Jurnal Kimia Andalas, ISSN 0853-8018
Volume 4, Nomor 2, Tahun 1998 (89-98)

MENENTUKAN JENIS-JENIS METABOLIT AKTIF DARI HIDROKARBON AROMATIK POLISIKLIK

(The Study of Active Metabolites of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)

Theresia Sita Kusuma, Emdeniz, Hamzar Suyani

Laboratorium Kimia Fisika, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas, Padang 25163

INTISARI

Telah dilakukan penelitian untuk menentukan jumlah MA (radikal kation dan/atau radikal anion semikuinon) yang dapat dihasilkan suatu HKAP. Untuk itu dilibatkan enam HKAP berserta radikal kationnya (6 buah) dan isomer-isomer dion dari keenam HKAP (44 buah). HKAP itu adalah benzen, naftalen, antrasen, fenantren, trifenilen, dan benzo(c)fenantren. Setiap senyawa dioptimasi dengan metoda Calzaferri pada IBM-PC kompatibel (mikroprosesor AMD K5 PR 133 kecepatan 133 MHz memori 16 MB).

Hasil analisis senyawa yang telah dioptimasi memperlihatkan HKAP membentuk radikal kation yang toksik bila E_{HOMO} HKAP terletak dalam rentangan -12,715 → -13,140 eV dan kerapatan muatan positif maksimum (dari atom penyusun) radikal kation terletak dalam rentangan +0,140 → +0,309 A. Dion yang E_{LUMO} dan r_{CO} terletak dalam rentangan -10,940 → -11.120 eV dan 1,232 → 1,252 A cenderung membentuk radikal anion semikuinon yang toksik. Tetapi pada rentangan -10,940 → -11.120 eV dan > 1,252 A adalah tidak stabil, cenderung menjadi dihidroksi atau fenol. Sedangkan dion yang stabil mempunyai E_{LUMO} > -10,940 eV, dan dion dengan E_{LUMO} < -11, 120 eV cenderung mengalami *two electrons reduction.*

ABSTRACT

A computational work had been conducted to determine number of active metabolites produced from metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Those were benzene, naphthalene, anthracene, phenanthrene, triphenylene, and benzo(c)phenanthrene (BcF). Calzaferri methods, running on IBM-PC compatible microprocessor AMD K5 PR 133 speed 133 MHz

memory 16 MB, had been used to optimize those PAHs and their respective metabolites. Those were cation radicals (six compounds), and dions (44 compounds).

Results of these calculations indicated that a toxic cation radical was produced from a PAH with E_{HOMO} in the range of –12.715 to –13.140 eV and the net charge of the carbon atoms of the respective cation was in the range of +0.140 to +0.309. A dion with E_{LUMO} and r_{CO} were in the ranges of –10.940 to –11.120 eV and 1.232 to 1.252 A, respectively, was predicted to produce a toxic semiquinone anion radical. However, a dion with E_{LUMO} and r_{CO} were in the ranges of –10.940 to –11.120 eV and > 1.252 A, respectively, produced an unstable semiquinone. This was a precursor of dihyroxy or phenol compounds. A dion with E_{LUMO} > -10.940 eV was predicted to be stable, while with < -11.120 eV to undergo *two electrons reduction*.

PENDAHULUAN

Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (HKAP) banyak ditemukan di alam. Senyawa ini dimetabolis dalam tubuh menjadi metabolit aktif (MA), antara lain diol epoksida, radikal kation, radikal anion semikuinon; dan metabolit non-aktif (MnA), seperti kuinon, tetrol. MA dalam tubuh dapat berubah menjadi MnA atau berikatan dengan DNA membentuk kanker. MnA dikeluarkan dari tubuh. Baik MA maupun MnA terbentuk akibat proses oksidasi dan reduksi (langsung atau tidak langsung). Dikenal *one and two electrons oxidation* dan *one and two electrons reduction*[1]. Pada proses oksidasi, elektron yang berada pada orbital molekul tertinggi yang masih berisi elektron (HOMO) dilempar keluar. Jadi potensial oksidasi suatu molekul sebanding dengan E_{HOMO} (tingkat energy HOMO). Sedangkan pada proses reduksi, elektron luar akan masuk ke orbital molekul terendah yang tidak berisi elektron (LUMO). Atau potensial reduksi suatu senyawa sebanding dengan E_{LUMO}.

