

## UJI TOKSISITAS AKUT RADIOFARMAKA $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Im Halimah, Yana Sumpena, Rizky Juwita Sugiharti, Misyetti

Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri – BATAN, Jl. Tamansari No.71, Bandung, 40132  
e-mail: iimhalimah@batan-bdg.go.id

### ABSTRAK

**UJI TOKSISITAS AKUT RADIOFARMAKA  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP PADA MENCIT (*Mus musculus*).** Radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP adalah sediaan berbentuk senyawa kompleks bifungsional antara CTMP dengan radionuklida teknesium-99m dan digunakan sebagai penyidik kanker tulang. Telah dilakukan uji toksisitas akut radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP dengan menggunakan hewan percobaan mencit putih jantan. Uji toksisitas akut dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek samping radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP dengan cara mengamati kondisi hewan percobaan selama 2 – 6 minggu. Hasil yang diperoleh menunjukkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP sebanyak 4,15 mCi – 15,62 mCi yang disuntikkan secara intravena tidak menimbulkan kematian pada mencit. Dosis tersebut setara dengan dosis tunggal yang diberikan pada manusia dengan berat badan normal (70 kg) sebesar 1,61 Ci – 6,06 Ci. Peningkatan dosis radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP yang diberikan pada beberapa kelompok mencit tidak menyebabkan satu hewan pun mati, sehingga nilai  $LD_{50}$  belum dapat ditentukan.

**Kata kunci:** penyidik tulang,  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP, toksisitas akut

### ABSTRACT

**ACUTE TOXICITY STUDY OF  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP RADIOPHARMACEUTICAL IN MICE (*Mus musculus*).** The  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP radiopharmaceutical is a bifunctional complex compound between CTMP and technetium-99m radionuclide that used for bone cancer seeking. Acute toxicity study of  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP radiopharmaceutical has been carried out by using white male mice. The aim of acute toxicity test was to comprehend the adverse effect of  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP radiopharmaceutical on mice during 2 – 6 weeks post injection. The results indicated that the injection intravenously  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP radiopharmaceutical at a dose of 4,15 mCi – 15.62 mCi did not cause death to mice. This dose was equal with single dose which administered to human with normal body weight (70 kg) i.e. about 1,61 Ci – 6,06 Ci. The increasing injection doses of  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP radiopharmaceutical into several groups of mice did not cause death to mice, so the value of  $LD_{50}$  can not be determine.

**Key words:** bone imaging,  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP, acute toxicity

## 1 PENDAHULUAN

Kanker tulang metastasis adalah suatu penyakit yang merupakan komplikasi utama dari sejumlah penyakit kanker seperti kanker prostat, payudara, paru-paru, ginjal, dan tiroid. Meskipun kanker tulang metastasis secara klinis bersifat *silent*, penyakit tersebut dapat berlanjut hingga menimbulkan nyeri pada

tulang, retak/patah tulang, dan hiperkalsemia [1].

*Bone scintigraphy* (pencitraan tulang) merupakan pemeriksaan yang telah lama digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis dan mengikuti perjalanan penyakit. Pencitraan tulang dianggap sebagai pemeriksaan terpilih untuk deteksi dini proses metastase tumor ke tulang [2].

CTMP (1,4,8,11-tetraazasiklo tetradecil-1,4,8,11-tetrametilenfosfonat) merupakan senyawa bifungsional karena memiliki empat gugus fosfonat dan empat gugus amin [3]. Gugus amin tersebut merupakan sisi untuk terikat dengan atom Tc sehingga afinitas tetrafosfonat terhadap tulang lebih tinggi karena adanya gugus fosfonat dalam bentuk bebas yang tidak terikat dengan atom Tc. Penandaan CTMP dengan radionuklida  $^{99m}\text{Tc}$  akan membentuk suatu senyawa kompleks bifungsional, yang diharapkan memiliki afinitas terhadap tulang yang lebih baik, dibandingkan senyawa pirofosfat maupun difosfonat [4].

Seperti halnya obat-obatan lain, sebelum suatu radiofarmaka disetujui penggunaannya untuk manusia, perlu diketahui efek toksik dan dosis yang aman untuk digunakan. Efek toksik pemberian suatu radiofarmaka meliputi perubahan histologi atau fungsi fisiologis dari organ-organ yang berbeda di dalam tubuh ataupun terjadinya kematian [5].

Senyawa bertanda  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP sebagai radiofarmaka baru untuk penyidik tulang, perlu diketahui efek toksik serta dosis yang aman dalam penggunaannya. Untuk itulah dilakukan uji toksisitas akut, yang bertujuan untuk mengetahui efek samping radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP dengan cara mengamati kondisi hewan percobaan selama 2 – 6 minggu [5]. Di samping itu, uji toksisitas akut juga dilakukan untuk menentukan risiko overdosis, yang umumnya dilakukan pada dua spesies hewan uji, yaitu mencit dan tikus [6].

Pada penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data mengenai dosis maksimal  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP yang dapat diberikan pada hewan uji, sehingga dapat diketahui juga dosis maksimalnya terhadap manusia.

