

## PENGGUNAAN ION $\text{Cu}^{2+}$ PADA PENANDAAN ASAM ORTO-iodohipurat DENGAN $\text{Na}^{131}\text{I}$

Duyeh Setiawan, A.Hanafiah Ws.  
Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

### ABSTRAK

PENGGUNAAN ION  $\text{Cu}^{2+}$  PADA PENANDAAN ASAM ORTO-iodohipurat DENGAN  $\text{Na}^{131}\text{I}$ . Telah diterapkan suatu metode baru pada pembuatan orto-iodohipurat bertanda  $^{131}\text{I}$  melalui reaksi penukaran antara asam orto-iodohipurat dan natrium radioiodida ( $\text{Na}^{131}\text{I}$ ). Penambahan ion  $\text{Cu}^{2+}$ , perubahan temperatur serta lamanya pemanasan merupakan parameter penting yang mempengaruhi rendemen penandaan. Kondisi optimal dengan rendemen di atas 95% dicapai pada penggunaan 25 mg asam orto-iodohipurat, 0,5 mg  $\text{CuSO}_4$  dan pemanasan pada  $140^\circ\text{C}$  selama 3 menit. Uji kemurnian dilakukan dengan elektroforesis kertas dan HPLC, sedangkan uji biologi dilakukan dengan penyidikan pada tikus percobaan.

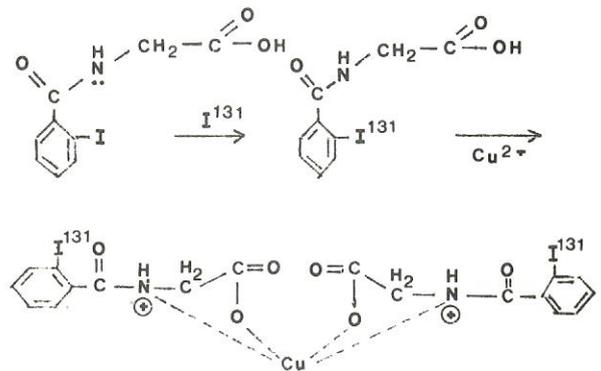
### ABSTRACT

APPLICATION OF  $\text{Cu}^{2+}$  IN LABELING OF ORTHO-iodohipuric ACID BY  $\text{Na}^{131}\text{I}$ . A new method has been applied to prepare orto-iodohipuric acid- $^{131}\text{I}$  by direct exchange reaction of hippuric acid and sodium radioiodide ( $\text{Na}^{131}\text{I}$ ). The addition of  $\text{Cu}^{2+}$  ion, temperature and the heating time are very important parameters which influenced the labelling yield. The optimal condition with the labelling yield of more than 95% was obtained by using 25 mg of orto-iodohipuric acid, 0,5 mg of  $\text{CuSO}_4$  and the heating time 3 minutes at  $140^\circ\text{C}$ . The purity test has been done by using the paper electrophoresis and HPLC, while the biological evaluation has been carried out by imaging method with rats as experimental animals.

### PENDAHULUAN

Produksi rutin pembuatan orto-iodohipurat bertanda radioiodida ( $^{131}\text{I}$ ) di PPTN- BATAN sampai saat ini diproses menggunakan cara pemanasan dalam sistem otoklaf pada temperatur  $115 - 120^\circ\text{C}$  selama 2-3 jam dan kemudian dibiarkan selama 24 jam pada temperatur kamar. Pemurnian dilakukan dengan melewati sediaan melalui kolom penukar anion  $\text{Cl}^-$  (Dowex). Dengan sistem ini, rendemen yang diperoleh hanya berkisar 50-60 % (1). Mengingat orto-iodohipurat bertanda radioiodida- ( $^{131}\text{I}$ ) telah dikenal sejak lama dan masih digunakan sebagai sediaan radiofarmasi terpilih untuk mempelajari dinamika fungsi ginjal (2), maka atas dasar tersebut diperlukan suatu cara lain agar diperoleh hasil penandaan lebih tinggi dengan waktu yang singkat.

Menurut Hawkins dkk. (2) penambahan garam  $\text{CuSO}_4$  pada media reaksi dapat mempercepat waktu penandaan. Disamping itu, perubahan temperatur serta lamanya pemanasan pada saat pembuatan, juga sangat mempengaruhi rendemen penandaan. Bertitik tolak dari hal tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai penggunaan ion  $\text{Cu}^{2+}$  pada penandaan asam orto-iodohipurat dengan  $\text{Na}^{131}\text{I}$ .



