

Sintesis Estradiol-17 β -Hemisuksinat bertanda 125I dan studi ikatannya terhadap reseptor estrogen menggunakan metode scintillation proximity assay = synthesis of 125I labelled steroids compounds and its binding affinity study to estrogen receptors using scintillation proximity assay (SPA) method

Yulianto Susilo, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20308962&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mendapatkan ligan yang selektif dan berikatan kuat dengan reseptor estrogen melalui pengujian afinitas ikatan senyawa estradiol-17 β -hemisuksinat. Untuk meningkatkan status senyawa tersebut menjadi kandidat senyawa aktif obat kanker payudara perlu diketahui selektifitasnya terhadap reseptor estrogen dengan metode Scintillation Proximity Assay (SPA). Reagen primer yang diperlukan dalam metode SPA adalah radioligan dan reseptor, dan dilakukan penandaan estradiol-17 β -hemisuksinat dengan 125I sebagai radioligan. Studi ikatan radioligan dilakukan terhadap reseptor estrogen menggunakan sel MCF7. Penandaan dilakukan secara tidak langsung dengan dua tahap. Pertama dilakukan aktivasi estradiol-17 β -hemisuksinat menggunakan isobutylkloroformat dan tributilamin sebagai katalis, dan penandaan histamin dengan 125I menggunakan metode kloramin-T. Tahap kedua adalah konjugasi histamin bertanda 125I dengan estradiol-17 β -hemisuksinat yang sudah diaktivasi. Estradiol-17 β -hemisuksinat bertanda 125I dilakukan ekstraksi menggunakan toluen dan fase organik dimurnikan dengan sistem KLT. Rendemen pemurnian yang diperoleh sebesar 79,8% untuk ekstraksi pelarut dan 84,4% untuk sistem KLT dengan kemurnian radiokimia 97,8%. Penentuan afinitas ikatan dilakukan dengan metode SPA menggunakan sel MCF7 yang mengekspresikan reseptor estrogen, dan diperoleh Kd sebesar $7,192 \times 10^{-3}$ nM dan ikatan maksimum sebesar 336,1 nM. Afinitas ikatan estradiol-17 β -hemisuksinat yang diperoleh tinggi, ditunjukkan dengan nilai Kd yang rendah.

ABSTRACT

Research was carried out to get drugs that selective ligand and strongly bind estrogen receptors to determine the binding affinity to estradiol-17 β -hemisuccinate. To improve the status of these compounds as a candidate for breast cancer active compound, selectivity of these compounds for estrogen receptor was studied using Scintillation Proximity Assay (SPA) method. Primary reagents required in the SPA method was radioligand and receptors, then performed with 125I labeling of estradiol-17 β -hemisuccinate as a radioligand.

Radioligand binding studies were performed on MCF7 cell for estrogen receptor. The labeling process was performed by indirect method via two-stage reaction. First activation of estradiol-17 β -hemisuccinate using isobutylchloroformate and tributylamine as a catalyst, and labeling of histamine was carried out by 125I using Chloramin-T method. The second stage was conjugation of activated estradiol-17 β -hemisuccinate with 125I-histamine. The estradiol-17 β -hemisuccinate labeled with 125I was extracted

using toluene and organic phase was purified by TLC system. The obtained purification yield for the extraction solvent was 79.8% and for the TLC system was 84.4% with a radiochemical purity was 97.8%. Determination of binding affinity by the SPA method using MCF7 cell lines which express estrogen receptors, were K_d of 7.192×10^{-3} nM and maximum binding of 336.1 nM. Having obtained binding affinity of estradiol-17 β -hemisuccinate was obtained high, indicated by a low K_d values.