

PRODUCTION OF  $^{11}\text{C}$ -METHIONINE BY CYCLOTRON AVF JAERI*Produksi  $^{11}\text{C}$ -Methionin dengan Siklotron AVF Jaeri*

Sri Hastini

Center for Development of Radioisotope and Radiopharmaceutical,  
National Nuclear Energy Agency, Kawasan PUSPIPTEK Serpong, Tangerang, 15314

Ishioka Sekine, Osa Watanabe

Japan Atomic Energy Research Institute, Takasaki, Gunma, 370-12, Japan

## ABSTRACT

At the Takasaki-site of JAERI, an AVF cyclotron has been constructed for advanced radiation technology research. The cyclotron produces extracted beams particularly light and heavy ions of proton as well as deuteron. Target chamber is available for production of  $^{11}\text{CO}_2$  a positron emitter radioisotope, by bombardment of proton from nitrogen gas as a target, by  $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$  reaction. The use of incident energy on target was estimated to be 11 MeV for primary proton energy of 20 MeV and the beam current was  $0,1 \mu\text{A}$  and the irradiation time was 10 menit for production of  $^{11}\text{CO}_2$  and the yield was about 30 MBq (EOB) and for irradiation time 15 menit and the beam current was  $1 \mu\text{A}$  for production of  $^{11}\text{C}$ -Methionine, the yield was about 70 MBq (EOB). Remotely operated automatic and semiautomatic processing systems are used for the production of the  $^{11}\text{C}$ -Methionine agent and the radiochemical purity of the product obtained was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with cation exchange column was LC 10 AD MERCK LICHROSPHER 100 RP-18 and the mobile phase was 10 mM ammonium phormmate, the mean of retention time was 1,815 minutes and the radiochemical purity to be more than 90 %.. The product was used for plant studies and visualized by PETIS ( Positron Emission Tracer Imaging System)

**Keywords:** cyclotron, Positron emitter,  $^{11}\text{C}$ -Methionine.

## PENDAHULUAN

BATAN mempunyai fasilitas siklotron di P2RR (Pusat Pengembangan Radioisotop dan Radiofarmaka) yang akan dikembangkan untuk mengirradiasi bahan sasaran cair ataupun gas, selain yang biasa digunakan dalam bentuk padatan

Beberapa peneliti melaporkan [1,2,3,4] bahwa  $^{11}\text{C}$  adalah radioisotop pemancar positron dengan waktu paruh 20 menit. Radioisotop tersebut diproduksi dengan siklotron atau akselerator. *Positron Emission Tomography* (PET) adalah suatu tehnik yang digunakan di Kedokteran Nuklir untuk mendeteksi metabolisme di dalam jaringan sel secara *in vivo* dengan radioisotop pemancar positron. Positron adalah partikel bermuatan positif

dengan massa sama dengan elektron. Positron dilepaskan dari peluruhan radionuklida tertentu dengan memancarkan dua sinar gamma dengan arah berlawanan ( $180^\circ$ ). Ada berbagai metabolisme dalam jaringan organ dimana proses dan mekanismenya terjadi hanya dalam beberapa detik atau menit, oleh karena prosesnya sangat cepat maka dicari perunut radioaktif dengan waktu paruh pendek.

Berdasarkan data dan informasi yang dilaporkan dalam literature,  $^{11}\text{C}$  sangat sesuai untuk ditandakan ke senyawa-senyawa organik karena senyawa-senyawa tersebut kebanyakan mengandung unsur C, H dan O (penandaan isotopik), terutama untuk asam-asam amino.

Di alam terdapat tidak kurang dari 100 macam asam amino [5]. Hampir semuanya merupakan asam alpha

amino, dimana atom C mengikat satu atom H sedangkan ikatan yang keempat mengikat gugus atom yang berbeda. Hampir semua asam amino yang terdapat di alam mempunyai konfigurasi L. Dari asam amino yang telah diisolasi hanya kira-kira 20 macam yang merupakan komponen protein yang terjadi di alam, lainnya merupakan hasil antara atau hasil akhir dari metabolisme. Protein yang dimakan manusia akan dihidrolisa menjadi asam amino, kemudian disusun kembali menjadi protein lain yang diperlukan bagi tubuh. Semua makhluk hidup dapat melakukan sintesa asam amino, tetapi tidak semua asam amino yang diperlukan dapat dibuat dalam tubuh. Ada 8 macam asam amino yang disebut asam amino esensial bagi tubuh manusia. Asam amino tersebut tidak dapat dibuat oleh tubuh manusia, tetapi terdapat dalam makanan. Asam amino esensial yang dibutuhkan oleh manusia dapat berasal dari produk hewan (daging, telur) sedangkan yang lainnya berasal dari kacang-kacangan atau dari sayuran. Asam amino mempunyai urutan yang sangat spesifik dan untuk manusia, bila terdapat kelainan dapat mengakibatkan penyakit yang serius [5].

