

Sintesis diasetil gamavuton-0 dengan menggunakan asetil klorida sebagai acylating agent

Synthesis of diacetyl gamavuton-0 using acetyl chloride as an acylating agent

Supardjan Amir Margono dan Ridho Nugroho Zendrato

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta

Abstrak

Gamavuton-0 (GVT-0) merupakan senyawa analog kurkumin yang lebih stabil dibandingkan dengan kurkumin dan tetap mempunyai sifat antioksidan. Sintesis senyawa diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0) menghasilkan produk asetilasi yang lebih lipofil daripada GVT-0. Sintesis diAcGVT-0 dilakukan dengan jalan mereaksikan GVT-0 dengan asetil klorida (AcCl) sebagai *acylating agent* dan amina-amina tersier sebagai basa primer. Senyawa diAcGVT-0 terbentuk sebagai produk utama hasil sintesis dan didapatkan bahwa hasil sintesis masih belum murni. Elusidasi struktur dengan menggunakan spektra UV-Vis, IR, ¹H-NMR dan MS menunjukkan bahwa hasil sintesis adalah diAcGVT-0.

Kata kunci : diasetil gamavuton-0, asetil klorida, *acylating agent*, lipofil

Abstract

Gamavuton-0 (GVT-0) is a curcumin-like compound, which is more stable than curcumin and still has an antioxidant property. The synthesis of diacetyl gamavuton-0 (diAcGVT-0) yielding an acetylation product that is more lipophile than GVT-0. The synthesis of diAcGVT-0 has been done by reacting GVT-0 and acetyl chloride as an acylating agent and tertiary amines as primary bases. DiAcGVT-0 was formed as the major product of synthesis but the product was not pure. Structure elucidation using UV-Vis, IR, ¹H-NMR and MS spectra showed that the main product was diAcGVT-0.

Key words : diacetyl gamavuton-0, acetyl chloride, acylating agent, lipophile

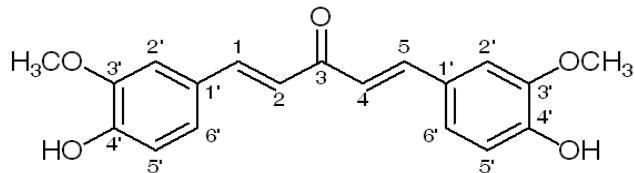
Pendahuluan

Seiring dengan perkembangan zaman, penyakit-penyakit yang disebabkan oleh adanya radikal bebas banyak bermunculan. Peningkatan radikal-radikal bebas secara abnormal dan penurunan pertahanan antioksidan tubuh dalam waktu yang bersamaan dapat memicu kerusakan organela sel dan enzim dan menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid (Balasubramanyam *et al.*, 2003).

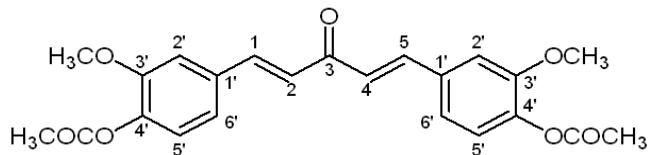
Senyawa gamavuton-0 (GVT-0) [1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on] (Gambar 1) merupakan salah satu senyawa analog kurkumin. Senyawa ini mempunyai jembatan rantai karbon yang lebih pendek (pentadienon) daripada kurkumin (heptadien-dion), satu gugus karbonil dan sama sekali tidak

mempunyai gugus metilen. Senyawa ini lebih stabil pada pH di atas 6,5 dibandingkan dengan kurkumin dan tetap mempunyai sifat antioksidan (Sardjiman *et al.*, 1997). Senyawa ini mempunyai aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Masuda *et al.*, 1993; Sardjiman *et al.*, 1997; Sardjiman, 2000; Nugroho *et al.*, 2004). Senyawa ini juga dilaporkan mempunyai aktivitas antitumor (Youssef and El-Sherbeny, 2005).