## 2 TATA KERJA

### 2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit kering radiofarmaka CTMP buatan PTNBR – BATAN Bandung, larutan radionuklida  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetat (PT. BATAN Teknologi), aseton (Merck), NaCl (IPHA), dan kertas Whatman-3MM untuk kromatografi [4]. Peralatan yang digunakan antara lain *syringe* ukuran 1 mL untuk menyuntikkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP, serta *Single Channel Analyzer* (Ortec) dan *Dose Calibrator* (Victoreen) sebagai pencacah

radioaktivitas. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat antara 20 – 30 g.

### 2.2 Penyiapan Radiofarmaka $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP

Sebanyak 0,5 – 1,0 mL larutan radioisotop  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  dengan aktivitas 2 – 5 mCi dimasukkan ke dalam vial yang berisi 0,5 mg CTMP dan 0,1 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Campuran tersebut kemudian dikocok sampai sempurna dan dibiarkan pada suhu mendidih (minimal  $90^\circ\text{C}$ ) selama 15 menit, sehingga dihasilkan produk sediaan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP.

### 2.3 Penentuan Kemurnian Radiokimia $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP

Kemurnian radiokimia sediaan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP ditentukan dengan metode kromatografi menggunakan kertas Whatman-3MM sebagai fasa diam serta aseton dan NaCl sebagai fasa gerak. Aseton digunakan untuk memisahkan pengotor  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetat bebas, sedangkan NaCl digunakan untuk memisahkan pengotor  $^{99m}\text{Tc}$ -tereduksi. Setiap potongan Whatman-3MM dicacah menggunakan *Single Channel Analyzer* (alat pencacah saluran tunggal).

### 2.4 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dilakukan seperti halnya prosedur uji toksisitas yang tercantum dalam Farmakope Indonesia, yaitu dengan menyuntikkan sebanyak 0,5 mL radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP secara *intra vena* kepada 5 ekor mencit. Sediaan uji dinyatakan memenuhi syarat, jika tidak seekor mencit pun mati dalam waktu 24 jam [7,8]. Untuk pengujian toksisitas akut dilakukan pengamatan selama 2 – 6 minggu terhadap hewan uji (dalam hal ini mencit putih jantan) yang telah disuntikkan 0,5 mL radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP secara *intra vena* [5].

Uji toksisitas akut dilakukan dengan menyuntikkan sediaan uji sebanyak 0,5 mL secara intravena kepada beberapa kelompok mencit ( $n=5$ ), dimulai dengan dosis 4,15 mCi kemudian ditingkatkan antara 1,05 – 1,6 kali lipatnya secara berkesinambungan (lihat Tabel 2) hingga diharapkan didapati hewan percobaan yang menunjukkan perilaku abnormal [9].

### 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data yang telah diperoleh dalam penelitian sebelumnya, radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP hasil penandaan memberikan kemurnian radiokimia >95% dan proses penandaan dapat dilakukan pada pH 6 yaitu mendekati pH darah (7,4) sehingga dapat langsung diinjeksikan [4]. Kemurnian radiokimia untuk radiofarmaka penyidik tulang ini sudah memenuhi persyaratan farmakope Inggris yang mensyaratkan minimal 95% dan farmakope Amerika yang mensyaratkan minimal 90% [8,10].

Untuk memperoleh efek farmakologis yang setara dari sebuah radiofarmaka terhadap setiap spesies hewan percobaan, diperlukan data mengenai penggunaan dosis secara kuantitatif. Hal demikian sangat diperlukan bila obat tersebut akan dipakai pada manusia, dan pendekatan terbaik adalah dengan menggunakan perbandingan perbandingan luas permukaan tubuh (Tabel 1). Namun demikian yang paling praktis dan banyak digunakan adalah cara perhitungan berdasar kan bobot badan [11].

**Tabel 1. Perbandingan Luas Permukaan Tubuh Hewan Percobaan untuk Konversi Dosis**

	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Kelinci (1,5 kg)	Manusia (70 kg)
Mencit (20 g)	1,0	7,0	27,8	387,9
Tikus (200 g)	0,14	1,0	3,3	56,0
Kelinci (1,5 kg)	0,04	0,25	1,0	14,2
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,07	1,0

Faktor konversi manusia ke mencit adalah sebesar 0,0026, dan dosis yang direncanakan akan diberikan pada manusia normal (70 kg berat badan) adalah sebesar 15-20 mCi/1,0 mL.

Perhitungan konversi:

$$\frac{20 \text{ mCi}}{1,0 \text{ mL}} \times 0,0026 = 0,052 \text{ mCi} \sim 52 \mu\text{Ci}/1,0 \text{ mL}$$

Volume maksimal untuk penyuntikan *intra vena* mencit adalah 0,5 mL. Sehingga

dosis awal untuk uji toksisitas terhadap mencit adalah 26  $\mu\text{Ci}/0,5 \text{ mL}$ .

