

Sintesis Asam 2-(2-(n-(2,6-diklorofenil)-4-fluorobenzamida)fenil)asetat sebagai Kandidat Obat Penghambat COX (siklooksigenase)

(Synthesis 2-(2-(N-(2,6-dichlorophenyl)-4-fluorobenzamido)phenil)acetat Acid as Drugs Candidate of Inhibitor COX (Cyclooxygenase))

Triodora Hutauruk, Ayik Rosita, Ika Oktavianawati
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan No. 37 Jember 68121
e-mail korespondensi: rara.cuutee@gmail.com

Abstract

Sodium diclofenac is a non selectif NSAID that used as an inflammatory, analgesic, and antipyretic. Several experiment about compound as a derivate sodium diclofenac has been synthesized for reduce side effect. 2-(2-(N-(2,6-dichlorophenyl)-4-fluorobenzamido)phenil)acetat acid (N4FND) is derivate of sodium diclofenac that synthesized for development of drugs. The target compound has been synthesized by benzoilation reaction between sodium diclofenac with 4-fluorobenzoylchloride. And then, the target compound has been purified using Coloumn Chromatography. The isolate was identified using ¹HNMR 400 MHz and KBr FTIR. Spectra of of ¹HNM 00 MHz and KBr FTIR showed that 2-(2-(N-(2,6-dichlorophenyl)-4-fluorobenzamido)phenil)acetat acid was successfully synthesized. Pure product compound form yellowish white crystals with melting point 165-167⁰C.

Keywords: sodium diclofenac, 4-fluorobenzoylchlorida, 2-(2-(N-(2,6-dichlorophenyl) -4-fluorobenzamido)phenil)acetat acid, cyclooxygenase.

Abstrak

Natrium diklofenak merupakan NSAID non selektif yang digunakan sebagai antiinflamasi, analgesik dan antipiretik. Berdasarkan beberapa penelitian senyawa turunan diklofenak yang telah disintesis untuk mereduksi efek samping. Asam 2-(2-(N-(2,6-diklorofenil)-4-fluorobenzamida)fenil)asetat (N4FND) merupakan turunan natrium diklofenak yang disintesis sebagai upaya pengembangan obat. Senyawa target disintesis melalui reaksi benzoilasi antara natrium diklofenak dengan 4-fluorobenzoilklorida. Kemudian, senyawa target dimurnikan menggunakan kromatografi kolom. Isolat yang diperoleh diidentifikasi menggunakan ¹HNMR 400 MHz and KBr FTIR. Spektra hasil analisis ¹HNMR 400 MHz dan FTIR KBr menunjukkan bahwa asam 2-(2-(N-(2,6-diklorofenil)-4-fluorobenzamida)fenil)asetat berhasil disintesis. Kristal yang diperoleh berwarna putih kekuningan dengan titik lebur 165-167⁰C.

Kata kunci: natrium diklofenak, 4-fluorobenzoilklorida, asam 2-(2-(N-(2,6-diklorofenil)-4-fluorobenzamida)fenil)asetat (N4FND), siklooksigenase.

Pendahuluan

COX (siklooksigenase) adalah suatu enzim yang mengkatalis sintesis prostaglandin

dari asam arakidonat. Prostaglandin merupakan mediator yang bertanggungjawab terhadap proses nyeri, inflamasi [1] dan proliferasi sel kanker [2]. Mengingat besarnya peran COX

dalam proses nyeri, inflamasi dan proliferasi sel kanker, maka perlu dilakukan sintesis kandidat obat penghambat COX yang diharapkan memberikan aktivitas yang lebih tinggi.

NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) merupakan salah satu golongan obat yang dapat memblokir aksi dari COX sehingga menurunkan produksi prostaglandin yang berperan dalam memediasi terjadinya inflamasi dan nyeri. NSAID secara umum memiliki efek sebagai analgesik (antinyeri), antipiretik (penurun demam) dan pada dosis tinggi sebagai antiinflamasi (meredakan peradangan) [3].

