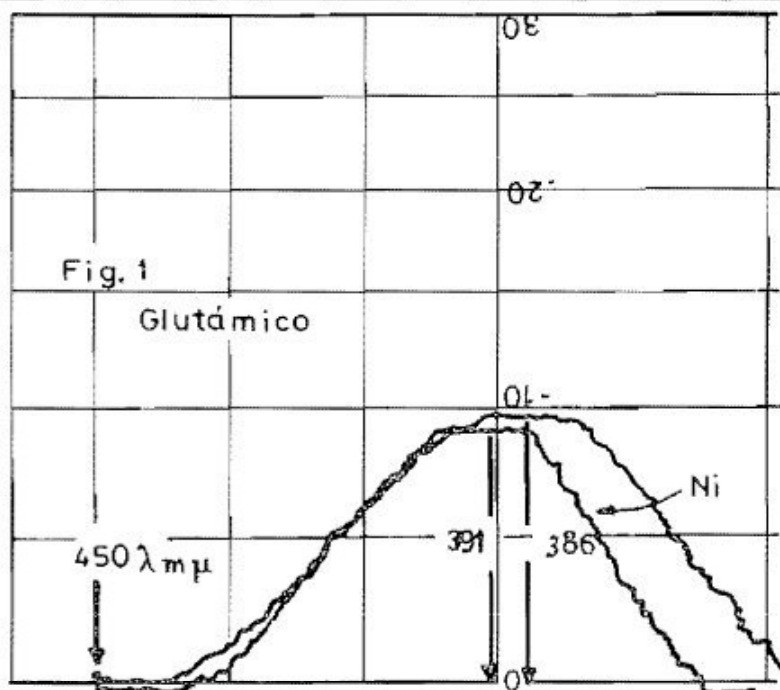


Fig. 1 - Espectro del complejo Ni(II)-Glutámico, con un máximo de absorción en 386  $\mu$  y espectro de Ni(II) como acuocación, con un máximo de absorción en 391  $\mu$ . Tal como se prevé teóricamente, al cambiar el ligando  $H_2O$  por un ligando nitrogenado, hay un corrimiento del máximo de absorción hacia longitudes de onda menores.

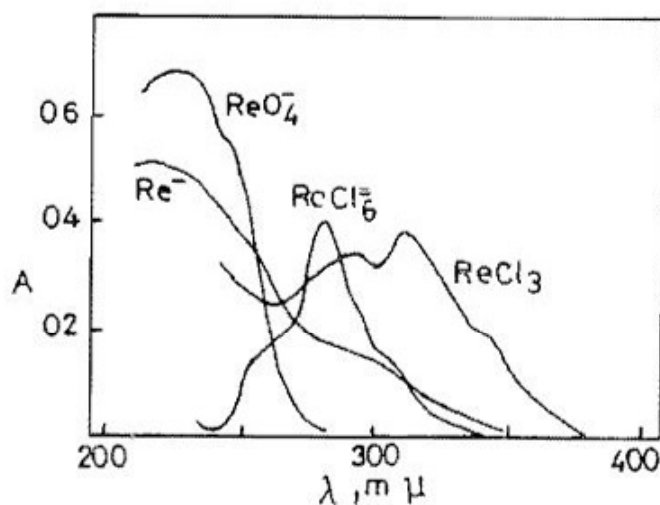


Fig. 2. Kolthoff y Elving: "Treatise on Analytical Chemistry".(12)

