JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS, Mei 2013, hlm. 43-50 Vol. 10 No. 1
ISSN : 1693-5683

SINTESIS LAKTOGENIN DARI TETRAHIDROFURAN-3-KARBOKSALDEHIDA DAN 2-ASETIL-γ-BUTIROLAKTON DENGAN KATALIS NATRIUM METOKSIDA

JEFFRY JULIANUS, LAURENSIUS WIDI ANDHIKA PUTRA

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

Abstract: *Acetogenin compound known for its activity as anticancer by inhibited the NADH-ubiquinone reductase contained in the mitochondria. These compounds with high liphophilicity properties have a weakness in solubility with log P 8.44, so modifications to improve the solubility by maintaining a core group of tetrahydrofuran and γ-lactone as well as shortening the alkyl chain is needed. The modified compounds was lactogenin or 3-(3- (tetrahydrofuran-3-yl) acryloyl) dihydrofuran-2(3H)-one) that have a log P 0.90 and is expected to have a better solubility properties than acetogenin. Lactogenin synthesis was based on cross-aldol condensation reaction by reacting tetrahyrdofuran-3-carbaldehyde and 2-acetyl-γ-butyrolactone using sodium methoxide as catalyst. The synthesized compounds were red solution with specific smell. The TLC result showed the new products at Rf 0.314. The purity test by gas chromatography showed 74.07% purity. The structure elucidation by infrared and mass spectroscopy showed that the synthesized compound was β-hydroxy lactogenin or 3-(3-hydroxy-3-(tetrahydrofuran-3-yl) propanoyl) dihydrofuran-2(3H)-one.*

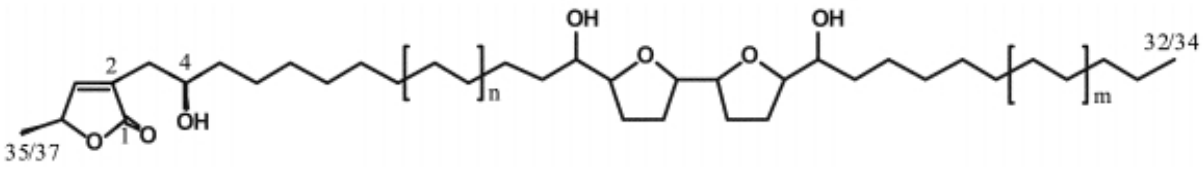
Keywords: *NADH-ubiquinone oksidoreduktase, lactogenin, cross-aldol condensation reaction, β-hydroxy lactogenin*

1. Pendahuluan

Prevalensi penderita kanker meningkat dari tahun ke tahun akibat peningkatan angka harapan hidup, sosial ekonomi, serta perubahan pola penyakit. Menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2002, kanker menduduki urutan ke-6 penyebab utama kematian di Indonesia setelah stroke. Data SKRT menunjukkan adanya peningkatan penyebab kematian karena kanker yaitu dari 4,0% pada tahun1992 meningkat menjadi 5,0% pada tahun 1995 dan meningkat lagi menjadi 6,0% pada tahun 2001 (Anonim, 2007).

Annonaceous acetogenins (ACGs) merupakan salah satu molekul bioaktif yang secara luas dikenal dan diisolasi dari famili tanaman *annonaceae* (Piret, 2008). *Annonaceous acetogenins* memiliki efek biologis yang impresif dengan menjadi salah satu senyawa penting dalam perkembangan obat kanker. Kemampuan antikanker dari ACGs ditunjukkan dalam menghambat enzim NADH: *ubiquinone oxidoreductase* atau kompleks I pada rantai pernafasan mitokondria (Tormo *et al.*,2001).