Pemilihan radioisotop didasarkan pada sifat biologisnya di dalam jaringan organ, macam dan kecepatan peluruhan, sifat-sifat deteksinya, faktor produksi, yakni prosedur penandaan relatif sederhana tetapi mencapai sasaran yang diinginkan, tidak toksis dan secara biologis dapat diterima oleh tubuh, stabil selama proses merunut dan tidak memberikan efek atau mengubah sifat senyawa secara kimia ataupun memberikan sifat biologis yang lain dibandingkan senyawa asalnya [7].

## PROSEDUR

### **Alat dan Bahan-bahan yang digunakan**

Sistem bahan sasaran gas, tabung untuk trapping, bejana reaksi leher 5, selang-selang (*tubing*) terbuat dari polietilen dilengkapi dengan "three-way stop-cock", vial reaksi (dari pyrex), gas nitrogen, nitrogen cair, CO<sub>2</sub> padat,

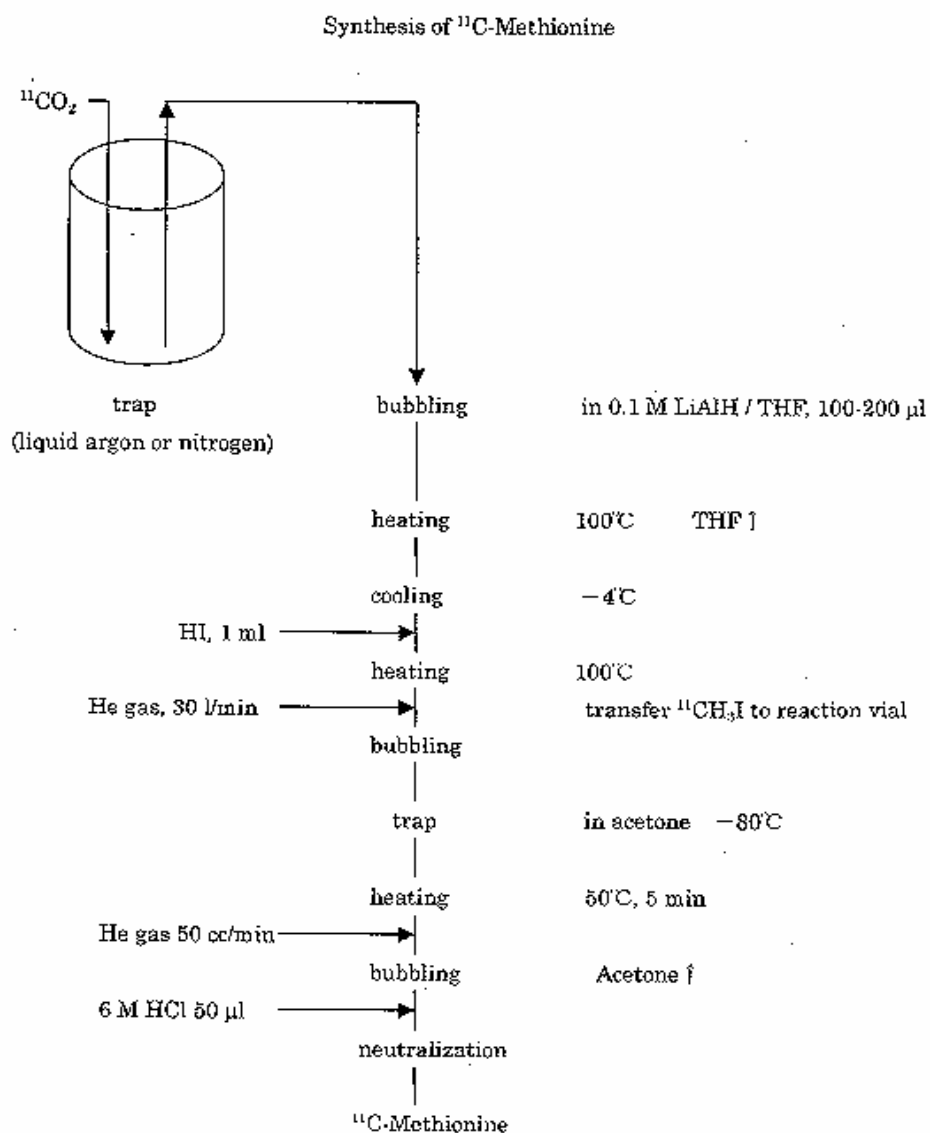
asam iodida, natrium hidroksida, aseton, asam klorida, tetrahidrofuran (semua dengan kemurnian tinggi, p.a. dari WACO, Pure Chemical Industries, Japan) sedangkan L-homosisteintiolakton dari Aldrich.

