

SYNTHESIS AND PHYSICO-CHEMISTRY PROPERTIES PREDICTION OF A NEW POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AGENT: DIACETYL PENTAGAMAVUNON-1

Sintesis Dan Prediksi Parameter Fisikokimia Senyawa Baru Berpotensi Anti-Inflamasi: Diasetil Pentagamavunon-1

Supardjan A. Margono^{a,*}, Pudjono^a, St. Layli Prasajo^b, Jeffry Julianus^a and Enade Perdana Istyastono^c

^aDepartment of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Sekip Utara Yogyakarta 55281

^bCentre for Education and Research ENADION - Yogyakarta

^cDepartment of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Sanata Dharma, Paingan, Maguwoharjo Yogyakarta 55281

Received 24 March 2006; Accepted 31 March 2006

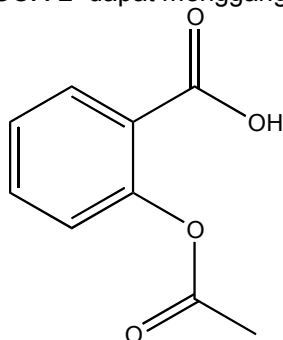
ABSTRACT

Synthesis and physicochemistry properties prediction of a potential anti-inflammatory agent, diacetyl pentagamavunon-1 (diacetyl PGV-1), has been done. The synthesis was using pentagamavunon-1 (PGV-1) ($2,87 \times 10^{-3}$ mole) and anhydride acetic acid (26×10^{-3} mole; 37×10^{-3} mole; 49×10^{-3} mole) as starting materials and NaOH ethanolic as a catalyst. The AM1 semiempirical quantum-chemical calculations using the computational chemistry approach was used to predict and compare the physicochemistry properties of diacetyl PGV-1 to PGV-1. Odorless, light-yellow powder has been obtained. The powder was 0.8512–0.9602 g (2.02×10^{-3} – 2.22×10^{-3} mole; 70.4–77.4%) and the purity of the powder was 92.4%. The purity of the product has been examined by high performance liquid chromatography (HPLC), while the structure elucidation has been done using IR (Infra Red), ¹H-NMR (Nuclear Magnetic Resonance) and MS (Mass Spectroscopy). The physicochemistry properties prediction showed that diacetyl PGV-1 was more hydrophobic than PGV-1.

Keywords: Anti-inflammatory, PGV-1, diacetyl PGV-1, AM1.

PENDAHULUAN

Asam asetil salisilat atau aspirin (Gambar 1) merupakan obat anti-inflamasi yang telah dipergunakan sejak 1897 dan hingga saat ini masih dipergunakan dan menarik perhatian peneliti terkait dengan mekanisme molekulernya [1]. Aspirin merupakan satu-satunya obat anti-inflamasi yang berikatan secara kovalen dengan siklooksigenase (COX), enzim yang bertanggung jawab pada pembentukan mediator inflamasi, prostaglandin [1,2]. Asetilasi residu serin 530 pada COX-1 dan residu serin 516 pada COX-2 dapat mengganggu metabolisme



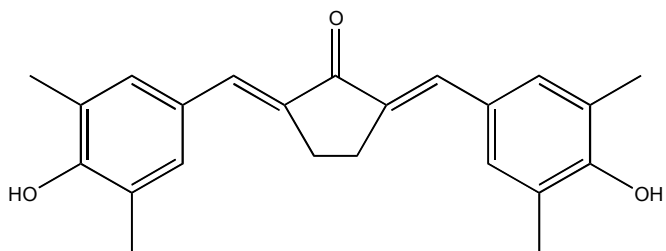
Gambar 1 Aspirin

asam arakidonat menjadi prostaglandin G2 (PGG2) melalui jalur COX dan mengganggu metabolisme prostaglandin H2 (PGH2) dari PGG2 [1,3,4].

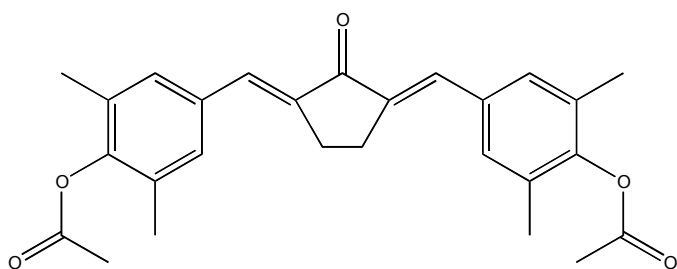
Berdasarkan hasil penelitian diketahui aspirin selektif terhadap COX-1 yang terkait dengan efek samping yang merugikan pada saluran pencernaan dan ginjal sehingga perlu dikembangkan senyawa yang selektif COX-2 [2]. Kalgutkar *et al.* menggunakan aspirin sebagai senyawa penuntun untuk pengembangan senyawa baru analog aspirin yang mampu mengasetilasi secara selektif COX-2 [1].

