

'n 99m Tc-verbinding vir miokardiale perfusiebeelding

M.M.J. van der Merwe, A. van Aswegen* en M.G. Lötter

Departement Biofisika, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

A. Roodt, J.M. Botha en J.G. Leipoldt

Departement Chemie, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein, 9300

O. Knoesen

Isotoopprouksiesentrum, Atoomenergiekorporasie, Pretoria, 0002

J. Brummer

Proefdiersentrum, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein, 9300

A.C. Otto

Departement Kerngeneeskunde, UOVS, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

Ontvang 24 Januarie 1994; aanvaar 22 Maart 1994

UITTREKSEL

Miokardiale perfusiebeelding met 99m Tc-gemerkte metoksi-isobutielisosianied (MIBI) is 'n belangrike ondersoek by pasiënte met koronêrevaatsiekte. In hierdie studie is MIBI(UVHART) chemies gesintetiseer, in bobbejane geëvalueer en klinies aangewend. Die sintese is 'n drieapproses waarna UVHART-stelletjies saamgestel, gevriesdroog en vir pyrogeniteit en steriliteit getoets is. Merking met 99m Tc het plaasgevind deur 'n kookstap en die radiochemiese suiwerheid is bepaal deur dunlaag-papierchromatografie. Toksisiteitstoetse is uitgevoer op muise (n = 6) en rotte (n = 12). Die biokinetiese verspreiding van 99m Tc-UVHART is gedoen deur dinamiese planêre beelde in bobbejane (n = 7) met 'n sintillasiekamera te versamel. Bloedmonsters is oor die eerste uur versamel om die uitwas van die UVHART te bepaal. Tellings oor die hart, lever en regterlong is verkry en die hart-long- en hart-lever-verhouding bepaal. Goeie merkingsdoeltreffendheid van UVHART is verkry en met toksisiteitstoetse is geen nadelige effekte a.g.v. die middel getoon nie. Die middel was ook pirogeenvry en steriel getoets. Goeie opname van UVHART in die miokard is gevind wat bevestig is deur die hoë hart-long- en hart-lever-opnameverhouding.. Tomografiese studies in pasiënte was ook van hoogstaande gehalte. Die beeldkwaliteit van die plaaslik vervaardigde UVHART vergelyk goed met die kommersiële produk en UVHART is suksesvol in diere en pasiënte toegepas. Die nodige goedkeuring is reeds verkry om UVHART roetinegewys in die Kerngeneeskundekliniek te gebruik.

ABSTRACT

A 99m Tc labelled agent for myocardial perfusion imaging

Imaging of the myocardium with 99m Tc labelled methoxy isobutyl isocyanide (MIBI) is an important examination in the management of patients with coronary artery disease. In this study MIBI (UVHART) was locally synthesised, evaluated in baboons and clinically used. The synthesis was a three-step process, after which UVHART kits were prepared, freeze dried and tested for pyrogenicity and sterility. Labelling with 99m Tc included boiling, and the radiochemical purity was measured with thin-layer paper chromatography. Tests for toxicity were done with mice (n=6) and rats (n=12). The biokinetic distribution of 99m Tc UVHART was evaluated with a scintillation camera using dynamic planar imaging in baboons (n=7). Blood samples were obtained during the first hour to determine the washout of the radiopharmaceutical. Counts of the heart, liver and right lung regions were obtained and the heart/lung and heart/liver ratios were determined. The labelling efficiency of UVHART was high and toxicity tests showed no detrimental effects. The radiopharmaceutical tested pyrogen free and was sterile. A good uptake of UVHART in the myocardium was found, which was confirmed by high heart/liver and heart/lung ratios. Tomographic patient studies also showed excellent image quality. The image quality of the locally produced UVHART compares favourably with that of the commercial product and UVHART was successfully applied in baboons and patients. Approval was obtained to use UVHART routinely in the Nuclear Medicine Clinic.

* Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

INLEIDING

Die voorkoms van koronêrevaatsiekte in Suid-Afrika is baie algemeen en 'n nie-indringende metode om hierdie siektetoestand te identifiseer en die graad daarvan te evalueer, is nodig. Kergeneeskundige beelding bied so 'n fasilitet waar radioaktiewe spoorders aan pasiënte toegedien word om selektief sekere teikenorgane te ondersoek.