Natrium 2-(2-((2,6-diklorofenil) amino) fenil)asetat atau yang sering disebut natrium diklofenak adalah salah satu obat yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat obat penghambat COX. Natrium diklofenak merupakan NSAID non selektif, golongan asam asetat, dan turunan dari asam fenilasetat. Obat ini adalah penghambat COX yang kuat dengan efek antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik [4]. Natrium diklofenak memiliki aktivitas menghambat COX melalui penghambatan pembentukan prostaglandin yang merupakan mediator nyeri [5], sehingga dapat digunakan untuk mengobati segala macam rasa nyeri, migrain dan encok [6]. Pengembangan terhadap natrium diklofenak yang telah dilakukan diantaranya mereaksikan natrium diklofenak menjadi ester dengan substituen aromatis heterosiklik. Dari sintesis yang dilakukan tersebut terbukti dapat mereduksi efek samping gastrointestinal irritation dan peptic ulcer dari natrium diklofenak [7]. Pengembangan natrium diklofenak lainnya dilakukan dengan mensintesis turunan natrium diklofenak melalui reaksi esterifikasi dengan substituen alkil. Sintesis turunan natrium diklofenak ini, juga dapat mereduksi efek samping gastrointestinal irritation dan peptic ulcer dari natrium diklofenak [8].

Beberapa penelitian tentang obat penghambat COX diantaranya adalah p-aminofenol, modifikasi yang telah dilakukan ialah mensintesis N-4t-butilbenzoil-p-aminofenol melalui reaksi benzoilasi. Sintesis dilakukan dalam satu tahap, yaitu mereaksikan p-aminofenol dengan 4t-butilbenzoilklorida menghasilkan senyawa N-4t-butilbenzoil-p-aminofenol yang memiliki aktivitas sebagai analgesik lebih lemah dari parasetamol,, sedangkan aktivitas sebagai antiinflamasi lebih kuat dari parasetamol tetapi lebih lemah dari

natrium diklofenak [9]. Penelitian tentang obat penghambat COX lainnya yaitu piroksikam. Sintesis turunan piroksikam dilakukan dengan mereaksikan piroksikam dan 4-metoksibenzoilklorida melalui reaksi benzoilasi. Hasil sintesis turunan piroksikam tersebut ternyata memberikan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa penuntunnya, piroksikam [10].

Berdasarkan pemaparan tersebut, muncul pemikiran untuk melakukan penelitian tentang sintesis turunan obat dengan senyawa penuntun natrium diklofenak melalui reaksi benzoilasi karena belum ada penelitian tentang sintesis turunan natrium diklofenak menggunakan reaksi benzoilasi. Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis turunan natrium diklofenak dengan reaksi substitusi atom hidrogen pada posisi N dengan gugus 4-fluorobenzoilklorida yang secara teoritis mempunyai elektronegativitas besar membentuk senyawa amida, yaitu asam 2-(2-(N-(2,6-diklorofenil)-4-fluoro benzamida) fenil)asetat (N4FND).

Pada hasil sintesis kemudian dilakukan pemurnian, karakterisasi produk dan identifikasi struktur. Karakterisasi produk dilakukan dengan uji organoleptis dan uji kemurnian. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati warna dan bentuk secara visual, sedangkan uji kemurnian dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan melting point apparatus. Identifikasi struktur dilakukan menggunakan metode ¹HNMR 400 MHz dan FTIR KBr.