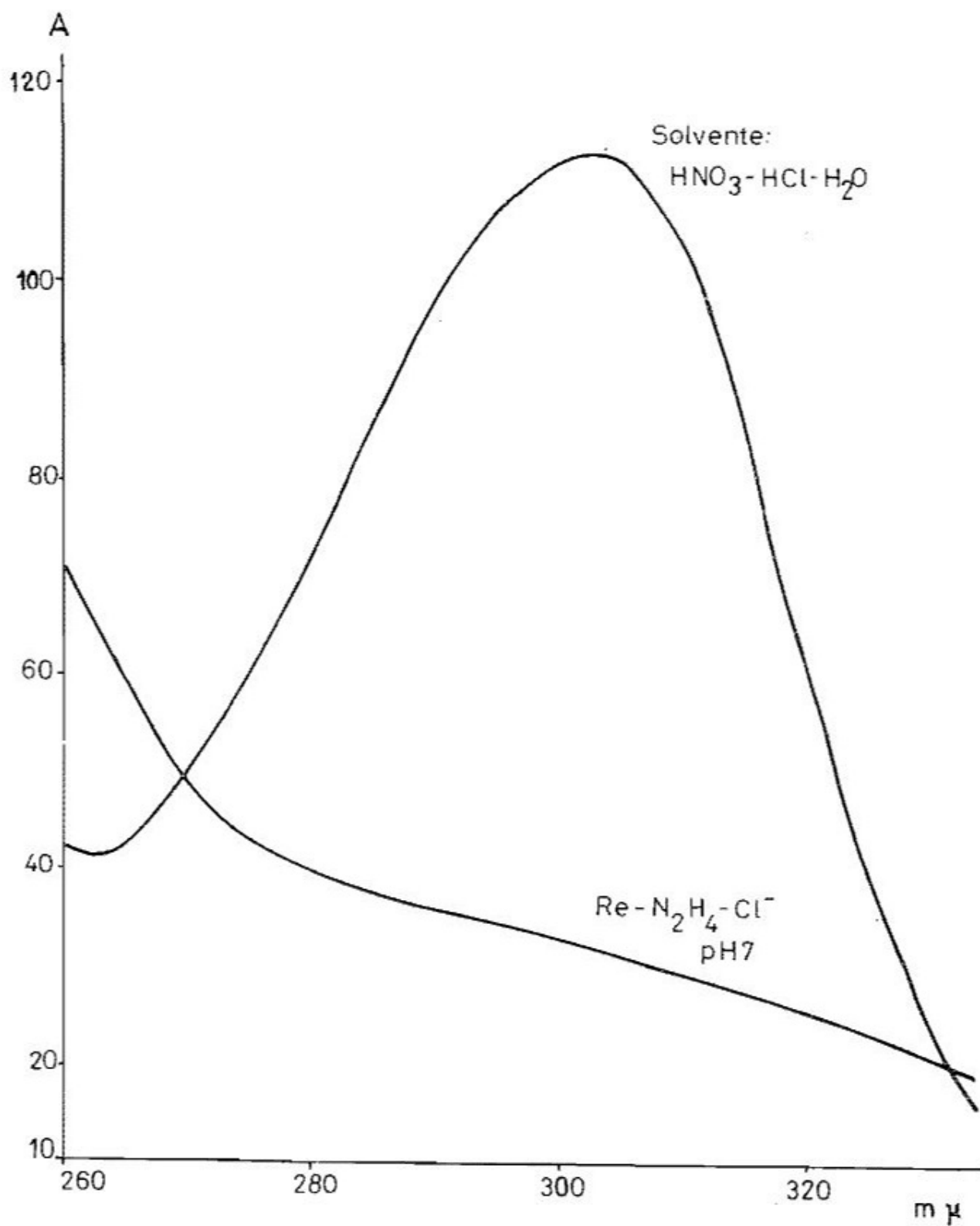