Pada molekul asetogenin (gambar 1) terdapat bagian yang berperan penting sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker. Cincin tetrahidrofuran pada pusat yang diikat gugus hidroksil dan gugus *α-β-unsaturated*-γ-lakton yang diikat rantai alkil di tengah-tengah kedua gugus fungsional tersebut (Tormo *et al.*, 2001). Cincin tetrahidrofuran berperan sebagai jangkar yang bersifat hidrofilik di dalam membran mitokondria. Rantai alkil yang terdapat dalam struktur senyawa golongan asetogenin memiliki peranan sebagai penyumbang sifat hidrofobik yang dimiliki. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin panjang rantai alkil yang dimiliki, semakin kecil nilai aktivitas penghambatannya (Miyoshi, Ichimaru, and Murai, 2007). Cincin γ-lakton berperan sebagai sisi interaksi asetogenin dengan sisi interaksi quinone di dalam mitokondria kompleks I.



Gambar 1. Struktur umum asetogenin (Bermenjo *et al.*, 2005)

Berdasarkan analisis hubungan antara struktur dan aktivitas modifikasi struktur dapat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas penghambatan terhadap kompleks I mitokondria. Peningkatan aktivitas juga didukung kemampuan senyawa dalam menembus membran menuju tempat aksinya. Struktur senyawa golongan asetogenin yang memiliki rantai alkil yang panjang, memiliki sifat lipofilisitas yang besar dengan ditunjukkan nilai log P sebesar 8,44. Nilai log P yang besar akan menunjukkan bahwa kelarutannya di dalam medium air akan sangat kecil dimana untuk dapat terabsorpsi menembus membran, suatu senyawa juga harus memiliki kemampuan terlarut didalam medium air. Berdasarkan hal tersebut, modifikasi molekul yang dilakukan adalah dengan memperpendek rantai alkilnya, namun dengan mempertahankan gugusan aktifnya yaitu cincin tetrahidrofuran dan γ-lakton. Senyawa hasil modifikasi adalah (3-(3-(tetrahidrofuran-3-il)akriloil)dihidrofuran-2(3H)-on) atau disebut laktogenin, senyawa ini memiliki sifat hidrofilisitasnya lebih tinggi dibanding senyawa asetogenin ditunjukkan dengan nilai log P sebesar 0,90. Nilai log P mendekati 1 menunjukkan sifat hidrofilisitas dan lipofilisitas yang lebih baik. Keuntungan sifat yang dimiliki oleh senyawa hasil sintesis akan memudahkan proses absorbsi dan permeabilitasnya menembus membran mitokondria untuk dapat berinteraksi dengan enzim NADH: *ubiquinone oxidoreductase* dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

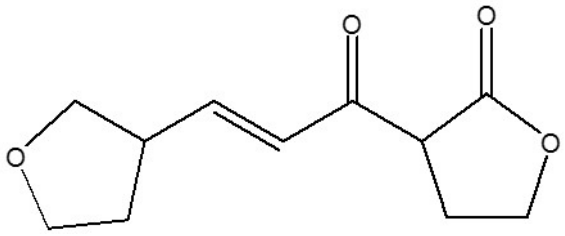
Sintesis senyawa laktogenin (gambar 2) dilakukan dengan mereaksikan tetrahidrofuran-3-karboksaldehid dan 2-asetil-γ-butirolakton dengan katalis natrium metoksida berdasarkan reaksi kondensasi aldol silang. Tetrahidrofuran-3-karboksaldehid yang berperan sebagai senyawa aldehid dengan adanya muatan parsial positif dari gugus karbonilnya akan diserang oleh muatan negatif dari ion enolat yang terbentuk dengan adanya penangkapan hidrogen alfa dari 2-asetil-γ- butirolakton oleh katalisnatrium metoksidayang digunakan.

Natrium metoksida ($NaOCH_3$) digunakan sebagai katalis yang memiliki reaktifitas dan kebasaan yang lebih tinggi dibandingkan ion hidroksida, selain itu juga penggunaan katalis $NaOCH_3$ dapat mencegah hidrolisis yang terjadi pada 2-asetil-γ-butirolakton. Dengan kebasaan yang tinggi tersebut, akan membuat penangkapan hidrogen alfa dari 2-asetil-γ-butirolakton akan lebih cepat dan efektif sehingga akan dihasilkan suatu intermediet ion enolat yang lebih reaktif dan reaksi kondensasi aldol silang akan dapat berlangsung lebih optimal dan rendemen yang dihasilkan akan lebih banyak.

2. Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan adalah tetrahidrofuran-3-karboksaldehid (*for synthesis,* Sigma-aldrich), 2-asetil- γ-butirolakton (*for synthesis*, Merck), logam natrium (*p.a.,* Merck), metanol (*p.a.,* Merck),aquadest, silika gel F_{254} (Merck).

Alat yang digunakan adalah pengaduk magnetik, pemanas listrik (Herdolph MR 2002), pengering (Memmert Oven Model



Gambar 2. Struktur laktogenin

400), neraca analitik (Mextler PM 100), seperangkat alat gelas, klem, statif, termometer, spektrofotometer IR (*IR Shimadzu Prestige-21*), kromatografi gas-spektrometer massa (*Shimadzu QP2010S*), lampuUV$_{254}$ nm, mikropipet, baskom, kertas saring.

2.1. Prosedur sintesis

Metanol sebanyak 30,35mL (0,75mol) dimasukkan ke dalam labu yang dilengkapi oleh pengaduk magnet. Logam natrium sebanyak 0,5gram (0,0217 mol) tambahkan ke dalam metanol tersebut sedikit demi sedikit ke sambil dilakukan pengadukan. Mulut labu ditutup untuk mencegah penguapan dan setelah logam natrium larut di dalam metanol lalu didiamkan pada suhu kamar. Tutup labu dibuka untuk menghilangkan gas H_2 yang dihasilkan. Jika gas H_2 sudah hilang seluruhnya, maka natrium metoksida sudah terbentuk.

2-asetil-γ-butirolakton sebanyak 0,5943 mL (5,53 mmol) dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher tiga. Natrium metoksida sebanyak 7,75mL (5,53mmol) ditambahkan sambil dilakukan pengadukan. Tetrahidrofuran-3-karboksaldehid sebanyak 1mL (5,53 mmol) ditambahkan ke dalam campuran sebelumnya. Semua penambahan bahan dilakukan secara tetes demi tetes. Campuran kembali diaduk dengan pengaduk magnetik pada kecepatan 750 putaran permenit pada suhu kamar selama180 menit.

2.2. Analisis hasil

2.2.1. Uji organoleptis

Senyawa hasil sintesis diamati sifat-sifat fisiknya, meliputi bentuk, warna, dan bau. Hasil pengamatan dibandingkan dengan *starting material* yang digunakan yaitu2-asetil-γ-butirolakton dan tetrahidrofuran-3- karboksaldehid.

2.2.2. Uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis

Senyawa hasil sintesis dan *starting material* masing-masing dilarutkan dalam kloroform. Masing-masing larutan tersebut ditotolkan sebanyak 0,5 µL dengan menggunakan mikropipet pada lempeng silikagel GF_{254} yang sudah diaktifkan pada suhu 100^0C selama 30 menit. Pengembangan dilakukan dengan fase gerak toluena:metanol (1:1) serta jarak rambat 14 cm.

2.2.3. Uji kemurnian dengan kromatografi gas

Pemisahan dan pemeriksaan kemurnian senyawa hasil sintesis dilakukan menggunakan instrumen kromatografi gas dengan kondisi alat: suhu injektor 250°C, jenis kolom Rtx-5MS, panjang kolom 30 meter, suhu kolom diprogram 50-200°C, gas pembawa helium, tekanan 15kPa, kecepatan alir fase gerak 0,56ml/menit, dan detektorionisasi nyala. Cuplikan senyawa hasil sintesis dilarutkan dalam aseton, kemudian diinjeksikan ke dalam injektor pada alatkromatografigas.Alirangasdarigas pengangkut helium akan membawa cuplikan yang sudah diuapkan masuk ke dalam kolom Rtx-5MS yang dilapisi fase cair *dimethylpolysiloxane*. Selanjutnya cuplikan diukur detektor hingga diperoleh suatu kromatogram.

