

PENANDAAN KIT KERING DMSA DENGAN TEKNESIUM-99m DALAM SUASANA BASA SERTA UJI STABILITASNYA*)

**Nurlaila Z.,
Mimin Ratna Suminar, dan Iswahyudi
Puslitbang Teknik Nuklir - BATAN, Bandung**

ABSTRAK

PENANDAAN KIT KERING DMSA DENGAN TEKNESIUM-99m DALAM SUASANA BASA SERTA UJI STABILITASNYA. Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian di Indonesia. Bidang kesehatan pada saat ini mencari suatu metode untuk mendeteksi kanker secara dini sehingga dapat dilakukan pengobatan yang lebih efektif. Dalam bidang kedokteran nuklir, beberapa radiofarmaka dapat digunakan untuk maksud tersebut diantaranya $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA yang dapat terakumulasi pada kanker tiroid medular, kanker paru-paru dan jaringan tumor lainnya. Guna memenuhi kebutuhan pelayanan kesehatan di dalam negeri maka dilakukan pembuatan senyawa tersebut. Telah dilakukan penandaan kit kering DMSA dengan radionuklida teknesium-99m dalam suasana basa menggunakan larutan NaHCO_3 7 %. Dalam suasana ini terbentuk senyawa ^{99m}Tc -DMSA dengan tingkat oksidasi +5 ($^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA). Penentuan efisiensi penandaan dilakukan dengan melihat kemurnian radiokimianya yang ditentukan dengan kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis. Kondisi penandaan optimal dicapai pada pH = 8,2 - 8,3 (penggunaan 0,6 - 0,8 mL larutan NaHCO_3 7 %) dengan waktu inkubasi 30 menit pada temperatur kamar, memberikan efisiensi penandaan maksimal sebesar $93,59 \pm 1,05$ %. Uji pendahuluan pada hewan percobaan tikus putih dengan metode penyidikan menunjukkan bahwa senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA terakumulasi dalam jumlah yang relatif kecil pada ginjal. Senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA masih dapat digunakan dalam waktu 1 jam setelah penandaan. Uji stabilitas kit kering DMSA, pada temperatur $\pm 4^\circ\text{C}$, menunjukkan bahwa sediaan tetap stabil sampai dengan $2\frac{1}{2}$ bulan penyimpanan.

Kata kunci : asam 2,3-dimerkaptosuksinat (DMSA), teknesium-99m, kanker tiroid medular

ABSTRACT

LABELLING OF DMSA DRY KIT WITH TECHNETIUM-99m IN ALKALINE CONDITION AND ITS STABILITY. Cancer is one of the causes of mortality in Indonesia. One of the efforts of the Health Department is to find a method to detect cancer early, so that a more effective treatment to cure may possibly

be done. In nuclear medicine, several radiopharmaceuticals can be used for this purpose. $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA is one of them that can accumulate in the medullary thyroid carcinoma, lung cancer and soft-tissue tumors. Meeting the demands in health service, the preparation of $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA in alkaline condition, using 7% NaHCO_3 has been carried out. Determination of labelling efficiency was done by calculating the radiochemical purities obtained through thin layer and paper chromatography. Optimum labelling condition was achieved at pH 8.2 - 8.3 (using 0.6 - 0.8 mL 7% NaHCO_3), with 30 minutes incubation time at room temperature, in which the radiochemical purity obtained was 93.5 ± 1.05 %. Preliminary imaging study in white rats shows that $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA accumulated in small amount in the kidneys. One hour post labelling the solution still met the requirements as a radiopharmaceutical. Studies on the stability test of DMSA dry kit show that the kit was remained stable after two months and half, stored at $\pm 4^\circ\text{C}$.

Key words : 2,3-dimercaptosuccinic acid, technetium-99m, medullary thyroid carcinoma

