

EVALUASI BIOLOGIS SENYAWA KOMPLEKS RENIUM-186 FOSFONAT SEBAGAI RADIOFARMAKA TERAPI PALIATIF KANKER TULANG

Adang H.G., Sri Aguswarini, Abidin, Karyadi, Sri Bagiawati
Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR) – BATAN
Kawasan Puspiptek, Tangerang, Banten

ABSTRAK

EVALUASI BIOLOGIS SENYAWA KOMPLEKS RENIUM-186 FOSFONAT SEBAGAI RADIOFARMAKA TERAPI PALIATIF KANKER TULANG. Senyawa kompleks renium-186 fosfonat, ^{186}Re -HEDP (hydroxyethylidenediphosphonate) dan ^{186}Re -EDTMP (ethylenediaminetetramethylphosphonate), dewasa ini telah luas digunakan sebagai penghilang rasa nyeri tulang yang disebabkan oleh metastasis kanker prostat, payudara, paru-paru dan ginjal ke tulang. Penggunaan radiofarmaka tersebut merupakan pengganti penggunaan analgesik, hormon, kemoterapi, dan narkotik yang diketahui memberikan efek samping yang tidak diinginkan. Metode preparasi dan uji kualitas senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP telah dikembangkan untuk tujuan produksi komersial. Penentuan kemurnian radiokimia dengan kromatografi kertas dalam berbagai kepolaran pelarut menunjukkan kemurnian radiokimia diatas 90% sampai hari ketiga setelah proses penandaan dilakukan. Disamping itu hasil pengujian menunjukkan pula bahwa larutan senyawa kompleks bebas pirogen dan steril. Hasil uji pada binatang percobaan tikus putih menunjukkan kandungan senyawa kompleks di dalam darah mencapai puncaknya pada 5 menit setelah penyuntikan. Sedangkan ekskresi radiofarmaka kedua kompleks di dalam urin menunjukkan adanya keradioaktifan sekitar 41% dan 38,5 % dalam bentuk perenat, $^{186}\text{ReO}_4^-$, setelah 20 jam penyuntikan. Hasil biodistribusi dan pencitraan (imaging) menggunakan kamera gamma terhadap mencit dan tukus putih normal menunjukkan bahwa senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP terakumulasi cukup nyata di tulang.

Kata Kunci : ^{186}Re -HEDP , ^{186}Re -EDTMP, kanker tulang, kemurnian radiokimia, biodistribusi.

ABSTRACT

BIOLOGIC EVALUATION OF PHOSPHONATES COMPLEX LABELLED WITH RHENIUM-186 AS A BONE CANCER PALLIATIVE THEURAPEUTIC RADIOPHARMACEUTICAL. Currently, rhenium-186 phosphonate complexes are widely used as pain palliative agents due to bone metastasis caused by prostate , breast , lung and kidney cancers. Either ^{186}Re -HEDP or ^{186}Re -EDTMP has been used for replacing analgesic therapy, hormone therapy, chemotherapy and narcotic therapy . Preparation and quality control of ^{186}Re -HEDP and ^{186}Re -EDTMP complexes have been developed for commercial production purposes. Radiochemical purity was determined using paper chromatography and afforded maximum yielded for more than 90 % . Both complexes were stable for 3 days. Sterility and pirogenicity tests indicated that these compounds were sterile and pyrogen free. Rhenium-186 HEDP and ^{186}Re -EDTMP complexes contents in the blood achieved optimum activity after 5 minutes post injection. Both complexes showed major renal clearance up to 41 % and 38,5 % as perrenate ion within 20 hours post injection. Biodistribution pattern and gamma camera image of the injected complexes in rats were accumulated in the bone.

Keywords : ^{186}Re -HEDP, ^{186}Re -EDTMP ,bone cancer, radiochemical purity, biodistribution.

PENDAHULUAN

Pemakaian radiasi dalam penelitian medik, perawatan, maupun terapi telah berhasil menolong banyak orang di berbagai penjuru dunia. Pemakaian radionuklida untuk keperluan medis dalam bentuk radiofarmaka telah menunjukkan keberhasilan yang menakjubkan, terutama dalam diagnosa atau studi faal maupun fungsi berbagai organ dan jaringan baik pada hewan maupun manusia [1].

