

PENGEMBANGAN PEMBUATAN TEKNESIUM-99m NITRIDO PENTANA-2,4-DION BIS(N-METILTIOSEMİKARBAZON) SEBAGAI SEDIAAN RADIOFARMASI

Nurlaila Z., Entit Susilawaty, Epy Isabela
Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknik Nuklir- BATAN

ABSTRAK

PENGEMBANGAN PEMBUATAN TEKNESIUM-99m NITRIDO PENTANA-2,4-DION BIS(N-METILTIOSEMİKARBAZON) SEBAGAI SEDIAAN RADIOFARMASI. Pembuatan senyawa teknesium-99m nitrido pentana-2,4-dion bis(N-metiltiosemikarbazon) ($^{99m}\text{TcNPETS}$) telah dilakukan menggunakan donor nitrogen natrium azida. Akan tetapi metode ini mempunyai beberapa keterbatasan untuk penggunaan dalam kedokteran nuklir, khususnya mengenai sterilitas dan apirogenitas dari radiofarmaka. Pada penelitian ini telah dikembangkan alternatif lain dalam pembuatan senyawa $^{99m}\text{TcPETS}$ teras nitrido melalui reaksi substitusi antara senyawa $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ perantara berupa senyawa $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan ligan PETS. Kondisi pembentukan senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan efisiensi penandaan $\geq 90\%$ dicapai pada pemakaian 0,976 mg S-metilditiokarbazat, 1,050 mg PPh_3 , 10 μL HCl 10M, dengan waktu inkubasi selama 15 hingga 30 menit pada temperatur 80 °C, serta pemakaian 1,026 mg PETS, pH 7 dengan waktu inkubasi selama 15 hingga 45 menit pada temperatur yang sama untuk reaksi substitusi membentuk $^{99m}\text{TcNPETS}$, dengan efisiensi penandaan $\geq 90\%$. Efisiensi penandaan $^{99m}\text{TcNPETS}$ diketahui dari kemurnian radiokimianya yang ditentukan secara kromatografi lapis tipis menaik menggunakan plat silika gel 60 dengan 2 macam pelarut, masing-masing pelarut campuran etanol-kloroform-toluen-amonium asetat 0,5M; pH 7 (6 : 3 : 3 : 1) dan pelarut campuran metanol-asetonitril-THF-amonium asetat 0,5M; pH 7 (3 : 3 : 2 : 2). Uji stabilitas senyawa $^{99m}\text{TcNPETS}$ terhadap waktu penyimpanan menunjukkan bahwa setelah disimpan selama 4 jam pada temperatur kamar, senyawa tersebut masih stabil dengan tingkat kemurnian $\geq 90\%$.

Kata kunci : teknesium-99m, PETS, nitrido, substitusi, S-metilditiokarbazat

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF THE PREPARATION OF ^{99m}Tc -PENTANE-2,4-DION BIS(N-METHYLTHIOSEMICARBAZONE) AS A RADIOPHARMACEUTICAL. The preparation of ^{99m}Tc -pentane-2,4-dion bis(N-methylthiosemicarbazone) ($^{99m}\text{TcNPETS}$) using nitrogen donor of sodium azide has been carried out. However, this method having several severe limitations for the application in nuclear medicine, especially in the case of sterility and apyrogenicity of the radiopharmaceuticals. In this

research, the alternative method for the preparation of $^{99m}\text{TcPETS}$ containing nitrido core has been developed through the substitution reactions between $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ intermediate that is $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ with PETS ligand. The forming conditions of $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ intermediate with $\geq 90\%$ of labelling efficiency was obtained by using 0.976 mg of S-methyldithiocarbamate, 1.050 mg of PPh_3 , 10 μL of 10M of HCl , with 15 to 30 minutes of incubation at 80 $^\circ\text{C}$, and by using 1.026 mg of PETS, pH 7 with 15 to 45 minutes of incubations at the same temperature for the substitution reaction to produce $^{99m}\text{TcNPETS}$, in which gave the labelling efficiency of $\geq 90\%$. The labelling efficiency of $^{99m}\text{TcNPETS}$ was observed through the radiochemical purity determination using silica gel 60 ascending thin layer chromatography with 2 kinds of the mobile phase, those are the mixed solvent of ethanol-chloroform-toluen-0.5M, pH 7 of ammonium acetat (6 : 3 : 3 : 1) and the mixed solvent of methanol-acetonitril-THF-0.5M, pH 7 of ammonium acetat (3 : 3 : 2 : 2). Studies on the stability of $^{99m}\text{TcNPETS}$ showed the labelled compound with the radiochemical purity of $\geq 90\%$ was still stable for 4 hours stored in room temperature.

Key words : technetium-99m, PETS, nitrido, substitution, S-methyldithiocarbamate.

PENDAHULUAN

Dalam bidang kedokteran nuklir, sediaan radiofarmasi bertanda teknesium-99m (^{99m}Tc) secara luas digunakan sebagai sediaan untuk diagnosis adanya gangguan pada organ di dalam tubuh. Sebagian besar sediaan radiofarmasi tersebut mempunyai struktur dengan teras $(\text{Tc}^{\text{V}}\text{O})^{3+}$ atau $(\text{Tc}^{\text{V}}\text{O}_2)^+$ yang diperoleh dengan jalan mereduksi Tc dari tingkat oksidasi $\text{Tc}(\text{VII})$ menjadi $\text{Tc}(\text{IV})$ atau $\text{Tc}(\text{V})$ [1]

Pembuatan sediaan radiofarmasi bertanda teknesium-99m dengan teras nitrido ($^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$) dikembangkan pertama kali oleh Baldas [2] dan telah digunakan untuk mensintesis berbagai senyawa kompleks teknesium-99m-nitrido [3, 4]. Sintesis ini berdasarkan reaksi antara ^{99m}Tc -perteknetat dengan natrium azida (NaN_3) berlebih dalam suasana asam klorida pekat yang berfungsi sebagai reduktor. Setelah pemanasan dengan jalan merefluks akan dihasilkan senyawa kompleks perantara $^{99m}\text{TcNCl}_4^-$, yang dengan ligan tertentu, melalui reaksi reduksi-substitusi akan terbentuk hasil akhir radiofarmasi ^{99m}Tc -nitrido.