Senyawa 2,5-bis(4'-hidroksi-3',5'-dimetil-benziliden)-siklopentanon (Gambar 2) diketahui memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi [5], dan telah dipatenkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada dan diberi nama pentagamavunon-1 (PGV-1). Diasetil pentagamavunon-1 (diasetil PGV-1) (Gambar 3) merupakan bentuk ester asetat dari PGV-1. Esterifikasi PGV-1 merupakan salah satu modifikasi yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa turunan PGV-1 yang berpotensi memiliki aktivitas anti-inflamasi. Keberadaan gugus asetil pada diasetil PGV-1 juga diharapkan dapat seperti aspirin, yang dapat mengasetilasi residu serin 530 pada COX-1 dan residu serin 516 pada COX-2 [3] namun dengan selektivitas

* Corresponding author.



Gambar 2. PGV-1



Gambar 3. Diasetil PGV-1

pada COX-2 guna menghindari efek samping yang biasa dimiliki oleh obat anti-inflamasi non steroid [1-3].

Prediksi sifat fisikokimia dilakukan untuk membandingkan lipofilisitas diasetil PGV-1 dengan PGV-1. Diasetil PGV-1 diharapkan lebih lipofilik daripada PGV-1 sehingga lebih mudah diabsorpsi melalui membran. Prediksi sifat fisikokimia dilakukan menggunakan metode kimia komputasi semiempirik AM1. Metode semiempirik AM1 memberikan hasil analisis HKSA yang baik, seperti pada seri turunan kurkumin sebagai inhibitor GST kelas *mu* [6,7], dan sebagai antioksidan dibandingkan dengan metode PM3 [8]. Selain itu metode AM1 dapat digunakan untuk memprediksi struktur 3D dari 15-fenilprotoporfirin IX [9]. AM1 telah dikembangkan pula oleh Nakano *et al.* untuk mendapatkan metode baru perhitungan muatan bersih atom [10].

METODE PENELITIAN

Bahan

PGV-1 (Laboratorium Molnas UGM); natrium hidroksida, anhidrida asetat, etanol, asetonitril, dan amonium asetat. Semua bahan-bahan di atas buatan Merck dan berkualitas *pro analisis (p.a)*.

Alat

Sintesis Diasetil PGV-1

Termopan (Reichert Austria; Nr.340 579), spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), spektrofotometer UV-Vis (Spectronic Genesys 5 Milton Roy), spektrometer $^1\text{H-NMR}$ (JEOL-MY 60), spektrometer massa (Mariner Mass), *High Performance*

Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu), dan alat gelas pada umumnya.

Prediksi Parameter Fisikokimia

Perangkat keras berupa satu set komputer yang mampu melakukan perhitungan kimia komputasi. Perangkat lunak *CS ChemDraw Ultra* untuk pemodelan molekul dua dimensi (2D). Perangkat lunak *HyperChem Pro ver. 6.0* untuk melakukan perhitungan kimia kuantum dan prediksi sifat fisikokimia.

Prosedur penelitian

Sintesis Diasetil PGV-1

Senyawa PGV-1 sejumlah $2,87 \times 10^{-3}$ mol (1 g) dimasukkan dalam larutan 10% NaOH dalam etanol dan dihangatkan di atas *waterbath* pada suhu $50-60^\circ\text{C}$ sampai larut, yang ditandai dengan terbentuknya warna merah, kemudian didiamkan selama satu malam. Larutan tersebut kemudian ditambah dengan anhidrida asetat, diaduk selama tiga jam di atas *waterbath* pada suhu $50-60^\circ\text{C}$, dengan perbandingan mol PGV-1 : mol anhidrida asetat = 1:9; 1:13; 1:17. Endapan dikumpulkan dan dicuci dengan air sampai netral, kemudian dicuci dengan etanol. Analisis hasil dilakukan dengan mengukur titik lebur, dan dilanjutkan uji kemurnian dengan HPLC (kolom C18; fase gerak asetonitril : ammonium asetat 0,05 M = 70 :30). Elusidasi struktur dilakukan dengan spektrofotometri infra merah, spektrofotometri UV-Vis, spektroskopi resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$), dan spektroskopi massa.

