

Uji Stabilitas Kit Cair Tetrofosmin pada Berbagai Kondisi Penyimpanan

Stability Test of Tetrofosmin Liquid Kits at Various Storage Condition

Yunilda*, Widyastuti Widjaksana, Indra Saptiama

Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka, BATAN
Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan, Indonesia

*E-mail: yunil@batan.go.id

Diterima: 13 November 2015

Direvisi: 18 Januari 2016

Disetujui: 22 Februari 2016

Abstrak

Tetrofosmin merupakan senyawa radiofarmaka yang sedang dikembangkan oleh PTRR BATAN, digunakan untuk mendeteksi *perfusi* jantung dan pendiagnosa penyakit kanker dalam bidang kedokteran nuklir. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas kit cair tetrofosmin jika disimpan pada berbagai kondisi, sehingga diketahui masa kadaluarsanya pada berbagai kondisi tersebut. Uji stabilitas radiokimia dilakukan juga pada 1 jam, 3 jam, 5 jam dan 7 jam setelah penandaan. Kestabilan ditentukan oleh nilai kemurnian radiokimia yakni $\geq 90\%$. Analisa kemurnian radiokimia dilakukan menggunakan metoda pemisahan melalui kolom Sep-Pak C18. Kondisi penyimpanan senyawa ini dilakukan pada berbagai suhu yaitu di dalam *deep freezer* (-80°C), *freezer* (-18°C), *refrigerator* ($2-6^{\circ}\text{C}$) dan *cool box* ($2-6^{\circ}\text{C}$). Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan stabilitas yang disimpan dalam *deep freezer*, *freezer* and *refrigerator* stabil sampai minggu ke 23, hari ke 8, dan hari ke 4. Untuk penyimpanan di dalam *cool box*, suhunya diamati sama dengan refrigerator dan stabil sampai dengan jam ke 24. Setelah penandaan kit cair tetrofosmin ini stabil sampai dengan jam ke 7. Disimpulkan bahwa masa kadaluarsa kit cair tetrofosmin dipengaruhi oleh suhu, makin rendah suhu penyimpanan makin stabil dan makin panjang masa kadaluarsanya.

Kata kunci: Kit radiofarmaka; Teknesium-99m tetrofosmin; Kemurnian radiokimia

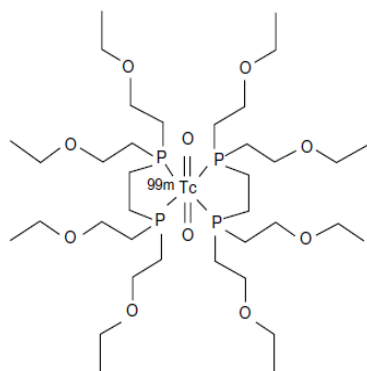
Abstract

Tetrofosmin radiopharmaceutical compound that is being developed by PTRR BATAN for use as myocardial perfusion imaging agent and cancer diagnostic agent in nuclear medicine. The aim of this study is observe the stability of this liquid kits after stored in various condition to determine its expiry date various condition. The stability test was done of 1 hour, 3 hours, 5 hours and 7 hours after labeling. The radiochemical was determined its radiochemical purity has to be $\geq 90\%$. Analysis of radiochemical purity was carried out by separation method which using Sep-Pak C18 cartridge. Storage condition of tetrofosmin kit was carried out at various temperatures as in the deep freezer (-80°C), freezer (-18°C), refrigerator ($2-6^{\circ}\text{C}$) and cool box ($2-6^{\circ}\text{C}$). The result showed that the liquid tetrofosmin kits stored in deep freezer, freezer, refrigerator were stable up to 23 months, 8 weeks and 4 days respectively. Simulation of stability test after stored in a cool box was done by observing the temperature of cool box, and the result showed that the temperature in the cool box was constant as in refrigerator for up to 24 hours. Tetrofosmin which has been labeled with technetium-99m can with stand up 7 hours. It is concluded that expiry date of liquid tetrofosmin kit related with storage temperature, the lower the temperature the longer the expiry date of the kits.

