

Radiofarmaceutici za hepatobilijarnu scintigrafiju: analozi iminodisirćetne kiseline obeleženi tehnecijumom-99m

Jasmina Brborić^{1*}, Mirjana Jovanović², Olivera Čudina¹

¹Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

²Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, 11221 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju: e-mail: jbrboric@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Hepatobilijarna scintigrafija (HBS) predstavlja značajnu nuklearno-medicinsku metodu za morfološka i funkciona ispitivanja hepatobilijarnog sistema. Uobičajeno se za ova ispitivanja koriste ^{99m}Tc-IDA analozi. Biološke osobine IDA analoga određene su njihovom hemijskom strukturom. Odgovarajuća molekulska masa, lipofilnost, proteinsko vezivanje, kao i vrsta i položaj supstituenata u aromatičnom sistemu imaju presudan uticaj na biokinetiku (visoko nakupljanje i brz transport kroz hepatocyte, visoku bilijarnu i minimalnu renalnu ekskreciju) ^{99m}Tc-IDA kompleksa. Pošto bilirubin ulazi u kompeticiju sa IDA analogima, hiperbilirubinemija može ograničavati primenu ^{99m}Tc-IDA analoga kao hepatobilijarnih agenasa.

Ovaj rad ima za cilj da pruži pregled najvažnijih podataka o fizičko-hemijskim i biološkim osobinama brojnih ^{99m}Tc-IDA analoga koji su sintetisani i ispitani kao potencijalni radiofarmaceutici, kao i onih koji se komercijalno koriste kao dijagnostička sredstva. Od svih IDA analoga, ^{99m}Tc-mebrofenin predstavlja agens izbora za hepatobilijarna ispitivanja u uslovima hiperbilirubinemije.

Ključne reči: ^{99m}Tc-IDA radiofarmaceutici, HIDA, mebrofenin, hepatobilijarna scintigrafija, hiperbilirubinemija

Uvod

Radiofarmaceutici su radioaktivni elementi ili jedinjenja obeležena radioizotopima, namenjena humanoj primeni, koji se upotrebljavaju u dijagnostičke ili terapijske svrhe [1]. Nuklearna medicina je interdisciplinarna oblast medicine koja se bavi njihovom primenom. 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 osobina jedinjenja koja se obeležavaju, osobina radioaktivnog izotopa i anatomskih i funkcijskih karakteristika organa. Glavni zahtev pri izboru radiofarmaceutika je da se selektivno nakuplja u ciljnom organu, i da, uz što manju dozu zračenja po pacijenta i osoblje, pruži što je moguće više korisnih informacija. Emisija gama-fotona omogućava scintigrafsko snimanje i vizualni prikaz prostorne raspodele radioaktivnosti u telu pomoću gama-kamere. Scintigrafija je metoda kojom se na osnovu vizualnog prikaza organa (scintigrama) dobija uvid u distribuciju radiofarmaceutika u telu [2]. Brzine nakupljanja ili eliminacije i mehanizmi biodistribucije radiofarmaceutika u telu odraz su fiziološki normalnih ili patoloških funkcija. Istovremeno ispitivanje i morfologije i funkcije organa predstavlja najznačajniju specifičnost nuklearne medicine, koja je razlikuje od drugih vizualnih dijagnostičkih metoda. Nuklearno-medicinske metode su jednostavne, neinvazivne, doza ozračenosti bolesnika najčešće je mnogo manja nego pri radiološkim ispitivanjima, a sporedna neželjena dejstva su vrlo retka.

Hepatobilijarna scintigrafija (HBS) je nuklearno-medicinska vizualizaciona metoda za funkciono i morfološko ispitivanje jetre i žučnih puteva. Metoda se zasniva na intravenskoj primeni specifičnih radiofarmaceutika, koji prolaze kroz hepatocite i izlučuju se u žuč, čime je omogućena vizualizacija parenhima jetre i bilijarnog sistema pomoću gama-kamere [3].

Prolazak radiofarmaceutika kroz parenhim jetre (preuzimanje iz krvi i ekskrecija u žuč) zavisi od funkcionog statusa hepatocita, kao i od koncentracije različitih egzogenih i endogenih kompetitivnih inhibitora, od kojih je najznačajniji bilirubin [4]. U okviru nuklearne gastroenterohepatologije HBS predstavlja priznatu, rutinsku neinvazivnu dijagnostičku metodu za ispitivanje protoka žuči. Metoda ima i svoje nedostatke jer se često ne može tačno odrediti mesto opstrukcije, kao ni njen uzrok, a ovi nedostaci su sve izraženiji što žutica duže traje [5].

Najvažnije indikacije za primenu HBS su: diferencijalna dijagnoza bola u desnom hipohondrijumu (odsustvo vizualizacije žučne kesice u akutnom holecistitisu), sumnja na delimičnu ili potpunu ekstrahepatičku holestazu (koje se ovom metodom mogu razlikovati), procena prolaznosti bilio-digestivnih anastomoza posle rekonstruktivnih hirurških intervencija, kao i sumnja na urođene anomalije bilijarnog sistema (atrezije,

ciste). HBS se primenjuje za dijagnostiku ikterusa, postholecistektomičnog sindroma, kao i komplikacija posle rekonstruktivnih hirurških intervencija na bilijarnom traktu i transplantaciji jetre. Ova metoda se primenjuje za funkciono ispitivanje žučne kese, kao i za dijagnostiku akutnog holecistitisa, perforacije žučne kese, povreda bilijarnog trakta, kongenitalnih bilijarnih anomalija i fistula između bilijarnog trakta i susednih organa [3].

HBS se zasniva na praćenju kinetike *i.v.* injicirane, radioaktivnim izotopom obeležene hepatotropne supstance pomoću gama-kamere [4]. Interpretacija nalaza HBS obuhvata analizu sekvencijalnih scintigrafskih snimaka, *hepato-holegrama* i specifičnih kvantitativnih parametara. U sferi funkcione dijagnostike, najegzaktniji podaci dobijaju se analizom različitih kvantitativnih parametara, dobijenih primenom specifičnih računarskih programa (*kvantitativna HBS*) [3].

Tehnecijum-99m je najvažniji dijagnostički radionuklid u savremenoj nuklearnoj medicini, a koristi se u skoro 85% dijagnostičkih postupaka. Odlične radijacione osobine tehnecijuma-99m: kratko vreme poluraspada od 6 sati, gama emiter, monoenergetski, bez dopunskog β zračenja, dozvoljavaju aplikaciju od nekoliko desetina do nekoliko stotina MBq, bez bojazni od velike ozračenosti bolesnika. Energija gama fotona od 142 KeV se lako kolimiše i daje dobru prostornu rezoluciju [6]. Pored toga, ^{99m}Tc se jednostavno dobija u obliku natrijum-pertehnetata ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) eluiranjem $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -generatora fiziološkim rastvorom. Dostupnost $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -generatora i mogućnost svakodnevnog obeležavanja preparata pertehnetatom su prednosti ^{99m}Tc -radiofarmaceutika [7].

Zahtevi koje bi idealni agens za HBS trebalo da ispunjava su: brza ekskrecija iz krvi, preuzimanje od strane hepatocita nezavisno od bilirubinemije, brz transport kroz hepatocite, visoka koncentracija u žuči, odsustvo apsorpcije u crevima, minimalna ekskrecija putem bubrega, što efikasnije obeležavanje tehnecijumom-99m, pristupačnost u obliku instant kita i netoksičnost [4].

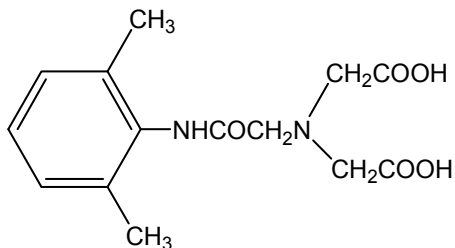
^{99m}Tc -hepatobilijarni agensi

Prvi agensi za HBS obeleženi tehnecijumom-99m bili su: penicilamin [8], tetraciklin [9], merkaptoizobuterna kiselina [10], kondenzovana jedinjenja piridoksala sa pojedinim aminokiselinama (leucinom, argininom, fenilalaninom [11]) i njihovim derivatima [12].

Godine 1975. otkrivena je nova grupa radiofarmaceutika, analoga *N*-supstituisane iminodisirćetne kiseline obeleženih tehnecijumom-99m (^{99m}Tc -IDA analozi), a njen reprezentativni predstavnik je ^{99m}Tc -HIDA (lidofenin) [13].