Sintesis senyawa diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0) [1,5-bis(4'-asetoksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on] (Gambar 2) suatu senyawa golongan ester mempunyai tujuan supaya produk asetilasi mempunyai lipofilitas yang lebih tinggi daripada GVT-0. Penurunan kelarutan GVT-0 dalam air dengan pembentukan suatu senyawa praobat (*prodrug*) akan



Gambar 1. Struktur senyawa gamavuton-0 (GVT-0)



Gambar 2. Struktur diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0)

mempunyai keuntungan berupa peningkatan absorpsi obat. Sintesis diAcGVT-0 menggunakan *starting material* berupa GVT-0, asetil klorida (AcCl) sebagai *acylating agent* dan senyawa amina tersier sebagai basa primer untuk menangkap HCl hasil reaksi.

Penggunaan AcCl sebagai *acylating agent* dimaksudkan supaya reaksi asetilasi berjalan dengan lebih cepat walaupun memerlukan kondisi yang terkontrol. AcCl dipilih sebagai alternatif *acylating agent* dari anhidrida asetat. Anhidrida asetat selama ini merupakan *acylating agent* yang paling banyak dipakai, terutama untuk mengasilasi kurkumin dan analognya (Roughley and Whiting, 1973; Pedersen *et al.*, 1985) karena reaksi asilasinya dapat berjalan pada kondisi yang lunak. Namun, peredaran kemikalia ini diawasi sedemikian ketat di seluruh dunia. Hal ini berkaitan dengan penyalahgunaan anhidrida asetat sebagai prekursor dalam pembuatan heroin yang tergolong obat-obatan terlarang (*illicit drug*) (Emafo, 2003).

Metodologi

Bahan

Gamavuton-0 (GVT-0) (Laboratorium Molnas UGM), asetil klorida (AcCl) (99%+, Janssen Chimica), trietilamin (TEA) (*p.a.*, E-Merck), piridin (*p.a.*, E-Merck), diklorometana (DCM) (*p.a.*, E-Merck), tetrahidrofuran (THF) (*p.a.*, E-Merck), natrium sulfat anhidrat (*p.a.*, E-Merck), etil asetat (*p.a.*, E-Merck), kloroform (*p.a.*, E-Merck), dimetilsulfoksida (DMSO) (*p.a.*, E-Merck), etanol absolut (EtOH) (*p.a.*, E-Merck), aseton (*p.a.*, E-Merck), dietileter (*p.a.*, E-Merck) dan akuades.

Alat

Seperangkat alat gelas yang digunakan untuk sintesis, lempeng KLT *silica gel* 60 F₂₅₄ (E-Merck), *thermopan* (Reichert Austria; Nr. 340 579), spektrofotometer IR (Shimadzu FTIR-8201 PC), spektrofotometer UV-Vis (Spectronic Genesys 5 Milton Roy), spektrometer ¹H-NMR (Hitachi FT-NMR R-1900), kromatografi gas-spektrometer massa (Shimadzu GC-17A/Shimadzu QP-5000), densitometer (Shimadzu C5-930).

Jalannya penelitian

Uji kemurnian gamavuton-0 (GVT-0)

Uji kemurnian gamavuton-0 (GVT-0) dilakukan dengan pemeriksaan jarak lebur dan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dilakukan dengan mengelusi larutan sampel (5 mg senyawa GVT-0 dalam 5 ml kloroform) yang ditotolkan sekitar 1 µl pada lempeng *silica gel* 60 F₂₅₄ dengan fase gerak kloroform-etil asetat (5:1). Bercak yang ada diamati dengan sinar tampak, UV₂₅₄ dan UV₃₆₆.

