

## KARAKTERISTIK $^{186}\text{Re}$ -HIDROKSI ETILIDEN DIFOSFONAT (HEDP) SEBAGAI "BONE PAIN PALLIATIVE AGENT"

Adang H. G., A. Mutalib, Sri Bagiawati, Evie S., Sri Aguawarini, Abidin  
Pusat Pengembangan Radioisotop dan Radiofarmaka - BATAN

### ABSTRAK

**KARAKTERISTIK KOMPLEK  $^{186}\text{Re}$ -HIDROKSI ETILIDEN DIFOSFONAT (HEDP) SEBAGAI BONE PAIN PALLIATIVE AGENT.** Rasa sakit pada tulang yang disebabkan oleh metastasis beberapa penyakit kanker seperti prostat, payu dara, paru-paru dan ginjal dapat diobati dengan analgesik, hormon, *chemotherapy*, narkotika (morfin) dan radiofarmaka. Samarium-153 EDTMP merupakan radiofarmaka yang sampai saat ini secara luas digunakan untuk mengurangi rasa sakit akibat metastasis kanker ke tulang. Preparasi dan uji kualitas kompleks  $^{186}\text{Re}$ -HEDP telah berhasil dilakukan. Hasil penentuan kemurnian radiokimia dengan kromatografi kertas menunjukkan bahwa kompleks tersebut masih menghasilkan kemurnian radiokimia > 90 % sampai dengan hari ke 3 setelah penandaan. Kadar kompleks dalam darah mencapai puncaknya setelah 5 menit setelah penyuntikan dan menurun drastis pada 24 jam setelah penyuntikan. Sedangkan dalam urin 24 jam setelah penyuntikan diperoleh aktivitas sekitar 41 % yang diekskresikan dalam bentuk perenat bebas. Hasil biodistribusi dalam mencit normal menunjukkan penimbunan kompleks pada tulang diperoleh dalam waktu antara 2 - 24 jam setelah penyuntikan. Hasil pengujian sterilitas dan pirogenitas menunjukkan sediaan tersebut steril dan bebas pirogen.

**Kata kunci:**  $^{186}\text{Re}$ -HEDP , tulang, kemurnian radiokimia, biodistribusi.

### ABSTRACT

**CHARACTERISTIC OF  $^{186}\text{Re}$ -HYDROXY ETHYLIDENE DIPHOSPHONIC ACID (HEDP) COMPLEX AS A BONE PAIN PALLIATIVE AGENT.** Bone pain is a common complication for patient with bone metastases from prostate, breasts, lung and renal cancers. The systemic treatment of metastatic bone cancers can be done by using analgesic drug therapy, hormonal therapy, chemotherapy, narcotic (morphin) and radiopharmaceuticals. Samarium-153 EDTMP is one of the most widely used radiopharmaceutical for the treatment of metastatic bone pain. Preparation and quality control of  $^{186}\text{Re}$ -HEDP have been carried out. Radiochemical purity was analysed using paper chromatography and resulted in maximum yields more than 90 % . Complexes quite were stable for 3 days when stored at 4° C. Rhenium-186 HEDP complex contents in the blood reach optimum activity after 5 minutes and decrease drastically at 24 hours post injection. The complex showed major

renal clearance up to 41 % as perrhenate ion within 24 hours after injection. Biodistribution pattern of the injected complex in mice indicates that the accumulated optimum activity in the bone was obtained between 2 - 24 hours post injection. Sterility and pyrogenicity test indicated that the complex were sterile and pyrogen free.

**Key words:**  $^{186}\text{Re}$ -HEDP, bone, radiochemical purity, biodistribution.

## PENDAHULUAN

Pemakaian radiasi dalam penelitian medik, perawatan, maupun pengobatan telah berhasil menolong banyak orang di berbagai penjuru dunia. Dalam 20 tahun terakhir, penggunaan radionuklida untuk keperluan medis dalam bentuk radiofarmaka telah menunjukkan keberhasilan yang menakjubkan, terutama dalam diagnosis atau studi faal maupun fungsi berbagai organ dan jaringan baik pada hewan maupun manusia.