PENDAHULUAN

Dalam bidang kedokteran nuklir, teknesium-99m asam 2,3-dimerkaptosuksinat (^{99m}Tc -DMSA) secara luas digunakan sebagai senyawa untuk diagnosis adanya kelainan ginjal. Penandaan senyawa ini dilakukan dalam suasana asam (pH < 3,5) dimana diperoleh ^{99m}Tc -DMSA dengan tingkat oksidasi +3 ($^{99m}\text{Tc}^{\text{III}}$ -DMSA)[1] atau +4 ($^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}$ -DMSA)[2]. Bila penandaan DMSA dengan ^{99m}Tc dilakukan dalam suasana basa (pH > 7) akan terbentuk senyawa ^{99m}Tc -DMSA dengan tingkat oksidasi +5 ($^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA) [3]. Beberapa peneliti menyatakan bahwa senyawa ini dapat terakumulasi pada *medullary carcinoma* tiroid [3, 4], jaringan-jaringan tumor lainnya [5] serta pada kanker paru-paru [6]. Pada mulanya diagnosis dini adanya kanker pada medula tiroid dilakukan dengan menggunakan ^{201}Tl -klorida, akan tetapi senyawa ini juga terakumulasi pada glandula tiroid normal [4], sehingga menyulitkan dalam melakukan diagnosis. Selain itu untuk maksud yang sama dapat juga digunakan ^{131}I -MIBG, tetapi hasil penyelidikan yang diperoleh tidak begitu baik [4]. Berbagai usaha kearah diagnosis dini kanker tiroid masih dikembangkan. Adanya indikasi di atas memberikan harapan dapat diperoleh senyawa yang dapat digunakan untuk diagnosis kanker tersebut.

Saat ini telah dibuat kit kering DMSA dalam suasana asam yang digunakan untuk diagnosis kelainan ginjal. Dengan mengubah pH menjadi basa pada saat penandaan dengan radionuklida teknesium-99m, akan diperoleh senyawa ^{99m}Tc -DMSA

dengan tingkat oksidasi 5+ yang mempunyai sifat biologis yang berbeda dengan senyawa ^{99m}Tc -DMSA yang mempunyai tingkat oksidasi +4.

Guna memanfaatkan sediaan kit kering DMSA yang ada, dalam penelitian ini akan dilakukan penandaan kit tersebut dengan radionuklida teknesium-99m (^{99m}Tc) dalam suasana basa, dengan jalan menambahkan larutan NaHCO_3 7 % ke dalam kit tersebut. Dalam tulisan ini dikemukakan modifikasi penandaan dengan cara yang cepat dan mudah. Besarnya jumlah NaHCO_3 dan lamanya waktu inkubasi merupakan parameter-parameter yang diteliti. Disamping itu dilakukan juga evaluasi biologis senyawa tersebut pada hewan percobaan dengan metode penyidikan menggunakan alat penyidik untuk hewan percobaan (*animal scanner*). Waktu daluarsa senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA serta kit kering ditentukan dengan melihat kemurnian radiokimianya pada waktu-waktu tertentu.

BAHAN DAN TATA KERJA.

Bahan dan peralatan

Asam 2,3-dimerkaptosuksinat (DMSA) dan inositol buatan Fluka, Timah (II) klorida, asam askorbat, NaHCO_3 , n-butanol, asam asetat serta pereaksi-pereaksi lain buatan E.Merk dengan tingkat kemurnian pereaksi analisis. Radionuklida ^{99m}Tc diperoleh dari generator Mo-Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ produksi PPR-BATAN. Peralatan yang digunakan meliputi pencacah saluran tunggal (C Schlumberger) dengan detektor NaI (TI), alat penyidik untuk hewan percobaan (*animal scanner*), penyaring beku (Labconco Freeze Dryer-5), seperangkat alat kromatografi lapis tipis serta kromatografi kertas menaik dan lain-lain. Hewan percobaan yang dipakai adalah tikus putih galur Wistar dengan berat antara 200 sampai 300 gram.

Tata kerja

Pembuatan kit kering DMSA

Sejumlah 20 mg DMSA, 58 mg NaCl dan 1 gr inositol dilarutkan dalam ± 15 mL akuabides (jika ada koloid, ditambahkan larutan NaOH 0,1 N tetes demi tetes hingga larutan menjadi jernih). Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 3 mL larutan yang mengandung 14 mg asam askorbat dan 8 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kemudian pH diatur hingga 2,5 dengan penambahan HCl 0,1 N dan selanjutnya diencerkan dengan akuabides hingga mencapai volume 20 mL. Larutan disaring dengan penyaring bakteri (0,22 μm), lalu dimasukkan dalam vial terpisah masing-masing sebanyak 1,0 mL dan dikeringkan dengan alat pengering beku (*freeze-dryer*).

Pengaruh pH terhadap pembentukan $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA

Ke dalam kit kering DMSA (9 buah), masing-masing ditambahkan 0,5 mL akuabides. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan larutan NaHCO_3 7 % dengan

volume bervariasi (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8) ml dan diukur pH nya. Selanjutnya segera ditambahkan 0,1 - 0,3 mL larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ($\approx 3 - 5$ mCi), dikocok dan diinkubasi pada temperatur kamar selama ± 30 menit. Kemurnian radiokimianya ditentukan dengan metode kromatografi.