Dengan mempelajari pengaruh parameter-parameter tersebut hasil penandaan diharapkan meningkat dengan waktu pembuatan lebih singkat dibandingkan dengan proses rutin yang dikerjakan selama ini.

### BAHAN DAN PERALATAN

Radioiodida- ( $^{131}\text{I}$ ) produksi PPTN dalam bentuk larutan  $\text{Na}^{131}\text{I}$  dengan kemurnian radiokimia di atas 95% dan kemurnian radionuklida di atas 99%. asam orto-iodohipurat,  $\text{CuSO}_4$  anhidrat, metanol, etanol,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , amonium

asetat,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaOH}$  semuanya buatan E. Merck dengan tingkat kemurnian analitik. Keaktifan  $^{131}\text{I}$  ditentukan dengan pencacah Dose calibrator dan pemeriksaan kemurnian radio-kimia dilakukan dengan elektroforesis kertas serta HPLC.

## TATAKERJA

### 1. Prosedur umum

Ke dalam beberapa vial yang berisi 25 mg asam o-iodohipurat masing-masing dilarutkan dengan 1 ml etanol 50 %, ditambahkan berturut-turut 0,1 ml larutan yang mengandung  $\text{CuSO}_4$  dengan konsentrasi bervariasi. Kemudian ke dalam masing-masing vial tersebut ditambahkan 1 ml larutan dapar asetat pH 4 dan 1-2 mCi larutan  $\text{Na}^{131}\text{I}$ . Selanjutnya dipanaskan di atas penangas parafin dengan variasi temperatur dan interval waktu pemanasan. Setelah dingin lalu ditambahkan 1 ml larutan dapar fosfat pH 6-8. Hipuran yang dihasilkan dilewatkan melalui kolom penukar anion  $\text{Cl}^-$  (Dowex) dan disaring dengan Millipore 0,22  $\mu\text{m}$ . Selanjutnya rendemen penandaan dihitung serta diperiksa kemurnian radiokimianya.

### 2. Pengaruh penambahan ion $\text{Cu}^{2+}$ pada penandaan.

Dengan menggunakan variasi larutan yang mengandung 0,0; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5; mg  $\text{Cu}^{2+}$ . Dilakukan percobaan yang sama seperti di atas. Hasil penandaan tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh ion  $\text{Cu}^{2+}$  pada penandaan

Percobaan	Kons. $\text{CuSO}_4$ (mg)	Rendemen (%)
1	0,0	11,22
2	0,3	86,06
3	0,5	94,66
4	0,7	94,15
5	0,9	92,71
6	1,1	94,27
7	1,3	93,82
8	1,5	94,18

### 3. Pengaruh pemanasan pada penandaan.

Untuk melihat pengaruh pemanasan terhadap penandaan dilakukan variasi temperatur mulai dari 110-180°C dengan selang temperatur 10°C.

Percobaan dilakukan seperti di atas. Hasil penandaan tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh pemanasan pada penandaan

Percobaan	Suhu (°C)	Rendemen (%)
1	110	82,13
2	120	80,65
3	130	85,06
4	140	97,62
5	150	93,59
6	160	85,50
7	170	58,66
8	180	54,73

### 4. Pengaruh lama pemanasan pada penandaan.

Percobaan dilakukan sama seperti di atas dengan interval waktu pemanasan mulai dari tanpa pemanasan; 1; 2; 3; 4; 5 menit. Hasil penandaan tertera pada Tabel 3.

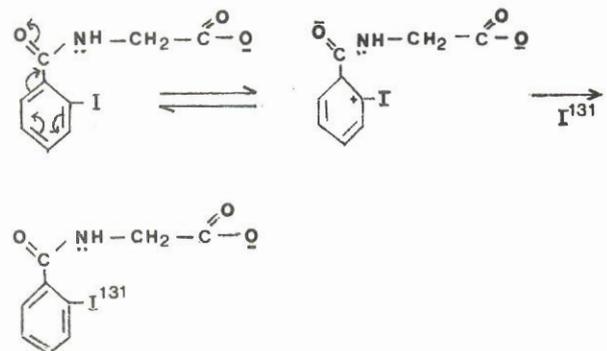
Tabel 3. Pengaruh lama pemanasan pada penandaan

Percobaan	Lama pemanasan (menit)	Rendemen (%)
1	tanpa pemanasan	20,27
2	1,0	86,62
3	2,0	90,55
4	3,0	95,75
5	4,0	95,64
6	5,0	95,52

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa bertanda asam orto-iodohipurat- $^{131}\text{I}$  dibuat berdasarkan reaksi pertukaran isotopik atau reaksi substitusi antara iodium radioaktif dengan iodium stabil.