Radiofarmaka paling banyak digunakan untuk tujuan diagnosis 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 memanfaatkan radiasi untuk tujuan pengobatan [1,5, 6, 7]. Beberapa senyawa golongan fosfonat dengan struktur berbeda (HEDP, MDP, EDTMP dan sebagainya), telah berhasil ditandai dengan  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  dan digunakan sebagai penyidik tulang. Penandaan golongan difosfonat dengan radionuklida pemancar  $\beta$  seperti  $^{153}\text{Sm}$  sudah rutin digunakan sebagai paliasi untuk menghilangkan rasa sakit pada kanker tulang [1, 4].

Radioisotop pemancar beta lainnya seperti  $^{186}\text{Re}$ , diharapkan dapat berperan sebagai *diagnostic agent* selama terapi berlangsung. Hal ini dimungkinkan karena  $^{186}\text{Re}$  selain memancarkan partikel  $\beta$  ( $^{186}\text{Re} = 1,07 \text{ MeV}$ ) yang berperan untuk terapi, juga memancarkan sinar  $\gamma$  ( $^{186}\text{Re} = 137 \text{ Kev}$ ) untuk diagnosis dengan menggunakan kamera gamma. Di dalam sistem berkala, renium berada dalam satu golongan

yang sama dengan teknesium (golongan VIIA), karenanya kedua unsur tersebut memiliki sifat kimia yang mirip. Penandaan  $^{186}\text{Re}$  dengan ligand fosfonat diharapkan dapat dilakukan seperti halnya penandaan  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  dengan HEDP yang merupakan salah satu turunan difosfonat. Rений-186 HEDP telah berhasil dikembangkan dengan hasil yang baik secara kimia dan sediaan cukup stabil selama 3 hari setelah penandaan [2].

Sebagaimana obat umumnya, maka radiofarmaka yang masuk ke dalam tubuh secara parenteral 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 [3, 4]. Dalam makalah ini akan dipaparkan karakteristik radiofarmaka  $^{186}\text{Re}$ -HEDP, seperti lipofilisitas, pengikatan dengan protein, pencucian kompleks dari darah, pencucian kompleks dari ginjal, biodistribusi dan penampakan dengan kamera gamma.

Persyaratan sebagai radiofarmaka seperti kemurnian radiokimia, sterilitas dan pirogenitas juga dibahas dalam makalah ini. Dari hasil yang diperoleh diharapkan radiofarmaka sudah memenuhi persyaratan untuk dilanjutkan ke tahap uji klinis yang dilakukan melalui kerjasama dengan rumah sakit atau klinik yang mempunyai fasilitas kedokteran nuklir.

## BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *1-hidroxy ethylidene diphosphonic acid* (HEDP) yang disiapkan dari hasil sintesis yang dilakukan di P<sub>2</sub>RR BATAN. Perenat radioaktif,  $^{186}\text{Re O}_4^-$ , disiapkan di P<sub>2</sub>RR. Bahan kimia lainnya seperti  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , HCl, NaOH, metanol, asam askorbat,  $\text{HNO}_3$ , aseton (semuanya buatan Merck), Air suling, larutan salin 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 *beaker glass, syringe , vial* dan *metabolic cage* .

## **TATA KERJA**

### **Penentuan lipofilisitas (koefisien partisi) kompleks**

Penentuan lipofilisitas kompleks  $^{186}\text{Re-HEDP}$  didasarkan atas pengukuran koefisien distribusi senyawa kompleks di fase air dan fase n-oktanol. Radioaktivitas dari tiap fase dicacah dan lipofilisitasnya dihitung sebagai perbandingan cacahan dalam fase 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 dari radiofarmaka  $^{186}\text{Re-HEDP}$  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 diplotkan dalam bentuk grafik antara waktu terhadap % aktivitas kompleks di dalam darah.

### **Uji pencucian dari ginjal**

Besarnya perubahan aktivitas kompleks dalam urin per satuan waktu merupakan laju *renal clearance*. Penentuan uji pencucian ginjal dari radiofarmaka  $^{186}\text{Re-HEDP}$  dilakukan dengan menyuntikkan 0,2 ml sediaan dengan aktivitas 400  $\mu\text{Ci}$  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.

#### **Uji penentuan kemurnian radiokimia hasil ekskresi (urin dan feces)**

Sebanyak 5  $\mu\text{l}$  urin ditotolkan pada kertas whatman 1. Setelah dikeringkan, kertas dielusi dengan larutan aseton dan salin sebagai fasa gerak. Kertas dicacah dengan alat *Radiochromatography Scanner* dan dihitung persen radiokimianya. Untuk feces, pada sampel terlebih dahulu ditambahkan larutan salin, kemudian diambil filtratnya dan ditotolkan pada kertas kromatografi.