Uji toksisitas akut ( $\text{LD}_{50}$ ) dilakukan dengan menyuntikkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP pada beberapa kelompok mencit dengan dosis yang ditingkatkan mulai 4,15 mCi sampai dengan 15,62 mCi, yaitu 159,61 kali sampai dengan 600,96 kali dosis awal, seperti tertera pada Tabel 2. Berdasarkan hasil pengamatan, hewan tetap menunjukkan keadaan yang normal dan hidup, meskipun diberikan dosis yang semakin besar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP tidak bersifat toksik dan tidak menimbulkan kematian pada mencit meskipun dosisnya ditingkatkan hingga 600,96 kali dosis awal.

Dari hasil percobaan ini dapat diketahui bahwa hingga dosis 15,62 mCi/0,5 mL masih aman diberikan pada mencit. Jika dosis tersebut dikalikan dengan faktor konversi pada manusia, yaitu 387,9, maka dosis tersebut adalah sama dengan 6,06 Ci/0,5 mL pada manusia. Belum diperoleh data yang menunjukkan abnormalitas pada mencit akibat pemberian dosis tertentu, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas akut kembali untuk mengetahui batas aman pemberian dosis. Selain itu perlu dilakukan uji toksisitas secara menyeluruh yang meliputi pengamatan terhadap anatomi hewan uji.

### 4 KESIMPULAN

Hasil percobaan memperlihatkan bahwa radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP sebagai penyidik tulang dapat digunakan pada dosis 20 mCi sampai 6,06 Ci dengan volume penyuntikkan secara *intra vena* yang lazim digunakan pada manusia antara 0,5 – 1,0 mL. Nilai  $\text{LD}_{50}$  belum dapat ditentukan, sehingga perlu dilakukan uji toksisitas akut kembali dengan secara lebih akurat dan komprehensif. Dari hasil beberapa pengujian tersebut diharapkan radiofarmaka  $^{99m}\text{Tc}$ -CTMP merupakan radiofarmaka alternatif untuk penyidik kanker tulang.

### 5 TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Sdr. Iswahyudi, Sdr. Ahmad Sidik, Sdri. Yetti Suryati, Sdri. Prina Puspa Kania dan Sdr. Epy Isabela, yang telah membantu kami dengan sepenuh hati untuk menyelesaikan penelitian ini.

**Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Akut dengan Menyuntikkan Radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-CTMP pada Hewan Uji dengan Dosis yang Bervariasi antara 159,61 – 600,96 kali Dosis Awal sebesar 26  $\mu$ Ci/0,5 mL**

No. Hewan	Dosis/0,5 mL /ekor mencit	Peningkatan Dosis	Sesaat setelah Diinjeksi	Setelah 6 minggu
1	4,15 mCi	159,61 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	6,66 mCi	256,14 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	8 mCi	307,7 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	9,5 mCi	365,38 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	10 mCi	384,62 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	14,28 mCi	549,44 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup
1	15,62 mCi	600,96 kali	Hewan normal	Hewan hidup
2			Hewan normal	Hewan hidup
3			Hewan normal	Hewan hidup
4			Hewan normal	Hewan hidup
5			Hewan normal	Hewan hidup

## 6 DAFTAR PUSTAKA

1. **NEETA P.T., BATRAKI M., and DIVGI C.R.,** Radiopharmaceutical therapy for palliation of bone pain from osseous metastases, *J. Nucl. Med.* **45**(8)(2004) 1358-1365.
2. **MASJHUR, J.S. dan KARTAMIHARDJA, A.H.S.,** "Buku Pedoman Tatalaksana Diagnostik dan Terapi Kedokteran Nuklir", RSUP Dr. Hasan Sadikin, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung (1999).
3. **KOTHARI, K., SAMUEL, G., BANERJEE, S., UNNI, P.R., and SARMA, H.D.,** <sup>186</sup>Re-1,2,8,11-tetraazacyclotetradecyl -1,2,8,11-tetramethylene phosphonic acid: A novel agent for possible use in metastatic bone-pain palliation, *Nucl. Med. and Biol.* **28**(2001)709-717.
4. **MISYETTI dan DARUWATI, I.,** Penandaan CTMP dengan teknesium-99m untuk radiofarmaka penyidik kanker tulang, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia* **9**(2)(2008)79-88.
5. **SAHA, G.B.,** "Fundamentals of Nuclear Pharmacy", 2<sup>nd</sup> ed, Springer-Verlag, New York (1984).
6. **MARZIN, D.,** Preclinical evaluation of radiopharmaceutical toxicological

- prerequisites, Nuclear Medicine & Biology  
25(1998)733 – 736.
7. **DEPARTEMEN KESEHATAN RI**, Farmakope Indonesia, Ed. IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta (1995).
  8. **BRITISH PHARMACOPOEIA**, crown, 2003, available on cd.
  9. **TUBIS M., WOLF W.**, “Radiopharmacy, A Wiley Interscience publication”, New York, (1976).
  10. **THE UNITED STATE PHARMACOPOEIA, 2002**, available:<http://nuclearpharmacy.uams.edu/procl.htm>.
  11. **LAURENCE, BACHARACH, A.L.**, Evaluation of Drug Activities Pharmacometris”, (1964).