Kelangsungan terjadinya reaksi tergantung dari kepositifan pusat reaksi, makin positif pusat reaksi maka reaksi akan berjalan dengan cepat (3).

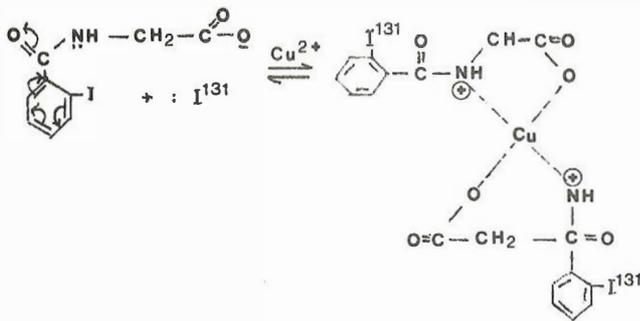


Dilihat dari struktur o-iodohipurat, pusat reaksi akan lebih positif akibat terjadinya mesomeri ke arah luar sistem, sehingga akan mudah diserang oleh nukleofil, dalam hal ini yang bertindak sebagai nukleofil adalah  $^{131}\text{I}$ .

Tetapi penyerangan akan sangat dipengaruhi oleh adanya pasangan elektron bebas dari gugus  $-\text{NH}-$  pada gugus karbonil, sehingga akan menghalangi proses mesomeri yang harus terjadi.

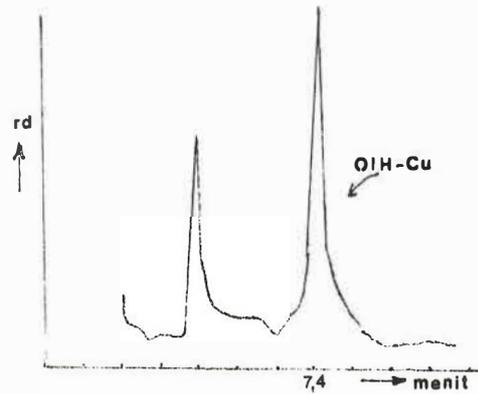
Untuk menetralkan elektron bebas tersebut supaya mesomeri tidak terhalang, dilakukan pembuatan ion kompleks dengan ion  $\text{Cu}^{2+}$  yaitu berdasarkan bahwa ion  $\text{Cu}^{2+}$  mempunyai valensi 2 dengan bilangan koordinasi 4 sehingga membentuk senyawa kompleks tetradentat dengan ion orto-iodohipurat.

Mekanisme reaksi substitusi:

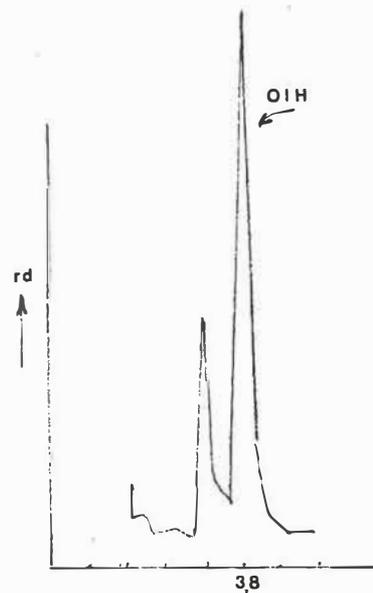


Dari mekanisme reaksi di atas, penambahan ion  $\text{Cu}^{2+}$  akan mempercepat terjadinya reaksi dengan 2 atom iodium stabil digantikan oleh 2 atom iodium radioaktif. Penambahan  $\text{CuSO}_4$  sebanyak 0,5 mg memberikan hasil penandaan maksimum sekitar 94,66 % (Tabel 1). Hasil pengukuran dengan HPLC menunjukkan perbedaan puncak kromatogram antara kompleks Cu-orto-iodohipurat yang mempunyai waktu retensi 7,4 menit (Gambar 1a) dan orto-iodohipurat mempunyai waktu retensi 3,8 menit (Gambar 1b). Profil kromatogram hasil elektroforesis tertera pada gambar 2.