Dari segi penggunaannya di rumah sakit, radiofarmaka paling banyak digunakan untuk tujuan diagnosa dan biasanya diberikan hanya sekali, sewaktu-waktu atau dalam keadaan tertentu dan hanya mengandung sejumlah kecil senyawa dengan radionuklida yang terikat padanya. Radiofarmaka untuk terapi harus mengandung radionuklida pemancar partikel, misalnya partikel alfa atau beta negatif yang berperan untuk menghancurkan atau menghambat pertumbuhan sel-sel tidak normal. Radionuklida yang digunakan untuk keperluan ini diantaranya adalah ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{177}Lu , ^{166}Ho dan ^{90}Y [2,3,4]. Beberapa senyawa golongan fosfonat dengan struktur berbeda (HEDP, MDP, EDTMP), telah berhasil ditandai dengan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dan digunakan dalam penyidikan tulang. Penandaan senyawa golongan difosfonat dengan radionuklida pemancar β seperti ^{153}Sm menjadi senyawa ^{153}Sm -EDTMP sudah rutin dilakukan dan

digunakan di rumah sakit untuk menghilangkan rasa sakit pada kanker tulang [5,6].

Radioisotop pemancar beta lainnya, seperti ^{186}Re , diharapkan dapat juga berperan sebagai *diagnostic agent* selama terapi berlangsung. Hal ini dimungkinkan karena ^{186}Re selain memancarkan partikel β ($E\beta = 1,07 \text{ MeV}$) yang berperan untuk terapi, juga memancarkan sinar γ ($E\gamma = 137 \text{ KeV}$) untuk diagnosis menggunakan kamera gamma [1,7]. Di dalam sistem berkala, renium berada dalam satu kelompok yang sama dengan teknesium (grup VIIA), karenanya kedua unsur tersebut memiliki sifat kimia yang mirip. Penandaan ^{186}Re pada ligan fosfonat diharapkan dapat dilakukan seperti halnya penandaan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ dan ^{153}Sm pada HEDP dan EDTMP yang merupakan turunan fosfonat. Renium-186 HEDP dan ^{186}Re -EDTMP secara kimia telah berhasil dikembangkan dengan hasil yang baik dan senyawanya cukup stabil selama 3 hari setelah penandaan [2,3].

Sebagaimana obat umumnya, radiofarmaka yang masuk ke dalam tubuh secara parenteral, selain akan mengalami fase farmakokinetika melalui proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi, juga mengalami fase farmakodinamika yang melibatkan interaksi radiofarmaka dengan target tertentu seperti reseptor, transporter, enzim dan sebagainya [5,7,8].

Dalam makalah ini dipaparkan hasil evaluasi biologis radiofarmaka ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP seperti lipofilisitas, pengikatan dengan protein, pelepasan atau pembersihan kompleks dari darah, kompleks dari ginjal yang berupa ekskresi dalam urin, ekskresi bersama feces, biodistribusi dan penampakan dengan kamera gamma. Persyaratan sebagai radiofarmaka seperti kemurnian radiokimia, sterilitas dan pirogenitas juga dibahas dalam makalah ini.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *1-hidroxy ethylidene diphosphonic acid* (HEDP) dan *ethylenediaminetetramethylphosphonate* (EDTMP) dari hasil sintesis yang dilakukan di P₂RR BATAN. Perenat radioaktif, $^{186}\text{Re O}_4^-$, disiapkan di P₂RR. Bahan kimia lainnya seperti $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HCl, NaOH, metanol, asam askorbat, HNO_3 , aseton (semuanya buatan Merck dan digunakan tanpa pemurnian), Air suling, larutan NaCl 0,9 % dan gas nitrogen masing-masing diperoleh dari IPHA dan IGI. Media untuk uji sterilitas menggunakan TSB (*Trypton Soy Broth*) dan FTG (*Fluid Thioglycolic*) dari Oxoid. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit, tikus putih dan kelinci. Peralatan yang digunakan adalah *Radiochromatography scanner* (Bioscan) digunakan sebagai

pencacah radioaktivitas kertas kromatografi Whatman -1 dan *Dose calibrator* (Capintec). Peralatan lain yang digunakan adalah kamera gamma yang dibuat oleh BARC (Bhabha Atomic Research Center) India.

