

Sintesis Analog Kurkumin (2E,6E)-2-(4-Hidroksi-3-Metoksi-5-((Pirolidin)metil)benziliden)- -6-(4-Metoksibenziliden)Sikloheksan-1-on

Nur Rahmawati^{1*}, Adita Silvia Fitriana¹, Munawarohthus Sholikha²

¹Prodi Farmasi Program Sarjana Universitas Harapan Bangsa, Jl. Raden Patah No.100, Purwokerto, Jawa Tengah

²Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta

*Email korespondensi: nurrahmawati@uhb.ac.id

ABSTRAK

Kurkumin merupakan senyawa potensial untuk dikembangkan. Namun, penggunaan klinis senyawa ini terbatas karena stabilitas dan bioavailabilitasnya rendah. Modifikasi struktur dapat mempengaruhi sifat fisikokimia dan efek terapeutik senyawa. Modifikasi struktur menggunakan reaksi basa Mannich diketahui dapat meningkatkan aktivitas senyawa. Senyawa analog kurkumin (2E,6E)-2-(4-hidroksi-3-metoksi-5-((pirolidin)metil)benziliden)-6-(4-metoksibenziliden)sikloheksan-1-on telah disintesis melalui 3 tahap. Tahap I, reaksi antara *p*-metoksibenzaldehid dan sikloheksanon melalui reaksi kondensasi aldol dengan katalis NaOH. Tahap II, reaksi Claisen-Schmidt antara senyawa **1** (hasil sintesis tahap I) dengan vanilin melibatkan HCl encer sebagai katalisatornya. Tahap III, senyawa **2** (hasil sintesis tahap II) direaksikan dengan formaldehid dan basa Mannich (pirolidin) membentuk ion iminium dan mengalami deprotonisasi. Senyawa **3** hasil pemurnian diamati menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen etil asetat:metanol (1:1) diperoleh R_f 0,46 dan titik lebur 130-131 °C. Rendemen yang didapatkan 51,52% dengan karakteristik berbentuk serbuk berwarna cokelat kemerahan. Hasil elusidasi spektrum FTIR senyawa **3** terdapat absorban pada panjang gelombang 1250- 1271 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan C dengan N (C-N) dan absorban OH fenol tidak muncul. Hal ini menandakan bahwa substitusi senyawa **2** dengan basa Mannich telah berhasil dilakukan.

Kata Kunci: basa Mannich, kurkumin, pirolidin, sintesis

Synthesis of Curcumin Analogs (2E,6E)-2-(4-Hydroxy-3-Methoxy-5-((Pyrrolidine)methyl)benzylidene)- -6-(4-Methoxybenzylidene)Cyclohexane-1-one

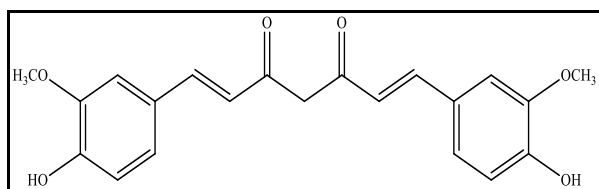
ABSTRACT

Curcumin is a potential compound to be developed. However, the clinical use of these compounds is limited due to their low stability and bioavailability. Structural modification can affect the physicochemical properties and therapeutic effects of compounds. Structural modification using the Mannich base reaction is known to increase the activity of the compound. Curcumin analog compound (2E,6E)-2-(4-hydroxy-3-methoxy-5-((pyrrolidine)methyl)benzylidene)-6-(4-methoxybenzylidene)cyclohexane-1-one was synthesized in 3 steps. Phase I, the reaction between *p*-methoxybenzaldehyde and cyclohexanone through an aldol condensation reaction with NaOH catalyst. Phase II, the Claisen-Schmidt reaction between compound **1** (the result of the synthesis of stage I) and vanillin involved dilute HCl as the catalyst. Phase III, compound **2** (result of the synthesis of stage II) is reacted with formaldehyde and Mannich's base (pyrrolidine) to form iminium ion and undergoes deprotonization. Compound **3** as a result of purification was observed using thin layer chromatography with ethyl acetate:methanol (1:1) as the eluent and obtained R_f 0.46 and melting point of 130-131 °C. The yield obtained was 51.52% with the characteristics of a reddish brown powder. The results of the elucidation of the FTIR spectrum of compound **3** showed absorbance at a wavelength of 1250-1271 cm⁻¹ which indicated the presence of a C-N (C-N) bond and the OH absorbent of phenol did not appear. This indicates that the substitution of compound **2** with Mannich base has been successfully carried out.

Keywords: curcumin, Mannich base, pyrrolidine, synthesis

PENDAHULUAN

Kurkumin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat beberapa molekul target seperti NF κ B (nuclear factor- κ B), TNF- α (tumor necrosis factor- α), dan enzim siklooksogenase 2 (COX-2) (Thong-Ngam *et al.*, 2012). Namun demikian, kurkumin belum dapat diterima sebagai senyawa obat (agen terapeutik). Hal ini disebabkan karena rendahnya bioavailabilitas di dalam tubuh yang disebabkan oleh absorpsinya yang buruk, cepat dimetabolisme, metabolik yang tidak aktif, dan cepatnya eliminasi dari dalam tubuh sehingga menghasilkan aktivitas biologis yang rendah. Selain itu, kurkumin juga memiliki kelarutan yang buruk (Anand *et al.*, 2007). Struktur kimia kurkumin dapat dilihat pada **Gambar 1** (Manohar *et al.*, 2013).



Gambar 1. Struktur Kimia Kurkumin
[Sumber: Manohar *et al.*, 2013]

Modifikasi struktur dapat memengaruhi sifat fisikokimia dan efek terapeutik senyawa. Struktur β -diketon pada kurkumin diketahui merupakan salah satu penyebab terbatasnya aplikasi klinis kurkumin. Hal tersebut disebabkan karena bagian struktur β -diketon pada kurkumin merupakan substrat spesifik berbagai enzim aldo-keto reduktase yang mana dapat menyebabkan cepatnya degradasi kurkumin, sehingga modifikasi kurkumin menjadi analog kurkumin monokarbonil (AKM) dilakukan dan terbukti dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi (Zhang *et al.*, 2014).