Miokardiale perfusiebeelding word al sedert die sewentigerjare gebruik om koronêrevaatsiekte te evalueer en speel 'n belangrike rol in die besluitneming oor die hantering van pasiënte met hierdie siekte. Thallium-201 (^{201}Tl) is vroeër vir hierdie tipe beelding gebruik¹ maar het sekere fisiese tekortkominge soos o.a. lae fotonenergie (80 keV) wat dit minder gesik maak vir beelding met die sintillasiekamera, relatiewe hoë koste aangesien dit 'n siklotronproduk is, 'n lang halfleeftyd (73 uur) wat 'n beperking plaas op die hoeveelheid van die radionuklied wat aan die pasiënt toegedien kan word, en ondergaan ook biologiese herdistribusie wat die beoordeling van perfusieletsels bemoeilik. Aangesien die fisiese eienskappe van $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ideaal gesik is vir beelding met die sintillasiekamera en $^{99\text{m}}\text{Tc}$ algemeen beskikbaar is in alle kergeneeskundige departemente, is baie aandag gegee aan die ontwikkeling van 'n gesikte $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -gemerkte miokardiale perfusiemiddel om ^{201}Tl te vervang, ook deur hierdie groep.^{2,3} Die hoërenergiefotone (140keV) van $^{99\text{m}}\text{Tc}$ word in hulle deurgang deur die pasiënt aansienlik minder deur attenuasie geaffekteer. Verder laat die kort halfleeftyd (6 uur) toe dat groter dosisse van die radionuklied met veiligheid toegedien kan word wat sodoende beter beeldkwaliteit tot gevolg het. Tegnesium-99m-gemerkte metoksi-isobutil-isosianied⁴ ($^{99\text{m}}\text{Tc MIBI}$) is kommersieel ontwikkel en het die probleme wat met ^{201}Tl ondervind is, grootliks oorkom. $^{99\text{m}}\text{Tc MIBI}$ word deur die miokard opgeneem eweredig aan die distribusie van regionale miokardiale bloedvloei soortgelyk aan ^{201}Tl maar toon geen herdistribusie nie.⁵ As gevolg van genoemde faktore is $^{99\text{m}}\text{Tc MIBI}$ meer gesik vir miokardiale perfusiebeelding as ^{201}Tl .

$^{99\text{m}}\text{Tc MIBI}$ is kommersieel teen hoë koste beskikbaar wat veroorsaak dat miokardiale perfusiestudies a.g.v. die koste-aspek nie vryelik met hierdie middel uitgevoer kan word nie. 'n Program is dus aan die Universiteit van die Oranje-Vrystaat geïnisieer waarvolgens $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -gemerkte MIBI vir miokardiale perfusiebeelding op 'n goedkoop wyse gesintetiseer is ten einde hierdie produk roetinegewys te gebruik. Die bereiding, gehalteverzekering, aanwending in bobbejane en uiteindelike kliniese aanwending van die plaaslike $^{99\text{m}}\text{Tc MIBI}$ (hierna genoem UVHART) word hier gerapporteer.

EKSPERIMENTELE PROSEDURE

Bereiding van isosianied

Die rigterligand, 1-metoksi-2-metielpropielisosianied (RNC), is in 'n driesapproses vanaf 2-metielallielamien hidrochloried, met tussenprodukte N-2-metiel-2-propel-formamied en N-2-metoksi-2-metielformamied, berei.² Die produkte volgens hierdie sintese verkry, is telkens m.b.v. KMR-(300MHz Bruker-spektrometer) en infrarooi-spektroskopie (Hitachi 270-30 apparaat), chromatografiese

tegnieke en smeltpuntbepalings gekarakteriseer. Die isosianiedligand is gestabiliseer deur koppeling aan Cu(I) (reaksie van RNC met $[\text{Cu}(\text{NCCH}_3)_4]\text{BF}_4$) en is geïsoleer as die tetrafluoroboraatsout. Die gevormde $[\text{Cu}(\text{CNR})_4]\text{BF}_4$ is direk in die bereiding van die merkstelletjie gebruik.