Penentuan lipofilisitas (koefisien partisi) kompleks

Penentuan lipofilisitas senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP didasarkan atas pengukuran koefisien distribusi senyawa kompleks tersebut di fasa air dan fasa n-oktanol. Radioaktivitas dari tiap fasa dicacah dan lipofilisitasnya dihitung sebagai perbandingan cacahan dalam fasa oktanol terhadap cacahan dalam fasa air.

Uji pencucian dari darah (*blood clearance*)

Besarnya perubahan aktivitas kompleks di dalam darah per satuan waktu menyatakan laju *blood clearance*. Penentuan uji pencucian dari darah terhadap radiofarmaka ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dilakukan dengan menyuntikkan 0,1 ml sediaan ($\pm 200 \mu\text{Ci}$) ke tubuh kelinci, kemudian darah diambil setelah 1, 5, 10, 30, 60 menit dan 24 jam setelah penyuntikan. Darah tersebut masing-masing dicacah kemudian di plot dalam bentuk grafik antara % aktivitas kompleks di dalam darah terhadap waktu.

Uji pencucian dari ginjal

Besarnya perubahan aktivitas kompleks dalam urin per satuan waktu merupakan laju *renal clearance*. Penentuan uji pencucian ginjal dari radiofarmaka $^{186}\text{Re-HEDP}$ dan $^{186}\text{Re-EDTMP}$ dilakukan dengan menyuntikkan 0,2 ml sediaan dengan aktivitas 400 μCi kepada tikus. Tikus tersebut dimasukkan kedalam *metabolic cage*. Setelah selang waktu tertentu urinnya ditampung dengan tabung reaksi yang sudah ditimbang. Aktivitas setiap tabung dicacah dan dihitung persentase aktivitasnya, sehingga dapat diketahui persentase aktivitas yang dikeluarkan setelah selang waktu tertentu.

Penentuan kemurnian radiokimia hasil ekskresi (urin dan feces)

Sebanyak 5 μl urin ditotolkan pada kertas Whatman I. Setelah dikeringkan, kertas dielusi dengan aseton dan salin sebagai fasa gerak. Kertas dicacah dengan alat *Radiochromatography Scanner* dan dihitung persen kompleks dan pengotornya. Untuk feces, sampel terlebih dahulu ditambah larutan salin, digerus, kemudian diambil filtratnya dan ditotolkan pada kertas kromatografi. Kertas kemudian dielusi dengan aseton dan salin sebagai fasa gerak, kemudian kertas dikeringkan dan dicacah dengan *Radiochromatography scanner*.

Uji biodistribusi sediaan $^{186}\text{Re-HEDP}$ dan $^{186}\text{Re-EDTMP}$

Sebanyak 0,1 ml dengan aktivitas 200 μCi sediaan $^{186}\text{Re-HEDP}$ dan $^{186}\text{Re-EDTMP}$ disuntikkan melalui vena ekor mencit (3 ekor) setelah berat masing-masing mencit ditimbang. Mencit dibedah setelah interval waktu tertentu dan diambil organ-organ otot, tulang, darah, ginjal, limpa, jantung, paru, usus halus, lambung, kandung kemih dan hati. Setiap organ dicacah dengan alat pencacah gamma dan dihitung persentase kumulatif radioaktivitas tiap gram organ atau tiap organ.

Penyidikan dengan menggunakan kamera gamma

Sebanyak 0,2 ml sediaan $^{186}\text{Re-HEDP}$ dan $^{186}\text{Re-EDTMP}$ dengan aktivitas 400 μCi disuntikkan melalui vena ekor tikus putih. Selang waktu tertentu tikus disidik dengan kamera gamma setelah terlebih dahulu tikus dibius dengan menggunakan pentotal (dosis 30 mg/kg berat badan).

