

SINTESA DAN PENANDAAN
SENYAWA 5'-O-(4,4'-DIMETOKSITRITIL)-2,3-ANHIDROTIMIDIN
UNTUK PREPARASI RADIOFARMAKA [¹⁸F]FLT

Purwoko, Maskur, Chaeruman dan Yono Sugiarto
Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka –PRR BATAN

ABSTRAK

SINTESA DAN PENANDAAN SENYAWA 5'-O-(4,4'-DIMETOKSITRITIL)-2,3-ANHIDROTIMIDIN UNTUK PREPARASI RADIOFARMAKA [¹⁸F]FLT Telah diketahui bahwa senyawa 3'-deoksi-3'- [¹⁸F] Florotimidin atau [¹⁸F]FLT adalah radiofarmaka turunan timidin yang digunakan untuk deteksi kanker berdasar pada metabolisme DNA. Telah dilakukan kegiatan penelitian tentang sintesa dan penandaan senyawa prekursor 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3' anhidrotimidin untuk preparasi radiofarmaka [¹⁸F]FLT. Sintesa dan penandaan prekursor dilakukan sesuai metoda literatur dan telah diperoleh produk berupa kristal hablur 84,37 mg (yield 32,4 %) dengan kemurnian kimia lebih dari 95 % (HPLC). Karakterisasi dilakukan dengan mengamati hasil pengujian liquid chromatography-mass spectrometry LC/MS dan penentuan ¹H-NMR, menunjukkan bahwa produk 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3' anhidrotimidin dari hasil sintesa tidak berbeda jauh dengan hasil yang diperoleh dari literatur. Penandaan senyawa prekursor dilakukan melalui reaksi florinasi nukleofilik menggunakan ¹⁸Fluorida pada suhu 160 °C selama 15 menit dengan katalisator kriptofix 2.2.2, dilanjutkan dengan hidrolisa menggunakan HCl pada suhu 100 °C selama 10 menit, kemudian dinetralkan dengan NaOH. Pemurnian [¹⁸F]FLT terhadap pengotor dilakukan dengan kartrid tunggal Alumina-N sebagai pengganti pemurnian dengan HPLC. Pengujian kualitas [¹⁸F]FLT yang dilakukan meliputi kejernihan larutan, pH dan kemurnian radiokimia. Hasil pengujian terhadap empat kali percobaan penandaan menunjukkan bahwa telah diperoleh senyawa [¹⁸F]FLT berupa larutan jernih tak berwarna dengan pH antara 6,0 – 7,5, kemurnian radiokimia 97,93 ± 1,48 % dengan perolehan 8,18 ± 1,54 % (tanpa koreksi waktu peluruhan) dan waktu proses penandaan selama 73 ± 4 menit.

Kata kunci : Sintesa - Radiofarmaka - [¹⁸F]FLT - Deteksi- Kanker

ABSTRACT

SYNTHESIS AND LABELING 5'-O-(4,4'-DIMETOXYTRITYL) -2,3-ANHIDROTHYIMIDINE FOR PREPARATION OF RADIOPHARMACEUTICAL [¹⁸F]FLT. It is has been known that the compound of 3'-deoxy-3'-[¹⁸F] Fluorothymidine or [¹⁸F] FLT is a thymidine derivative radiopharmaceutical used for cancer detection based on DNA metabolism. Synthesis and labeling of 5'-O-(4,4' -dimetoxytrityl) -2,3' anhidrothymidine precursor for preparation of the radiopharmaceutical [¹⁸F]FLT was carried out. The precursor was synthesized in similar manner and procedure literature and it have been obtained a crystalline product with total yield of 32,4 %. The chemical purity of the product which determined by HPLC was found to be more than 95%. Characterization of the product was done by observing the results of the LC / MS and ¹H-NMR test, the resulted data were found to be very closed to those reported in the literature. Labeling of the precursor was done by nucleophilic fluorination reactions using ¹⁸Fluoride at 160 °C for 15 minutes with kryptofix 2.2.2 catalyst followed hydrolysis using HCl at 100 °C for 10 minutes and then neutralized with NaOH. Purification [¹⁸F]FLT was performed by single cartridge Alumina-N as a substitute HPLC methods. The results have been obtained a label compound [¹⁸F]FLT with high purity as a bulk for preparation of the radiopharmaceutical [¹⁸F]FLT. The label compound of [¹⁸F]FLT undergone a quality test which included a clarity, pH and a radiochemical purity. The results of quality control on four batches of [¹⁸F]FLT showed that these products were colorless clear solution with pH between 6.0-7.5, and radiochemical purity 97.93 ± 1,48% and showed that the label compounds have been obtained [18F]FLT-free particles form a clear solution with a pH between 6,0 - 7,5, radiochemical purity of 97.93 ± 1,48 %, radiochemical yields 8.18 ± 1.54% (decay uncorrected) and processing time 73 ± 4 minutes.