Pengaruh waktu inkubasi terhadap pembentukan $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$

Ke dalam vial kit kering DMSA (5 buah) ditambahkan berturut-turut 0,5 mL akuabides dan 0,6 mL larutan NaHCO_3 7 % (pH = 8,2 - 8,3). Kemudian segera ditambahkan 0,1 - 0,3 mL larutan $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ($\approx 3 - 5$ mCi), dikocok dan diinkubasi pada temperatur kamar dengan waktu bervariasi (5; 15; 30; 45; 60) menit. Kemurnian radiokimianya ditentukan dengan metode kromatografi.

Pengujian kemurnian radiokimia senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$

Kemurnian radiokimia senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ ditentukan dengan cara kromatografi lapis tipis menggunakan silika gel 60 (2 x 20 cm) serta kromatografi kertas menaik menggunakan kertas Whatman no. 1 (2 x 20 cm) sebagai fase diam. Sebagai fase gerak, untuk kromatografi lapis tipis digunakan campuran n-butanol - asam asetat - air (3 : 2 : 3) dan untuk kromatografi kertas menaik digunakan larutan NaCl 0,9 %. Kromatogram dikeringkan dan dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal.

Penyidikan pada hewan percobaan

Sebanyak 0,5 mL senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ (0,5 - 1,0 mCi) disuntikkan pada tikus putih melalui vena ekor. Setelah waktu tertentu, tikus tersebut dibius dengan eter kemudian dilakukan penyidikan dengan alat penyidik untuk hewan percobaan (*animal scanner*).

Uji stabilitas senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$

Stabilitas senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ ditentukan dengan jalan melihat kemurnian radiokimianya pada waktu-waktu tertentu (1/2, 1, 2, 4 dan 6 jam) setelah penandaan dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Metode yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis dan kertas menaik seperti yang dipakai pada pemeriksaan kemurnian radiokimia senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ di atas.

Uji Stabilitas kit kering DMSA.

Pengujian stabilitas kit kering DMSA dilakukan pada waktu-waktu tertentu dengan jalan melihat kemurnian radiokimia senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ yang terbentuk menggunakan metode seperti yang digunakan pada uji stabilitas senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$. Penandaan kit tersebut dilakukan pada kondisi penandaan optimal yang diperoleh pada percobaan di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efisiensi penandaan kit kering DMSA dengan radionuklida teknesium-99m dalam suasana basa ditentukan dengan jalan melihat kemurnian radiokimianya. Pengujian kemurnian radiokimia dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan silika gel 60 sebagai fase diam dan campuran n-butanol - asam asetat - air (3:2:3) sebagai fase gerak dapat memisahkan dengan baik antara $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}\text{-DMSA}$ ($R_f = \pm 0 - 0,1$), $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ ($R_f = 0,45 - 0,55$) dan ^{99m}Tc -perteknetat ($R_f = 0,75 - 0,85$), sedangkan $^{99m}\text{TcO}_2$ berhimpit dengan $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}\text{-DMSA}$ pada titik nol. Bila digunakan kromatografi kertas menaik dengan pelarut NaCl 0,9 %, senyawa $^{99m}\text{TcO}_2$ akan tetap berada pada titik nol dan senyawa lain ($^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}\text{-DMSA}$, $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ dan ^{99m}Tc -perteknetat) akan bermigrasi kearah batas pelarut sehingga dengan menggunakan 2 macam pelarut tersebut di atas dapat diketahui jumlah $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}\text{-DMSA}$ dan $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$ yang mungkin terbentuk.

