

SYNTHESIS NEW POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AGENT SODIUM SALT OF PENTAGAMAVUNON-0

Sintesis Senyawa Baru Berpotensi Anti-Inflamasi: Garam Natrium Dari Pentagamavunon-0

Enade Perdana Istyastono

Lab. Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Rr. Sri Untari Siwi S.M.P

Program Studi Farmasi, Universitas Jember

Andreas Asdi Utama

Divisi Falcon, Marketing Dept., PT. Kalbe Farma Tbk., Jakarta

Supardjan A.M

Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Gadjah Mada University, Yogyakarta

Received 27 July 2004; Accepted 12 October 2004

ABSTRACT

Inflammation is the response of living tissues to injury. The process affects physiological changes such as erythema, edema, asthma and fever. Non-steroid Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) have been developed since they could inhibit inflammation process because of its ability to inhibit biosynthesis of prostaglandin, one of inflammation mediators, through inhibition of cyclooxygenase (COX) enzymes. Molecules, which have been reported having anti-inflammatory activity, for example, are curcumin, some curcumin derivatives and curcumin analogues. One of curcumin analogues that has been developed is pentagamavunon-0 (PGV-0) whose IUPAC name is 2,5-bis(4'-hidroxy-3'-metoxy-benzylidene)cyclopentanone. But PGV-0, which is like curcumin, practically insoluble in water, so it causes problems in the development. The aim of this research is to synthesize a derivative of PGV-0, a natrium salt of PGV-0 (natrium pentagamavunonate-0/Na-pentagamavunonate-0), which is hoped to have a better anti-inflammatory activity and solubility in water than PGV-0. PGV-0 was synthesized by reacting vanillin and cyclopentanone catalized by acid. Na-pentagamavunonate-0 was synthesized with PGV-0 as a starting material using an appropriate method. This research was able to synthesize new compound that was estimated as a natrium salt of PGV-0 (natrium pentagamavunonate-0/Na-pentagamavunonate-0).

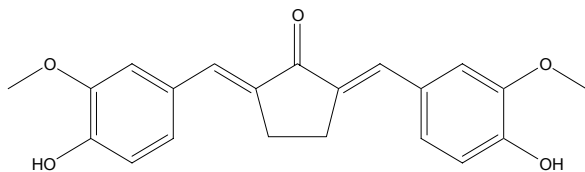
Keywords: *Curcumin, PGV-0, Na-pentagamavunonate-0, anti-inflammation.*

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon jaringan hidup karena adanya luka pada dirinya. Proses tersebut mengakibatkan perubahan fisiologis antara lain eritema, udem, asma dan demam [1]. Obat-obat anti-inflamasi non-steroid menghalangi proses inflamasi karena memiliki kemampuan menghambat biosintesis prostaglandin, salah satu mediator inflamasi [2] melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX) [1] dan/atau glutation S-transferase (GST) kelas μ [3,4].

Senyawa-senyawa yang telah dikembangkan sebagai senyawa anti-inflamasi non-steroid antara lain senyawa-senyawa turunan dan analog

kurkumin [5-7]. Kurkumin adalah senyawa berwarna kuning oranye yang terdapat dalam rhizoma *Curcuma longa* L. [8]. Kurkumin mempunyai sejumlah aktivitas farmakologis antara lain sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antimutagenik, antiviral, antitrombotik, antimikrobia, antiparasitik, agen bioprotektif dan kemopreventif [9]. Salah satu senyawa analog kurkumin yang telah dikembangkan oleh Tim Molekul Nasional (MOLNAS) Fakultas Farmasi UGM bekerja sama dengan P.T. Indofarma Tbk. dan P.T. Kalbe Farma Tbk. sebagai senyawa anti-inflamasi adalah pentagamavunon-0 (PGV-0) dengan nama kimia 2,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksi-benzilidin)siklopentanon (Gambar 1) [10].



Gambar 1 Struktur molekul PGV-0

Penelitian terdahulu menginformasikan bahwa PGV-0 memiliki aktivitas antioksidan [11], aktivitas penghambatan enzim siklooksigenase [12], serta aktivitas anti-inflamasi [7]. Efek anti-inflamasi dari PGV-0 telah dipatenkan di Indonesia, Amerika dan beberapa negara di Eropa. Namun senyawa PGV-0 tidak dapat dipatenkan karena pernah disintesis oleh Razdan dan Sudgen [13] sebagai pH indikator [10].