Sintesis diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0)

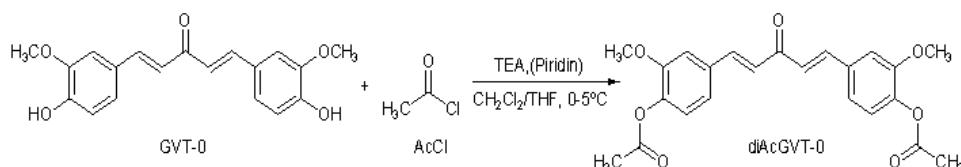
Sintesis diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0) dilakukan dengan atau tanpa penambahan piridin.

1. Tanpa penambahan piridin

Sejumlah 0,61 mmol gamavuton-0 (GVT-0) dilarutkan ke dalam 5 ml campuran solven DCM-THF, kemudian ke dalamnya ditambahkan 2,44 mmol TEA dan 2,44 mmol AcCl. Campuran diaduk selama satu jam di atas *ice bath* pada suhu 0-5°C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan akuades ke dalam campuran. Campuran tersebut diambil fase organiknya dan kemudian dibebasairkan dengan menggunakan natrium sulfat anhidrat. Fase organik yang telah dibebasairkan kemudian diuapkan pelarutnya hingga mendapatkan serbuk hasil sintesis. Hasil

Tabel I. Hasil sintesis diAcGVT-0 dengan menggunakan AcCl

	Sintesis I (Tanpa Piridin)	Sintesis II (tanpa Piridin)	Sintesis III (Piridin 0,61 mmol)	Sintesis IV (Piridin 0,61 mmol)
Hasil sintesis (crude product)	92,12%	81,60 %	95,48%	98,24%)
Titik lebur	182-186°C	182-186°C	182-186°C	182-186°C
Warna	kuning cerah	kuning cerah	kuning cerah	kuning cerah



Gambar 3. Reaksi umum asetilasi GVT-0 dengan menggunakan AcCl

sintesis direkristalisasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

2. Dengan penambahan piridin

Sejumlah 0,61 mmol gamavuton-0 (GVT-0) dilarutkan ke dalam 5 ml campuran solven DCM-THF, kemudian ke dalamnya ditambahkan 2,44 mmol TEA, 0,049 mmol piridin dan 2,44 mmol AcCl. Campuran diaduk selama satu jam di atas *ice bath* pada suhu 0-5°C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan akuades ke dalam campuran. Campuran tersebut diamplifikasi dengan menggunakan natrium sulfat anhidrat. Fase organik yang telah dibebaskan kemudian diuapkan pelarutnya hingga mendapatkan serbuk hasil sintesis. Hasil sintesis direkristalisasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

Uji kemurnian senyawa hasil sintesis

Analisis kemurnian senyawa hasil sintesis dilakukan dengan pemeriksaan jarak lebur dan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dilakukan dengan mengelus larutan sampel (5 mg senyawa hasil sintesis dalam 5 ml kloroform) yang ditotolkan sekitar 1 µl pada lempeng *silica gel* 60 F₂₅₄ dengan fase gerak kloroform-etyl asetat (5:1). Bercak yang ada diamati dengan sinar tampak, UV₂₅₄ dan UV₃₆₆. Kemurnian senyawa ditetapkan secara semi kuantitatif dengan densitometer pada $\lambda_{\text{maks}} = 347 \text{ nm}$.

Uji kelarutan senyawa hasil sintesis

Sebanyak 10 mg senyawa GVT-0 dan hasil sintesisnya ditimbang, kemudian masing-masing ditambah pelarut : akuades, DMSO, EtOH, etil asetat, kloroform, DCM, THF, dietileter, aseton hingga tepat larut. Volume solven yang digunakan dicatat.

Elusidasasi struktur senyawa hasil sintesis

Elusidasasi struktur senyawa hasil sintesis setelah dilakukan rekristalisasi menggunakan kloroform dilakukan dengan memeriksa spektra UV-Vis, IR, ¹H-NMR dan MS.

