

DOCKING DAN MODIFIKASI STRUKTUR SENYAWA BARU TURUNAN PARASETAMOL

¹TRI WIDIANDANI*, ¹SISWANDONO, ¹SUKO HARDJONO, ¹ROBBY SONDAKH, ²ISTIFADA, ²RISMA ZAHRA

¹Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

²Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Jl. Darmawangsa Dalam, Surabaya 60286 Indonesia.

*Email : triwidiandani@yahoo.com

ABSTRACT

A modification of paracetamol structure had been conducted which produced two compounds of paracetamol derivatives, that are 4'-acetamidophenyl-2-chlorobenzoat and 4'-acetamidophenyl-3-chlorobenzoat. Before the synthesis, an *in silico* analgesic activity prediction was conducted by comparing Docking Score of paracetamol with two compounds derivative of the COX-2 (3LNI) receptor. The result of *in silico* test produced paracetamol Docking Score of -68,2779, compound 1 Docking Score of -107,945 and compound 2 Docking Score of -101,938. The Docking Score of the two compounds are smaller than paracetamol. It shows that the drug-receptor interaction of the compounds is more stabil than paracetamol. Synthesis was conducted through Schotten-Boumann reaction by reacting paracetamol and two reactors of 2-chlorobenzoyl chloride and 3-chlorobenzoyl chloride using tetrahydrofuran as a solvent and triethylamine as a base and HCl captor. This synthesis produced a compound in the shape of white needle crystal solid matter with a distinct smell. The first compound weighs 71,65% and the second compound weighs of 72,19%. Organoleptical, Dissolving Distance, Thin Layer Chromatography (TLC), Spectrophotometer UV-Vis, Spectrophotometer IR and Spectrometer ¹H-NMR checks were then carried out on this synthesis compounds. From the result of structure confirmation it can be concluded that the synthesis compounds are 4'-acetamidophenyl-2-chlorobenzoat and 4'-acetamidophenyl-3-chlorobenzoat.

Keywords: docking, molegro, synthesis, paracetamol, 4'-acetamidophenyl-2-chlorobenzoat and 4'-acetamidophenyl-3-chlorobenzoat

PENDAHULUAN

Modifikasi struktur parasetamol dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang baru dengan aktivitas analgesik yang optimal dan toksisitas yang minimal. Pada awalnya pengembangan obat baru bersifat coba-coba (*trial and error*) sehingga memerlukan biaya yang sangat mahal. Untuk mengurangi resiko tersebut, dilakukanlah rancangan obat (Siswandono dan Sukohardjo, 2000). Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi struktur dengan mengganti gugus hidroksi parasetamol dengan gugus 2-klorobenzoat dan 3-klorobenzoat sehingga menjadi dua senyawa turunan parasetamol yaitu 4-asetamidofenil 2-klorobenzoat dan 4-asetamidofenil 3-klorobenzoat.

Pendekatan kolektif yang dilakukan pada penelitian ini adalah membandingkan nilai sifat fisika kimia parasetamol dengan senyawa turunan berdasarkan perhitungan nilai sifat fisika kimia secara teoritis menggunakan program komputer ChemBioDraw Ultra 11.0. Didapatkan nilai log P (log koefisien partisi)

parasetamol adalah 0,28 dan log P dua senyawa turunannya adalah 2,98. Nilai MR (*Molar Refractivity*) parasetamol adalah 40,25 cm³/mol dan nilai MR dua senyawa turunan adalah 74,37 cm³/mol. Peningkatan harga log P yang merupakan parameter lipofilik pada senyawa turunan menunjukkan peningkatan penembusan senyawa ke dalam membran biologis. Harga MR merupakan parameter sifat sterik yang dapat mempengaruhi keserasian interaksi obat-reseptor (Siswandono dan Susilowati, 2000).