Keywords: Radiopharmaceutical kit; Technesium-99m tetrofosmin; Radiochemical purity

PENDAHULUAN

Tetrofosmin adalah kit farmaka dengan rumus kimia (1,2-bis[bis(2-etoksi etil)fosfino] etana) yang berfungsi sebagai ligan, dan dalam penggunaannya dikomplekskan dengan radioisotop teknesium-99m bilangan oksidasi +5. Dalam bentuk kompleks antara tetrafosmin dengan teknesium-99m, merupakan kompleks kation (teknesium-99m tetrafosmin₂O₂). Struktur kimianya ditunjukkan pada Gambar 1 berikut ini:¹



Gambar 1. Struktur kimia (1,2-bis[bis(2-etoksi etil) fosfino]etana)-^{99m}Tc

Dalam bidang kedokteran nuklir, teknesium-99m tetrafosmin ini digunakan sebagai senyawa untuk pendiagnosis penyakit jantung. Sebagaimana senyawa kationik, teknesium-99m tetrafosmin ini mengalami panangkapan pada otot jantung, disamping organ-organ lainnya seperti hati, paru-paru, ginjal dan sebagainya.

Penangkapan teknesium-99m tetrafosmin pada otot jantung, terjadi dengan cara proses difusi pasif yang sesuai dengan kecepatan aliran darah dan akan keluar seluruhnya dari otot jantung setelah 3-4 jam.¹⁻⁶

Pada kasus meningioma atau tumor otak, penangkapan teknesium-99m tetrafosmin terjadi pada selaput yang mengelilingi otak dan sumsum tulang belakang. Penangkapan teknesium-99m tetrafosmin lebih tinggi pada sel-sel yang pengalamai aktivitas *proliferasi* yang tinggi dibandingkan dengan sel sel yang

mengalami aktivitas *proliferasi* yang lebih rendah. Seperti kita ketahui, pertumbuhan sel pada sel kanker lebih tinggi dari pertumbuhan sel pada sel normal. Diagnosa dengan menggunakan teknesium-99m tetrafosmin ini memberikan gambaran yang lebih jelas bagi dokter spesialis onkologi untuk melakukan tindakan sebelum operasi, dimana dengan metoda ini dapat diketahui lokasi tumor, sehingga hasil pemeriksaan dengan teknesium-99m tetrafosmin ini dapat melengkapi pemeriksaan dengan *Computed Tomography* (CT) maupun *Magnetic Recenance Imaging* (MRI).⁷⁻¹¹

Penggunaan lainnya dalam bidang kedokteran nuklir, seiring dengan perkembangannya teknesium-99m tetrafosmin juga dapat digunakan sebagai senyawa pendiagnosis kanker payudara primer dan kelenjar getah bening yang diakibatkan oleh metastase dari kanker primer lainnya.^{12,13}

Pada saat ini Pusat Teknologi Radioistop dan Radiofarmaka Badan Tenaga Nuklir Nasional (PTRR BATAN) sedang mengembangkan kit tetrafosmin. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan preparasi, uji stabilitas kit ini setelah penandaan, dan penyimpanan dalam deep freezer. Hasil pengamatan menunjukkan kemurnian radiokimianya masih stabil sampai dengan jam ke 4 dan penyimpanan dalam *deep freezer* masih stabil sampai dengan bulan ke 9.¹⁴ Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian terdahulu mengenai kestabilannya.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui berapa lama ketabilan kit cair tetrafosmin yang disimpan pada berbagai kondisi penyimpanan, sehingga diketahui masa kadaluarsa pada masing masing kondisi penyimpanan tersebut. Penyimpanan dilakukan di dalam *deep freezer*, *freezer*, *refrigerator* dan *cool box*. Selain itu dilakukan juga uji kestabilan kit cair tetrafosmin setelah penandaan. Kestabilan kit cair tetrafosmin ditentukan oleh nilai kemurnian radiokimianya yakni ($\geq 90\%$).

METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Senyawa Bertanda PTRR BATAN pada bulan Maret 2013 sampai dengan bulan Maret 2015.