Dalam penelitian terdahulu [5], telah dilakukan sintesis senyawa kompleks teknesium-99m nitrido pentana-2,4-dion bis(N-metiltiosemikarbazon) ($^{99m}\text{TcNPETS}$) menggunakan metode seperti di atas. Akan tetapi, walaupun memberikan hasil yang cukup baik dengan kemurnian radiokimia sesuai persyaratan sebagai sediaan radiofarmasi yaitu $\geq 90\%$, cara ini mempunyai beberapa kelemahan dan sulit untuk diaplikasikan dalam bidang kedokteran nuklir.

Beberapa kelemahan tersebut diantaranya, memerlukan waktu yang cukup panjang karena sebelum penambahan ligan, senyawa kompleks perantara $^{99m}\text{TcNCl}_4$ harus dikeringkan dalam kondisi vakum untuk menghilangkan kelebihan asam klorida pekat dan asam hidrazoat yang terbentuk. Selain itu, adanya tahap evaporasi pada pembuatan dengan cara ini menyebabkan pengendalian terhadap sterilitas dan apirogenitas sesuai persyaratan pembuatan sediaan radiofarmasi untuk pemakaian parenteral sulit dilakukan. Panjangnya tahap pengerjaan menyebabkan diperoleh hasil akhir dengan radioaktivitas yang rendah mengingat waktu paruh ^{99m}Tc yang relatif singkat. Di samping itu, akan terbentuk senyawa asam hidrazoat yang toksik sehingga seluruh pengerjaan harus dilakukan dalam lemari asam.

Dalam mengatasi masalah ini, telah dikembangkan alternatif lain dalam penyediaan teknesium dengan teras nitrido melalui reaksi substitusi antara ligan dengan $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ perantara. Sebagai $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ perantara digunakan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ yang diperoleh dari reaksi antara ^{99m}Tc -perteknetat dengan derivat asam S-metilditiokarbazon dalam suasana asam klorida dan adanya trifenilfosfin (PPh_3) [6].

Dalam penelitian ini akan dikembangkan pembuatan senyawa bertanda teknesium-99m teras nitrido $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ dengan metode di atas menggunakan ligan pentana-2,4-dion bis(N-metiltiosemikarbazon) (PETS). Pada tahap awal, akan dipelajari kondisi pembuatan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ sebagai senyawa perantara dengan memvariasikan beberapa parameter yaitu jumlah derivat asam S-metilditiokarbazon, jumlah PPh_3 dan waktu inkubasi. Selanjutnya untuk mendapatkan kondisi yang

optimal dengan efisiensi penandaan yang tinggi, dalam pembuatan senyawa ^{99m}Tc -nitrido-PETS ($^{99m}\text{TcNPETS}$) dilakukan juga variasi beberapa parameter di antaranya, pH, jumlah ligan serta kondisi dan waktu inkubasi.

Penelitian ini bertujuan memperoleh formula serta teknik pembuatan sediaan radiofarmasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ yang memenuhi persyaratan sebagai sediaan parenteral untuk tujuan diagnosis dalam bidang kedokteran nuklir.

TATA KERJA

Bahan dan peralatan

Teknesium-99m diperoleh dari P3Tkn-BATAN dengan metode ekstraksi dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, ligan PETS dan S-metilditiokarbamat hasil sintesis di P3Tkn, trifenilfosfin buatan TCI serta standar S-metilditiokarbamat hadiah dari Universitas Tohoku, Jepang. Etanol, metanol, kloroform, toluen, amonium asetat, asetonitril, kalium hidroksida, hidrazin hidrat, karbon disulfida, metil iodida, natrium hidroksida, asam klorida, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , plat kromatografi lapis tipis silika gel 60 serta pereaksi lain dengan kemurnian pro analisis produksi E. Merck.

Peralatan yang digunakan adalah spektrometer infra merah (Perkin Elmer 1310), pencacah saluran tunggal dengan detektor NaI-Tl (C. Schlumberger), seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat gelas untuk sintesis kimia, seperangkat alat penentuan titik leleh, penangas es dan penangas air

Pembuatan S-metilditiokarbamat

Pembuatan S-metilditiokarbamat dilakukan menurut metode Bähr dan Schleitzer yang dikembangkan oleh Das [7].

Sebanyak 22,88 g KOH dilarutkan dalam 140 mL campuran etanol-air (9:1) sampai larut sempurna, kemudian larutan didinginkan dalam penangas es. Ke dalam larutan ditambahkan 20 g hidrazin hidrat sedikit demi sedikit sambil diaduk,

selanjutnya ditambahkan larutan karbon disulfida (30,4 g dalam 25 mL etanol) tetes demi tetes menggunakan corong pemisah sambil diaduk selama lebih kurang 1 jam dan temperatur dipertahankan di bawah 10 °C. Hasil yang menyerupai minyak dipisahkan menggunakan corong pemisah, kemudian dilarutkan dalam 100 mL campuran etanol-air (2:3) dan didinginkan dalam penangas es. Ke dalam larutan ditambahkan sedikit demi sedikit 58 g metil iodida sambil diaduk dan temperatur dipertahankan di bawah 5 °C. Pengadukan dilanjutkan selama lebih kurang 10 menit di mana akan terbentuk hasil berwarna putih. Ke dalam wadah tersebut ditambahkan 100 mL air es, kemudian diaduk selama lebih kurang 10 menit. Hasil dipisahkan dengan penyaringan, selanjutnya dicuci dengan air dan dikeringkan diudara terbuka. Rekristalisasi dilakukan dengan 150 mL benzen.

Pembuatan senyawa perantara $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$

Pembuatan senyawa perantara $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ berupa senyawa $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dilakukan dengan menggunakan metode Pasqualini [8].

Ke dalam vial ditambahkan berturut-turut 0,4 mL larutan S-metilditiokarbazon ($2 \cdot 10^{-2}$ mol/L etanol \approx 2,44 mg/mL), 0,2 mL larutan PPh_3 ($2 \cdot 10^{-2}$ mol/L etanol \approx 5,25 mg/mL), 0,1 mL asam klorida 10M dan 0,1 – 0,3 mL \approx 5 mCi larutan natrium perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). Campuran diinkubasi dalam penangas air 80 °C selama 15 menit. Efisiensi penandaan ditentukan dengan melihat kemurnian radiokimianya yang dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis. Untuk mendapatkan kondisi optimal pembuatan senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dilakukan variasi beberapa parameter, yaitu kondisi dan waktu inkubasi (penangas air 80 °C selama 15 dan 30 menit serta penangas air mendidih selama 15 menit), jumlah S-metilditiokarbazon (0,244 mg/0,1 mL; 0,488 mg/0,2 mL; 0,732 mg/0,3 mL, 0,976 mg/0,4 mL dan 1,464 mg/0,5 mL), serta jumlah PPh_3 (0,525 mg/0,1 mL; 1,050 mg/0,2 mL; 1,575 mg/0,3 mL dan 2,100 mg/0,4 mL). Kondisi pembuatan senyawa $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ yang optimal

dengan kemurnian radiokimia yang tinggi akan digunakan dalam percobaan selanjutnya.