Untuk memperkuat prediksi aktifitas senyawa dan gambaran interaksi obat dengan reseptor, sebelum dilakukan sintesis dilakukan uji simulasi komputasi *docking (in silico)*. Dengan uji *in silico* dapat digambarkan interaksi antara senyawa yang akan disintesis dengan reseptor, sehingga dapat diprediksi aktivitas senyawa. Aktivitas tersebut ditunjukkan dengan nilai energi ikatan, yang digambarkan dengan nilai *Docking Score*. Pada penelitian ini *docking* dilakukan menggunakan program komputer

Molegro Virtual Docker versi 5.5 dengan reseptor siklooksigenase 2 (COX-2) dengan kode 3LN1 dan ligan standar selekoksib yang merupakan senyawa yang bekerja secara selektif terhadap reseptor COX-2.

Sintesis senyawa parasetamol dengan 2-klorobenzoil klorida dan 3-klorobenzoil klorida dilakukan melalui reaksi asilasi *Schotten-Baumann* yang dimodifikasi menggunakan pelarut tetrahidrofuran dan basa trietilamin yang berfungsi sebagai penangkap HCl. Senyawa hasil sintesis diuji kemurniannya menggunakan uji KLT dan uji jarak lebur. Untuk konfirmasi struktur digunakan Spektrofotometer UV, IR dan ¹H-NMR.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Parasetamol ph.g (Brataco), 3-klorobenzoil klorida p.s (Sigma), 2-klorobenzoil klorida p.s (Sigma), trietilamin (E. Merck), Na₂SO₄ p.a (E. Merck), NaOH p.a (E. Merck), HCl p.a, Kloroform p.a, Metanol p.a (E. Merck), Etanol absolut p.a (E. Merck), Lempeng Kromatografi Silika Gel 60 GF₂₅₄ (E. Merck).

Alat Penelitian

Seperangkat komputer (lenovo core i3), program Molegro Virtual Docker 5.5, program ChemBioDraw 11.0 dan ChemBio3D Ultra 11.0, Seperangkat alat modifikasi struktur, Bejana elusi Kromatografi Lapis Tipis, Lampu UV₂₅₄ (Topcon), Alat penentu jarak lebur (*Mel-Temp Electrothermal Bausch and Lomb*), Spektrofotometer UV-Vis Lambda EZ-201, Spektrofotometer FT-IR (*Perkin Elmer Spectrum One FT-IR Spechtrphotometer*), Spektrometer ¹H-NMR Hitachi FT-NMR R-1900.

Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental yang terdiri dari docking (*in silico*) untuk memprediksi aktifitas analgesic senyawa dan dilanjutkan dengan sintesis.

Docking (Uji *In Silico*)

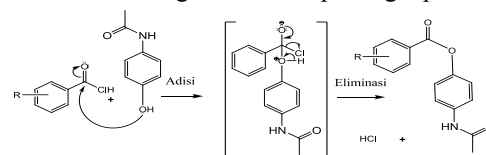
Prosedur docking (uji *in silico*) dilakukan melalui 4 tahap, yaitu tahap pertama, preparasi reseptor dengan mengunduh reseptor COX-2 dengan kode 3LN1 dari Protein Data Bank dan disimpan dalam format .pdb. Tahap kedua yaitu preparasi ligan uji, dengan membuat struktur 2-dimensi (2-D) parasetamol dan dua senyawa turunan dan dilanjutkan dengan membuat struktur 3-dimensi (3-D) dan diminimalkan energinya dengan MMFF94.

Tahap ketiga adalah *Docking*, yaitu dengan mengunduh reseptor yang mengandung ligan standarnya, mendeteksi tempat obat terikat pada reseptor (*cavities*), meletakkan struktur 3-D senyawa parasetamol dan dua senyawa turunan ke dalam *cavities* yang terpilih, dengan cara “align” terhadap ligan yang sudah ada (selekoksib), dan selanjutnya dilakukan docking senyawa terhadap reseptor 3LN1. Kemudian ditentukan parameter: *MolDock Score*, *Rerank Score*, *HBond* dan nilai RMSD.

Tahap keempat yaitu analisis data dengan membandingkan asam-asam amino dan nilai *docking score* yang terlibat pada proses interaksi selekoksib, parasetamol dan dua senyawa turunannya dengan reseptor 3LN1.