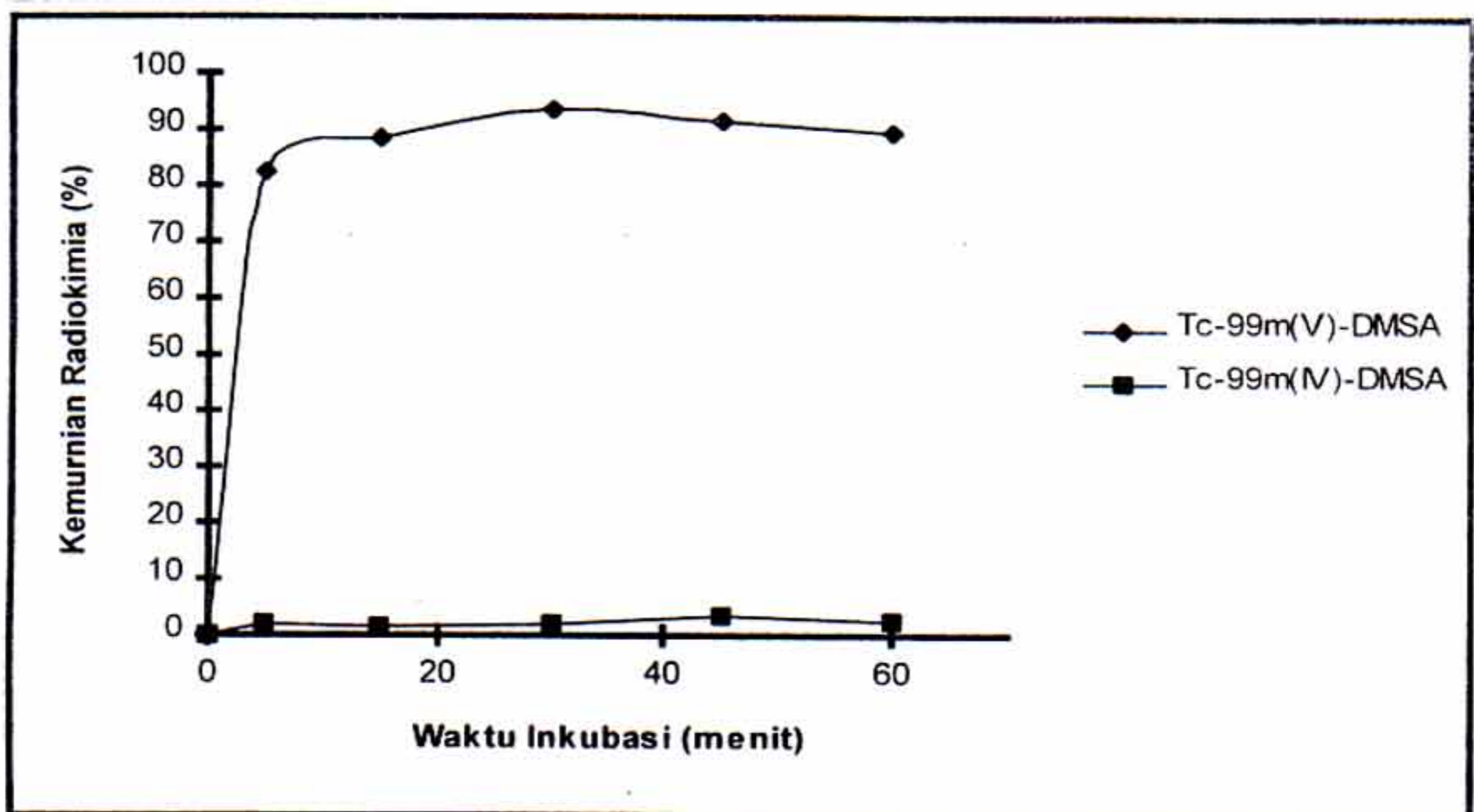
Tabel 1. Pengaruh pH (penambahan larutan NaHCO_3 7%) terhadap pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$. t_{inkubasi} : 30 menit.

Volume NaHCO_3 7% (mL)	pH	Kemurnian radiokimia (%)			
		$^{99m}\text{TcO}_4^-$	$^{99m}\text{TcO}_2$	$^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}\text{-DMSA}$	$^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}\text{-DMSA}$
0	3,1	$2,12 \pm 0,56$	$2,24 \pm 0,02$	$95,63 \pm 0,54$	$0,02 \pm 0,01$
0,1	6,7	$4,02 \pm 2,03$	$4,16 \pm 0,27$	$31,27 \pm 3,26$	$60,58 \pm 4,25$
0,2	7,3	$5,25 \pm 1,36$	$3,46 \pm 0,51$	$36,02 \pm 2,71$	$76,60 \pm 7,22$
0,3	7,7	$2,98 \pm 2,17$	$0,61 \pm 0,36$	$19,18 \pm 3,16$	$79,10 \pm 8,18$
0,4	7,9	$3,00 \pm 1,74$	$0,58 \pm 0,13$	$5,50 \pm 1,06$	$89,31 \pm 3,71$
0,5	8,1	$3,75 \pm 1,98$	$0,45 \pm 0,02$	$7,36 \pm 4,01$	$90,23 \pm 3,10$
0,6	8,2	$4,54 \pm 0,82$	$0,52 \pm 0,00$	$2,81 \pm 1,45$	$93,31 \pm 1,27$
0,7	8,3	$4,61 \pm 1,71$	$0,00 \pm 0,00$	$3,92 \pm 2,03$	$93,20 \pm 1,10$
0,8	8,3	$4,90 \pm 0,31$	$0,00 \pm 0,00$	$3,48 \pm 2,35$	$92,67 \pm 1,41$

