

PREPARASI ¹³¹I-MIBG: RADIOFARMAKA DIAGNOSIS DAN TERAPI NEUROBLASTOMA

Purwoko, Adang Hardi Gunawan, Maskur dan Cahya Nova A.

Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka – PRR BATAN
Kawasan PUSPIPTEK Gd. 11 Setu Tangerang Selatan 15310
purbatan2000@yahoo.com

ABSTRAK

MIBG (metaiodobenzilguanidin) adalah senyawa yang memiliki kemiripan struktur dengan norepinephrin yang selektif terakumulasi di dalam sel neuroendokrin. Senyawa bertanda ¹³¹I-MIBG adalah radiofarmaka diagnosis dan terapi kanker neuroendokrin seperti neuroblastoma yang sudah rutin digunakan di berbagai negara di dunia. Telah dilakukan penelitian tentang preparasi ¹³¹I-MIBG diawali dengan sintesa prekursor MIBG, penetapan kondisi penandaan I-¹³¹ dan pengujian kualitas. Prekursor MIBG telah diperoleh melalui reaksi kondensasi antara meta Iodo benzil anin hidroklorida dengan sianamida melalui pembentukan garam MIBG karbonat sesuai prosedur yang dikembangkan oleh Wieland dengan yield 27 %. Karakterisasi dilakukan dengan mengamati titik leleh, FT-IR dan ¹H-NMR dengan hasil sesuai pustaka. Pengujian kemurnian kimia dilakukan dengan HPLC, hasilnya menunjukkan lebih dari 99%. Preparasi penandaan MIBG terdiri dari 2,0 mg prekursor MIBG sulfat, 4,0 mg Na₂S₂O₅, 185 µg Cu SO₄ .5H₂ O, 100 µl larutan CH₃COOH glasial dan NaI-¹³¹I 10-20 mCi, larutan direfluks pada suhu 160°C selama 30 menit, kemudian dikondisikan sebagai sediaan injeksi. Pemurnian ¹³¹I-MIBG dilakukan dengan resin penukar anion AG 1 – X8, sterilisasi larutan produk dilakukan di ruang steril dengan penyaring bakteri 0,22 µm dan yield penandaan antara 50 – 70 %. Uji kualitas mencakup uji fisik kejernihan, pH larutan, kemurnian radiokimia dan mikrobiologi. Hasil uji kualitas dari sepuluh kali preparasi penandaan menunjukkan bahwa sediaan radiofarmaka ¹³¹I-MIBG berupa larutan jernih tak berwarna, pH antara 6,0-7,5, steril dan bebas pirogen, kemurnian radiokimia > 99 %, konsentrasi radioaktif antara 1,0-2,5 mCi/ml dan telah memenuhi persyaratan sebagai sediaan injeksi untuk digunakan diagnosis maupun terapi neuroblastoma di Rumah Sakit.

Kata kunci : Radiofarmaka, MIBG, Diagnosis, Radioterapi, Neuroblastoma

ABSTRACT

PREPARATION OF ¹³¹I-MIBG: RADIOPHARMACEUTICAL FOR DIAGNOSIS AND THERAPY NEUROBLASTOMA. MIBG (meta-iodobenzylguanidine) is a norepinephrine function analogue leads to specific concentration of the molecule take up in neuroendocrine cell. ¹³¹I-MIBG was labeled compound routinely used in many countries around the world for diagnosis and therapy of neuroendocrine tumors like us neuroblastoma. In order to prepare ¹³¹I-MIBG several procedures such as synthesis of MIBG precursor, establishment of labeling conditions and quality control of the ¹³¹I-MIBG have been carried out. M-Iodobenzylguanidine (MIBG) sulfate as precursor was synthesized in similar procedure to that developed by Wieland et al. The synthesis was carried out by condensation reaction between meta-iodo benzyl amine hydrochloride with cyanamide via MIBG bicarbonate with total yield was found 27 %. The physical properties, FT-IR and ¹H-NMR data of the resulted MIBG sulfate were found to be very closed to those reported in the literature. The chemical purity of MIBG sulfate determined by HPLC was found to be > 99%. ¹³¹I-MIBG was prepared by mixing of 2.0 mg MIBG sulfate, 4.0 mg of Na₂S₂O₅, 185 µg Cu SO₄ .5 H₂ O, 100 µl solution of glacial CH₃ COOH and 10-20 mCi of Na ¹³¹I. The reaction mixture was reflux at 160°C for 30 minutes which was followed by adjusting of pH to injectable. Purification of ¹³¹I-MIBG from free ¹³¹I was performed by anion exchange resin AG 1 – X 8, the final

product was then sterilized by filtration using a 0.22 μm sterile membrane filter under laminar air flow in a clean room and the yield of labeling was found to be 50-70%. The final product of ^{131}I -MIBG was undergone a quality control which included a clarity, pH, a radiochemical purity and a microbiology control. The results of quality control on ten batches of ^{131}I -MIBG showed that these products were colorless clear solution with pH between 6.0-7.5, sterile and pyrogen-free, radiochemical purity > 99% with the radioactive concentration between 1.0 -2.5 mCi/ml. The quality control results were found to be met with the requirements of ^{131}I -MIBG injection solution used for diagnosis and therapy of neuroblastoma in Hospital.