Pengikatan pada kristal hidroksiapatit [9]

Kedalam masing-masing 2 mL suspensi 25 % hidroksiapatit dalam dapar fosfat pH 7,0, dimasukkan 50 μL kompleks ($^{186}\text{Re-HEDP}/^{186}\text{Re-EDTMP}$) dengan aktivitas $\pm 100 \mu\text{Ci}$, diaduk dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu tertentu (10, 20, 40, 60 menit, 24 jam dan 48 jam). Setelah inkubasi masing-

masing tabung reaksi disentrifugal dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Fraksi filtrat dan endapan dipisahkan dan masing-masing diukur aktivitasnya dengan alat pencacah gamma. Fraksi yang terdapat pada endapan merupakan kompleks yang terikat pada kristal hidroksiapatit.

Uji sterilitas [8]

Uji sterilitas terhadap sediaan ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dilakukan berdasarkan prosedur yang tercantum dalam Farmakope Indonesia [8]. Di dalam *laminair flow hood*, sebanyak 0,5 ml kompleks dengan aktivitas $\pm 300 \mu\text{Ci}$ dimasukkan ke dalam perbenihan TSB dan FTG. Pengamatan dilakukan sampai 2 minggu setelah inkubasi.

Uji pirogenitas[8]

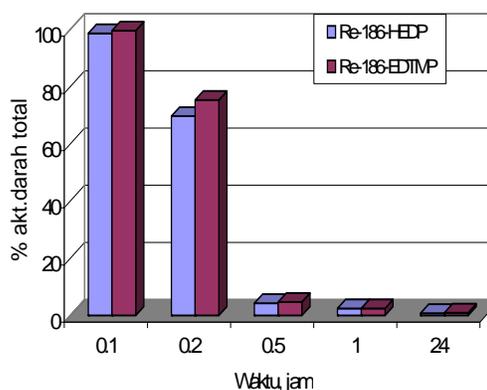
Uji pirogenitas terhadap sediaan ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dilakukan menggunakan prosedur yang tercantum dalam Farmakope Indonesia [8] yaitu menggunakan kelinci (3 ekor) dengan berat kelinci 2,5 - 3 kg. Pengamatan dilakukan dengan mengukur perubahan suhu tubuh kelinci sampai dengan 3 jam setelah penyuntikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan formula yang telah dilaporkan sebelumnya [9], kemurnian radiokimia senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan

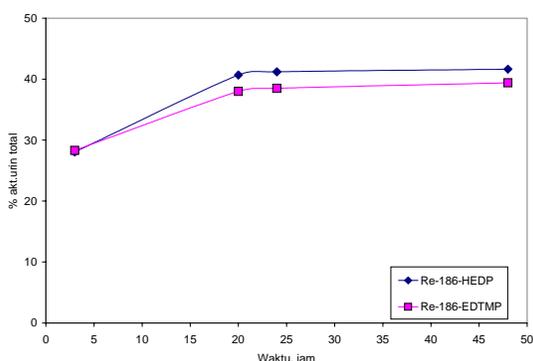
^{186}Re -EDTMP hasil penandaan baik pada pH reaksi (pH 2,5) ataupun pH 5,0, tidak terjadi perubahan ($> 95 \%$) dan senyawa kompleks tersebut digunakan untuk melakukan pengujian berikutnya.

Pengujian lipofilisitas senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dengan cara menentukan koefisien distribusi sediaan dalam oktanol/air, sehingga diperoleh masing-masing koefisien distribusi atau $\log P_{o/w} = -1,1237$ ($P = 0,0752$) dan $\log P_{oct} = -1.1295$ ($P = 0,07421$). Rendahnya lipofilisitas kedua senyawa kompleks tersebut menunjukkan bahwa kompleks sulit larut dalam lemak atau pelarut non polar, tetapi mudah sekali larut dalam air (hidrofil), karena itu ke 2 kompleks tersebut mempunyai *clearance* yang cenderung ke sistem renal.



