SINTESIS DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA ANALOG KURKUMIN 3,5 BIS((E)-METOKSI BENZILIDEN)-1-(2-ETIL ASETAT)-PIPERIDIN-4-ON

Siti Aisyah¹. Adel Zamri². Hilwan Yuda Teruna²

¹Mahasiswa Pasca Sarjana Program Studi Kimia

²Dosen Kimia Organik Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

Email : siti.aisyah@grad.unri.ac.id

Abstract

Curcumin analogs are secondary metabolites and belong to the phenolic group. These compounds have biological activities, such as anti-inflammatory, anticancer and antioxidant. This studies has successfully synthesized 3,5-bis ((E)-methoxy benzyldiene) -1-(2-ethyl acetate) piperidine 4-one analog compound from 4-piperidone with 4-methoxy benzaldehyde by using reflux method. Compounds obtained in the form of yellow solids with yield 83.01%. The melting point was measured, identified by TLC then elucidated with UV-Vis, FT-IR, LC-MS, ¹H NMR obtained results showed that the curcumin compound had a structure in accordance with the target molecule. The toxicity test using the BSLT method showed that the two compounds had LC₅₀ values = 1.061 µg / mL.

Keywords: 4-piperidone, Methoxybenzaldehyde, toxicity, BSLT.

PENDAHULUAN

Perkembangan obat dapat dilakukan dengan mengembangkan senyawa yang berasal dari alam, seperti kurkumin sebagai senyawa penuntun. Salah satu senyawa alam yang telah ditemukan dan dilakukan pengembangan dengan modifikasi struktur melalui sintesis adalah kurkumin (Warsi *et al.*, 2012). Kurkumin adalah senyawa alami yang diisolasi dari *Curcuma* yang merupakan zat pewarna utama yang terdapat pada kunyit (*Curcuma longa*), dan mengandung beberapa senyawa kurkuminoid, seperti kurkumin, 4-metoksi kurkumin, bisdimetoksi kurkumin (diarylheptanoid) dan dihidroksi kurkumin (asimetris).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Thakur *et al.*, (2014) menemukan bahwa senyawa kurkumin 3,5 bis (arilidene)-4-piperidon monocarbonil memiliki aktivitas biologis, sebagai anti kanker. Selain itu juga telah ditemukan

bahwa analog kurkumin N-acriloil/N-cinnamoil 3,5-bis(piridin-4-il) metilene-4-piperidon memiliki aktivitas sebagai agen anti kanker (Paul *et al.*, 2014) dan renoprotective (Trujillo, *et al.*, 2013). Menurut penelitian Swift, Golstein (2014) senyawa analog kurkumin memiliki aktifitas sebagai agen kemoterapi anti kanker. Senyawa analog kurkumin diketahui juga memiliki aktivitas biologis seperti antiinfeksi dan antialergi, agen hepatoprotektor, dan penghambatan virus HIV (Mounce *et al.*, 2017). Selain itu kurkumin juga memiliki aktivitas biologis sebagai antimikroba dan antikanker (Lal *et al.*, 2012).

Berdasarkan bioaktivitas tersebut, kurkumin menjadi perhatian utama sebagai target model sintesis (Eryanti *et al.*, 2015). Namun penggunaan kurkumin dalam penggunaan obat tradisional masih belum murni, sehingga sulit untuk dipisahkan karena masih terdapat senyawa-senyawa

lain. Hal tersebut memacu gagasan untuk mendapatkan senyawa analog kurkumin yang murni dengan berbagai aktivitas (Liang *et al.*, 2009).

Dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis 2 tahap, tahapan pertama sintesis senyawa kurkumin menggunakan refluks dari senyawa turunan 4 piperidon dan senyawa turunan aldehyd dengan KOH 10% sebagai katalis, selanjutnya tahapan kedua kurkumin yang diperoleh direaksikan dengan substituen etilkloroasetat. Senyawa hasil sintesis dari penelitian ini kemudian akan dilakukan uji aktivitas biologisnya yaitu uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODE PENELITIAN

Sintesis senyawa 3,5-bis((*E*)-metoksi benzilidene)piperidin 4-on

Senyawa metoksibenzaldehid (2 mmol; 2,723 g), 4 piperidon monohidrate Hydrochloride (1 mmol; 1,536 g), dan 5 mL etanol absolute, dimasukkan ke dalam erlemeyer 100 mL lalu ditambahkan KOH 10% (5 mL). Campuran direfluks selama 1 jam, dengan temperature 80°C. Tahapan reaksi dikontrol dengan KLT. Campuran produk ditambahkan dengan 50 mL akuades dingin kemudian dinetralkan sampai pH 7 dengan penambahan HCl 3N. Terbentuk endapan kuning. Endapan yang terbentuk disaring menggunakan corong *buchner*, dicuci dengan n-heksana dingin, dan divakum hingga kering, lalu diuji

kemurniannya melalui uji KLT. Endapan yang diperoleh telah murni, kemudian ditentukan titik lelehnya.