Keywords: Radiopharmaceutical, MIBG, Diagnosis, Radiotherapy, Neuroblastoma

PENDAHULUAN

Penyakit kanker adalah penyakit mematikan yang dapat menyerang siapa saja baik laki-laki ataupun perempuan, dewasa maupun anak-anak termasuk bayi, tak seorangpun dapat menghindar dari ancaman penyakit tersebut. Menurut catatan dari Departemen Kesehatan RI penderita kanker setiap tahunnya diperkirakan mencapai 200,000 penderita baru. Dari jumlah tersebut diperkirakan setiap tahunnya ada sekitar 4,000 anak yang menderita kanker diantaranya adalah jenis kanker *neuroblastoma*.¹ Neuroblastoma adalah salah satu jenis tumor atau kanker neuroendokrin yang sebagian besar terjadi pada kelenjar adrenal dan lebih sering dijumpai pada anak-anak atau bayi, beberapa kasus penderita neuroblastoma telah ditemukan di Rumah Sakit Kanker Dharmas Jakarta.^{1,2}

Meta-Iodobenzilguanidin atau MIBG adalah senyawa obat yang memiliki kemiripan struktur dengan norepinephrin atau noradrenalin yang selektif terakumulasi di dalam kelenjar adrenal sehingga apabila ditandai dengan ^{131}I radioaktif maka akan dapat digunakan untuk diagnosa ataupun radioterapi tertuju pada tumor atau kanker kelenjar adrenal seperti neuroblastoma.³ Radioisotop ^{131}I merupakan radioisotop pemancar partikel beta dengan energi maksimum 610 KeV dan juga pemancar gamma pada energi 364 KeV (81 %) dengan umur paro 8,04 hari sehingga dapat digunakan untuk keperluan diagnosis maupun terapi.³

Radiofarmaka meta-Iodobenzilguanidin bertanda radioisotop ^{131}I atau ^{131}I -MIBG adalah radiofarmaka yang telah dikenal dan digunakan secara rutin di berbagai negara di dunia karena spesifik untuk diagnosa maupun terapi kanker neuroblastoma serta jenis kanker neuroendokrin lainnya seperti *pheochromocytoma*, *paraganglioma* dan *carcinoid medullary thyroid*.⁴

Penelitian tentang preparasi radiofarmaka ^{131}I -MIBG telah dilakukan, dimulai dari sintesis prekursor MIBG, penetapan kondisi penandaan ^{131}I

dan pengujian kualitas sebagai sediaan radiofarmaka ^{131}I -MIBG.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan sediaan radiofarmaka ^{131}I -MIBG yang memenuhi persyaratan untuk diagnosis maupun radioterapi kanker neuroblastoma di Rumah Sakit, sehingga dapat meningkatkan standar pelayanan kesehatan bagi Rumah Sakit terutama yang memiliki fasilitas kedokteran nuklir serta dapat mengurangi ketergantungan dari luar negeri.

Prekursor MIBG diperoleh dengan cara mensintesa dari bahan kimia metalodobenzil amin hidroklorida (MIBAM) dan sianamida sesuai prosedur yang dikembangkan oleh Wieland dan kawan.⁵ Karakterisasi dilakukan dengan mengamati titik leleh, analisa kromatografi cairan kineja tinggi atau HPLC dilakukan untuk melihat kemurnian kimia, spektrofotometri infra merah FT-IR dilakukan untuk melihat gugus fungsi dan $^1\text{H-NMR}$ dilakukan untuk melihat posisi proton pada struktur molekul MIBG.

Metode penandaan MIBG yang dilakukan pada penelitian ini diambil dari beberapa pustaka^{4,5,6}, kemudian dilakukan optimasi melalui percobaan. Dari beberapa publikasi laporan tentang metoda penandaan MIBG dengan ^{131}I pada umumnya menggunakan metoda refluk yaitu mereaksikan antara prekursor MIBG sulfat dengan ^{131}I dalam bentuk larutan. Reaksi yang terjadi adalah reaksi pertukaran nukleofilik isotopik, ^{131}I akan menggantikan ^{127}I stabil dalam gugus aril yang dapat dikatalis oleh Pd^{+2} , Cu^{+2} , Cu^{+} dan atau oleh $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Metode penandaan yang saat ini paling banyak digunakan adalah metoda refluk dengan katalis Cu(I) yang diperoleh dengan cara mereduksi Cu(II) dengan suatu reduktor dalam jumlah yang berlebih, jenis reduktor yang paling banyak digunakan adalah natrium disulfid ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) karena hasil penandaan lebih tinggi dibanding yang lain seperti Sn(II)SO_2 , bahkan bisa mencapai lebih dari 90 %.⁷ Oleh karena itulah metode ini dipilih dan akan digunakan dalam penelitian ini setelah dilakukan optimasi melalui percobaan. Optimasi dilakukan terhadap beberapa parameter yang dapat

berpengaruh terhadap hasil penandaan seperti waktu reaksi, rasio mol antara MIBG sulfat dengan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ serta suhu pemanasan.

Pemurnian dari hasil penandaan dilakukan dengan teknik penukar anion, pengotor ^{131}I bebas serta pengotor lainnya akan terikat di dalam kolom resin sehingga akan meningkatkan kemurnian radiokimia. Pengkondisian sebagai sediaan injeksi seperti pengaturan pH dan sterilisasi dilakukan di dalam ruang bersih yang steril di bawah aliran udara *laminair* serta sesuai peruntukannya.

Pengujian kualitas sebagai sediaan radiofarmaka dilakukan dengan pemeriksaan fisik seperti kejernihan larutan, pH larutan, pengujian kemurnian radiokimia dan pengujian mikrobiologi.