Prediksi Parameter Fisikokimia

Senyawa PGV-1 dan diasetil PGV-1 dibuat struktur dua dimensi (2D) menggunakan paket program *CS ChemDraw Ultra*, kemudian dipindahkan ke paket program *HyperChem* dan dilakukan penambahan atom H untuk melengkapi strukturnya dan dibentuk menjadi struktur tiga dimensi (3D). Pada struktur 3D dilakukan optimasi sudut torsi substituen pada residu benzena. Optimasi sudut torsi dilakukan pada metode mekanika molekul MM+ menggunakan fasilitas *Potential* pada menu *Compute*.

Struktur yang terbentuk dioptimasi geometri menggunakan metode semiempirik AM1 yang disediakan oleh paket program *HyperChem* dengan algoritma Polak-Ribiere. Batas konvergensi ditentukan setelah tercapai gradien $0,001 \text{ kkal/\AA.mol}$.

Dilakukan perhitungan *Single Point* pada struktur hasil optimasi menggunakan metode semiempirik AM1. *Log file* perhitungan disimpan untuk mengetahui momen dipol (μ), dan panas pembentukan (ΔH_f) molekul hasil optimasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Diasetil PGV-1

Sintesis diasetil PGV-1 dilakukan tiga kali dengan perbandingan mol PGV-1 : anhidrida asetat: 1 : 9; 1 : 13; dan 1 : 17. Hasil sintesis diperoleh serbuk berwarna kuning terang. Serbuk yang diperoleh pada sintesis pertama sebesar 0,8512 g ($2,02 \times 10^{-3}$ mol; rendemen = 70,4%) dengan titik lebur 200-210 °C, pada sintesis kedua sebesar 0,9342 g ($2,18 \times 10^{-3}$ mol; rendemen = 76,1%) dengan titik lebur 197-202 °C dan pada sintesis ketiga sebesar 0,9602 g ($2,22 \times 10^{-3}$ mol; rendemen = 77,4%) dengan titik lebur 196-204 °C.

Kromatogram HPLC menunjukkan ada 2 puncak dengan puncak dominan ditunjukkan pada waktu retensi (Rt) = 6,61 menit, diduga merupakan senyawa diasetil PGV-1. Puncak pada Rt 6,61 menit tersebut memiliki luas area 92,4%. Setelah dilakukan pencucian dengan etanol, senyawa hasil sintesis mempunyai titik lebur 240,1-241,4 °C. Untuk memastikan struktur senyawa tersebut dilakukan elusidasi struktur secara spektrometri. Hasil uji spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa PGV-1 dalam etanol memiliki λ_{maks} = 406,0 nm, sedangkan senyawa hasil sintesis dalam etanol memiliki λ_{maks} = 367,0 nm. Hal ini menimbulkan dugaan awal bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa yang berbeda dengan PGV-1 dan diharapkan merupakan diasetil PGV-1.

Hasil uji spektrofotometri IR pada PGV-1 dan diasetil PGV-1 disajikan sebagai berikut:

- Bilangan gelombang puncak-puncak pada spektrum IR PGV-1 (dalam pelet KBr) = 3357,8 cm^{-1} (sedang); 2920,0 cm^{-1} (lemah); 1672,2 cm^{-1} (lemah); 1585,4 cm^{-1} (kuat); 1533,3 cm^{-1} (sedang).
- Bilangan gelombang puncak-puncak pada spektrum IR diasetil PGV-1 (dalam pelet KBr) = 2922,0 cm^{-1} (lemah); 1759,0 cm^{-1} (kuat); 1693,4 cm^{-1} (sedang); 1627,8 cm^{-1} (kuat); 1596,9 cm^{-1} (sedang).