Bereiding van merkstelletjies

Die merkstelletjie is in lotte van 25 berei deur 19 mg $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in die minimum gekonsentreerde HCl op te los en by 10 ml fisiologiese elektrolietoplossing (saline) (0,9% NaCl, v/v) te voeg. Vervolgens is 500 mg mannitol, 65 mg natriumsitraat dihidraat en 25 mg L-sisteinhidrochloried monohidraat in 10 ml elektrolietoplossing opgelos en 1 ml van eersgenoemde Sn(II)-oplossing daarby gevoeg. 'n Oplossing van 25 mg $[\text{Cu}(\text{CNR})_4]\text{BF}_4$ in 1 ml etanol is hierby gevoeg en die pH van die mengsel is m.b.v. 1 M NaOH-oplossing op ongeveer 5 ingestel. Die oplossing is deur 'n 0,22-mikronfilter (Millipore) gestuur ten einde steriliteit te verseker en is vervolgens in 25 porsies van 1 ml elk in verseëlbare glasflessies verdeel. Die mengsel is gevriesdroog, onder stikstof verseël en by -10 °C gestoor.

Merkprosedure

Merking van UVHART met $^{99\text{m}}\text{Tc}$ is bewerkstellig deur 'n 15-minutekookstap direk na byvoeging van 'n 2 ml-[maksimum 11,1 GBq (300 mCi)] pertegnetaat-oplossing.

Kwaliteitskontrole

Die merkingsdoeltreffendheid is bepaal deur dunlaag-papierchromatografie. As stasionêre fase is silikajelpapier (SG ITLC) gebruik en as mobiele fases 2-butanoon (MEK) en saline. Die merkingsdoeltreffendheid is verder ook oor 'n tydperk van 6 uur (na merking van UVHART met $^{99\text{m}}\text{Tc}$) gemonitor. Die stabiliteit van die voorbereide UVHART-stelletjies is met gereelde tussenposes oor 'n tydperk van tien weke getoets.

Pirogeniteit en steriliteit

Elke groep stelletjies wat oopgemaak is, is deur die Aatomenergielorporasie getoets vir pirogene en steriliteit.

Toksisiteitstoetse

Toksisiteitstoetse is uitgevoer op muise (n = 6) en Sprague Dawley-rotte (n = 12). UVHART, opgelos in saline (nie radioaktief nie), is in ekwivalente dosisse van 1, 20, 40, 60, 80 en 100 maal dié wat aan pasiënt toegedien sal word, vir die diere ingespuit.

Biokinetiese verspreiding

Die biokinetiese verspreiding van $^{99\text{m}}\text{Tc}$ UVHART is in sewe Chacma-bobbejane (*Papio ursinus*) beoordeel. Na induksie van narkose met ketamien (10 mg/kg) is elke bobbejaan onder narkose gehou met 'n konstante infusie (teen 'n tempo van 70 ml/h) van 'n 0,5%-oplossing van tiopentoen in fisiologiese saline. 'n Gemiddelde aktiwiteit van 555 MBq (15 mCi) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ UVHART is intraveneus aan elke bobbejaan toegedien. Die ondersoek is deur die Etiëse Komitee van die Fakulteit Geneeskunde, UOVS goedgekeur en volgens hul riglyne uitgevoer. Die detektor van die sintillasiekamera is in die anteriorprojeksie oor die toraks van die bobbejaan geplaas en die $^{99\text{m}}\text{Tc}$ UVHART

intraveneus toegedien. Dinamiese beelde van 30's elk is oor 'n tydperk van een uur versamel en bloedmonsters is tegelykertyd geneem om die uitwas van die UVHART te bepaal. Tellings vanaf gebiede van belang oor die hart, lewer en regterlong is verkry en die hart-long- en hart-lewer-verhouding is bepaal.

Na die suksesvolle voltooiing van die dierestudie is miokardiale perfusiebeelding met ^{99m}Tc UVHART, met goedkeuring van die Medisynebeheerraad, in 'n aantal pasiënte gedoen.

RESULTATE

Die volgende Rf-waardes van die ^{99m}Tc -komponente is tydens dunlaag-chromatografie verkry: gereduseerde, gehidroliseerde $^{99m}\text{Tc}:0$ (MEK) en 0 (saline), ^{99m}Tc -pertegnetaat: 0,9-1 vir sowel MEK as saline en ^{99m}Tc UVHART: 0,3-0,6 (MEK) en 0 (saline). Die gemiddelde merkingsdoeltreffendheid onmiddellik na konstituering van die UVHART was $92,4\% \pm 3,7\%$. Die gemiddelde merkingsdoeltreffendheid oor 6 uur word in tabel 1 getoon. Daaruit is dit duidelik dat die verbinding oor hierdie tydperk minimale ontbinding getoon het. Die gemiddelde merkingstabiliteit van UVHART oor 'n 10-weketydperk was $90,7\% \pm 1,3\%$ en het gewissel tussen 88,7% en 92,6%. Die merking was weereens van hoogstaande gehalte wat die stabiliteit van die merkingstel na die oorspronklike sintetisering bevestig. Selfs na 'n 6-maandetydperk was die verbinding steeds stabiel.

