

**SINTESIS SENYAWA ANALOG KURKUMIN
3,6-BIS-(4'-HIDROKSI-3',5'-DIMETILBENZILIDIN)-
PIPERAZIN-2',5'-DION
DENGAN KATALIS HCl**

SKRIPSI



Oleh :

**RETNO HARI WAHYUNI
K 100050071**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kurkumin atau 1,7-*bis*(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1',6'-heptadien-3',5'-dion merupakan senyawa yang termasuk golongan diaril heptanoid (Masuda *et al.*, 1992; Van der Good, 1997) dan merupakan pemberi warna pada rhizoma tanaman *Curcuma longa* L. (Tonnesen *et al.*, 1986). Di alam, kurkumin selalu terdapat bersama-sama dengan 2 senyawa turunan lainnya yaitu demetoksi kurkumin dan *bis*-demetoksi kurkumin, yang dikenal dengan nama kurkuminoid (Tonnesen dan Karlsen, 1985). Kurkumin memiliki aktivitas biologis dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (Holy, 2002; Shao *et al.*, 2002; Choudhuri *et al.*, 2002 dan 2005), antioksidan (Rao, 1997; Majeed *et al.*, 1995; Woo *et al.*, 2005), antiinflamasi (Van der Good, 1997; Sardjiman *et al.*, 1997; Woo *et al.*, 2005), dan anti *Human Immuno deficiency Virus* (HIV) (Mazunder *et al.*, 1997; Barthelemy *et al.*, 1998).

Kestabilan kurkumin tergantung pada pH. Pada suasana basa, kurkumin akan terdegradasi menjadi trans-6-(4'-hidroksi-3-metoksifenil)-2,3-diokso-5-heksanal, asam ferulat, feruloilmetan dan vanilin (Sharma *et al.*, 2005). Kestabilan kurkumin juga dipengaruhi oleh cahaya. Adanya cahaya dapat menyebabkan terjadinya degradasi fotokimia senyawa tersebut (Van der Good, 1997). Hal ini karena adanya gugus metilen aktif (-CH₂-) diantara dua gugus keton pada senyawa tersebut (Tonnesen dan Karlsen, 1985). Dengan pertimbangan tersebut

dilakukan modifikasi terhadap struktur kurkumin sehingga diharapkan memiliki aktivitas biologis dan kestabilan lebih baik dibanding kurkumin.

Robinson *et al.* (2003) membagi molekul kurkumin menjadi tiga bagian farmakofor yaitu bagian A, B, dan C. Bagian A dan C merupakan gugus aromatis dan B adalah ikatan dien-dion. Dua gugus aromatis tersebut baik simetris atau tidak simetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor. Modifikasi struktur kurkumin dapat dilakukan dengan mengubah gugus farmakofor A, B dan C.

Modifikasi kurkumin menjadi senyawa monoketon, siklik maupun rantai lurus telah dilakukan oleh Sardjiman *et al.* (1997). Youssef *et al.* (2004) melakukan modifikasi gugus diketo kurkumin menjadi gugus N-alkil heterosiklik monoketon dengan potensi aktivitas dan stabilitas senyawa lebih baik dibanding kurkumin. Penelitian lain menunjukkan modifikasi struktur dengan gugus N-heterosiklik monoketon yaitu 3,5-bis-(2-fluorobenzilidin)-piperidin-4-on menghasilkan senyawa dengan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker payudara lebih baik dari kurkumin dan cisplatin sebagai kontrol positif (Adams *et al.*, 2004). Modifikasi dengan memasukkan gugus tripeptida terhadap senyawa analog kurkumin N-heterosiklik menghasilkan potensi aktivitas yang lebih baik pula dibanding kurkumin (Sun *et al.*, 2006). Modifikasi dilakukan pula terhadap gugus aromatis benzen dari senyawa induk, senyawa aktif memiliki substituen fluorida pada gugus aromatis (Adams, *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2006).

Senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion yang akan disintesis merupakan modifikasi gabungan, gugus diketo kurkumin

dimodifikasi sesuai dengan modifikasi Adams *et al.* (2004) dan Sun *et al.* (2006), yaitu N- heterosiklik diketon. Substituen gugus aromatis mengikuti modifikasi Sardjiman *et al.* (1997) dan Youssef *et al.* (2004), diarahkan pada gugus hidroksi (-OH) dan dimetil (-CH₃) dengan pertimbangan substituen gugus aromatis tersebut telah dibuktikan memiliki peran penting untuk aktivitas biologis senyawa kurkumin dan turunannya (Da'i, 2003).

Sintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dengan *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetil benzaldehid dan 2,5-piperazindion akan dilakukan dengan katalis asam. Sintesis analog kurkumin N-alkil heterosiklik oleh Youssef *et al.* (2004), Adams *et al.* (2004) dilakukan menggunakan katalis asam untuk meningkatkan prosentase rendemen. Penggunaan katalis asam pada reaksi kondensasi aldehid dengan alkohol menghasilkan rendemen yang lebih besar dibanding menggunakan katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1986).

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut dapat dikembangkan perumusan masalah apakah sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dapat dikembangkan dengan katalis HCl?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji proses sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion menggunakan

starting material 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd dan 2,5-piperazindion dengan katalis HCl.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Aspek Kimia Kurkumin

Kurkumin [1,7-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1',6'-heptadien-3',5' dion] merupakan pemberi warna pada rhizoma tanaman *Curcuma longa* L. (Tonnesen *et al.*, 1986). Kurkumin merupakan agen kemopreventif dan kemoterapetik yang menunjukkan efek supresi, retardasi dan inversi karsinogenesis (Woo *et al.*, 2005). Kurkumin telah diteliti kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Holy, 2002; Shao *et al.*, 2002; Choudhuri *et al.*, 2002 dan 2005), antioksidan (Rao, 1997; Majeed *et al.*, 1995; Woo *et al.*, 2005) antiinflamasi (Van der Good, 1997; Sardjiman *et al.*, 1997; Woo *et al.*, 2005), antiinfeksi (Woo *et al.*, 2005), antikolesterol (Bourner *et al.*, 1998; Singletary *et al.*, 1998; Huang *et al.*, 1992), anti *Human Immuno deficiency Virus* (HIV) (Mazunder *et al.*, 1997; Barthelemy *et al.*, 1998).

Struktur kimia kurkumin berhasil dielusidasi oleh Lampe *et al* pada tahun 1910 dan biosintesisnya dipelajari pertama kali oleh Lampe dan Milobedzka pada tahun 1913 (Roughley dan Whiting, 1973). Kurkumin tergolong senyawa diarilheptanoid turunan metana tersubstitusi dua asam furalat, memiliki rumus molekul $C_{21}O_6H_{20}$ dengan bobot molekul 368,126.

Kurkumin berupa kristal berwarna kuning atau orange terang. Warna larutan kurkumin tidak konstan tergantung degradasi atau

pelarutnya. Pada larutan dengan pH asam warnanya kuning tetapi akan berubah menjadi kemerahan atau merah tua dalam larutan basa (Tonnesen *et al.*, 1986).

Kestabilan kurkumin tergantung pada pH. Pada suasana basa, kurkumin akan terdegradasi menjadi trans-6-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2,3-diokso-5-heksanal, asam ferulat, feruloilmetan dan vanilin (Sharma, *et al.*, 2005). Kestabilan kurkumin juga dipengaruhi oleh cahaya. Adanya cahaya dapat menyebabkan terjadinya degradasi fotokimia senyawa tersebut (Van der Good, 1997). Hal ini karena adanya gugus metilen aktif ($-\text{CH}_2-$) diantara dua gugus keton pada senyawa tersebut (Tonnesen dan Karlsen, 1985).