Hasil Dan Pembahasan

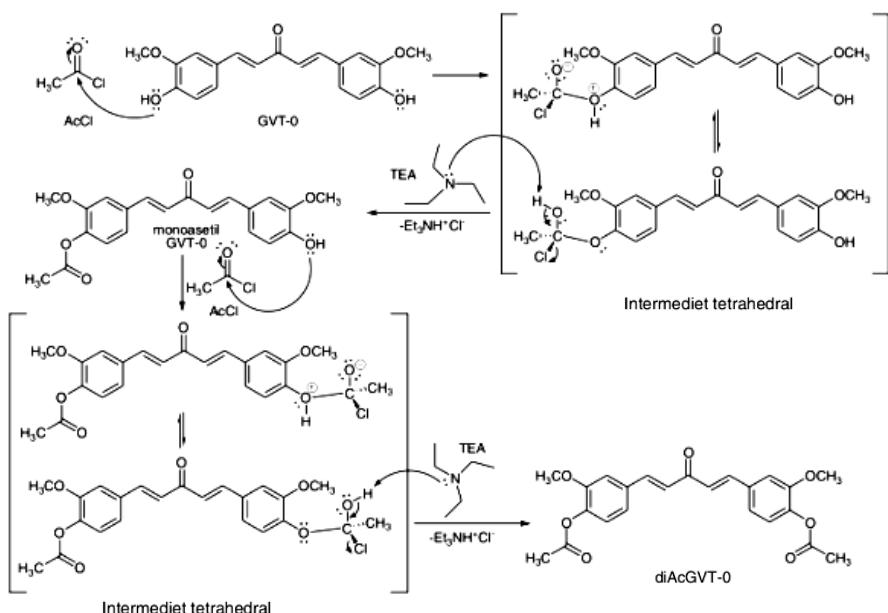
Uji kemurnian gamavuton-0 (GVT-0)

Penelitian ini menggunakan *starting material* GVT-0 (Laboratorium Molekul Nasional) yang mempunyai jarak lebur 92-94°C. Senyawa ini dapat dikatakan murni karena memiliki jarak lebur 2°C. Hasil KLT senyawa GVT-0 dengan menggunakan fase diam *silica gel* 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform-etyl asetat (5:1) menunjukkan bercak tunggal pada R_f 0,47 baik dengan pengamatan visibel, UV₂₅₄ maupun UV₃₆₆, hal ini dapat dikatakan senyawa GVT-0 sudah murni secara KLT.

Sintesis diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0)

Sintesis diAcGVT-0 (Tabel I) dari GVT-0 dan AcCl menggunakan reaksi kimia umum dalam kimia organik, yaitu proteksi gugus fenol (atau alkohol) dengan adanya suatu *acylating agent*, sehingga senyawaan fenol (atau alkohol) dapat diubah menjadi senyawaan ester (Gambar 3, 4).

Reaksi ini dilakukan pada temperatur yang rendah dan kondisi yang bebas air. Temperatur yang rendah diperlukan untuk mengontrol reaktivitas AcCl. Kondisi yang bebas air dimaksudkan untuk menghindari penyerangan air terhadap AcCl sehingga menghasilkan asam asetat yang kurang reaktif dibandingkan dengan AcCl.



Gambar 4. Mekanisme reaksi asetilasi GVT-0 dengan menggunakan AcCl

Penggunaan TEA dimaksudkan sebagai basa primer yang berperan dalam menangkap HCl hasil reaksi membentuk garam ammonium ($\text{Et}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$). Bentuk garam ini tidak larut dalam pelarut DCM/THF dan timbul sebagai endapan putih. Piridin sebagai amina tersier mempunyai peran sebagai basa primer seperti halnya TEA jika digunakan tanpa adanya TEA. Piridin merupakan solven tradisional untuk reaksi asilasi. Selain berperan sebagai pelarut dan basa primer, piridin dapat berperan sebagai katalis. Katalisis piridin melibatkan pembentukan awal ion asilpiridinium, yang kemudian bereaksi dengan alkohol (atau fenol).

