

## SINTESIS Gd-DTPA-FOLAT UNTUK *MAGNETIC RESONANCE IMAGING CONTRAST AGENT* DAN KARAKTERISASINYA MENGGUNAKAN PERUNUT RADIOAKTIF <sup>153</sup>Gd-DTPA-FOLAT

Adang H.G., Yono S. dan Maskur

Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR)-BATAN  
Kawasan Puspiptek Serpong 15314, Tangerang Selatan  
e-mail : adanghg56@yahoo.com

Diterima: 4 Juni 2012

Diperbaiki: 8 Agustus 2012

Disetujui: 11 Oktober 2012

### ABSTRAK

**SINTESIS Gd-DTPA-FOLAT UNTUK *MAGNETIC RESONANCE IMAGING CONTRAST AGENT* DAN KARAKTERISASINYA MENGGUNAKAN PERUNUT RADIOAKTIF <sup>153</sup>Gd-DTPA-FOLAT.** Senyawa kontras digunakan untuk memperjelas gambaran dari organ yang sukar dibedakan melalui teknik pencitraan *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*, khususnya pada jaringan lunak sistem saraf pusat, hati, pencernaan, *lymphatic system*, payudara, kardiovaskular dan paru. Senyawa kontras yang digunakan di rumah sakit pada saat ini adalah *Gadolinium-DieThylenetriaminePentaacetic Acid (Gd-DTPA)*. *Gd-DTPA* merupakan senyawa kontras yang tidak spesifik, oleh karena itu hal tersebut menimbulkan gagasan untuk mengembangkan senyawa kontras yang mampu mencapai target tanpa menyebabkan kerugian pada sel-sel normal disekitarnya. Asam folat merupakan vitamin yang murah, aman, spesifik dan dapat digunakan sebagai *drug delivery*. Dalam penelitian ini telah dilakukan pengembangan *targeted contrast agent MRI* dengan pembawa asam folat yang diikatkan dengan logam Gd dan *ligand DTPA*. Karena *Gd-DTPA-folat* merupakan senyawa non aktif, maka karakterisasi *Gd-DTPA-folat* dilakukan menggunakan senyawa radioaktif <sup>153</sup>Gd-*DTPA-folat* yang diperoleh dari reaksi *DTPA-folat* dengan radionuklida <sup>153</sup>Gd. Hasil optimasi sintesis <sup>153</sup>Gd-*DTPA-folat* diperoleh pada perbandingan mol *DTPA-folat* terhadap Gd = 20 : 1 dan memberikan hasil kemurnian radiokimia > 90 %. Identifikasi terhadap produk *Gd-DTPA-folat* dilakukan menggunakan alat Spektrofotometer *Fourier Transform-Infra Red (FT-IR)* dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan cara membandingkan *Gd-DTPA-folat* hasil sintesis dengan zat asalnya yaitu asam folat dan *EDA-folat*. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa senyawa yang disintesis adalah *Gd-DTPA-folat*.

**Kata kunci** : Asam folat, *Gd-DTPA*, *MRI*, Senyawa pengkontras, <sup>153</sup>Gd

### ABSTRACT

**SYNTHESIS OF Gd-DTPA-FOLAT FOR *MAGNETIC RESONANCE IMAGING CONTRAST AGENT* AND CHARACTERIZATION BY USING <sup>153</sup>Gd-DTPA-FOLATE RADIOACTIFE.** Contrast agent was used to clarify the image of the organ that is difficult to distinguish by *MRI (Magnetic Resonance Imaging)* techniques, particularly in soft tissues of the central nervous system, liver, digestive system, lymphatic system, breast, cardiovascular and pulmonary systems. One of the commonly used contrast agents in hospitals is *Gadolinium-DieThylenetriaminePentaacetic Acid (Gd-DTPA)*. *Gd-DTPA* is non specific contrast agent, therefore it has led to develop a contrast agent that is able to achieve the target without defect to the surrounding normal cells. Folic acid as a safe vitamin, inexpensive, specific and also can be used as drug delivery. This study was conducted in the development of *targeted MRI contrast agent* based of folic acid as a carrier by using Gd metal and *DTPA ligand*. Since *Gd-DTPA-folate* is non-active compounds, the characterization of *Gd-DTPA-folate* was performed using <sup>153</sup>Gd-*DTPA-folate*, which was obtained by reacting *DTPA-folate* with radionuclides <sup>153</sup>Gd. The results of optimization reactions of <sup>153</sup>Gd-*DTPA-folate* was obtained at the mole ratio of *DTPA-folate* to Gd metal 20: 1 and produced the radiochemical purity more than 90%. Identification of the non active product *Gd-DTPA-folate* was performed using an *Fourier Transform-Infra Red (FT-IR) Spectrophotometer* and *Thin Layer Chromatography (TLC)* compared with folic acid and *EDA-folate*. The results indicated that the product is *Gd-DTPA-folate*.