Peneliti yang menganggap MA suatu HKAP adalah diol epoksida tidak akan dapat membuktikan benzen itu karsinogen. Walaupun demikian kita harus hati-hati bekerja dengan benzen. Hal ini disebabkan karena MA benzen adalah radikal kation[2]. Demikian pula naftalen, MA-nya adalah radikal anion semikuinon[3]. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jumlah MA yang mungkin muncul selama proses metabolisme HKAP dalam tubuh.

Pada penelitian ini metoda Calzaferri[4] digunakan untuk mengoptimasi HKAP (6 buah) berserta MA-nya radikal kation (6 buah) dan MnA-nya kuinon (44 buah). HKAP yang dipelajari adalah benzen, naftalen, antrasen, fenantren, trifenilen, dan benzo(c)fenantren (BcF) (Gambar 1). Untuk setiap HKAP yang telah dioptimasi ditentukan E_{HOMO} (sebanding dengan

kemudahan HKAP mengalami *one and two electrons oxidation* yang berturut-turut membentuk radikal kation dan epoksida); untuk turunan kuinon E_{LUMO} (sebanding dengan kemudahan kuinon mengalami *one and two electrons reduction* yang berturut-turut membentuk radikal anion semikuinon dan hidrokuinon). Sedangkan untuk radikal kation ditentukan kerapatan ion positif (pada atom tertentu di dalam molekul). Di samping itu, untuk semua molekul yang diamati ditentukan pula E_{TOTAL}. Dalam suatu seri, makin negatif E_{TOTAL} makin stabil senyawanya.

Data komputasi ini digunakan untuk meramalkan kestabilan senyawa serta kemudahannya mengalami reaksi oksidasi-reduksi. Secara tidak langsung jenis MA atau MnA yang muncul pada metabolisme HKAP dapat ditentukan. Akibatnya mekanisme interaksi MA dengan DNA dapat dipelajari dengan lebih rinci.

METODOLOGI

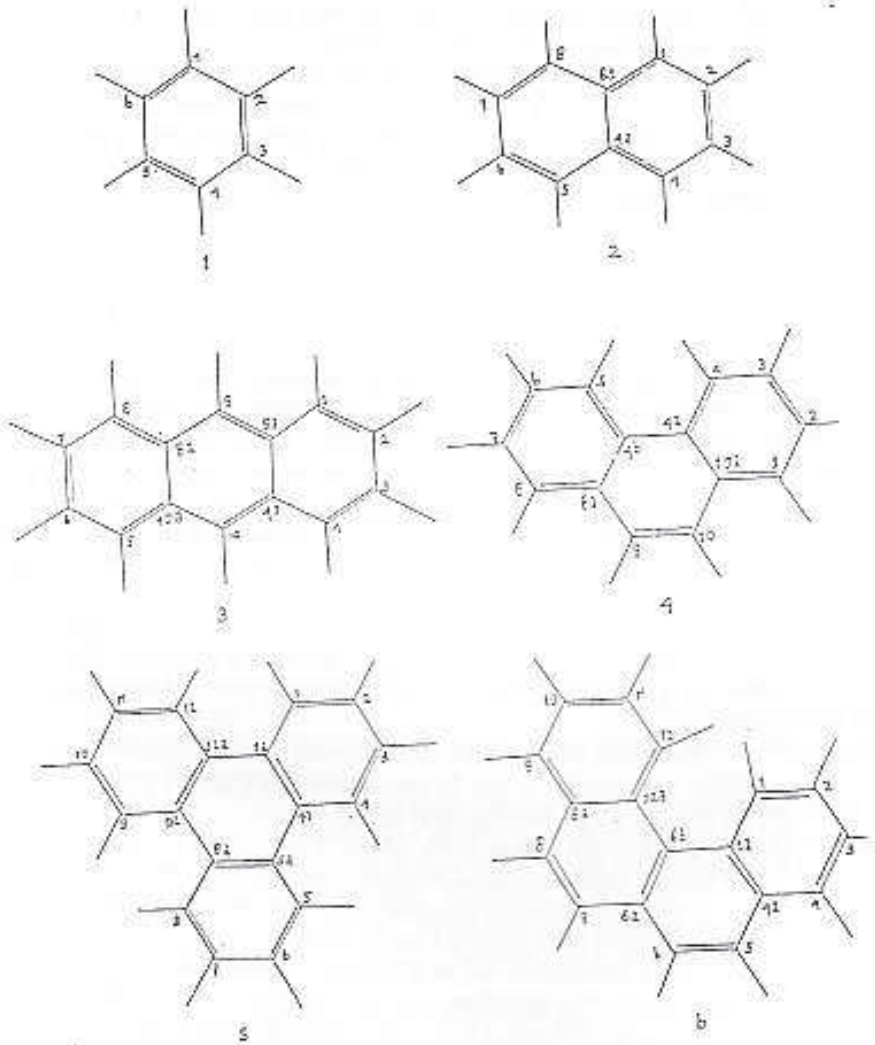
Dalam penelitian ini digunakan meteda komputasi, yaitu program Calzaferri. Program dijalankan dengan IBM-PC kompatibel mikroprosesor AMD K5 PR 133, kecepatan 133 MHz, dan memori 16 MB. Semua MA dan MnA yang mungkin muncul dari HKAP, dan HKAP itu sendiri dioptimasi secara manual (baik untuk optimasi tunggal maupun ganda). Masukan yang dibutuhkan program adalah koordinat internal masing-masing atom penyusun molekul (dalam angstrom dan derajat) dan parameter masing-masing atom. Di samping itu ada konstante κ dan δ yang erat kaitannya dengan kekuatan dan jarak ikatan antar atom. Parameter atom adalah jumlah elektron valensi atom, jenis-jenis orbital atom yang ditempati oleh elektron valensi (s, p, d, f) berserta potensial ionisasinya (IP, dalam eV) dan orbital eksponennya (ζ).