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit cair tetrofosmin yang diformulasi oleh PTRR BATAN, larutan perteknetat (TcO_4^-) dari PTRR BATAN, larutan aseton (E-Merck), larutan salin (NaCl 0,9 %) buatan IPHA-laboratories, Sep-Pak C18 (Waters) dan aquabides buatan IPHA-laboratories.

Metode Penyimpanan

Pengujian stabilitas ini dilakukan pada berbagai kondisi penyimpanan kit cair tetrofosmin yaitu penyimpanan pada *deep freezer* ($-80^{\circ}C$) penyimpanan pada *freezer* ($-18^{\circ}C$), penyimpanan pada *refrigerator* ($2-6^{\circ}C$) dan uji stabilitas suhu dalam *cool box* sebagai wadah untuk membawa kit cair ini pada saat distribusi ke rumah sakit. Selain itu, dilakukan juga uji stabilitas beberapa jam setelah penandaan.

Penyimpanan dalam *deep freezer* adalah penyimpanan pada suhu $-80^{\circ}C$. Pengujian kemurnian radiokimia dilakukan pada setiap 2 bulan.

Penandaan Kit Cair Tetrofosmin

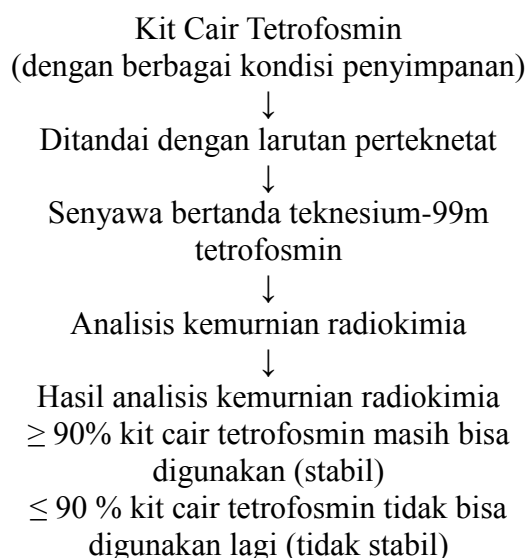
Penandaan kit cair tetrofosmin dengan teknesium-99m dilakukan dengan cara menambahkan 5 – 30 mCi sebanyak 2 mL larutan perteknetat teknesium-99m ke dalam vial yang berisi kit cair tetrofosmin, kemudian dikocok dan didiamkan minimal 15 menit. Kemudian dilakukan analisis kemurnian radiokimia.

Analisis Kemurnian Radiokimia

Analisis kemurnian radiokimia menggunakan kolom Sep-Pak C18 yang telah divalidasi menggunakan larutan perteknetat teknesium-99m (PTRR-Batan) dan kit komersial tetrofosmin (Myoview/GE-Health-care) sebagai standar. Analisis ini dilakukan setelah kit cair tetrofosmin ditandai dengan

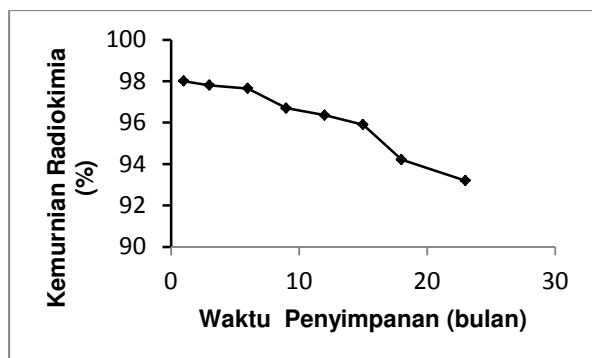
larutan perteknetat teknesium-99m. Sebanyak 50 – 500 μ l kit cair yang telah ditandai tersebut dimasukkan ke dalam kolom Sep-Pak C18 menggunakan *syringe* tanpa jarum. Selanjutnya kolom dielusi dengan larutan salin sebanyak 10 ml yang berfungsi sebagai fase gerak untuk memisahkan antara pengotor yang berupa larutan perteknetat teknesium-99m dengan senyawa kompleks yang terbentuk berupa teknesium-99m tetrofosmin. Senyawa kompleks yang masih berada dalam kolom dielusi dengan larutan campuran etanol dan salin dengan perbandingan 80:20. Masing-masing aktivitas larutan hasil elusi diukur radioaktivitasnya dengan menggunakan *Gamma Counter*.