Modifikasi struktur menggunakan reaksi basa Mannich diketahui dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi senyawa (Bala *et al.*, 2014). Hal tersebut disebabkan karena strukturnya yang lebih besar sehingga lebih mudah berinteraksi dengan COX-2 yang memiliki sisi aktif yang lebih besar (Sujith *et al.*, 2009). Substitusi basa Mannich morfolin, metilpiperazin, piperidin dan pirolidin pada diklofenak, asam mefenamat dan sejumlah senyawa fenolik (benzofenon, kalkon) meningkatkan aktivitas antiinflamasi (Bandgar *et al.* 2010; Roman *et al.*, 2015).

Penelitian terbaru melaporkan bahwa substitusi basa Mannich N-metil piperazin pada analog kurkumin monokarbonil asimetrik memiliki potensi aktivitas antiinflamasi yang paling tinggi diantara basa Mannich dietilamin, dimetilamin, morfolin dan senyawa pembanding siklovalon dan natrium diklofenak (Rahmawati *et al.*, 2020). Dari penelitian tersebut, sintesis analog kurkumin monokarbonil asimetrik tersubstitusi basa Mannich N-metilpiperazin, dietilamin, dimetilamin dan

morfolin telah berhasil dilakukan (Rahmawati *et al.*, 2020). Sedangkan, untuk basa Mannich pirolidin belum diketahui. Oleh karena itu, pengembangan modifikasi struktur kurkumin berikutnya diarahkan pada sintesis senyawa para metoksi tersubstitusi basa Mannich pirolidin dengan struktur sentral siklik sikloheksanon. Sebagai tahap awal, penelitian ini untuk membuktikan bahwa variasi basa Mannich jenis pirolidin pada analog kurkumin monokarbonil asimetrik dapat juga disintesis. Sebagai dasar penelitian selanjutnya, agar dapat diketahui juga aktivitas farmakologinya.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Vanilin p.a, sikloheksanon p.a, 4-metoksibenzaldehida p.a, pirolidin p.a, asam klorida pekat p.a, etanol p.a, asam asetat glasial p.a, toluena p.a, natrium sulfat anhidrat p.a, *p*-formaldehid 37% p.a, metanol p.a, etil asetat p.a, etil asetat teknis, n-heksana p.a, KBr pro IR p.a, silika gel 60 (0,063 – 0,200 mm) untuk kolom p.a, lempeng KLT Silika 60 F254 (E. Merck 05554), aquadest, kertas saring, Whatman 42, dan indikator universal, Natrium hidroksida (Sigma Aldrich).

Alat. Spektrofotometer FTIR 8400S (Shimadzu, Jepang), Spektrofotometri UV-Vis 1601 (Shimadzu, Jepang), UV-cabinet II (CAMAG, Swiss), evaporator vakum putar (IKA-Labortechnik, Indonesia), timbangan analitik (Sartorius, Jerman), *Hotplate stirrer* (IKA C-Mag HS7, Amerika), oven vakum (Salvis, Swiss), pengaduk magnetik, corong Buchner (Sartorius GmbH D3400 Gottingen, Jerman), mikropipet (Propette, *Autoclavable*, Amerika), vortex (Thermo Scientific, Amerika), termometer, refluks, pipa kapiler (CAMAG, Swiss), sonikator (Elma), PH-Meter (Methrom), penangas air (Memmert, Jerman), alat penentuan titik lebur Analogue Model SMP11 (Stuart Scientific, Inggris), bejana KLT (CAMPAG, Swiss), dan alat-alat gelas untuk sintesis dan pemurnian.

Sintesis Tahap 1, Sintesis *para*-metoksibenziliden tersubstitusi-sikloheksanon (1). Sintesis senyawa **1** mengadaptasi metode Furniss dengan modifikasi seperlunya (Prasetyaningrum *et al.*, 2018; Putri *et al.*, 2018). Campuran *para* metoksibenzaldehida 0,32 mol dan sikloheksanon 0,88 mol dibuat dalam labu bulat leher dua yang telah dilengkapi dengan pengaduk magnetik dan direndam dalam wadah berisi air dengan suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan 8 mL NaOH 10% tetes demi tetes dan suhu dipertahankan antara 25-30°C. Setelah larutan NaOH habis, campuran tersebut diaduk selama 2 jam. Campuran dinetralkan dengan HCl 2 N kemudian dipindahkan ke dalam corong pisah. Lapisan organik (bagian atas) dipisahkan, kemudian lapisan air (bagian bawah) diekstraksi dengan 16 mL toluen. Lapisan toluen dengan lapisan organik (bagian atas) dicampur. Ekstrak dicuci dengan air dan dikeringkan dengan natrium sulfat

anhidrat. Toluena dan sisa sikloheksanon diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 100°C. Kemurnian diuji secara KLT dengan fase gerak heksana dan etil asetat (2:1).

Sintesis Tahap II, Sintesis Analog Kurkumin Monokarbonil Asimetrik (2). Campuran senyawa **1** 0,005 mol dengan 0,01 mol vanilin dalam 10 mL etanol dimasukkan ke dalam labu leher 2. Campuran tersebut diaduk menggunakan pengaduk magnetik sambil dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditambahkan satu tetes HCl pekat dan 1 mL etanol tetes demi tetes dan diaduk selama 30 menit. Campuran senyawa **1** dengan vanillin tersebut dimasukkan dalam *freezer* selama 15 menit. Sisa pelarut diuapkan. Padatan yang diperoleh direndam dengan campuran asam asetat glasial dan air (1:1) dingin selama 10 menit, kemudian disaring dengan menggunakan corong Buchner. Masing-masing campuran dicuci mula-mula dengan campuran asam asetat glasial dan air (1:1) dingin dan kemudian dengan aquadest dingin. Selanjutnya, campuran tersebut dikeringkan menggunakan oven vakum. Kemudian kemurnian diuji secara KLT dengan fase gerak heksana dan etil asetat (2:1) (Prasetyaningrum *et al.*, 2018; Putri *et al.*, 2018).