Parameter untuk semua atom tersedia dalam program. Tetapi dalam penelitian ini ζ orbital 2s dan 2p dari atom oksigen adalah 2,275. Sedangkan IP(2s) dan IP(2p)nya berturut-turut adalah –32,30 dan –14,80 eV. Konstante $(1+\kappa)$ dan δ untuk ikatan C=O adalah 2,10 dan 0,35. Sedangkan untuk ikatan lainnya digunakan *default values* yaitu 2,00 dan 0,35.

Luaran program memberikan informasi tentang panjang ikatan dan kerapatan muatan pada masing-masing atom penyusun molekul, kestabilan molekul serta kemudahan molekul mengalami reaksi oksidasi atau reduksi. Analisis luaran menghasilkan korelasi-korelasi yang dibutuhkan untuk menentukan jenis MA atau MnA yang muncul dari suatu HKAP.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini semua struktur yang diamati dibuat planar, sebab substituen hanya menimbulkan sedikit distorsi pada bentuk planar[1]. Penomoran atom-atom dalam molekul HKAP dapat dilihat pada Gambar 1.

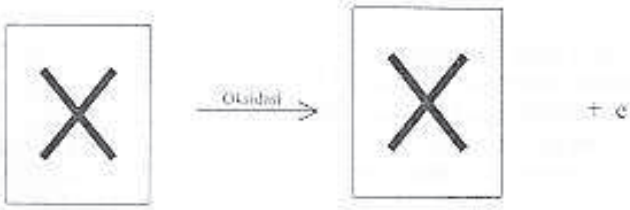


Gambar 1. HKAP induk yang diamati dalam penelitian ini
(1)benzen, (2)naftalen, (3)antrasen, (4)fenantren, (5)trifenilen, (6) BcF

Optimasi HKAP dan Kation Radikal Bersesuaian

One electron oxidation pada molekul benzen menghasilkan radikal kation benzen (benzen+.) (Gambar 2). Hasil optimasi kedua senyawa ini dipaparkan pada Tabel 1. Pada benzen muatan negatif relatif sebesar -0,0223 tersebar merata pada setiap atom C. Tetapi pada (benzen+.) muatan relatif positif yang maksimum (+0,3092) terdapat pada posisi 1,4 (atom C nomor 1 dan 4).

Data E_{HOMO} berserta kerapatan muatan maksimal HKAP dan (HKAP+.) bersesuaian (yang sudah dioptimasi) dicantumkan pada Tabel 2. Menurut Cremonesi *et al* [2] HKAP dengan rentangan potensial reduksi 7,0-7,5 eV cenderung membentuk kation radikal (ΔE = 0,5 eV). Tabel 2 memperlihatkan ΔE_{HOMO} benzen dengan naftalen adalah 0,423 eV (tidak berbeda banyak dengan 0,5 eV). Sedangkan muatan positif relatif yang maksimum pada (benzen+.) dan (naftalen+.) adalah 0,3092 dan 0,1406 (cukup besar). Jika hasil penelitian laboratorium dan komputasi digabungkan akan didapatkan: semua HKAP dapat membentuk (HKAP+.), tetapi hanya HKAP yang memenuhi korelasi (pertama) yang dapat membentuk (HKAP+.) yang toksik.



