

METODE ALTERNATIF SINTESIS ETILEN-L,L-DISISTEIN (EC) SEBAGAI LIGAN PEMBENTUK RADIOFARMAKA PENYIDIK FUNGSI TUBULUS GINJAL

Nanny Kartini Oekar, Misyetti.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknik Nuklir - BATAN

ABSTRAK

METODE ALTERNATIF SINTESIS ETILEN-L,L-DISISTEIN (EC) SEBAGAI LIGAN PEMBENTUK RADIOFARMAKA PENYIDIK FUNGSI TUBULUS GINJAL. Pencitraan ginjal dengan radioisotop merupakan cara yang ideal dan *noninvasive* untuk mengevaluasi fungsi ginjal. Dengan pemilihan radiofarmaka yang cocok, dapat diperoleh informasi yang cepat dari beberapa parameter sebagai indikasi dari fungsi ginjal, seperti antara lain kecepatan filtrasi glomerulus, aliran plasma di ginjal, dan aliran plasma di tubulus ginjal. Pada saat ini fasilitas kedokteran nuklir di rumah sakit melakukan studi fungsi tubulus ginjal menggunakan radiofarmaka ^{131}I -hipuran. Radiofarmaka bertanda teknesium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) yang dapat mengganti peranan hipuran di antaranya adalah $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -etilen-L,L-disistein (L,L-EC). Radiofarmaka tersebut diperoleh dari pembentukan kompleks antara ligan L,L-EC dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Ligan EC dapat dibuat melalui berbagai jalur reaksi dari berbagai macam bahan awal. Dalam penelitian ini sintesis L,L-EC dimulai dari senyawa L-sistein hidroklorida melalui dua tahap reaksi. Tahap pertama yaitu metilasi menggunakan formaldehida sebagai sumber gugus metil, dan dengan bantuan piridin menghasilkan asam L-tiazolidin 4-karboksilat. Endapan yang diperoleh dimurnikan dengan jalan rekristalisasi dalam air panas, menghasilkan kristal berupa jarum, berwarna putih bening dengan titik leleh 197-198 °C. Tahap ke dua adalah konyugasi dua molekul asam tersebut dengan bantuan reduktor kuat sodamida pada kondisi reaksi -40 °C, menghasilkan senyawa etilen-L,L-disistein (EC) yang dimurnikan dengan cara rekristalisasi berulang pada suasana basa (pH 11-12) dan asam (pH 2). Hasil yang diperoleh berupa serbuk putih amorf mempunyai titik leleh 234-235 °C. Ke dua senyawa hasil sintesis tersebut bila dibandingkan dengan zat standar memberikan spektrum IR dan noda yang identik pada kromatografi lapis tipis dan kertas. Senyawa etilen-L,L-disistein (L,L-EC) hasil sintesis ini diharapkan dapat digunakan untuk pembuatan radiofarmaka penyidik fungsi tubulus ginjal $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC.

Kata kunci : etilen-L,L-disistein, radiofarmaka, tubulus ginjal, fungsi ginjal.

Berbagai radiofarmaka dengan radionuklida penanda yang berbeda telah banyak dimanfaatkan dan memberikan berbagai informasi penting mengenai keadaan dan fungsi dari bagian-bagian tertentu ginjal manusia. Seperti misalnya untuk mengetahui kecepatan aliran darah dalam ginjal (*renal blood flow*) digunakan radiofarmaka ^{125}I dan ^{131}I -HSA (*human serum albumin*) yang akan melewati glomerulus sesuai dengan aliran darah, sedangkan untuk mempelajari bentuk ginjal (*renal morphology*) digunakan radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -glukoheptonat atau senyawa bertanda merkuri-203 (^{203}Hg -klormelodrin), yang terlokalisasi di bagian tubulus distal. Selama ini, studi untuk mengetahui fungsi ginjal didasarkan pada penentuan keefektifan aliran plasma di ginjal (*renal plasma flow*) yang terjadi pada tubulus dan dilaksanakan dengan menggunakan radiofarmaka ^{131}I -iodopiruvat atau ^{131}I -orto iodo hipurat (hipuran) yang akan terlokalisasi di tubulus proksimal [2].

^{131}I -iodo hipurat adalah radiofarmaka bertanda iodium-131, di mana radionuklida ini kurang disukai untuk keperluan diagnosis karena selain memancarkan sinar gamma (γ) juga memancarkan partikel β dengan energi yang cukup besar. Untuk mengatasi masalah ini, para peneliti mencari senyawa lain yang sifatnya mendekati hipuran namun dapat ditandai dengan radionuklida $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [1,2]. Para peneliti sudah menemukan senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 yang mempunyai sifat sangat mirip dengan hipuran, akan tetapi ditinjau dari fenomena biologis $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 sulit dibersihkan dari plasma, *blood clearance*-nya hanya berkisar antara 60-65 % dibandingkan dengan hipuran. Oleh karena itu dikembangkan senyawa $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -etilen-L,L-disistein (EC) yang dapat mengatasi kelemahan dari $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 [1].