Sintesis Tahap III, Sintesis Analog Kurkumin Monokarbonil Asimetrik Tersubstitusi Basa Mannich (3). Sintesis senyawa **3** dilakukan dengan mengadaptasi metode Geschickter dan Meadow dengan modifikasi seperlunya (Prasetyaningrum *et al.*, 2018; Putri *et al.*, 2018). Senyawa hasil sintesis tahap II sebanyak 2 mmol dilarutkan dalam 5 mL etanol. Masing-masing larutan didinginkan dengan penangas es, kemudian ditambahkan 5 mmol senyawa amina sekunder pirolidin tetes demi tetes secara perlahan, selanjutnya ditambahkan larutan formaldehid 37% 5 mmol tetes demi tetes. Kemudian campuran diaduk selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu campuran direfluks sampai senyawa **2** habis. Untuk mengetahui kapan waktu reaksi berakhir, maka dilakukan *monitoring* menggunakan KLT. Selanjutnya, etanol diuapkan dengan penangas air. Residu yang diperoleh, kemudian ditambahkan metanol 50 mL dan kembali diuapkan hingga diperoleh endapan. Endapan yang diperoleh ditambahkan 40 mL metanol dingin, lalu disaring dan dicuci dengan aquadest dingin. Endapan dibiarkan kering pada suhu kamar. Pemurnian dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase gerak etil asetat : metanol (1:1). Selanjutnya pelarut diuapkan dan didapatkan senyawa murni. Serbuk senyawa diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan fase gerak campuran etil asetat : metanol (1:1) dan pengujian titik lebur. Struktur senyawa diidentifikasi menggunakan spektrofotometri FTIR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

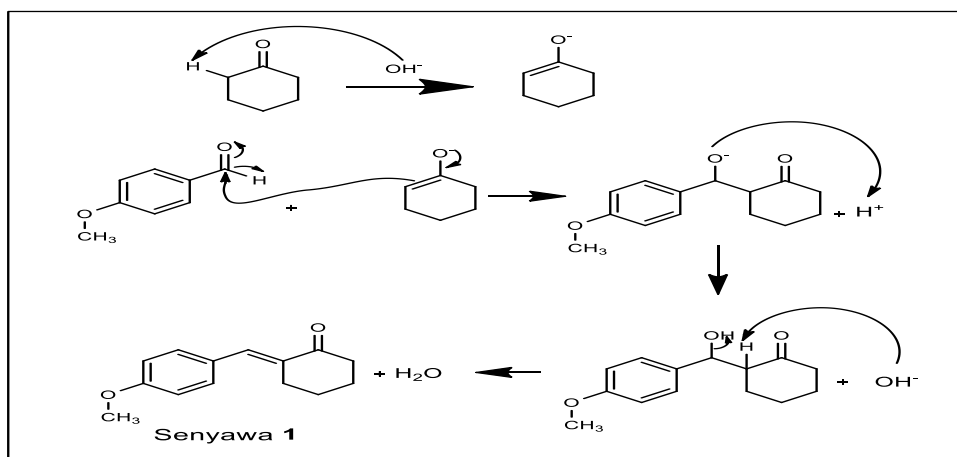
Sintesis senyawa p-metoksibenzilidensikloheksanon (1)

Sintesis senyawa target diawali dengan sintesis senyawa p-metoksibenzilidensikloheksanon (senyawa **1**). Sintesis senyawa **1** dilakukan dengan mengadopsi metode Furniss dengan modifikasi seperlunya. Senyawa ini diperoleh dengan mereaksikan 4-metoksibenzaldehid dengan sikloheksanon berlebih dalam suasana basa menggunakan NaOH. Hasil sintesis ini menghasilkan cairan berwarna kuning yang kemudian dilakukan penguapan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan sisa pelarut dan sikloheksanon. Setelah dilakukan penguapan, hasil sintesis berupa ekstrak *crude oily* yang mengalami pemekatan. Setelah didiamkan selama beberapa hari (± 1 minggu) senyawa akan memadat menjadi berbentuk seperti lilin berwarna kuning (**Gambar 2**).



Gambar 2. Hasil Sintesis Tahap 1 (Senyawa **1**)

Pada sintesis senyawa **1** ini, dilakukan reaksi antara p-metoksibenzaldehid dan sikloheksanon dengan perbandingan ekuivalen (1:2,75). Perbandingan ini dipilih dengan harapan terjadi reaksi 1:1 antar kedua senyawa pemula sehingga terbentuk senyawa **1** yang diinginkan yang mana hanya terjadi reaksi pada salah satu α -karbon saja. Reaksi yang berperan dalam pembentukan senyawa **1** adalah reaksi kondensasi aldol dengan katalis NaOH (**Gambar 3**). Katalis NaOH dapat memberikan % rendemen dan waktu reaksi yang lebih cepat dibandingkan dengan katalis lain (Rahman *et al.*, 2012). Ion OH⁻ pada basa NaOH akan memprotonasi hidrogen alfa pada sikloheksanon sehingga membentuk asam enolat. Ion enolat ini akan bertindak sebagai nukleofilik yang akan berinteraksi dengan gugus karbonil pada p-metoksibenzaldehid yang akan membentuk β -hidroksi karbonil (senyawa aldol). β -hidroksi karbonil ini kemudian akan mengalami dehidrasi sehingga membentuk suatu ikatan rangkap di antara karbon α dan β (enon terkonjugasi). Mekanisme reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 3** (Prasetyaningrum, 2018).



Gambar 3. Skema dan Mekanisme Reaksi Tahap I (Senyawa 1)

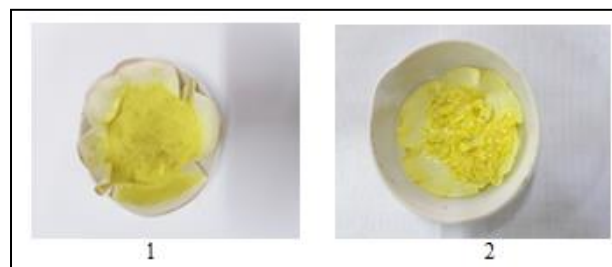
Profil KLT hasil sintesis menunjukkan bahwa nilai R_f crude ekstraknya adalah 0,55 dan 0,65; sedangkan nilai R_f senyawa pemulanya *p*-metoksibenzaldehid 0,85 dalam fase gerak n-heksan dan etil asetat (2:1) (4). Profil KLT menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki dua bercak, yaitu dengan nilai R_f 0,55 dan 0,65. Dengan melihat nilai R_f ini, maka dapat dipastikan bahwa senyawa yang kita inginkan (senyawa 1) telah terbentuk karena memiliki nilai R_f yang berbeda dengan *p*-metoksibenzaldehid. Senyawa hasil sintesis tahap I memiliki bercak spot noda yang sama dengan senyawa pembandingnya.