^{99m}Tc-IDA analozi kao hepatobilijarni agensi

Loberg i saradnici [13] su prvi sintetisali i primenili analoge iminodisirćetne kiseline obeležene tehnecijumom-99m kao radiofarmaceutike za HBS. Prvo jedinjenje iz serije IDA analoga bila je 2,6-dimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina (HIDA, lidofenin [14]), koja se smatra modelnim ligandom (*lead compound*) ove grupe jedinjenja.



Slika 1. Struktura 2,6-dimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetne kiseline (HIDA)
Figure 1. Structure of 2,6-dimethylphenylcarbamoylmethyl iminodiacetic acid (HIDA)

HIDA je analog iminodisirćetne kiseline, čiji je ostatak preko karbamoilmetilmosta vezan za aromatičan prsten. Karboksilne grupe iminodisirćetne kiseline predstavljaju hidrofilni ili polarni deo molekula, dok je aromatični prsten lipofilni, nepolarni deo molekula.

U fiziološkim uslovima ^{99m}Tc-HIDA ispunjava većinu zahteva agensa za HBS. Veliki nedostatak radiofarmaceutika ^{99m}Tc-HIDA ispoljen je u uslovima hiperbilirubinemije jer ne omogućava efikasnu primenu kod pacijenata sa povećanom koncentracijom bilirubina u krvi (maksimalno do 85 μmol/l; 5 mg/dl) [15].

^{99m}Tc-IDA analozi su organski anjoni i transportuju se u jetru vezani za serum albumine [16]. Kompleks albumin-^{99m}Tc-IDA disosuje u Disseovim prostorima (šupljinama) i posredstvom membranskih receptora na hepatocitima ^{99m}Tc-IDA ulazi u hepatocyte nošena natrijum-nezavisnim transportnim mehanizmom, slično kao i bilirubin [4, 17].

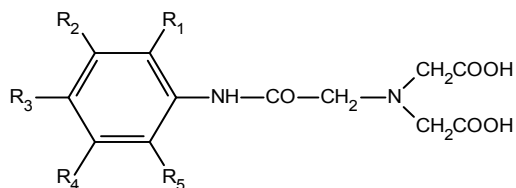
^{99m}Tc-IDA analozi i bilirubin ulaze u kompetitivnu inhibiciju za isto receptorsko mesto na molekulu albumina [4, 18]. ^{99m}Tc-IDA jedinjenja se preuzimaju od strane hepatocita i ne konjuguju se pre njihove ekskrecije. Izlučuju se u žuč u nativnom obliku, odakle se zatim transportuju u creva. Pri visokoj bilirubinemiji ulazak ^{99m}Tc-IDA analoga u hepatocyte biće znatno usporen, a to će za posledicu onemogućiti adekvatnu vizualizaciju jetre, glavnih žučnih puteva i žučne kese, kao i lokalizaciju opstrukcije.

U cilju prevazilaženja ovog nedostatka, razvoj agenasa za HBS intenzivno je nastavljen sintezom velikog broja IDA analoga sa modifikovanim benzenovim prstenom [19-22].

U literaturi se nalaze podaci o brojnim sintetisanim IDA analogima (Tabela I) koji se razlikuju prema vrsti, broju, položaju supstituenata u benzenovom prstenu.

Tabela I Sintetisani IDA analozi za hepatobilijarnu scintigrafiju.

Table I Synthesized IDA analogues for hepatobiliary scintigraphy.



R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
IDA ANALOZI SA ALKIL SUPSTITUENTIMA				
		-CH ₃		
-CH ₃				-CH ₃
-CH ₃		-CH ₃		
-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		
-CH ₃		-CH ₃		-CH ₃
		-CH ₂ CH ₃		
-CH ₂ CH ₃				-CH ₂ CH ₃
		-CH ₂ CH ₂ CH ₃		
-CH ₂ CH ₂ CH ₃				-CH ₂ CH ₂ CH ₃
		-CH(CH ₃) ₂		
-CH(CH ₃) ₂				-CH(CH ₃) ₂
-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃				
		-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃		
		-C(CH ₃) ₃		

IDA ANALOZI SA HALOGENIM SUPSTITUENTIMA				
-F				
		-F		
-F	-F	-F	-F	-F
		-Cl		
-Cl				-Cl
	-Cl		-Cl	
-Cl		-Cl		-Cl
-Cl	-Cl		-Cl	-Cl
		-Br		
	-Br	-Br		
		-I		
	-I	-I	-I	

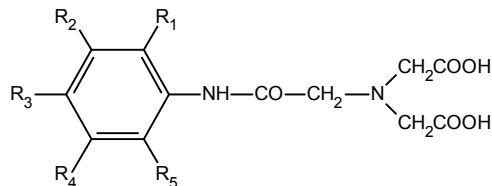
IDA ANALOZI SA ALKIL I HALOGENIM SUPSTITUENTIMA				
	-CF ₃	-Cl		
	-Cl	-CH ₃		
-CH ₂ CH ₃	-Cl			
-CH ₂ CH ₃			-Cl	
-CH ₂ CH ₃	-Cl			-CH ₂ CH ₃
-Br		-CH ₃		
	-CH ₃	-Br		
-CH ₃	-Br	-CH ₃		-CH ₃
-CH ₃	-CH ₃	-Br		-CH ₃
-CH ₂ CH ₃	-Br	-CH ₃		-CH ₂ CH ₃
-CH(CH ₃) ₂	-Br			-CH(CH ₃) ₂
	-I	-CH ₃		
-CH ₃		-I		-CH ₃
-CH ₃	-I	-CH ₃		-CH ₃
-CH ₂ CH ₃	-I			-CH ₂ CH ₃

U cilju dizajniranja potencijalnih ^{99m}Tc-radiofarmaceutika za HBS, kod kojih bilirubin neće predstavljati ograničavajući faktor za njihovu primenu u dijagnostici sintetisana su tri nova halogenovana IDA analoga: DIJODIDA, DIETILJODIDA i DIIZOPROPILJODIDA i ispitane su njihove fizičko-hemijske i biološke osobine [23-25].

Pored IDA analoga sa benzenovim prstenom, tokom osamdesetih godina prošlog veka ispitani su veliki broj IDA analoga koji u strukturi sadrže supstituisan 2-aminopirrol [26-27]. Sintetisana i obeležena jedinjenja su upoređena sa radiofarmaceutikom ^{99m}Tc-HIDA [14, 28].

Sintetisani su i različiti IDA analozi koji umesto benzena sadrže naftalen i njemu srodne prstenove [29], supstituisan benzotiazol ili pirazol [30], kao i benzimidazol [31, 32]. Brojna ispitivanja na laboratorijskim životinjama su pokazala da od nekoliko različitih modelnih liganada, IDA analozi sa supstituisanim benzenovim prstenom imaju bolje hepatobilijarne osobine u odnosu na IDA analoge sa supstituisanim heterociklusima (pirrol, pirazol, benzimidazol ili benzotiazol [26-32]).

Od veoma velikog broja sintetisanih IDA analoga kliničku primenu našlo je samo nekoliko od njih (Tabela II).

Tabela II IDA analozi koji se klinički primenjuju**Table II** IDA analogues for clinical applications

IDA analog	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
HIDA, lidofenin [♦] [33]	-CH ₃				-CH ₃
EHIDA, etifenin [*] [34,35]	-CH ₂ CH ₃				-CH ₂ CH ₃
PIPIDA, iprofenin			-CH(CH ₃) ₂		
DISIDA, disofenin [♦] [33,35]	-CH(CH ₃) ₂				-CH(CH ₃) ₂
BIDA, butilfenin			-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃		
JOTIDA, jodofenin	-CH ₃	-I	-CH ₃		-CH ₃
JODIDA, galtifenin	-CH ₂ CH ₃	-I			-CH ₂ CH ₃
BROMIDA, mebrotfenin ^{*,♦} [33,34]	-CH ₃	-Br	-CH ₃		-CH ₃

^{*} Oficinalni po Ph.Eur 7.0

[♦] Oficinalni po USP 28

U Američkoj farmakopeji (USP 28) oficinalna su tri ^{99m}Tc-IDA analoga: lidofenin (HIDA), disofenin (DISIDA) i mebrotfenin (BROMIDA) [33]. Oficinalni preparati u Evropskoj farmakopeji (Ph. Eur. 7.0) su etifenin (EHIDA) i mebrotfenin (BROMIDA) u obliku tehnecijum (^{99m}Tc) etifenin i (^{99m}Tc) mebrotfenin injekcija [34].