Keywords: Synthesis - Radiofarmaka - [18F]FLT - Detection-Cancer

PENDAHULUAN

Telah diketahui bahwa senyawa 3'-deoksi-3'-[¹⁸F] Florotimidin atau [¹⁸F]FLT adalah radiofarmaka PET yang dapat digunakan untuk deteksi tumor atau kanker berdasar pada metabolisme DNA. Senyawa [¹⁸F]FLT apabila masuk ke dalam sel akan mengalami fosforilasi oleh enzim timidin kinase I (TK I) dan dimetabolisme sampai DNA. Namun tidak demikian halnya untuk sel tumor atau kanker, adanya unsur ¹⁸Flor yang mensubstitusi gugus OH yang terikat atom C pada posisi 3' akan mencegah proses metabolisme berlanjut sampai DNA dan ion ¹⁸FLT-MP (monofosfat) yang telah terbentuk akan terperangkap di dalam sel sel tumor atau kanker sehingga meninggalkan jejak metabolit yang memancarkan emisi positron dan dapat dimanfaatkan untuk pengukuran laju pertumbuhan sel tumor/kanker atau untuk 'tumor imaging' menggunakan kamera PET [2,4,5].

Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka PRR-BATAN telah melakukan Penelitian Pengembangan radiofarmaka PET tentang radiofarmaka [¹⁸F]FLT yang diawali dengan sintesa prekursor dan penandaan dengan radionuklida ¹⁸Flor, radionuklida tersebut dipilih oleh karena memiliki waktu paro 110 menit dan cukup ideal untuk diagnosa menggunakan kamera PET.

Ada beberapa jenis prekursor yang dapat digunakan dalam sintesa [¹⁸F]FLT, namun dalam penelitian ini prekursor yang dipilih adalah senyawa 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3' anhidrotimidin atau DMTr-2,3' anhidrotimidin dengan pertimbangan bahwa cara sintesanya tidak terlalu rumit dan pada saat penandaan dengan ¹⁸Florida

akan dihasilkan pengotor yang lebih sedikit sehingga cara pemurniannya menjadi lebih sederhana^[1,3]

Sebagian besar dari publikasi melaporkan bahwa sintesa [¹⁸F]FLT dilakukan dengan modul sintesa otomatis dan dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan alat *HPLC* sehingga tidak sederhana. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan sintesa [¹⁸F]FLT yang meliputi sintesa prekursor dan penandaan dengan ¹⁸flor sesuai metoda literatur dari Blocher A. et al [1] dengan melakukan pengembangan dalam metoda pemurnian [¹⁸F]FLT yakni menggunakan kartrid tunggal Alumina-N sebagai pengganti alat *HPLC*.

Sintesa prekursor dilakukan dengan mereaksikan antara 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil) timidin dan metanasulfonil klorida dalam suasana piridin suhu 0 °C sehingga terbentuk mesiltimidin, kemudian dikondisikan dalam suasana *anhidrous* bebas air dan menggunakan katalis serta *molecular sieves* selama beberapa hari sehingga terbentuk produk anhidrotimidin, kemudian dimurnikan dengan metoda kolom kromatografi (silika-gel) sehingga diperoleh produk murni. Karakterisasi produk murni dilakukan dengan analisa menggunakan instrumen *Liquid chromatography-mass spectrometry LC/MS* dan ¹H-NMR kemudian dibandingkan dengan hasil literatur.

Penandaan prekursor dilakukan melalui dua tahap reaksi yakni florinasi nukleofilik terhadap DMTr-2,3' anhidrotimidin dengan katalisator kriptofix 2.2.2. dan kemudian dihidrolisa dengan HCl untuk menghilangkan gugus pelindung yaitu DMTr serta netralisasi. Pemurnian [¹⁸F]FLT dilakukan dengan cara kromatografi menggunakan kartrid tunggal Alumina-N. Radionuklida ¹⁸Flor

diperoleh dari penembakan proton terhadap bahan sasaran H₂O diperkaya ¹⁸O di dalam mesin Siklotron melalui reaksi inti ¹⁸O (p,n) ¹⁸F^[3,6].

Proses penandaan dilakukan secara manual dan di dalam Fume hood yang dilengkapi dengan perisai radiasi serta sistim ventilasi dan penerangan yang cukup, menggunakan peralatan sederhana seperti pemanas *heating block* serta peralatan gelas berupa *vial reaction*.

Pengujian kualitas sebagai bahan radiofarmaka [¹⁸F]FLT dilakukan sesuai ketentuan serta persyaratan utama dari *US Pharmacope* yaitu larutan harus jernih, pH larutan harus sesuai pH darah antara 5,5 – 7,5 dan mempunyai kemurnian radiokimia lebih dari 90 %.

Pengujian kemurnian kimia dan radiokimia [¹⁸F]FLT dimaksudkan untuk melihat jumlah pengotor kimia dan radiokimia dan dilakukan dengan mengamati hasil kromatogram dari analisa *HPLC* kemudian dibandingkan dengan standar FLT.

Dalam makalah ini akan dilaporkan tentang hasil-hasil yang telah diperoleh dalam kegiatan penelitian pengembangan radiofarmaka [¹⁸F]FLT.