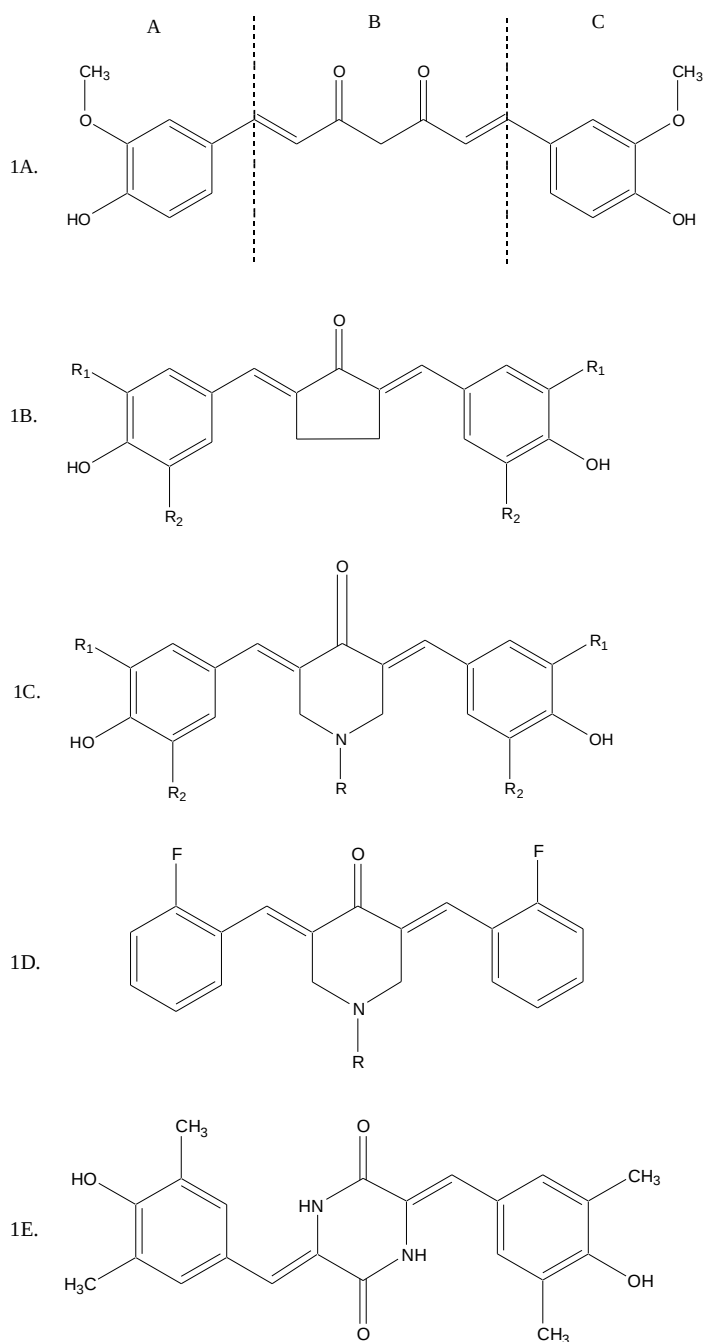
2. Kurkumin Sebagai Senyawa Penuntun (Senyawa Induk)

Robinson *et al.* (2003) membagi molekul kurkumin menjadi tiga bagian farmakofor yaitu bagian A, B, dan C (Gambar 1A). Bagian A dan C merupakan gugus aromatis dan B adalah ikatan dien-dion. Dua gugus aromatis tersebut baik simetris maupun tidak simetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor karena itu modifikasi dilakukan pada farmakofor A, B dan C. Hubungan struktur dan aktivitas kurkumin terkait dengan gugus-gugus fungsional senyawa tersebut antara lain aktivitas antioksidan ditentukan oleh gugus hidroksi pada inti aromatik, hal ini telah dibuktikan pula dalam penelitian sifat oksidasi kurkumin dan analognya dengan berbagai pendekatan yang telah

membuktikan peran gugus hidroksi untuk sifat pereduksi (Da'i, 1998) pada kurkumin dan analognya.