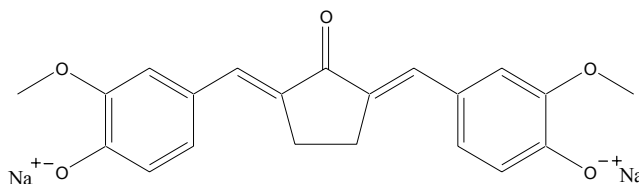
Penelitian yang lain menunjukkan bahwa PGV-0 diketahui tidak menyebabkan ulkus pada lambung tikus [14] meskipun sebagian besar obat anti-inflamasi non steroid menunjukkan efek samping pada saluran cerna [15]. Pada penelitian uji toksisitas akut dan subkronis PGV-0 tidak menunjukkan efek toksik pada kimia darah dan kimia urine [16,17]. Dengan demikian PGV-0 dianggap menjanjikan untuk dikembangkan sebagai bahan obat anti-inflamasi non-steroid yang dapat bersaing di pasaran namun kendala utama yang dihadapi dalam pengembangan adalah bahwa PGV-0 sangat sukar larut dalam air [10]. Diketahui bahwa bioavailabilitas dari obat-obat sedikit larut dalam air dipengaruhi oleh kecepatan disolusi dalam saluran pencernaan. Hal ini sering menimbulkan permasalahan dalam efikasi dan keamanan [18].

Pada penelitian terdahulu ditunjukkan bahwa garam dari kurkumin, yaitu natrium kurkuminat memiliki aktivitas anti-inflamasi sangat baik (aktivitas anti-inflamasi natrium kurkuminat dua kali lebih besar daripada aktivitas anti-inflamasi kurkumin) [19]. Diketahui pula bahwa obat dalam bentuk garam yang dapat terionisasi, lebih larut dalam air daripada dalam kondisi asam atau basa bebas [20]. Oleh sebab itu perlu dilakukan sintesis senyawa baru natrium pentagamavunonat-0 (Gambar 2) yang merupakan garam natrium dari PGV-0 dan diharapkan memiliki kelarutan dalam air dan aktivitas anti-inflamasi yang lebih baik daripada PGV-0.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan meliputi siklopentanon, vanilin (Sigma USA), natrium hidroksida p.a., asam klorida pekat p.a., metanol



Gambar 2 Usulan struktur natrium pentagamavunonat-0

p.a., etanol p.a., aseton p.a., kloroform (CHCl₃) p.a., DMSO (dimetil sulfoksida) p.a., tetrahidrofuran (THF) p.a., carbon tetraklorida (CCl₄) p.a., asam asetat p.a., Na₂SO₄ anhidrat p.a., etil asetat p.a. (E-Merck Germany), dan akuades (hasil destilasi laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM).

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan meliputi seperangkat alat sintesis, termopan (Reichert Austria; Nr. 340 579) dan spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC) serta alat-alat gelas yang lazim digunakan dalam laboratorium analisis.

Prosedur Penelitian

Pembuatan natrium etoksida

Natrium hidroksida 1 g ($2,5 \times 10^{-2}$ mol) dilarutkan dalam etanol 20 mL dengan bantuan pemanasan sampai larut. Ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat 1 g, didiamkan 24 jam. Didekantasi untuk diambil dekantirnya.

Pembuatan etanol kering

Pada etanol 400 mL ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat 30 g. Didiatkan 24 jam. Didestilasi untuk diambil destilatnya.

Sintesis PGV-0

Sintesis PGV-0 menggunakan metode dari Tim Molekul Nasional (MOLNAS) Fakultas Farmasi UGM [10] yang dimodifikasi.

Sebanyak 499,78 g (3,28 mol) vanilin direaksikan dengan siklopentanon 158,65 g (1,89 mol) dengan pengadukan (pengaduk listrik motorik) sampai homogen. Kemudian ditambahkan katalis asam klorida pekat 16,5 mL dengan pengadukan (pengaduk listrik motorik) sampai pekat dan homogen. Pengadukan dilakukan dalam suhu kamar. Kemudian campuran tersebut didiamkan selama 48 jam. Isolasi senyawa hasil sintesis dilakukan dengan maserasi dengan asam asetat:akuades (1:1) dingin sampai filtrat jernih. Kemudian dilakukan pencucian residu dengan akuades panas hingga pH filtrat netral. Residu disaring dan dikeringkan.