TEORI DAN TATA KERJA

Sintesa [¹⁸F]FLT.

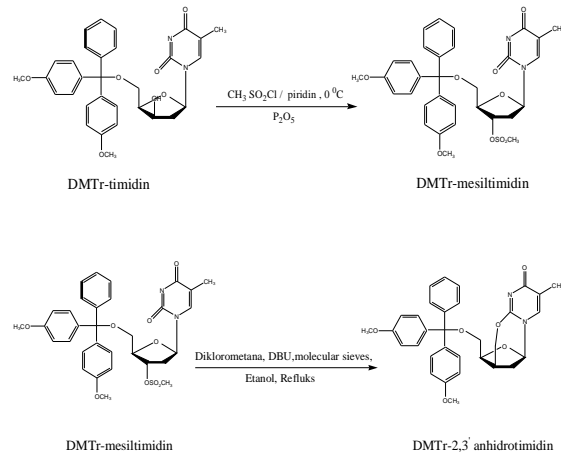
Senyawa [¹⁸F]FLT dapat diperoleh melalui dua tahap reaksi sintesa yakni :

- Sintesa DMTr-2,3'-anhidrotimidin.
- Penandaan DMTr--2,3'-anhidrotimidin dengan ¹⁸Flor.

Sintesa DMTr- 2,3' anhidrotimidin.

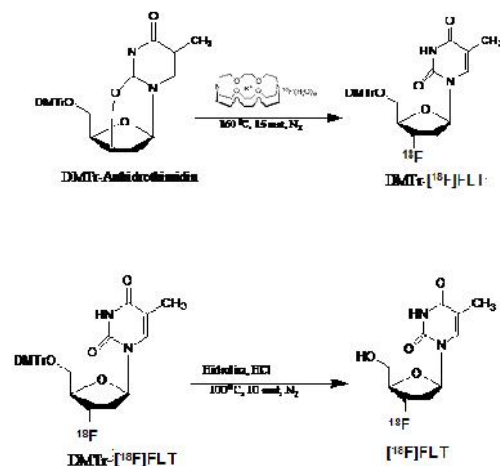
Senyawa DMTr-2,3'- anhidrotimidin atau 5'-O-(4,4'-dimetoksitiril)-2,3' anhidrotimidin adalah suatu bahan yang digunakan untuk sintesa [¹⁸F]FLT

dan dapat disintesa sesuai reaksi kimia yang disajikan seperti pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. Skema reaksi sintesa DMTr-2,3'-anhidrotimidin

Hasil sintesa berupa produk DMTr-2,3'-anhidrotimidin yang kemudian akan dilakukan penandaan dengan radionuklida ¹⁸Flor melalui reaksi florinasi nukleofilik dengan katalisator Kriptofix 2,2,2, kemudian dihidrolisa menggunakan HCl sehingga diperoleh senyawa [¹⁸F]FLT, reaksi selengkapnya disajikan seperti pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Skema reaksi sintesa [¹⁸F]FLT.

Hasil sintesa berupa produk senyawa bertanda [¹⁸F]FLT dan hasil samping lainnya berupa pengotor, untuk mendapatkan produk murni [¹⁸F]FLT maka harus dimurnikan. Dalam penelitian ini dilakukan penelitian menggunakan kartrid Alumina-N.

Bahan

1. 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3'-timidin,
2. Kriptofix 2,2,2
3. Asetonitril *anhydrous*
4. P₂O₅,
5. DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene)
6. *molecular sieves*
7. Dimetil sulfoksida (DMSO),
8. diklororometan absolut bebas air,
9. NaOH
10. HCl
11. Gas Nitrogen
12. ¹⁸F radioaktif

Peralatan

1. Vial 'V' ukuran 5 ml.
2. *heater block*.
3. Kartrid Alumina.
4. Syringe 3 ml.
5. HPLC (shimadzu) dengan detektor UV dan radioaktif.
6. LC-MS (Mariner).
7. ¹H-NMR (JEOL type JNM ECA 500 MDN)

Tata kerja

Sintesa DMTr-2,3'anhidrotimidin

- Ditimbang 225 mg 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3' timidin (0,44 mmol) dan dimasukkan ke dalam labu yang berisi larutan piridin suhu 0 °C sedikit

demis sedikit sambil diaduk hingga larut sempurna.