Mekanisme terbentuknya reaksi di pengaruhi oleh temperatur. Apabila temperatur di atas  $150^\circ\text{C}$  mengakibatkan terjadinya pengkristalan pada sistem, dan rendemen mengalami penurunan (Tabel 2). Pengaruh lama pemanasan pada penandaan tidak memberikan perbedaan yang nyata (Tabel 3).



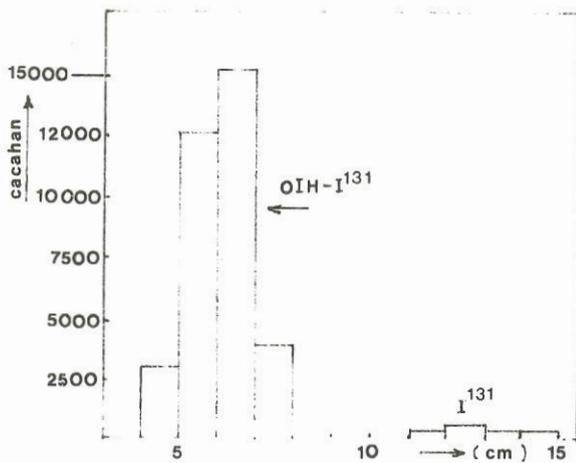
Gambar 1a. Kromatogram Cu-ortoiodohipurat.



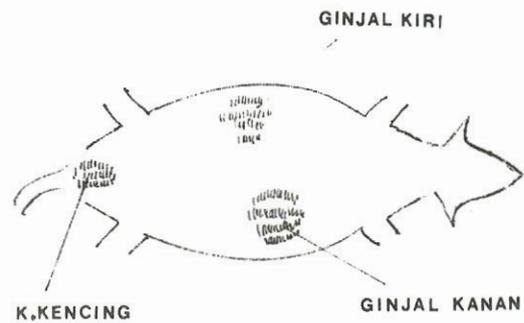
Gambar 1b. Kromatogram orto-iodohipurat.

Keterangan

Kondisi HPLC	
Kolom	: Bondex 10-C18
Fase gerak	: $\text{NH}_4\text{Ac}$ pH 2,5/Metanol=80:20
Kecepatan alir	: 1 ml/menit
Kecepatan kertas	: 0,5 cm/menit
Detektor	: UV 254 nm
Sensitivitas	: 0,05 AUFS
Injeksi	: 20 $\mu\text{l}$
rd	: respon detektor
Cu-OIH	: Cu-orto-iodohipuran



Gambar 2. Profil kromatogram hasil elektroforesis.



Gambar 3. Hasil penyidikan dari Cu-o- Iodohipurat  $^{131}\text{I}$  pada tikus.

### KESIMPULAN

Telah diterapkan suatu metode baru pada pembuatan orto-iIodohipuran bertanda  $^{131}\text{I}$  melalui reaksi pertukaran antara asam o-iodohipurat dan Natrium radioiodida ( $^{131}\text{I}$ ). Kondisi optimal dengan rendemen di atas 95 %

dicapai pada penggunaan 25 mg asam orto-iodohipurat, 0,5 mg  $\text{CuSO}_4$  pada pemanasan  $140^\circ\text{C}$  selama 3 menit.

Uji biologi dilakukan dengan penyidikan pada tikus percobaan dengan hasil yang memuaskan terakumulasi di ginjal (Gambar 3).

### DAFTAR PUSTAKA

1. Sukijati, Dj. dkk., Beberapa parameter yang mempengaruhi penandaan Na-O-Iodohippurat dengan NaI, Proceeding, Bandung (1982).
2. Hawkins, L. A., Elliott, A. T., Dyke, L. J., and Barker, F.A., Quantitative Method For The Production of  $^{131}\text{I}$ -Hippuran, Department of Nuclear Medicine, St. Bartholomeus Hospital, London (1974).
3. March, J., Advanced Organic Chemistry, Reaction Mechanism and Structure 2<sup>nd</sup>. ed., McGraw Hill, Kogakusha Ltd. Tokyo, (1968) 584-595.