Radiofarmaka $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -L,L-EC diperoleh dari pembentukan kompleks antara ligan L,L-EC dengan radioisotop $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Sebelumnya sintesis ligan L,L-EC dikembangkan dengan menggunakan bahan dasar asam L-tiazolidin-4-karboksilat [6]. Untuk tujuan ekonomis dan penguasaan metode alternatif, sintesis ligan tersebut dengan menggunakan bahan dasar yang lebih mudah diperoleh dengan harga yang lebih kompetitif perlu dikembangkan. Pada penelitian ini untuk sintesis L,L-EC

TATA KERJA

Sintesis asam L-tiazolidin-4-karboksilat

L-sistein-HCl monohidrat sebanyak 13,01 g (0,074 mol) yang mengandung 0,025 mol L-sistein dilarutkan dalam 33,3 mL akuades, kemudian ditambahi 8,0 mL larutan formaldehida 37 % yang mengandung 2,96 g (0,098 mol formaldehida), dikocok selama satu malam pada temperatur kamar. Keesokan harinya, larutan ini didinginkan di dalam bejana es, lalu ditambahi 8,4 mL piridin dingin sambil terus didinginkan, akhirnya ditambah dengan 16,7 mL alkohol absolut. Pendinginan campuran dilanjutkan dalam bejana es atau disimpan dalam lemari pendingin sampai terbentuk endapan putih. Endapan yang terjadi disaring dengan corong *buchner*, dicuci dengan air dingin kemudian dengan etanol dingin.

Kristal yang diperoleh dikeringkan pada temperatur 80 °C dan pemurnian dilakukan dengan cara rekristalisasi berulang dalam air panas. Rendemen hasil reaksi dihitung dengan membandingkan jumlah mol asam L-tiazolidin-4-karboksilat yang terbentuk dengan jumlah mol L-sistein yang dipergunakan.

Sintesis etilen-L,L-disistein (L,L-EC)

Sintesis ligan L,L-EC dilakukan dalam labu leher tiga yang didinginkan dalam wadah yang diisi dengan campuran CO₂-padat dan aseton sehingga temperatur reaksi berkisar antara (-40)-(-35)°C. Setelah kondisi tersebut di atas tercapai, ke dalam labu dialirkan gas N₂ untuk menghilangkan udara yang ada di dalam labu, dan selanjutnya gas-NH₃ dialirkan secara hati-hati, karena labu dalam keadaan dingin maka gas tersebut akan mencair, dan pengaliran ini terus dilanjutkan sampai volume NH₃-cair mencapai 100 mL .

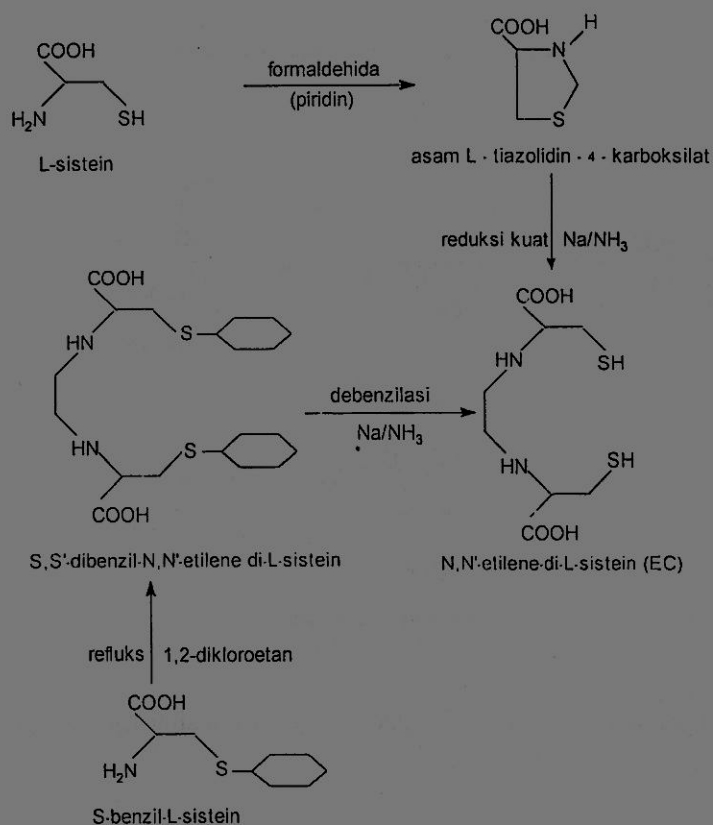
Asam L-tiazolidin-4-karboksilat sebanyak 2,2 g (0,0165 mol) dimasukkan ke dalam labu di atas, dan diaduk sampai semua senyawa larut sempurna. Setelah itu logam natrium dimasukkan sedikit demi sedikit sampai terbentuk warna biru tua yang