Die UVHART-stelletjies is priogeenvry en steriel bevind en toksisiteitstoetse het geen nadelige effekte oor 'n tydperk van 'n maand getoon nie.

Figuur 1 toon 'n tipiese miokardiale distribusiepatroon van UVHART in die bobbejaan oor 'n 60-minutetydperk na toediening. Oorspronklik akkumuleer die UVHART in die bloedpoel en longe (fig. 1a). Twintig minute later vind opruiming deur die galweë plaas (fig. 1b), terwyl die uitwas uit die lewer duidelik is op die latere beelde (fig. 1c en d). Die miokardiale opname is optimaal na 60 minute met min intervensie vanaf opname van ander organe.

Die gemiddelde hart-long- en hart-lewer-verhoudings van orgaan-radioaktiwiteit tydens die duur van die dinamiese opname word in figuur 2 getoon. Die miokardiale opname t.o.v. die long en lewer neem oor die 60-minutetydperk geleidelik toe na 2,44 en 1,24 respektiewelik, wat die hoë miokardiale opname beklemtoon.

Die uitwas van UVHART uit die bloed tydens die

dinamiese ondersoek word in figuur 3 getoon. Die waargenome bloedtellings is na 100% genormaliseer op tydstip 5 minute. UVHART word doeltreffend uit die bloed opgeruim deurdat slegs 18,7% van die oorspronklike toegediende aktiwiteit na 60 minute in die bloed oor is.

Tomografiese snitte van miokardiale perfusie soos in 'n pasiënt verkry, word in figuur 4 getoon. Die data is versamel een uur na toediening van die ^{99m}Tc UVHART tydens maksimale oefening. Die figuur toon vier verskillende snitte wat toon dat loodreg op die lang-as van die linkerventrikel verkry is vanaf die apex (links bo) tot naby die basis van die linkerventrikel (regs onder). Die hoë opname van die radionuklid in die miokard is duidelik sigbaar.

BESPREKING

In hierdie ondersoek is getoon dat ^{99m}Tc UVHART suksesvol berei kon word. Die middel was steriel en priogeenvry en geen toksiese effekte is getoon nie. Die ^{99m}Tc UVHART word doeltreffend in die miokard opgeneem en toon goeie uitwas uit die lewer wat die beoordeling van die inferiorwand van die miokard vergemaklik. Alhoewel dit nie hier gerapporteer word nie, het vergelykende toetses tussen UVHART en die kommersieel beskikbare MIBI soortgelyke eienskappe getoon.

Die belowende resultate wat met die dierestudie verkry is, het daar toe gelei dat die ondersoek na pasiënte uitgebrei is. Die miokardiale verspreiding van ^{99m}Tc UVHART in pasiënte is van hoogstaande kwaliteit (figuur 4) wat dit geskik maak vir kliniese gebruik.

^{99m}Tc UVHART is suksesvol voorberei teen minimale koste in vergelyking met die kommersiële produk. Goedkeuring is reeds deur die Medisynebeheerraad verleen vir die roetinegebruik van UVHART plaaslik in die Departement Kergeneeskunde vir radionuklied kardiale perfusiebeelding.