Sintesis senyawa 3,5-bis((*E*)-metoksi benziliden)-1-(-2-etil asetat)piperidin 4-on.

Ditimbang sebanyak 0.335 g senyawa 3,5-bis((*E*)-metoksi benziliden)piperidin-4-on dimasukkan kedalam labu refluks, kemudian ditambahkan sebanyak 20 ml Asetonitril lalu di homogenkan dengan menggunakan ultrasonik, ditambahkan cesium karbonat sebanyak 0.65164 g dihomogenkan menggunakan ultrasonik, ditambahkan etilkloroasetat kemudian di refluks selama 12 jam pada suhu 80°C, sampel di pantau dengan menggunakan plat KLT tiap satu jam. Setelah di refluks sampel di rotary evaporator untuk memisahkan pelarut dengan sample nya, setelah mendapatkan padatan nya sampel di ekstraksi dengan menggunakan etil asetat sebanyak 10 ml dan aqua Dm 5 ml. Setelah di ekstraksi sample tersebut di rotary evaporator kembali untuk memisahkan pelarutnya, dan di peroleh Kristal berwarna kuning, sample di cek kemurnian nya dengan menggunakan plat KLT, mengukur titik leleh, dan HPLC. Sample di analisis menggunakan IR, UV, MS dan HNMR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1. Skema sintesis senyawa SA-4 EtOAC

Senyawa SA-4 EtOAC yang telah disintesis dikarakterisasi menggunakan

spektroskopi UV, FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HRMS. Hasil analisis

spektroskopi UV menunjukkan munculnya dua puncak maksimum pada spektrum UV yaitu pada λ 245 dan 366 nm yang menunjukkan adanya serapan dari ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur senyawa SA-4 EtOAC serapan maksimum pada λ 366 menunjukkan adanya transisi elektronik dari orbital ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$ pada ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin kurkumin. Hasil analisis spektroskopi FTIR menunjukkan munculnya beberapa puncak yang menunjukkan vibrasi ikatan yang khas untuk senyawa kurkumin SA-4 EtOAC pada bilangan gelombang 1729 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus fungsi (C=O), vibrasi pada bilangan gelombang 1254 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi (C-O), vibrasi pada bilangan gelombang 3028 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi (C-N) vibrasi pada bilangan gelombang 2984 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi (C-H aromatik), vibrasi pada bilangan gelombang 2898 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi (C-H alifatik). Dari hasil spektrum tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh telah sesuai dengan molekul target.

Pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa SA-4EtOAC terdapat puncak-puncak dengan orientasi dan integrasi yang mengindikasikan senyawa SA-4EtOAC sesuai dengan molekul target. Pada spektrum HNMR menunjukkan jumlah

proton yang sesuai dengan senyawa target yang diharapkan. Spektrum $^1\text{HNMR}$ senyawa SA-4EtOAC terdapat 2 bagian yaitu *downfield* dan *upfield*. Pada daerah *downfield* terdapat puncak dari proton-proton yang lebih *shielding*, yaitu pada pergeseran δ 3,80 ppm terdapat puncak dengan orientasi *singlet* yang menunjukkan proton pada gugus OCH_3 . Kemudian, pada δ 3,94 ppm terdapat puncak berorientasi *singlet* yang menunjukkan proton H2 dan H6. Sedangkan pada daerah *upfield* terdapat puncak dari proton yang deshielding yaitu proton-proton dari cincin aromatik. Proton H2' H6' membentuk puncak *doublet* pada pergeseran δ 7,44 ppm. Proton H3' H5' membentuk puncak *doublet* pada pergeseran δ 7,03 ppm dengan $J = 8,76\text{ Hz}$. Proton aromatik lain nya ditemukan sebagai puncak *quartet* pada pergeseran δ 4,05 ppm. Proton 4'' membentuk puncak *triplet* pada pergeseran δ 1,11 ppm $J=7,10\text{ Hz}$. Struktur 3D dari senyawa analog kurkumin SA-4EtOAC yang menunjukkan geometri *trans (E)* pada system keton α tak jenuh dan β tak jenuh dapat dilihat pada. Geometri *trans (E)* secara ruang lebih stabil dibandingkan dengan geometri *cis (Z)* karena memiliki halangan sterik yang lebih kecil. Hal ini juga didukung oleh hasil minimize energi untuk masing-masing konformasi *trans (E)* lebih stabil karena memiliki total energi yang lebih kecil.