Analisis kemurnian hasil sintesis menggunakan beberapa metode yaitu pemeriksaan jarak lebur, spektroskopi inframerah dan organoleptis.

Sintesis natrium pentagamavunon-0

Sintesis dilakukan menggunakan metode sintesis natrium kurkuminat dari kurkumin [19] yang dimodifikasi.

PGV-0 1 g ($2,84 \times 10^{-3}$ mol) dilarutkan dalam etanol kering (dry ethanol) 250 ml dengan bantuan pemanasan (suhu 88°C) dan pengadukan (stirer) hingga PGV-0 larut. Kemudian pada kondisi yang sama ditambahkan natrium etoksida (NaOC_2H_5) 1 mL setiap 5 menit hingga 6 mL ($\pm 88,24 \times 10^{-3}$ mol). Reaksi dijalankan selama ± 10 jam. Hasil reaksi disaring dan dikeringkan.

Analisis kemurnian hasil sintesis menggunakan beberapa metode yaitu pemeriksaan jarak lebur, spektroskopi inframerah dan organoleptis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

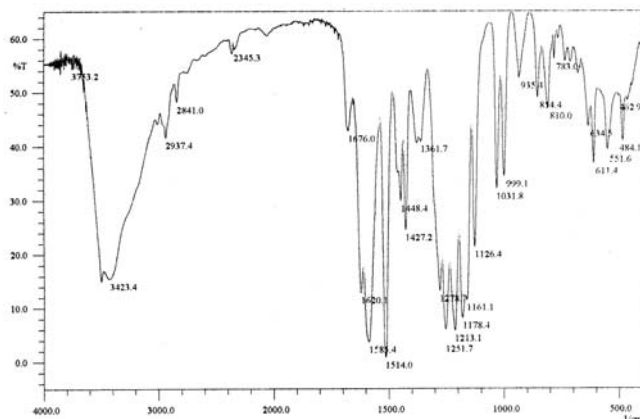
Sintesis Pentagamavunon-0 (PGV-0)

Pada sintesis PGV-0 ini didapat hasil sintesis sebanyak 434,67 g dengan titik lebur 212°C (replikasi I) dan 214°C (replikasi II) menggunakan alat uji jarak lebur / termopan. Hasil pemeriksaan

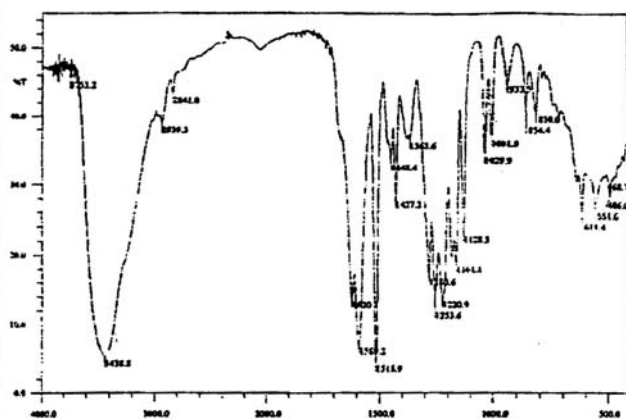
menggunakan spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC) ditunjukkan pada Gambar 3 dan dianalisis pada Tabel 1. Pemerian senyawa PGV-0 hasil sintesis pada penelitian ini adalah serbuk kuning, tidak berbau, tidak berasa namun menyebabkan lidah khelat.

Hasil sintesis sebanyak 434,67 g atau 75,29 % dari hasil teoretis merupakan rendemen yang sesuai dengan Laporan Penelitian Proyek MOLNAS I [10] yang menyatakan bahwa rendemen sintesis PGV-0 berkisar antara 60 % hingga 80 %.