Pengujian kemurnian radiokimia senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$

Kemurnian radiokimia senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis menaik menggunakan fase diam plat silika gel 60 (1,5 x 20 cm) dan campuran etanol- CHCl_3 -toluen-amonium asetat 0,5 M; pH 7 dengan perbandingan 6:3:3:1 sebagai fase gerak [9]. Kromatogram hasil elusi dikeringkan, kemudian setiap 1 cm dipotong, dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal menggunakan detektor NaI(Tl). Dengan metode ini diperoleh R_f $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2 = 0,85 - 1,0$; R_f $^{99m}\text{TcO}_2 = 0,0$ dan R_f $(^{99m}\text{TcO}_4)^- = 0,6 - 0,7$.

Penentuan pH optimal pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

Senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ yang diperoleh dari kondisi pembuatan optimal (0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 0,1 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi dalam penangas air 80 °C selama 30 menit), diatur pH nya bervariasi menjadi 4, 5, 6, 7 dan 8 dengan penambahan larutan HCl atau NaOH 1M. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan 0,4 mL larutan PETS ($1,25 \cdot 10^{-2}$ mol/L etanol $\approx 4,24$ mg/mL), kemudian campuran diinkubasi dalam penangas air 80 °C selama 15 menit. Efisiensi penandaannya ditentukan dengan melihat kemurnian radiokimia dengan metode kromatografi lapis tipis menaik.

Penentuan jumlah ligan PETS dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

Ke dalam 5 buah vial yang masing-masing berisi larutan perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, pH 7 sesuai dengan yang diperoleh dari percobaan sebelumnya, ditambahkan ligan PETS ($1,25 \cdot 10^{-2}$ mol/L $\approx 3,42$ mg/mL) dengan jumlah yang

bervariasi (0,342 mg/0,1 mL; 0,684 mg/0,2 mL; 1,026 mg/0,3 mL; 1,368 mg/0,4 mL dan 1,710 mg/0,5 mL). Setelah diinkubasi dalam penangas air 80 °C selama 15 menit, efisiensi penandaannya ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis menaik.

Penentuan kondisi dan waktu inkubasi pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

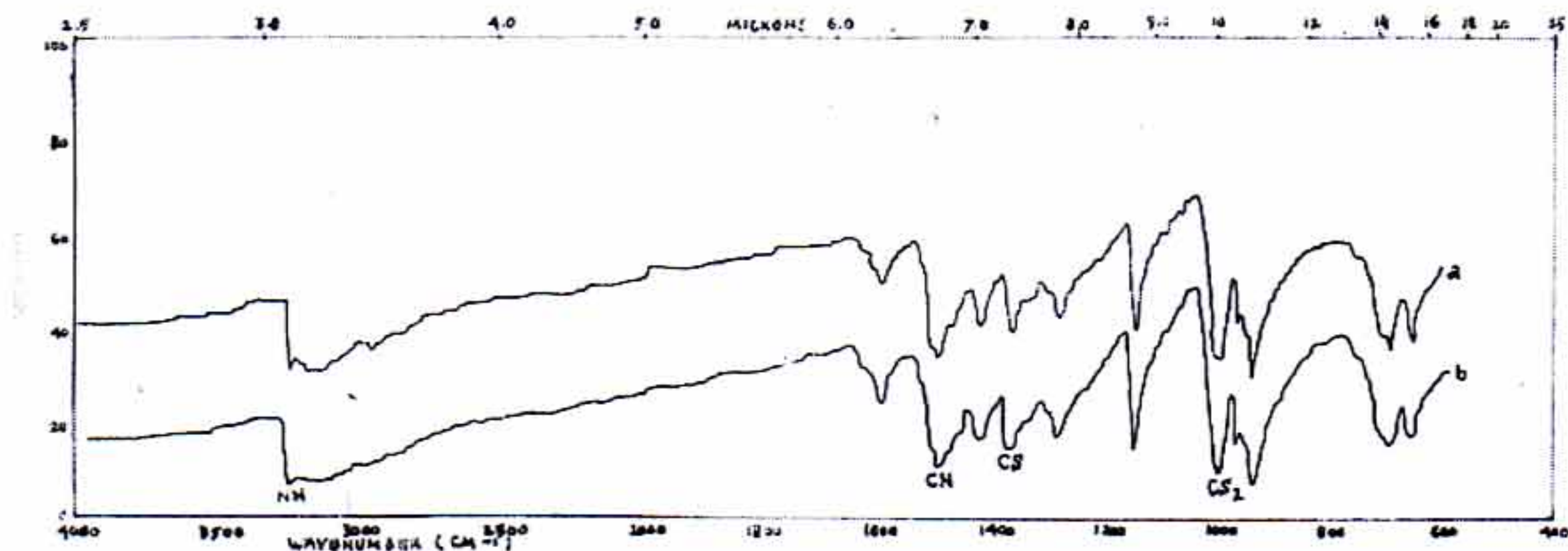
Penentuan kondisi dan waktu inkubasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ dilakukan dengan menambahkan ligan PETS sebanyak 1,026 mg/0,3 mL ke dalam larutan perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, pH 7 sesuai dengan yang diperoleh dari percobaan sebelumnya. Campuran diinkubasi dengan kondisi serta waktu inkubasi yang bervariasi yaitu temperatur kamar selama 15 menit; penangas air 80 °C masing-masing selama 15, 30 dan 45 menit; serta penangas air mendidih selama 10 menit. Selanjutnya efisiensi penandaannya ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis menaik.