Pengujian kemurnian radiokimia dimaksudkan untuk melihat jumlah pengotor radiokimia ^{131}I bebas, dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sesuai pustaka.⁷

Pengujian mikrobiologi dimaksudkan untuk melihat sterilitas dan apirogenitas dari sediaan ^{131}I -MIBG, uji sterilitas dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan bakteri dan jamur sedangkan uji apirogenitas dilakukan dengan hewan kelinci sebagai model.

Dalam makalah ini akan dilaporkan tentang hasil-hasil dari pelaksanaan penelitian preparasi sediaan radiofarmaka ^{131}I -MIBG yang dimulai dari sintesis prekursor sampai menjadi radiofarmaka yang siap digunakan di Rumah Sakit.

METODE

Bahan Dan Peralatan

Bahan kimia 3-Iodobenzilamin hidroklorida 97% (MIBAM) dan Sianamida 99% diperoleh dari Aldrich. Bahan kimia lainnya seperti NaHCO_3 , H_2SO_4 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, $\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, asam asetat glasial, n-Butanol dan etanol diperoleh dari E.Merck dengan tingkat kemurnian pereaksi analisa. Resin penukar anion yang digunakan untuk pemurnian adalah jenis AG 1 x 8 dari Biorad. Media agar *Blood Agar plate* diperoleh dari DIFCO, hewan kelinci dari PRR, air pro-injeksi-akuabidest diperoleh dari IPHA dan larutan Na^{131}I diperoleh dari PT.Batek.

Peralatan yang digunakan antara lain adalah peralatan gelas seperti gelas piala ukuran 50 ml, Vial ukuran 10 ml, syringe 3,0 ml, pipet ependorf, penyaring bakteri 0,22 μm , alat pemanas *hot-plate* dengan *stirer*, pengaduk magnet, penangas minyak, alat penyaring dengan pompa vakum, alat penggetar *vortex*, termometer, alat pencacah *gamma Counter*, ruang steril serta LAF, perlengkapan uji pirogen, spektrofotometer infra merah (FT-IR Jasco-410) digunakan untuk menentukan gugus fungsi, alat kromatografi cairan- HPLC (Shimadzu) digunakan untuk menentukan tingkat kemurnian kimia, alat

titik leleh (Fisher-Johns) digunakan untuk menentukan titik leleh dan $^1\text{H-NMR}$ (JEOL type JNM ECA 500 MDN) digunakan untuk menentukan struktur molekul berdasarkan resonansi magnetik dari proton.

Tata Kerja

Sintesis Prekursor MIBG sulfat

Ke dalam gelas piala ukuran 50 mL, dimasukkan 539 mg (2,0 mmol) senyawa meta-iodobenzil amin hidroklorida (MIBAM) dan 127 mg (3,0 mmol) Sianamida, ke dua bahan tersebut diaduk sampai tercampur merata. Kemudian dipanaskan sambil diaduk di dalam penangas minyak pada suhu 100°C selama 4 jam, sehingga diperoleh hasil berupa padatan *glassy* menyerupai gelas berwarna kuning kecoklatan.

Padatan hasil dari reaksi tersebut dilarutkan dengan 3,0 ml air akuabidest sambil dipanaskan hingga larut sempurna, kemudian sambil diaduk ditambahkan tetes demi tetes 1,0 mL larutan KHCO_3 (200 mg/mL, 2,0 mmol) hingga terbentuk endapan putih dari m-Iodobenzilguanidin bikarbonat dan dipisahkan dengan cara penyaringan vakum, dicuci dengan akuadest dingin dan dikeringkan dengan cara vakum. Endapan kering ditimbang, diperoleh hasil sebesar 497,3 mg (*yield* : 73,5 %) dan ditentukan titik lelehnya. ($125-127^\circ\text{C}$).

Ke dalam gelas piala ukuran 50 mL, dimasukkan m-Iodobenzilguanidin bikarbonat 497,3 mg dari hasil sintesa, kemudian ditambahkan 5 mL akuadest dan disuspensikan sambil diaduk dan dipanaskan pada suhu $50-60^\circ\text{C}$. Ke dalam larutan suspensi tersebut ditambahkan tetes demi tetes 1 mL larutan H_2SO_4 2N (1,0 meq) hingga timbul endapan kristal berwarna putih dari m-Iodobenzilguanidin sulfat. Endapan kristal dipisahkan dengan cara penyaringan vakum, dicuci dengan akuadest dingin dan dikeringkan dengan cara vakum. Setelah kering kristal dilarutkan kembali ke dalam 20 mL larutan etanol 25 % untuk kristalisasi ulang, kemudian dididihkan dan disimpan di dalam almari pendingin selama 24 jam hingga tumbuh kristal kembali. Kristal murni yang terjadi dipisahkan dan dikeringkan dengan cara penyaringan vakum serta disimpan dalam desikator selama 24 jam. Kristal kering dari m-Iodobenzilguanidin sulfat yang telah murni ditimbang, diperoleh 140 mg (*yield* : 27 %) kemudian ditentukan titik lelehnya ($165-166^\circ\text{C}$) dan karakterisasi lainnya. Reaksi sintesa prekursor MIBG sulfat selengkapnya dapat dilihat seperti pada Gambar 1, pada Hasil dan Pembahasan.

Karakterisasi Prekursor MIBG sulfat

Penentuan titik leleh

Diambil dengan spatula mikro beberapa kristal

MIBG sulfat kemudian diletakkan pada cawan gelas tipis diameter 1,5 cm, kemudian ditempatkan pada pot sampel alat pengukur titik leleh. Amati kristal melalui *loop* kaca pembesar serta suhu pada termometer pada saat kristal mulai meleleh sampai meleleh semua.