#### **Uji biodistribusi sediaan $^{186}\text{Re}$ -HEDP**

Sebanyak 0,1 ml dengan aktivitas 200  $\mu\text{Ci}$  sediaan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP 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 sinar gamma dan dihitung persentase tiap gram organ atau tiap organ.

#### **Penyidikan dengan menggunakan kamera gamma**

Sebanyak 0,2 ml sediaan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP dengan aktivitas 400  $\mu\text{Ci}$  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).

## Uji sterilitas

Uji sterilitas terhadap sediaan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP 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

Uji pirogenitas terhadap sediaan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP 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

Bedasarkan teknik penandaan yang telah dilaporkan sebelumnya [2] dapat disimpulkan efisiensi penandaan optimum HEDP dengan  $^{186}\text{Re}$  dicapai bilamana jumlah HEDP 39,1 mg, stanoklorida 2,7 mg, asam askorbat 2,7 mg, pH 3 dan waktu reaksi penandaan selama 45 menit pada suhu kamar. Dengan kondisi formulasi formula tersebut, kestabilan kompleks  $^{186}\text{Re}$ -HEDP dengan tingkat kemurnian  $> 95\%$  dapat dipertahankan sampai 2 hari. Hasil penelitian lanjutan (Tabel 1) menunjukkan bahwa kestabilan dapat dipertahankan sampai dengan hari ke 3 dengan cara menaikkan jumlah asam askorbat menjadi 4 mg, pH akhir diatur hingga mencapai 4 dengan penambahan larutan dapar fosfat pH 7,4 dan penyimpanan dilakukan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Penambahan asam askorbat perlu dilakukan karena dari hasil penentuan kemurnian radiokimia kompleks dari formulasi yang lama menunjukkan bahwa persentase perenat bebas naik cukup tinggi ( $> 20\%$ ) pada hari ke 3. Penambahan asam askorbat berlebih sebagai anti oksidan adalah untuk menekan terjadinya reoksidasi kompleks,  $^{186}\text{Re}$ -HEDP menjadi  $^{186}\text{ReO}_4^-$ .

Tabel 1. Perubahan formulasi untuk pembuatan kompleks <sup>186</sup>Re-HEDP.