Modifikasi kurkumin menjadi senyawa monoketon, siklik, maupun rantai lurus telah dilakukan oleh Sardjiman *et al.*, (1997). Hasil modifikasi tersebut telah diuji aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan terhadap beberapa sel kanker (Da'i, 2001 dan Da'i 2003; Da'i *et al.* 2004 dan 2007; Meiyanto *et al.*, 2003).

Beberapa peneliti mengembangkan analog kurkumin berupa N-heterosiklik monoketon. Youssef *et al.* (2004) mengembangkan seri analog N- alkil heterosiklik monoketon (Gambar 1C) yaitu seri dari senyawa 3,5-*bis*-(benzilidin tersubstitusi)-4-piperidon dengan variasi substituen pada atom N berupa gugus metil, etil dan propil. Adams *et al.* (2004) mengembangkan sintesis 3,5-*bis*-(2-fluorobenzilidin)-piperidin-4-on (Gambar 1D). Uji senyawa tersebut terhadap sel kanker payudara menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 0,6 μM , lebih kecil di banding kurkumin (5,9 μM) maupun cisplatin sebagai kontrol positif (13,3 μM). Berdasarkan gambaran tersebut pengembangan senyawa analog kurkumin N-heterosiklik perlu dikembangkan untuk mendapatkan senyawa analog kurkumin dengan stabilitas dan aktivitas lebih baik dibanding kurkumin.



Gambar 1. A. Senyawa kurkumin sebagai senyawa penuntun dibagi menjadi tiga gugus farmakofoor A, B dan C (Robinson *et al.*, 2003), **B.** Modifikasi kurkumin menjadi gugus monoketon antara lain: PGV-0 (R₁ = OCH₃, R₂ = H) dan PGV-1(R₁ = R₂=CH₃) dikembangkan oleh Sardjiman *et al.*, (1995), **C.** Senyawa N-alkil heterosiklik dikembangkan oleh Youssef *et al.*,(2004), **D.** N-heterosiklik dan variasi N-alkil dengan substituen aromatis berupa gugus F (Adams *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2006) dan **E.** usulan senyawa baru yang akan disintesis yaitu 3,6-bis(4'-hidroksi-3',5'-dimetil-benzilidin)-piperazin-2',5'-dion. Gambar dibuat dengan ChemDraw.

3. Analog Kurkumin

Analog kurkumin merupakan senyawa α , β tak jenuh yang dapat dihasilkan dari mekanisme dehidrasi suatu β hidroksi karbonil. Senyawa β hidroksi karbonil dapat dihasilkan dari reaksi kondensasi antara suatu senyawa aldehid dengan suatu senyawa yang mengandung gugus karbonil melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt dengan menggunakan katalis asam atau basa (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Analog kurkumin merupakan modifikasi kurkumin dengan 3 gugus farmakofor yang mirip dengan kurkumin sebagai senyawa induk (Robinson *et al.*, 2003). Modifikasi pada kromofor A dan C dapat dilakukan dengan substitusi pada cincin aromatis tersebut dengan gugus yang lain. Beberapa hasil pengujian membuktikan bahwa analog kurkumin dengan modifikasi pada farmakofor B menjadi monoketon maupun farmakofor A dan C dengan substituen berbeda dari kurkumin menunjukkan hasil modifikasi memiliki potensi penghambatan pertumbuhan sel kanker (Da'i, 2003 dan Da'i *et al.*, 2007) dan aktivitas penangkap radikal (Youssef *et al.*, 2003) yang lebih baik dari kurkumin itu sendiri.