Penentuan kemurnian kimia senyawa MIBG sulfat dengan alat HPLC

Ditimbang 1,0 mg MIBG sulfat dari hasil sintesis dimasukkan ke dalam vial ukuran 10 mL, kemudian ditambahkan 10 mL larutan campuran metanol : air (70:30). Larutan dilarutkan dengan alat *vortex* selama 30 detik, disaring dengan filter 0,45 µm, kemudian diambil 20 µL larutan contoh diinjeksikan ke dalam sistem injektor HPLC (SHIMADZU) dan di elusi dengan kondisi sebagai berikut :

Kolom : µ-Bondapak C-18 (0.8 Cm diameter dalam x30 cm panjang, *SS*)

Fasa gerak : Campuran metanol : air (70:30)

Kecepatan aliran : 1,0 mL/menit.

Dengan cara yang sama dilakukan pula untuk MIBG dari Sigma (No.katalog 19890) sebagai pembanding. Data hasil kromatogram HPLC antara absorbansi terhadap waktu retensi dari masing-masing contoh dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3, pada bab 3 hasil dan pembahasan.

Penentuan gugus fungsi senyawa MIBG sulfat dengan alat FT-IR

Untuk membuat rekaman spektrum infra merah dari senyawa MIBG sulfat, diambil kurang lebih 1,0 mg kristal MIBG kemudian dicampur serta digerus dengan sejumlah berat kurang lebih 4-5 mg dari KBr sebagai standar referensi dan diukur spektranya dengan menggunakan alat spektrofotometri infra merah FT-IR (Jasco-410). Data hasil spektrum FT-IR dari MIBG sulfat dapat dilihat pada Gambar 4, pada hasil dan pembahasan.

Penentuan struktur molekul senyawa MIBG sulfat dengan ¹H-NMR

Untuk membuat rekaman spektra ¹H-NMR, diambil sejumlah berat kurang lebih 1,0 mg senyawa MIBG sulfat, dilarutkan ke dalam 1-2 mL CDOD₃, kemudian dimasukkan ke dalam sistim sampel pipa kapiler dan diukur kekuatan resonansi magnet inti dengan alat NMR (JEOL type JNM ECA 500 MDN). Data hasil rekaman spektra ¹H-NMR dapat dilihat pada Gambar 5, pada hasil dan pembahasan.

Penandaan MIBG sulfat dengan ¹³¹I

Prosedur penandaan MIBG dengan ¹³¹I adalah hasil dari optimasi yang dilakukan melalui percobaan seperti waktu reaksi, rasio mol antara MIBG sulfat dan CuSO₄.5H₂O serta suhu pemanasan.

Ke dalam sebuah vial ukuran 10 mL

dimasukkan berturut-turut 2,0 mg MIBG sulfat, 4,0 mg Na₂S₂O₅, 185 µg CuSO₄.5H₂O, 100 µl asam asetat glasial dan larutan Na¹³¹I 10-20 mCi, kemudian vial ditutup dengan karet septa serta di *crimping* dan digetarkan dengan alat *vortex* selama 30 detik hingga larut sempurna. Reaksi penandaan dilakukan pada suhu 160^o C dengan menggunakan penangas minyak selama 30 menit.

Setelah mencapai 30 menit, vial diambil dan dibiarkan dingin kemudian ditambahkan 2,0 mL akuabidest untuk melarutkan sebagian pereaksi yang kering. Larutan diperiksa pH nya dengan indikator kertas pH, apabila asam maka diatur pH nya dengan menambahkan tetes demi tetes larutan NaOH 1 N hingga pH 5 -6, kemudian ditambahkan 2,0 - 3,0 mL larutan dapar fosfat pH 7,4 hingga volume akhir menjadi 5,0 -6,0 ml. Larutan diukur radioaktifitasnya dengan *dose calibrator* dan dicuplik untuk ditentukan hasil penandaan atau kemurnian radiokimianya sebelum dilewatkan kolom untuk dimurnikan. Skema reaksi penandaan MIBG dengan ¹³¹I dapat dilihat seperti pada Gambar 6, pada bab 3 hasil dan pembahasan. Data hasil preparasi ¹³¹I-MIBG yang telah dilakukan dalam sepuluh kali penandaan dapat dilihat pada tabel 1, pada hasil dan pembahasan.

Pemurnian hasil penandaan ¹³¹I-MIBG

Ke dalam syringe ukuran 3,0 mL sebagai kolom dimasukkan 100 mg resin penukar anion AG 1 x 8. Kemudian semua larutan dari hasil penandaan dilewatkan ke dalam kolom syringe dan larutan akan menetes melalui jarum secara grafitasi dan ditampung di dalam vial ukuran 10 mL. Kolom dicuci dengan melewati 0,5 mL larutan dapar fosfat dan larutan eluat disatukan di dalam satu vial, kemudian diukur radioaktifitasnya dengan *dose calibrator* dan dicuplik untuk ditentukan hasil penandaan atau kemurnian radiokimianya setelah dilewatkan kolom.