Gambar 4. Profil KLT Senyawa Pembanding Tahap 1 (Prasetyaningrum, 2018) (1) dan Senyawa Hasil Sintesis Tahap 1 (2) (n-heksan:etil asetat (2:1))

Sintesis Senyawa analog kurkumin monokarbonil asimetrik-metoksi (2)

Tahap kedua dari sintesis senyawa target adalah sintesis senyawa analog kurkumin monokarbonil asimetrik-metoksi (senyawa 2). Senyawa 2 diperoleh dengan mereaksikan hasil sintesis tahap I dengan vanilin dalam suasana asam menggunakan larutan HCl/etanol sebagai katalis. Hasil sintesis diperoleh serbuk berwarna kuning kehijauan seberat 0,9061 g yang kemudian dilakukan pemurnian rekristalisasi sehingga diperoleh senyawa berbentuk kristal kuning seberat 0,5223 g dengan rendemen kasar 51,52 % dan rendemen kristal murni 29,84 % nilai R_f 0,625 (etil asetat : n-Heksan (1:2)) (**Gambar 5**).

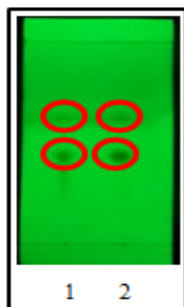


Gambar 5. Hasil Sintesis Tahap II Sebelum Dimurnikan (1) dan Setelah Dimurnikan Rekristalisasi (2)

Sintesis senyawa 2 ini dilakukan dengan mereaksikan 1 ekuivalen (0,005 mol) senyawa 1 dengan 2 ekuivalen (0,01 mol) vanilin. Pada tahap ini vanilin ditambahkan berlebih karena senyawa 1 yang direaksikan tersebut tidak dimurnikan terlebih dahulu. Sehingga ada kemungkinan senyawa lain selain senyawa 1 dapat memengaruhi pembentukan senyawa 2 pada tahap ini. Pada awal reaksi, yaitu sebelum ditambahkan katalis, larutan campuran senyawa ini berwarna kuning muda. Kemudian larutan campuran senyawa tersebut direflux sampai mendidih. Setelah itu dimasukkan katalisnya secara perlahan. Setelah ditambahkan katalis, warna larutan campuran senyawa tersebut berubah menjadi cokelat sampai cokelat kemerahan. Hal ini menandakan sudah terjadi reaksi antara kedua senyawa tersebut. Lama reaksi tahap ini yaitu 30 menit. Jika dibandingkan dengan lama waktu reaksi tahap I, reaksi tahap II ini jauh lebih cepat. Hal ini kemungkinan terjadi karena pada reaksi tahap II ini dibantu dengan pemanasan. Produk yang dihasilkan pada reaksi tahap ini pada awalnya berwarna cokelat kemerahan. Kemudian setelah dicuci dengan campuran asam asetat glasial dan akuades dingin (1:1), senyawa ini berubah menjadi serbuk berwarna kuning agak kehijauan. Hasil sintesis ini kemudian dilihat profil KLT, jarak lebur, dan spektrum FTIRnya.

Profil KLT senyawa 2 dibandingkan dengan senyawa pemulanya (senyawa 1 dan vanilin) untuk memantau reaksinya. Nilai R_f vanilin dan senyawa hasil

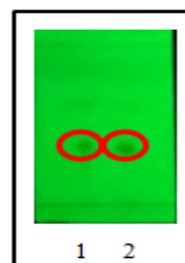
sintesis yaitu 0,575 dan 0,625. Hal ini menunjukkan bahwa sudah terbentuk senyawa baru yang kepolarannya lebih rendah dari vanilin. Untuk memastikan lagi bahwa senyawa yang dihasilkan adalah senyawa yang diinginkan, maka dilakukan juga KLT senyawa hasil sintesis dan dibandingkan dengan hasil sintesis yang sudah dilakukan oleh peneliti sebelumnya (**Gambar 6**) (Prasetyaningrum, 2018).



Gambar 6. Profil KLT Hasil Sintesis Tahap II (1), dan Senyawa Pembanding Tahap II (Prasetyaningrum, 2018) (2) Sebelum Dimurnikan (n-heksan:etil asetat (2:1))

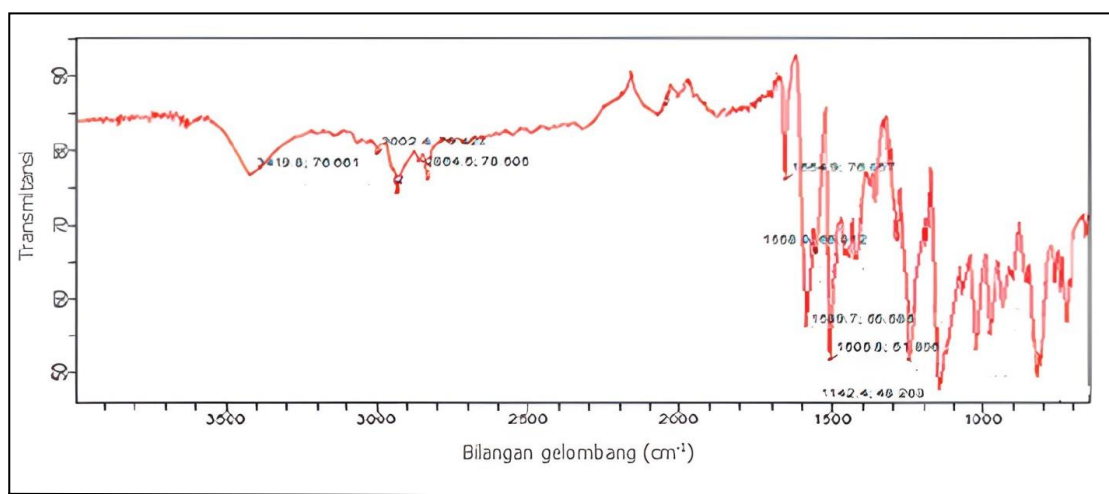
Dari hasil KLT tersebut dapat dilihat bahwa bercak yang dihasilkan dari reaksi tahap ini sama dengan senyawa yang dihasilkan oleh peneliti sebelumnya (Prasetyaningrum, 2018) yang sudah dilakukan identifikasi struktur senyawa. Hasil sintesis tahap ini dimurnikan dengan rekristalisasi. Dari pemurnian ini diperoleh persentase perolehan senyawa murni yaitu 29,84%. Untuk

melihat kemurniannya, maka dilakukan uji kemurnian secara KLT (**Gambar 7**) dan diperoleh bercak 1 spot dominan menandakan senyawa yang direkristalisasi sudah cukup murni.