Sintesis turunan parasetamol

Modifikasi struktur kimia parasetamol dengan pereaksi 3-klorobenzoil klorida dan 2-klorobenzoil klorida dilakukan melalui reaksi asilasi *Schotten Baumann* menggunakan trietilamin sebagai basa dan penangkap HCl.



Gambar 1. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa turunan parasetamol

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Docking

Pada penelitian ini prediksi aktivitas analgesik parasetamol dan dua senyawa turunannya yaitu senyawa 1 dan senyawa 2 terhadap reseptor COX-2 (3LN1) secara komputeral (*in silico*) menggunakan program Molegro Virtual Docker 5.5.

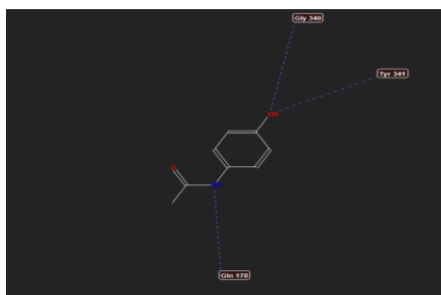
Hasil uji *in silico* berupa *Docking Score* dan asam amino yang terlibat dalam interaksi obat-reseptor dapat dilihat pada tabel 1.1 dan 1.2.

Tabel 1. Docking Score Selekoksisib, Parasetamol, kedua senyawa turunan

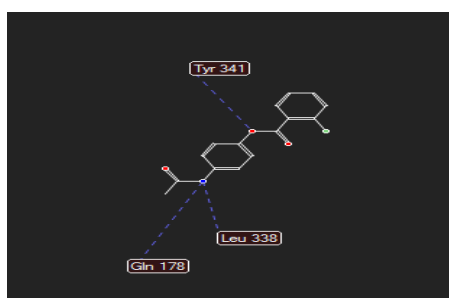
Senyawa	Docking Score
Selekoksisib	-141,406
Parasetamol	-68,2779
Senyawa 1	-107,945
Senyawa 2	-101,938

Hasil prediksi aktivitas secara *in silico* yang tertera pada tabel 1 menunjukkan bahwa kedua senyawa turunan memiliki *Docking Score* yang lebih rendah dibandingkan parasetamol, artinya ikatan obat-reseptor kedua senyawa turunan lebih stabil dibanding parasetamol.

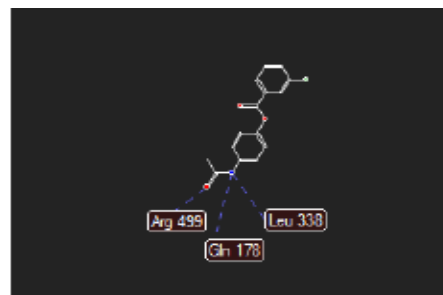
Berikut gambar ikatan hidrogen yang terlibat pada proses interaksi senyawa parasetamol dan kedua senyawa turunannya dengan reseptor selekoksisib COX-2 dengan kode 3LN1:



Gambar 2. Ikatan Hidrogen pada proses interaksi parasetamol dengan reseptor 3LN1



Gambar 3. Ikatan Hidrogen pada proses interaksi senyawa 1 dengan reseptor 3LN1



Gambar 4 Ikatan Hidrogen pada proses interaksi senyawa 2 dengan reseptor 3LN1

Tabel 2. Asam amino yang terlibat dalam interaksi dengan reseptor COX-2 (3LN1)

Senyawa	Asam Amino					
	Ser 339	Leu 338	Gln 178	Arg 499	Gly 340	Try 341
Selekoksisib	√	√	√	√		
Parasetamol	√		√		√	√
Senyawa 1		√	√			√
Senyawa 2		√	√	√		

Berdasarkan tabel 2, parasetamol dan senyawa 1 mengikat 2 asam amino yang sama yaitu Gln 178 dan Try 341. Sedangkan senyawa 2 mengikat satu asam amino yang sama, yaitu Gln 178. Hal ini menunjukkan pola interaksi dan gugus farmakofor yang sama antara keduanya.