Sterilisasi sediaan ¹³¹I-MIBG

Larutan sediaan ¹³¹I-MIBG hasil pemurnian disterilisasi menggunakan penyaring bakteri 0,22 µm dan dilaksanakan di ruang clean room yang steril dengan bahan serta peralatan yang steril serta mengikuti prosedur bekerja di ruang steril. Kemudian hasil dari sterilisasi dicuplik 0,5 - 1,0 ml ditempatkan di dalam vial steril untuk dilakukan uji kualitas sebagai sediaan radiofarmaka

Pengujian kualitas sediaan ¹³¹I-MIBG

Pengujian fisik kejernihan serta pH larutan

Pengujian fisik berupa pengamatan langsung terhadap larutan dari kemungkinan adanya partikel serta pH larutan, pH larutan ditentukan dengan menggunakan indikator universal kertas pH dan persyaratan pH larutan sebagai sediaan injeksi adalah antara 6,0 - 7,5.

Pengujian kemurnian radiokimia dengan KLT

Ke dalam tabung gelas diameter 10 cm dan tinggi 25 cm, dimasukkan 30 mL larutan campuran dari n-Butanol, asam asetat glasial dan akuadest dengan perbandingan 5 : 2 : 1. Pada kertas Whatman 1 ukuran 1,5 cm x 15 cm, ditotolkan larutan contoh ¹³¹I-MIBG dari hasil penandaan tepat pada titik berjarak 3 cm dari ujung bagian bawah. Pada kertas yang lain dengan ukuran serta cara yang sama, ditotolkan larutan Na¹³¹I, ditunggu beberapa saat hingga kering.

Kemudian ke dua kertas tersebut dimasukkan ke dalam tabung gelas dengan cara menggantungkan pada tutup tabung yang dilengkapi pengait hingga ujung bagian bawah dari kertas menyentuh dan kurang lebih 1,0 cm masuk ke dalam larutan pembawa, tunggu selama 60 menit sehingga larutan pembawa akan naik kurang lebih mencapai 10 cm, kemudian diangkat dan digantungkan selama 10 menit hingga kering. Masing-masing kertas yang telah kering kemudian dipotong-potong dengan jarak 1,0 cm, masing-masing dicacah menggunakan alat *gamma counter*, dibuat kurva dan dihitung persen kemurnian radiokimianya berdasarkan rasio antara cacahan dari masing-masing sesuai fraksi retensi (RF) ¹³¹I dan ¹³¹I-MIBG terhadap cacahan total.

Data kromatogram KLT antara hasil cacahan terhadap jarak tempuh elusi dapat dilihat pada Gambar 8, pada bab 3 hasil dan pembahasan.

Pengujian sterilitas

Ke dalam cawan petri yang berisi plat agar *Blood Agar plate* steril ditetaskan larutan contoh ¹³¹I-MIBG hasil preparasi, kemudian cawan petri di tutup dan diinkubasikan di dalam inkubator pada suhu 35^o C selama 5 hari. Setiap hari diamati sampai pada hari ke lima dan apabila terdapat koloni bakteri yang tumbuh maka sediaan dinyatakan tidak steril. Uji sterilitas dilakukan di dalam ruang khusus yang steril di bawah aliran udara *laminair* serta

mengikuti prosedur bekerja di ruang steril.

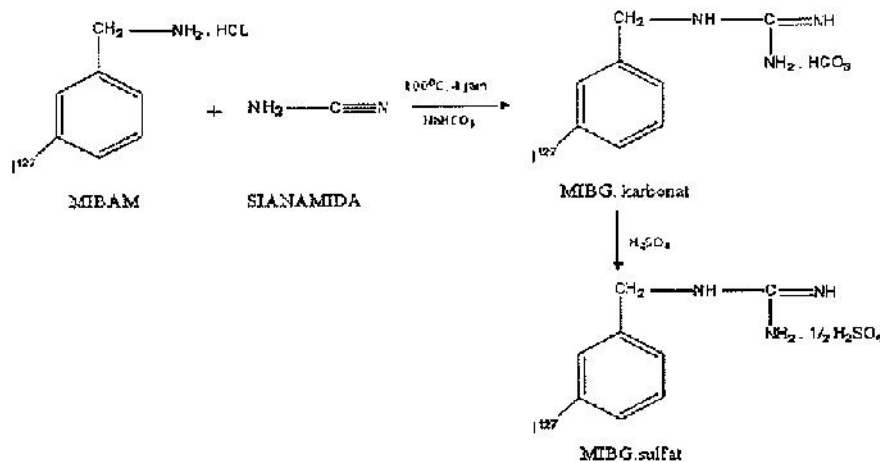
Pengujian apirogenitas

Pengujian apirogenitas dilakukan menggunakan kelinci sebagai model, kelinci yang digunakan sebanyak 3 ekor, dalam keadaan sehat dan memenuhi persyaratan. Ke dalam masing-masing kelinci di injeksikan 100-150 µl larutan contoh ¹³¹I-MIBG hasil preparasi, kemudian setiap 1 jam di amati suhu badan dari masing-masing kelinci selama 3 jam. Apabila terdapat satu kelinci mengalami kenaikan suhu melebihi 0,6^o C atau melebihi 1,4^o C dari total kenaikan suhu untuk ke tiga kelinci maka sediaan dinyatakan tidak bebas pirogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prekursor MIBG sulfat diperoleh dari reaksi antara MIBAM dengan Sianamida dan melalui pembentukan garam bikarbonat yang kemudian diubah menjadi garam sulfat sesuai reaksi seperti pada Gambar 1.