Fizičko-hemijske osobine IDA analoga

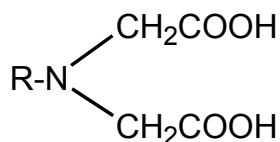
Kiselinske konstante IDA analoga

U hemijskom pogledu, IDA analozi predstavljaju u vodi teško rastvorljive protolite i mogu da učestvuju u raznovrsnim homogenim i heterogenim protolitičkim ravnotežama. Proučavanje ovih ravnoteža i određivanje odgovarajućih ravnotežnih konstanti omogućava određivanje raspodele ravnotežnih čestica (neutralnih molekula i jona) i rastvorljivosti u zavisnosti od pH vrednosti. Na osnovu ravnotežnih konstanti određenih u heterogenom sistemu mogu se izračunati kiselinske konstante ispitivanih IDA analoga. Ovo je od posebnog značaja za one IDA analoge kod kojih se, zbog male rastvorljivosti ili malih razlika u apsorpcionim spektrima konjugovanih kiselinsko-baznih parova, ne mogu primeniti klasične metode za određivanje kiselinskih konstanti. Podaci koji se odnose na brojne vrednosti kiselinskih konstanti IDA analoga su oskudni. U radovima Schwarzenbacha i saradnika [36] uglavnom se mogu naći podaci za neke

alifatične IDA analoge (Tabela III), ali nema onih koji se odnose na danas klinički najviše korišćene IDA analoge za HBS.

Tabela III Kiselinske konstante nekih *N*-supstituisanih IDA analoga

Table III Ionization constants of some *N*-substituted IDA analogues



Jedinjenje	R	p <i>K</i> ₁	p <i>K</i> ₂	p <i>K</i> ₃	p <i>K</i> ₄
1	CH ₃ -	1,82	2,22	9,59	/
2	n-C ₆ H ₁₃ -	1,55	2,37	10,41	/
3	n-C ₁₈ H ₃₇ -		5,64-7,61	9,4-10,65	/
4	4-BrC ₆ H ₄ NHCOCH ₂ -	1,60	2,20	5,90	n.o.*
5	NH ₂ COCH ₂ -		2,30	6,60	/
6	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃ NHCOCH ₂ -		2,70	6,20	n.o.*
7	4-I-2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₂ NHCOCH ₂ -	1,70	2,44	6,29	10,91
8	2,4-(I) ₂ -6-CH ₃ C ₆ H ₂ NHCOCH ₂ -	1,30	2,52	5,86	10,90

n.o.* - nije određena

Shodno literaturnim podacima IDA ima p*K*₁ i p*K*₂ vrednosti koje odgovaraju prvoj i drugoj karboksilnoj grupi, u opsegu od 1,82 do 2,58 i p*K*₃ (amino grupa) od 9,30 do 9,60 [37]. Za prvosintetisano jedinjenje iz grupe IDA analoga, 2,6-dimetilfenil-karbamoilmetil iminodisircetnu kiselinu (HIDA), Loberg i Fields [38] su primenom potenciometrijske titracije izračunali vrednosti kiselinskih konstanti p*K*_a= 2,7 i p*K*_a = 6,2 ali bez navođenja uslova koji se odnose na jonsku jačinu i temperaturu.

U radu Haggmana i saradnika [39] dati su podaci za kiselinske konstante IDA analoga sa različitom dužinom alkil lanaca (metil, *n*-heksil i *n*-oktadecil). Supstitucija vodonikovog atoma amino grupe iminodisircetne kiseline radikalima kratkih alkil lanaca nema uticaja na p*K*₁ i p*K*₂, dok supstitucija radikalima dužih alkil lanaca ima veliki uticaj na ove vrednosti, zbog asocijacije. Prva karboksilna grupa je vrlo kisela i njena p*K* vrednost nije određena, dok je kiselost druge karboksilne grupe znatno manja, p*K*₂=5,5-7,5. Kisele osobine protonovane amino grupe (konjugovane kiseline) su potpuno nezavisne od stanja agregacije (p*K*₃=9,4-10,6). Supstitucija drugim grupama znatno utiče na protolizu protonovane amino grupe, ali ne utiče na p*K* vrednost karboksilnih grupa [40]. Ovaj uticaj je prikazan u Tabeli 3 (jedinjenja 4-7).

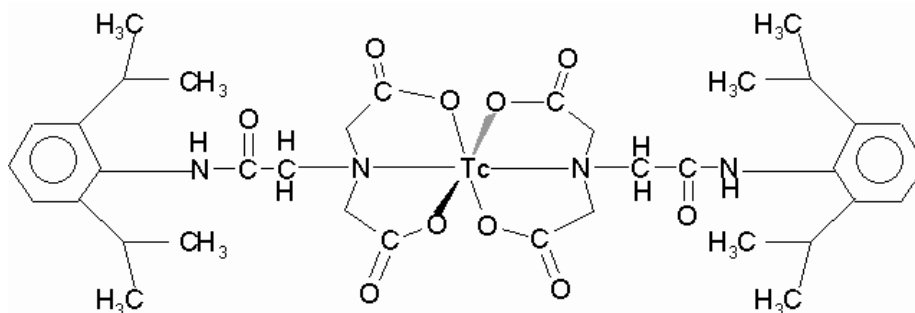
Primenom potenciometrijske titracije, pri konstantnoj jonskoj jačini 0,1 M (NaClO_4) i na temperaturi od 25°C određene su kiselinske konstante liganda METILJODIDA (Tab. 3, jedinjenje 7) [41], a kiselinske konstante liganda DIJODIDA (Tab. 3, jedinjenje 8) [42] određene su istom metodom, pri konstantnoj jonskoj jačini 0,1 M (NaCl), na 25°C . Konstantu K_1 liganda DIJODIDA nije bilo moguće odrediti direktnom primenom potenciometrijske titracije, pa je ona određena indirektno, na osnovu ravnotežnih konstanti dobijenih u heterogenom sistemu, pri jonskoj jačini 1M (HCl i NaCl).

Pošto građenje kompleksa IDA analoga sa tehnećijumom-99m zavisi od fizičko-hemijskih osobina liganda, naročito od njegovog stepena jonizacije izraženog kao pK vrednost, ovi podaci su značajni za određivanje uslova formiranja kompleksa i razumevanje njegove strukture.

Kompleksi IDA analoga sa tehnećijumom-99m

Veoma niske koncentracije ^{99m}Tc (10^{-10} M) u ^{99m}Tc -kompleksima i slabo poznavanje hemije ^{99m}Tc -a [43,44] uticali su na usporen razvoj novih ^{99m}Tc -radiofarmaceutika. Dizajniranje ^{99m}Tc -radiofarmaceutika je olakšano primenom novih tehnika za dobijanje informacija o strukturi kompleksa, kojima je bilo moguće odrediti stehiometrijski odnos liganda i tehnećijuma u ^{99m}Tc -kompleksima pri koncentracijama nižim od 10^{-13} M [45, 46].

^{99m}Tc -IDA analozi koji se primenjuju kao hepatobilijarni agensi predstavljaju Tc(III)-helate u molskom odnosu 1:2, u kojima je svaki ligand vezan za Tc(III)-centar preko jednog imino azota i dva karboksilatna kiseonika [14,45,47]. ^{99m}Tc -IDA kompleksi imaju negativno naelektrisanje, polarni su i u visokom stepenu se vezuju za proteine plazme. Kompleks IDA analoga (2,6-diizopropilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetne kiseline /DISIDA/) sa tehnećijumom-99m [48] prikazan je na Slici 2.



Slika 2. ^{99m}Tc -DISIDA kompleks
Figure 2. ^{99m}Tc -DISIDA complex

IDA analozi postaju hepatobilijarni dijagnostički agensi tek nakon obeležavanja tehnećijumom-99m. Tehnećijum se u eluatu nalazi kao pertehnetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$), koji je njegov najstabilniji oblik u vodenom rastvoru (nereaktivan je i ne vezuje se za kompleksirajuće agense) pa je neophodno da se izvrši redukcija $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ u $^{99m}\text{Tc}^{3+}$, $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ ili $^{99m}\text{Tc}^{5+}$. Kao redukciona sredstva mogu se koristiti: koncentrovana hlorovodonična kiselina [49], gvožđe(II)-sulfat [50], askorbinska kiselina sa gvožđe(III)-hloridom [51], natrijum-borhidrid (NaBH_4) [52], ali se za redukciju najčešće koristi kalaj (II)-hlorid, dihidrat u kiseloj sredini [53, 54]. Kako se, bez obzira na korišćen redukcionog postupka, dobijaju kompleksi istog biološkog ponašanja, zaključeno je da kalaj ne ulazi u sastav ovih kompleksa [14].