Metode Penelitian

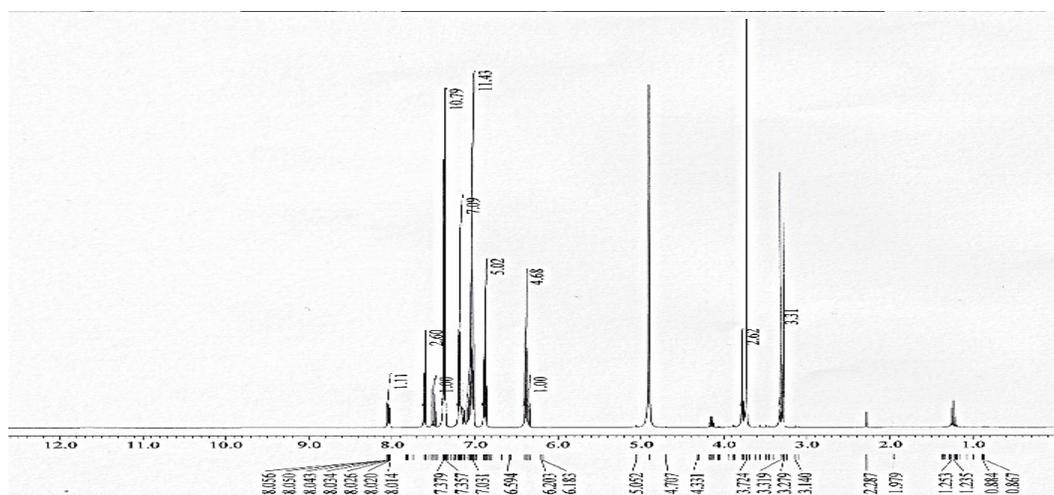
Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan variabel bebas adalah metode sintesis N4FND sedangkan variabel terikatnya adalah % hasil N4FND. Dilakukan sintesis dengan mereaksikan (0,005 mol) natrium diklofenak yang telah dilarutkan dalam 5 mL tetrahidrofuran dengan (0,005 mol) 4-fluorobenzoilklorida yang juga telah dilarutkan dalam 5 mL tetrahidrofuran. Kemudian distirer dalam ice bath selama 19 jam. Hasil stirer diuapkan pada lemari asam hingga pelarut habis. Endapan yang terbentuk ditambah dengan 25 mL air (replikasi 3 kali), disaring dan diuapkan kembali pada lemari asam sampai pelarut habis.

Optimasi eluen dilakukan dengan menotolkan hasil reaksi pada lempeng KLT. Lempeng dieluasi dengan eluen etil asetat, toluen, metanol dalam beberapa macam

perbandingan eluen. Eluen yang optimal adalah eluen yang memiliki nilai $R_s > 1,5$. Selanjutnya dilakukan optimasi waktu reaksi dengan menotolkan hasil produk sintesis selama 1 sampai 24 jam pada lempeng KLT. Ditotolkan pula natrium diklofenak dan asam benzoat sebagai pembanding. Waktu reaksi optimum dipilih berdasarkan noda bahan awal lebih tipis, sedangkan noda hasil lebih tebal, serta semakin kecilnya perbandingan luas area kromatogram noda bahan awal dan noda hasil. Kemudian, dilakukan pemurnian pada hasil sintesis menggunakan kromatografi kolom.

noda hasil lebih tebal, serta memiliki perbandingan luas area kromatogram noda bahan awal dan noda hasil yang paling kecil. Hasil kromatografi kolom diperoleh noda satu spot, kemudian digabung menjadi satu untuk dilakukan identifikasi dan karakterisasi.

Berdasarkan spektra $^1\text{HNMR}$ pada penelitian ini diperoleh integrasi proton CH (aromatis) : CH_2 (alkana) = 44:8, jika disederhanakan menjadi CH (aromatis) : CH_2 (alkana) = 11:2. Spektra $^1\text{HNMR}$ kelompok fraksi 16-26 dapat dilihat pada Gambar 1. Pergeseran kimia proton pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Spektra $^1\text{HNMR}$ kelompok fraksi 16-26

Dari hasil kromatografi kolom dipilih fraksi yang memiliki noda satu spot. Hasil pemurnian tersebut diidentifikasi menggunakan $^1\text{HNMR}$ 400 Mhz dan FTIR Kbr, serta dikarakterisasi melalui uji organoleptis meliputi bentuk dan warna dan uji kemurnian meliputi uji jarak lebur dan KLT-Densitometri.

Hasil Penelitian

Pada optimasi eluen diperoleh bahwa eluen etil asetat, toluen dan metanol dengan perbandingan 50:50:10 merupakan eluen yang optimal dengan nilai resolusi 1,57. Pada optimasi waktu reaksi diperoleh bahwa reaksi jam ke-19 merupakan waktu reaksi yang optimum karena noda bahan awal lebih tipis dan

Tabel 1. Perbandingan karakteristik spektra $^1\text{HNMR}$

Proton dari gugus	Pergeseran Kimia (ppm)		Jumlah Proton
	Hasil Percobaan	Prediksi Literatur (Pavia Office et al., versi trial 2009)	
CH aromatis	H2=6,398	H2=6,97	H2=multiplet H2=1 H3=multiplet H3=1 H4=multiplet H4=1 H5=multiplet H5=1 H6=multiplet H6=1 H7=multiplet H7=1 H8=multiplet H8=1 H9=multiplet H9=1 H10=multiplet H10=1 H11=multiplet H11=1 H12=doublet H12=1
	H3=7,366	H3=7,31	
	H4=7,234	H4=7,28	
	H5=7,513	H5=7,51	
	H6=7,379	H6=7,38	
	H7=7,528	H7=7,51	
	H8=8,034	H8=8,12	
	H9=7,495	H9=7,42	
	H10=7,492	H10=7,42	
	H11=8,043	H11=8,12	
	H12=7,617	H12=7,73	
	CH ₂ alkana	H1=3,724	