Dari perbandingan spektrum IR tersebut terlihat bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa yang berbeda dari PGV-1 sebagai *starting material*. Analisis spektrum IR [11] menunjukkan bahwa produk merupakan PGV-1 yang telah kehilangan gugus hidroksil. Hal ini ditunjukkan dengan tidak munculnya puncak pada 3357,8 cm^{-1} yang ada pada spektrum IR PGV-1 di spektrum IR diasetil PGV-1. Spektrum IR juga menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan PGV-1 dengan tambahan gugus karbonil. Hal ini ditunjukkan pada spektrum IR diasetil PGV-1 oleh dua puncak yang tajam dan kuat pada 1627,8 cm^{-1} dan 1759,0 cm^{-1} , sedangkan pada spektrum IR PGV-1 hanya ada satu puncak yang tajam dan kuat pada 1672,2 cm^{-1} . Hal ini semakin memperkuat dugaan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan diasetil PGV-1.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ PGV-1 dan spektrum $^1\text{H-NMR}$ diasetil PGV-1 disajikan untuk mengidentifikasi posisi proton dalam PGV-1 maupun senyawa hasil sintesis. Hasil analisis [11] disajikan sebagai berikut:

- Spektrum $^1\text{H-NMR}$ PGV-1 (d_6 -DMSO) [5] = δ 2,24 ppm (*singlet* (s), 12 H, $-\text{CH}_3$); 3,04 ppm (s, 4H, siklopentanon- CH_2); 7,28 ppm (s, 6H, $-\text{CH}=\text{C}$ - dan Ar-H); 8,92 ppm (s, 2H, $-\text{OH}$).
- Spektrum $^1\text{H-NMR}$ diasetil PGV-1 (CDCl_3) = δ 2,24 ppm (s, 12 H, $-\text{CH}_3$); 2,4 ppm (s, 6H, $-\text{CO}-\text{CH}_3$); 3,1 ppm (s, 4H, siklopentanon- CH_2); 7,32 ppm (s, 4H, Ar-H); 7,5 ppm (s, 2H, $-\text{CH}=\text{C}$ -).

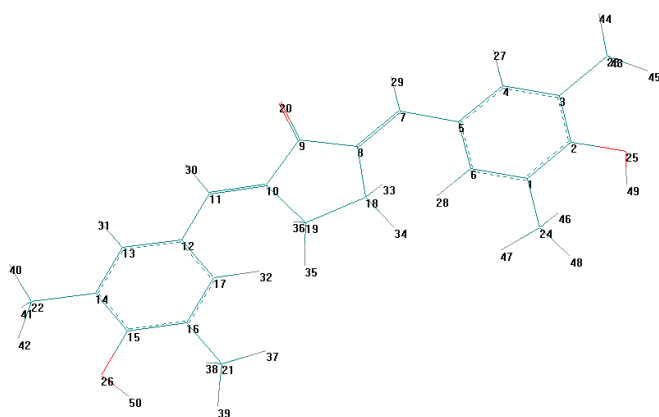
Dari perbandingan spektrum $^1\text{H-NMR}$ tersebut terlihat adanya substitusi proton hidroksi fenolik (δ 8,92 ppm) oleh proton residu asetil (δ 2,4 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa merupakan hasil diasetilasi dari PGV-1 dan semakin menegaskan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan diasetil PGV-1.

Hasil pengujian titik lebur dan HPLC mengindikasikan bahwa produk hasil sintesis tidak murni. Dari hasil MS diketahui bahwa pengotor memiliki $m/z = 391$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺, atau BM = 390 sma. Pengotor diduga merupakan monoasetil PGV-1 yang memiliki BM = 390 sma. Diasetil PGV-1 ditemukan sebagai puncak dengan $m/z = 433$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺, atau BM = 432 sma. Hal ini semakin menegaskan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan diasetil PGV-1.