Pengujian kemurnian radiokimia $^{99m}\text{TcNPETS}$

Kemurnian radiokimia $^{99m}\text{TcNPETS}$ ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis menaik menggunakan plat silika gel 60 (1,5 x 20 cm) sebagai fase diam serta 2 macam pelarut sebagai fase gerak, masing-masing campuran etanol- CHCl_3 -toluen-amonium asetat 0,5 M; pH 7 dengan perbandingan 6:3:3:1 dan campuran metanol-asetonitril-THF-amonium asetat 0,5 M; pH 7 dengan perbandingan 3:3:2:2. Elusi menggunakan fase gerak campuran etanol- CHCl_3 -toluen-amonium asetat 0,5 M; pH 7 (6:3:3:1) diperoleh $R_f^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2 = R_f^{99m}\text{TcNPETS} = 0,85 - 1,0$; $R_f^{99m}\text{TcO}_2 = 0,0$ dan $R_f(^{99m}\text{TcO}_4)^- = 0,6 - 0,7$; sedangkan elusi menggunakan fase gerak campuran metanol-asetonitril-THF-amonium asetat 0,5 M; pH 7 (3:3:2:2) diperoleh $R_f^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2 = 0,6 - 0,8$; $R_f^{99m}\text{TcO}_2 = 0,0$ dan $R_f(^{99m}\text{TcO}_4)^- = R_f^{99m}\text{TcNPETS} = 0,9 - 1,0$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa S-metilditiokarbamat diperoleh secara sintesis melalui reaksi antara hidrazin hidrat, karbon disulfida dan metil iodida dalam suasana adanya KOH dan etanol-air. Dari hasil sintesis diperoleh senyawa yang berbentuk kristal putih sebanyak $20,40 \pm 0,34$ g (rendemen $40,79 \pm 1,67$ %), titik lebur $79 - 80$ °C dan berat molekul 122 (titik lebur $80 - 81$ °C, berat molekul 122 [7]). Hasil pengujian S-metilditiokarbamat menggunakan spektrometer infra merah ditampilkan pada Gambar 1. Dari spektrum terlihat adanya puncak yang spesifik untuk gugus tertentu. Puncak serapan pada 1000 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur C=S yang diperkuat oleh adanya puncak pada 1370 cm^{-1} . Adanya vibrasi ulur C - N ditandai dengan munculnya puncak serapan pada 1500 cm^{-1} [10]. Dari hasil analisis di atas, diperoleh bahwa senyawa S-metilditiokarbamat memberikan hasil yang sama dengan senyawa S-metilditiokarbamat standar yang diperoleh dari Universitas Tohoku, Jepang. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah S-metilditiokarbamat.



Gambar 1. Spektrum infra merah senyawa S-metil ditiokarbamat dengan pembawa pelet KBr, a: standar, b: hasil sintesis

Ligan PETS bertanda teknesium-99m dalam bentuk teras okso ($Tc=O$) telah dikembangkan oleh Arano dan kelompok kerjanya [11]. Senyawa ini diharapkan dapat digunakan sebagai radiofarmaka diagnosis kelainan otak mengingat sifatnya yang lipofil dan tidak bermuatan. Pengujian biodistribusi menunjukkan bahwa senyawa ini mempunyai waktu retensi yang singkat dalam otak, yang diduga berkaitan erat dengan sifat fisiko kimia senyawa tersebut. Adanya teknik pembuatan radiofarmaka teknesium dengan teras nitrido membuka peluang dalam mempelajari masalah tersebut.

Dalam metode ini, pembuatan radiofarmaka teknesium dengan teras nitrido dilakukan dengan jalan menambahkan suatu ligan tertentu ke dalam larutan ^{99m}TcN perantara $^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$ di mana akan terjadi reaksi substitusi membentuk ^{99m}TcN -ligan [6, 8]. Prosedur ini merupakan salah satu alternatif untuk pembuatan radiofarmaka teras nitrido dengan memperhatikan persyaratan sterilitas dan apirogenitas karena pembentukan $^{99m}Tc\equiv N$ hanya dilakukan dalam satu tahap dan tidak melalui tahap evaporasi dan penyaringan [8]. Di samping itu, metode ini dapat mengatasi hampir seluruh masalah yang terjadi dalam pembuatan senyawa $^{99m}Tc\equiv N$ yang dikemukakan Baldas [2].

Efisiensi penandaan $^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$ ditentukan dari kemurnian radiokimianya dan sebagai pengotor radiokimianya adalah senyawa ^{99m}Tc dalam bentuk bebas ($^{99m}TcO_4^-$) dan bentuk tereduksi ($^{99m}TcO_2$).

Untuk mendapatkan senyawa ^{99m}TcN perantara ($^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$) dengan efisiensi penandaan yang tinggi, pada tahap awal dilakukan pembuatan senyawa tersebut dengan memvariasikan beberapa parameter, di antaranya jumlah S-metilditiokarbazat, kondisi dan waktu inkubasi, serta jumlah PPh_3 . Untuk mengetahui terbentuknya senyawa perantara $^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$ tersebut, pengujian kemurnian radiokimianya dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menaik menggunakan fase diam plat silika gel 60 (1,5 x 20 cm) dan campuran etanol- $CHCl_3$ -toluen-amonium asetat 0,5 M pH 7 (6:3:3:1) sebagai fase gerak [9].

Dalam penyediaan senyawa bertanda ^{99m}Tc , biasanya tidak dilakukan tahap pemurnian mengingat pendeknya waktu paruh radionuklida tersebut dan umumnya tersedia dalam bentuk kit yang dicampur dengan radionuklida pada saat akan digunakan di rumah sakit. Oleh karena itu, dalam pembuatan senyawa bertanda ^{99m}Tc perlu dicari kondisi penandaan yang optimal dengan efisiensi penandaan dan kemurnian radiokimia yang tinggi serta memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

Tabel 1 menampilkan hasil penentuan jumlah S-metilditiokarbamat dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$. Senyawa ini berfungsi sebagai donor atom nitrogen nitrid (N^{3-}) yang akan berikatan dengan logam Tc dalam bentuk $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ [8]. Dari hasil percobaan diperoleh bahwa penggunaan S-metilditiokarbamat dengan jumlah 0,244 hingga 0,732 mg memberikan efisiensi penandaan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ sebesar $86,86 \pm 1,96\%$ hingga $88,91 \pm 1,75\%$, penggunaan S-metilditiokarbamat dengan jumlah 0,976 mg memberikan efisiensi penandaan di atas 90%. Peningkatan jumlah S-metilditiokarbamat lebih besar dari 0,976 mg tidak banyak berpengaruh terhadap pembentukan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan efisiensi penandaan sebesar $94,98 \pm 1,82\%$.