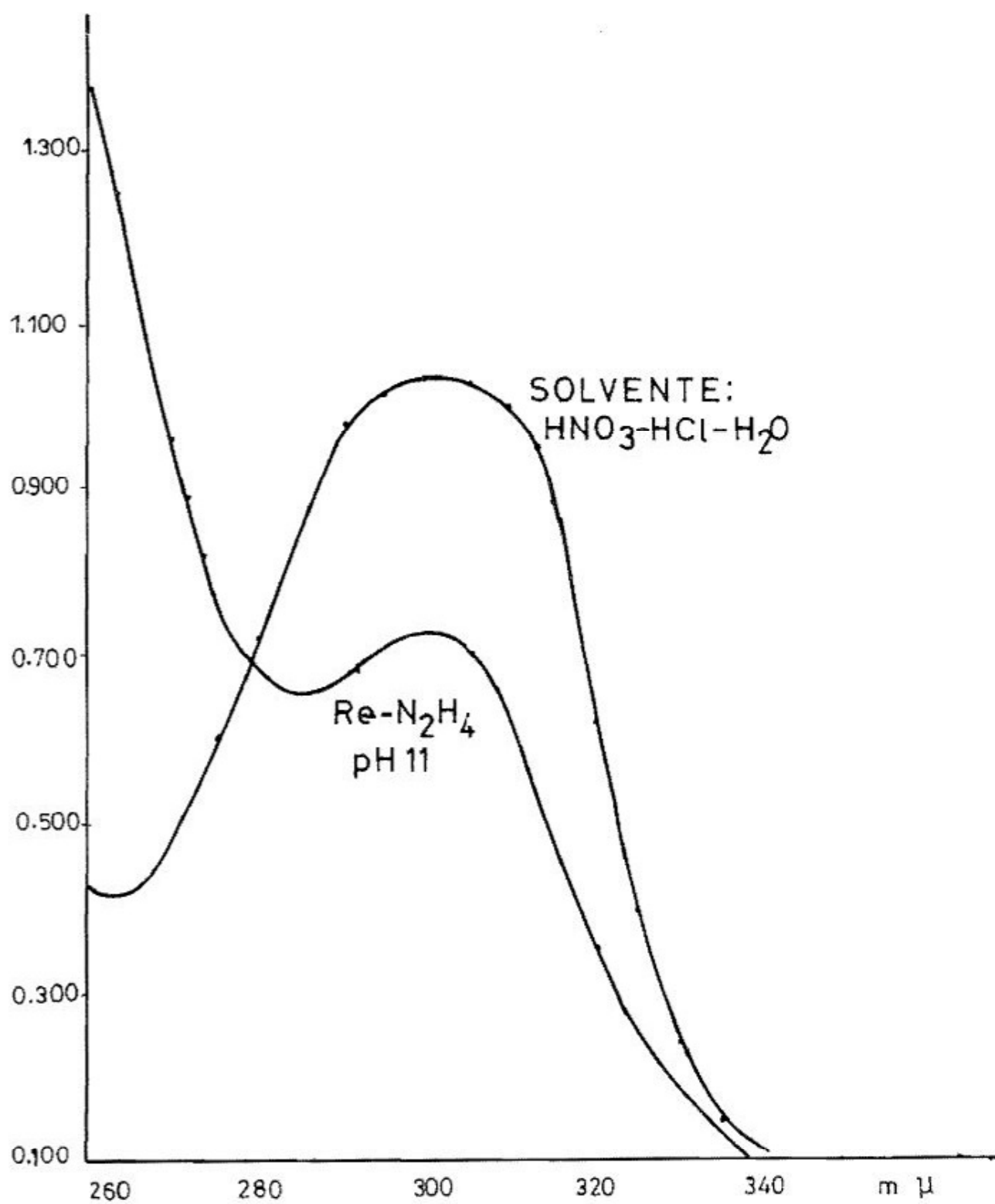