Secara keseluruhan metoda penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji stabilitas kit cair tetrofosmin pada penyimpanan dalam *deep freezer* ditunjukkan pada Gambar 2. Pada gambar tersebut menjelaskan bahwa sampai dengan bulan ke 23 penyimpanan kit cair ini dalam *deep freezer*, kemurnian radiokimianya masih $\geq 90\%$. Data diperoleh dari 5 bets ($n = 5$). Dari gambar tersebut, dinyatakan kit tetrofosmin yang berupa kit cair, masih stabil selama penyimpanan 23 bulan dalam *deep freezer*. Hal ini dapat terjadi karena selama penyimpanan dalam *deep freezer*, kondisi kit

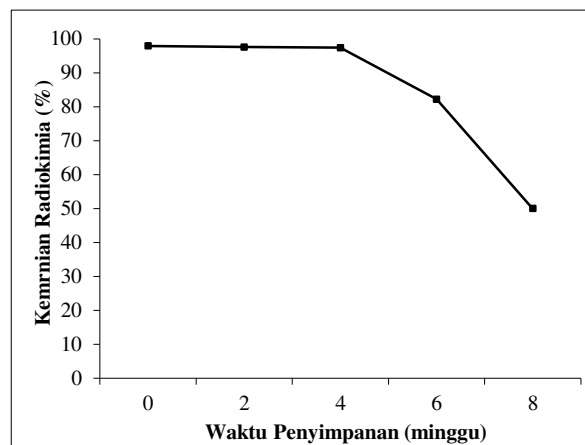


Gambar 2. Stabilitas kemurnian radiokimia kit tetrofosmin penyimpanan dalam deep freezer

dalam keadaan beku. Dalam keadaan beku Sn^{+2} sulit untuk berubah menjadi Sn^{+4} , karena faktor yang mempengaruhi suatu reaksi adalah wujud suatu senyawa. Senyawa dalam keadaan padat sulit untuk melakukan tumbukan antar molekulnya, sehingga reaksi tidak terjadi. Perlu kita ketahui bahwa faktor yang mempengaruhi nilai kemurnian radiokimia suatu radiofarmaka adalah kandungan Sn^{+2} . Jika kandungan Sn^{+2} yang ada dalam kit farmaka cukup untuk mereduksi teknesium bilangan oksidasi +7 menjadi +5, maka akan terjadi ikatan antara kit tetrofosmin dengan teknesium sehingga terbentuklah senyawa radiofarmaka teknesium-99m tetrofosmin.^{1,15,16}

Uji stabilitas kit cair tetrofosmin yang disimpan dalam freezer hasilnya ditunjukkan pada Gambar 3. Pada Gambar 3 menjelaskan bahwa stabilitas kemurnian radiokimia kit cair tetrofosmin yang disimpan dalam freezer stabil hingga minggu ke 4.

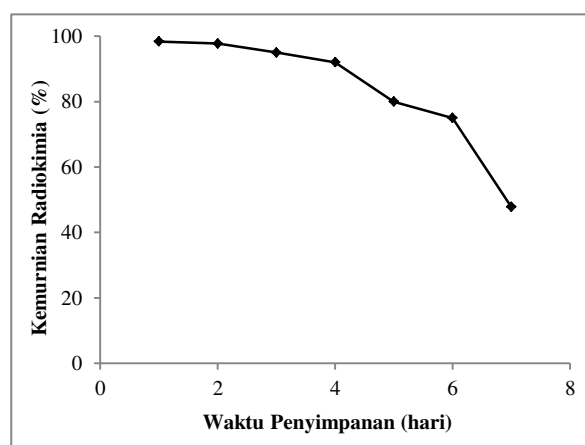
Jika dibandingkan antara kit cair yang disimpan dalam deep freezer dengan kit cair yang disimpan dalam freezer, ternyata kit cair yang disimpan dalam deep freezer lebih stabil. Hal ini disebabkan semakin tinggi suhu reaksi, maka laju reaksi kimianya semakin besar, sehingga reaksi kimia yang terjadi pada senyawa yang disimpan dalam freezer lebih cepat dibandingkan dengan reaksi kimia senyawa yang disimpan dalam deep freezer



Gambar 3. Stabilitas Kemurnian Radiokimia Kit Cair Tetrofosmin penyimpanan dalam freezer.