Benzen salah satu bentuk resonansi radikal kationnya

Gambar 2. Proses oksidasi satu elektron pada benzen

E_{HOMO} HKAP : -12,715 → -13,140 eV Korelasi pertama
Muatan (HKAP+.) : 0,309 → 0,140

Tabel 2 juga memperlihatkan muatan radikal kation naftalen kira-kira sama besar dengan antrasen. Meskipun demikian, menurut penelitian laboratorium MA antrasen bukanlah radikal kation. Hal ini mungkin disebabkan karena ukuran senyawa (antrasen+.) yang besar (dibanding dengan (naftalen+.)) yang menyebabkan radikal ini tidak dapat berinteraksi dengan DNA. Hal yang sama ditemui pada (BcF+.), muatan positif sebesar 0,1652 terakumulasi pada atom C sekutu (atom C yang dipakai bersama oleh dua atau tiga cincin). Disini (BcF+.) tidak reaktif sebab muatannya terperangkap diantara cincin-cincin.

Proses *two electrons oxidation* pada HKAP membentuk epoksida tidak dibahas dalam penelitian ini (menyusul).

Optimasi Turunan kuinon (Dion)

Gambar 3 memperlihatkan salah satu hasil oksidasi HKAP (disini benzen) adalah dion. Untuk benzen ada dua isomer dion yaitu posisi 1,2 (bersebelahan) dan posisi 1,4 (tidak bersebelahan). Selanjutnya dion-dion ini mengalami *one electron reduction* menghasilkan radikal anion semikuinon. Makin banyak jumlah cincin HKAP makin banyak isomer dionnya. Dalam penelitian ini dioptimasi sejumlah 44 buah dion. Sebahagian data hasil optimasi itu dicantumkan pada Tabel 3.

Tabel 1. Geometri benzen dan radikal kation dari benzen menurut metoda Calzaferri

Parameter	Benzen	(Benzen+.)
C=C (A)	1,4099	1,3785
C-C (A)	1,4099	1,4437
C_1-C_2-C_3 (°)	120,19	119,05
C_3-C_1-C_5 (°)	120,19	120,06
E_{HOMO} (eV)	-13,1388	-13,1065
Muatan atom C_1	-0,0223	+0,3092
Muatan atom C_2	-0,0223	+0,3902
Muatan atom C_2	-0,0223	+0,0591
Muatan atom C_3	-0,0223	+0,0591

Tabel 2. E_{HOMO} dan kerapatan muatan maksimal dari HKAP dan (HKAP+.) menurut metoda Calzaferri

Senyawa	E_{HOMO} (eV)	Muatan Positif	Muatan Negatif
Benzen	-13,1388		0,0223
Naftalen	-12,7159	0,0323 (s)	0,0343 (1,4)
Antrasen	-12,2874	0,0311 (s)	0,0505 (9,10)
Fenantren	-12,6282	0,0302 (s)	0,0374 (9,10)
Trifenilen	-12,6467	0,0197 (s)	0,0378 (1,4)
BcF	-12,4866	0,0327 (s)	0,0520 (1,12)
(Benzen+.)	-13,1065	0,3092 (1,4)	
(Naftalen+.)	-12,4792	0,1406 (1,4)	
(Antrasen+.)	-12,0902	0,1354 (9,10)	
(Fenantren+.)	-12,3749	0,1170 (9,10)	
(Trifenilen+.)	-12,4333	0,1180 (s)	
(BcF+.)	-12,3528	0,1652 (s)	

Keterangan: s = atom C sekutu, muatan pada atom H tidak diperhatikan, angka dalam tanda kurung adalah penomoran atom C dalam senyawa.

Dion posisi 1,4 (tidak bersebelahan) radikal anion semikuinon bersesuaian

Dion posisi 1,2 (bersebelahan) radikal anion semikuinon bersesuaian

Gambar 3. *One electron reduction* pada dion

Menurut Hodnett[5] meskipun naftalen-1,4-dion merupakan komponen aktif antitumor, senyawa ini cenderung tereduksi. Hasil reduksi antara lain adalah naftalen-1,2-dion yang reaktif. Menurut Hammock dan Zheng[6] diantara metabolit naftalen yang toksik dan reaktif adalah naftalen-1,4- dan -1,2-dion. Naftalen-1,4-dion berada dalam jumlah sedikit. Menurut Penning *et al* [3], senyawa dion bersebelahan mudah sekali mengalami *one electron reduction* secara enzimatik membentuk radikal anion semikuinon yang toksik.