Gambar 1. Grafik hasil pengujian aktivitas dalam darah kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dalam hewan tikus putih.

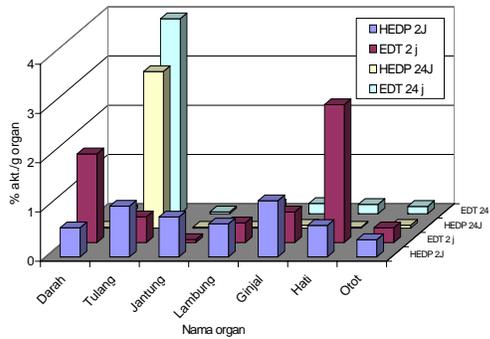
Penentuan aktivitas senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dalam darah yang dilakukan menggunakan hewan tikus dengan variasi waktu pengambilan sampel darah, menunjukkan konsentrasi tertinggi masing-masing kompleks dicapai 5 menit setelah penyuntikan (98,65 % dan 99,35 %) dan persen aktivitas menurun drastis mulai pada menit ke 30 (4,3 % dan 4,7 %), pada 24 jam setelah penyuntikan hanya 0,8 % dan 0,9 % aktivitas yang tersisa dalam darah (Gambar 1). Penurunan kadar kompleks dalam darah ini disebabkan karena sebagian besar kompleks sudah terekskresikan (41 % dan 38,5 %) lewat ginjal (Gambar 2) dan sebagian lainnya terdistribusi ke organ seperti hati, paru, ginjal, lambung dan jaringan lain termasuk juga ke organ target (tulang).



Gambar 2. Grafik hasil pengujian aktivitas dalam urin kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dalam hewan tikus putih.

Penentuan aktivitas yang diekskresikan lewat ginjal melalui urin dilakukan menggunakan alat *Metabolic Cage* pada

selang waktu penampungan 2, 20, 24 dan 48 jam setelah penyuntikan (Gambar 2). Hasil yang dicapai menunjukkan bahwa sampai dengan 20 jam setelah penyuntikan sekitar 41 % ^{186}Re -HEDP dan 38,5 % ^{186}Re -EDTMP dari total aktifitas diekskresikan lewat urin. Analisis hasil ekskresi tersebut dengan kromatografi kertas menunjukkan bahwa bentuk metabolit yang terdeteksi adalah perenat (± 80 %) sedangkan sisanya sebagai kompleks yang masih belum diketahui. Hasil ekskresi senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP lewat feces sampai dengan 48 jam setelah penyuntikan masing-masing diperoleh 1,2 % dan 1,4 % dari aktivitas total dengan bentuk metabolit yang diekskresikan sebagai perenat bebas. Adanya ekskresi lewat feces ini kemungkinan bukan dari hasil penguraian senyawa kompleks, tetapi merupakan perenat bebas sebagai pengotor radiokimia. Senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP pada umumnya mengalami penguraian selama metabolisme di dalam tubuh terutama ketika masuk ke hati yang berperan untuk menguraikan senyawa kompleks menjadi metabolit yang mudah diekskresikan, dalam hal ini dalam bentuk perenat.

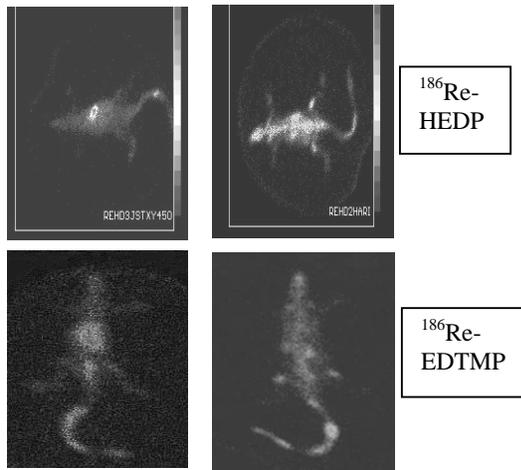


Gambar 3. Biodistribusi radiofarmaka ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP pada 2 dan 24 jam setelah penyuntikan pada mencit putih.