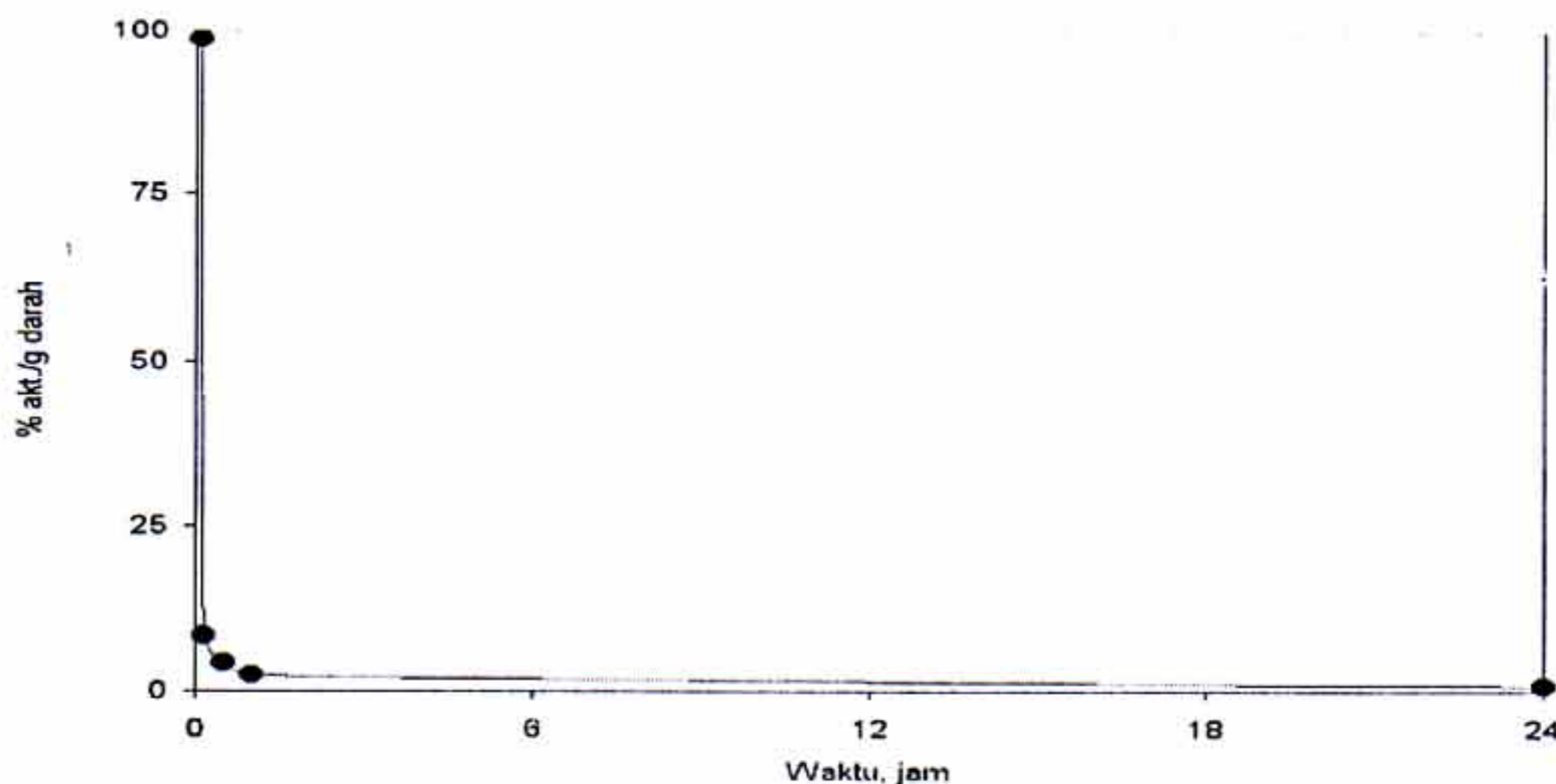
	Lama	Baru
HEDP	39,1 mg	39,1 mg
SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2,7 mg	3,0 mg
Asam askorbat	2,7 mg	4,0 mg
PH reaksi	3,0	2,5
PH akhir	3,0	4,0
Waktu reaksi	45 menit	45 menit

Pengujian lipofilisitas kompleks <sup>186</sup>Re-HEDP dengan menentukan koefisien distribusi sediaan dalam oktanol/air, sehingga diperoleh koefisien distribusi atau log  $P_{o/w} = -1,1237$  ( $P = 0,0752$ ). Rendahnya lipofilisitas <sup>186</sup>Re-HEDP menunjukkan bahwa kompleks sulit larut dalam lemak atau pelarut non polar, tetapi kompleks mudah sekali larut dalam air (hidrofil), karena itu *clearance* cenderung ke sistem renal.

Kompleks yang terikat dengan protein plasma sekitar 19 % setelah dicampurkan selama 15 menit. Hal ini menunjukkan bahwa sekitar 81 % senyawa kompleks akan mengalami metabolisme masuk ke organ target (tulang) dan organ/jaringan lain seperti ginjal, usus, lambung, paru-paru, hati dan limpa, sedangkan kompleks yang terikat pada protein plasma akan dilepaskan perlahan-lahan dan masuk ke jalur ekskresi [6].

Penentuan aktivitas kompleks dalam darah yang dilakukan menggunakan hewan tikus dengan variasi waktu pengambilan sampel darah, menunjukkan konsentrasi tertinggi kompleks dicapai 5 menit setelah penyuntikan (98,65 %) dan persen aktivitas menurun drastis mulai pada menit ke 60 (2,5 %) dan pada jam ke 24 setelah penyuntikan hanya 0,8 % aktivitas yang tersisa dalam darah (Gambar 1). Penurunan kadar kompleks dalam darah ini disebabkan karena sebagian besar

kompleks sudah terekskresikan ( $\pm 41\%$ ) dan sebagian lainnya terdistribusi ke organ seperti hati, paru, ginjal, lambung dan jaringan lain termasuk juga ke organ target (tulang), hal ini juga bisa terlihat pada hasil pengujian aktivitas dalam darah (Gambar 1) dan hasil biodistribusi (Tabel 2).