Penentuan kondisi dan waktu inkubasi pembuatan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ ditunjukkan pada Tabel 2. Dari hasil percobaan terlihat bahwa inkubasi dalam penangas air dengan temperatur 80°C selama 15 menit memberikan efisiensi penandaan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ sebesar $95,14 \pm 1,22\%$, inkubasi dalam waktu yang lebih lama, yaitu 45 menit masih memberikan kemurnian radiokimia di atas 90%. Bila inkubasi dilakukan dalam penangas air mendidih diperoleh kemurnian radiokimia yang lebih rendah sebesar $79,72 \pm 2,61\%$. Hal ini mungkin disebabkan bahwa pada temperatur yang tinggi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ akan teroksidasi menjadi $(^{99m}\text{TcO}_4)^-$ [13] terlihat dengan tingginya persentase dalam bentuk senyawa tersebut yaitu sebesar $19,69 \pm 1,83\%$.

Tabel 1. Penentuan jumlah S-metilditiokarbamat dalam pembuatan $^{99m}\text{TcCl}_2(\text{PPh}_3)_2$

S-metilditiokarbamat		Efisiensi penandaan (%)		
Jumlah (mg)	Volume(mL)	$^{99m}\text{TcO}_2$	$(^{99m}\text{TcO}_4)^-$	$^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$
0,244	0,1	$3,66 \pm 1,19$	$9,48 \pm 1,12$	$86,86 \pm 1,96$
0,488	0,2	$2,64 \pm 0,73$	$11,23 \pm 1,26$	$86,13 \pm 1,49$
0,732	0,3	$1,02 \pm 0,99$	$10,07 \pm 1,38$	$88,91 \pm 1,75$
0,976	0,4	$1,03 \pm 1,45$	$3,83 \pm 1,71$	$95,14 \pm 1,46$
1,464	0,5	$1,95 \pm 0,65$	$3,07 \pm 1,25$	$94,98 \pm 1,82$

Keterangan :

Kondisi pada penggunaan 1,05 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi 80 °C/15 menit, n = 3)

Tabel 2. Penentuan kondisi dan waktu inkubasi pembuatan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$

Kondisi dan waktu inkubasi	Efisiensi penandaan (%)		
	$^{99m}\text{TcO}_2$	$(^{99m}\text{TcO}_4)^-$	$^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$
PA 80°C / 15 menit	$1,03 \pm 0,97$	$3,83 \pm 0,95$	$95,14 \pm 1,22$
PA 80°C / 30 menit	$2,94 \pm 1,45$	$2,68 \pm 1,71$	$94,38 \pm 1,46$
PAM / 15 menit	$0,59 \pm 0,43$	$19,69 \pm 1,83$	$79,72 \pm 2,61$

Keterangan :

- Kondisi pada penggunaan 0,976mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 1,05 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, n = 3)
- PA : penangas air
- PAM : penangas air mendidih

Parameter lain yang divariasikan dalam pembuatan $^{99m}\text{Tc}\equiv\text{N}$ perantara adalah senyawa PPh_3 . Tabel 3 menunjukkan data penentuan jumlah PPh_3 dalam pembuatan senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$. Dari hasil percobaan terlihat bahwa penggunaan PPh_3 dari 0,525 mg hingga 2,100 mg tidak banyak berpengaruh terhadap pembentukan senyawa perantara tersebut, dengan kemurnian radiokimia di atas 90%. Hasil yang maksimal sebesar $94,38 \pm 1,46\%$ dicapai pada penggunaan PPh_3 dengan jumlah 1,050 mg. Dalam metode ini, selain dibutuhkan senyawa yang berfungsi sebagai donor atom

nitrogen nitrid (N^{3-}), diperlukan juga senyawa yang dapat berfungsi sebagai akseptor atom oksigen yang berasal dari atom logam pusat (logam Tc). Holm [14] menyatakan bahwa senyawa PPh_3 merupakan senyawa yang dapat berfungsi sebagai akseptor atom oksigen tersebut. Dalam pembuatan senyawa Tc teras nitrido, terlihat bahwa senyawa PPh_3 memegang peranan penting terbukti dari beberapa percobaan yang menunjukkan bahwa tanpa adanya senyawa ini, pembentukan $^{99m}Tc \equiv N$ tidak akan terjadi [8]. Menurut Baldas [2], senyawa yang mengandung gugus fosfin, tiol dan CNS^- , merupakan senyawa yang bersifat sebagai reduktor, sehingga selain berfungsi sebagai akseptor atom oksigen, PPh_3 juga berfungsi sebagai reduktor dalam pembentukan teras $^{99m}Tc \equiv N$ [15].

Tabel 3. Penentuan jumlah PPh_3 dalam pembuatan $^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$

PPh ₃		Efisiensi penandaan(%)		
Jumlah (mg)	Volume(mL)	$^{99m}TcO_2$	$(^{99m}TcO_4)^-$	$^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$
0,525	0,1	2,16 ± 0,99	4,95 ± 1,21	92,89 ± 0,85
1,050	0,2	2,94 ± 1,45	2,68 ± 1,71	94,38 ± 1,46
1,575	0,3	3,33 ± 0,72	3,88 ± 1,70	92,79 ± 1,58
2,100	0,4	3,38 ± 0,67	3,40 ± 0,75	93,22 ± 0,32

Keterangan :

Kondisi pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 10 µL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL Na^{99m}TcO₄, inkubasi 80 °C/30 menit, n = 3)