### **Pembuatan <sup>11</sup>C-methionin**

Proses terjadi melalui beberapa tahap :

Tahap pembuatan <sup>11</sup>C-metil iodida dari <sup>11</sup>CO<sub>2</sub> dan metilasi prekursor homosistein menjadi C-metionin. Tahap pertama dilakukan secara sistem otomatis *on-line* (NKK Co. Japan, yang telah dirintis oleh Iwata dan kawan-kawan) [8], tahap kedua mengikuti metoda yang telah dilakukan oleh Comar dan kawan-kawan [9] yakni alkilasi anion sulfat ian dari L-homosistein dengan <sup>11</sup>CH<sub>3</sub> I kemudian mereaksikannya dengan natrium hidroksida dalam aseton.

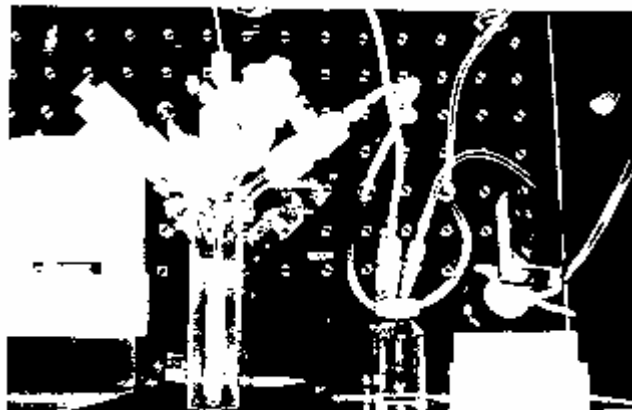
Pembuatan <sup>11</sup>C-karbon dioksida, gas tersebut diperoleh dari hasil irradiasi di siklotron dengan penembakan proton 20 MeV dengan gas nitrogen dengan kemurnian tinggi 99,9999 % sebagai bahan sasaran, dengan tekanan 7 kg/cm<sup>2</sup>. reaksi nuklir yang terjadi adalah  $N_2(p, \alpha) ^{11}C$ , lama irradiasi 10-15 menit dengan arus 0,1-1  $\mu A$ . Sesudah irradiasi <sup>11</sup>CO<sub>2</sub> di-trapping dengan alat yang mengandung *molecular sieve* (5 A, 60-80 mesh) dan didinginkan dengan nitrogen cair, untuk melepaskannya dilakukan pemanasan 120 °C, dengan mengalirkan gas nitrogen dengan kecepatan alir 40-50 mL/menit gas <sup>11</sup>CO<sub>2</sub> dialirkan ke dalam bejana reaksi leher lima yang berisi 0,1 M LiAlH<sub>4</sub> / THF 100-200  $\mu l$ , untuk direduksi menjadi methanol. Setelah itu dilakukan pemanasan 100 °C untuk menguapkan THF. Kemudian dilakukan pendinginan pada suhu -4°C. Setelah itu ditambahkan HI (asam iodida) 57 % sebanyak 1 mL, kemudian pemanasan pada suhu 100 °C gas helium dialirkan dengan kecepatan alir 30 L/ menit. Produk <sup>11</sup>C-metil iodida dipindahkan ke vial reaksi yang telah dimasukkan L-homosistein tiolakton sebanyak 10 mg dalam 400  $\mu L$  air dan 6 M NaOH



[Reagent]

- (1) L-homocystein thiolactone /  $\text{H}_2\text{O}$  10 mg / 400  $\mu\text{l}$
- (2) 6 M NaOH 50  $\mu\text{l}$
- (3) Acetone 1.5 ml
- (4) 6 M HCl 50  $\mu\text{l}$