Robinson *et al.* (2003) telah membuktikan perubahan gugus struktur β diketon pada struktur kurkumin menjadi ikatan α,β tak jenuh monoketon tidak mengubah potensi aktivitas analog kurkumin sebagai penghambat sel kanker, bahkan pada beberapa senyawa menunjukkan aktivitas yang lebih baik dibanding senyawa kurkumin. Berdasarkan

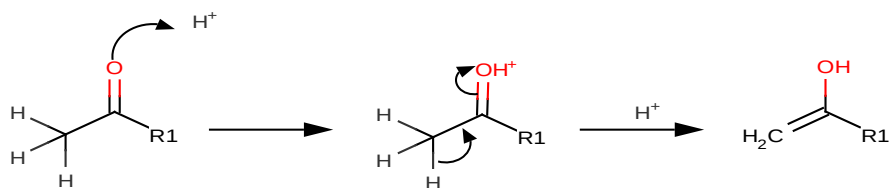
analisis hubungan struktur dan aktivitas dibuktikan bahwa struktur dienon simetris memiliki potensi lebih baik untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker (Adams *et al.*, 2004).

4. **Reaktivitas Hidrogen α dan Karbon α**

Ikatan C-H biasanya stabil, non polar, dan tidak bersifat asam tetapi dengan adanya gugus karbonil terjadilah hidrogen α yang bersifat asam. Apabila suatu hidrogen berposisi α terhadap dua gugus karbonil, maka hidrogen ini cukup asam. Menurut Hart *et al.* (2003) hidrogen berposisi α terhadap gugus karbonil bersifat asam karena:

- a. Karbon karbonil membawa muatan parsial positif. Elektron ikatan bergeser ke arah karbon karbonil dan menjauhi hidrogen α , sehingga basa mudah mengambil hidrogen α sebagai proton.
- b. Anion ini disebut sebagai anion enolat dimana muatan negatifnya terdistribusi di antara karbon α dan atom oksigen karbonil.

Karakter negatif karbon α terhadap gugus karbonil dapat ditingkatkan dengan penggunaan katalis. Katalis asam akan memprotonasi gugus karbonil pada atom oksigen yang diikuti oleh pelepasan proton dari karbon α membentuk enol. Enol mempunyai karbon α yang bermuatan netral dengan reaktivitas sedang akan tetapi lebih stabil jika dibanding enolat yang reaktif akan tetapi kurang stabil (Mc Murry, 1986).



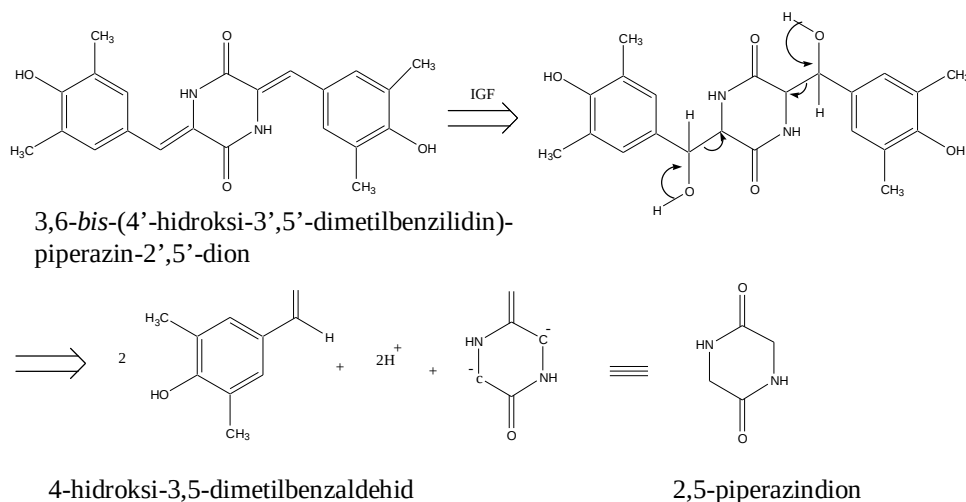
Gambar 2. Struktur pembentukan enol. Katalis asam akan memprotonasi gugus karbonil pada atom oksigen yang diikuti oleh pelepasan proton dari karbon α membentuk enol.