Da bi se obezbedila potpuna redukcija pertehnetata, Sn(II)-joni se obično dodaju u višku. Redukcija $^{99m}\text{TcO}_4^-$ može biti praćena nizom konkurentskih reakcija, na prvom mestu reakcijama hidrolize redukovanog tehnećijuma, kao i Sn(II)-jona. Hidroliza Sn(II)-jona je bila predmet brojnih ispitivanja [55-57], a glavna poteškoća vezana za proučavanje hidrolize je njena laka oksidacija u Sn(IV)-jon pod dejstvom atmosferskog kiseonika, naročito pri višem pH. Hidrolizom redukovanog ^{99m}Tc , u zavisnosti od pH mogu nastati različite hidrolitičke vrste: $^{99m}\text{TcO}_2$, $^{99m}\text{TcO}^{+2}$ ili $^{99m}\text{TcOOH}^+$. Nastali hidrolitički kompleksi kalaja mogu da vezuju redukovani ^{99m}Tc , odnosno mogu da konkurišu helatnom agensu u procesu obeležavanja, što za posledicu ima smanjen prinos obeležavanja [53].

Radiohemijaska čistoća ^{99m}Tc -IDA radiofarmaceutika

Kontrola kvaliteta ^{99m}Tc -IDA radiofarmaceutika vrši se nakon svakog obeležavanja i pre njegove primene, kako od strane samih proizvođača, tako i u nuklearno-medicinskim centrima.

Po Ph. Jug. V [58] radiohemijaska čistoća predstavlja odnos radioaktivnosti datog radionuklida koji je prisutan u izvoru u određenom hemijskom obliku prema ukupnoj radioaktivnosti istog radionuklida prisutnog u izvoru, izražen u %. U preparatima obeleženim tehnećijumom-99m, mogu biti prisutna tri oblika ^{99m}Tc : a) ^{99m}Tc -helat, jedino poželjan, koji je nastao vezivanjem redukovanog ^{99m}Tc i helatnog agensa, b) slobodni ^{99m}Tc u obliku neredukovanog pertehnetata ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) i c) hidrolizovani ^{99m}Tc ($^{99m}\text{TcO}_2$), koji ne stupa u reakciju sa helatnim agensom, kao i redukovani tehnećijum koji je vezan za hidrolizovani kalaj Sn(OH)_2 [53].

Da bi se mogao primeniti u dijagnostičke svrhe, dominantni oblik u radiofarmaceuticima mora biti ^{99m}Tc -helat, dok slobodni i hidrolizovani oblici tehnećijuma treba da su zastupljeni u što manjim koncentracijama (dozvoljeno je do 5% od ukupne aktivnosti preparata [59], jer u znatnoj meri smanjuju kvalitet radiofarmaceutika, zbog drugačijeg biokinetičkog ponašanja.

U nuklearno-medicinskim laboratorijama određivanje radiohemijske čistoće se izvodi rutinski, primenom brzih i pouzdanih metoda. Za određivanje radiohemijske čistoće, može se koristiti bilo koja analitička separaciona metoda, ali je zbog brzine i jednostavnosti najprihvatljivija TLC, a za izvesne preparate i elektroforeza [60].

Za kontrolu kvaliteta kompleksa ^{99m}Tc -IDA analoga, najbolja kvantifikacija slobodnog pertehnetata izvodi se korišćenjem, komercijalno lako dostupne, instant hromatografije na tankom sloju ITLC (SA), primenom 10% NaCl kao mobilne faze [61]. Koloidni ili redukovani tehnećijum-hidrolizat se razdvaja od drugih komponenata korišćenjem Gelman ITLC (SG) gde se kao mobilna faza koriste različiti rastvarači: metanol, acetonitril/voda, destilovana voda, 0,9% NaCl [62]. Alternativni sistem zasnovan je na papirnoj hromatografiji, gde se rezultat dobija tokom 20-60 minuta. Billinghamurst i saradnici [63] su razvili i validirali nov postupak za kontrolu kvaliteta radiofarmaceutika ^{99m}Tc -BROMIDA (mebrofenin) i ^{99m}Tc -DISIDA (disofenin), zasnovan na frakcionom eluiranju na C_{18} Sep-pakTM koloni, a dobijene vrednosti su komparabilne sa vrednostima dobijenim korišćenjem standardnog ITLC postupka.

Korelacija strukture i hepatobilijarnih osobina IDA analoga

HIDA (videti Sliku 1) je modelni ligand klase radiofarmaceutika koji sadrže *N*-supstituisanu iminodisircetnu kiselinu. Ostatak iminodisircetne kiseline je preko karbamoilmetilmosta vezan za aromatičan prsten, tako da karboksilne grupe iminodisircetne kiseline predstavljaju hidrofilni (polarni) deo molekula, a aromatični prsten lipofilni (nepolarni) deo molekula. Odnos hidrofilnih i lipofilnih delova molekula ima uticaja na hepatobilijarne osobine IDA analoga. Supstitucija u benzenovom prstenu IDA analoga (vrsta supstituenata i položajna izomerija) može bitno uticati na njihovo biološko ponašanje, tj. bilijarnu i renalnu ekskreciju, dok supstitucija u ostatku iminodisircetne kiseline ne dovodi do poboljšanja hepatobilijarnih osobina.

Uvođenje dužih alkil supstituenata ili halogena u benzenov prsten povećava lipofilnost i proteinsko vezivanje IDA analoga, što za posledicu ima povećanje klirensa jetre, smanjenje renalne ekskrecije i smanjenje kompetitivnog efekta bilirubina.

Firnau [64] navodi neke od uslova koje mora da ispunjava helat da bi bio efikasan agens za HBS: mora da ima molekulsku masu između 300 i 1000, da bude organski anjon i da se vezuje za albumine.

Jedan od prvih pokušaja u uspostavljanju odnosa struktura-aktivnost IDA analoga bio je rad Burnsa i saradnika iz 1977. godine [65], koji govori o linearnosti između bilijarne ekskrecije kod miševa i prirodnog logaritma količnika apsolutne vrednosti molekulske mase i naelektrisanja ^{99m}Tc -helata.

Subramanian i saradnici [66] su proučili biološke osobine nekoliko sintetisanih jedinjenja i utvrdili da se uvođenjem etil umesto metil grupa u benzenov prsten dobija

analog EHIDA, čiji kompleks $^{99m}\text{Tc-EHIDA}$ ima veću bilijarnu i nižu renalnu ekskreciju u poređenju sa kompleksom $^{99m}\text{Tc-HIDA}$. Kasnije je utvrđeno da je kod pacijenata sa povišenom koncentracijom bilirubina u krvi *p*-butil-IDA ($^{99m}\text{Tc-BIDA}$) efikasnija od radiofarmaceutika $^{99m}\text{Tc-HIDA}$ i $^{99m}\text{Tc-EHIDA}$, ali ne i od radiofarmaceutika $^{99m}\text{Tc-DISIDA}$ [67].

Chiotellis i Varvarigou [68] su sintetisali seriju od tridesetak acetanilido i alifatičnih IDA analoga, obeležili ih tehnecijumom-99m, ispitali njihovu biodistribuciju i uporedili rezultate sa rezultatima biodistribucije 2,6-dietil-IDA ($^{99m}\text{Tc-EHIDA}$), koja se rutinski koristi za vizualizaciju hepatobilijarnog trakta. Sintetisan je i jedan HIDA homolog kod koga se umesto karbamoil*metil* mosta nalazi karbamoil*etil* most. Rezultati biodistribucije (renalna ekskrecija veća od 35%, a bilijarna manja od 15%) nedvosmisleno ukazuju da je za $^{99m}\text{Tc-IDA}$ analoge, kao hepatobilijarne agense, neophodno da karbamoil*metil* most povezuje ostatak IDA sa supstituisanim fenil radikalom. Takođe, supstitucija metilenskih grupa u iminodisirćetnoj kiselini negativno utiče na biodistribuciju dovodeći do povećanja renalne, a smanjenja bilijarne ekskrecije.