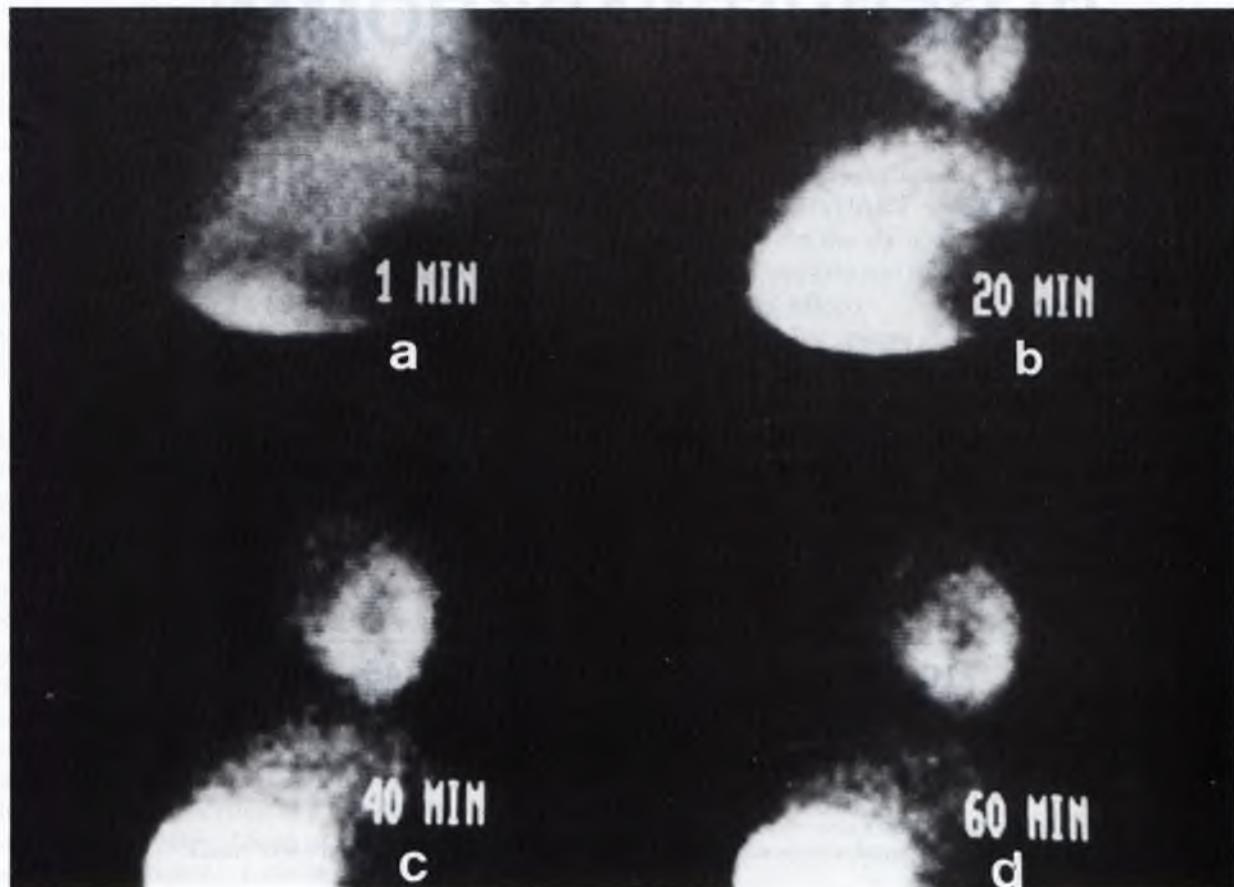
SUMMARY

Introduction:

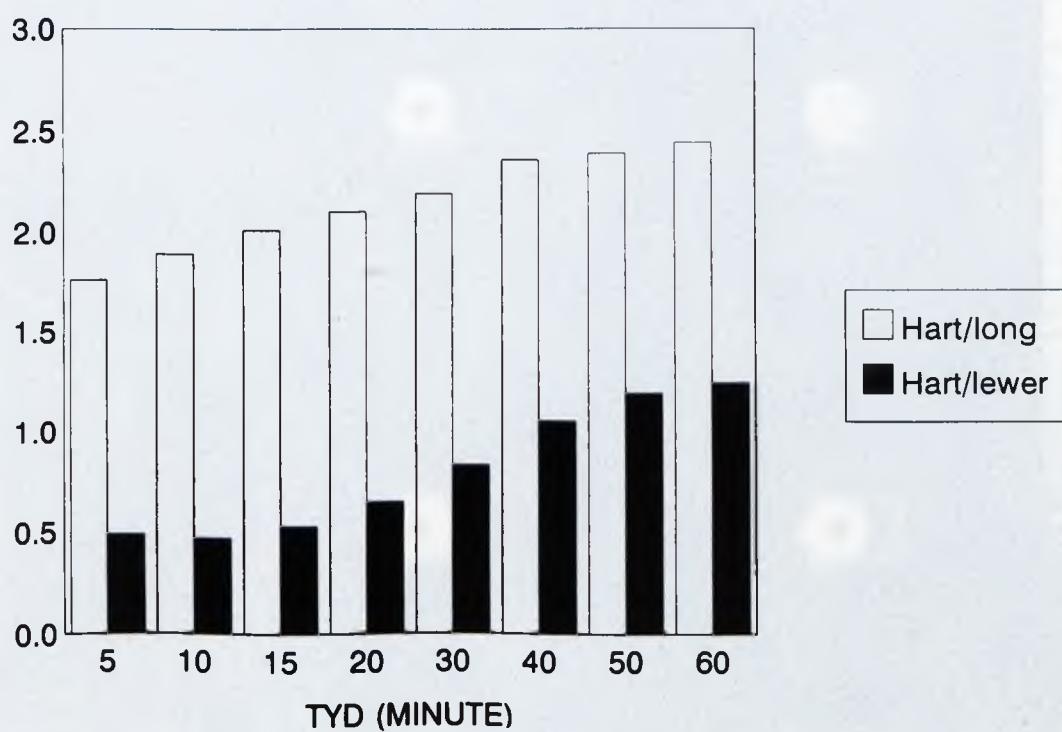
Nuclear cardiology imaging provides a non-invasive means of assessing the prevalence and severity of coronary artery disease. Myocardial perfusion with Thallium-201 has been used for many years in this regard. This radionuclide however has suboptimal physical properties for imaging with the scintillation camera such as low photon energy and long half-life. Since Technetium-99m (^{99m}Tc) is