Gambar 1. Diagram alir prosedur penelitian pembuatan  $^{11}\text{C}$ -metionin



Gambar 2. Gambar peralatan yang digunakan

sebanyak 50  $\mu\text{L}$  serta aseton 1,5 mL. Terjadi bubbling, kemudian didinginkan dengan menggunakan waterbath aseton dan  $\text{CO}_2$  padat, suhu sekitar  $-80^\circ\text{C}$ . Setelah itu dilakukan pemanasan pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 5 menit, gas helium dialirkan dengan kecepatan alir 50 mL/menit, terjadi *bubbling*, aseton menguap. Setelah itu ditambah 6 M asam klorida sebanyak 50  $\mu\text{L}$  untuk menetralkan produk. Kemurnian radiokimia  $^{11}\text{C}$ -metionin yang terbentuk ditentukan dengan sistem kromatografi ion cair (HPLC), dengan kolom lichrospher 100 RP -18, dengan fasa gerak ammonium format 10 mM, kecepatan alir 2 mL/menit, temperatur  $25^\circ\text{C}$ , U.V. detector 200 nm, volume sample 10  $\mu\text{L}$ . diperoleh kemurnian rata-rata di atas 90 %.

Gambar 1 menunjukkan diagram alir prosedur penelitian, sedangkan peralatan ditunjukkan pada gambar 2.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan penembakan proton pada energi primer 20 MeV dan arus beam 0,1  $\mu\text{A}$  serta waktu irradiasi 10 menit diperoleh hasil  $^{11}\text{CO}_2$  dengan aktivitas sekitar 30 MBq, sedangkan dengan arus beam 1  $\mu\text{A}$  dan waktu irradiasi 15 menit dihasilkan  $^{11}\text{C}$ -metionin dengan aktivitas sekitar 70 MBq.

Produk  $^{11}\text{C}$  metionin dianalisa dengan khromatografi ion cair (HPLC) dengan instrumen kolom penukar

kation, LC 10 AD MERCK LICHROSPHER 100 R-P-18, fasa gerak : 10 mM ammonium format, dengan kecepatan alir : 2 mL/menit, temperatur  $25^\circ\text{C}$ , detector UV 200 nm, volume sample : 10  $\mu\text{L}$ .

Dari hasil khromatogram diperoleh waktu retensi untuk  $^{11}\text{C}$ -metionin dari 1,673 menit sampai 2,177 menit, tidak terdapat perbedaan waktu retensi yang menyolok (Tabel 1) demikian pula luas puncak untuk masing-masing sample dari konsentrasi  $10^2$  ppm sampai dengan  $10^4$  ppm. Diperoleh luas puncak rata-rata untuk sample  $10^2$  ppm  $379.027 \pm 19\%$ , sedangkan untuk sample  $10^3$  ppm  $2.142.825 \pm 11\%$  dan untuk sample  $10^4$  ppm diperoleh luas puncak rata-rata  $8.676.711 \pm 8\%$ . Dari grafik konsentrasi (ppm) versus luas puncak terlihat garis linier (tabel 2). Dari Table 1 terlihat :

- Kemurnian radiokimia rata-rata di atas 90 %.
- Waktu yang diperlukan untuk mensintesa  $^{11}\text{C}$ -metionin sekitar 50-60 menit. (2 atau 3 kali waktu paruh). Waktu paruh untuk radioisotop  $^{11}\text{C}$  adalah 20,4 menit
- Produk yang terjadi ( $^{11}\text{C}$ -metionin) langsung digunakan untuk penelitian tanaman secara *in-situ*, karena waktu paruh yang relatif pendek dan hal ini ideal untuk keperluan diagnosa.
- Produk yang digunakan untuk satu pot tanaman sekitar 5 MBq, tidak

memerlukan radioaktivitas yang terlalu tinggi karena beberapa organisme tidak tahan terhadap radiasi. .

Dengan mengoptimalkan perbandingan molar antara asam iodida, natrium hidroksida dan homosistein tiolakton, diperoleh hasil metionin yang cukup memuaskan, sehingga memudahkan proses pemurnian . Dengan menggunakan HI 1 mL 57 % berarti sekitar 0,0044 mM, maka homosistein tiolakton yang digunakan adalah  $0,0044 \times 239 = 10,64$  mg, (berat molekulnya 239).