**Keywords** : Folic acid, *Gd-DTPA*, *MRI*, Contrast agent, <sup>153</sup>Gd

## PENDAHULUAN

Teknik-teknik pencitraan untuk diagnostika seperti *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*, sinar-X, penggunaan radiofarmaka, ultra violet/visible/IR dan ultra sonografi telah digunakan dalam diagnosa medis beberapa tahun belakangan ini. *MRI* adalah prosedur diagnostik yang menggunakan medan magnet tinggi dan sinyal-sinyal frekuensi radio untuk menghasilkan gambar. Di dalam *MRI*, sampel ditempatkan dalam medan magnet statis yang kuat (1 Tesla hingga 12 Tesla) dan *spin* dieksitasi dengan sinyal radiasi frekuensi radio yang akan menimbulkan magnetisasi pada sampel [1].

Dalam prosedur diagnosis dengan *MRI*, penggunaan senyawa pengkontras dimaksudkan untuk memperjelas gambaran atau citra (*image*) dari organ, khususnya pada jaringan lunak sistem saraf pusat, hati, sistem pencernaan, *lymphatic system*, payudara, sistem kardiovaskular dan paru. Senyawa untuk pengkontras yang paling luas penggunaannya dalam *MRI* adalah khelat golongan Gadolinium (Gd) yang merupakan campuran senyawa berbobot molekul rendah dengan relaksivitas T1 tinggi. Gd-DTPA yang merupakan salah satu kompleks dari logam Gd dengan ligan DTPA telah di *approved* oleh FDA USA pada tahun 1988 dengan nama dagang *Magnevist* dan secara luas telah digunakan di berbagai negara di dunia. Hal ini dikarenakan selain senyawa kompleks tersebut memiliki kestabilan kompleks yang tinggi, aman dan juga memberikan beberapa efek samping yang ringan seperti sakit kepala, mual seperti terbakar pada tempat penyuntikan dan efek yang jarang sekali terjadi adalah reaksi alergi [2-3].

Asam folat merupakan suatu ligan yang mempunyai afinitas tinggi terhadap reseptor folat (Kd hingga  $10^{-10}$  M) yang terdapat pada permukaan berbagai jenis kanker. Reseptor folat merupakan protein *glycosylphosphatidylinositol (GPI)* dengan berat molekul 38 kDa hingga 40 kDa, terdapat pada permukaan membran sel kanker dan dapat mengekspresikan *ovarian adenocarcinoma*, *breast cancer*, *nasopharyngeal tumors* dan berbagai jenis kanker ephitel seperti kanker *cervic*, *colorectal* dan ginjal [4-8]

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengembangan suatu zat pengkontras MRI (*Targeted Contrast Agent*) yang berbasis asam folat. Senyawa pengkontras Gd-DTPA-folat sebagai *targeted contrast agent* diharapkan dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan penyakit kanker *ovarian adenocarcinoma*, *breast cancer*, *nasopharyngeal tumors* dan berbagai macam kanker ephitel seperti kanker *cervic*, *colorectal* dan ginjal.

## METODE PERCOBAAN

### Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam folat, *N-HydroxySuccinimide (NHS)*,

*DyCyclohexylCarbodiimide (DCC)*, larutan hidrazin dalam *THF*, *DiMethyl Sulfoxide (DMSO)*, *THF*, t-butyl nitril, ( $\gamma$ ) metil glutamat, *tetramethylguanidine* dan *EthylenDiAmine (EDA)* diperoleh dari Sigma Aldrich. Sedangkan eter, asetonitril, HCl, NaOH, metanol, asam nitrat, aseton, *TFA* dan piridin diperoleh dari E. *Merck*.