Dalam penandaan DMSA dengan teknesium-99m, pH merupakan faktor yang sangat penting. Westera [2] mengemukakan bahwa dalam suasana asam akan terbentuk ^{99m}Tc -DMSA dengan tingkat oksidasi +4 yang digunakan sebagai penyidik

ginjal sedangkan dalam suasana basa akan diperoleh ^{99m}Tc -DMSA dengan tingkat oksidasi +5 yang mempunyai efek biologis yang berbeda di dalam tubuh.

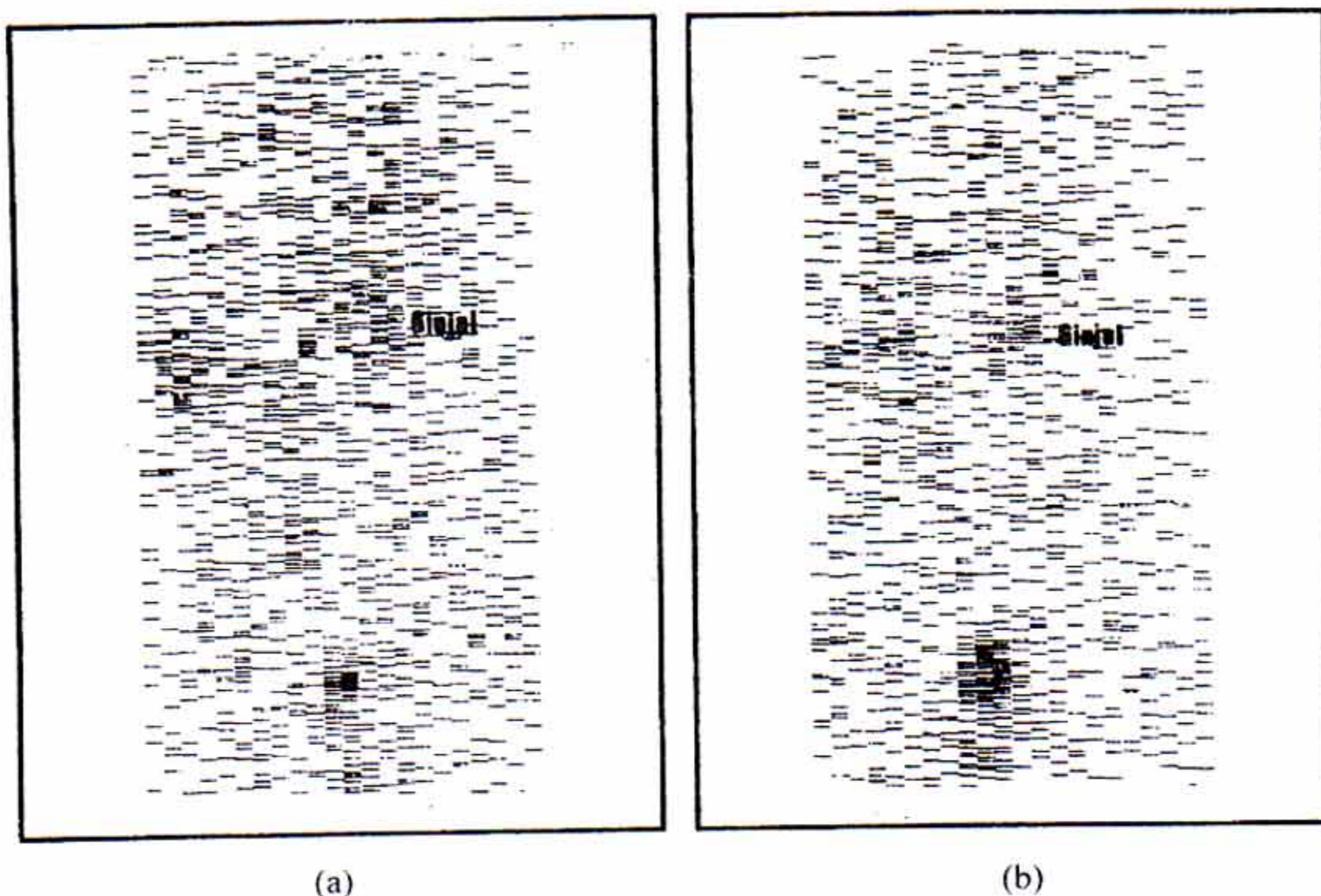
Penandaan DMSA dengan radionuklida ^{99m}Tc menggunakan kit kering DMSA (dalam suasana asam) menghasilkan $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}$ -DMSA dalam jumlah yang tinggi ($95,65 \pm 0,54$ %) dan $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA dalam jumlah yang sangat kecil ($0,02 \pm 0,01$ %). Peningkatan pH dengan jalan menambahkan larutan NaHCO_3 7 % akan menyebabkan menurunnya jumlah $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}$ -DMSA dan meningkatnya jumlah $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA. Penandaan $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA maksimum diperoleh pada pH = 8,2 - 8,3 dengan penggunaan 0,6 - 0,8 mL NaHCO_3 7 % yang memberikan efisiensi penandaan maksimal sebesar $93,59 \pm 1,05$ % sedangkan $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}$ -DMSA terbentuk dalam jumlah yang relatif kecil ($3,92 \pm 2,03$ %) (Tabel 1).