- Ditambahkan tetes demi tetes larutan metansulfonil klorida sebanyak 0,2 ml (0,9 mmol) ke dalam larutan timidin selama 30 menit dan pada suhu 0 °C, reaksi dibiarkan berlangsung pada suhu kamar selama 4 jam.
- Dituangkan seluruh larutan tersebut ke dalam gelas piala yang telah diisi 50 ml air es sambil diaduk perlahan lahan hingga timbul endapan suspensi berwarna putih dari DMTr-mesiltimidin.
- Disaring endapan DMTr-mesiltimidin. dan dicuci dengan 10 ml air es, kemudian dikeringkan dalam desikator vakum yang diisi kristal P₂O₅ hingga kering sempurna dan ditimbang. (Hasil DMTr-mesiltimidin: 224,8 mg).
- Dimasukkan ke dalam labu yang berisi larutan diklororometan absolut berturut-turut 224.8 mg DMTr-mesiltimidin sedikit demi sedikit hingga larut sempurna, 0,1 ml larutan DBU dan 300 mg *molecular sieves*, larutan diaduk selama 4 hari dan suhu 20 °C.
- Dipisahkan larutan dengan *molecular sieves* dengan cara dekantasi, kemudian ditambahkan 1,5 ml etanol dan direfluk selama 15 menit dan kemudian diuapkan pelarutnya dengan pemanasan 40-50 °C sambil dialiri gas nitrogen sehingga diperoleh residu produk kotor dari DMTr-2,3' anhidrotimidin.
- Dimurnikan seluruh produk kotor menggunakan cara kolom kromatografi (2,5 x 60 Cm) yang diisi silika gel ukuran 70-230 mesh dan dielusi dengan campuran dari diklorometan:metanol (19:1,v/v), ditampung setiap 10 ml eluat dan diidentifikasi dengan kromatografi kertas.

- Diuapkan seluruh eluat yang mengandung produk murni dan ditimbang (Hasil DMTr-2,3'-anhidrotimidin: 84,37 mg ,*yield* : 32,4 %.
- Dikarakterisasi produk murni menggunakan ¹H-NMR dan LC-MS, hasilnya dibandingkan dengan hasil dari literatur.

Karakterisasi dengan ¹H-NMR

Untuk membuat rekaman spektra ¹H-NMR, diambil sejumlah berat kurang lebih 1,0 mg senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin, dilarutkan ke dalam 1-2 ml CD₃OD, 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 disajikan seperti pada gambar 3, pada bab hasil dan pembahasan.

Karakterisasi Penentuan massa dengan LC-MS.

Untuk membuat rekaman LC-MS, diambil sejumlah berat kurang lebih 1,0 mg senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin, dilarutkan ke dalam 1-2 ml metanol, kemudian diinjeksikan 20 ul ke dalam sistim gabungan antar muka HPLC-MS, pelarut yang digunakan adalah campuran dari metanol:air (80:20) dengan kecepatan aliran 1 ml/menit, eluennya langsung diatomisasikan oleh sistim Spektrofotometri Massa.

Data hasil rekaman LC-MS disajikan seperti pada gambar 4 dan 5 pada bab hasil dan pembahasan.

Penandaan DMTr- 2,3'-anhidrotimidin atau sintesa [¹⁸F]FLT

- Dimasukkan ke dalam vial 'V' ukuran 5 ml sejumlah radioaktifitas dari larutan ¹⁸Flor dan 1,0 ml larutan asetonitril 90% yang telah mengandung 15 mg kriptomik 2,2,2 dan 3,5 mg K₂CO₃.
- Dipanaskan dan diuapkan seluruh larutan pada suhu 100 °C (sambil dialiri gas nitrogen) hingga kering, tambahkan 1 ml asetonitril dan dipanaskan kembali hingga kering (penambahan 1 ml asetonitril di ulangi hingga 3 kali dimaksudkan agar penguapan air secara azeotrop sempurna dan terbentuk kriptomand).
- Dimasukkan larutan prekursor DMTr-2,3' anhidrotimidin 20 mg/1.0 ml DMSO ke dalam vial yang telah mengandung kriptomand.
- Dipanaskan pada suhu 160 °C (sambil dialiri gas nitrogen) selama 15 menit untuk reaksi penandaan, kemudian dibiarkan turun suhunya hingga 80 °C.
- Ditambahkan 600 µl larutan HCl 1,0 N dan dipanaskan pada suhu 100 °C (sambil dialiri gas nitrogen) selama 10 menit untuk hidrolisa, kemudian dihentikan dan suhu dibiarkan turun hingga 60 °C.
- Ditambahkan 600 µl larutan NaOH 1,0 N dan atur hingga pH netral antara 5,5 – 7,5.
- Larutan [¹⁸F]FLT netral diambil dan dimasukkan ke dalam vial ukuran 10 ml, diencerkan dengan akuabides hingga volume 5 ml.
- Larutan netral dimurnikan dengan cara melewatkan ke kartrid Alumina-N.

Pemurnian [¹⁸F]FLT

- Diambil seluruh larutan [¹⁸F]FLT netral dan dilewatkan melalui kartrid tunggal Alumina-netral yang sudah dikondisikan dengan kecepatan 2 ml/menit dan ditampung ke dalam vial 10 ml, kemudian dicuci dengan cara melewatkan 5,0 ml akuades dan ditampung, disaring dengan filter 0,45 µm serta digabungkan ke dalam vial 10 ml, hasilnya diukur radioaktifitasnya dengan alat *dose calibrator* dan dicuplik untuk ditentukan kemurnian kimia ataupun kemurnian radiokimianya.