2.2.4. Elusidasi struktur dengan spektrofotometri inframerah

Senyawa yang berwujud cairan ditempatkan dalam film tipis diantara dua lapis NaCl yang transparan terhadap inframerah. Cahaya inframerah dari sumber dilewatkan melalui cuplikan, kemudian dipecah menjadi frekuensi-frekuensi individunya dalam monokromator dan intensitas relatif dari frekuensi individu diukur oleh detektor hingga didapat spektra inframerah dari senyawa yang bersangkutan.

Bilangan gelombang yang digunakan 400-4000 nm.

2.2.5. Elusidasi struktur dengan spektroskopi massa

Uap cuplikan senyawa hasil sintesis yang keluar dari kolom kromatografi gas dialirkan ke dalam kamar pengion pada spektromoter massa untuk ditembak dengan seberkas elektron hingga terfragmentasi. Jenis pengionan yang digunakan adalah EI (*Electron Impact*) 70eV. Fragmen-fragmen akan melewati lempeng mempercepat ion dan didorong menuju tabung analisator, dimana partikel-partikel akan dibelokkan dalam medan magnet dan menimbulkan arus pada kolektor yang sebanding dengan kelimpahan relatif setiap fragmennya. Kelimpahan relatif setiap fragmen akan dicatat dan menghasilkan data spektra massa.

3. Hasil dan Pembahasan

Sintesis laktogenin dilakukan berdasarkan reaksi kondensasi aldol silang dengan mereaksikan tetrahidrofuran-3-karboksaldehid dan 2-asetil-γ-butirolakton dengan menggunakan katalis $NaOCH_3$. 2-asetil-γ-butirolakton yang memiliki hidrogen α berperan sebagai nukleofil dan akan bereaksi dengan tetrahidrofuran-3-karboksaldehid yang berperan sebagai elektrofil hingga terbentuk laktogenin.

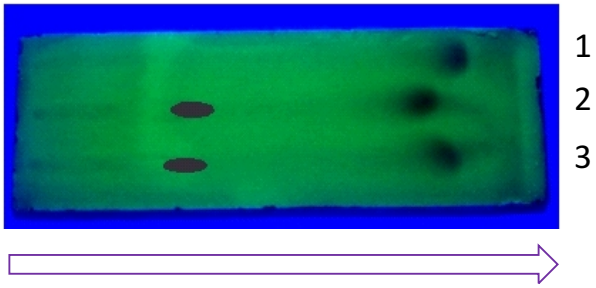
Sintesis dilakukan dengan mereaksikan 2-asetil-γ-butirolakton dengan NaOCH3 terlebih dahulu untuk membentuk ion enolat dari 2-asetil-γ-butirolakton. Ion enolat yang terbentuk bersifat lebih nukleofil dibanding dengan 2-asetil-γ-butirolakton. Dengan terbentuknya ion enolat ini akan meningkatkan reaktivitas dari 2-asetil-γ-butirolakton sehingga dapat dengan mudah bereaksi dengan tetrahidrofuran-3-karboksaldehid.

Dari hasil pengamatan secara organoleptis diatas, dapat disimpulkan senyawa hasil sintesis merupakan senyawa yang berbeda dari starting material yang digunakan, yaitu 2-asetil-γ-butirolakton dan tetrahidrofuran-3-karboksaldehid. Hal ini dapat dilihat dengan adanya perbedaan dari warna dan bau yang dimiliki oleh ketiganya.

Berdasarkan hasil uji KLT (gambar 3 dan tabel II) tersebut dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dihasilkan suatu senyawa baru yang ditunjukkan dengan nilai R_f 0,321 dan 0,314, dimana nilai R_f tersebut berbeda dengan nilai R_f *starting material* yang digunakan. Bercak senyawa hasil sintesis mempunyai nilai Rf yang sama dengan nilai Rf 2-asetil-γ-butirolakton yaitu 0,778 dan 0,821. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis masih

Tabel I. Hasil pengamatan organoleptis senyawa hasil sintesis, tetrahidrofuran-3-karboksaldehid, dan 2-asetil-γ-butirolakton