Oleh karena itu Sn^{+2} yang terkandung dalam kit cair kemungkinan untuk teroksidasi menjadi Sn^{+4} lebih cepat pada kit cair yang disimpan dalam freezer daripada dalam deep freezer. Akibat dari Sn^{+2} yang teroksidasi menjadi Sn^{+4} , maka reduktor yang berupa senyawa $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang terdapat dalam kit cair tersebut tidak dapat berfungsi mereduksi teknesium-99m bilangan oksidasi +7 menjadi +5, akibatnya proses penandaan kit cair tetrofosmin dengan teknesium-99m tidak berjalan dengan sempurna.¹⁵

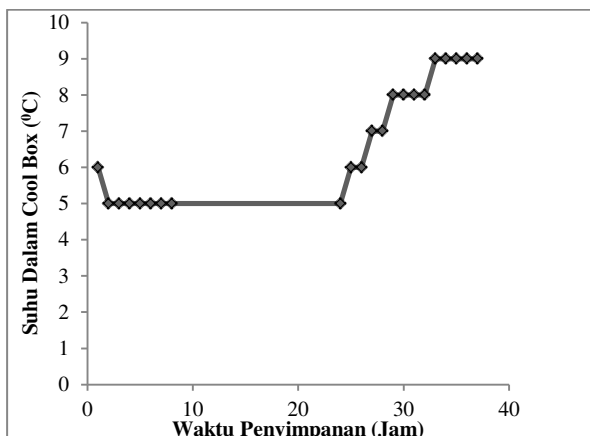
Untuk penyimpanan kit cair tetrofosmin dalam refrigerator, hasil selengkapnya ditunjukkan pada Gambar 4 berikut ini:



Gambar 4. Stabilitas Kemurnian Radiokimia Kit Cair Tetrofosmin pada Penyimpanan dalam Refrigerator

Kit cair yang disimpan dalam *refrigerator* mempunyai stabilitas kemurnian radiokimia sampai dengan hari ke 4. Secara fisik ada perbedaan wujud yaitu kit cair yang disimpan dalam *freezer* dan *deep freezer* berupa padat atau beku sedangkan kit cair yang disimpan dalam *refrigerator* berupa cairan atau larutan. Sebagaimana pembahasan sebelumnya pada makalah ini, bahwa wujud zat mempengaruhi kecepatan reaksi kimia suatu senyawa. Demikian juga dengan wujud kit cair tetrofosmin yang berupa larutan menyebabkan kandungan Sn^{+2} yang ada pada kit cair tetrofosmin ini lebih cepat teroksidasi menjadi Sn^{+4} karena tumbukan antara molekul dalam kit cair ini terjadi lebih besar dibandingkan dalam keadaan padat. Dengan demikian jika ditandai teknesium-99m maka kekuatan Sn^{+2} untuk mereduksi teknesium-99m dengan bilangan oksidasi +7 menjadi teknesium bilangan oksidasi +5 telah berkurang.¹⁷

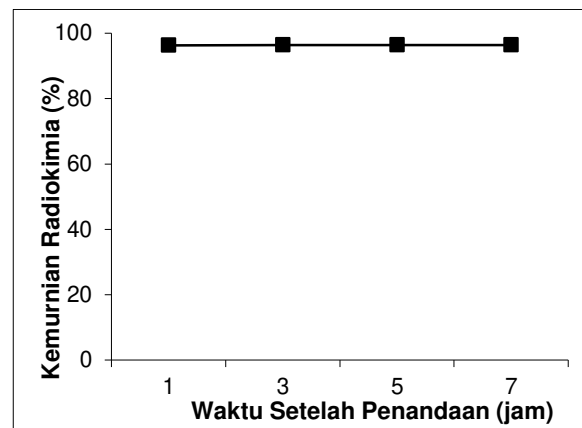
Pada saat distribusi ke rumah sakit, sebagaimana biasanya kit radiofarmaka dibawa menggunakan *cool box* yang suhunya dijaga dengan jel es. Hal ini sangat penting karena stabilitas kit cair tetrofosmin sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungannya. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji stabilitas suhu *cool box*, yang telah diisi jel es dan hasil lengkapnya seperti ditunjukkan pada Gambar 5 berikut ini:



Gambar 5. Stabilitas Suhu Dalam Cool Box Untuk Penyimpanan Kit Cair Tetrofosmin

Berdasarkan Gambar 5 ditunjukkan bahwa kestabilan suhu *cool box* yang sesuai dengan suhu *refrigerator* ($2-6^{\circ}\text{C}$) hanya bertahan sampai 24 jam. Jika kita mengacu pada hasil uji stabilitas kit cair yang disimpan dalam *refrigerator* radiokimianya stabil, dan suhu *cool box* sama dengan *refrigerator* maka sangat memungkinkan kit cair yang disimpan dalam *cool box* juga akan stabil. Namun karena suhu *cool box* hanya bertahan 24 jam, maka waktu pengiriman tidak boleh melebihi 24 jam dan setelah ditempat tujuan harus segera dipindahkan ke dalam *freezer*.

Selain uji stabilitas kit cair sebelum penandaan, pada penelitian ini juga telah dilakukan uji stabilitas kit cair tetrofosmin setelah penandaan menggunakan teknesium-99m dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 6 berikut:



Gambar 6. Stabilitas Kemurnian Radiokimia Kit Cair Tetrofosmin Setelah Penandaan

Dari Gambar 6 ditunjukkan bahwa hasil penandaan kit cair tetrofosmin yang telah ditandai dengan teknesium-99m sampai dengan jam ke 7 tetap stabil. Hal ini terjadi karena kuatnya ikatan kompleks kationik antara kit radiofarmaka tetrofosmin sebagai ligan dengan teknesium sebagai logamnya.^{16,18}

Pada uji stabilitas kit cair tetrofosmin setelah penandaan, pengujian dilakukan hanya sampai pada jam ke 7 saja, karena waktu pelayanan di rumah sakit biasanya lebih kurang 7 jam.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dua uji stabilitas kit cair tetrafosmin yang dilakukan yaitu uji stabilitas penyimpanan dan uji stabilitas setelah penandaan, dapat disimpulkan makin rendah suhu penyimpanan makin panjang masa kadaluarsanya, dan stabilitas setelah penandaan masih stabil sampai dengan jam ke 7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Bapak Rohadi Awaludin, Kepala Bidang Teknologi Radiofarmaka yang telah mendukung penelitian ini dan Bapak Maskur yang telah memberikan masukan dalam penulisan makalah.