Dari hasil analisis FTIR KBr menunjukkan terbentuknya gugus amida tersier antara natrium diklofenak dan 4-fluorobenzoilklorida, serta terbentuknya gugus COOH. Selain itu juga, muncul pita gugus-gugus fungsi yang terdapat pada senyawa N4FND yang ditunjukkan pada Gambar 2. Pita gugus-gugus fungsi yang muncul sesuai dengan literatur yang ada, yang ditunjukkan pada Tabel 2.

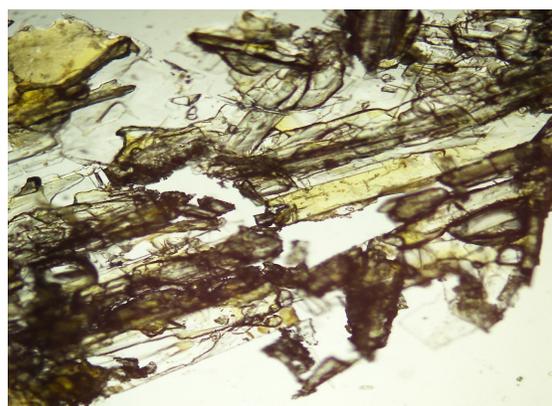
Pada uji organoleptis diperoleh bahwa senyawa N4FND berbentuk kristal putih kekuningan, yang dapat dilihat pada Gambar 3. Pada uji kemurnian diperoleh jarak lebur sebesar 2⁰C dan diperoleh nilai r (s,m) 0,999423 dan r (m,e) 0,999371 dari hasil uji *purity* KLT-densitometri yang menunjukkan senyawa yang diperoleh adalah senyawa murni.



Gambar 2. Spektra IR kelompok fraksi 16-26

Tabel 2. Perbandingan Interpretasi Spektra IR

Tipe Vibrasi	Frekuensi (cm ⁻¹) dari Percobaan	Frekuensi (cm ⁻¹) dari Literatur
C=O Asam karboksilat	1793,68	1725-1700
O-H Asam karboksilat	3078,18-2563,22	3400-2400
C-O Asam Karboksilat	1161,07	1300-1100
C=O Amida	1693,38	1680-1630
C-X Florida	1303,79	1400-1000
C-X Klorida	765,69	785-540
-CH ₂ - Alkana	1454,23	1465
C-H Aromatis	3078,18	3150-3050
C=C Aromatis	1587,31 & 1508,23	1600 & 1475



Gambar 3. Kristal senyawa N4FND melalui mikroskop olympus BX53T

Pembahasan

Hasil spektra $^1\text{HNMR}$ menunjukkan perbandingan integrasi proton senyawa yang diprediksi sebagai senyawa target ialah CH (aromatis) : CH₂ (alkana) = 44 : 8. Integrasi proton tersebut menjadi 4 kali lipat dari yang seharusnya dikarenakan jumlah sampel yang digunakan 4 kali lipat dari standar rekomendasi jumlah sampel untuk analisis $^1\text{HNMR}$ yaitu 1-4 mg [11]. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa peningkatan intensitas signal proton proporsional dengan peningkatan konsentrasi sampel [12]. Jika disederhanakan, persamaan ini menjadi CH (aromatis) : CH₂ (alkana) = 11 : 2. Jumlah perbandingan rasio proton yang diperoleh menunjukkan jumlah atom H dalam senyawa yang diidentifikasi. Secara teoritis, senyawa N4FND memiliki 14 atom H dan yang diperoleh dari identifikasi ialah 13 atom H. Proton gugus COOH tidak terdeteksi karena gugus tersebut bersifat lemah. Selain itu, pada spektra $^1\text{HNMR}$ tersebut muncul pita proton H₂O (3,783 ppm), CH₃ (3,319 ppm) dan OH (4,902 ppm) dari metanol d-4 [13]. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa R-OH memberikan signal proton pada range 1-5 ppm [14]. Dari data $^1\text{HNMR}$ dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan N4FND.