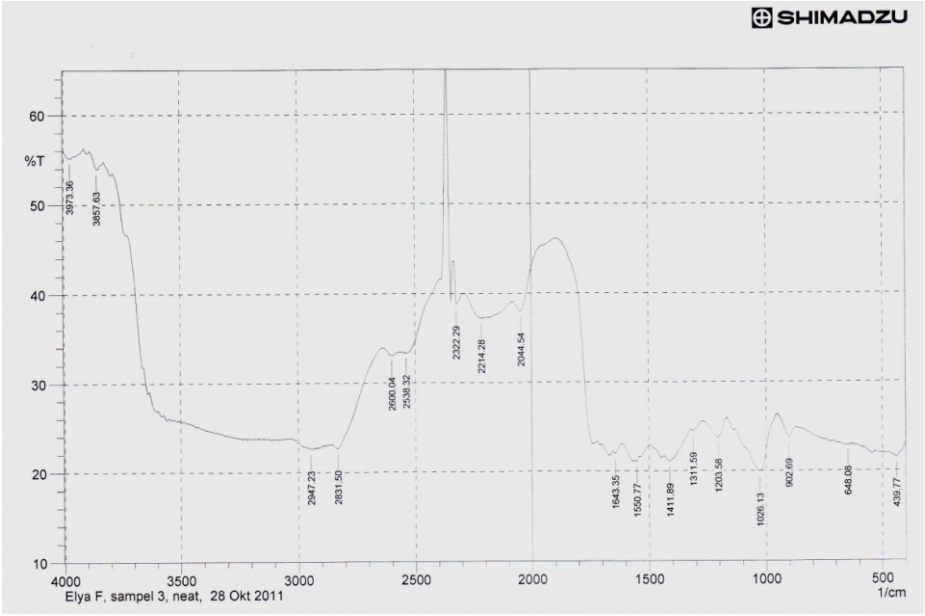
Pengamatan Organoleptis	Senyawa hasil sintesis	Tetrahidrofuran-3-karboksaldehid	2-asetil-?-butirolakton
Bentuk	Cair	Cair	Cair
Warna	Merah muda	Bening	Kuning muda
Bau	Tajam	Menyengat	Tidak berbau



Gambar 3 . Kromatogram KLT senyawa hasil sintesis
Fase diam : silika gel F254 dan fase gerak : toluena : metanol (1:1)

Tabel II. Nilai Rf senyawa hasil sintesis dan 2-asetil-γ-butirolakton

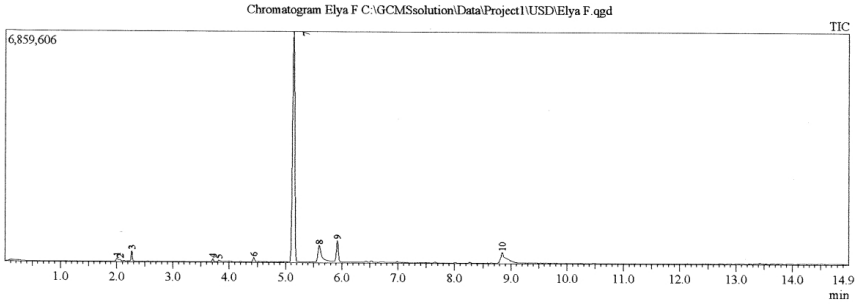
Bercak	Senyawa	Nilai R_f
1	2-asetil-?-butirolakton	0,857
2	Senyawa hasil sintesis replikasi I	0,778 0,321
3	Senyawa hasil sintesis replikasi II	0,821 0,314



Gambar 4. Spektra inframerah senyawa hasil sintesis

Tabel III. Interpretasi spektra inframerah senyawa hasil sintesis (Silverstein *et al.*, 2005)