DAFTAR RUJUKAN

1. Arceuil HED. Technetium-99m tetrafosmin: Use for myocardial perfusion imaging in the detection of coronary artery disease. Dove Press Journal: Report in Medicinal Imaging. 11 August 2010:1–10.
2. Wai MC, Ottenhof MJ, Boiten HJ, Valkema R, Van Domburg RT, Schinkel AF. Prediction of 8-year cardiovascular outcomes in patients with systemic arterial hypertension: Value of stress 99mTc-tetrafosmin myocardial perfusion imaging in a high-risk cohort. *J Nucl Cardiol*. 2013 Dec;20(6):1030–40.
3. Arun S, Mittal BR, Bhattacharya A Rohit MK. Comparison of Tc-99m tetrafosmin myocardial perfusion scintigraphy and exercise F18-FDG imaging in patients with coronary artery disease. *J Nucl Cardiol*. 2015 Feb;22(1):98–110.
4. Vrachimis A, Hermann S, Máthé D, Schober O, Schäfers M. Systematic evaluation of ^{99m}Tc-tetrafosmin versus ^{99m}Tc-sestamibi to study murine myocardial perfusion in small animal SPECT/CT. *EJNMMI Res*. 2012;2(1):2-21.
5. Valotassiou V, Leondi A, Angelidis G, Psimadas D, Georgoulas P. SPECT and PET Imaging of Meningiomas. *Sci World J*. 2012;2012:1–11.
6. Ahlman M, Nietert PJ, Wahlquist AE, Serguson JM, Berry MW, Suranyi P, et al. A single CT for attenuation correction of both rest and stress SPECT myocardial perfusion imaging: A retrospective feasibility study. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(1):148–55.
7. Fathala A, Al Amer A, Shukri M, Abouzied MM, Alsuqair A. The relationship between coronary artery calcification and myocardial perfusion in asymptomatic women. *Ann Saudi Med*. 2012 Jul-Aug;32(4):378–83.
8. Alexiou GA, Zikou A, Tsiouris S, Goussia A, Kosta P, Papadopoulos A, et al. Comparison of diffusion tensor, dynamic susceptibility contrast MRI and 99mTc-Tetrafosmin brain SPECT for the detection of recurrent high-grade glioma. *Magn Reson Imaging* [Internet]. Elsevier Inc.; 2014 Sept;32(7):854–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mri.2014.04.013>
9. Alexiou G.A, Xourgia X, Vartholomatos E, Tsiouris S, Kalef-Ezra J a., Fotopoulos AD, et al. Comparison of ^{99m}Tc-Tetrafosmin and ^{99m}Tc-Sestamibi Uptake in Glioma Cell Lines: The Role of P-Glycoprotein Expression. *Int J Mol Imaging* [Internet]. 2014;2014:1–5.
10. Alexiou GA, Tsiouris S, Voulgaris S, Kyritis AP, Fotopoulos AD. Imaging Meningiomas With 99mTc-Tetrafosmin SPECT. *Neurosurgery*. 2012;70(4):1055-6.
11. Alexiou G., Tsiouris S, Bougias H, Voulgaris S, Fotopoulos A. Current concept in glioblastoma imaging. *Chinese J Contemp Neurol Neurosurg*. 2012 Dec;12(6):641-4.
12. Silov G, Taşdemir A, Özdal A, Erdoğan Z, Başbuğ EM, Arslan AE, et al. Radionuclide imaging for breast cancer diagnosis and management: Is technetium-99m tetrafosmin uptake related to the grade of malignancy? *Hell J Nucl Med*. 2014 May-Aug;17(2):87–9.
13. Sioka C, Exarchopoulos T, Tasiou I, Tzima E, Fotou N, Capizzello A, et al. Myocardial perfusion imaging with 99 m Tc - tetrafosmin SPECT in breast cancer patients that received postoperative radiotherapy : a case- control study. *Radiat Oncol*. 2011 Nov;6(151):1–7.
14. Widyastuti, Setyowati S, Rustendi CT, Yunilda. Preparasi kit cair tetrafosmin untuk ueteksi kanker dan perfusi jantung. *Jurnal Radioisotop dan Radiofarmaka*. 2012;15 (2):70-8.
15. International Atomic Energy Agency. Technetium-99m radiopharmaceuticals: Manufacture of kits. Technical Report Series No.466. Vienna. Printed by the IAEA in Austria. August 2008.

16. Kluba CA, Mindt TL. Click-to-chelate: Development of technetium and rhenium-tricarbonyl labeled radio-pharmaceuticals. *Molecules*. 2013;18(3): 3206–26.
17. El-Sabagh MF, Motaleb MA, El-Kolaly MT, Abdel-Aziz LM, Lashine EM. Preparation and Biological Evaluation of ^{99m}Tc -TMPP as a novel Agent for Tumor Diagnosis. *International Journal of Advanced Research*. 2015;3(10):362-70.
18. Fernandes C, Maria L, Gano L, Santos IC, Santos I, Paulo A. Re(I) and ^{99m}Tc (I) tricarbonyl complexes with ether-containing pyrazolyl-based chelators: Chemistry, biodistribution and metabolism. *Jurnal of Organometallic Chemistry*. 2013:1-11