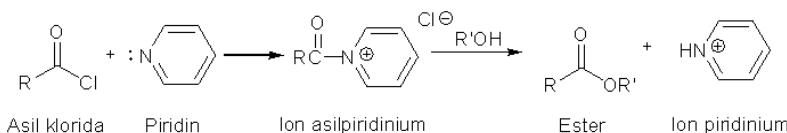
Piridin merupakan nukleofil yang lebih baik dari alkohol netral, namun ion asilpiridinium dapat bereaksi dengan cepat dengan alkohol dari pada asil klorida (Gambar 5) (Carey and Sundberg, 2001).

Piridin yang digunakan dalam percobaan ini hanya satu ekivalen mol GVT-0 dan bukan sebagai pelarut. Adanya piridin dalam jumlah yang kecil ini diharapkan dapat berperan sebagai katalis, sedangkan adanya TEA berperan sebagai basa primer yang meregenerasi piridin dari ion piridinium sehingga dapat berfungsi sebagai katalis (Gambar 6).

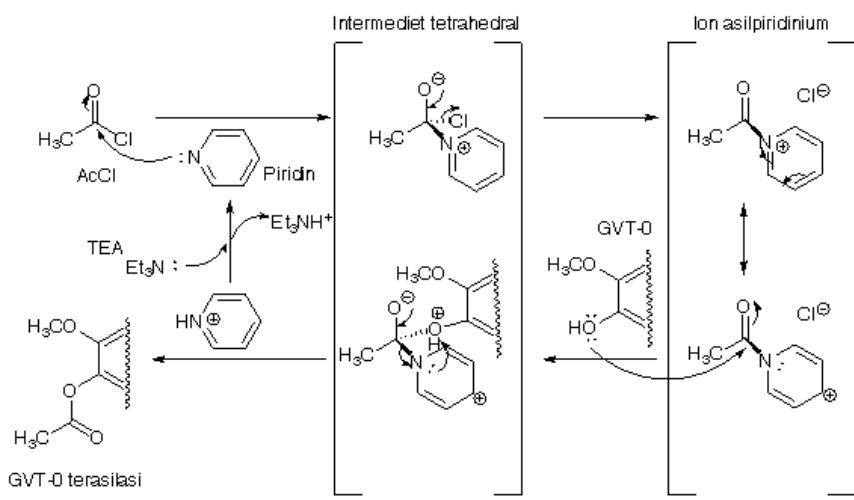
Uji kemurnian senyawa hasil sintesis

Pemeriksaan jarak lebur senyawa hasil sintesis mendapatkan rentang suhu 182-186°C. Selisih suhu sebesar 4°C menandakan bahwa hasil sintesis masih belum murni. Titik lebur hasil sintesis (182-186°C) ini hampir dua kali titik lebur senyawa GVT-0 (92-94°C). Kenaikan titik lebur produk asetilasi GVT-0 ini dimungkinkan karena produk asetilasi GVT-0 mempunyai lebih banyak atom karbon (dari gugus asetyl yang menggantikan atom hidrogen gugus hidroksi fenolik).

Pemeriksaan kemurnian senyawa hasil sintesis I-IV dengan KLT dengan sistem fase gerak kloroform:etil asetat (5:1) dan fase diam *silica gel* 60 F₂₅₄ menunjukkan bahwa satu bercak pada R_f 0,84 dengan pengamatan secara visibel maupun dengan bantuan lampu UV₂₅₄, tetapi terdapat bercak tipis pada R_f 0,65 di bawah lampu UV₃₆₆. Diyakini bahwa senyawa pada R_f 0,84 adalah diAcGVT-0, sedangkan senyawa pada R_f 0,65 adalah produk GVT-0 terasetilasi monosubstitusi. Harga R_f ini lebih besar daripada harga R_f GVT-0 (R_f 0,47) karena produk asetilasi GVT-0 mempunyai sifat yang lebih non-polar daripada GVT-0. Pemeriksaan secara densitometri pada panjang gelombang 347 nm (λ_{maks} diAcGVT-0) menunjukkan adanya puncak yang intens dengan luas area



Gambar 5. Asilasi alkohol dengan adanya piridin.