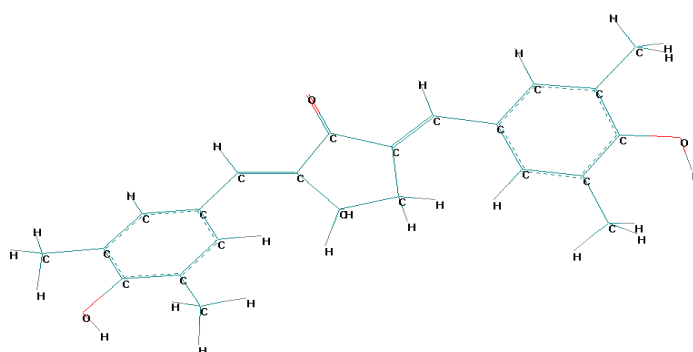
Prediksi Parameter Fisikokimia

Struktur 3D PGV-1 yang telah dilakukan optimasi sudut torsi substituen pada residu benzena disajikan pada Gambar 4, sedangkan struktur diasetil PGV-1 disajikan pada Gambar 5. Pada PGV-1 dilaporkan memiliki sudut torsi C15-C14-C22-H42 PGV-1 sebesar 0,0°, begitu pula sudut torsi C16-C15-O26-H50, C17-C16-C21-H37, C2-C3-C23-H45, C6-C1-C24-H47 dan C1-C2-O25-H49. Pada diasetil PGV-1 dilaporkan memiliki sudut torsi C3-C2-O25-C26 dan C14-C15-O29-C30 sebesar -90,0°, sudut torsi C2-O25-C26-O27 dan C15-O29-C30-O31 sebesar 0,0°, sudut torsi O25-C26-C28-H55 dan O29-C30-C32-H58 sebesar 180°, sudut torsi C4-C3-C23-H49 dan C13-C14-C22-H46 sebesar 15,0°, dan sudut torsi C2-C1-C24-H53 dan C15-C16-C21-H45 sebesar 45°. Struktur-struktur tersebut dijadikan titik awal optimasi geometri menggunakan metode kimia kuantum semiempirik AM1.

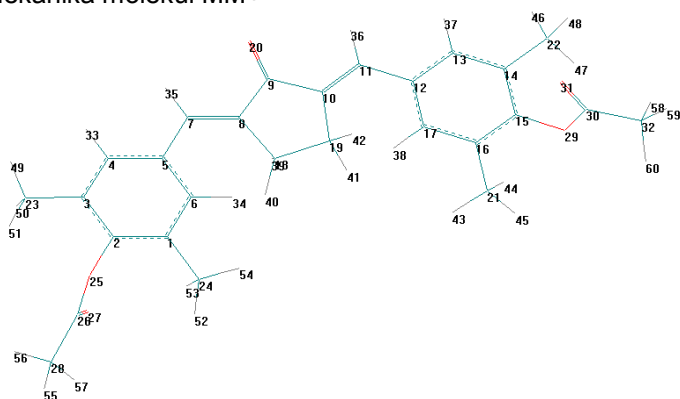
Struktur 3D hasil optimasi geometri dengan metode semi empirik AM1 PGV-1 disajikan pada Gambar 6, sedangkan diasetil PGV-1 disajikan pada Gambar 7. Baik PGV-1 maupun diasetil PGV-1 menunjukkan bahwa residu benzena dengan cincin siklopentanon tidak saling koplanar sehingga kerangka induk kedua senyawa tersebut tidak planar. Kurkumin, senyawa penuntun dalam pengembangan senyawa PGV-1 dan diasetil PGV-1, memiliki struktur 3D yang planar [6, 12-14]. Hal ini diduga disebabkan oleh halangan sterik yang ditimbulkan oleh residu cincin siklopentanon pada PGV-1 dan diasetil PGV-1 yang



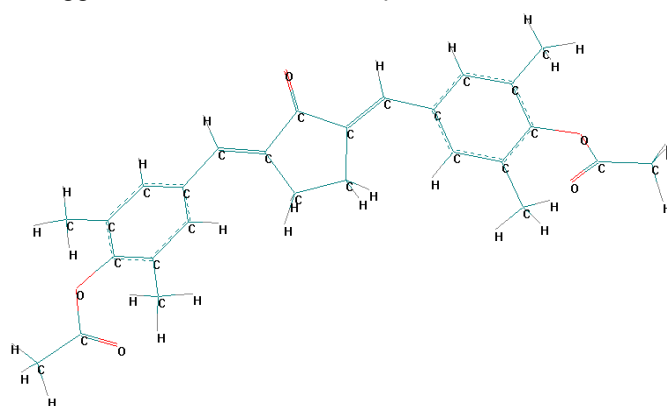
Gambar 4 Struktur 3D PGV-1 hasil optimasi sudut torsi substituen pada residu benzena menggunakan metode mekanika molekul MM+



Gambar 6 Struktur 3D PGV-1 hasil optimasi geometri menggunakan metode semi empirik AM1.



Gambar 5 Struktur 3D diasetil PGV-1 hasil optimasi sudut torsi substituen pada residu benzena menggunakan metode mekanika molekul MM+.



Gambar 7 Struktur 3D diasetil PGV-1 hasil optimasi geometri menggunakan metode semi empirik AM1.

menggantikan residu asetil aseton pada kurkumin. Perbedaan substituen pada cincin benzena diduga tidak berpengaruh pada planaritas kerangka induk, namun pada aktivitas biologis senyawa terkait dengan parameter hidrofobitas (lipofilisitas).