5. Reaktivitas Senyawa Karbonil

Dalam gugus karbonil, sebuah atom karbon terikat pada oksigen yang lebih elektronegatif sehingga elektron pada ikatan C=O lebih tertarik pada oksigen dan ikatan ini menjadi polar (Hart *et al.*, 2003). Dapat diketahui bahwa oksigen pada gugus karbonil mempunyai dua pasang elektron menyendiri. Adanya ikatan π , polaritas dan elektron menyendiri tersebut mempengaruhi kereaktifan gugus karbonil (Fessenden dan Fessenden, 1999).

6. Analisis Diskoneksi Senyawa Analog Kurkumin

Analog kurkumin yang akan disintesis adalah 3,6-*bis*-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion yang merupakan senyawa α , β tak jenuh. Analisis diskoneksi terhadap senyawa tersebut mengikuti pendekatan diskoneksi oleh Warren (1983). Analisis diskoneksi senyawa 3,6-*bis*-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion diperoleh dari *starting material* berupa senyawa 2,5-piperazindion dan turunan benzaldehid yaitu 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd.



Gambar 3. Analisis diskoneksi senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion, diawali dengan interkorvesi gugus fungsional menjadi senyawa β hidroksi karbonil diikuti dengan diskoneksi lanjut menghasilkan materi pemula turunan benzaldehid dan 2,5- piperazin-dion. Gambar dibuat dengan ChemDraw.

Berdasarkan analisis diskoneksi tersebut reaksi untuk dapat menghasilkan produk 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion diperlukan karbon α dari gugus karbonil dengan karakter muatan negatif. Karakter muatan negatif karbon α dalam reaksi suatu senyawa keton dapat diperoleh dengan menggunakan katalis basa melalui abstraksi H_{α} menghasilkan senyawa transisi enolat maupun menggunakan katalis asam menghasilkan senyawa transisi suatu enol (Fessenden dan Fessenden, 1986). Atas pertimbangan tersebut, sintesis pada percobaan ini akan digunakan katalis asam.

7. Sintesis senyawa 3,6-bis(4-hidroksi-3,5-dimetil-benzilidin) piperazin-2,5-dion

Reaksi sintesis senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion mengikuti reaksi kondensasi

Claissen-Schmidt yang dapat dilakukan dengan katalis asam maupun basa). Penggunaan katalis asam pada reaksi kondensasi aldol menghasilkan rendemen yang lebih besar dibanding menggunakan katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Tidak adanya gugus metilen aktif dibandingkan kurkumin memudahkan terjadinya reaksi antara C α pada 2,5-piperazindion dengan C δ^+ dari gugus karbonil 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd karena tidak adanya kompetisi dengan reaksi kondensasi Knoevenagel (Fessenden dan Fessenden, 1999). Meskipun sifat asam dari hidrogen α kurang kuat, dengan adanya katalis asam dari HCl memudahkan terbentuknya struktur enol yang memberikan karakter karbanion karbon α . Atas pertimbangan tersebut senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dapat dikembangkan sebagai senyawa hasil modifikasi kurkumin untuk mendapatkan stabilitas dan aktivitas yang lebih baik.

8. **Monitoring Pembentukan Senyawa Hasil Sintesis**

Monitoring pembentukan senyawa hasil sintesis dilakukan untuk mengetahui kinetika reaksi pembentukan senyawa hasil sintesis. Metode yang digunakan untuk mengetahui waktu terbentuknya senyawa adalah metode KLT-Densitometri (*TLC-Scanner*). Senyawa hasil sintesis ditotolkan pada plat KLT silika gel GF 254 dan dielusi bersama dengan pembanding *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd konsentrasi 2,5 % b/v; 5,0 % b/v; 10,0 % b/v; 15,0 % b/v dan 20 % b/v. Monitoring terbentuknya senyawa hasil sintesis dilakukan berdasarkan

prosentase pengurangan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd sebagai *starting material* yang diketahui dari persamaan kurva baku.