Pengujian kemurnian kimia dan radiokimia [¹⁸F]FLT dengan alat HPLC.

Diambil dengan pipet 100 µl larutan [¹⁸F]FLT kemudian dimasukkan ke dalam *mikrotube* 2,0 ml, kemudian ditambahkan 400 µl larutan asetonitril. Larutan digetarkan dengan alat *vortex* selama 30 detik hingga larut sempurna, disaring dengan filter 0,45 µm, kemudian diambil 20 µl larutan contoh diinjeksikan ke dalam sistim injektor HPLC (SHIMADZU) dan di elusi dengan kondisi sebagai berikut :

Kolom : µ-Bondapak C-18, (0,8x30)Cm,SS

Fasa gerak : asetonitril

Kecepatan aliran : 1,0 ml/menit.

Dengan cara yang sama dilakukan pula terhadap standar FLT non radioaktif sebagai pembanding.

Data hasil kromatogram HPLC antara absorbansi terhadap waktu retensi dari masing-masing contoh disajikan seperti pada Gambar 6 dan 7 pada Bab hasil dan pembahasan.

Pengujian fisik kejernihan serta pH larutan [¹⁸F]FLT.

Pengujian fisik berupa pengamatan langsung di bawah sinar lampu terang terhadap larutan dan diamati dari kemungkinan adanya partikel, sedangkan pH larutan ditentukan dengan menggunakan indikator universal kertas pH, dan hasil pengujian menunjukkan bahwa semua larutan mempunyai pH antara 6,0 – 7,5 dan jernih tak berwarna sehingga memenuhi persyaratan sebagai bahan radiofarmaka [¹⁸F]FLT.

Data hasil dari empat kali sintesa [¹⁸F]FLT disajikan seperti pada Tabel 2 pada Bab hasil dan pembahasan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesa senyawa DMTr-2,3'- anhidrotimidin.

Dari skema reaksi Gambar 1, reaksi diawali dengan pembentukan DMTr-mesiltimidin yang merupakan produk “antara” dalam sintesa DMTr-2,3' anhidro timidin. Gugus mesil atau metilsulfonil akan bereaksi dengan gugus OH pada posisi atom C(karbon) ke 3 karena gugus OH pada posisi atom C ke 5 sudah dilindungi dengan gugus (4,4'-dimetoksitripenilmetil) atau DMTr, hal ini sengaja dilakukan oleh karena pada posisi atom C ke 3 inilah merupakan pusat elektofilik yang dikemudian akan digantikan oleh anion ¹⁸Fluor pada reaksi nukleofilik.

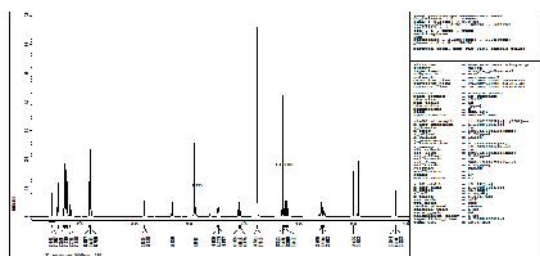
Ikatan anhidro adalah ikatan antara atom C ke 3 pada senyawa gula dan atom C ke 2 pada senyawa basa timin yang dihubungkan oleh atom O yang berasal dari gugus karbonil C=O pada senyawa timin, hal ini dapat terjadi oleh karena adanya gugus

mesil yang merupakan gugus yang mudah lepas atau *leaving group* untuk digantikan dengan yang lain. Pengkondisian suasana bebas air atau anhidros disertai adanya katalis DBU(1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene) dan *molecular sieves* akan menyebabkan lepasnya gugus mesil disertai pembentukan ikatan anhidro pada posisi atom C ke 2 dan ke 3' sehingga terbentuk senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin sesuai yang diinginkan. Dari sintesa yang dilakukan telah diperoleh produk DMTr-2,3' anhidrotimidin mencapai 84,37 mg atau *yield* sekitar 32,4 % saja. Hasil tersebut masih rendah dibanding pustaka yang mencapai 78 %, banyak faktor yang mempengaruhinya terutama pada pembentukan ikatan anhidro yakni pada saat pengkondisian bebas air, faktor lainnya adalah saat pemurnian menggunakan kolom silika gel, masih perlu dicari kondisi yang optimal terhadap ukuran kolom, jumlah silika serta pelarut yang digunakan.

Karakterisasi dengan $^1\text{H-NMR}$

Penentuan struktur kimia berdasarkan posisi proton pada DMTr-2,3' anhidrotimidin dilakukan menggunakan $^1\text{H-NMR}$ (pelarut CD_3OD).