Identifikasi dan penentuan kemurnian kimia

Identifikasi dan penentuan kemurnian dari senyawa yang diperoleh ditentukan dengan cara kromatografi lapis tipis (TLC) dan kromatografi kertas. Sistem kromatografi yang digunakan adalah fase diam *TLC PEI-Cellulosa F* dan kertas, Whatman 31ET. Sebagai fase gerak digunakan campuran n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dengan pH 6,5, dan n-butanol : NaOH 0,1 N : air (4 : 5 : 1) dengan pH 8,5. Baik senyawa hasil sintesis maupun pembanding dilarutkan dalam NaOH 0,1 N, kemudian masing-masing dikromatografi. Setelah hasil kromatografi dikeringkan, noda ditampakkan dengan uap iodium, dan hasilnya dibandingkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ligan etilen-L,L-disistein (L,L-EC) dapat disintesis dengan berbagai jalur reaksi seperti tertera pada Gambar 1. Sebagai bahan dasar dapat digunakan L-sistein HCl monohidrat ($C_3H_7NO_2S.HCl.H_2O$), asam L-tiazolidin-4-karboksilat atau S-benzil-L-sistein [3]. Dalam penelitian ini, sintesis dimulai dari L-sistein HCl yang direaksikan dengan formaldehida pada temperatur kamar. Formaldehida diperdagangan berada dalam larutan air dengan kadar 35-39 % yang disebut formalin. Dengan adanya air, formaldehida berada dalam bentuk hidratnya (metanadiol) yang mempunyai dua gugus hidroksil seperti yang tertera pada Gambar 2 [4]. Reaksi antara formaldehida dengan sistein adalah substitusi ion hidrogen dengan gugus metil, dan kemungkinan melalui dua tahap reaksi. Pertama adalah adisi aldehida ke dalam molekul sistein, dan yang ke dua adalah penutupan cincin dengan penghilangan molekul air (H_2O). Secara teoritis, formaldehida pertama kali dapat berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) atau dengan gugus amino ($-NH_2$) dari sistein [4, 5]. Tetapi kemudian dibuktikan bahwa formaldehida mengambil tempat di gugus sulfhidril [5]. Dengan penambahan piridin yang membuat suasana campuran reaksi menjadi basa dan kemudian didinginkan, akan terbentuk kristal jarum panjang tidak berwarna yang kemudian disaring dan dicuci



Gambar 1. Beberapa jalur reaksi sintesis ligan etil-L,L-disistein [3].

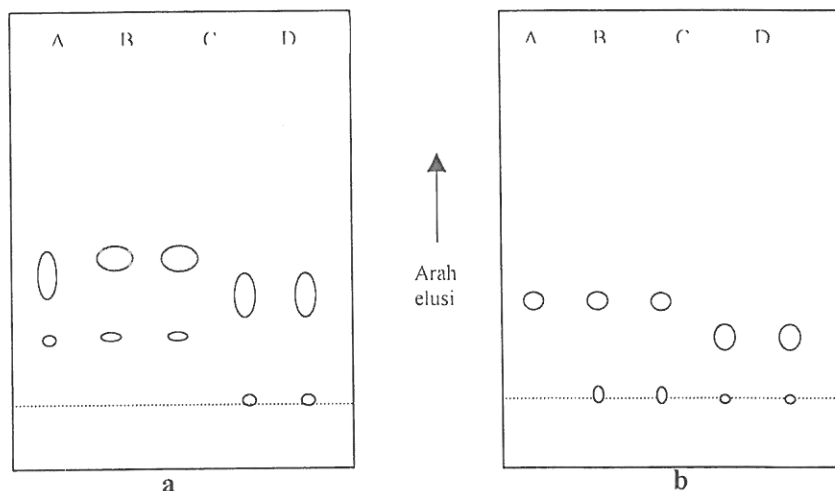
asam L-tiazolidin-4-karboksilat dan etilen-L,L-disistein (EC) sebagai senyawa pembanding seperti dapat dilihat pada Tabel 1.