Penambahan homosistein tiolakton paling akhir untuk menghindari radiolisis, yang akan mengurangi hasil produk. Hasil senyawa organik yang merupakan pengotor dihilangkan dengan cara penguapan.

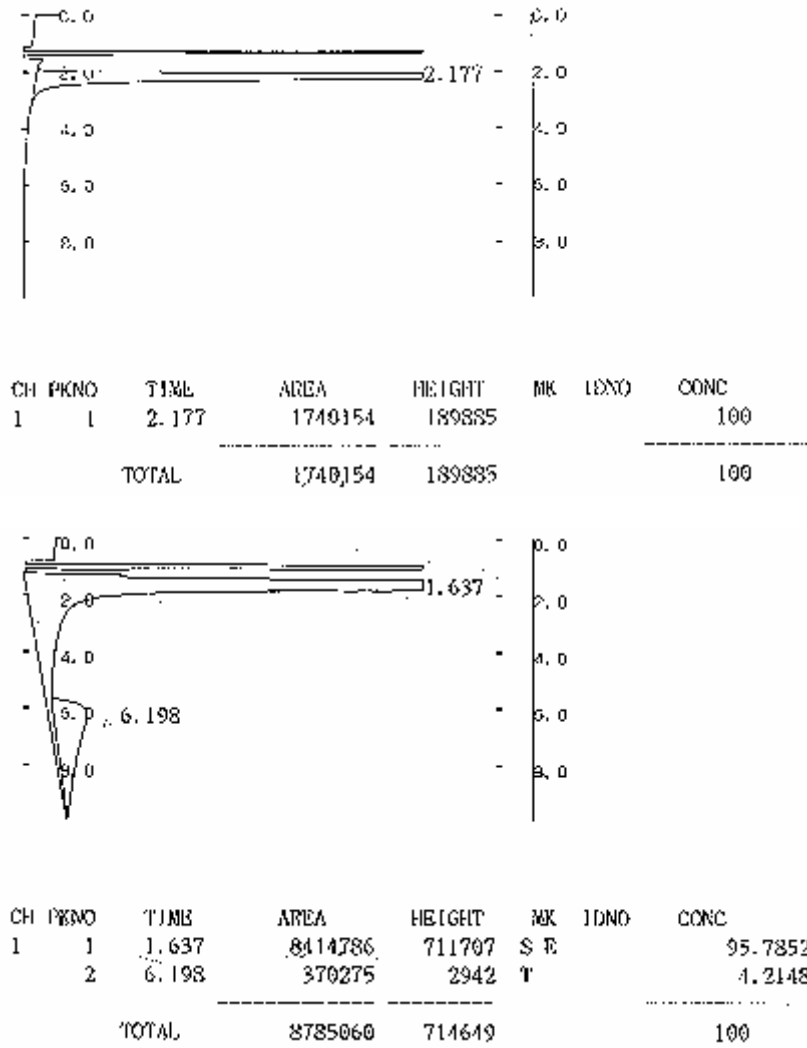
Bejana reaksi di atasnya terdapat leher 5 untuk memasukkan reagen, dan dihubungkan dengan tubing-tubing terbuat dari polietilen, untuk mengalirkan hasil produk, dibantu dengan didorong gas nitrogen atau gas helium. Vial sebelahnya untuk mereaksikan C-11-metil iodida dengan homosistein.

Tabel 1. Waktu retensi vs. luas puncak dan konsentrasi

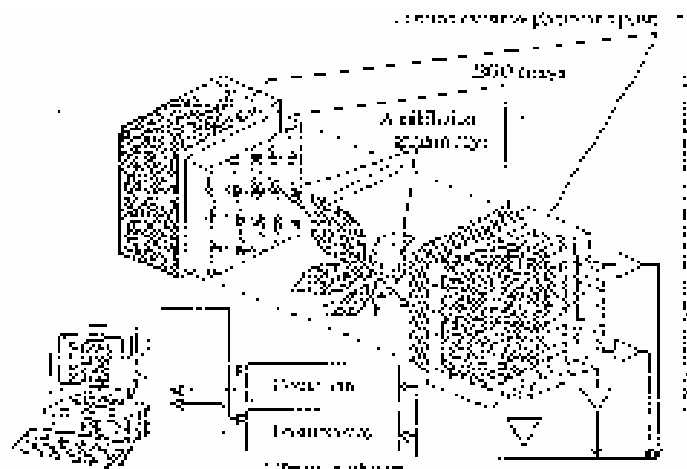
Kons (ppm)	Waktu retensi ( menit )	Luas puncak	Kemurnian radiokimia (%)
$10^3$	1,673	1.998.289	87,2506
$10^2$	1,765	490.032	85,9884
$10^4$	1,957	8.100.858	89,6482
$10^3$	1,800	2.501.774	91,5108
$10^4$	1,637	8.414.786	95,7852
$10^3$	1,640	1.928.413	88,3957
$10^3$	1,644	271.685	97,3701
$10^4$	2,152	10.114.490	98,0833
$10^4$	2,177	1.740.154	100