Peralatan gelas seperti kolom kromatografi, beaker gelas, gelas ukur, erlenmeyer dan pipet ukur menggunakan bahan dari gelas *pyrex*. Pengukuran dengan Spektrofotometer *FT-IR* dilakukan di Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka (PRR)-BATAN menggunakan alat dari Jasco *FT-IR-410*. Spektrofotometer *UV-Vis* dari Jasco digunakan untuk membandingkan senyawa asam folat dan *EDA-folat* dengan *DTPA-folat* sebagai produk yang akan direaksikan dengan logam Gd. Pengukuran dengan alat *LC-MS*,  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  dilakukan di Pusat Penelitian Kimia (P2K)-LIPI. Pengukuran dengan metode KCKT dilakukan di PRR dengan menggunakan kolom C18 dan dengan 2 jenis detektor yaitu detektor *UV* dan detektor radioaktif (NaI).

### Sintesis *EDA-Folat*

*EDA-folat* sebagai prekursor untuk pembuatan senyawa *DTPA-folat* yaitu bahan untuk senyawa *Magnetic Resonance Imaging (MRI) contrast agent* Gd-*DTPA-folat*. Salah satu metode sintesis yang dilakukan adalah metode regiospesifik (*Regiospecific method*) yaitu dilakukan berdasarkan beberapa tahap reaksi yaitu sintesis asam pirofolat, sintesis pteroil hidroksida, sintesis pteroil azid, sintesis  $\gamma$ -folat metil ester dan tahap akhir adalah sintesis  $\gamma$ -*EDA-folat*

### Sintesis *DTPA-Folat*

Sebanyak 1,0 g *EDA-folat* ( $\gamma$ ) (2,1 mmol) dilarutkan dalam 50 ml *DMSO* dengan sonikasi selama semalam. Kemudian larutan kuning gelap yang terjadi ditambahkan pelan-pelan ke dalam suspensi 20 g *DTPA dianhydride* (5,6 mmol) di 10 mL *DMSO* anhidrat. Campuran menjadi homogen pada akhir penambahan. Analisis dengan *HPLC* menunjukkan tidak terdapat *EDA-folat* setelah 30 menit. di mana waktu itu campuran reaksi disaring melalui *celite pad* untuk menghilangkan padatan halus. Setelah menurunkan suhu campuran reaksi dengan rendaman es, ditambahkan 10 mL 2,4 N NaOH untuk mengendapkan dan menetralkan larutan.

Endapan yang dihasilkan berisi mayoritas *DTPA-folat* ( $\gamma$ ) yang diproduksi dipisahkan oleh sentrifugation dari supernatan. Produk dikumpulkan, dikeringkan dengan vakum dan tingkat kemurniannya diperiksa dengan *HPLC* menggunakan kolom C-18 pada panjang gelombang 280 nm dengan *gradien*

menggunakan eluent ACN dan TFA 0,3 % dengan laju alir 1 mL/menit dengan gradien : 0 menit = 0 % B, 20 menit = 60 % B dan 40 menit = 60 % B.

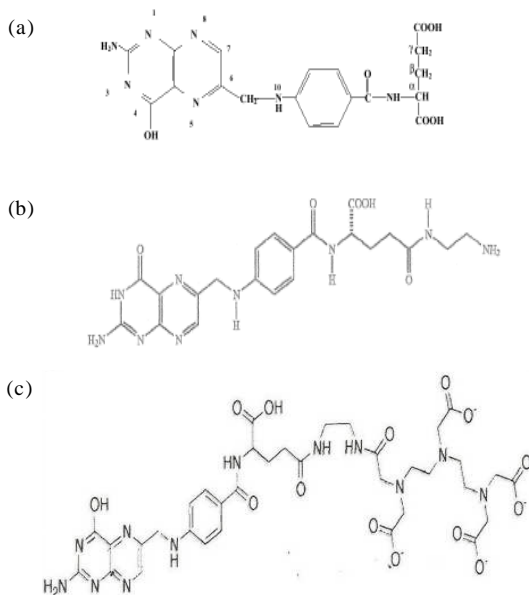
### Optimasi Penandaan DTPA-folat dengan Radionuklida $^{153}\text{Gd}$

Dalam vial reaksi, sejumlah perbandingan mol tertentu DTPA-folat : Gd (2, 3, 10, 20, 25, 30 dan 40) direaksikan pada pH 5 pada suhu air mendidih selama 30 menit. Setelah 30 menit, vial reaksi didinginkan pada suhu kamar dan masing-masing perbandingan mol DTPA-folat : Gd (25, 20, 10, 3 dan 2) kemurnian radiokimianya diperiksa dengan metode KLT menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan metanol sebagai fasa gerak. Dalam menentukan Rf kompleks secara bersamaan juga dielus larutan  $^{153}\text{Gd}$ , sehingga akan dapat dilihat perbedaan Rf kompleks dan  $^{153}\text{Gd}$ . Dari hasil observasi awal dapat diketahui bahwa Rf  $^{153}\text{Gd}$  pada posisi penotolan dan kompleks naik, oleh karena itu pencacahannya lempeng silika cukup dibagi 2 dan masing-masing diukur aktivitasnya.