Pemeriksaan jarak lebur hanya menunjukkan titik lebur pada 212°C (replikasi I) dan 214°C (replikasi II) sehingga PGV-0 hasil sintesis pada penelitian ini dinyatakan murni secara titik lebur. PGV-0 hasil sintesis memiliki jarak lebur rata-rata 212°C - 214°C [7]. Pada pemeriksaan crude PGV-0 (PGV-0 yang belum dimurnikan) selain jarak leburnya lebih rendah dari 212°C , pada suhu sekitar 80°C tercium bau vanilin. Pada senyawa hasil sintesis pada penelitian ini pada suhu tersebut tidak tercium bau vanilin. Pemerian PGV-0 hasil sintesis pada penelitian ini yaitu serbuk kuning, tidak berbau, tidak berasa namun menyebabkan lidah khelat juga sesuai dengan pemerian senyawa PGV-0 standar [7]. Pada pemeriksaan dengan spektrofotometer IR didapat spektra (Gambar 3) yang identik dengan spektra senyawa PGV-0 standar [7] (Gambar 4) terutama pada daerah *finger*



Gambar 3 Spektra IR senyawa PGV-0 hasil sintesis



Gambar 4 Spektra IR senyawa PGV-0 standar [7]

Tabel 1 Analisis vibrasi gugus fungsional senyawa PGV-0 hasil sintesis

| Pita-pita absorbansi pada bilangan gelombang (cm^{-1}) | Intensitas | Gugus fungsional |
|---|------------|-------------------------------------|
| 3423,4 | Sedang | Vibrasi rentangan -OH |
| 1620,1 | Lemah | Vibrasi rentangan C=O |
| 1585,4 dan 1514,0 | Tajam | Vibrasi rentangan C=C aromatis khas |
| 1126,4 | Tajam | Vibrasi rentangan C-O |
| 1427,2 | Sedang | Vibrasi bengkokan metilen |
| 810,0 | Tajam | Vibrasi bengkokan C-H aromatis |

Tabel 2 Analisis vibrasi gugus fungsional senyawa natrium pentagamavunonat-0 hasil sintesis

| Pita-pita absorbansi pada bilangan gelombang (cm^{-1}) | Intensitas | Gugus fungsional |
|---|------------|--------------------------------|
| 3438,4 | Sedang | Vibrasi rentangan -OH |
| 1573,8 | Tajam | Vibrasi rentangan C=O |
| 1492,8 | Tajam | Vibrasi rentangan C=C aromatis |
| 1429,2 | Sedang | Vibrasi bengkokan metilen |
| 1126,4 | Tajam | Vibrasi rentangan C-O |
| 1427,2 | Sedang | Vibrasi bengkokan metilen |
| 821,6 | Tajam | Vibrasi bengkokan C-H aromatis |

print ($900\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$), sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis pada sintesis PGV-0 dalam penelitian ini adalah PGV-0.

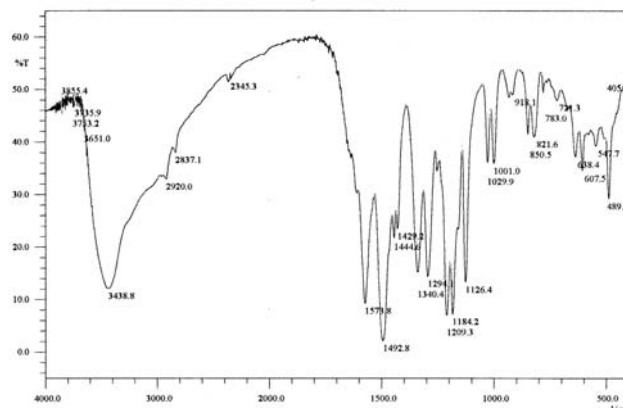
Berdasar pada analisis secara organoleptis, spektroskopi IR dan analisis jarak lebur dapat dilaporkan bahwa senyawa yang disintesis pada sintesis PGV-0 dalam penelitian ini adalah PGV-0.