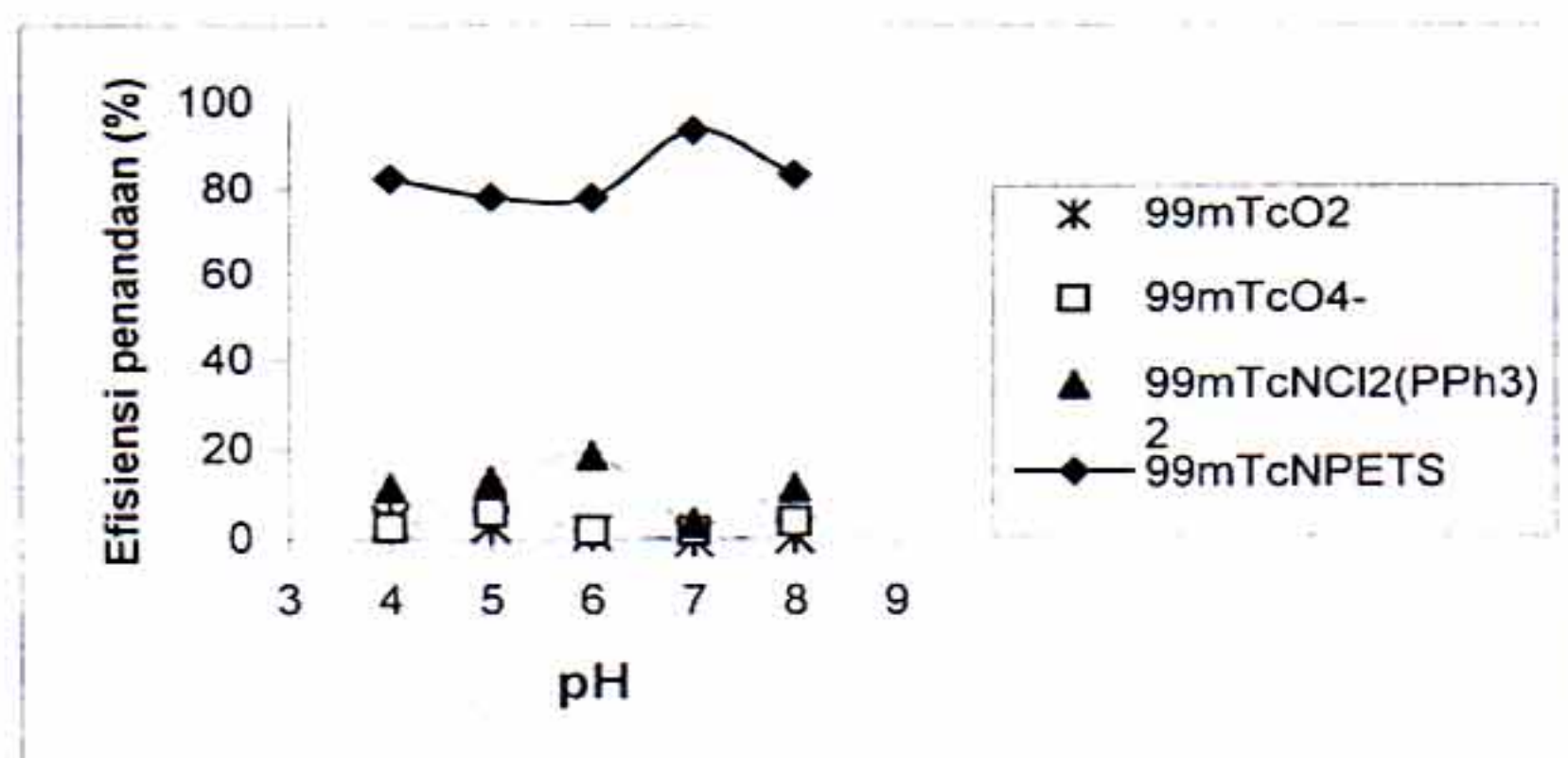
Dari hasil percobaan di atas, maka pada tahap selanjutnya untuk pembuatan senyawa perantara $^{99m}TcNCl_2(PPh_3)_2$ digunakan kondisi optimal dengan jumlah S-metilditiokarbamat dan PPh_3 masing-masing sebesar 0,976 mg dan 1,050 mg serta inkubasi dalam penangas air 80 °C selama 15 menit.

Dalam metode ini, pembuatan radiofarmaka teknesium-99m teras nitrido ($^{99m}Tc \equiv N$) berdasarkan reaksi substitusi antara $^{99m}Tc \equiv N$ perantara berupa senyawa

$^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan ligan [6, 9]. Untuk mendapatkan kondisi reaksi yang optimal dengan efisiensi penandaan yang maksimal, dalam percobaan ini dilakukan beberapa variasi parameter meliputi pH, jumlah ligan dan kondisi inkubasi. Efisiensi penandaan $^{99m}\text{TcNPETS}$ ditentukan dari kemurnian radiokimianya dan sebagai pengotor radiokimia adalah $^{99m}\text{TcO}_2$, $(^{99m}\text{TcO}_4)^-$ dan $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ [9].

Percobaan penentuan pH optimal ditampilkan pada Gambar 2. Pengaturan pH dimaksudkan untuk mendapatkan kondisi reaksi dengan hasil penandaan yang maksimal. Selain itu, diperlukan juga agar mendekati pH dimana senyawa tersebut tetap stabil. Dari percobaan diperoleh bahwa penandaan pada pH 4 hingga pH 6 memberikan efisiensi penandaan yang relatif rendah. Efisiensi penandaan yang maksimal sebesar $93,83 \pm 2,25\%$ diperoleh pada kondisi pH 7. Bila pH dinaikkan terlihat bahwa efisiensi penandaan menurun ($83,60 \pm 3,38\%$). Pada pH yang relatif basa, reaksi substitusi antara senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan ligan PETS berlangsung tidak sempurna terlihat dengan tingginya persentase $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ yaitu sebesar $11,57 \pm 3,47\%$.

Gambar 3 menunjukkan hasil percobaan penentuan jumlah ligan PETS dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$. Pemakaian PETS dengan jumlah 0,342 mg dan 0,682 mg memberikan efisiensi penandaan yang rendah, masing-masing sebesar $50,02 \pm 5,12\%$ dan $87,53 \pm 0,83\%$. Efisiensi penandaan tertinggi sebesar $94,73 \pm 1,65\%$ diperoleh pada penggunaan PETS sebanyak 1,026 mg dan peningkatan jumlah PETS memberikan hasil yang relatif konstan.