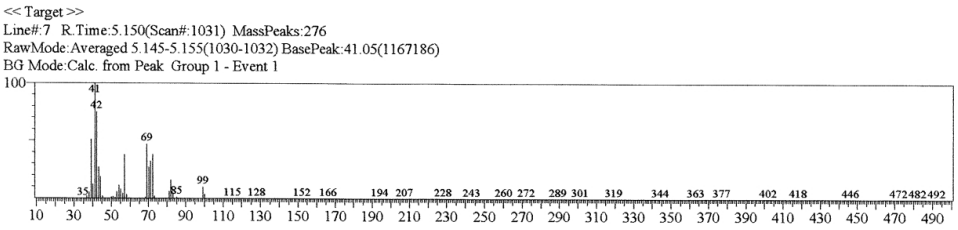
No.	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Intensitas	Pita vibrasi
1	2831,50 dan 2947,83	Kuat dan lebar	O-H tekuk (interaksi hidrogen)
2	1643	Kuat	C=O ulur keton
3	1411,89 dan 1311,59	Kuat	O-H tekuk alkohol primer atau sekunder
4	1203,58	Sedang	C-O ulur ester (ikatan C-C(=O)-O)
5	1020,13	Kuat	C-O ulur ester (ikatan O-C-C)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	2.008	1.960	2.030	210983	0.80	97501
2	2.065	2.030	2.100	129724	0.49	45400
3	2.268	2.235	2.320	459004	1.75	310223
4	3.711	3.675	3.755	171315	0.65	96796
5	3.820	3.785	3.870	103833	0.40	45100
6	4.439	4.395	4.485	254305	0.97	123026
7	5.151	5.060	5.220	19437314	74.07	6823963
8	5.604	5.535	5.770	1982911	7.56	482347
9	5.924	5.865	5.990	1478260	5.63	628402
10	8.845	8.755	9.075	2014611	7.68	314092
				26242260	100.00	8966850

Gambar 5. Kromatogram kromatografi gas senyawa hasil sintesis



Gambar 6. Spektra massa senyawa hasil sintesis pada waktu retensi 5,151 menit

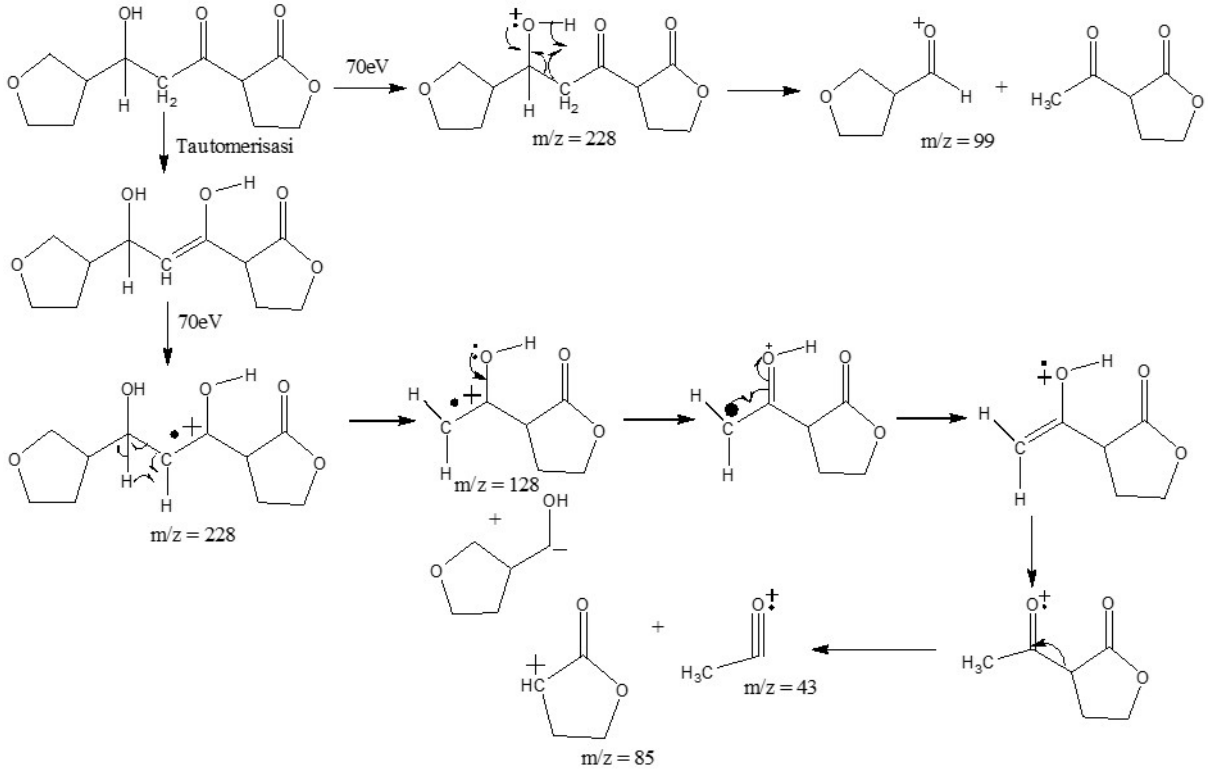
tercampur dengan starting material 2-asetil-γ-butirolakton. Untuk mengetahui senyawa baru yang dihasilkan maka dilakukan elusidasi struktur terhadap senyawa hasil sintesis.