Gambar 6. Mekanisme asetilasi GVT-0 dengan adanya Et_3N dan piridin (Anonim, 2004)

relatif 96,80 %. Sehingga dimungkinkan pengotor yang ada dalam jumlah yang kecil.

Uji kelarutan senyawa hasil sintesis

GVT-0 lebih suka larut dalam pelarut yang polar aprotik seperti THF, DMSO dan aseton. Senyawa hasil sintesis lebih suka larut dalam pelarut yang nonpolar seperti kloroform dan DCM, hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis lebih nonpolar daripada GVT-0. Namun, uji kelarutan ini tidak sepenuhnya menggambarkan karakter senyawa diAcGVT-0, karena adanya pengotor dalam senyawa hasil sintesis.

Rekrystalisasi dilakukan dengan pelarut kloroform, senyawa hasil rekristalisasi dielusidi strukturnya. Data spektroskopik menunjukkan GVT-0 mempunyai serapan maksimal UV $\lambda_{\text{maks}}^{\text{EtOH}}$ pada 390 nm (Meigawati, 2005), sedangkan senyawa hasil sintesis mempunyai $\lambda_{\text{maks}}^{\text{EtOH}}$ pada 347 nm yang mengindikasikan adanya efek pergeseran biru, karena adanya substitusi gugus asetil sebagai penarik elektron sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya

efek resonansi oleh pasangan elektron bebas pada atom O-fenolik. Spektrum IR; menunjukkan bahwa vibrasi rentang gugus OH pada 3421,5 (δ) yang muncul pada GVT-0 (Meigawati, 2005), tidak lagi muncul pada senyawa hasil sintesis.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil sintesis memperlihatkan adanya puncak pada δ ppm 2,32 (δ), yang merupakan puncak dari proton-proton gugus asetil, yang tidak muncul pada GVT-0, sedangkan puncak pada δ ppm 9,58 (br) yang muncul pada GVT-0 (gugus –OH) (Meigawati, 2005) tidak lagi terdapat pada senyawa hasil sintesis. Analisis spektrum GC-MS (EI-MS) memberikan m/z 410 (M^+) yang menunjukkan BM dari diasetil GVT-0.

Data eksperimental

Data spektroskopik : UV $\lambda_{\text{maks}}^{\text{EtOH}}$ 347 nm; IR (KBr, cm^{-1}) : 3433,1 (br, m); 2393,3 (w); 1762,8 (δ); 1651,0 (m); 1620,1 (δ); 1600,8 (δ); 1508,2 (δ); 1195,8 (δ), 906,5 (w); 856,3 (w); 829,3 (w); 640,3 (w); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 90 MHz, δ ppm) : 7,688 [2H, 2x(-CH=) α,β -tak jenuh, d, J 15,75 Hz]; 7,217 [2H, 2x(H-5') aromatik, d, J

7,47 Hz]; 7,124 [2H, 2x(H-6') aromatik, m, *J* 7,47 Hz, *J* 2,88 Hz]; 7,089 [2H, 2x(H-2') aromatik, d, *J* 2,88 Hz], 6,985 [2H, 2x(O=C-CH-) α,β -tak jenuh, d, *J* 15,75 Hz]; 3,883 [6H, 2x(-OCH₃), s]; 2,321 [6H, 2x(-CO-CH₃) asetil, s]; EI-MS (GC-MS, Rt = 25,24 menit) m/z 410 (M⁺), m/z 368, m/z 326, m/z 190, dan m/z 43 (puncak dasar).