Gambar 1. Pengaruh waktu inkubasi terhadap pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA. PH = 8,2 (NaHCO_3 7% = 0,6 mL)

Selain itu, lamanya waktu inkubasi juga berpengaruh terhadap pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA. Inkubasi pada temperatur kamar selama 5 menit memberikan hasil penandaan sebesar $82,64 \pm 3,39$ %. Penambahan waktu inkubasi dapat meningkatkan hasil penandaan. Dari Gambar 1 terlihat bahwa penandaan tertinggi

sebesar $92,82 \pm 3,36$ % diperoleh bila inkubasi pada temperatur kamar dilakukan selama 30 menit.

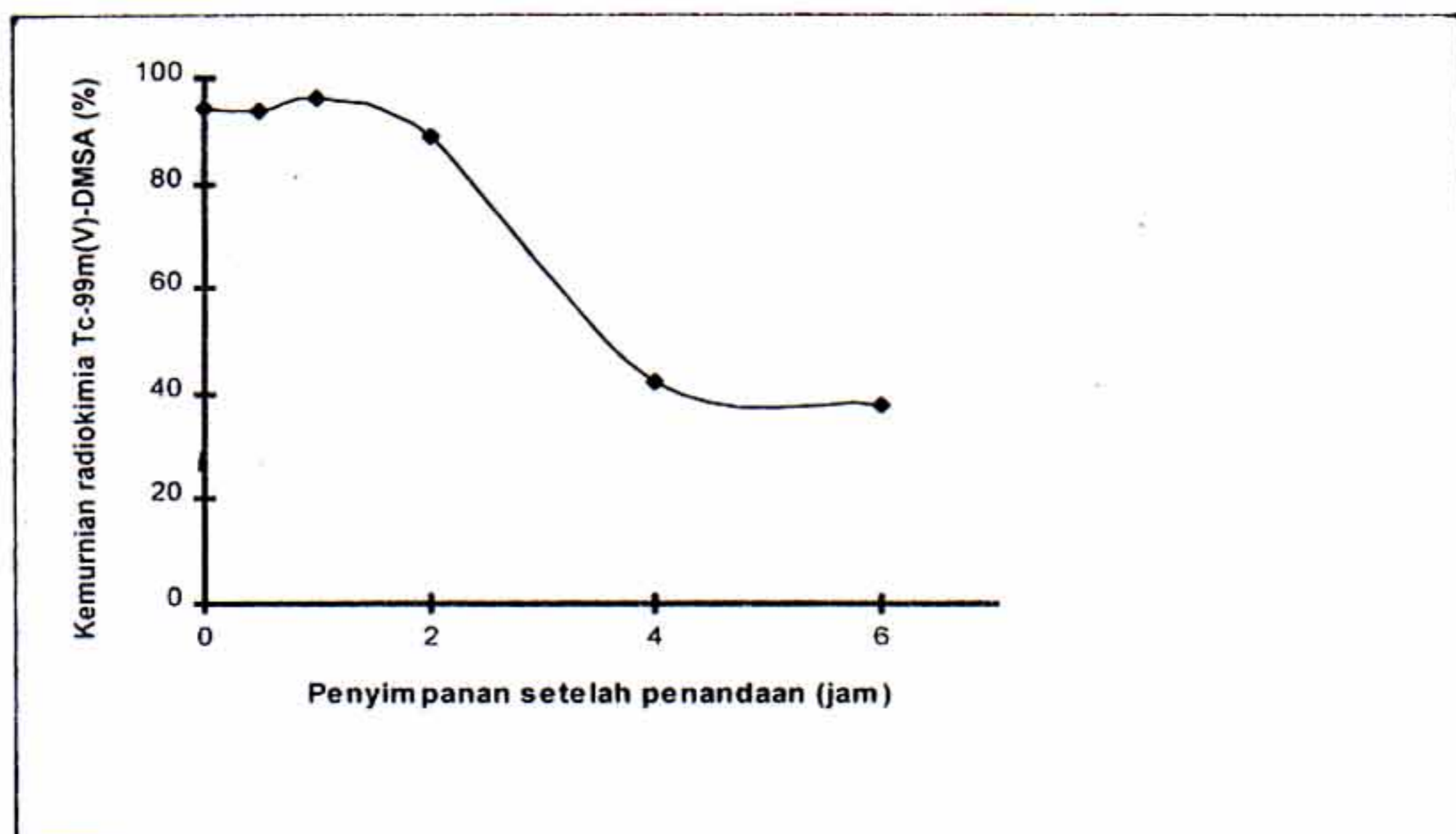


Gambar 2. Penyidikan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA pada tikus putih normal
(a) 30 menit, (b) 60 menit setelah penyuntikan secara intra vena

Guna mengetahui sifat biologis senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA, dilakukan pula uji pendahuluan pada hewan percobaan dengan metode penyidikan menggunakan