Dalam melakukan optimasi penandaan dilakukan pula variasi perubahan pH dari pH 4 sampai pH 7. Parameter yang digunakan untuk menentukan hasil penandaan adalah dengan menentukan kemurnian radiokimia.

### Sintesis Gd-DTPA-Folat Non Aktif

Sintesis Gd-DTPA-folat non aktif dilakukan dengan menggunakan formulasi perbandingan DTPA-folat : Gd = 25 : 1. Campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 30 menit. Terhadap larutan yang terjadi kemudian disaring dengan penyaring 0,22  $\mu\text{m}$  dan kemudian dikeringkan dengan alat pengering beku



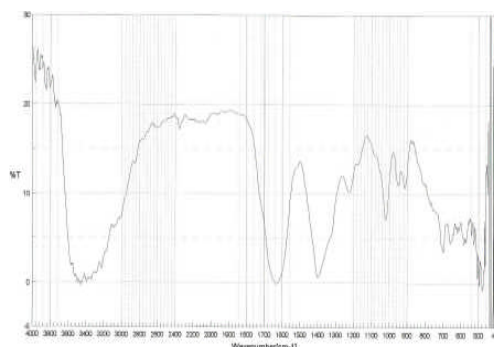
Gambar 1. Struktur kimia dari (a). asam folat, (b).  $\gamma$ -EDA-folat dan (c). DTPA-folat.

(freeze dryer). Terhadap zat padat hasil pengeringan dilakukan identifikasi dengan Spektrofotometer FT-IR dan KLT.

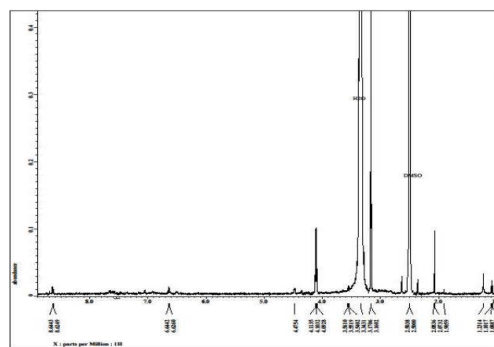
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Gd-DTPA-folat adalah merupakan senyawa *targeted contrast agent* yang akan dikembangkan untuk keperluan deteksi kanker ovarium. Gd-DTPA-folat disintesis dari prekursor yaitu  $\gamma$ -EDA-folat dengan etilendiamin yang akan membentuk DTPA-folat dan kemudian direaksikan dengan logam Gadolinium (Gd) akan menghasilkan Gd-DTPA-folat. Dalam sintesis DTPA-folat peran  $\gamma$ -EDA-folat sangat penting sekali karena senyawa ini merupakan prekursor dari senyawa DTPA-folat. EDA-folat mempunyai 2 bentuk isomer yaitu dan  $\gamma$ -EDA-folat. Dalam pemakaiannya bentuk  $\gamma$ -EDA-folat lebih diharapkan karena bentuk  $\gamma$ -DTPA-folat merupakan bentuk yang aktif berinteraksi dengan reseptor folat. Untuk dapat menghasilkan secara langsung  $\gamma$ -EDA-folat, telah dilakukan sintesisnya dari asam folat dengan metode regiospesifik yaitu dengan mereaksikan asam folat  $\gamma$ -metil ester dengan etilendiamin (EDA). Struktur dari asam folat,  $\gamma$ -EDA-folat dan DTPA-folat dapat dilihat pada Gambar 1.

Untuk lebih meyakinkan bahwa yang terbentuk adalah EDA-folat, terhadap hasil sintesis dilakukan pemeriksaan dengan alat Spektrofotometer FT-IR dan pemeriksaan dengan NMR. Hasil pemeriksaan NMR dibandingkan dengan yang terdapat pada penelitian



Gambar 2. Hasil pemeriksaan FT-IR dari EDA-folat hasil sintesis



Gambar 3. Hasil pemeriksaan  $^1\text{H}$ -NMR terhadap EDA-folat

Tabel 1. Hasil pengujian EDA-folat dengan NMR.