Hasil prediksi parameter hidrofobik senyawa, dalam hal ini menggunakan momen dipol menunjukkan bahwa asetilasi gugus hidroksi pada cincin benzena PGV-1 meningkatkan sifat hidrofobik. Diasetil PGV-1 memiliki momen dipol 2,431 *Debye* sedangkan PGV-1 memiliki momen dipol sebesar 4,610 *Debye*. Hal ini akan berpengaruh terhadap absorpsi senyawa dalam tubuh. Semakin hidrofobik (lipofil) maka senyawa akan lebih mudah diserap sehingga lebih mudah berinteraksi dengan reseptor dan menimbulkan aksi farmakologis, dengan demikian diasetil PGV-1 diharapkan memiliki aktivitas farmakologis yang lebih baik daripada PGV-1. Sebagai analgetik, diasetil PGV-1 dilaporkan lebih baik daripada PGV-1 [15].

Rendemen yang diperoleh dalam sintesis ini cukup tinggi, yaitu antara 70,4-77,4%. Hal ini diduga terkait dengan panas pembentukan (ΔH_f) produk yang jauh lebih rendah dibandingkan reaktan, dengan kata lain produk relatif stabil dibandingkan reaktan sehingga reaksi cenderung berjalan ke arah produk. Hasil prediksi

parameter fisikokimia menunjukkan bahwa diasetil PGV-1 memiliki $\Delta H_f = -139,019$ kkal/mol relatif stabil dibandingkan PGV-1, $\Delta H_f = -76,041$ kkal/mol.

KESIMPULAN

1. Diasetil PGV-1 dapat disintesis dari PGV-1 dan anhidrida asetat sebagai *starting material* dan NaOH sebagai katalis dengan rendemen 70,4-77,4% dan kemurnian 92,4%.
2. Diasetil PGV-1 relatif lebih hidrofobik daripada PGV-1.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kalgutkar, A.S., Crews, B.C., Rowlinson, S.W., Garner, C., Seibert, K., Marnett, L.J., 1998, *Science*, 280, 1268-1270.
2. Hamor, G.H., 1989, Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, in *Principle of Medicinal Chemistry*, Edited by: W.O. Foye, Lea & Febiger, Philadelphia, 503-530.
3. Vane, J.R., and Botting, R.M., 1996, Overview-Mechanism of Action of Anti-inflammatory Drugs in *Improved Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs*

- COX-2 Enzyme Inhibitors, Eds. Vane, S.J., Botting, J., and Botting, R., Kluwer Academic Publishers and William Harvey Press, Great Britain, 1-28.
4. Van Bladeren, P.J. and Van Ommen, B., 1991, *Pharmacol. Ther.*, 51, 35-46.
 5. Sardjiman, 2000, *Synthesis of some new series of curcumin analogues, anti-oxidative, anti-inflammatory, antibacterial activities and qualitative structure-activity relationship*, PhD Thesis, Gadjah Mada University, Yogyakarta.
 6. Istyastono, E.P., Sudibyo, M., Pranowo, H.D., dan Tahir, I., 2003, *Indo. J. Chem.*, 3 (3), 179-185.
 7. Istyastono, E.P. dan Sudibyo, M., 2005, *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (4), 204-213.
 8. Sudarmanto, B.S.A., 2002, *Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Seri Senyawa Analog Kurkumin Sebagai Antioksidan Menggunakan Deskriptor Berdasarkan Perhitungan Kimia Kuantum*, Tesis S2, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
 9. Wang, J., Niemevs, F., Lad, L., Huang, L., Alvares, D.E., Buldain, G., Poulos, T.L., and de Montellano, P.R.O., 2004, *J. Biol. Chem.*, 279 (41), 42593-42604.
 10. Nakano, T., Kaminuma, T., Uebayasi, M., and Nakata, Y., 2001, *Chem-Bio Inform. J.*, 1 (1), 35-40.
 11. Silverstein, R.M. and Webster, F.X., 1998, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th edition, John Wiley & Sons, Inc, Canada.
 12. Nurfini, A.N., Reksohadiprojo, M.S., Timmerman, H., Jenie, U.A., Sugiyanto, D., and Van der Goot, H., 1997, *Eur. J. Med. Chem.*, 32, 321-328.
 13. Supardjan, A. M., 1999, *Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Some 4-substitued Curcumin Derivatives*, PhD Thesis, Gadjah Mada University, Yogyakarta.
 14. Istyastono, E.P., Supardjan, A.M., dan Pranowo, H.D., 2003, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14 (3), 107-113.
 15. Septika, E., 2005, *Uji Efek Analgetik Diasetil Pentagamavunon-1 pada Mencit Jantan Galur BALB/C dengan Metode Rangsang Kimia*, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.