Biokinetika $^{99m}\text{Tc-IDA}$ analoga zavisi od molekulske mase, lipofilnosti, proteinskog vezivanja, prirode i položaja supstituenata u aromatičnom sistemu [69]. Zamena metil grupa etil grupama u položaju 2 i 6 benzenovog prstena IDA analoga povećava lipofilnost, što dovodi do povećanja bilijarne ekskrecije i redukcije renalne [70]. Takođe, zamena metil grupa u *o*-položajima benzenovog prstena izopropil grupama dovodi do smanjenja renalne ekskrecije. Chiotellis i saradnici [71] su utvrdili da polarnija jedinjenja imaju brži hepatični klirens, kao i *o*-supstituisani analozi u odnosu na odgovarajuće *p*-analoge. U okviru proučavanja veze strukture i biodistribucije izvesnih kompleksa $^{99m}\text{Tc-o-hidroksibenzil iminodisirćetne kiseline}$, Maddalena i autori [72] su zaključili da se uvođenjem velikog alkil supstituenta u benzenov prsten liganda poboljšava hepatobilijarna ekskrecija, ali se smanjuje stabilnost kompleksa. Povećanje lipofilnosti kompleksa uvođenjem halogena u benzenov prsten ima značajan efekat na smanjenje renalne ekskrecije. Step en proteinskog vezivanja je u direktnoj vezi sa lipofilnošću kompleksa. Sa porastom lipofilnosti renalni klirens opada, a hepatični klirens se povećava. Rezultati ovog rada su potvrdili da se lipofilnost i proteinsko vezivanje mogu koristiti za predviđanje *in vivo* distribucije $^{99m}\text{Tc-IDA}$ analoga. Hepatotransportno vreme nije bilo moguće predvideti na osnovu lipofilnosti liganada ili proteinskog vezivanja kompleksa. Međutim, utvrđeno je da se kraće hepatotransportno vreme može postići dizajniranjem analoga sa malim alkil supstituentima u *o*-položaju i sa dodatnim supstituentima u *m*- i *p*-položajima koji obezbeđuju potrebnu lipofilnost.

Lipofilnost IDA analoga je značajna osobina koja utiče na biološko ponašanje $^{99m}\text{Tc-IDA}$ radiofarmaceutika. Povezanost hepatobilijarnih osobina IDA analoga i vrednosti deobnog koeficijenta ($\log P$) omogućava da se na osnovu izračunatih deobnih

koeficijenta različitih teorijski mogućih halogenovanih IDA analoga procene njihove biološke osobine i izvrši izbor najpogodnijeg liganda za sintezu i dizajniranje novog radiofarmaceutika za HBS [73,74]

Halogenovani ^{99m}Tc -IDA analozi za hepatobilijarnu scintigrafiju

Nova generacija IDA analoga nastala je uvođenjem halogena u benzenov prsten, jer je utvrđeno da su halogenovani IDA analozi visoko specifični agensi za hepatobilijarnu scintigrafiju, tj. da prisustvo broma i joda u aromatičnoj strukturi IDA analoga dovodi do značajnog poboljšanja hepatobilijarnih osobina.

Mnogobrojna biološka i klinička ispitivanja pokazala su nesumnjivu prednost halogenovanih IDA analoga nad različitim alkil-IDA analogima, pa se kao najbolji IDA analozi za HBS u literaturi navode 3-bromo-2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina (^{99m}Tc -BROMIDA, mebrofenin) [75-77] i 3-jodo-2,6-dietilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina (^{99m}Tc -JODIDA) [78, 79]. Efikasnost radiofarmaceutika ^{99m}Tc -JODIDA i ^{99m}Tc -DISIDA ispitana je i upoređena u uslovima hiperbilirubinemije [78]. Kod pacijenata sa koncentracijom bilirubina između 16 $\mu\text{mol/l}$ i 66 $\mu\text{mol/l}$ (1,1 mg/dl i 3,9 mg/dl) oba radiofarmaceutika daju slične rezultate. U slučaju pacijenata sa ukupnim bilirubinom od 102 $\mu\text{mol/l}$ do 1303 $\mu\text{mol/l}$ (6 mg/dl i 76 mg/dl) ^{99m}Tc -JODIDA je pokazala bitnu dijagnostičku prednost u odnosu na radiofarmaceutik ^{99m}Tc -DISIDA.

Kapuscinski i saradnici [80] su uporedili puteve i kinetiku ekskrecije četiri ^{99m}Tc -IDA analoga /HEPIDA (2,4-dimetil-IDA), BIDA (*p*-butil-IDA), JODIDA (3-jodo-2,6-dietil-IDA) i BROMIDA (3-bromo-2,4,6-trimetil-IDA)/. ^{99m}Tc -HEPIDA je pokazala značajnu renalnu eliminaciju, dok ostala tri kompleksa imaju skoro potpunu bilijarnu ekskreciju. Optimalni parametri su dobijeni za radiofarmaceutike ^{99m}Tc -BROMIDA i ^{99m}Tc -JODIDA.

Kod radiofarmaceutika ^{99m}Tc -BROMIDA supstitucija metil grupama u *o*- i *p*-položajima, kao i bromom u *m*-položaju benzenovog prstena povećava hepaticnu ekstrakciju, smanjuje hepatocelularno tranzitno vreme, utiče u visokom stepenu na rezistenciju prema kompetitivnim efektima bilirubina i smanjuje renalnu ekskreciju u poređenju sa nehalogenovanim jedinjenjima. Klinička ispitivanja Klingensmitha i saradnika [75] izvedena sa radiofarmaceutikom ^{99m}Tc -BROMIDA pokazala su da ima višu bilijarnu i nižu renalnu ekskreciju nego ^{99m}Tc -DISIDA, bez obzira na činjenicu da li se radi o ispitanicima sa normalnom ili izmenjenom hepatocitnom funkcijom, te se može zaključiti da ^{99m}Tc -BROMIDA ima bolje hepatobilijarne osobine od radiofarmaceutika ^{99m}Tc -DISIDA.

^{99m}Tc -BROMIDA je korišćena u brojnim eksperimentima na laboratorijskim životinjama i u različitim kliničkim ispitivanjima. Utvrđeno je da ^{99m}Tc -BROMIDA ima nisku toksičnost, brzo nakupljanje u hepatocitima i brzu ekskreciju u bilijarni sistem.

^{99m}Tc -BROMIDA ima višu bilijarnu ekskreciju od ^{99m}Tc -EHIDA što rezultuje boljom vizualizacijom bilijarnog sistema. Renalna ekskrecija radiofarmaceutika ^{99m}Tc -BROMIDA je najniža od ispitivanih ^{99m}Tc -IDA analoga. Zapažen je slabiji uticaj bilirubina na njen klirens iz krvi. Preliminarna klinička ispitivanja na pacijentima bila su zadovoljavajuća jer je pogodnija za upotrebu od drugih IDA analoga u slučajevima hiperbilirubinemije. Hepatobilijarni sistem je jasno vizualizovan čak i kod pacijenata sa serumskim nivom bilirubina do 476 $\mu\text{mol/l}$ (28 mg/dl). Nesumnjiva prednost radiofarmaceutika ^{99m}Tc -BROMIDA nad drugim hepatobilijarnim agensima pokazana je i u drugim radovima [81-84]. Ekman i saradnici su koristili radiofarmaceutik ^{99m}Tc -JODIDA za procenu hepatocitne funkcije i hepatobilijarnog sistema [85]. Cilj je bio da se ispita mogućnost praćenja funkcije jetre računanjem klirensa ^{99m}Tc -JODIDA u krvi. Može se zaključiti da je klirens ^{99m}Tc -JODIDA, zasnovan na jednostavnom merenju iz *vreme/aktivnost* krive izvedene za oblast od interesa, pouzdan test za funkciju jetre.

U radovima Jovanović i saradnika [18, 86], prikazani su sinteza, fizičko-hemijske i biološke osobine 4-jodo-2,6-dimetilfenilkarbamoilmetil iminodisircetne kiseline (METILJODIDA). Rezultati biodistribucije kompleksa ^{99m}Tc -METILJODIDA upoređeni su sa rezultatima biodistribucije komercijalnih radiofarmaceutika ^{99m}Tc -HIDA i ^{99m}Tc -SOLCOIODIDA i utvrđeno je da se ^{99m}Tc -METILJODIDA vrlo brzo i u velikom procentu akumulira u jetri, da u odnosu na radiofarmaceutik ^{99m}Tc -SOLCOIODIDA ima nešto povećanu renalnu, a smanjenu bilijarnu ekskreciju, ali da ima bolje hepatobilijarne osobine u poređenju sa radiofarmaceutikom ^{99m}Tc -HIDA. ^{99m}Tc -JOTIDA u poređenju sa radiofarmaceutikom ^{99m}Tc -DISIDA je lipofilnija i ima manji kapacitet vezivanja za proteine plazme [87, 88]. ^{99m}Tc -JOTIDA je upoređena sa radiofarmaceuticima ^{99m}Tc -DISIDA i ^{99m}Tc -BROMIDA i zaključeno je da može biti alternativni hepatobilijarni agens za procenu funkcionalnog stanja hepatocita i bilijarnog sistema [89]. Utvrđeno je da su kompleksi ^{99m}Tc -BROMIDA (mebrofenin) i ^{99m}Tc -JODIDA (jodofenin) otporniji na kompeticiju sa bilirubinom od trihalogenog analoga bez metil grupe u *o*-položaju. Rezultati ispitivanja su pokazali da supstitucijom bromom ili jodom, u kombinaciji sa alkil grupama u benzil radikalu IDA analoga, nastaje ligand pogodniji za primenu u uslovima hiperbilirubinemije u odnosu na ligand samo sa halogenim supstituentima, što je u saglasnosti sa rezultatima Nunna i saradnika [90] koji se odnose na značaj *o*-alkil supstituenta u ^{99m}Tc -halogenovanim IDA analogima.