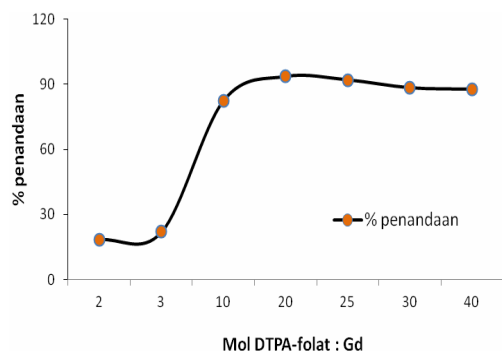
Data		Keterangan
Acuan [5]	Pengukuran	
8,66 (s, 1H)	8,64 (s, 1H)	NMR : Acuan : 400 MHz, D2O LIPI : 300 MHz, D2O
7,56 (d, 1H, J=8,8 Hz)	7,6 (d)	
6,58-6,56 (d, 1J, J=8,8 Hz)	6,64-6,62 (d)	
4,50 (s, 2H)	4,5 (s)	
3,25 (m, 2H)	3,2 (m)	
2,68-2,65 (m, 2H)	2,66-2,60 (m)	
2,25-2,19 (m, 2H)	2,1-2,07 (m)	
2,16-1,8 (m, 2H)	2,07-1,90 (m)	

sebelumnya. Kesesuaian EDA-folat hasil sintesis dengan penelitian sebelumnya dijadikan acuan untuk menunjukkan hasil sintesis adalah EDA-folat. Hasil pemeriksaan FT-IR dan NMR dari senyawa EDA-folat ditunjukkan pada Gambar 2 dan Tabel 1.

Adanya daerah serapan pada rentang 3000 cm<sup>-1</sup> hingga 3600 cm<sup>-1</sup> menunjukkan gugus-gugus alkohol, asam karboksilat dan amin; daerah serapan 1650 cm<sup>-1</sup> hingga 1750 cm<sup>-1</sup>, 1350 cm<sup>-1</sup> hingga 1400 cm<sup>-1</sup>, 1200 cm<sup>-1</sup> hingga 1350 cm<sup>-1</sup>, 850 /cm<sup>-1</sup> hingga 950 cm<sup>-1</sup> menunjukkan gugus karboksilat dan adanya serapan pada 700 cm<sup>-1</sup> hingga 900 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya amin primer dan amin sekunder pada 650 cm<sup>-1</sup> hingga 800 cm<sup>-1</sup>.

Dari Gambar 3 dan Tabel 1 dapat dilihat bahwa spectrum <sup>1</sup>H-NMR dari EDA-folat hasil sintesis mempunyai kesamaan dengan yang terdapat pada penelitian sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terbentuk adalah benar EDA-folat.

DTPA-folat disintesis dengan cara mereaksikan EDA-folat dalam pelarut DMSO dengan DTPA dianhidrid juga dalam DMSO. DTPA-folat akan terbentuk sebagai endapan pada pH 7 dari hasil pengaturan pH dengan larutan NaOH 2,4 N. Karena Gd-DTPA-folat adalah merupakan senyawa non radioaktif, maka untuk melihat terbentuknya senyawa tersebut dilakukan penandaan terhadap DTPA-folat dengan radionuklida <sup>153</sup>Gd. Karena Gd adalah merupakan logam yang toksis, maka dalam formulasi perbandingan DTPA-folat dengan Gd jumlah logam Gd divariasikan dengan asumsi dapat meminimalkan jumlah Gd yang tidak bereaksi sehingga



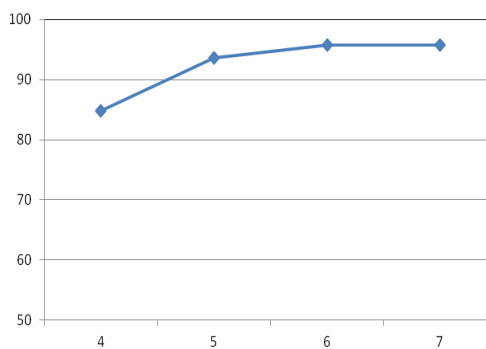
Gambar 4. Hasil optimasi penandaan <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat dengan variasi perbandingan mol DTPA-folat terhadap jumlah Gd

sediaan akan aman. Optimasi untuk melihat terbentuknya <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat dilakukan dengan memvariasikan nilai pH dan perbandingan mol DTPA-folat terhadap <sup>153</sup>Gd (Gambar 4 dan Gambar 5). Perbandingan mol DTPA-folat terhadap logam Gd dilakukan menggunakan perbandingan 2, 3, 5, 10, 25, 30 dan 40.