Gambar 7. Profil KLT Hasil Sintesis Tahap II Rekristalisasi (1), dan Senyawa Pembanding Tahap II (Prasetyaningrum, 2018) (2) Setelah Dimurnikan (n-heksan:etil asetat (2:1))

Selain itu, dilakukan pula penetapan titik lebur dan analisis FTIR. Nilai titik lebur yang diperoleh yaitu 130-131°C. Dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan sudah cukup murni. Dari pemeriksaan jarak lebur suatu senyawa dikatakan murni jika memiliki jarak lebur 1-2°C. Berdasarkan hasil pengujian titik lebur dapat disimpulkan bahwa hasil sintesis sudah murni karena memiliki rentang jarak lebur yang sempit. Spektrum hasil FTIR senyawa 2 dapat dilihat pada **Gambar 8**.

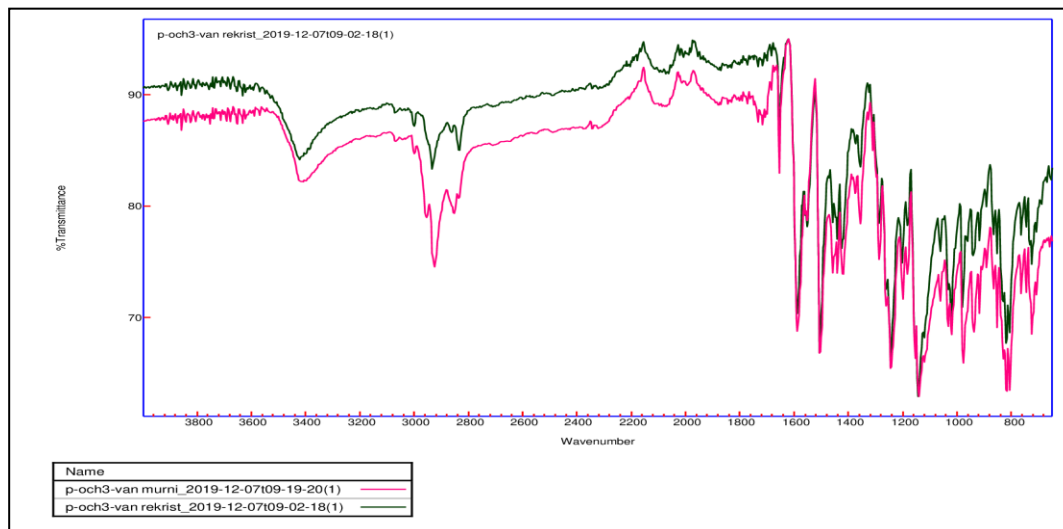


Gambar 8. Spektrum IR Senyawa 2

Berdasarkan spektrum pada **Gambar 8** dapat dilihat bahwa ada absorbansi yang sedang dan melebar pada bilangan gelombang 3419 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus -OH. Selain itu juga ada gugus fungsi C-H aromatik (3002 cm⁻¹), C-H alifatik (2864 cm⁻¹), C=O (α,β) (1655 cm⁻¹), C=C aromatik (1589 cm⁻¹) dan (1505 cm⁻¹), C=C (1558 cm⁻¹), dan C-O (1142 cm⁻¹). Data spektrum FTIR ini

dibandingkan dengan data spektrum FTIR peneliti sebelumnya untuk memastikan bahwa senyawa yang disintesis sama dengan peneliti sebelumnya. Hasil overlay spektrum FTIR senyawa hasil sintesis dan senyawa yang disintesis oleh peneliti sebelumnya (**Gambar 9**), menunjukkan kesesuaian plot. Oleh karena itu, kedua senyawa tersebut dapat diketahui merupakan senyawa

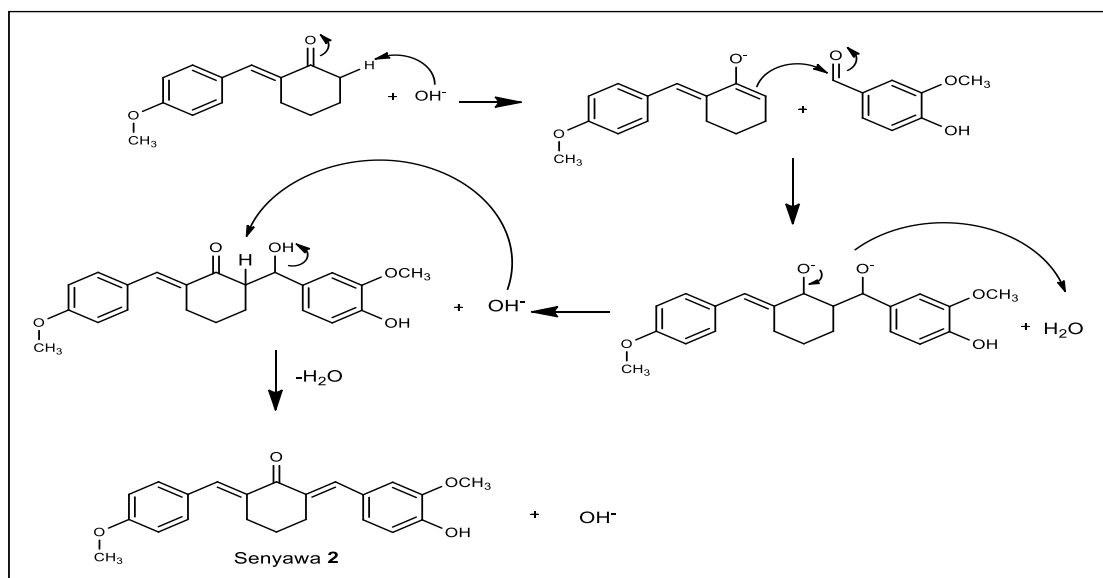
yang sama.