Analisis dengan menggunakan alat spektrofotometer IR terhadap ke dua senyawa hasil sintesis menghasilkan pola spektrum yang identik dengan senyawa pembanding (Tabel 1). Gambaran spektrum IR secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa titik leleh dan spektrum spesifik yang dimiliki oleh asam L-tiazolidin-4-karboksilat hasil sintesis dengan bahan pembanding buatan E.Merck sangat mirip. Demikian juga halnya dengan senyawa (ligan) etilen-L,L-disistein hasil sintesis, mempunyai titik leleh dan spektrum IR yang identik dengan bahan pembanding.

Tabel 1. Hasil penentuan titik leleh dan spektrum infra merah dari senyawa yang disintesis dan pembanding.

No.	Nama Senyawa	Buatan	Titik Leleh (°C)	Puncak spektrum Infra merah (cm ⁻¹)
1.	Asam L-tiazolidin-4-karboksilat	E.Merck	197-198	1650 (C=O dari COOH) 3100 (NH ₂ ⁺)
2.	Asam L-tiazolidin-4-karboksilat	Hasil sintesis	197-198	1650 dan 3100
3.	LL-etilen disistein (EC)	India	236	1620 (C=O dari COOH, bergeser) 2700 (NH ⁺)
4.	Etilen-L,L-disistein (EC)	P3TkN [6], 1996	236	Identik dengan no. 3
5.	Etilen-L,L-disistein (EC)	Hasil sintesis	236	Identik dengan no. 3

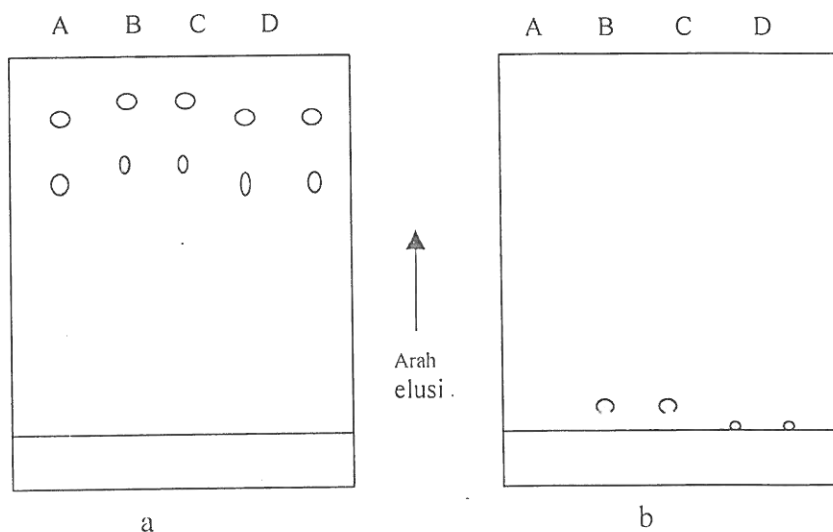


Gambar 6. Hasil kromatografi dengan fase diam kertas Whatman 31ET (a) dan PEI-selulosa-F (b) dengan fase gerak n-butanol : asam asetat : air = 4 : 1 : (pH 6,5).

A : *L*-sistein HCl (Sigma), B : *as.L*-tiazolidin-4- karboksilat (sintesis),

C : *as.L*-tiazolidin-4-karboksilat (E.Merck),

D : *L,L*-EC hasil sintesis, E : *L,L*-EC pembunding (India).



Gambar 7. Hasil kromatografi dengan fase diam kertas Whatman 31ET (a) dan PEI-selulosa F (b) dengan fase gerak n-butanol : NaOH 0,1 N ; air = 4 : 5 : 1 (pH 8,5).

4. PINE, S.H., HENDRICKSON, J.B., CRAM, D.J., HAMMOND, G.S., *Organic Chemistry*, Edisi Bahasa Indonesia, Penerbit ITB, 1988: 851.
5. RATNER, S., CLARKE, H.T., The action of formaldehyde upon cysteine, *J.Am.Chem.Soc.* 59 (1937) 200-201.
6. RATNAWATI, K., SANTOSO, D., MUHAYATUN, NATALIA, A., SUKENDAR, RD., Sintesis senyawa ligan etil sisteinat dimer hidroklorida untuk pembuat sidik otak. Proceedings Seminar Sains dan Teknologi Nuklir, BATAN, Bandung, (1996) 237-244.
7. IAEA, *Production of ^{99m}Tc-radiopharmaceuticals for Brain, Heart and Kidney Imaging* (Final report of a co-ordinated research programme), TECDOC-805 (1994).