Od velikog broja radiofarmaceutika ^{99m}Tc -IDA analoga, mebrofenin (^{99m}Tc -BROMIDA) ima najbolje biološke osobine (brzu ekskreciju iz krvi, visoko nakupljanje i brz transport kroz hepatocyte, visoku bilijarnu i minimalnu renalnu ekskreciju) i najznačajniju kliničku primenu, naročito u uslovima hiperbilirubinemije [48, 91, 92].

Buduća istraživanja u nuklearnoj gastroenterohepatologiji imala bi za cilj sintezu i dizajniranje novog hepatobilijarnog agensa na čije biološke osobine hiperbilirubinemija neće imati uticaja, odnosno koji će se po svojim osobinama što više približiti idealnom radiofarmaceutiku za hepatobilijarnu scintigrafiju.

Spisak skraćenica

HBS - hepatobilijarna scintigrafija

IDA - iminodisirćetna kiselina

^{99m}Tc - tehnećijum-99m

^{99m}Tc-IDA analozi - analozi iminodisirćetne kiseline obeleženi tehnećijumom-99m

HSA- humani serum albumin

HIDA, lidofenin - 2,6-dimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina

EHIDA, etifenin - 2,6-dietilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina

DISIDA, iprofenin - 2,6-izopropilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina

BIDA - 4-butilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina

JODIDA - 3-jodo-2,6-dietilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina;

METILJODIDA - 4-jodo-2,6-dimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina

DIJODIDA - 2,4-dijodo-6-metilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina;

DIETILJODIDA - 4-jodo-2,6-dietilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina;

DIIZOPROPILJODIDA - 4-jodo-2,6-diizopropilfenilkarbamoilmetil IDA

TIIDA - 2,4,6- trijodofenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina;

JOTIDA - 3-jodo-2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil iminodisirćetna kiselina;

BROMIDA, mebrofenin - 3-bromo-2,4,6-trimetilfenilkarbamoilmetil IDA

ITLC (SA i SG) – instant hromatografija na tankom sloju

(SA- silicijumova kiselina; SG-silikagel)

Literatura

1. Saha BG. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 6th ed. Springer New York Heidelberg Dordrecht London; 2010.
2. Bogićević M, Ilić S. Nuklearna medicina, metodologija i klinika. SKC, Niš;2007.
3. Obradović V. Hepatobilijarna scintigrafija. U: Mijatović CLj, Obradović BV. Nuklearna medicina u gastroenterohepatologiji. Medicinski fakultet, Kragujevac 2001: 84-94.
4. Borota R, Stefanović Lj. Nuklearna medicina. Novi Sad, 1992.
5. Kostić K. Nuklearna hepatologija. U: Bošnjaković V i Kostić K, Osnovi nuklearne medicine. Medicinski fakultet, Beograd; 1994:171-97.
6. Mazzi U. Technetium in Medicine. In: Zolle I, editor. Technetium-99m Pharmaceuticals, Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 8-26.
7. Zolle I. Performance and Quality Control of the $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ Generator. In: Zolle I, editor. Technetium-99m Pharmaceuticals, Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 77-93.
8. Tubis M, Krishnamurthy GT, Endow JS, Bland WH. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -penicillamine, a new cholescintigraphic agent. J Nucl Med. 1972;13(8):652-4.
9. Fliegel CP, Dewanjee MK, Holman LB, Davis MA, Treves S. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tetracycline as a kidney and gallbladder imaging agent. Radiology. 1974;110: 407-12.
10. Lin TH, Khentigan A, Winchell HS. A $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled replacement for 131-I-rose bengal in liver and biliary tract studies. J Nucl Med. 1974;15(7):613-5.
11. Fotopoulos A, Chiotelis E, Koutoulidis C, Dassiou A, Papadimitriou J. Evaluation of Tc-99m pyridoxal-phenylalanine as a hepatobiliary imaging agent. Part I. Experimental studies. J Nucl Med. 1977;18(12):1189-93.
12. Baker RJ, Bellen JC, Ronai PM. Tc-99m-pyridoxylidinediethylamine: a new hepatobiliary radiopharmaceutical I. Experimental aspects. J Nucl Med. 1975; 16:720-7.
13. Loberg MD, Cooper M, Harvey E, Callery P, Faith W. Development of new radiopharmaceuticals based on N-substitution of iminodiacetic acid. J Nucl Med. 1976;17(7):633-8.
14. Loberg MD, Fields AT. Chemical structure of technetium-99m-labeled N-(2,6-dimethylphenylcarbamoylmethyl) iminodiacetic acid (Tc-HIDA). Int J Appl Radiat Isotopes. 1978;29:167-73.
15. Rosenthal L, Shaffer EA, Lisbona R, Pare P. Diagnosis of hepatobiliary disease by $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HIDA cholescintigraphy. Radiology. 1978;126(2):467-74.
16. Krishnamurthy S, Krishnamurthy GT. Technetium-99m-iminodiacetic acid organic anions: review of biokinetics and clinical application in hepatology. Hepatology. 1989;9:139-59.
17. Kostić K. Radiofarmaceutici u ispitivanjima digestivnog sistema U: Vanlić-Razumenić N, urednik. Radiofarmaceutici, sinteza, osobine i primena. Velarta, Beograd: 1998. p. 301-24.
18. Jovanović MS, Zmbova B, Živanov-Stakić D, Vladimirov S. Influence of bilirubin on the distribution of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HIDA and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -IODIDA in rats and their interaction with HSA. J Radioanal Nucl Med. 1993;2:451-456.
19. Wistow BW, Subramanian G, Gagne GM, Henderson RW, McAfee JG, Hall RC, Grossman Z. Experimental and clinical trials of new $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled hepatobiliary agents. Radiology. 1978;128:793-4.
20. Wistow BW, Subramanian G, Heertum RL, Henderson RW, Gagne GM, Hall RC and McAfee JG. An evaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled hepatobiliary agents. J Nucl Med. 1977;18(5):455-61.
21. Van Wyk AJ, Fourie PJ, Van Zyl WH, Lotter MG, Minnaar PC. Synthesis of five new $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HIDA isomers and comparison with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HIDA. Eur J Nucl Med. 1979;4(6):445-8.