Data hasil spektrum $^1\text{H-NMR}$ disajikan seperti pada Gambar 3 dibawah ini:



Gambar 3. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (pelarut CD_3OD) dari DMTr-2,3' anhidrotimidin

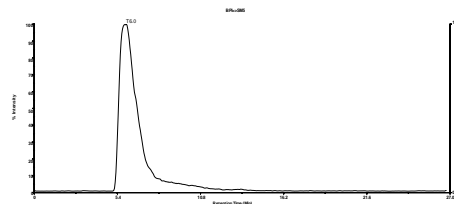
Hasil spektrum $^1\text{H-NMR}$ (pelarut CD_3OD) menunjukkan data pergeseran kimia seperti yang disajikan pada Tabel 1 dan dibandingkan dengan hasil pustaka^[1] sebagai berikut :

Tabel 1. Tabel pergeseran kimia dari senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin.

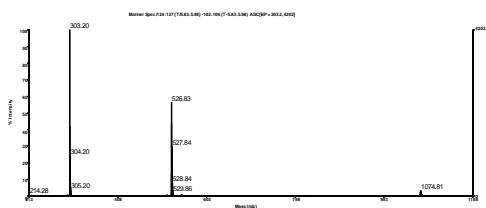
u (ppm), CDCl_3 , Pustaka ^[1] ,	u (ppm), CD_3OD Hasil sintesa	Pergeseran kimia
1.95	1.92	3H, s, CH_3
2.57	2.57	1H, d, 2H
3.79	3.76	6H, s, OCH_3
4.27	4.07- 4.10	1H, m, 4H
5.16	5.32	1H, s, 3H
5.4	5.81-5.82	1H, d, 1H
6.7-6.8	6.7-6.8	1H, m, Ar
7.1-7.4	7.2-7.4	9H,m. Ar

Data pergeseran kimia seperti tersebut di atas telah sesuai dengan posisi proton pada struktur kimia DMTr- 2,3' anhidrotimidin dan tidak berbeda jauh dengan hasil literatur^[1] meskipun pelarutnya berbeda.

Penentuan massa dari senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin dilakukan menggunakan LC-MS dan hasil kromatogram serta spektrum massanya disajikan seperti pada gambar 3 dan 4 di bawah ini:



Gambar 4. Kromatogram dari DMTr-2,3' anhidrotimidin



Gambar 5. Spektrum Massa dari DMTr-2,3' anhidrotimidin.

Dari Gambar 4 di atas tampak bahwa hanya ada satu puncak saja sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin telah murni. Dari Gambar 5 tampak bahwa terdapat puncak yang mempunyai massa 527 (MH⁺,30%) dan sesuai dengan berat molekul dari senyawa DMTr-2,3' anhidrotimidin. Sedangkan puncak sibirannya menunjukkan puncak dasar 100% pada massa 303 sesuai dengan berat molekul dari C₂₁H₁₉O₂⁺ yang merupakan molekul kationik dimetoksitritil (DMTr). Hasil ini sama dengan hasil yang diperoleh dari literatur^[2] yakni puncak massa pada 527 (MH⁺,25%) dan pada 303 (C₂₁H₁₉O₂⁺,100%).

Penandaan senyawa prekursor DMTr-2,3'-anhydrotimidin

Dari skema reaksi Gambar 2 senyawa [¹⁸F]FLT dapat diperoleh melalui dua tahap reaksi yaitu reaksi DMTr-2,3' anhidrotimidin dengan ¹⁸Flor melalui reaksi florinasi nukleofilik dengan katalisator kriptofix 2.2.2, kemudian dilanjutkan dengan hidrolisa menggunakan HCl.

Reaksi florinasi dilakukan pada suhu 160 °C selama 15 menit dengan menggunakan jenis pelarut polar aprotik DMSO (Dimetil sulfoksida), pelarut ini mempunyai titik didih 189 °C sehingga sesuai untuk penandaan suhu tinggi. Penggunaan pelarut

aprotik dimaksudkan agar tidak terjadi ikatan hidrogen dengan atom Oksigen anhidro sehingga memudahkan masuknya anion ¹⁸Florida pada atom C posisi 3 pada molekul gula. ¹⁸Flor mempunyai energi hidrasi tinggi sedemikian sehingga air tidak cocok digunakan sebagai pelarut bahkan harus dihilangkan sama sekali, oleh karena itu pada pembentukan kriptand dilakukan penguapan sampai tiga kali untuk memastikan bahwa air telah hilang.

Pada prekursor DMTr-2,3' anhidrotimidin atom C posisi 5 pada molekul gula dilindungi oleh gugus dimetoksitripenilmetil (DMTr), hal ini dimaksudkan agar pada posisi tersebut tidak terjadi florinasi, sehingga reaksi florinasi nukleofilik diarahkan pada atom C posisi 3 yang menjadi pusat elektofilik dan katalis kriptofix 2.2.2 serta pelarut DMSO akan membantu terbentuknya [¹⁸F]FLT.

Senyawa kriptofix 2.2.2 adalah ester siklik bentuk mahkota yang akan berikatan dengan ion K⁺ yang berasal dari K₂CO₃, berperan sebagai *counter ion* untuk anion ¹⁸Florida sehingga terbentuk senyawa kriptand yang akan meningkatkan reaktifitas florinasi tetapi tidak mengganggu reaksi^[4]

Hasil reaksi florinasi tahap pertama diperoleh DMTr-[¹⁸F]FLT yaitu [¹⁸F]FLT yang masih mengandung gugus pelindung DMTr, untuk menghilangkan gugus tersebut maka dilakukan hidrolisa menggunakan larutan asam HCl 1,0 N. Untuk mempercepat reaksi hidrolisa dilakukan pemanasan pada suhu 100 °C selama 10 menit.