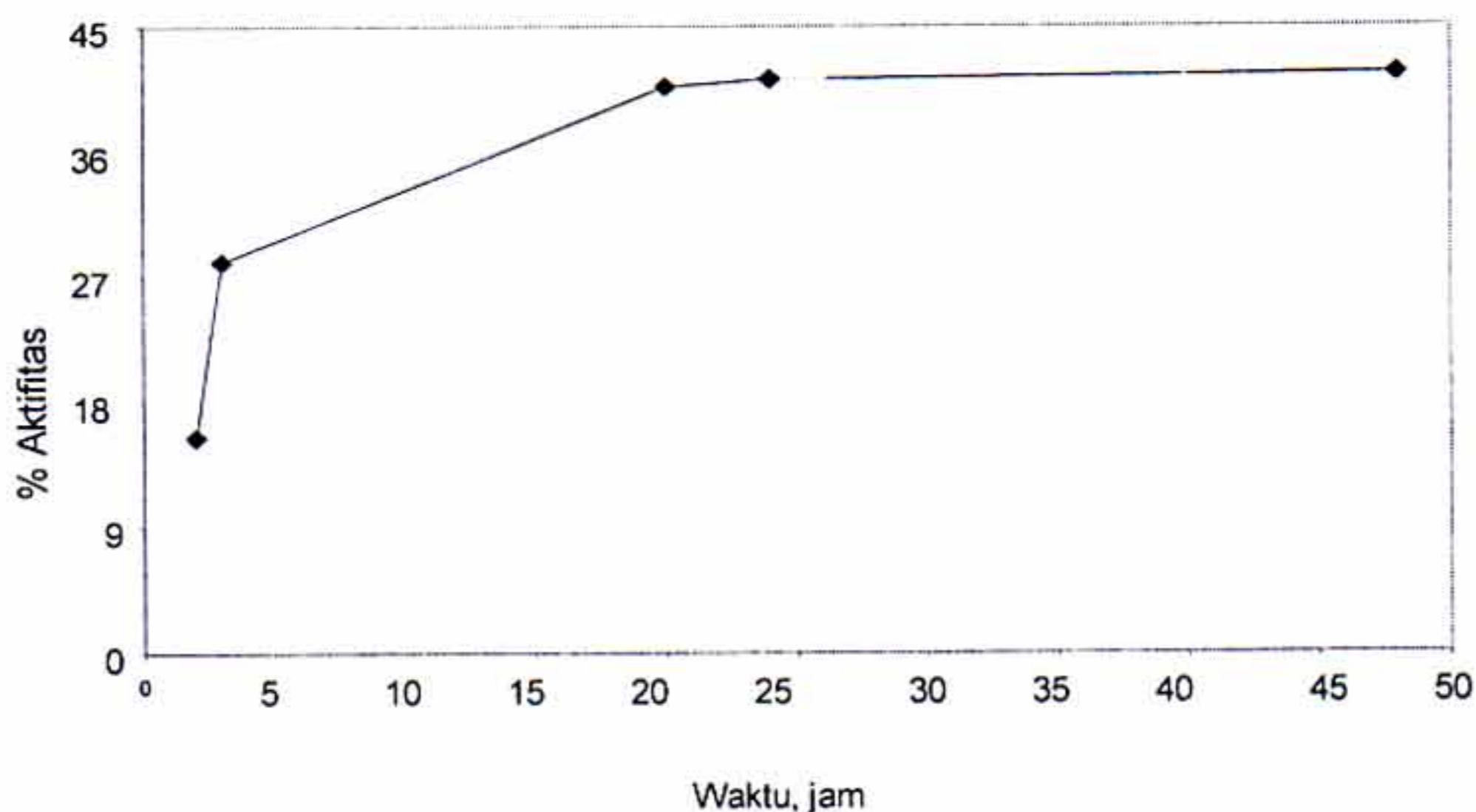


Gambar 1. Grafik hasil pengujian aktivitas dalam darah dari  $^{186}\text{Re}$ -HEDP