Fig. 3 - Espectro ultravioleta de compuestos de Re N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-Cl-

Fig. 4 - Espectro ultravioleta de  $\text{Re N}_2 \text{H}_4$ -



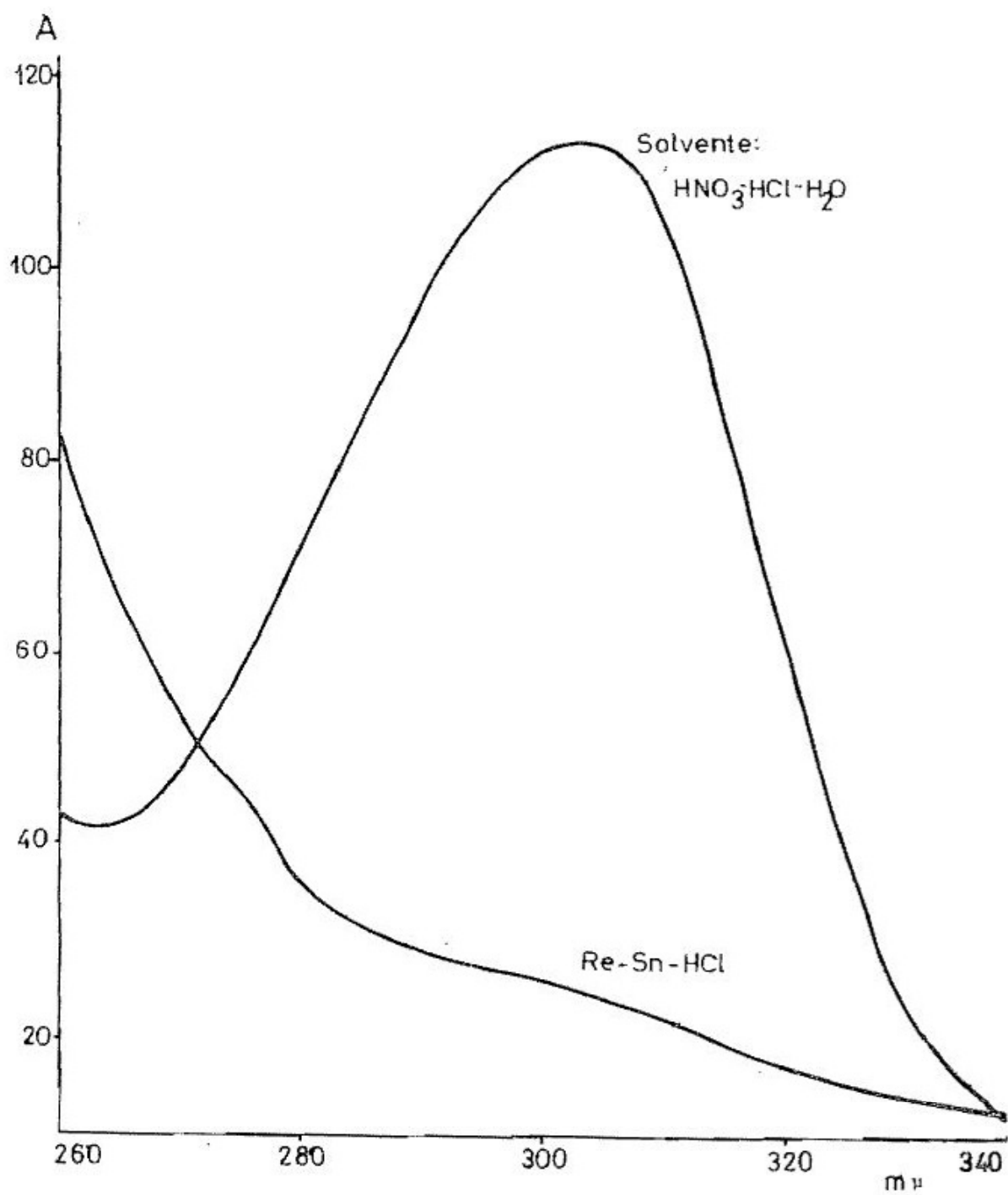


Fig. 5 - Espectro ultravioleta de compuestos de  $\text{ReSnHCl}$ .