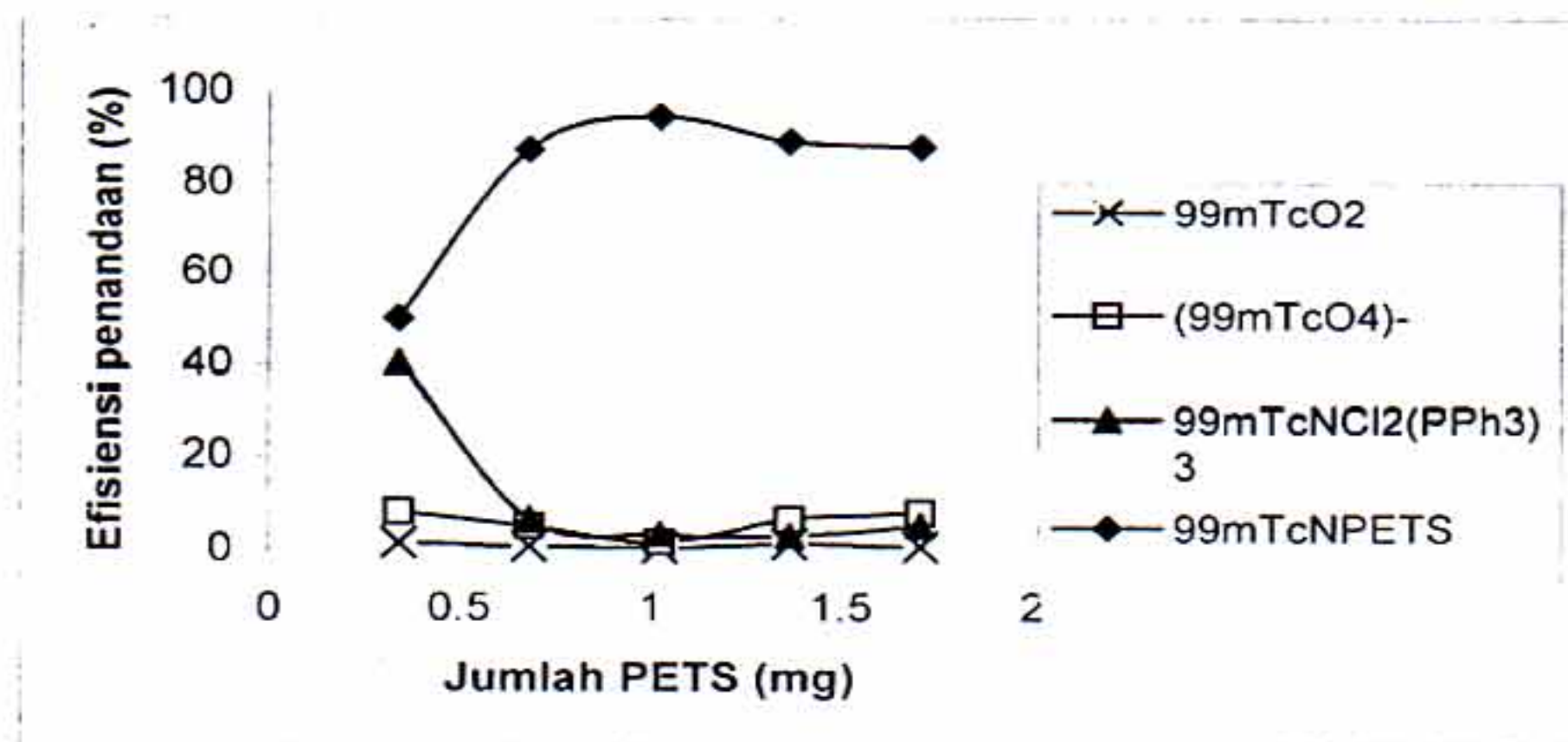


Gambar 2. Penentuan pH dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

Keterangan :

Kondisi pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ 80 $^\circ\text{C}$ /30 menit, 1,368 mg/0,4 mL PETS, inkubasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ 80 $^\circ\text{C}$ /15 menit, n = 3)

Penentuan kondisi dan waktu inkubasi dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$ dapat dilihat pada Tabel 4. Dari percobaan diperoleh bahwa efisiensi penandaan relatif rendah bila inkubasi dilakukan pada temperatur kamar ($70,09 \pm 4,33\%$). Efisiensi penandaan lebih besar dari 90% dicapai bila inkubasi dilakukan dalam penangas air 80 $^\circ\text{C}$ selama 15 hingga 45 menit. Bila temperatur penangas air dinaikkan sampai mendidih dan diinkubasi selama 10 menit dalam penangas tersebut diperoleh efisiensi penandaan yang lebih rendah. Dari hasil ini terlihat bahwa pemanasan pada temperatur tertentu (80 $^\circ\text{C}$) dapat mempercepat reaksi substitusi antara senyawa perantara $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dengan ligan PETS, akan tetapi pemanasan yang lebih tinggi tidak meningkatkan efisiensi penandaan. Hal ini mungkin disebabkan pada temperatur yang lebih tinggi terjadinya reaksi oksidasi terlihat dengan meningkatnya jumlah ($^{99m}\text{TcO}_4$) $^-$.



Gambar 3. Penentuan jumlah ligan PETS dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

Keterangan :

Kondisi pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbazat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ 80 °C/30 menit, pH 7, inkubasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ 80 °C/15 menit, n = 3)