Spektra inframerah senyawa hasil sintesis (Gambar 4) menunjukkan adanya gugus O-H tekuk alkohol primer atau sekunder, C-O ulur ester dengan ikatan C-C(=O)-O) dan O-C-C. (Tabel III). Hasil kromatografi gas (gambar 5) menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai 10 senyawa yang berbeda dan hasil ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis belum murni. Puncak dengan waktu retensi 5,151 menit memiliki *Area Under Curve* (AUC) yang terbesar yaitu 74,07%.

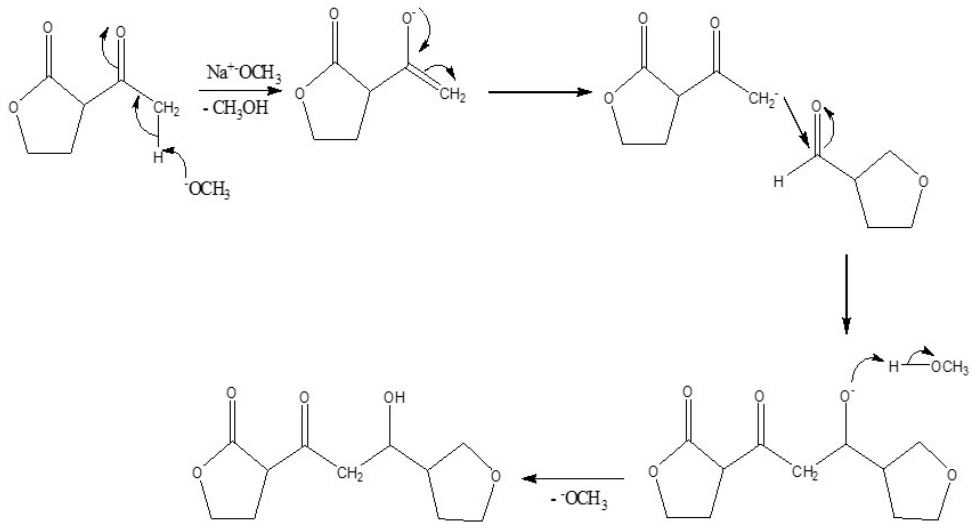
Analisis spektra massa senyawa hasil sintesis pada waktu retensi 5,151 menit (gambar 6) menunjukkan terjadinya pembiasan hasil dengan pembacaan hingga mencapai m/z= 492, namun dengan intensitas rendah. Hal ini dapat menyulitkan dalam membaca hasil spektra massa yang ditunjukkan. Namun dengan adanya mekanisme reaksi yang digambarkan dalam sintesis ini dapat membantu dalam menginterpretasikan spektra massa tersebut. Struktur yang mungkin terbentuk dari tiap tahapan dicocokan dengan fragmen-fragmen yang digambarkan melalui puncak-puncak yang terdapat dalam spektramassa.

Struktur dari *β*-hidroksi laktogenin atau 3-(3-hidroksi-3-(tetrahidrofuran-3-il) propanoil) dihidrofuran-2(3H)-on yang terdapat dalam salah satu tahap reaksi memiliki bobot molekul sebesar 228g/mol. Nilai tersebut sesuai dengan nilai m/z 228 yang terdapat pada spektra massa. Hasil ini diperkuat dengan nilai m/z fragmen-fragmen yang terdapat pada spektra massa yang menunjukkan bahwa nilai m/z fragmen-fragmen tersebut merupakan hasil fragmentasi dari *β*-hidroksi laktogenin (gambar 7).