Penentuan aktivitas yang diekskresikan lewat ginjal melalui urin dilakukan menggunakan alat *Metabolic Cage* pada selang waktu penampungan 2, 3, 20, 24 dan 48 jam setelah penyuntikan (Gambar 2), hasil yang dicapai menunjukkan bahwa sampai dengan 20 jam setelah penyuntikan sekitar 41 % dari total aktifitas diekskresikan lewat urin. Hasil analisis dari hasil ekskresi tersebut dengan kromatografi kertas menunjukkan bahwa bentuk metabolit yang terdeteksi adalah perenat ( $\pm 80\%$ ) sedangkan sisanya masih sebagai kompleks yang belum diketahui. Hasil ekskresi lewat feces setelah 24 dan 48 jam masing-masing diperoleh 1,2 % dan 0,4 % dari aktivitas total dengan bentuk metabolit yang diekskresikan sebagai perenat



bebas. Adanya ekskresi lewat feces ini kemungkinan bukan dari hasil pemecahan kompleks, tetapi sejak awal sudah berbentuk perenat (Tabel 2). Kompleks <sup>186</sup>Re-HEDP pada umumnya mengalami penguraian selama metabo-lisme di dalam tubuh terutama ketika masuk ke hati yang bertugas untuk memecah kompleks menjadi metabolit yang mudah diekskresikan, dalam hal ini adalah perenat.



Gambar 2. Grafik hasil pengujian aktivitas dalam urin dari <sup>186</sup>Re-HEDP

Uji biodistribusi kompleks <sup>186</sup>Re-HEDP dilakukan menggunakan hewan mencit putih dengan berat 30 - 40 g dan variasi waktu pembedahan 1, 3, 24 dan 48 jam setelah penyuntikan (Tabel 2). Aktivitas pada organ target (tulang) yang tinggi dicapai mulai dari 3 jam setelah penyuntikan dan perbandingan tulang/otot yang paling besar dicapai setelah 24 jam ( $\pm 30$  kali). Pada saat tersebut penimbunan aktivitas pada organ lain sangat kecil sehingga gambaran rangka yang diperoleh lebih jelas dibanding waktu sebelumnya (Gambar 4: 24 jam). Gambaran yang jelas dari penyidikan dengan kamera gamma diperoleh mulai 24 jam setelah penyuntikan, hal ini disebabkan setelah 24 jam

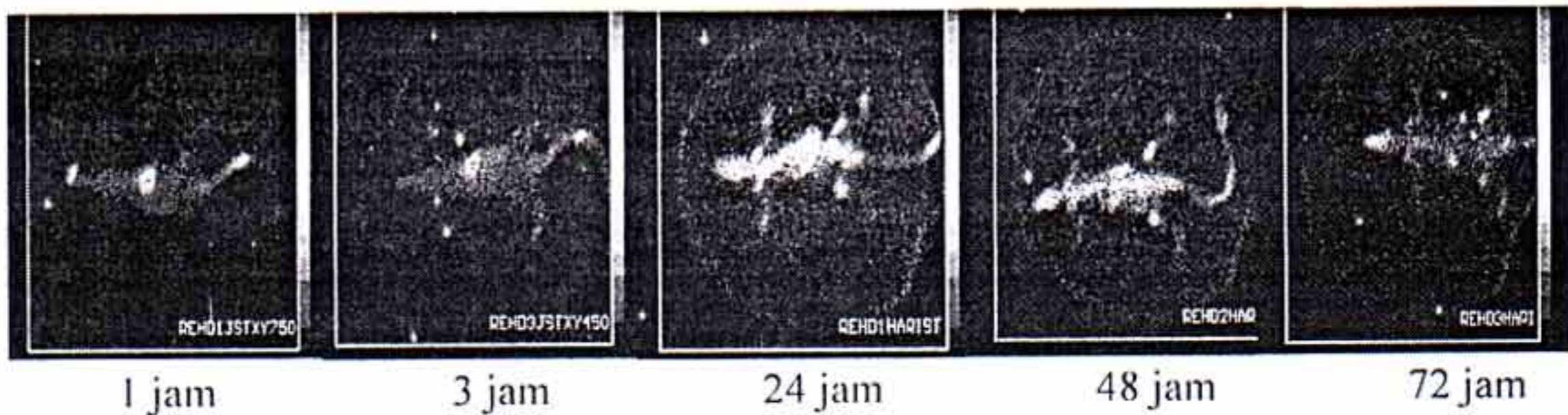
penyuntikan konsentrasi aktivitas dalam darah sangat kecil sekali (0,02 %/g organ). Konsentrasi aktivitas dalam ginjal sampai dengan 24 jam setelah penyuntikan tidak terlalu drastis penurunannya karena ekskresi kompleks  $^{186}\text{Re-HEDP}$  melewati organ tersebut.