Data Tabel 3 memperlihatkan senyawa dion bersebelahan (No 4, 11, 20, 21, 34, 43, dan 44) dan dion 1,4 (No. 1) mempunyai rentangan E_{LUMO} dan r_{CO} tertentu. Dari penggabungan hasil penelitian laboratorium dan data Tabel 3 dapat disimpulkan suatu dion dapat direduksi menjadi radikal anion semikuinon bila memenuhi korelasi:

E_{LUMO} dion	-10,940 → -11,120 eV	Korelasi kedua
r_{CO} dion	1,232→ 1,252 A	Katagori pertama

Tabel 3. Beberapa besaran senyawa dion (kuinon) menurut metoda Calzaferri

No	Senyawa dion (kuinon)	E_T (eV)	E_{LUMO} (eV)	R_{CO} (A)
1	1,4 benzokuinon	-81,7062	-10,9874	1,232
2	1,2 benzokuinon	-81,4004	-11,1190	1,235
3	naftalen-1,4-dion	-126,0175	-10,8078	1,242
4	naftalen-1,2-dion	-125,6878	-11,0254	1,243/1,245
5	naftalen-2,6-dion	-125,5712	-11,1730	1,253
6	naftalen-1,5-dion	-125,6110	-11,1734	1,263
7	naftalen-1,7-dion	-125,5497	-11,1878	1,249/1,265
8	naftalen-2,3-dion	-125,0007	-11,3807	1,242
9	antrasen-9,10-dion	-170,3046	-10,6286	1,251
10	antrasen-1,4-dion	-169,9824	-10,7444	1,250
11	antrasen-1,2-dion	-169,6698	-10,9472	1,249/1,252
12	antrasen-1,10-dion	-169,8480	-11,0118	1,277/1,260
13	antrasen-2,9-dion	-169,8052	-11,0546	1,284/1,251
14	antrasen-1,5-dion	-169,4786	-11,2128	1,282
15	antrasen-3,5-dion	-169,4656	-11,2456	1,295/1,267
16	antrasen-2,6-dion	-169,4426	-11,2628	1,277/1,276
17	antrasen-2,3-dion	-169,5917	-11,4976	1,245
18	fenantren-1,4-dion	-169,7780	-10,8968	1,243/1,238
19	fenantren-9,10-dion	-169,8324	-10,9213	1,245
20	fenantren-3,4-dion	-169,4975	-11,0562	1,243/1,244
21	fenantren-1,2-dion	-169,5412	-11,0704	1,242/1,243
22	fenantren-3,9-dion	-169,7458	-11,0740	1,260/1,256
23	fenantren-1,9-dion	-169,6709	-11,0920	1,256/1,260
24	fenantren-2,6-dion	-169,4104	-11,3249	1,276
25	fenantren-3,7-dion	-169,3904	-11,3287	1,274/1,280
26	fenantren-1,8-dion	-169,3211	-11,3322	1,275
27	fenantren-2,3-dion	-169,1657	-11,3325	1,241/1,252
28	fenantren-4,5-dion	-168,8927	-11,3444	1,253
29	fenantren-2,7-dion	-169,3408	-11,3541	1,266
30	fenantren-3,6-dion	-169,1684	-11,3644	1,273/1,252
31	fenantren-4,10-dion	-169,2044	-11,4140	1,267/1,279
32	fenantren-2,10-dion	-169,2079	-11,4767	1,303/1,244
33	trifenilen-1,4-dion	-213,4825	-10,9213	1,236
34	trifenilen-1,2-dion	-213,3116	-11,1040	1,241
35	trifenilen-2,7-dion	-213,4033	-11,3172	1,271
36	trifenilen-2,5-dion	-213,1666	-11,3191	1,254
37	trifenilen-2,3-dion	-213,2103	-11,3212	1,252
37	trifenilen-4,5-dion	-212,8101	-11,3482	1,253

39	trifenilen-1,8-dion	-212,6922	-11,5685	1,276
40	trifenilen-1,6-dion	-212,9193	-11, 5751	1,281/1,285
41	trifenilen-3,6-dion	-213,0444	-11,5968	1,284
42	BcF-5,6-dion	-213,0976	-10,9296	1,248/1,248
43	BcF-3,4-dion	-212,8740	-11,0727	1,247/1,239
44	BcF-1,2-dion	-212,5595	-10,9534	1,247/1,234