TABEL 1 Gemiddelde merkingsdoeltreffendheid van ^{99m}Tc UVHART oor 'n tydperk van 6 uur na voorbereiding

Tyd (uur)	Bindingsdoeltreffendheid (%)				
	1	2	3	4	Gem.
1	93,6	94,6	93,5	94,1	94,0
2	92,5	95,8	92,0	93,5	93,5
3	92,4	93,2	90,5	93,4	92,4
4	93,7	94,0	87,9	91,8	91,9
5	87,5	89,3	90,8	89,2	89,2
6	89,0	91,2	93,7	91,6	91,4

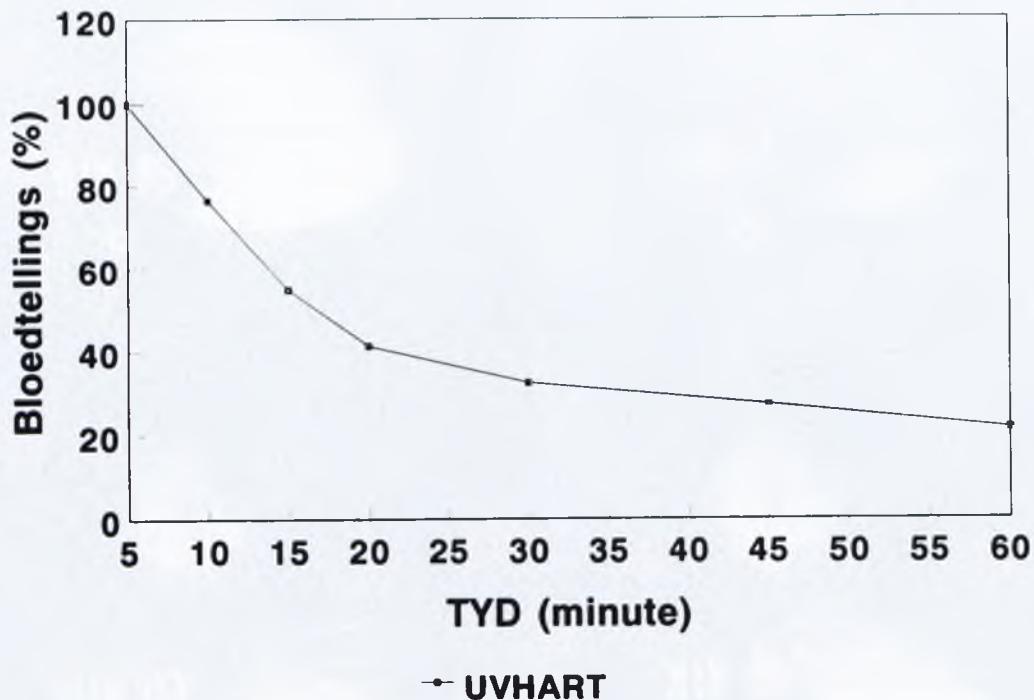


FIGUUR 1: Miokardiale distribusie van ^{99m}Tc UVHART in 'n bobbejaan oor 'n eenuur-tydperk na toediening.