Hasil dari reaksi hidrolisa diperoleh [¹⁸F]FLT yang masih mengandung pengotor yang berasal dari sisa-sisa pereaksi dan hasil samping dari reaksi penandaan maupun hidrolisa, oleh karena itu harus dilakukan pemurnian.

Pemurnian [^{18}F]FLT pada umumnya dilakukan menggunakan cara kromatografi *HPLC*, dengan cara ini [^{18}F]FLT diperoleh dengan cara menampung eluat sesuai waktu retensinya, cara ini memerlukan persiapan atau preparasi *HPLC* yang rumit dan jumlah yang terbatas. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan cara lain yang lebih sederhana yaitu menggunakan sistem kartrid tunggal alumina-N. Dengan metoda ini diharapkan sintesa [^{18}F]FLT dapat dilakukan dengan modul otomatis.

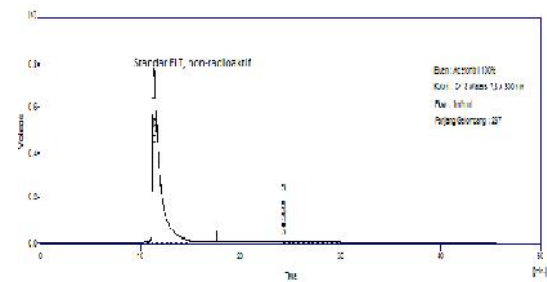
Karakterisasi dan pengujian [^{18}F]FLT

Pengujian [^{18}F]FLT dilakukan dengan menggunakan alat *HPLC* yang dilengkapi dengan detektor UV/Vis dan detektor radioaktif gamma.

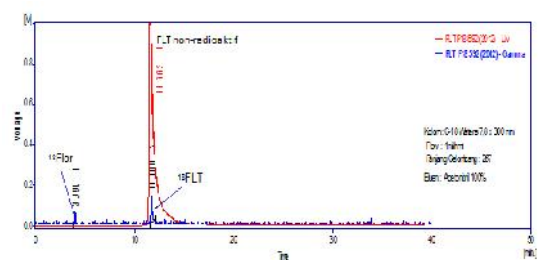
Dengan alat ini suatu senyawa atau campuran dari senyawa dapat diketahui dan dibedakan berdasarkan polaritas serta afinitasnya terhadap fasa geraknya yang dinyatakan dalam satuan waktu retensi dan dideteksi dengan detektor UV/Vis dan detektor radioaktif gamma.

Rasio dari area sesuai waktu retensi dari masing-masing senyawa dapat digunakan untuk menentukan kuantitatif atau prosentase dari masing-masing senyawa sehingga kemurnian kimia atau radiokimia suatu senyawa dapat diketahui dengan metoda tersebut.

Data hasil kromatogram *HPLC* dari masing-masing pengamatan disajikan seperti pada Gambar 6 dan 7 di berikut ini :



Gambar 6. Kromatogram standar FLT non-radioaktif.



Gambar 7. Kromatogram (^{18}F)FLT

Dari Gambar 6 di atas, menunjukkan bahwa kromatogram standar FLT (detektor UV/Vis) mempunyai puncak dominan pada retensi 11,680 menit (98,4%) dan 24,393 menit (1,6%). Sedang pada Gambar 7 tampak bahwa kromatogram [^{18}F]FLT (detektor UV/Vis) menunjukkan puncak tunggal pada retensi 11,663 menit (100%) sedangkan dengan detektor gamma menunjukkan puncak dominan pada retensi 11,700 menit (97,6 %) serta tampak adanya puncak rendah pada retensi 3,990 menit (2,4%) yang kemungkinan besar merupakan puncak dari ^{18}F bebas sehingga dapat dikatakan bahwa [^{18}F]FLT mempunyai kemurnian radiokimia yang tinggi lebih dari 90 %. (batas minimal persyaratan kemurnian radiokimia sediaan radiofarmaka dari *US Pharmacope* adalah 90%).

Tabel 2. Hasil perolehan sintesa [¹⁸F]FLT (tanpa koreksi waktu paro)

No.	Radio-aktifitas ¹⁸ Flor awal (mCi)	Radio-aktifitas hasil [¹⁸ F]FLT (mCi)	Perolehan (tanpa koreksi waktu paro) (%)	Kemurnian Radio-kimia [¹⁸ F]FLT (%), HPLC
1.	2,15	0,136	6,32	98,44
2.	16,72	1,49	8,91	96,27
3.	18,46	1,41	7,65	99,10
4.	49,3	4,87	9,87	97,62

Disamping itu juga tidak tampak adanya puncak-puncak pengotor kimia sehingga dapat dikatakan bahwa [¹⁸F]FLT mempunyai kemurnian kimia yang tinggi.