alat penyidik untuk hewan percobaan (*animal scanner*) sehingga dapat diketahui penimbunan aktivitas pada organ tubuh. Gambar 2 menunjukkan hasil penyidikan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA pada tikus putih, dari hasil penyidikan terlihat bahwa penimbunan aktivitas pada ginjal relatif kecil, berbeda dengan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{IV}}$ -DMSA (suasana asam) yang terakumulasi dalam jumlah yang tinggi pada organ tersebut [7]. Untuk memastikan hal ini dalam penelitian lanjutan akan dilakukan uji biodistribusi pada hewan percobaan.

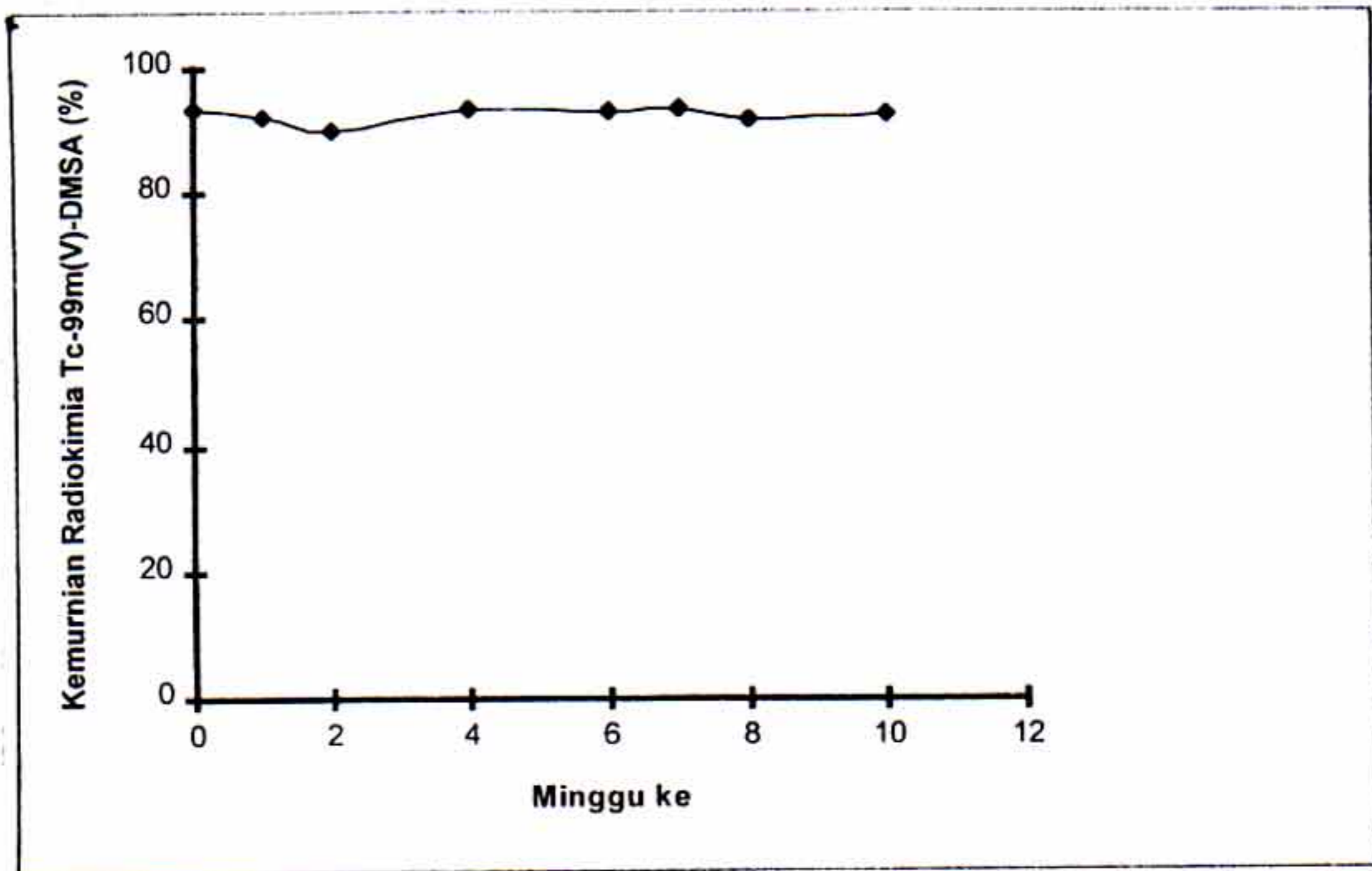
Uji stabilitas senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA dapat dilihat pada Gambar 3. Senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA yang ditentukan kemurnian radiokimianya pada waktu-waktu tertentu setelah pencampuran kit kering DMSA dengan larutan ^{99m}Tc -perieknetat terlihat tidak