Uji biodistribusi senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dilakukan menggunakan hewan mencit putih dengan berat 30 - 40 g dan waktu pembedahan 2 dan 24 setelah penyuntikan. Aktivitas pada organ target (tulang) yang tinggi dicapai 24 jam setelah penyuntikan, yaitu masing-masing 3,18 % (^{186}Re -HEDP) dan 3,96 % (^{186}Re -EDTMP) dengan perbandingan tulang/otot sebesar 53 dan 27 kali, sedangkan pada 2 jam setelah penyuntikan % aktivitas ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP masing-masing 1,03 % dan 0,52 % dengan perbandingan tulang/otot 3 dan 2. Pada 24 jam setelah penyuntikan penimbunan aktivitas pada organ lain sudah sangat kecil sehingga gambaran rangka yang diperoleh lebih jelas dibanding waktu sebelumnya (Gambar 4 : 24 jam). Konsentrasi aktivitas dalam ginjal sampai dengan 24 jam setelah penyuntikan tidak terlalu drastis penurunannya karena ekskresi kedua

senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP melewati organ tersebut.

Penyidikan untuk melihat penimbunan radiofarmaka ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dilakukan menggunakan hewan tikus putih dengan alat kamera gamma 2 dan 24 setelah penyuntikan (Gambar 4). Hasil penyidikan pada 2 jam setelah penyuntikan memberikan gambaran rangka hewan yang belum begitu baik, karena pada saat tersebut aktivitas pada organ lain (ginjal, hati, paru-paru, usus dan sebagainya) masih tinggi dan akumulasi aktivitas pada tulang masih belum maksimal (sekitar 1 %/g tulang). Gambaran rangka hewan terlihat jelas setelah aktivitas di organ lainnya menjadi kecil dan perbandingan aktivitas pada tulang/otot mencapai harga maksimum yaitu pada 24 jam setelah penyuntikan.



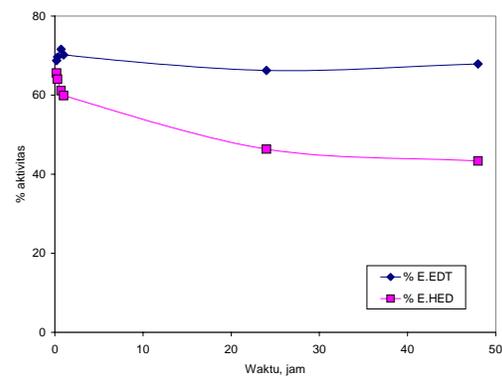
2 jam p.i.

24 jam p.i.

Gambar 4. Hasil penyidikan ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP dengan kamera gamma pada 2 dan 24 jam setelah penyuntikan.

Uji pengikatan senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP pada kristal hidroksiapatit dilakukan menggunakan suspensi hidroksiapatit 25 % dalam dapar fosfat pH 7.0 dengan memvariasikan waktu pengukuran aktivitas yang terdapat pada filtrat dan endapan [9]. Hasil yang diperoleh (Gambar 5) menunjukkan bahwa mulai 1 jam setelah reaksi terjadi perbedaan jumlah yang cukup besar dari senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP yang terikat pada kristal hidroksiapatit (60 % dan 70 %) dan sampai dengan 48 jam setelah pencampuran, perbedaan senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP yang terdapat pada endapan hidroksiapatit sekitar 24 % (43 % dan 67 %). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kompleks

^{186}Re -EDTMP terikat sangat kuat pada hidroksiapatit dibanding dengan senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP. Beberapa peneliti sebelumnya juga pernah melaporkan bahwa EDTMP dalam tulang terikat kuat pada kristal hidroksiapatit dan mineral-mineral tulang seperti Ca, Mg dan fosfor [10].