9. Elusidasi Struktur

a. UV

Spektra ultraviolet (UV) dan visibel digunakan dalam penetapan struktur senyawa organik yang berupa gugus kromofor dan auksokrom. Absorpsi cahaya ultraviolet (200-400 nm) mengakibatkan transisi elektronik yaitu promosi elektron dari orbital dasar ke orbital dengan energi lebih tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Kromofor dijelaskan sebagai suatu sistem yang mengandung elektron yang bertanggung jawab atas terjadinya suatu serapan ketika lebih dari 2 ikatan π yang bertindihan. Kromofor mengakibatkan penambahan suatu sistem konjugasi sehingga suatu prinsip yang harus dipahami adalah semakin panjang sistem konjugasi maka akan semakin besar panjang gelombang yang mengabsorpsi cahaya sehingga akan berwarna secara visual (Williams dan Fleming, 1995).

b. LC-ESI MS (*Liquid Chromatography-Electron Spray Ionization-Mass Spectra*)

LC-ESI MS merupakan metode identifikasi senyawa kimia dengan penggabungan antara LC (Liquid Chromatography) dan Electrospray Ionization Mass Spectrofotometer. Liquid Chromatography merupakan metode pemisahan menggunakan kolom terpacking (*packed column*) sebagai fase diam serta mekanisme pemisahannya berdasarkan metode adsorpsi dan partisi. Kolom yang digunakan memiliki diameter 1,7 μm dan

LC didesain untuk menggerakkan fase gerak pada 15000 psi. kolom yang digunakan merupakan kolom fase terbalik C-18 dengan fase gerak yang bersifat polar.

Electrospray Ionization (ESI) adalah teknik yang digunakan pada spektrofotometer massa untuk menghasilkan ion. Mekanisme ionisasi menggunakan ESI dilakukan melalui electrospray dari cairan yang mengandung analit menjadi fase gas (*fine aerosol*). Pelarut yang biasa digunakan merupakan campuran air dengan pelarut organik yang volatil seperti metanol dan asetonitril.

Hasil elusi dari kolom LC secara langsung mengalami ionisasi melalui *electrospray*. Ion molekul yang terbentuk merupakan ion molekul dengan tambahan ion hidrogen (proton) $[M+H]^+$ berupa kation lain misalnya ion Na ($[M+Na]^+$) ion molekul yang kehilangan proton $[M-H]^-$ atau Ion muatan ganda $[M+nH]^{n+}$.

E. LANDASAN TEORI

Perubahan gugus struktur β diketon pada struktur kurkumin menjadi ikatan α,β tak jenuh monoketon untuk menghilangkan gugus metilen ($-CH_2-$) dapat meningkatkan kestabilan kurkumin dan tidak merubah potensi aktivitas analog kurkumin. Analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion merupakan senyawa α,β tak jenuh dapat dihasilkan dari mekanisme dehidrasi suatu β hidroksi karbonil. Senyawa β hidroksi karbonil dapat dihasilkan dari reaksi kondensasi senyawa aldehid dengan senyawa alkohol

melalui reaksi kondensasi aldol menggunakan katalis asam dan basa (Fessenden dan Fessenden, 1999). Penggunaan katalis asam akan menghasilkan tingkat rendemen yang lebih tinggi. Meskipun sifat asam dari hidrogen α kurang kuat, dengan adanya katalis asam dari HCl memudahkan terbentuknya struktur enol yang memberikan karakter karbanion karbon α , sehingga lebih reaktif. Atas pertimbangan tersebut senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dapat dikembangkan sintesis analog kurkumin melalui reaksi kondensasi aldol dengan katalis asam (HCl) sehingga dihasilkan senyawa hasil sintesis dengan rendemen yang tinggi.

F. KETERANGAN EMPIRIS

Analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dapat disintesis dari *starting material* 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dengan katalis HCl.