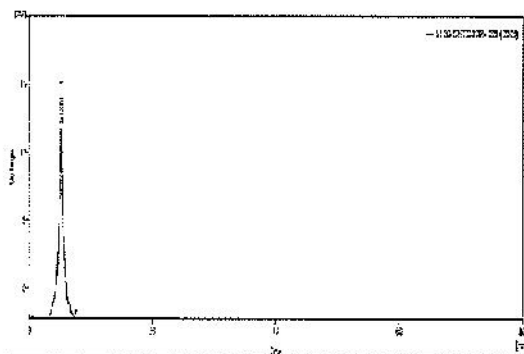
Reaksi dilakukan pada fasa leleh tanpa pelarut dengan suhu 100^oC selama 4 jam, sehingga terjadi kondensasi antara MIBAM dengan sianamida terbentuk senyawa meta-iodobenzil guanidin. Untuk mendapatkan senyawa tersebut maka harus diubah dalam bentuk garam bikarbonat dengan cara menambahkan larutan NaHCO₃ kemudian diubah menjadi garam sulfat dengan menambahkan H₂SO₄ sehingga diperoleh MIBG sulfat atau hemisulfat dalam bentuk kristal. Kristal murni yang diperoleh sebesar 140 mg atau *yield* : 27%. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil sintesa adalah kemungkinan terjadinya polimerisasi dari sianamida membentuk disianidamida dan melamin pada saat pemanasan sehingga hasil atau *yield* yang diperoleh masih rendah.



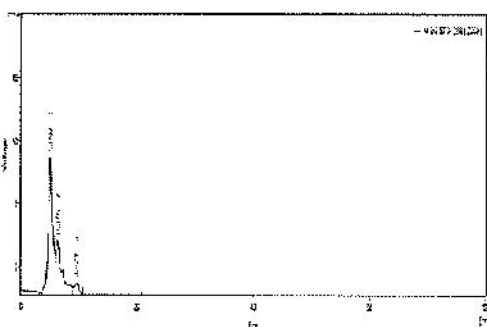
Gambar 1. Skema Reaksi Pada Sintesa MIBG sulfat

Hasil pengamatan terhadap titik leleh menunjukkan bahwa kristal MIBG sulfat meleleh pada suhu 165-166^o C (tanpa koreksi) tak berbeda jauh dari pustaka Wieland¹³ yaitu 166-167^o C.

Karakterisasi MIBG sulfat dengan HPLC dimaksudkan untuk melihat tingkat kemurnian kimia dari hasil sintesis, hasil kromatogram dapat dilihat seperti pada Gambar 2 dan 3 di bawah ini.



Gambar 2. Kromatogram HPLC MIBG Sulfat Hasil Sintesis



Gambar 3. Kromatogram MIBG Sulfat Dari Sigma

Berdasarkan pengamatan terhadap ke dua kromatogram (Gambar 2 dan 3) tampak bahwa masing-masing memiliki waktu retensi yang sama pada 5,099 menit, untuk MIBG sulfat dari hasil sintesa hanya terdapat puncak tunggal sedangkan MIBG dari Sigma terdapat puncak-puncak lainnya. Hal ini dapat dijadikan indikasi bahwa MIBG sulfat dari hasil sintesis mempunyai kemurnian kimia lebih dari 99 %.

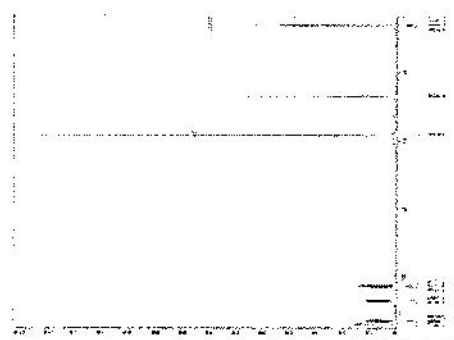
Karakterisasi MIBG sulfat dengan FT-IR dimaksudkan untuk melihat serapan dari gugus fungsi dari hasil sintesa dan diperoleh rekaman seperti pada gambar di bawah ini:



Gambar 4. Spektrum FT-IR dari MIBG Sulfat Hasil Sintesa

Berdasarkan hasil rekaman spektrum infra merah (Gambar 4) dari MIBG sulfat dari hasil sintesa ditemukan pita-pita serapan kuat pada 3322 - 3153cm⁻¹ (gugus NH, NH₂), pada 1644 cm⁻¹; 1602 cm⁻¹ (gugus C=N, guanidin), puncak 1110 cm⁻¹ (S=O) dan puncak lainnya adalah pada 779 dan 615 cm⁻¹ (benzen tersubstitusi). Pita-pita serapan tersebut telah sesuai dengan gugus-gugus yang terdapat pada struktur molekul MIBG sulfat.

Karakterisasi MIBG sulfat dengan ¹H-NMR dimaksudkan untuk melihat posisi proton dari hasil sintesa dan diperoleh rekaman seperti pada Gambar 5 di bawah ini :



Gambar 5. Spektrum ¹H-NMR MIBG Sulfat Hasil Sintesa, Pelarat CD₃ OD

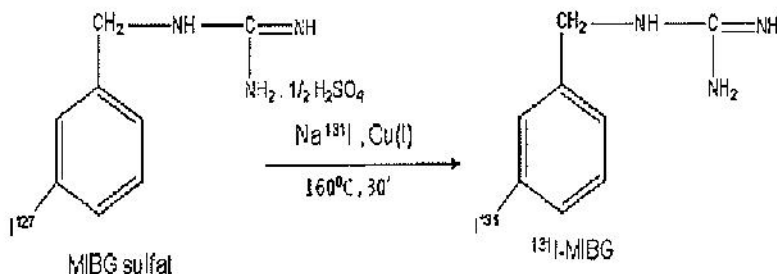
Berdasarkan hasil rekaman spektrum ¹H-NMR (CD₃OD) dari MIBG sulfat hasil sintesa (Gambar 5) tampak adanya puncak pergeseran pada δ 4,3533 bpj (*singlet*, dari 2 H, CH₂) dan δ 7,1377 - 7,7011 bpj (*multiplet*, dari 4 H, aromatik), hasil ini sesuai dengan proton yang ada pada struktur dari MIBG dan sama dengan data pustaka Wielan.¹³