Berdasarkan hasil spektra massa dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai bobot molekul 228 g/mol. Hasil



Gambar 7. Usulan mekanisme fragmentasi laktogenin



Gambar 8. Mekanisme reaksi terbentuknya laktogenin

spektra inframerah (gambar 4 dan tabel III) menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis mempunyai gugus fungsi–OH, tidak mempunyai gugus aldehid, tidak memiliki gugus alkena (C=C), memiliki gugus keton dan gugus ester lakton. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah senyawa *β*-hidroksi laktogenin.

Terbentuknya *β*-hidroksi laktogenin pada reaksi ini dikarenakan suhu reaksi yang digunakan hanya pada suhu kamar sehingga gugus *β*–OH yangterdapat pada *β*-OH laktogenin yangmerupakan gugus pergi jelek sukar untuk lepas. Selain itu juga diakibatkan metanol yang digunakan sebagai medium reaksi lebih sukar untuk melepas ion H^+akibatnya gugus *β*–OH tidak dapat terprotonasi sehingga gugus *β* –OH akan sukar lepas dan reaksi dehidrasi tidak terjadi (Gambar 8).

Berdasarkan hasil kromatografi gas menunjukkan bahwa senyawa *β*-hidroksi laktogenin yang dihasilkan mempunyai kemurnian 74,07%. Dalam penelitian ini belum dapat dihitung jumlah rendemennya dikarenakan senyawa *β*-hidroksilaktogenin yang dihasilkan belum murni. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan katalis basa kuat seperti $NaOCH_3$ efektif untuk menghasilkan senyawa *β*-hidroksi laktogenin berdasarkan reaksi kondensasi aldol silang.

Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut dengan kromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa *β*-hidroksilaktogenin yang murni dan dilakukan uji aktivitas antikanker senyawa *β*-hidroksilaktogenin.

4. Kesimpulan

Hasil reaksi antara tetrahidrofuran-3-karboksaldehida dan 2-asetil-*γ*-butirolakton dengan katalis natrium metoksida tidak menghasilkan laktogenin melainkan menghasilkan senyawa *β*-hidroksi laktogenin. *β*-hidroksi laktogenin yang dihasilkan mempunyai kemurnian sebesar 74,07%.

Saran

Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut dengan kromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa *β*-hidroksi laktogenin yang murni dan dilakukan uji aktivitas antikanker senyawa *β*-hidroksi laktogenin.

Daftar Pustaka

Anonim, 2007, *Profil Kesehatan Indonesia 2005*, Depatemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 50-53.

Bermenjo, A., Figadere, B., Zafra-Polo, M.C., Barrachina, I., Estornell, E., and Cortes, D., 2005, Acetogenins from Annonaceous: Recent Progress in Isolation, Synthesis and Mechanism of Action, *Journal of Natural Products*, 269-303.

McMurry, J., 2008, *Organic Chemistry*, 7th edition, Thomson Learning Inc, USA.

Miyoshi, H., Ichimaru, N., and Murai, M., 2007, Synthesis and inhibitory action of novel acetogenin mimics Δlac-acetogenins: A new class of inhibitors of mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex-I). In Pesticide Chemistry: Crop protection, Public Health, Environmental Safety, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA: Weinheim, Germany, pp. 171-174.

Piret, V., 2008, Synthesis of Acetogenin Analogue, *Thesis*, 10-12, University of Tartu Faculty of Science and Technology Institute of technology.

Silverstein, R.M., Bassler, G.C., and Morril, T.C., 2005, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th edition, John Willey & Sons Inc., Canada.

Tormo, J.R., Ernesto, E., Teresa, G., Carmen, G., Adrien, C., and Susana, G., 2001, γ-lactone-Functionalized Antitumoral Acetogenin are The Most Potent Inhibitor of Mitochondrial Complex I, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 681-684.