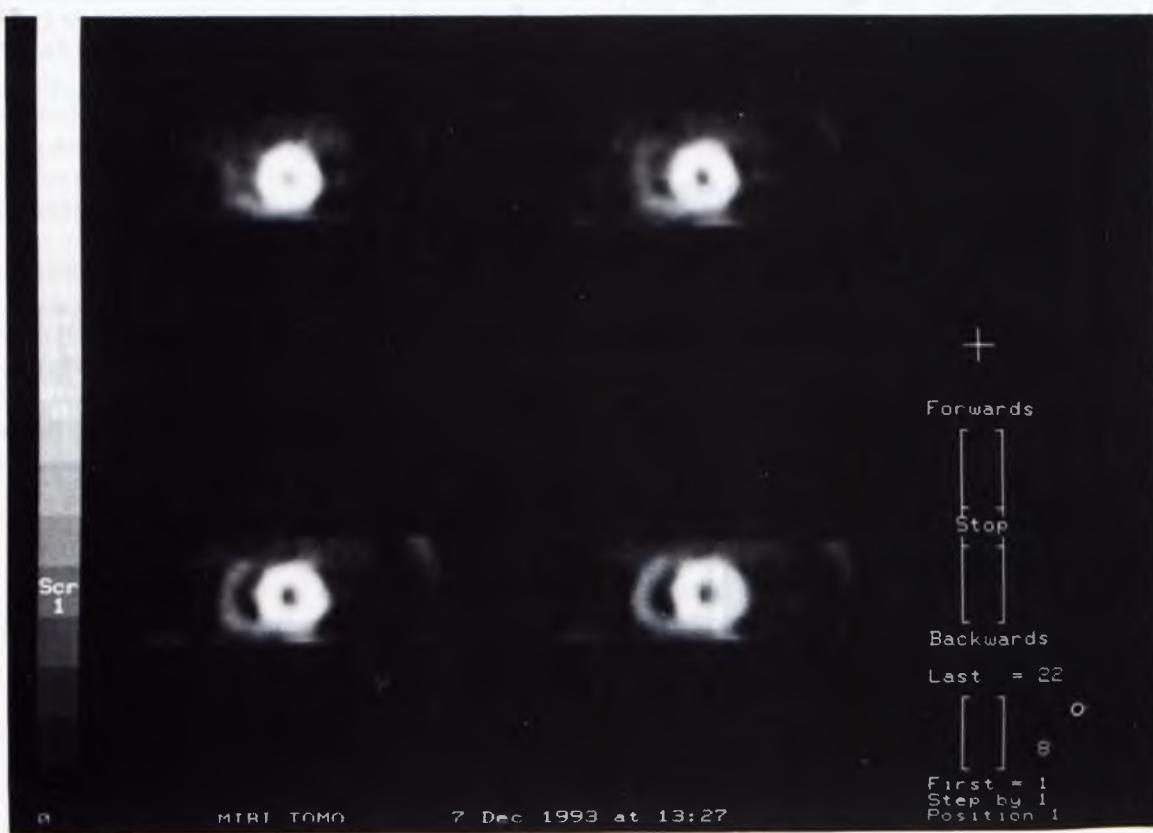


FIGUUR 2: Gemiddelde hart-long- en hart-lewer-verhoudings tydens die dinamiese studie.

BLOEDUITWASKROMME



FIGUUR 3: Uitwaskromme van ^{99m}Tc UVHART uit bloed tydens dinamiese studie.



FIGUUR 4: Tomografiese snitte van miokardiale verspreiding verkry tydens 'n inspanningstoets met ^{99m}Tc UVHART in 'n pasiënt.

ideally suited for imaging, various 99m Tc labelled agents have been investigated for myocardial perfusion imaging, of which 99m Tc labelled methoxy-isobutyl-isocyanide (99m Tc MIBI) has given the best results. 99m Tc MIBI is commercially available at high cost and owing to the unfavourable cost factor this radiopharmaceutical has not been freely used for myocardial perfusion studies. In order to overcome this problem a program was developed at our institution for a low-cost synthesis of 99m Tc MIBI for eventual routine clinical application. The initial experience with the locally produced 99m Tc MIBI (hereinafter referred to as UVHART) and biodistribution in animal studies and in patients is discussed here.