Metode penandaan MIBG dengan ¹³¹I yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode reftuk dengan katalis Cu(I) yang diperoleh dengan cara reduksi Cu(II) dengan natrium disulfid (Na₂S₂O₃) dalam suasana asam asetat glasial pH antara 2,5 - 3,5. Radioisotop ¹³¹I dalam bentuk larutan Na ¹³¹I diperoleh dari hasil irradiasi terhadap sasaran telurium di dalam reaktor nuklir melalui reaksi inti seperti pada Persamaan (1):



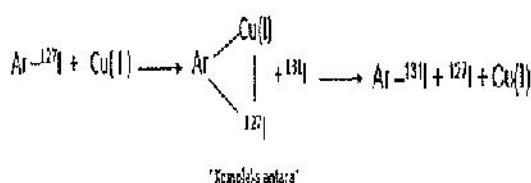
dan melalui proses pemisahan radiokimia yang dilakukan di dalam *hot-cell*.

Reaksi yang terjadi pada penandaan MIBG dengan ^{131}I adalah reaksi pertukaran nukleofilik isotopik antara ^{127}I non-radioaktif pada MIBG dengan ^{131}I sesuai reaksi di bawah ini:



Gambar 6. Skema Reaksi Penandaan MIBG Sulfat dengan ^{131}I

Peran Cu(I) dalam reaksi penandaan adalah sebagai katalis, Cu(I) akan bereaksi dengan MIBG membentuk senyawa 'kompleks antara' yang kemudian dengan ^{131}I akan menggantikan ^{127}I dan Cu(I) lepas kembali. Reaksi katalisa Cu(I) pada radioiodinasi MIBG dapat dilihat seperti pada gambar skema di bawah ini:



Gambar 7. Skema Reaksi Katalisa Cu(I) Pada Radioiodinasi Gugus Aril

Dari skema (Gambar 7) tampak bahwa peran Cu (I) sangat menentukan terhadap hasil penandaan, oleh karena Cu (I) merupakan hasil reduksi dari Cu(II) maka hasil penandaan juga tergantung dari kemampuan suatu reduktor untuk mereduksi Cu (II) menjadi Cu(I) untuk itu diperlukan reduktor dalam jumlah yang berlebihan.

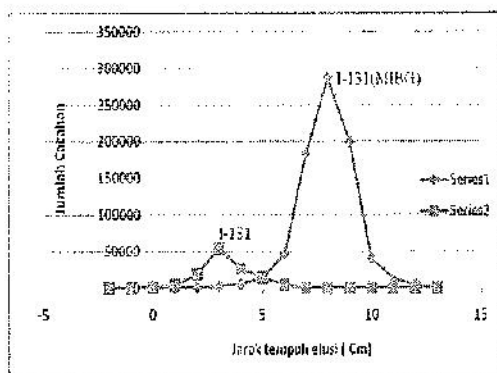
Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penandaan adalah suhu pemanasan , waktu reaksi

serta rasio mol antara MIBG dan Cu(I), oleh karena itu perlu dilakukan optimasi terhadap parameter parameter tersebut sebelum melakukan penandaan agar diperoleh hasil yang maksimal.

Untuk meningkatkan kemurnian radiokimia maka dilakukan pemurnian dengan cara melewatkan larutan ke kolom resin penukar anion , semua bentuk anion dari $^{131}\text{I}^-$, iodat dan periodat yang bebas akan terikat oleh resin sehingga kemurnian radiokimianya menjadi meningkat meskipun hasilnya berkurang karena sebagian akan terserap oleh permukaan resin.

Metoda untuk penentuan kemurnian radiokimia dilakukan sesuai pustaka⁷ dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT), cara ini sederhana dan ekonomis dibanding menggunakan alat HPLC namun mempunyai keakuratan yang cukup tinggi. Sebagai fasa diam digunakan kertas Whatman 1 dan sebagai fasa gerak digunakan larutan campuran dari n-butanol : asam asetat glasial : air dengan perbandingan volume 5 : 2 : 1. Waktu yang diperlukan untuk pengujian kurang lebih 2 jam.

Hasil kromatogram dari penentuan kemurnian radiokimia sediaan ^{131}I -MIBG menggunakan KLT dapat dilihat seperti pada gambar di bawah ini:



Gambar 8. Kromatogram KLT dari ^{131}I -MIBG dan ^{131}I

Dari kromatogram (Gambar 8) distribusi dari komponen dapat diidentifikasi dalam bentuk fraksi retensi atau RF masing-masing, untuk ^{131}I adalah 0,3-0,4 sedangkan untuk ^{131}I -MIBG adalah 0,8-0,9. Dari kromatogram tersebut dapat ditentukan % kemurnian radiokimia dari ^{131}I -MIBG dengan

menghitung jumlah cacahan pada daerah RF untuk ^{131}I -MIBG dibagi dengan cacahan total.