begitu stabil. Dari hasil pemeriksaan ini dapat dinyatakan bahwa pada pemakaiannya, sediaan tersebut masih dapat digunakan sampai 1 jam setelah proses pencampuran dengan ^{99m}Tc . Pengujian pada 2 jam setelah pencampuran menunjukkan bahwa senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA mempunyai kemurnian radiokimia lebih kecil dari 90 %.



Gambar 3. Stabilitas senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA

Untuk mengetahui waktu daluarsa kit kering DMSA yang dikaitkan dengan pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA, dilakukan juga pengujian stabilitas kit tersebut terhadap waktu penyimpanan. Pengujian dilakukan dengan melihat kemurnian radiokimianya setelah kit tersebut ditandai dengan radionuklida teknesium-99m dalam suasana basa. Selama periode pengujian, kit kering DMSA disimpan di dalam lemari es dengan temperatur ± 4 °C. Dari hasil uji ini terlihat bahwa setelah disimpan selama 10 minggu (± 2 1/2 bulan), kit kering yang ditandai dengan teknesium-99m dalam suasana basa masih mempunyai kemurnian radiokimia di atas 90 %, dimana harga ini masih memenuhi persyaratan kemurnian radiokimia sediaan radiofarmasi yaitu 90 - 100 % [8] (Gambar 4).



Gambar 4. Uji stabilitas kit kering dalam pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA dalam suasana basa. NaHCO_3 7% = 0,6 mL, $t_{\text{inkubasi}} = 30$ menit

KESIMPULAN

Kondisi optimal pembentukan senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA dalam suasana basa dicapai pada pH 8,2 - 8,3 (penggunaan 0,6 - 0,8 mL larutan NaHCO_3 7 %) dengan waktu inkubasi selama 30 menit pada temperatur kamar, dan memberikan kemurnian radiokimia antara 92 - 93%.

Dari evaluasi pendahuluan dengan metode penyidikan pada hewan percobaan diperoleh bahwa senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA (suasana basa) terakumulasi dalam jumlah yang kecil pada ginjal.

Senyawa $^{99m}\text{Tc}^{\text{V}}$ -DMSA masih dapat digunakan selama 1 jam setelah pencampuran dengan radionuklida teknesium-99m (^{99m}Tc).

Kit kering DMSA yang disimpan selama 10 minggu (± 2 bulan) pada temperatur ± 4 °C masih tetap stabil dengan kemurnian radiokimia di atas 90 %.