Gambar 5. Uji pengikatan (in vitro) kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP pada kristal hidroksiapatit

Hasil pengujian sterilitas dari sediaan ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP menunjukkan bahwa sediaan tersebut steril dibuktikan dengan tidak terjadinya pertumbuhan bakteri dan jamur pada media TSB dan FTG sampai dengan waktu pengamatan 14 hari. Hasil uji pirogenitas juga menunjukkan kenaikan suhu pada ke 3 ekor kelinci yang disuntik dengan sediaan ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP lebih kecil dari $1,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (masing-masing $0,1$, $0,1$ dan $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan ini menunjukkan kedua radiofarmaka tersebut bebas pirogen.

Dari hasil yang diperoleh diharapkan radiofarmaka sudah memenuhi persyaratan untuk dilanjutkan ke tahap uji klinik yang dilakukan melalui kerjasama dengan rumah sakit atau klinik yang mempunyai fasilitas kedokteran nuklir.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditunjukkan bahwa lipofilisitas, pencucian dari ginjal, pencucian dari darah dan pola distribusi senyawa kompleks ^{186}Re -HEDP dan ^{186}Re -EDTMP sangat mirip. Perbedaan yang cukup jelas terjadi pada pengikatan kompleks dalam kristal hidroksiapatit dimana kompleks ^{186}Re -EDTMP lebih terikat kuat dibanding dengan kompleks ^{186}Re -HEDP. Hasil pengujian dengan hewan percobaan yang telah disuntik radiofarmaka dan diamati dengan kamera gamma menunjukkan pula kesesuaian dengan hasil yang diperoleh melalui uji biodistribusi.

Untuk lebih mendukung hasil yang sudah diperoleh, perlu dilakukan pula beberapa pengujian klinis yang dilakukan di rumahsakit yang memiliki fasilitas gamma kamera.

DAFTAR PUSTAKA

1. H. V. RUIZ, Radiopharmaceuticals as Therapeutic Agents in Medical Care and Treatment, *IAEA Bulletin*, **1**, (1993).
2. ADANG H.G., A. MUTALIB, SRI BAGIAWATI, DJOHARLY C., MAYA G., ABIDIN, Preparasi dan Uji Stabilitas Radiofarmaka ^{186}Re -HEDP, Prosiding Seminar Sains dan Teknologi Nuklir, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, Bandung (2001) : 136-142
3. A.H GUNAWAN, A. MUTALIB., DJOHARLY, HERLINA, E. SARMINI, KARYADI, ABIDIN, Preparasi dan uji stabilitas radiofarmaka rhenium-186-EDTMP, Prosiding Seminar Sains dan Teknologi Nuklir Peran Sains dan Teknologi Nuklir dalam Pemberdayaan Potensi Nasional, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, Bandung (2000), hal. 272-280.
4. A. OWUNWANNE, M. PATEL, S. SADEK, "The Handbook of Radiopharmaceuticals, Chapman & Hall Medical", London, (1995) : 29-38.
5. B. MAZIERE, Physical and Chemical Requirements for a Radiopharmaceutical, European Radiopharmacy Course, Paris – France, (2000).
6. S. BANERJEE, G. SAMUEL, K. KOTHARI, P.R. UNNI, H.D. SARMA, M.R.A. PILLAI, Tc-99m and Re-186

-
- Complexes of Tetra-phosphonate Ligands and their Biodistribution Pattern in Animal Models, *Nuclear Medicine and Biology*, **28** (2001), 205-213.
7. A.N. SERAFINI, Therapy of Metastatic Bone Pain, *J. Nucl. Med.*, **42** (2001), 895-904.
 8. DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA, "Farmakope Indonesia", Edisi IV, (1995): 855-909.
 9. S.R. TAMAT, Y. MUSDJA, B. PURWADI, PURWOKO, A.H. GUNAWAN, S. HASTINI, P. WIDAYATI., LINDAWATI, S. ZAIDAN, Preparation of Samarium-153 Ethylene Diamine Tetramethylene Phosphonate and its biodistribution studies in mice, *Hasil Penelitian Pusat Produksi Radioisotop*, No. 2, (1995) :107-132.