Tabel 2. Konsentrasi (ppm) vs. luas puncak

Kons (ppm)	Luas puncak ( area)	Luas puncak rata-rata
$10^2$	490.032	379.027
	271.685	$\pm 19 \%$
	375.364	
$10^3$	1. 998.289	2.142.825
	1.928.413	$\pm 11$
	2.501.774	
$10^4$	8.100.858	8.676.711
	8.414.786	$\pm 8 \%$
	10.114.490	



Gambar 3. Kromatogram dari <sup>11</sup>C-metionine.



Gambar 4. Visualisasi tanaman dengan alat PETIS (seijin dari Dr. Sekine, JAERI).

## KESIMPULAN

Dari percobaan tersebut di atas dihasilkan radioisotop pemancar positron  $^{11}\text{C}$  yang telah ditandakan ke pada senyawa organik yang termasuk golongan asam amino, yaitu homosistein, menghasilkan produk  $^{11}\text{C}$ -metionin. Kemurnian radiokimia ditentukan dengan khromatografi ion cair (HPLC) diperoleh kemurnian sekitar 90 % dan waktu retensi 1,673 menit sampai 2,177 menit atau rata-rata 1,83 menit tidak terlihat perbedaan waktu retensi yang menyolok. Produk digunakan untuk mempelajari fungsi fisiologi di dalam sel jaringan beragam tanaman yang sebelumnya telah mendapatkan perlakuan yang berbeda-beda dan hasil tangkapan radioaktivitas, divisualisasikan dengan alat PETIS (*Positron Emitter Tracer Imaging System*). Dengan mengetahui metabolisme asam amino di dalam tanaman diharapkan dapat menjawab problem yang sama yang dihadapi dalam metabolisme tubuh manusia.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Direktur JAERI (*Japan Atomic Energy Research Institute*) beserta para staff, penelitian ini merupakan hasil kerjasama bilateral BATAN-JAERI. Dan terimakasih pula kepada Kepala Pusat PPRR, Batan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sekine, I., Watanabe, O., 1997, Radioisotope Production, Application of Positron Emitters to Studies on Plants, Workshop on the Utilization of Research reactors, BATAN, Indonesia.
2. Mori, S., Nakanishi, B., Ishioka, K., Visualizing  $^{11}\text{C}$ -Methionine Movement in Plant by Positron Emitting Tracer Imaging System, JAERI, Review 98-016, Takasaki Radiation Chem. Res. Estab, JAERI.
3. Berridge, M.S., 1994, C-11-Acetate and C-11-Methionine Improved Syntheses and Quality Control, Depart. Of Radiology and Chem. Cleveland, OH., 44106, USA.
4. Ishiwata, K., 1991, Measurement of L-(Methyl-C-11) Methionine in Human Plasma, Appl. Radiat. Isot. Vol.42 No. 1 pp. 77-79 Printed in Great Britain.
5. Respati, *Pengantar Kimia Organik II*, Aksara Baru, 1980, Jakarta.
6. Langstrom, B., 1987, Synthesis of L- and D-(Methyl-C-11) Methionine, *J. Nucl. Med.* 28 : 1037-1040.
7. Djojubroto, H., *Aspek kimia Senyawa Bertanda*, Diklat Produksi Radioisotop, Bandung, 6-21 Juli 1987.
8. Iwata, R., Hatano, K. Yanai, K., Takahashi, T., Ishiwata, K., Ido, T., 1991, *Appl. Radiat. Isot.*, 42 202.
9. Comar, J. Cartron, C., Maziere, M., Marazano, C., 1976, *Eur. J. Nucl. Med.* 11.
10. Hammacher, H. Coenen, H., Stoklin, G., 1986 *J. Nucl. Med.*, 27, 235.