Pada spektra IR terdapat pita C=O asam karboksilat (COOH) pada bilangan gelombang 1793,68 cm⁻¹ dan terdapat pita pada bilangan gelombang 1693,38 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus C=O amida bentuk tersier, namun gugus C=O amida tersebut mengalami pergeseran karena pengaruh elektronegativitas F dari benzoilklorida pada posisi para [13], sehingga dapat diketahui bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa amida. Selain itu pada Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa gugus-gugus fungsi pada struktur senyawa N4FND muncul pada spektra IR hasil percobaan. Berdasarkan interpretasi hasil FTIR KBr ini dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa N4FND.

Organoleptis senyawa N4FND yaitu kristal berwarna putih kekuningan. Berdasarkan uji kemurnian, senyawa N4FND memiliki jarak lebur sebesar 2^oC (165-167^oC) dan nilai *r* (s,m), *r* (m,e) hasil uji *purity* berturut-turut sebesar 0,999423 dan 0,999371, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa N4FND yang dihasilkan murni.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa Senyawa N4FND dapat disintesis melalui reaksi benzoilasi dengan waktu reaksi optimal 19 jam sesuai dengan hasil identifikasi struktur. Perlu dilakukan optimasi lebih lanjut pada stokiometri dan suhu reaksi agar didapatkan % hasil senyawa yang lebih optimal.

Daftar Pustaka

- [1] Zhang WY, Yang XN, Jin DZ, dan Zhu XZ. Expression and Enzyme Activity Determination of Human COX-1 and-2 in Baculovirus-Insect Cell System. *J. Chin. Pharm. Soc.* 2004; 25(8): 1000-1006.
- [2] Simmons DL, dan Moore BC. COX-2 Inhibition, Apoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *J. Med. Chem.* 2000; 7(1): 1131-1144.
- [3] Dewi SK. Osteoarthritis: Diagnosis, Penanganan dan Perawatan di Rumah. Yogyakarta: Fitramaya; 2009.
- [4] Payan DG, dan Katzung BG. Farmakologi Dasar dan Klinik. Jakarta: EGC; 1998.
- [5] Hardjasaputra SLP, Budipratono G, Sembiring SU, dan Kamil I. Data Obat di Indonesia. Jakarta: Grafindian Medipress; 2002.
- [6] Tjay TH, dan Rahardja K. Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya. Jakarta: Elex Media Komputindo; 2002.
- [7] Manon B, dan Sharma PD. Design, Synthesis and evaluation of diclofenac-antioxidant mutual prodrugs as safer NSAID's. *J. Indian Chem.* 2000; 48(1): 1279-1287.
- [8] Suryawanshi SB, Osman HA, Shaikh YI, dan Nazerrudin GM. Synthesis of Various Esters of Diclofenac (NSAID's) as Pro-Drugs and their Biological Evaluation. *J. Chem. Scien. Trans.* 2014; 3(2): 562-565.
- [9] Susilawat SS, dan Handayani SN. Sintesis dan Uji Aktivitas Analgetika-Antiflamasi Senyawa N-(4t-butylbenzoil)-p-aminofenol. *J. Mol.* 2009; 1 (1): 36-40.
- [10] Jayaselli J, Cheemala JMS, Geetha RD P, dan Pal S. Derivatization of Enolic OH of Piroxicam: a Comparative Study on Esters and Sulfonates. *J. Braz. Chem. Soc.* 2008; 19(3): 509-515.

- [11] Lam, Y., dan Nytko, F. 2012. Basic NMR Instruction manual. Place unknown; Basic NMR Instruction manual. 2012 [cited 11 Mei 2014]. Available from:]
<http://www.chem.umd.edu/>
- [12] Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy [internet]. Michigan State University; Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2013 [cited 19 Mei 2014]. Available from:
<http://www2.chemistry.msu.edu/>
- [13] Pavia DL, Lampman GM, dan Kriz GS. Introduction to Spectroscopy Fourth Edition. USA: Cengage Learning Inc; 2009.
- [14] Schmieder P. Solution State NMR [internet]. Place unknown; Solution State NMR. 2013 [cited 11 Mei 2014]. Available
<http://schmieder.fmp-berlin.info/>