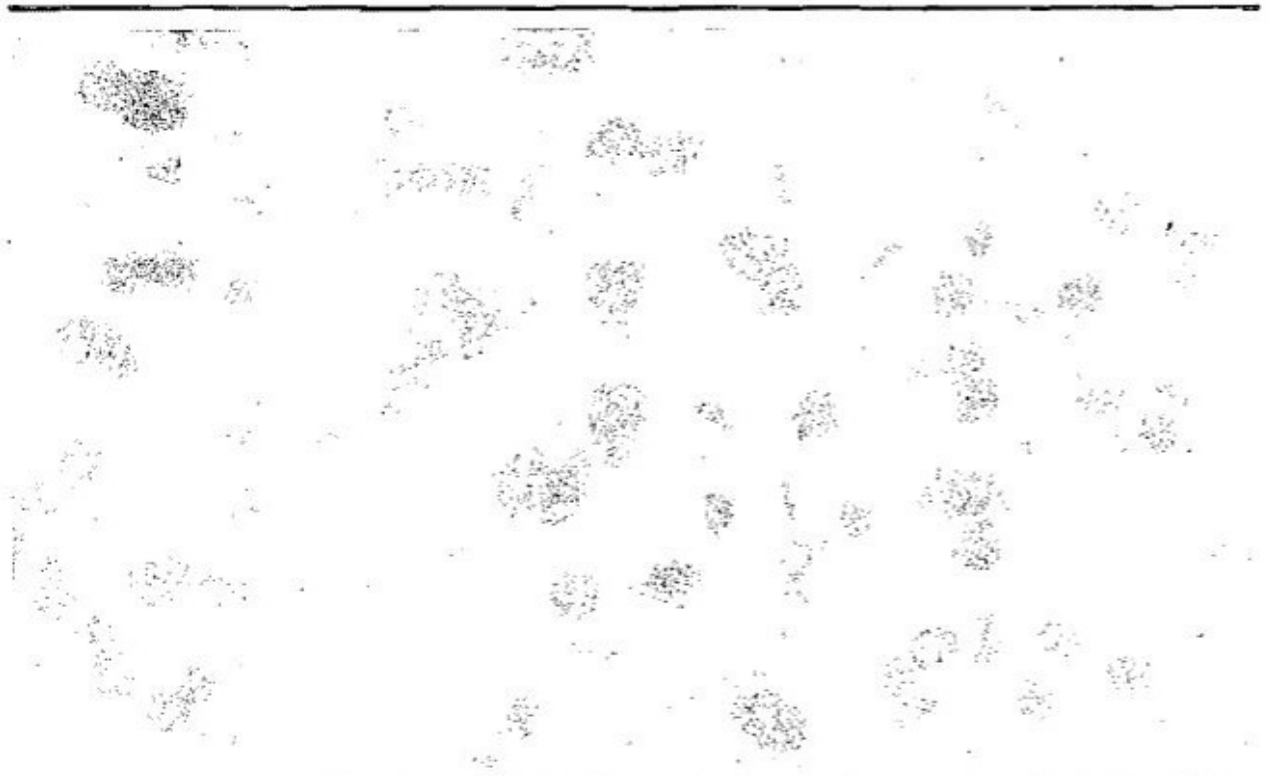


Fig. 6. Microfotografía del tumor inducido, en la que se observa el crecimiento sólido y pleomórfico correspondiente al carcinoma indiferenciado inducido químicamente. El tumor está constituido por células poligonales con vacuolización del citoplasma.