Sintesis Natrium Pentagamavunonat-0

Pada sintesis garam natrium dari PGV-0 atau natrium pentagamavunonat-0 ini didapat hasil sintesis berupa *crude* natrium pentagamavunonat-0 (natrium pentagamavunonat-0 yang belum dimurnikan) sebanyak 1,53 gram dengan titik lebur $>250\text{ }^{\circ}\text{C}$ (batas kemampuan termopan) menggunakan alat uji jarak lebur/termopan. Hasil pemeriksaan menggunakan spektrofotometer IR ditunjukkan pada Gambar 4 dan dianalisis pada Tabel II. Pemerian senyawa natrium pentagamavunonat-0 hasil sintesis pada penelitian ini adalah serbuk merah kehitaman, tidak berbau, tidak berasa namun menyebabkan lidah khelat.

Hasil sintesis sebanyak 1,53 gram atau 139 % dari hasil teoretis menimbulkan dugaan bahwa senyawa ini higroskopis seperti halnya banyak garam-garam organik lainnya dan belum murni sehingga masih banyak kontaminan di dalamnya. Kemungkinan lain yang juga dapat menjelaskan fenomena ini adalah bahwa etanol yang digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini dapat mensolvasi ion negatif [21], dalam hal ini ion pentagamavunonat-0, sehingga etanol tersebut turut serta pada proses kristalisasi Na-pentagamavunonat-0 sehingga ada kemungkinan terbentuk Na-pentagamavunonat-0 yang beretanol kristal. Etanol tersebut sangat boleh jadi memberi kontribusi timbulnya vibrasi rentangan -OH pada spektra IR Na-pentamavunonat-0 ($3438,4\text{ cm}^{-1}$).

Dari analisis spektra IR (Gambar 5 dan Tabel 2) diketahui bahwa didapati gugus hidroksil (-OH) yang diharapkan tidak ada karena unsur hidrogen pada gugus hidroksil PGV-0 telah disubstitusi oleh natrium. Keberadaan gugus hidroksil diduga dari sifat higroskopis pelet KBr yang digunakan dalam



Gambar 5 Spektra IR senyawa natrium pentagamavunonat-0 hasil sintesis

instrumentasi spektrofotometer IR [22] ataupun sifat higroskopis dari garam natrium dari PGV-0.

Pada pemeriksaan jarak lebur, hingga batas kemampuan termopan yaitu $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, senyawa ini belum melebur. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut bukanlah suatu senyawa organik, melainkan dapat berupa suatu garam dari senyawa organik. Hasil tersebut memperkuat dugaan bahwa senyawa yang disintesis merupakan garam dari senyawa organik, dalam hal ini garam natrium dari PGV-0 atau natrium pentagamavunonat-0.

Pada pemeriksaan dengan spektrofotometer IR didapat spektra (Gambar 4) yang berbeda dengan spektra senyawa PGV-0 baik hasil sintesis Sardjiman [7] (Gambar 3) maupun hasil sintesis pada penelitian ini (Gambar 2). Sehingga dapat dilaporkan bahwa senyawa hasil sintesis pada sintesis natrium pentagamavunonat-0 dalam penelitian ini bukanlah PGV-0 melainkan diduga garam natriumnya yaitu natrium pentagamavunonat-0.

Ketidakstabilan senyawa ini pada suasana asam diketahui ketika dilakukan uji kelarutan pada berbagai macam pelarut. Pada pelarut yang bersifat asam lemah, seperti etanol maupun air, setelah beberapa waktu akan timbul endapan kuning yang diduga merupakan kristal PGV-0. Pada saat

Tabel 3 Kelarutan PGV-0 dan garam natriumnya pada berbagai pelarut

| Pelarut | PGV-0 | Natrium Pentagamavunonate-0 |
|-------------------|-------------|-----------------------------|
| Akuades | Tidak larut | Larut |
| Etanol | Larut | Larut |
| Metanol | Larut | Larut |
| DMSO | Larut | Larut |
| THF | Larut | Tidak larut |
| Etil asetat | Larut | Tidak larut |
| CCl ₄ | Larut | Tidak larut |
| CHCl ₃ | Tidak larut | Tidak larut |

dicobakan larutan garam ini ditambah setetes asam klorida pekat maka seketika larutan berwarna merah berubah menjadi suspensi dengan endapan berwarna kuning yang diduga kristal PGV-0.

Berdasar pada analisis secara organoleptis, spektroskopi IR dan analisis jarak lebur serta perbedaan kelarutan (Tabel 3) dapat diduga bahwa senyawa natrium pentagamavunonate-0 yang disintesis dalam penelitian ini adalah garam natrium dari PGV-0.