Tabel 2. Hasil biodistribusi radiofarmaka  $^{186}\text{Re-HEDP}$  pada mencit.

% Re-186 HEDP/g. organ				Nama organ	% Re-HEDP/ organ			
1 J	3 J	24 J	48 J		1 J	3 J	24 J	48 J
2.53	1.78	0.02	0.01	Darah	7.99	5.62	0.06	0.04
0.42	0.48	0.02	0.05	Hati	0.73	0.96	0.45	0.05
1.04	0.87	0.31	0.22	Ginjal	0.49	0.6	0.26	0.15
4.17	6.87	0.06	0.04	Lambung	1.57	2.3	0.09	0.01
0.7	1.1	3.18	1.7	Tulang	1.41	2.22	6.42	3.41
0.3	0.36	0.1	0.06	Otot	5.4	6.97	2.15	0.9

Penyidikan tikus putih dilakukan dengan kamera gamma 1, 3, 24, 48 dan 72 jam setelah penyuntikan (Gambar 4). Hasil penyidikan pada 1 dan 3 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 peluruhan  $^{186}\text{Re}$  ( $t_{1/2} \text{ } ^{186}\text{Re} = 90$  jam, intensitas sinar gamma = 9 %), menyebabkan gambaran rangka menjadi kabur, tetapi konsentrasi aktivitas tertinggi secara relatif (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 ( $\pm 30$  kali) yaitu 24 dan 48 jam setelah penyuntikan. Pada 72 setelah penyuntikan, terjadi penurunan aktivitas di berbagai organ karena ekskresi dan tetap pada organ target (tulang) dengan aktivitas pada organ lainnya yang dapat diabaikan.

Dalam hal ini diperlukan waktu pencitraan diperlukan untuk mendapatkan gambaran rangka yang lebih baik dan bersih.



Gambar 4. Hasil penyidikan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP dengan kamera gamma pada 1, 3, 24, 48 dan 72 jam setelah penyuntikan.

Hasil pengujian sterilitas dari sediaan  $^{186}\text{Re}$ -HEDP 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  $^{186}\text{Re}$ -HEDP lebih kecil dari  $1,4^{\circ}\text{C}$  (masing-masing  $0,1$ ,  $0,1$  dan  $0,2^{\circ}\text{C}$ ) dan ini menunjukkan radiofarmaka  $^{186}\text{Re}$ -HEDP bebas pirogen.

## KESIMPULAN.

Dari hasil percobaan yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa kompleks  $^{186}\text{Re}$ -HEDP dengan formulasi yang terdiri dari HEDP 39,1 mg,  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  3 mg, asam askorbat 4 mg dan pH akhir 4,0 (setelah penambahan dapar fosfat) diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu sediaan alternative untuk *bone pain palliative agent*. Hasil pengujian hewan yang telah disuntik radiofarmaka dengan kamera gamma menunjukkan kesesuaian dengan hasil yang diperoleh dari uji biodistribusi.

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

## DAFTAR PUSTAKA

1. VERA RUIZ, H., Radiopharmaceuticals as therapeutic agents in medical care and treatment, IAEA Bulletin, 1, 1993,
2. ADANG, H.G., MUTALIB, A., SRI BAGIAWATI, DJOHARLY, C., MAYA, G., ABIDIN, Preparasi dan uji stabilitas radiofarmaka  $^{186}\text{Re}$ -HEDP, Prosiding Seminar Sains dan Teknologi Nuklir, Puslitbang Teknik Nuklir-BATAN, 2001: 136-142
3. OWUNWANNE, A., PATEL, M., SADEK, S., The Handbook of Radiopharmaceuticals, Chapman & Hall Medical, London, 1995 : 29-38.
4. MAZIERE, B., Physical and Chemical Requirements for a Radiopharmaceutical, European Radiopharmacy Course, Paris – France, November 2000.
5. BANERJEE, S., SAMUEL, G., KOTHARI, K., UNNI, P.R., SARMA, H.D., PILLAI, M.R.A., 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.
6. "Radiopharmaceuticals - Drug Applications", Nordic Guidelines, Nordic Council on Medicine, Uppsala Sweden, 1988 : 1-2.
7. SERAFINI, A. N., Therapy of metastatic bone pain, J. Nucl. Med., 42 (2001), 895- 904.
8. DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA, Farmakope Indonesia, Edisi IV , 1995: 855-909.