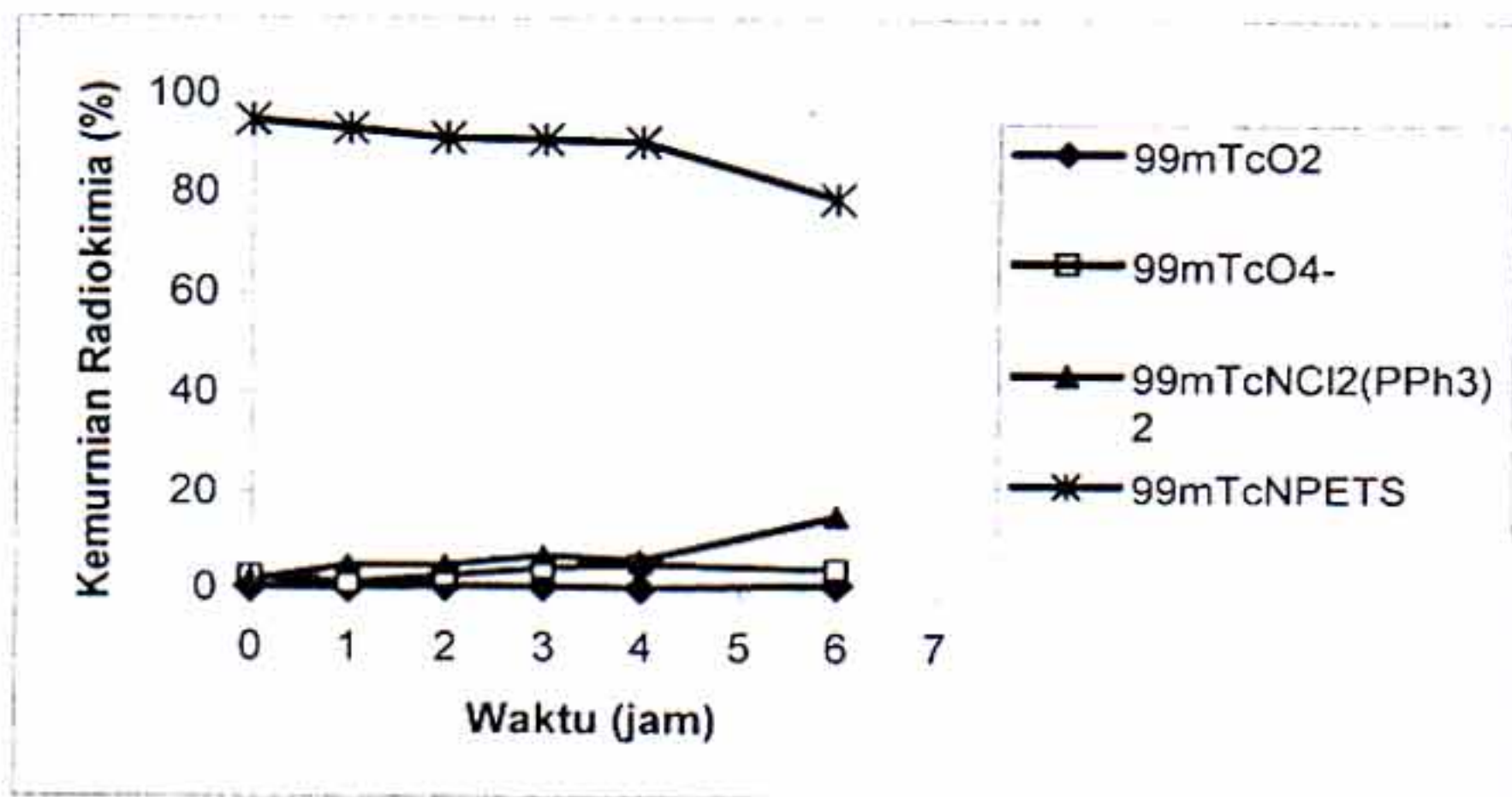
Penentuan stabilitas senyawa $^{99m}\text{TcNPETS}$ terhadap penyimpanan pada temperatur kamar dilakukan dengan menentukan kemurnian radiokimianya. Uji stabilitas menunjukkan bahwa penyimpanan selama 5 jam masih memberikan kemurnian radiokimia di atas 90%. Penyimpanan sampai 6 jam pada temperatur kamar menunjukkan penurunan kemurnian radiokimia menjadi $79,03 \pm 4,50\%$ (Gambar 4). Beberapa peneliti menyatakan bahwa persyaratan kemurnian radiokimia sediaan radiofarmasi adalah 90 – 100% [16].

Tabel 4. Penentuan kondisi dan waktu inkubasi dalam pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$

Kondisi dan waktu inkubasi	Efisiensi penandaan (%)			
	$^{99m}\text{TcO}_2$	$(^{99m}\text{TcO}_4)^-$	$^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	$^{99m}\text{TcNPETS}$
TK / 15 menit	$1,72 \pm 0,74$	$17,90 \pm 9,89$	$10,29 \pm 6,30$	$70,09 \pm 4,33$
PA 80°C / 15 menit	$0,74 \pm 0,19$	$1,83 \pm 1,75$	$3,61 \pm 3,32$	$93,83 \pm 5,25$
PA 80°C / 30 menit	$1,26 \pm 0,43$	$2,81 \pm 1,02$	$3,48 \pm 0,18$	$92,45 \pm 0,46$
PA 80°C / 45 menit	$0,46 \pm 0,05$	$2,91 \pm 1,04$	$1,44 \pm 0,14$	$95,19 \pm 1,04$
PAM / 10 menit	$0,88 \pm 0,11$	$13,43 \pm 6,45$	$5,07 \pm 3,43$	$80,62 \pm 9,46$

Keterangan :

- Kondisi pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ $80^\circ\text{C}/30$ menit, 1,026 mg/0,3 mL PETS, pH 7, n = 3)
- TK : temperatur kamar
- PA : penangas air
- PAM : penangas air mendidih



Gambar 4. Stabilitas senyawa ^{99m}Tc -Nitrido-PETS terhadap penyimpanan pada temperatur kamar

Keterangan:

- Kondisi pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metilditiokarbamat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, 5 mCi/0,2 mL $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, inkubasi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ $80^\circ\text{C}/30$ menit, 1,026 mg/0,3 mL PETS, pH 7, inkubasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ $80^\circ\text{C}/45$ menit, n = 3)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pembuatan senyawa bertanda teknesium-99m teras nitrido pentana-2,4-dion bis(N-metiltiosemikarbazon) ($^{99m}\text{TcNPETS}$) dapat dilakukan menggunakan S-metiltiokarbazat sebagai donor atom nitrogen nitrid (N^{3-}).

Kondisi pembuatan $^{99m}\text{TcNPETS}$ dengan efisiensi penandaan $\geq 90\%$ diperoleh pada penggunaan 0,976 mg/0,4 mL S-metil ditiokarbazat, 1,050 mg/0,2 mL PPh_3 , 10 μL HCl 10M, dengan kondisi inkubasi $^{99m}\text{TcNCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ dalam penangas air 80 °C dengan selama 15 hingga 30 menit, serta pemakaian 1,026 mg/0,3 mL ligan PETS pada pH 7 dengan kondisi inkubasi $^{99m}\text{TcNPETS}$ dalam penangas air 80 °C selama 15 hingga 45 menit.

Senyawa bertanda $^{99m}\text{TcNPETS}$ stabil selama 4 jam dalam penyimpanan pada temperatur kamar dengan kemurnian radiokimia $\geq 90\%$.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia dan biologi senyawa bertanda $^{99m}\text{TcNPETS}$.

DAFTAR PUSTAKA

1. BOREL, M., RAPP, M., PASQUALINI, R., MADELMONT, J.C., GODENECHÉ, D., VEYRE, A., Synthesis of potential ^{99m}Tc nitrido tumor imaging disposition in mice. *Appl. Radiat. Isot.* **43**(3) (1992) 425-436.
2. BALDAS, J., BONNYMAN, J., Substitution reaction of $^{99m}\text{TcNCl}_4$: a new route to a new class of ^{99m}Tc - radiopharmaceuticals. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **36** (2) (1985) 133-139.