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mensintesis senyawa baru yang diduga merupakan garam natrium dari PGV-0 (Na-pentagamavunonate-0) dengan kelarutan dalam air yang lebih baik daripada PGV-0 dan diharapkan memiliki aktivitas anti-inflamasi yang lebih baik daripada PGV-0.

UCAPAN TERIMA KASIH

Diucapkan terima kasih kepada Proyek MOLNAS Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada yang telah mengakomodasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Vane, J.R. and Botting, R.M., 1996, Overview - Mechanism of Action of Anti-Inflammatory drugs, in Vane, J.R., Botting, J., Botting R., (Eds.), Improved Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs COX-2 Enzyme Inhibitors, *Proceedings of a conference*, October 10-11, 1995, Regent's College, London, United Kingdom, 1-28
- Hamor, G.H., 1989, Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, in W.O. Foye (Ed), *Principle of Medicinal Chemistry*, Lea & Febiger, Philadelphia
- Ujihara, M., Tsuchida, S., Satoh, K., Sato, H., and Urade, Y., 1988, *Archs. Biochem. Biophys.*, 264, 428-437
- Van Bladeren, P. J. and Van Ommen, B., 1991, *Pharmacol. Ther.*, 51, 35-46
- Nurfina, A.N., 1994, *The Synthesis of Some Symmetrical Curcumin Derivatives and The Study of Their Anti-inflammatory Activities as well as Structure-Activity Relationship*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta
- Supardjan, A. M., 1999, *Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Some 4-substitued Curcumin Derivatives*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta
- Sardjiman, 2000, *Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, Antibacterial Activities and Qualitative Structure-Activity Relationship*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia
- Tonnesen, H. H., 1989, *Int. J. Pharm.*, 51, 179-181
- Majeed, Badmaev, V., Shivakumar, U., Rajenaran, R., 1995, Curcuminoid Antioxidant Phytonutrients, *Nutriscience Publishers Inc.*, Pistacaway, New Jersey
- Anonim, 2001, *Laporan Penelitian Proyek MOLNAS I*, Kerjasama Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, P.T. Indofarma Tbk. Jakarta, dan P.T. Kalbe Farma Tbk. Jakarta
- Da'i, M., 1998, *Pengaruh Gugus β Diketon Terhadap Daya Mereduksi Kurkumin dan Turunannya pada Ion Ferri*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Nurrochmad, A., 1997, *Penghambatan Biosintesis Prostaglandin Melalui Jalur Siklooksigenase oleh Siklovalon dan Tiga Senyawa Analognya*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Razdan, B.K., and Sudgen, J.K., 1970, *Chem. Ind*, 685-686
- Wahyuni, A. S., 1999, *Perbandingan Daya Ulserogenik antara Senyawa Pentagamavunon-0 dan Asetosal pada Lambung Tikus Putih*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

15. Donatus, I.A., 1994, *Antaraksi Kurkumin Dengan Parasetamol: Kajian Terhadap Efek Farmakologi dan Toksikologi*, Dissertation, Gadjah Mada University, Yogyakarta
16. Budisulistyo, W, 1999, *Uji Ketoksikan Akut Senyawa Anti-inflamasi Non-Steroid Baru (PGV-0) pada Tikus Putih*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
17. Setyawati, W., 2000, *Uji Toksisitas Subkronis Senyawa Anti-inflamasi Pentagamavunon-0 pada Tikus Putih*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
18. Tokumura, T., Tshusima, Y., Tasuishi, K., Masanori, K., Machida, Y., and Nagai., T., 1987, *J. Pharm. Sci.*, 76, 286-288
19. Mukhopadhyay, A., Basu, N., Ghatak, N., and Gujral, P.N., 1982, *Agent and Action*, 12, 508-515
20. Martin, A., 1993, *Farmasi Fisik: Dasar-Dasar Kimia Fisik Dalam Ilmu Farmasetik*, Edisi III, UI Press, Jakarta
21. Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1995, *Kimia Organik Jilid 1*, diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Edisi III, 209-210, Penerbit Erlangga, Jakarta
22. Silverstein, R.M. and Webster, F.X., 1998, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th edition, John Wiley & Sons, Inc, Canada