Tabel 1. Interpretasi data spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ untuk SA-4 EtOAC

Posisi	δ_C (ppm) (J)	δ_H (ppm) (Multiplisitas, J)
1	-	-
2	54.27	3.94 (s, 4H)
3	132.44	-
C=O	186.94	-
5	132.44	-
6	54.27	3.94 (s, 4H)
1'	128.05	-
2'	131.08	7.44 (d, 4H, $J=8.74$ Hz)
3'	114.25	7.03 (d, 4H, $J=8.76$ Hz)
4'	160.44	-
5'	114.25	7.03 (d, 4H, $J=8.76$ Hz)
6'	131.08	7.44 (d, 4H, $J=8.74$ Hz)
7'	136.68	7.55 (s, 2H)
O-CH ₃ '	55.49	3.80 (s, 6H)
1''	57.88	3.51 (s, 2H)
2''/C=O	170.27	-
3''	60.85	4.05 (q, 2H)
4''/CH ₃	14.27	1.11 (t, 3H, $J=7.10$ Hz)

Spektrum LCMS dari senyawa SA-4EtOAC yang telah disintesis menunjukkan bahwa muncul puncak ion molekul yang teramati sebagai $[M+H]^+$ dengan $m/z = 422,1954$ dan kelimpahan 100%. Massa senyawa target dihitung sebagai $[M+H]^+ = 421,49$. Selisih yang sangat kecil ini menunjukkan senyawa hasil sintesis sesuai dengan yang diharapkan dan memiliki rumus molekul $C_{25}H_{27}NO_5$ $[M+H]^+$. Berdasarkan hasil dari interpretasi data spektroskopi UV, FTIR, 1H -NMR dan LCMS menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin yang disintesis sesuai dengan senyawa target yang diharapkan.

Senyawa SA-4EtOAC di uji toksisitas nya menggunakan metode BSLT dengan berbagai variasi konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan yaitu 0.1,1,10, 100 dan 1000 $\mu g/mL$. Perbedaan konsentrasi ini bertujuan untuk mengetahui tingkat aktivitas senyawa terhadap kematian larva. DMSO dalam uji

toksisitas dengan metode BSLT digunakan untuk membantu kelarutan senyawa uji di dalam air laut agar terdistribusi secara merata. DMSO digunakan karena tidak bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach pada konsentrasi 50 μL sehingga tidak mengganggu uji toksisitas. Pada uji toksisitas ini diperoleh nilai $LC_{50} = 1.061 \mu g/mL$ SA-4EtOAC.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan beberapa hal yaitu senyawa analog kurkumin yaitu 3,5-bis((*E*)-metoksi benziliden)-1-(-2-etil asetat)piperidin 4-on (SA-4EtOAC) telah berhasil disintesis dengan rendemen 83,01 %.

Identifikasi struktur melalui analisis spektroskopi UV, FTIR, NMR dan LC-MS mengkonfirmasi bahwa senyawa SA-4 EtOAC sesuai dengan senyawa target. Berdasarkan hasil uji toksisitas senyawa SA-4EtOAC bersifat toksik dengan nilai

LC₅₀ 1.061 µg/mL.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar pada penelitian selanjutnya dilakukan analisis *molecular docking* terhadap senyawa analog kurkumin dengan berbagai variasi substituen dengan reseptor yang spesifik seperti sel kanker payudara (MCF7) sebelum dilakukan nya proses sintesis agar mempersingkat waktu yang dibutuhkan dalam proses pencarian obat baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Eryanti, Y., Nurulita, Y., Hendra, R., Yuharmen, Syahri, J. and Zamri, A. 2011. *Synthesizing Derivative from Cyclopentanone Analogue Curcumin and Their Toxic, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity*. Makara 2.
- Lal J, Gupta SK, Thavaselvam D, Agarwal DD. 2012. *Design, synthesis, synergistic antimicrobial activity and cytotoxicity of 4-aryl substituted 3,4-dihydropyrimidinones of curcumin*. Bioorg. Med. Chem.
- Liang G, Shao L, Wang Y, Zhao C, Chu Y, Xiao J, et al. 2009. *Exploration and synthesis of curcumin analogues with improved structural stability both in vitro and in vivo as cytotoxic agents*. Bioorg. Med.
- Mounce, B.C., Cesaro, T., Carrau, L., Vallet, T., and Vignuzzi, M., 2017. *Curcumin Inhibits Zika And Chikungunya Virus Infection By Inhibiting Cell Binding*. Antiviral Research.
- Paul. N.K, Jha.M, Bhullar.K.S, Rupasinghe.H.P.V, Balzarini.J, Jha.A. 2014. *All trans 1-(3-arylacryloyl)-3,5-bis(pyridin-4-ylmethylene)piperidin-4-ones as curcumin-inspired antineoplastics*. European Journal of Medicinal Chemistry.
- Swift, R. Golsteyn . 2014. *Genotoxic anti-Cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells*, Int. J. Mol. Sci.
- Thakur, A. Manohar.S, Gerena,C.E.V, Zayas,B. Kumar,V. Malholtra,S,V, and Raluat.Diwan,S. 2014. *Novel 3,5-bis(arylidene)-4-piperidone based monocarbonyl analogs of curcumin: anticancer activity evaluation and mode of action study*. National Chiao Tung University.
- Trujillo J, Chirino YI, Molina-Jijón E, Andérica-Romero AC, Tapia E, Pedraza-Chaverri J. 2013. *Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: recent findings*. Redox Biol.
- Warsi, Sariman, Riyanto.S, 2012. *Synthesis Of 5-Chloro-4-Hydroxy-3-Methoxybenzaldehyde And Elucidation Of Its Structure*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.