Gambar 9. Overlay Spektrum IR Senyawa Pembanding Tahap 2 Murni (Prasetyaningrum, 2018) (—) dan Hasil Sintesis Tahap 2 Rekrystalisasi (—)

Sintesis tahap II (senyawa 2) merupakan reaksi Claisen-Schmidt antara senyawa 1 (hasil sintesis tahap I) dengan vanilin (**Gambar 10**). Reaksi ini melibatkan asam HCl encer sebagai katalisatornya. Pada dasarnya mekanisme reaksi pada tahap II ini hampir sama dengan reaksi tahap I. Namun, pada tahap II ini katalis yang

digunakan adalah asam encer sehingga terbentuk senyawa enol yang akan bertindak sebagai nukleofil pada reaksi adisi dengan vanilin. Setelah reaksi adisi tersebut, akan terjadi reaksi eliminasi atau dehidrasi sehingga terbentuk satu ikatan rangkap di antara atom karbon α dan β .

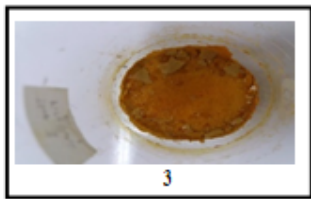


Gambar 10. Skema dan Mekanisme Reaksi Tahap II (Senyawa 2)

Sintesis Senyawa Analog Kurkumin Monokarbonil Asimetrik-metoksi Tersubstitusi Basa Mannich (3)

Sintesis senyawa tahap III dilakukan dengan mereaksikan hasil sintesis tahap II dengan basa Mannich pirolidin dengan mengadaptasi metode yang dilakukan oleh Geschickter dan Maeadow. Pada tahap ini diperoleh senyawa, yaitu (2E,6E)-2-(4-hidroksi-3-metoksi-5-

((pirolidin)metil)benziliden)-6-(4-metoksibenziliden)sikloheksan-1-on (3). Senyawa 3 memiliki karakteristik berbentuk serbuk berwarna coklat kemerahan (**Gambar 11**).

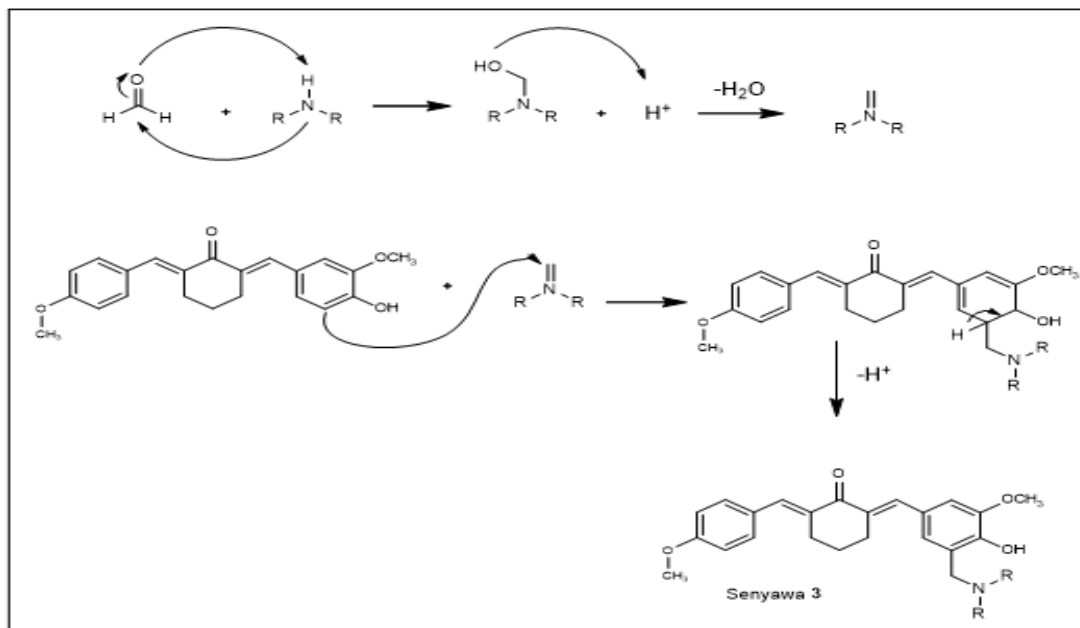


Gambar 11. Senyawa 3 (cokelat kemerahan) sebelum dimurnikan

Sintesis tahap III, merupakan tahap akhir proses sintesis senyawa target, yaitu dengan mensubstitusi analog kurkumin monokarbonil asimetrik (senyawa 2) dengan basa Mannich (pirolidin). Pada tahap ini, sebanyak 2 mmol senyawa hasil sintesis tahap II direaksikan dengan formaldehid dan basa Mannich masing-masingnya sebanyak 5 mmol. Jumlah basa Mannich yang ditambahkan lebih banyak dibandingkan senyawa hasil tahap II. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan produk yang diinginkan.

Senyawa 2 dilarutkan dalam 5 mL etanol yang kemudian didinginkan menggunakan penangas es. Pendinginan ini bertujuan untuk mencegah penguapan basa Mannich dan formaldehid saat ditambahkan sehingga jumlah yang bereaksi sesuai perhitungan. Setelah ditambahkan basa Mannich, dilakukan penambahan formaldehid tetes demi tetes.

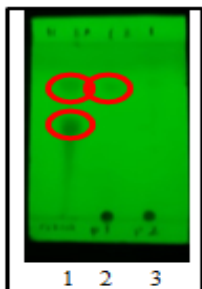
Pada reaksi substitusi basa Mannich, diperlukan 3 komponen penting yaitu, formaldehid, senyawa amina, dan senyawa yang memiliki hidrogen aktif seperti keton, ester, atau asam (fenol). Formaldehid yang ditambahkan dapat teroksidasi menjadi asam formiat dan menghasilkan ion H^+ . Ion H^+ ini berperan dalam pembentukan ion iminium. Ion iminium ini akan bereaksi dengan analog kurkumin monokarbonil asimetrik-metoksi di cincin yang terdapat gugus fenolnya. Senyawa analog kurkumin monokarbonil asimetrik-metoksi tersubstitusi basa Mannich terbentuk setelah mengalami deprotonisasi (**Gambar 12**).