Dari Gambar 6 dan 7 tampak adanya konsistensi antara puncak standar FLT non-radioaktif dengan puncak-puncak [¹⁸F]FLT baik yang ditangkap dengan detektor radioaktif gamma maupun detektor UV/Vis yakni pada retensi sekitar 11,600.

Dengan demikian dapat diyakini bahwa hasil karakterisasi HPLC seperti yang disajikan pada Gambar 7 dipastikan adalah [¹⁸F]FLT. Sintesa [¹⁸F]FLT telah dilakukan secara manual sebanyak empat kali penandaan dengan rata-rata proses memerlukan waktu 73 ± 4 menit.

Data hasil dari empat kali sintesa [¹⁸F]FLT disajikan seperti pada tabel 2 di bawah. Dari Tabel 2 di atas selama empat kali percobaan penandaan atau sintesa [¹⁸F]FLT apabila dihitung maka rata-rata perolehannya adalah 8,18 ± 1,54 % (tanpa koreksi waktu paro) dengan kemurnian kimia rata-rata 97,93 ± 1,48 %. Hasil perolehan tersebut tergolong rendah meskipun kemurnian radiokimianya cukup tinggi, oleh karena itu masih perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan perolehan atau kapasitas [¹⁸F]FLT.

KESIMPULAN

- Telah diperoleh produk senyawa prekursor DMTr-2,3' anhidrotimidin dengan berat 84,37 mg (yield : 32,4 %) dan kemurnian kimia lebih dari 95%. Hasil dari karakterisasi menggunakan ¹H-NMR serta LC-MS menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai struktur molekul serta berat molekul sesuai dengan senyawa 5'-O-(4,4'-dimetoksitritil)-2,3' anhidrotimidin atau DMTr-2,3' anhidrotimidin.
- Telah dilakukan empat kali penandaan melalui reaksi florinasi nukleofilik terhadap prekursor DMTr-2,3'-anhidrotimidin dengan katalisator kriptofik 2,2,2, dihidrolisa dengan HCl, dinetralkan dengan NaOH serta dimurnikan dengan kartrid tunggal Alumina-N, hasil perolehannya 8,18 ± 1,54 % (tanpa koreksi waktu paro) dan waktu proses selama 73 ± 4 menit. Larutan [¹⁸F]FLT mempunyai pH: 6,0 – 7,5 berupa larutan jernih bebas partikel dengan, dan kemurnian radiokimia 97,93 ± 1,48 %, serta memenuhi persyaratan sebagai bahan radiofarmaka [¹⁸F]FLT, dengan demikian cara pemurnian dengan kartrid tunggal Alumina-N dapat digunakan dalam sintesa [¹⁸F]FLT.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini perkenankanlah saya sebagai penanggung jawab dari kegiatan penelitian ini ingin mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada Kepala Pusat PRR-BATAN, Kepala Bagian Radiodiagnostik RSK. Dharmais Jakarta beserta jajarannya serta rekan-rekan yang telah membantu demi kelancaran kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA :

1. **BLOCHER A., KUNTAZSCH M., WEI R., MACHULA H.J. (2000)**, Synthesis and Labelling of 5-O- (4,4'-dimethyltritol)-2,3'-anhydrothymidine for F-18 FLT preparation, *Journal of Radiopharmaceutical and Nuclear chemistry*, Vol. 251 No.12002, 55-58.
2. **MOON B.S, LEE C, AN G I, CHI D.Y., YANG S.D.(2006)**, Preparation of 3-Deoxy-3' (F-18) Fluorothymidine of F-18 (FLT) in ionic liquid, (bmim) OTf, *Journal of Labelled compound and radiopharmaceuticals*, 2006, 49,287-293.
3. **NANDY S.K. and RAJAN M.G.R (2009)**. Fully automated and simplified radiosynthesis of [¹⁸F]-3 -deoxy-3 -fluorothymidine using anhydro precursor and single neutral alumina column purification, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry An International Journal Dealing with All Aspects and Applications of Nuclear Chemistry*© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2009.10.1007/s10967-009-0429-4.
4. **TANG G., TANG X., WEN F., WANG M. and LI B.(2010)**, A facile and rapid automated synthesis of 3 -deoxy-3 - [¹⁸F]fluorothymidine, *Journal of Applied Radiation and Isotopes*, Volume 68, Issue 9, September 2010, pp. 1734 -1739.
5. **TENG B, WANG S., FU Z., DANG Y., WU Z. and LIU L.(2006)**, Semiautomatic synthesis of 30-deoxy-30-[¹⁸F]fluorothymidine using three precursors, *Journal of Applied Radiation and Isotopes* 64 (2006) 187–193, ELSEVIER.
6. **MARK M., and JONATHAN R.,(2002)**, Positron Emission Tomography in cancer Research and Treatment, *Journal of Technology in Cancer*
7. **Research & Treatment**, Volume 1, No. 6, Adenine Press, 2002, pp.1 – 14.