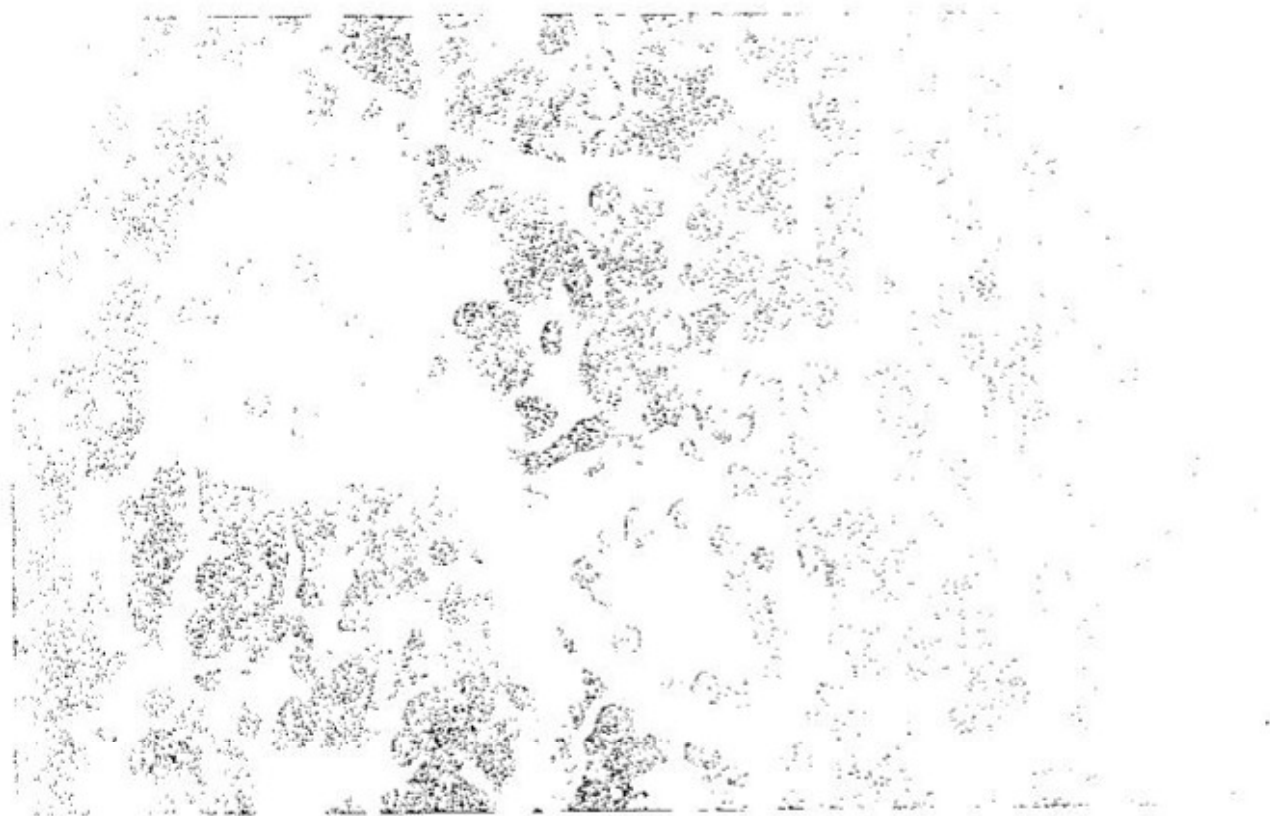


Fig. 7. Microfotografía en la que se observan 2 glándulas de estructura normal, que han sido incorporadas al tejido tumoral, evidenciando así el crecimiento infiltrante del mismo.

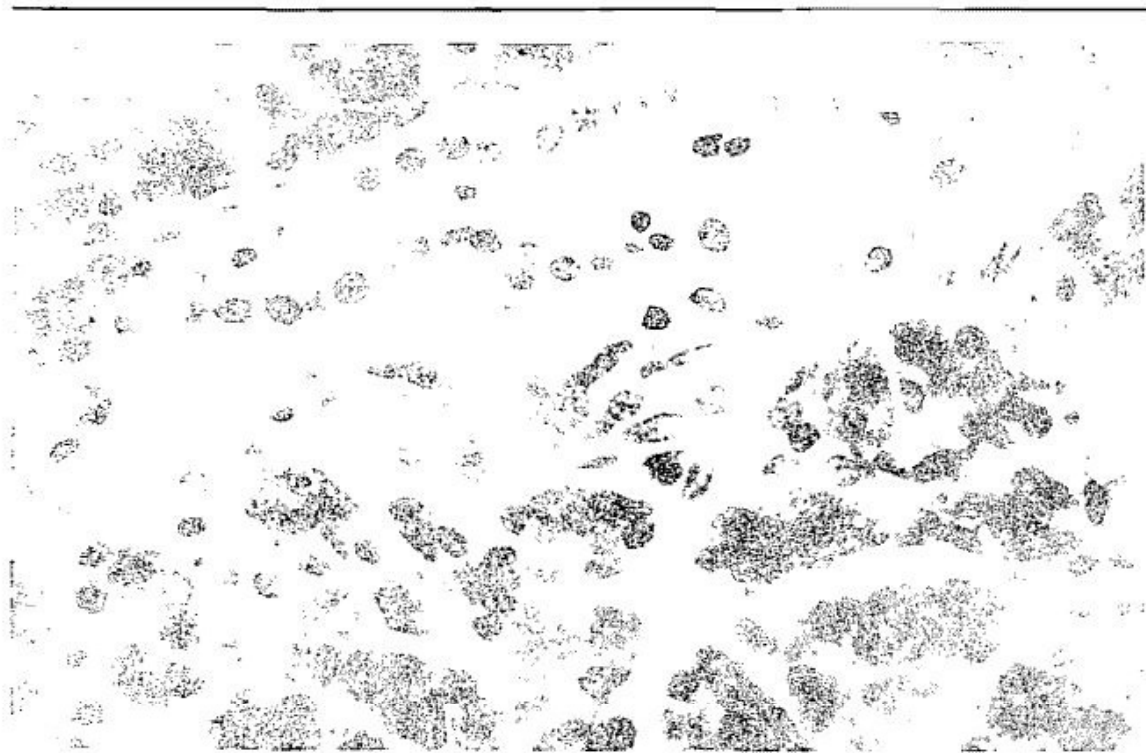


Fig. 8. Zona similar a la de la Fig. 3, en la que se aprecia la disposición de las células tumorales en pequeños alvéolos sólidos.