Ketergantungan proses *one electron reduction* pada r_{CO} dion telah dibuktikan pada penelitian berikutnya. Didapatkan r_{CO} radikal anion semikuinon 0,06-0,07 A lebih panjang daripada r_{CO} kuinon bersesuaian. Contoh: pada antrasen 2,9-dion, dengan salah satu r_{CO}-nya 1,284 A, didapatkan r_{CO} semikuinonnya 1,35 A [7]. Semikuinon ini diduga tidak stabil, berubah menjadi fenol atau dihidroksi (r_{CO} pada C-OH sekitar 1,35 A). Jadi apabila:

E_{LUMO} dion -10,940 → - 11,120 eV	Korelasi ketiga
r_{CO} dion > 1,252 A	Katagori kedua

maka kuinon membentuk radikal anion semikuinon yang kemudian terurai menjadi senyawa dihidroksi (sebagai produk tidak langsung dari *two electrons reduction*).

Kalau ditinjau dari seri dion yang mungkin dihasilkan suatu HKAP, dion yang paling stabil (mempunyai E_{TOTAL} yang paling negatif dalam serinya) selalu mempunyai E_{LUMO} > -10,940 eV (katagori ketiga). Misal pada seri fenantren adalah fenantren-9,10-dion (Tabel 3, No.19) pada seri antrasen adalah antrasen-9,10-dion (Tabel 3, No. 9). Sebagai katagori keempat adalah dion yang mempunyai E_{LUMO} < -11,120 eV. Diduga dion-dion ini tidak stabil, mungkin akan mengalami *two electrons reduction* membentuk fenol atau dihidroksi (memerlukan penelitian lebih lanjut).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dengan menggunakan ketiga korelasi diatas didapatkan, benzen mempunyai tiga jenis MA, radikal anion semikuinon yang berasal dari 1,4-benzokuinon dan 1,2-benzokuinon (Tabel 3, No. 1 dan 2), dan radikal kation benzen (Tabel 2) . Naftalen mempunyai dua jenis MA, radikal anion semikuinon yang berasal dari naftalen 1,2-dion (Tabel 3, No. 4) dan radikal kation naftalen. Antrasen, fenantren, trifenilen, dan benzo(c)fenantren MA-nya adalah radikal anion semikuinon dari dion bersebelahan. Pada fenantren dan BcF ada dua isomer dion bersebelahan yang reaktif (Tabel 3, No. 20 dan 21, No. 43 dan 44). Pada antrasen dan trifenilen hanya satu isomer dion yang reaktif (Tabel 3, No.11, dan No. 34).

Untuk mengetahui berapa total MA yang dapat dihasilkan oleh suatu HKAP, maka geometri serta sifat elektronik MA diol epoksida (termasuk *precursor-nya*) perlu dipelajari.

Ucapan Terima Kasih: Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dit. Binlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud yang telah memberikan dana No. 04/PPIPD/97/PPIPD/1997 sehingga penelitian ini dapat berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harvey, R. G., *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. Chemistry and Carcinogenicity*. Cambridge University Press, Cambridge, 1991.
2. Cremonesi, P., E. Rogan, and E. Cavalieri, Correlation Studies of Anodic Peak Potential and Ionization Potential for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. *Chem. Res. Toxicol.* 5, 346-355, 1992.
3. Penning, T. M., S. T. Ohnisi, T. Ohnisi, and R. G. Harvey, Generation of Reactive Oxigen Species during the Enzymatic Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Trans Dihydrodiols Catalized by Dihydrodiol Dihydrogenase. *Chem. Res. Toxicol.* 9, 84-92, 1996.
4. Calzaferri, G., and M. Brandle, *Quantum Chemistry Program Exchange* (QCMP Program No 116), Indiana University, Bloommington, Indiana 1993.
5. Hodnett, E., C. Wongwiechintana, W. J. Dunn III, and P. Marrs. Substituted 1,4-Naphthoquinones vs. the Ascitic Sarcoma 180 of Mice. *J. Med. Chem.* 26, 570-574, 1983.
6. Hammock B. D., and Jiang Zheng. Development of Polyclonal Antibodies for Detection of Protein Modification by 1,2-Naphthoquinone. *Chem. Res. Toxicol.* 9, 904-909, 1996.
7. Kusuma, T. S., dan Emdeniz, Optimasi Senyawa Anion Radikal Semikuinon dengan Metoda Calzaferri 1998. *Tidak dipublikasikan.*