Kesimpulan

- Senyawa diasetil gamavuton-0 (diAcGVT-0) dapat diperoleh dengan mereaksiakan gamavuton-0 (GVT-0) dengan asetil klorida sebagai *acylating agent* dan tambahan amina tersier sebagai basa primer. Penambahan piridin dalam jumlah kecil dapat berperan sebagai katalis dalam reaksi asilasi diAcGVT-0.
- Hasil sintesis mempunyai titik lebur 182-186°C, titik lebur hasil sintesis lebih tinggi daripada GVT-0 (92-94°C). Hasil sintesis lebih suka larut dalam pelarut-pelarut yang nonpolar dibandingkan dengan GVT-0.
- Hasil sintesis direkristalisasi dengan kloroform dan dielusidasi strukturnya

Daftar Pustaka

- Anonim, 2004, *Synthesis of Aspirin-Acylation of A Phenol Using Acetic Anhydride*, <http://www.organic.wsu.edu/chem240/Ronald/labs/Aspirin/Synthesis%20of%20Aspirin-Draft%204.pdf>, 11 Oktober 2004.
- Balasubramanyam, M., Koteswari, A.A., Kumar, R.S., Monickaraj, F., Maheswari, J.U., and Mohan, V., 2003, Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation : Novel therapeutic implications, *J. Biosci.*, 28, 6, 715-721.
- Carey, F.A. and Sundberg, R.J., 2001, *Advanced Organic Chemistry*, Part B : Reaction and Synthesis, 4th Ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 166.
- Emafo, P., 2003, Speech on 46th Session of Commission on Narcotic Drugs, 8-17 April 2003.
- Masuda, T., Jitoe, A., Isobe, J., Nakatani, N., and Yonemori, S., 1993, Anti-oxidative and Anti-inflammatory Curcumin-related Phenolics from Rhizomes of *Curcuma domestica*, *Phytochemistry*, 32, 6, 1557-1560.
- Meigawati, H.P., 2005, Sintesis Gamavuton-0 Dalam Pelarut Etil asetat Dengan Variasi Katalis Basa Organik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, UGM.
- Nugroho, A.E., Supardjan, A.M., Hakim, L., Istiyastono, E.P. and Yuniarti, N., 2004, *Sintesis dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa-senyawa Baru Turunan 1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on*, Laporan Penelitian, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.
- Pedersen, U., Rasmussen, P.B., and Lawesson, S.-O., 1985, Synthesis of Naturally Occuring Curcuminoids and Related Compounds, *Liebigs Ann. Chem.*, 1557-1569.
- Roughley, P.J. and Whiting, D.A., 1973, Experiments in the Biosynthesis of Curcumin, *J.C.S. Perkin I*, 2379-2388.

menggunakan teknik spektrofotometri UV-Vis, spektrofotometri IR, spektroskopi ¹H-NMR dan spektroskopi massa menunjukkan bahwa hasil sintesis merupakan senyawa diAcGVT-0.

Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terutama untuk mendapatkan kondisi yang optimal dan metode yang terbaik untuk mensintesis diAcGVT-0, metode pemurnian dan informasi mengenai sifat fisika-kimia diAcGVT-0 dan menguji aktivitas biologis secara *in vitro* maupun *in vivo* senyawa diAcGVT-0 sebagai antioksidan.

Perlu juga dilakukan sintesis diAcGVT-0 menggunakan katalis DMAP [4-(dimetilamino)-piridin] untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Proyek Penelitian Hibah Bersaing XII atas bantuan dana selama penelitian ini berlangsung.

- Sardjiman, 2000, *Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioxidative, Antiinflammatory, Antibacterial Activity, and Qualitative Structure Activity Relationship*, Dissertation, Gadjah Mada University, Jogjakarta.
- Sardjiman, S.S., Reksohadiprodjo, M.S., Hakim, L., van der Goot, H., and Timmerman, H., 1997, 1,5-Diphenyl-1,4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationship., *Eur. J. Med. Chem.*, 32, 625-630.
- Youssef, K.M. and El-Sherbeny, M.A., 2005, Synthesis and Antitumor Activity of Some Curcumin Analogs, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 338, 181-189.