Kelebihan lain yang dimiliki senyawa 2 adalah mampu mengikat asam amino yang sama dengan selekoksisib yaitu Arg 499 dan Leu 338, sedangkan parasetamol tidak mengikat asam amino tersebut. Demikian pula pada senyawa 1 mampu mengikat asam amino Leu 338 yang tidak diikat oleh parasetamol. Sehingga kedua senyawa turunan parasetamol tersebut layak disintesis dengan prediksi mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibanding parasetamol.

Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis yang dihasilkan melalui reaksi asilasi antara senyawa awal parasetamol dengan pereaksi turunan benzoil klorida dalam pelarut tetrahidrofur seperti pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Persentase hasil sintesis senyawa turunan parasetamol

Senyawa	Hasil teoritis	Hasil sintesis	Persentase
Senyawa 1	7,243 gram	5,1895 gram	71,65 %
Senyawa 2	7,243 gram	5,2290 gram	72,19 %.

Uji Kemurnian Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa Hasil Sintesis Senyawa hasil sintesis diuji kemurnian menggunakan alat Fisher Johns Apparatus. Hasil uji kemurnian senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil Penentuan Jarak Lebur Parasetamol dan Senyawa Hasil Sintesis

Replikasi	Hasil pengamatan jarak lebur (°C)				
	Senyawa 1		Senyawa 2		Parasetamol
1	138-	137-	158-	158-	
	139		160		
2	138-	139	159-	160	
	139		160		
3	137-	138	159-	160	
	138		160		

Hasil Kromatografi Lapis Tipis Senyawa**Tabel 5** Tabel Nilai Rf Parasetamol dan Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa	Nilai Rf		
	Senyawa 1	Senyawa 2	Parasetamol
Kloroform : n-heksana : aseton (5 : 2 : 3)	0,25	0,48	0,27
n-heksana : etil asetat : (1 : 3)	0,29	0,42	0,29
Kloroform : etil asetat : aseton (5 : 2 : 3)	0,36	0,56	0,39

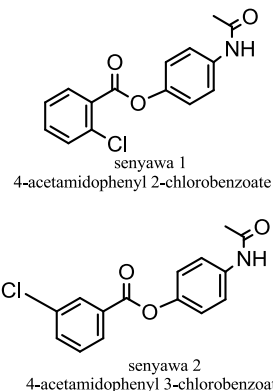
Fase diam = Silika gel 60 GF254

Penampak noda = Lampu UV 254 nm

Pelarut = Aseton

Berdasarkan Tabel 5, senyawa hasil sintesis 2 memiliki nilai Rf yang lebih besar dibanding parasetamol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa

hasil sintesis memiliki lipofilitas yang lebih besar dibanding parasetamol. Perbedaan nilai Rf tersebut juga menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis berbeda dengan parasetamol. Sehingga dapat dinyatakan bahwa senyawa hasil sintesis adalah murni secara KLT.

Konfirmasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis**Gambar 5.** Senyawa target sintesis**Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis****Tabel 6.** λ maks Parasetamol dan Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa	λ maks (nm)
Parasetamol	247
Senyawa 1	240
Senyawa 2	239

Pada tabel 6. dapat dilihat bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimum ke arah kiri. Pergeseran ke arah kiri tersebut disebabkan oleh adanya penambahan gugus klorobenzoil klorida. Gugus 2-klorobenzoil dan 3-klorobenzoil mengandung atom Cl, adanya atom Cl yang elektronegatif menyebabkan efek hipsokromik, yaitu pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih rendah atau energi yang lebih besar (Pavia, 2009).