22. Fields AT, Porter DW, Callery PS, Harvey EB and Loberg MD. Synthesis and radiolabeling of technetium radiopharmaceuticals based on N-substituted iminodiacetic acid: Effect of radiolabeling conditions on radiochemical purity. *J Labelled Comp Radiopharm.* 1978; XV:387-99.
23. Brborić J. Sinteza, fizičko-hemijske i biološke osobine 2,4-dijodo-6-metilfenil - karbamoilmetil iminodisirćetne kiseline [magistarska teza]. Univerzitet u Beogradu; 1995.
24. Jovanović MS, Brborić J, Vladimirov S, Zmbova B, Vuksanović Lj, Živanov-Stakić D, Obradović V. New ^{99m}Tc-diiodine substituted IDA derivative (DIIODIDA) for hepatobiliary imaging. *J Radioanal Nucl Chem.* 1999; 240: 321-4.
25. Brborić JS, Vladimirov S, Jovanović MS, Dogović N. The Synthesis of novel iodinated iminodiacetic acid analogues as hepatobiliary imaging agents. *Monatsh Chem.* 2004;135:1009-14.
26. DeJuliis CM, Graham BW, Mattson RJ, Sowell JW. Evaluation of technetium-99m-labeled iminodiacetic acid derivatives of substituted 2-aminopyrroles as hepatobiliary imaging agents I. *J Pharm Sci.* 1980;69(6):731-2.
27. Graham BW, DeJuliis CM, Mattson RJ, Sowell JW. Evaluation of technetium-99m labeled iminodiacetic acid derivatives of substituted 2-aminopyrroles as hepatobiliary imaging agents II. *J Pharm Sci.* 1982;71(3):362-4.
28. Callery PS, Faith WC, Loberg MD, Fields AT, Harvey EB, Cooper MD. Tissue distribution of technetium-99m and carbon-14 labeled N-(2,6-dimethylphenyl - carbamoylmethyl)iminodiacetic acid. *J Med Chem.* 1976;19(7):962-4.
29. Fritzberg AR, Bloedow DC, Klingensmith WC, Whitney WP. Comparative study of technetium-99m labeled hepatobiliary agents based on naphthalene and similar ring systems. *Int J Nucl Med Biol.* 1982;9(1):1-11.
30. Chervu, LR, Joseph JA, Chun SB, Rolleston RE, Synnes EI, Thompson LM, Aldis AE, Rosenthal L. Evaluation of six new technetium-99m-IDA agents for hepatobiliary imaging. *Eur J Nucl Med.* 1988;14(9-10):441-5.
31. Wilson JG, Hunt FC. Iminodiacetic acid derivatives of benzimidazole. Synthesis of N-(benzimidazol-2-ylmethyl)iminodiacetic acids. *Aust J Chem.* 1983;36(11): 2317-25.
32. Hunt FC, Wilson JG, Maddalena DJ. *Radiopharm. 2, Proc Int Symp* 2nd 1979; 587-592.
33. United States Pharmacopeial Convention (2005) Official Monographs: USP 28, technetium Tc-99m disofenin injection, technetium Tc-99m lidofenin injection, technetium Tc-99m mebrofenin injection. United States Pharmacopeia (USP) 28-national formulary (NF) 23:1854–57.
34. European Pharmacopoeia 7.0, seventh Edition, Strasbourg: Council of Europe, 2011.
35. Klingensmith WC, Fritzberg AR, Spitzer VM, Kuni CC, Shanahan WSM. Clinical comparison of Tc-99m diisopropyl-IDA and diethyl-IDA for evaluation of the hepatobiliary system. *Radiology.* 1981;140:791–5.
36. Schwarzenbach G, Anderegg G, Schneider W, Senn H. Komplexe. Über die koordinations-tendenz von N-substituierten iminodiessigsäuren, *Helv Chim Acta.* 1955;5(132):1147-70.
37. Sillen LG, Martell A. Stability constants of metal-ion complexes. Special Publication 25, Chem. Soc. Burlington House, London 1971.
38. Loberg MD, Fields T. Stability of ^{99m}Tc-labeled N-substituted iminodiacetic acids: Ligand exchange reaction between ^{99m}Tc-HIDA and EDTA. *Int J Appl Radiat Isotopes.* 1977;28:687-92.
39. Haggman L, Lindblad C, Oskarsson H, Ullstrom AS, Persson I. The influence of short strong hydrogen bonding on the structure and the physicochemical properties of alkyl-N-iminodiacetic acids in solid state and aqueous systems. *J Am Chem Soc.* 2003;125:3631-41.
40. Shtacher G. Potentiometric determination of stability constants of metal complexes with certain amino dicarboxylic acids. *J Inorg Nucl Chem.* 1966;28: 845-861.

41. Jovanović MS, Popović G, Kapetanović V, Orlić M, Vladimirov S. Determination of the ionization constants of 4-iodo-2,6-dimethylphenyl carbamoylmethyl iminodiacetic acid. *J Pharm Biomed Anal.* 2004;35:1257-61.
42. Brborić J, Jovanović M, Popović G, Kapetanović V, Vladimirov S. Acid-base equilibria of 2,4-diiodo-6-methylphenylcarbamoylmethyl iminodiacetic acid and its labeling with technetium-99m. *J Serb Chem Soc.* 2006;71(1):55-65.
43. Harper PV, Andrus G, Lathrup K. U.S. Report Arch-18, Argonne Cancer Research Hospital; Sept.1962:77-78.
44. Marzilli LG, Worley P, Burns HD, A new electrophoretic method for determining ligand: technetium stoichiometry in carrier free ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals, *J Nucl Med.* 1979;20(8):871-6.
45. Costello CE, Brodack JW, Jones AG, Davison A, Johnson DL, Kasina S, Fritzberg AR. The investigation of radiopharmaceutical components by fast atom bombardment mass spectrometry: the identification of Tc-HIDA and the epimers of Tc-CO2DADS. *J Nucl Med.* 1983;24:353-355.
46. Burns D, Sowa D, Worley P, Vaum R, Marzilli L. Electrophoretic determination of charge on carrier-free technetium 99m-labeled complexes, *J Pharm Sci.* 1981; 70(4):436-9.
47. Lundberg PS, Jacobsson L, Stenhagen G, Martensson J, Fjälling M. The chemical nature, purity and stability of ^{99m}Tc-N-(2,6-diethyl-3-iodophenyl - carbamoylmethyl)-iminodiacetic acid, *Nucl Med Biol.* 1995;22(4):521-5.
48. Krishnamurthy GT, Krishnamurthy S. *Nuclear Hepatology: A Textbook of Hepatobiliary Diseases.* Springer; 2000:38-51.
49. Williams JJ, Deegan T. The process involved in the binding of technetium-99m to human serum albumin. *Int J Appl Radiat Isotopes.* 1971;22(12):767-74.
50. Lin MS, Winchel S, Shipley BA. Use of Fe(II) or Sn(II) alone for Tc-99m labeling of albumin. *J Nucl Med.* 1971;12:204-11.
51. Harper PV, Lathrop KA, Gottschalk A. *Pharmacodynamics of some technetium-99m preparations. Radioactive Pharmaceuticals.* Oak Ridge, TN: US Atomic Energy Commission 1965:335-58.
52. Johnson AE, Gollan F, ^{99m}Tc-technetium dioxide for liver scanning, *J Nucl Med.* 1970;11:564-565.
53. Saha BG. Radiopharmaceuticals and methods of radiolabeling, In: *Fundamentals of nuclear pharmacy*, sixth Edition, Springer New York Heidelberg Dordrecht London; 2010. p. 101-5.
54. Spies H, Pietzsch HJ. Stannous chloride in the preparation of ^{99m}Tc pharmaceuticals, In: Zolle I, editor. *Technetium-99m pharmaceuticals, preparation and quality control in nuclear medicine*, Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 59-66.
55. Tobias RS. Studies on the hydrolysis of metal ions 21. The hydrolysis of tin(II) ion, Sn²⁺, *Acta Chem Scand.* 1958; 12:198-223.
56. Đokić D, Zmbova B, Veselinović D, Đurđević P. Investigation of tin(II) - hippuric acid sistem in perchlorate medium. *J Serb Chem Soc.* 1991; 56: 661-9.
57. Đurđević P, Đokić D. Protein interactions with bivalent Tin.1. Hydrolysis and complexation of Tin(II) ion with glycine. *J Inorg Biochem.* 1996;62:17-29.
58. *Jugoslovenska farmakopeja 2000, peto izdanje, knjiga 3. Savremena administracija, Beograd; 2000.*
59. Radiopharmaceutical preparations and starting materials for radiopharmaceutical preparations. In: *European Pharmacopoeia 7.0, Volume 1, Council of Europe, Strasbourg; 2011. p. 963-1023.*
60. Decristoforo C, Zolle I. Quality Control Methods of 99mTc Pharmaceuticals, In: Zolle I, editor. *Technetium-99m Pharmaceuticals, Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine*, Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 123-50.