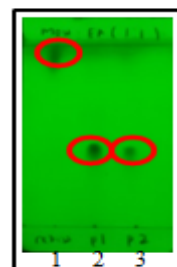
Gambar 12. Skema dan Mekanisme Reaksi Mannich (Senyawa 3)

Pada reaksi ini dilakukan *monitoring* secara KLT. Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan:etil asetat (2:1) yang merupakan fase gerak dalam mengidentifikasi senyawa 3. Pada profil KLT *monitoring* reaksi dapat dilihat bahwa adanya bercak dengan nilai R_f lebih rendah dibandingkan nilai R_f senyawa 2. Hasil KLT ini menunjukkan terbentuknya senyawa baru yang memiliki kepolaran yang lebih polar dibandingkan senyawa 2. Adanya substitusi basa Mannich pada senyawa 2 dapat meningkatkan kepolaran senyawa hasil sintesis karena pada basa Mannich terdapat unsur N dan O. Perbedaan R_f ini menunjukkan bahwa kemungkinan senyawa target sudah mulai terbentuk. Reaksi dinyatakan telah selesai

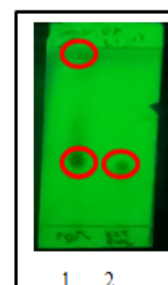
ketika senyawa pemula pada tahap ini (senyawa 2) sudah tidak terdeteksi lagi pada KLT (**Gambar 13**). Setelah reaksi sempurna, sisa pelarut diuapkan sehingga terbentuk residu. Residu tersebut dilarutkan lagi dengan metanol 40 mL yang kemudian diuapkan lagi dengan tujuan untuk menghilangkan sisa basa Mannich dan formaldehid. Residu ini kemudian didekantasi dengan metanol dan aquadest dingin sehingga terbentuk endapan. Endapan tersebut saring dan dikeringkan pada suhu kamar.



Gambar 13. Profil KLT *Monitoring Reaksi Senyawa 3* (n-heksan:etil asetat) (2:1)
Hasil Rekrist Tahap II (1), Setelah *Reflux* 1 Jam (2), Setelah
Refluks 2 Jam (3)



Gambar 14. Profil KLT Optimasi Eluen Senyawa 3
Hasil Rekrist Tahap II (1), Setelah Refluks 1 Jam (2), Setelah
Refluks 2 Jam (3) dalam fasae gerak (etil asetat:metanol) (1:1)



Gambar 15. Profil KLT Senyawa 3
(1) Sebelum Dimurnikan, (2) Setelah Dimurnikan (etil
asetat:metanol) (1:1)

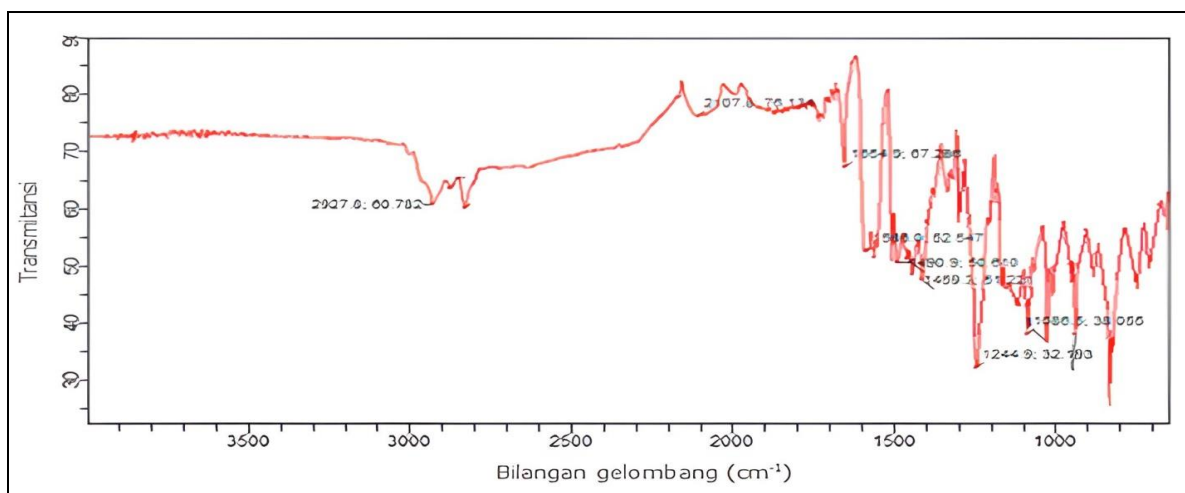


Gambar 16. Senyawa 3 Setelah Dimurnikan

Masing-masing hasil sintesis tahap III ini dimurnikan dengan kromatografi kolom. Namun sebelumnya dilakukan optimasi fase gerak terlebih dahulu untuk memperoleh fase gerak yang optimal yang akan digunakan saat pemurnian. Dari hasil optimasi ini diperoleh untuk senyawa 3 menggunakan etil asetat:metanol (1:1) (**Gambar 14**) dengan nilai R_f masing-masing senyawa dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Gambar 15**. Perbandingan fase gerak ini kemudian digunakan untuk pemurnian dengan kromatografi kolom dan identifikasi menggunakan KLT. Identifikasi kemurnian dilakukan dengan melihat profil KLT dan penentuan jarak lebur. Senyawa dikatakan murni bila memiliki satu bercak pada profil KLT dan jarak lebur yang diperoleh tidak lebih dari 2°C. Dari hasil uji KLT dan penentuan jarak lebur dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa yang dihasilkan sudah cukup murni. Hasil sintesis pemurnian dan karakterisasi senyawa 3 dapat dilihat pada **Gambar 16** dan **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 3

Senyawa	R	Lama Reaksi (jam)	% Rendemen	Fase gerak	R_f	Jarak lebur (°C)
3	Pirolidin	2	51,52	Etil asetat: metanol (1:1)	0,46	130-131



Gambar 17. Spektrum IR Senyawa 3

Tabel 2. Data Analisis Spektrum Inframerah Senyawa 3

No.	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
		3
1.	C-H aromatis	3000
2.	C-H alifatis	2928
3.	C=O (α,β)	1718
4.	C=C	1655
5.	C=C aromatis	1586 dan 1459
6.	C-N	1245
7.	C-O	1087
8.	-OH	-

Hasil FTIR (**Gambar 17**) digunakan untuk menganalisis gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa hasil sintesis. Pada **Tabel 2** dapat dilihat bahwa senyawa hasil sintesis tahap ini (senyawa **3**) memiliki gugus fungsi C-H (aromatis), C-H (alifatis), C=O, C=C. C=C (aromatis), dan C-O yang mirip dengan spektrum FTIR pada senyawa **2**. Namun bedanya pada hasil sintesis tahap ini terdapat absorban pada panjang gelombang 1250- 1271 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan C dengan N (C-N). Selain itu, pada spektrum FTIR senyawa ini (**3**) absorban OH fenol tidak muncul akibat adanya ikatan hidrogen intramolekular pada OH fenol dengan atom nitrogen dari basa Mannich. Hal ini menandakan bahwa substitusi senyawa **2** dengan basa Mannich telah berhasil dilakukan.