Hasil Uji Spektrofotometer IR

Tabel 7. Hasil Uji Spektrofotometer IR

Parasetamol		Senyawa Hasil Sintesis			
		Senyawa 1		Senyawa 2	
V (cm ⁻¹)	Gugus fungsi	V (cm ⁻¹)	Gugus fungsi	V (cm ⁻¹)	Gugus fungsi
3161	-OH Fenolik	-	-	-	-
3326	-NH-amida	3255	-NH-amida	3318	-NH-amida
1654	-C=O amida	1660	-C=O amida	1672	-C=O amida
1610, 1506	-C=C-aromatics	1613, 1589	-C=C-aromatics	1606, 1471	-C=C-aromatics
-	-	1748	-C=C ester	1737	-C=C ester
-	-	1245	-C-O ester	1286	-C-O ester
-	-	745	C-Cl	743	C-Cl

Hasil Uji Spektrofotometer H-NMR

Berdasarkan hasil H-NMR, terlihat adanya perbedaan antara parasetamol dan senyawa hasil sintesis yaitu parasetamol memiliki gugus -OH yang memberikan serapan khas pada bilangan gelombang 3161 cm⁻¹ yang tidak terlihat pada spektrum senyawa hasil sintesis.

Sedangkan pada spektrum senyawa hasil sintesis terdapat serapan C=O ester pada bilangan gelombang 1748 cm⁻¹ pada senyawa 1 dan 1737 cm⁻¹ pada senyawa 2. Selain itu gugus C-O ester dan C-Cl terletak pada bilangan gelombang berturut-turut 1245 cm⁻¹ dan 745 cm⁻¹ pada senyawa 1 dan 1286 cm⁻¹ dan 743 cm⁻¹ pada senyawa 2 yang tidak terlihat pada spektrum parasetamol.

Karakteristik spektrum ¹H-NMR parasetamol berbeda dengan senyawa hasil sintesis. Terdapat perbedaan jumlah H pada spektrum ¹H-NMR parasetamol dengan senyawa hasil sintesis. Spektrum ¹H-NMR parasetamol menunjukkan jumlah atom H parasetamol sebanyak 9 buah, sedangkan jumlah atom H senyawa hasil sintesis sebanyak 12 buah.

Berdasar hasil konfirmasi struktur dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis yang dihasilkan adalah senyawa 4'-asetamidofenil-2-klorobenzoat dan 4'-asetamidofenil-3-klorobenzoat.

Ucapan terima Kasih

Terima kasih disampaikan sampaikan kepada Hibah Riset Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dana BOPTN tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Burke, A., Smyte E., Fitz Gerald G. A., 2006. *Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gaout. In: Brunton, L.L (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutics.* Ed. 11st. New York: McGraw-Hill. Ch. 26
- Carey, F. A. 2001. *Organic Chemistry.* Fourth Edition, Part A: Structure and Mechanisms. The McGraw Companies, pp : 302, 306.
- ChemBioDraw, 2008. *ChemBioDraw for Windows* [Software], version 11.0, USA: Cambridge Soft
- Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P. 2001. *Organic Chemistry.* New York : Oxford University Press. pp : 283-285.
- Colquitt, R. B., Colquhoun, D. A., Thiele, R. H. 2011. *In Silico Modelling Of Physiologic Systems.* Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology 25. pp : 499-510.
- Jayaselli, J.J. Manila SC, Geetha Rani D.P, Sarbani Pal., 2008. Derivatization of Enolic OH of Piroxicm: a Comparative Study on Esters and Sulfonats. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 19. No. 3. pp 509-515
- Patrick GL. 2009. *An Introduction to medicinal Chemistry.* 4th Ed, Oxford: Oxford University Press, pp: 237-238
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, G.R. 2009. *Introduction To Spectroscopy.* Fourth Edition. United States of America, p: 105.
- Siswandono, 2011. Studi Pemodelan Molekul Interaksi Beberapa Turunan Penisilin dengan Reseptor DD-Transpeptidase dari Streptomyces R61 (1PWC). *Majalah Farmasi Airlangga.* Vol 9 No.2. Oktober 2012. Hal 33-41
- Silverstein R.M, Webster, F. X, Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Coumpound, seventh edition.* New York:John Willey and sons Inc. p: 72.
- Vogel, G.H. Eds. 2008. *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays.* Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p 696