61. Ramberg-Laskaris KL. Quality control in the radiopharmacy. *J Nucl Med Technol.* 1984;12:33-6.
62. Nunn AD, Loberg MD, Conley RA. A structure-distribution-relationship approach leading to the development of Tc-99m mebrofenin: an improved cholescintigraphic agent. *J Nucl Med.* 1983;24:423-30.
63. Billingham MW, Eckert K, Mang'era K. Alternative quality control for technetium-99m IDA complexes. *Appl Radiat Isotopes.* 2004; 61(6):1151-5.
64. Firna G. Why do Tc-99m chelates work for cholescintigraphy?. *Eur J Nucl Med.* 1976;1:137-9.
65. Burns HD, Marzilli L, Sowa D, Baum D, Wagner HN Jr. Relationship between molecular structure and biliary excretion of technetium-99m HIDA and HIDA analogs (abstract). *J Nucl Med.* 1977;18:624.
66. Subramanian G, McAfee JG, Henderson RW, Rosenstreich M, Krokenberger L. The influence of structural changes on biodistribution of Tc-99m labeled N-substituted IDA derivatives (abstract). *J Nucl Med.* 1977;18:624.
67. Zmbova B, Đokic D, Kostic K. The comparison of chemical and biological properties of IDA derivatives labeled with technetium-99m, *Radiologia Jugoslavica.* 1988;22(2):167-70.
68. Chiotellis E, Varvarigou A. ^{99m}Tc-labelled N-substituted carbamoyl iminodiacetates: relationship between structure and biodistribution. *Int J Nucl Med Biol.* 1980;7:1-7.
69. Galli G, Maini CL. In: *Technetium in chemistry and nuclear medicine.* Verona: Cortina International; 1986:309.
70. Wistow B, Subramanian G, Van Heertum R, Henderson RW, Gagne GM, Hall RC, McAfee JC. An evaluation of 99mTc-labeled hepatobiliary agents. *J Nucl Med.* 1977;18(5):455-61.
71. Chiotellis E, Varvarigou A, Koutoulidis C. Comparative in vivo kinetics of some new technetium-99m-labeled acetanilido iminodiacetates. *Eur J Nucl Med.* 1981;6(6):241-4.
72. Maddalena DJ, Snowdon GM, Wilson JG. Structure-distribution studies on some 99mTc-o-hydroxybenzyliminodiacetic acid complexes. *Nucl Med Biol.* 1988;15(3):319-25.
73. Jovanović MS, Brborić J, Vladimirov S, Šturkova Lj. Correlation between lipophilicity of the ligands and the hepatobiliary properties of the radiopharmaceuticals: Approach to the development of new IDA derivatives. *J Radioanal Nucl Chem.* 2000;245:555-60.
74. Brborić J. Halogenovani derivati iminodisirćetne kiseline obeleženi tehnecijumom-99m za hepatobilijarnu scintigrafiju: dizajniranje, sinteza, fizičko-hemijske i biološke osobine [doktorska disertacija]. Univerzitet u Beogradu; 2005.
75. Klingensmith WC, Fritzberg AR, Spitzer VM, Kuni CC, Williamson MR, Gerhold JP. Work in progress: clinical evaluation of Tc-99m-trimethylbromo-IDA and Tc-99m-diisopropyl-IDA for hepatobiliary imaging. *Radiology.* 1983; 146(1):181-4.
76. Chen S, Zhao H, Xu H, Zhou X. Animal experiment and clinical trial of Tc-99m-mebrofenin, a hepatobiliary scintigraphic agent. *Shanghai Diyi Yixueyuan Xuebao* 1984;11(6):453-458.
77. Foster JA, Ramsden WH, Conway SP, Taylor JM, Etherington C. The role of IDA scintigraphy in the follow-up of liver disease in patient with cystic fibrosis. *Nucl Med Commun.* 2002;23:673-81.
78. Schwarzrock R, Kotzerke J, Hundeshagen H, Bocker K, Ringe B. ^{99m}Tc-diethylido-HIDA (JODIDA): a new hepatobiliary agent in clinical comparison with ^{99m}Tc-diisopropyl-HIDA (DISIDA) in jaundiced patients. *Eur J Nucl Med.* 1986;12(7):346-50.
79. Spitz J, Hildebrandt H, Clemenz N, Schattenberg J, Weigand H. Klinische relevanz und diagnostische aussagekraft von ^{99m}Tc-Diäthyl-Jodo-IDA (IODIDA) bei patienten mit erhöhtem bilirubin-spiegel im vergleich zu ^{99m}Tc-Diäthyl-IDA (HEPATOBIIDA), *Nucl Compact.* 1987;18:61-8.
80. Kapuscinski J, Liniecki J, Durski Mikiciuk-Olasik E. Comparison in rabbits of cholescintigraphic properties of several technetium-99m-labeled-IDA derivatives. *Nucl Med.* 1986;25:188-93.

81. Van Aswegen A, Van Wyk J, Roodt JP, Lötter MG, Otto AC, Minnaar PC. Radionuclide cholescintigraphic imaging: An evaluation of several ^{99m}Tc-labelled hepatobiliary radiopharmaceuticals. *Nucl Med Biol.* 1986;13(5):509-14.
82. Fritzberg AR, Bloedow DC, Eshima D, Johnson D. Comparison of ^{99m}Tc-*N*-pyridoxyl-5-methyltryptophan and ^{99m}Tc-*N*-(3-bromo-2,4,6-trimethylacet - anilide)-iminodiacetate as hepatobiliary radiopharmaceuticals in rats, *J Pharm Sci.* 1984;73(12):1861-3.
83. Valsamaki P, Dokmetzioglou I, Kostantinova I, Grammaticos P. Characteristic findings of hepatobiliary scintigraphy with ^{99m}Tc-BIDA in the diagnosis of biliary obstruction. *Hell J Nucl Med.* 2001; 2: 81-6.
84. Chauhan UPS, Mishra P, Chander J. ^{99m}Tc-diethylmonoiodoIDA: a radiopharmaceutical for hepatobiliary scintigraphy. *Appl Radiat Isot.* 1993; 44(5):843-8.
85. Ekman M, Fjalling M, Friman S, Carlson S, Volkmann R. Liver uptake function measured by IODIDA clearance rate in liver transplant patients and healthy volunteers. *Nucl Med Commun.* 1996;17(3):235-42.
86. Jovanović M. Fizičko-hemijske i biološke osobine ^{99m}Tc-4-jodo-2,6-dimetil - fenilkarbamoilmetil iminodisircetne kiseline [doktorska disertacija]. Univerzitet u Beogradu, 1992.
87. Chauhan UPS, Chander J, Mishra P. ^{99m}Tc-labelled trimethylmonoiodo-IDA: a new radiopharmaceutical for hepatobiliary imaging. *Int J Radiat Appl Instrumentation. Part B. Nucl Med Biol.* 1990;17(4):401-3.
88. Subramanian G, Schneider RF, McAfee JG. Synthesis and evaluation of new Tc-99m labeled iodine substituted acetanilido iminodiacetates. *J Labelled Compd Rad* 1982;19:1463-4.
89. Young-Don H, Beom-Su J, Sang-Mu C, Woong-Woo P, Kyung-Bae P, Sun-Ju C. Preparation and in-vivo evaluation of ^{99m}Tc-IOTIDA for cholescintigraphy. *Appl Radiat Isot.* 2004;61(6):1273-8.
90. Nunn AD, Loberg MD, Conley RA. A structure-distribution-relationship approach leading to the development of Tc-99m mebrotfenin: an improved cholescintigraphic agent. *J Nucl Med.* 1983; 24:423-30.
91. Zolle I, Bratouss AG, ^{99m}Tc-Labeled Hepatobiliary agents. In: Zolle I, editor. *Technetium-99m pharmaceuticals, preparation and quality control in nuclear medicine.* Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 315-22.
92. de Graaf W, van Lienden KP, van Gulik TM, Bennink RJ. ^{99m}Tc-mebrofenin hepatobiliary scintigraphy with SPECT for the assessment of hepatic function and liver functional volume before partial hepatectomy. *J Nucl Med.* 2010; 51: 229-36.

Radiopharmaceuticals for hepatobiliary scintigraphy - iminodiacetic acid analogues labeled with technetium-99m

Jasmina Brborić^{1*}, Mirjana Jovanović², Olivera Čudina¹

¹University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

²Medicines and Medical Devices Agency of Serbia, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Hepatobiliary scintigraphy (Cholescintigraphy) is a nuclear imaging procedure for morphological and functional investigation of hepatobiliary system. ^{99m}Tc-IDA derivatives are commonly used for hepatobiliary imaging. Biological properties of IDA analogues are determined by chemical structure. Corresponding molecular mass, lipophilicity, protein binding, as well as nature and position of substituents attached to the phenyl ring have major influence on biokinetics (the degree of hepatic uptake and the rate of excretion, as well as urinary elimination) of the ^{99m}Tc-IDA complexes. Since bilirubin competes with IDA derivatives, hyperbilirubinemia represents the limiting factor in the application of ^{99m}Tc-IDA analogues as hepatobiliary imaging agents.

This paper's goal is to give a review of the most important data about physico-chemical and biological properties of numerous ^{99m}Tc-IDA analogues which are synthesized and evaluated as potential radiopharmaceuticals, and also those which are commercially used as diagnostics agents. Of all IDA derivatives, ^{99m}Tc-mebrofenin is the agents of choice for hepatobiliary imaging in hiperbilirubinemia conditions.

Key words: HIDA ^{99m}Tc-IDA complexes, halogenated IDA analogues, mebrofenin, hepatobiliary scintigraphy, hiperbilirubinemia