Parameter yang digunakan untuk melihat terbentuknya senyawa <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat adalah dengan menentukan kemurnian radiokimianya. Penentuan kemurnian radiokimia kompleks <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat dilakukan dengan metode KLT menggunakan fasa diam silika gel dan fasa gerak metanol. Dari perbandingan ini diharapkan dapat diperoleh jumlah optimum DTPA-folat terhadap Gd yang bisa memberikan kemurnian radiokimia yang tinggi. Persentase kemurnian radiokimia yang diperoleh dari hasil optimasi perbandingan mol DTPA-folat : Gd diatas masing-masing diperoleh 18,5 %, 22 %, 82,5 %, 93,6 %, 92 %, 88,4 % dan 87,7 %. Dari hasil tersebut diatas diperlihatkan bahwa perbandingan mol DTPA-folat : Gd = 20 : 1 memberikan kemurnian radiokimia tertinggi yaitu 93,6 % seperti ditunjukkan pada Gambar 4. Perbandingan mol DTPA-folat terhadap mol Gd < 20 dan mol > 25 memperlihatkan hasil penandaan dibawah 90 %, sehingga untuk variasi nilai pH perbandingan ini yang akan digunakan. Dari hasil variasi pH yang dilakukan pada pH 4, pH 5, pH 6 dan pH 7 telah diperoleh bahwa pH 6 memberikan hasil penandaan yang terbaik dibanding pH lainnya seperti ditunjukkan pada Gambar 5.

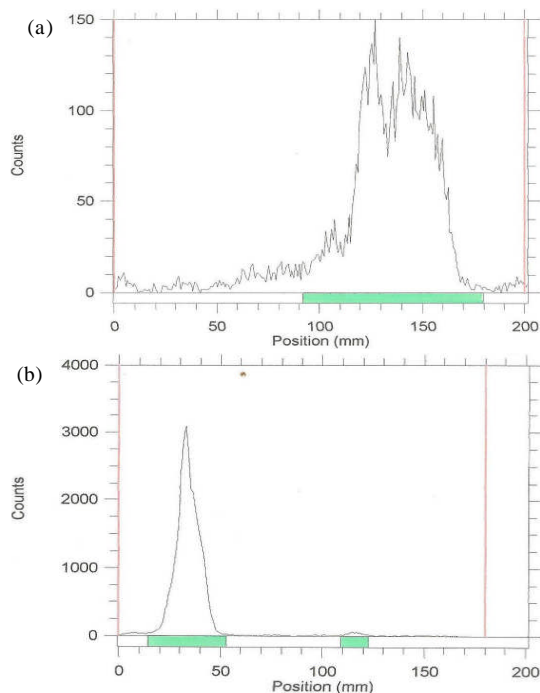
Hasil penentuan kemurnian radiokimia dari hasil optimasi yaitu pada pH 7 dengan perbandingan mol DTPA-folat : Gd = 20 : 1, kromatogramnya dapat dilihat pada Gambar 6. Dari Gambar 6, pada spektrum A gambarnya tidak begitu bagus (tidak halus), hal ini terjadi karena aktivitas <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat kecil sekali (cacahan bagian vertikal maksimum hanya 150 sangat jauh bila dibanding pada <sup>153</sup>Gd yaitu 4000), tetapi dari profil gambar tersebut dapat disimpulkan bahwa <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat telah terbentuk yaitu dengan hanya terjadinya 1 puncak yang Rf nya tidak sama dengan Rf <sup>153</sup>Gd.

Sebagai konfirmasi lebih lanjut untuk meyakinkan bahwa kompleks Gd-DTPA-folat benar-benar telah terbentuk (dengan melihat pembentukan



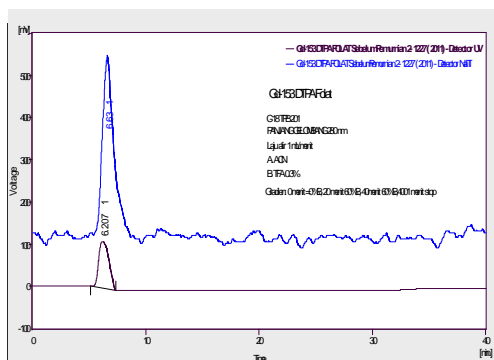
Gambar 5. Hasil optimasi penandaan <sup>153</sup>Gd-DTPA-folat dengan variasi pH reaksi

Sintesis Gd-DTPA-Folat untuk MRI Contrast Agent dan Karakterisasinya Menggunakan Perunut Radioaktif  $^{153}\text{Gd-DTPA-Folat}$  (Adang H.G.)