Experimental procedure:

The ligand (RNC) 1-methoxy-2-methylpropylisocyanide was prepared in a three-step process from 2-methylallylamine and was characterized by means of proton NMR (300 MHz Bruker instrument), infrared, chromatographic and melting-point measurements. The RNC ligand was stabilized as the Cu(1) complex and isolated as $[\text{Cu}(\text{RNC})_6]\text{BF}_4^-$. The kits were prepared in batches of 25, containing carefully pipetted volumes of a stock solution, pH 5-6, filtered through 0.22 micron filters, freeze-dried, sealed under N_2 , and stored at -10° centigrade. Each kit contained 0,075 mg of stannous chloride dihydrate, 1 mg of L-cysteine hydrochloride monohydrate, 1 mg $[\text{Cu}(\text{RNC})_6]\text{BF}_4^-$, 2.6 mg of sodium citrate dihydrate and 20 mg mannitol. Labelling was accomplished by reconstitution of the kit with 2 ml of $99m$ -pertechnetate solution followed by 15 minutes heating at 95-100 °C. The labelling efficiency was determined with thin-layer paper chromatography in methyl ethyl ketone and physiological saline solutions respectively. The labelling efficiency was also checked for six hours after the initial constitution of the UVHART kit. The kits were tested for pyrogens and sterility and toxicity tests were also performed.

The biodistribution of UVHART was determined in seven primates after consent was obtained from the Ethics Committee of the UOFS. Imaging was performed with a scintillation camera with the detector positioned over the thorax of the primate in an anterior projection. The UVHART was administered intravenously and dynamic data acquisition was performed for 60 minutes following injection of the radionuclide. Several blood samples were obtained during this period to determine the washout of UVHART. Counts from the heart, liver and right lung were obtained and the heart/lung and heart/liver ratios were calculated.

Following the successful completion of the animal study, permission was obtained from the Medicines Control Council and the Ethics Committee to perform a few patient studies.

Results:

The mean labelling efficiency immediately following constitution of UVHART was 92,4% ± 3,7% and varied minimally for the six hours after constitution. The kits were pyrogen-free and sterile and toxicity tests showed no detrimental effects.

High quality images of UVHART in the myocardium were obtained. The mean heart/lung and heart/liver ratio 60 minutes post-injection were 2,44 and 1,24 respectively, indicating the good myocardial uptake of UVHART. The radiopharmaceutical showed a rapid washout from the blood with a residual activity of 18,7% after 60 minutes.

The myocardial uptake of UVHART in patients was high and excellent tomographic slices of the heart were obtained.

Conclusion:

In this study we showed that 99m Tc labelled UVHART could be prepared successfully for high quality myocardial perfusion imaging. The radiopharmaceutical was synthesised at a small fraction of the commercial cost. Permission has now been obtained from the Medicines Control Council to use 99m Tc UVHART on a routine basis for myocardial perfusion imaging in the Nuclear Medicine Clinic.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Bodenheimer, M.M., Banka, V.S. & Helfant, R.H. (1980). Nuclear Cardiology 11. The role of myocardial perfusion imaging using Thallium-201 in diagnosis of coronary heart disease, *Am. J. Cardiol.*, 45, 674-684.
2. Van Wyk, A.L., Van Aswegen, A., Knoesen, O., Fourie, P.J., Koekemoer, J., Herbst, C.P., Otto, A.C. & Lötter, M.G. (1991). Synthesis and 99m Tc labelling of MMI (MIBI) and its ethyl analogue (EMI), *Appl. Radiat. Isot.*, 42, 687-689.
3. Van Aswegen, A., Van Wyk, A., Herbst, C.P., Otto, A.C., Viviers, A., Koekemoer, J., Knoesen, O., Lötter, M.G., Minnaar, P.C., Kleynhans, P.H.T. & Fourie, P.J. (1989). 99m Tc ethoxy methylpropyl isonitrile: a radioactive tracer for myocardial perfusion imaging, *Nucl. Med. Biol.*, 16, 455-459.
4. Okada, R.D., Glover, D., Gaffney, T. & Williams, S. (1988). Myocardial kinetics of technetium-99m-hexakis-2-methoxy-2-methylpropyl-isonitrile, *Circulation*, 77, 491-498.
5. Bilodeau, L., Théroux, P., Grégoire, J., Gagnon, D. & Arsenault, A. (1991). Technetium-99m sestamibi tomography in patients with spontaneous chest pain: Correlations with clinical, electrocardiographic and angiographic findings, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 18, 1684-1691.