---

## ANEXO

### I. Informe de la Cátedra de Farmacodinamia (Fac. de Química) sobre la inducción de tumores por implantación de metilcolantreno:

“Ratas wistar de dos meses de edad aproximadamente, pertenecientes a una camada, se anestesian con éter etílico y se les implanta por incisión paralela al eje longitudinal en parte posterior de cuello, región dorsal, una cápsula con 50 mg. de metil colantreno. Al cabo de 60 a 120 días desarrollan “in situ” una masa tumoral pequeña no palpable pero que a la autopsia se identifica bien infiltrando los tejidos vecinos y que histológicamente se identifica como un adenocarcinoma”.

### II. Informe de la Cátedra de Patología General (Fac. de Veterinaria) sobre el estudio histopatológico de uno de los tumores obtenidos:

“El examen microscópico del tumor inducido, reveló la existencia de un carcinoma indiferenciado, de histogénesis probablemente glandular.

El tumor presentaba una estructura alveolar sólida y cordonal, con células poligonales. Los núcleos de las mismas revelaron claros signos de malignidad (hipercromatismo, anisocariosis y estructura cromatínica irregular con lagos de paracromatina). Los tejidos vecinos estaban infiltrados por el neoplasma y no se observaron evidencias de encapsulamiento”.

## AGRADECIMIENTO

A la colaboración prestada por:

El Prof. Titular de Farmacodinamia (Fac. de Química), Dr. H. Trinidad.

El Prof. Titular de Patología Gral. (Fac. de Veterinaria), Dr. E. De Stefani.

El Prof. Agregado de Química Inorgánica (Fac. de Química) Ing. Quím Eduardo Kremer.

---

**BIBLIOGRAFIA**

1. - *Charlson, A.J., et. al.* "Potential antitumor activity of some amino acids metal systems". *J. Clin. Hematol. Oncol.* 7(1), 293-300 (1977).
2. - *Hayes, R.L.* "Factors affecting uptake to Radioactive agents by tumour and other tissues". *Tumour localization with radioactive agents.* Proc. Panel OIEA (Vienna 1974), (1976), 31.
3. - *Javanovic, et. al.* "Visualization of malignants tumours by  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine scintigraphy". *Proc. Symp. on Medical Radioisotope Scintigraphy OIEA.* (Salzburg 6-15 Agosto 1968) II, 753.
4. - *Cotton, F.A., Wilkinson, G.* "Advanced Inorganic Chemistry". 3a. ed. (Interscience Publishers), (1972), 982.
5. - *Merlin, L.; Bernard, M.; Cohen, Y.* "Chimie du technetium: influence des systemes oxydoreducteurs sur la stabilité des complexes utilisés comme radiopharmaceutiques". *Radiopharmaceuticals and labelled compounds.* Proc. Symp. Copenhagen, 1973. OIEA. (Vienna 1973), 63-70.
6. - *Ibid* (5), 361, 395.
7. - *Re Chervo, L.* "Use of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Cu-DTPA complex as a renal function agent". *J. Nucl. Med.* 18, (1977), 62-66.
8. - *Barker, R.* "Química Orgánica de los compuestos biológicos". Ed. Alhambra, (1974), 71-74.
9. - *Persson, H.B.R.; Strand, S.E.* "Labelling processes and shortterm byodynamical behaviour of different types of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Labelled complexes". *Radiopharmaceuticals and labelled compounds.* Proc. Symp. Copenhagen, 1973. OIEA (Vienna 1973), 169-186.
10. - *Colombetti, L.G.; Barnes, W. Earl.* "Effect of chemical and radiochemical impurities from eluants on  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Labeling efficiency". *J. Nucl. Med.* 18 (1977), 273.
11. - "The radiochemistry of Technetium", USAEC, Nuclear Science Series, 3021, (1960), 9.
12. - *Kolthoff y Elving.* "Treatise on Analytical Chemistry". Vol. 7 ("Rhenium").
13. - "The radiochemistry of Rhenium" USAEC, Nuclear Science Series, N<sup>o</sup> 3028 (1961), 20.
14. - *Carlin, R.L.* "Transition metal chemistry". A series of advances, 4 (1968), 013, 06, 08.
15. - *Hambright, P., et. al.* "Chemistry of Technetium radiopharmaceuticals. I. Exploration of the tissue distribution and oxidation state consequences of Technetium (IV) in Tc-Sn-Gluconate and Tc-Sn-EHDP using carrier Tc-99." *J. Nucl. Med.* 16 (1975), 478.