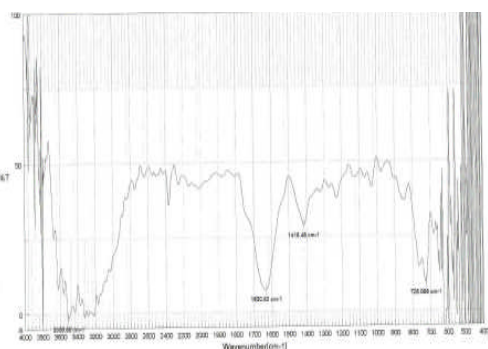


Gambar 6. Kromatogram KLT dari  $^{153}\text{GdCl}_3$  dan  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$  dengan fasa diam pelat Silika Gel dan fasa gerak Metanol ((a) =  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$  dan (b) =  $^{153}\text{GdCl}_3$ ).

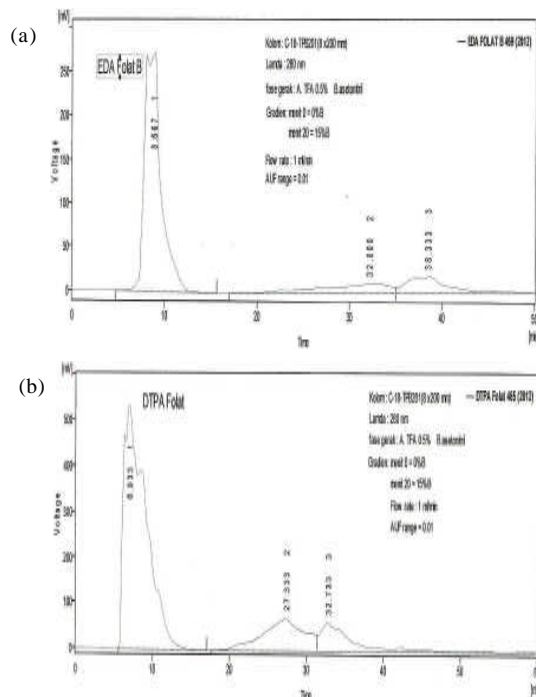
$^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$ ), telah dilakukan pengujian dengan alat HPLC yang menggunakan 2 jenis detektor yaitu detektor UV (280 nm) dan detektor radioaktif (NaI-Tl) dan kromatogramnya dapat dilihat pada Gambar 7. Hasil pemantauan menggunakan alat HPLC tersebut



Gambar 7. Kromatogram HPLC dari  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$  dengan menggunakan 2 detektor yaitu detektor UV-Vis dan detektor radioaktif.

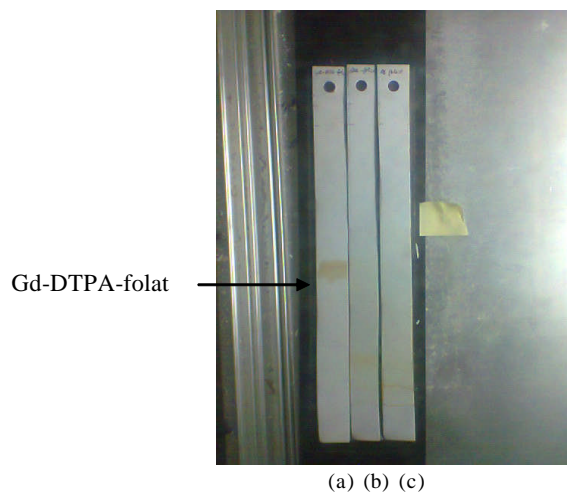


Gambar 8. Hasil pemeriksaan FT-IR dari senyawa kontras Gd-DTPA-folat



Gambar 9. Kromatogram HPLC dari DTPA-folat dengan alat HPLC merek Shimadzu menggunakan kolom C-18 (250 x 21 mm) (a) = EDA-folat dan (b) = Gd-DTPA-folat.

menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia kompleks  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$  sangat tinggi sekali, dimana dalam hal ini ditunjukkan dengan hanya terdapat 1 puncak pada kromatogram untuk zat radioaktif yaitu pada 6,63 menit dan 1 puncak juga terdapat pada kromatogram detektor UV-Vis yaitu pada 6,2 menit. Perbedaan waktu retensi pada kromatogram dari ke 2 detektor tersebut lebih disebabkan karena eluen dan sampel terlebih dahulu melewati detektor UV-Vis, baru setelah itu melewati detektor radioaktif. Bila dilihat dari kromatogram yang terbentuk (pada detektor UV-Vis dan detektor radioaktif), jelas tidak terlihat adanya senyawa lain atau dengan kata lain hanya terbentuk kompleks  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$ .