KESIMPULAN

Senyawa analog kurkumin (2E,6E)-2-(4-hidroksi-3-metoksi-5-((pirolidin)metil)benziliden)-6-(4-metoksibenziliden)sikloheksan-1-on dapat disintesis dengan 3 tahap. Tahap I, reaksi antara *p*-metoksibenzaldehid dan sikloheksanon melalui reaksi kondensasi aldol dengan katalis NaOH. Tahap II, reaksi Claisen-Schmidt antara senyawa **1** (hasil sintesis tahap I) dengan vanilin melibatkan HCl encer sebagai

katalisatornya. Tahap III, senyawa **2** (hasil sintesis tahap II) direaksikan dengan formaldehid dan basa Mannich (pirolidin) membentuk ion iminium dan mengalami deprotonisasi. Senyawa **3** hasil pemurnian diamati menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen etil asetat:metanol (1:1) diperoleh R_f 0,46 dan titik lebur 130-131 °C. Rendemen yang didapatkan 51,52% dengan karakteristik berbentuk serbuk berwarna coklat kemerahan. Hasil elusidasi spektrum FTIR senyawa **3** terdapat absorban pada panjang gelombang 1250- 1271 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya ikatan C dengan N (C-N) dan absorban OH fenol tidak muncul. Hal ini menandakan bahwa substitusi senyawa **2** dengan basa Mannich telah berhasil dilakukan. Senyawa ini perlu diidentifikasi lebih lanjut menggunakan Spektrum Massa dan NMR.

UCAPAN TERIMA KASIH

Karya ini didukung oleh Universitas Harapan Bangsa. Terima kasih kepada Laboratorium Kimia Medisinal, Universitas Indonesia, kepada Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA atas perekaman spektrum IR.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., & Aggarwal, B.B. (2007). Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
- Bala, S., Sharma, N., Kajal, A., Kamboj, S., & Saini, V. (2014). Mannich Bases: An Important Pharmacophore in Present Scenario. *Intl J of Med Chem*, 1-15.
- Bandgar, B. P., Patil, S. A., Gacche, R. N., Korbadi, B. L., Hote, B. S., Kinkar, S. N., & Jalde, S. S. (2010). Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing chalcones as possible anti-inflammatory and antioxidant agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(2), 730-733.
- Furniss, B. S., Hannaford, A. J., Rogers, V., Smith, P. W. G., & Tatchell, A. R. (1989). *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. 4th ed. London: Longman Group Ltd.
- Geschickter, C. F., & Meadow, J. R. (1969). *United States Patent No. 3.479.345*.
- Manohar, S., Khan, S. I., Kandi, S. K., Raj, K., Sun, G., Yang, X., Molina, A. D. C., Ni, N., Wang, B., & Rawat, D. S. (2013). Synthesis, antimalarial activity cytotoxic potential of new monocarbonyl analogues of curcumin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(1), 112-116.
- Prasetyaningrum, P.W. (2018). *Sintesis analog kurkumin monokarbonil asimetrik tersubstitusi basa mannich dietilamin dan uji sitotoksitas terhadap sel hela*. Tesis, Universitas Indonesia, Depok.
- Prasetyaningrum, P.W., Bahtiar, A., Hayun, H. (2018). Synthesis and cytotoxicity evaluation of novel asymmetrical mono-carbonyl analogs of curcumin (AMACs) against Vero, HeLa, and MCF7 Cell Lines. *Sci Pharm*, 86(2), 25. <http://doi.org/10.3390/scipharm86020025>
- Putri, T. N. (2018). *Sintesis dan uji aktivitas antiinflamasi dan antioksidan in vitro analog kurkumin monokarbonil asimetrik tersubstitusi basa mannich morfolin*. Tesis, Universitas Indonesia, Depok.
- Putri, T. N., Bahtiar, A., Hayun, H. (2018). Synthesis, antioxidant, and antiinflammatory activity of morpholine Mannich base of AMACs ((2E,6E)-2-({4-hydroxy-3-[morpholin-4-yl)methyl]phenyl)methylidene)(phenylmethylidene)cyclohexan-1-one) and its analogs. *J App Pharm Sci*, 8,19-25. <http://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8503>
- Rahman, A. F. M. M., Ali, R., Jahng, Y., & Kadi, A. A. (2012). A Facile Solvent Free Claisen-Schmidt Reaction: Synthesis of α,α' -bis-(Substituted-benzylidene) cycloalkanones and α,α' -bis-(Substituted-alkylidene)cycloalkanones. *Molecules*, 17, 571-583.
- Rahmawati, N., Hariyanti, H., Saputri, F.C., Hayun, H. (2020). Synthesis and Preliminary In Vitro Anti-inflammatory Evaluation of Mannich Bases Derivatives of 4'-Methoxy-substituted of Asymmetrical Cyclovalone Analogs. *Indonesia J Pharm*, 31(1), 35-41. <http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm31iss1pp35>
- Roman, G. (2015). Mannich bases in medicinal chemistry and drug design. *Eur J Med Chem*, 89, 743-816.
- Sujith, K.V., Rao, J.N., Shetty, P., & Kalluraya, B. (2009). Regioselective reaction: synthesis and pharmacological study of Mannich bases containing ibuprofen moiety. *European journal of medicinal chemistry*, 44(9), 3697-3702.
- Thong-Ngam, D., Choochuai, S., Patumraj, S., Chayanupatkul, M., & Klaikeaw, N. (2012). Curcumin prevents indomethacin-induced gastropathy in rats. *World J Gastroenterol* 18, 1479- 84.
- Zhang, Y., Zhao, L., Wu, J., Jiang, X., Dong, L., Xu, F., & Liang, G. (2014). Synthesis and evaluation of a series of novel asymmetrical curcumin analogs for the treatment of inflammation. *Molecules*, 19(6), 7287-7307.