Data hasil preparasi sediaan ^{131}I -MIBG dan hasil kemurnian radiokimia masing-masing dari sepuluh kali preparasi dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1. Data Hasil Preparasi ^{131}I -MIBG

No. Batch	Bahan baku $\text{Na } ^{131}\text{I}$ (mCi)	Produk ^{131}I -MIBG (mCi)	Kemurnian Radiokimia awal (%)	Kemurnian Radiokimia akhir (%)
09 C 03 -01 x	21,4	13,9	89,6	99,7
09 C 16 -02 x	18,5	13,6	91,2	98,4
09 D 27 -03x	17,4	9,3	94,6	99,1
09 G 28 -04x	17,9	11,4	90,7	98,8
09 I 08 -05x	19,2	14,6	92,2	98,6
09 J 13 -06x	21,9	12,8	95,4	99,7
09 L 08 -07x	20,2	10,9	91,8	99,2
10 D 26 -08x	25,4	14,7	86,4	99,0
10 G 06 -09x	6,2	2,9	90,1	99,8
10 H 03 -10x	8,5	4,8	92,6	99,4

Dari data Tabel 1 di atas tampak bahwa kemurnian radiokimia akhir setelah dilewatkan kolom pemurnian sebagian besar mencapai di atas 99 %, jadi ada peningkatan yang signifikan sehingga memenuhi persyaratan (lebih dari 95 %) sebagai sediaan radiofarmaka.

Perolehan *yield* dari setiap preparasi yang dihitung dari radioaktivitas ^{131}I sebagai bahan awal sampai diperoleh produk sediaan ^{131}I -MIBG adalah antara 50 -70 %, adanya kehilangan selama proses penandaan, pemurnian serta pelurutan adalah suatu hal yang tak bisa dihindari.

Hasil uji kualitas lainnya terhadap sediaan ^{131}I -MIBG menunjukkan bahwa larutan jernih bebas partikel , pH larutan antara 6,0 - 7,5, steril dan bebas pirogen serta memenuhi persyaratan sebagai sediaan injeksi.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, telah diperoleh metoda preparasi radiofarmaka ^{131}I -MIBG yang memenuhi persyaratan sebagai sediaan injeksi diawali dari sintesa prekursor MIBG sulfat, penandaan dengan radioisotop ^{131}I , pemenuhan sebagai sediaan injeksi dan pengujian kualitas. Dari hasil sintesa telah diperoleh MIBG sulfat 140 mg dengan kemurnian kimia lebih dari 99% . Penandaan dengan ^{131}I dilakukan pada suhu 160°C

selama 30 menit dengan formulasi 2,0 mg MIBG sulfat, 185µg $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, 4 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, 100 µl asam asetat glasial dan 10-20 mCi larutan Na^{131}I . Hasil uji kualitas dari sepuluh kali preparasi diperoleh sediaan ^{131}I -MIBG berupa larutan jernih tak berwarna, pH antara 6,0 - 7,5, steril dan bebas pirogen, kemurnian radiokimia lebih dari 99% dan konsentrasi radioaktif antara 1,0-2,5 mCi / mL serta telah memenuhi persyaratan sebagai sediaan injeksi untuk digunakan diagnosa maupun terapi neuroblastoma di Rumah Sakit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Bapak DR. Abdul Mutalib (Ka PRR), Ibu Dra. Siti Darwati, M.Sc. (Kepala Bidang Radiofarmaka), Ibu Dr. Kardinah (Kepala Bagian Radiodiagnostik Rumah Sakit Kanker Dharmas Jakarta), Bapak Drs. Bambang Purwadi Direktur Divisi produksi PT.Batan Teknologi serta rekan-rekan yang telah membantu terlaksanakannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. SINAR HARAPAN. Artikel Kesehatan tentang Mewaspadaai gejala kanker pada Anak, copyright Sinar Harapan, 2003.
2. Nuniek T., Dokter sehat, Majalah info kesehatan, Jakarta 12 Maret 2008.

3. Wieland M.D, Wu,J.L., Brown E.L, Mangner, T.J, Dennis, P, Swanson, P, Beierwaltes, W.H., Radiolabeled Adrenergic Neuron-Blocking Agents:Adrenomedullary Imaging with (I-131) Iodobenzylguanidine, *Journal Nuclear Medicine*, 21, 1980, pp 349-353.
4. Amon R, Wafelman, Monique C.P, KoningS, ;Zornelis A.H, Robert A.A, Maes, Beijnen, J.H. Synthesis, Radiolabelling and Stability of Radioiodinated m -Iodobenzylguanidine, a Review, *Journal Application Radiation Isotope* Vol.45, No.10, 1994, pp 997-1007.
5. Neves M. Paulo A, Patricio,L. A kit formulation of (I-131) metaIodobenzylguanidine (MIBG) using generated 'in situ' by sodium disulphite ", *Journal Radiation Application*, 43, 1992, pp 737-740.
6. Mertens J. Vanryckekeghen.W. Cu(I) supported isotopic exchange of arylbound Iodide. (*New Future for the second European Symposium of Radiopharmaceuticals Compounds* , 1985.)
7. Barboza,M.F. PereiraN.S, Culturato.M.T. Silva.P.G., Miniaturized Chromatographic Radiochemical Procedure For ¹³¹I-MIBG.
8. (Congreso de La Asociacion Latinoamericana de Sociedades de Biologia y Medicina Nuclear -ALASBIMN, Santiago -Chile, Oct.08-11.1989)