Gambar 10. Identifikasi dengan lampu UV dari Gd-DTPA-folat (a), EDA-folat (b) dan asam folat (c)

Dari hasil optimasi dengan bantuan menggunakan radionuklida  $^{153}\text{Gd}$  sebagai perunut, telah dilakukan pembuatan senyawa kontras Gd-DTPA-folat dengan perbandingan mol DTPA-folat terhadap Gd 20 : 1 pada pH reaksi 6, diperoleh senyawa Gd-DTPA-folat.

Identifikasi terbentuknya senyawa tersebut sebagai Gd-DTPA-folat dilakukan dengan FT-IR, HPLC dan KLT dengan lampu UV. Hasil identifikasi dengan FT-IR menunjukkan tidak adanya perubahan bentuk spektrum seperti yang diberikan oleh DTPA-folat ditunjukkan pada Gambar 8. Hasil pemeriksaan dengan HPLC menggunakan kolom C18 (250 x 21 mm), pada panjang gelombang 280 nm, dengan gradien menggunakan eluent ACN dan TFA 0,3 % (gradien : 0 menit = 0 % B, 20 menit = 60 % B, 40 menit = 60% B); hasilnya ditunjukkan pada Gambar 9. Dari kromatogram tersebut terlihat bahwa Gd-DTPA- $\gamma$ -folat yang terbentuk masih dominan (~ 83 %), sisanya kemungkinan dalam bentuk Gd-DTPA- $\alpha$ -folat dan bentuk lain yang belum diketahui.

Identifikasi dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel dan fasa gerak metanol, dilakukan menggunakan pembanding asam folat dan EDA-folat, memperlihatkan terdapat pergerakan yang tidak sama dari asam folat, EDA-folat dan Gd-DTPA-folat hasil sintesis seperti yang terlihat pada Gambar 10.

## KESIMPULAN

Dengan melihat hasil yang telah diperoleh dari penelitian diatas, telah dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Sintesis EDA-folat dengan metode regiospesifik menghasilkan  $\gamma$ -EDA-folat yang bisa diidentifikasi dengan alat HPLC menggunakan kolom C18 (250 x 21 mm), pada panjang gelombang 280 nm,

dengan gradien eluent ACN dan TFA 0,3 % (gradien : 0 menit = 0 % B, 20 menit = 60 % B, 40 menit = 60 % B).

2. Gd-DTPA-folat disintesis dari DTPA-folat dan logam Gd dengan perbandingan mol sebesar 20 : 1, cukup memberikan hasil yang baik.

## DAFTAR ACUAN

- [1]. LOWE M., CONTRAST AGENT FOR RMI, <http://www.le.ac.uk/chemistry/research/CHROMPL10.HTML>
- [2]. GRIES, HEINZ; ROSENBERG, DOUWE; WEINMANN, HANNS-JOACHIM, Diagnostic media, *United States Patent 4647447*
- [3]. PHILIP L. F., JIN L., DOUGLAS A. L., Folic acid derivatives, *US Patent No. 6291673*, Issued on September 18, (2001)
- [4]. VLAHOV I.R., LEAMON C.P., PARKER M. A., HOWARD S. J., SANTHAPURAM H.K., SATYAM A., REDDY J. A., Vitamin Receptor Binding Drug Delivery Conjugates, WO/2004/069159, (2004)
- [5]. J. SUNAMOTO, K. USHIO, M. HIDAKA, Folate-Modified Cholesterol-Bearing Pullulan as a Drug Carrier, *United States Patent 20070042970*, (2005)
- [6]. SE-LIM KIM, HWAN-JEONG JEONG, EUN-MI KIM, CHANG-MOON LEE, TAE-HYOUNG KWON, MYUNG-HEE SOHN, *Journal Korean Med. Sci.*, **22** (2007) 405-411
- [7]. WENJIN GUO, GEORGE H. HINKLE, ROBERT J. LEE, *J. Nucl. Med.*, **40** (1999) 1563-1569
- [8]. CRYSTAL M. P., JOSEPH A. R., CHRISTOPHER P. L., MARY JO T. and PHILIP S. L., *Mol Pharmacol*, **66** (2004) 1406-1414