

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

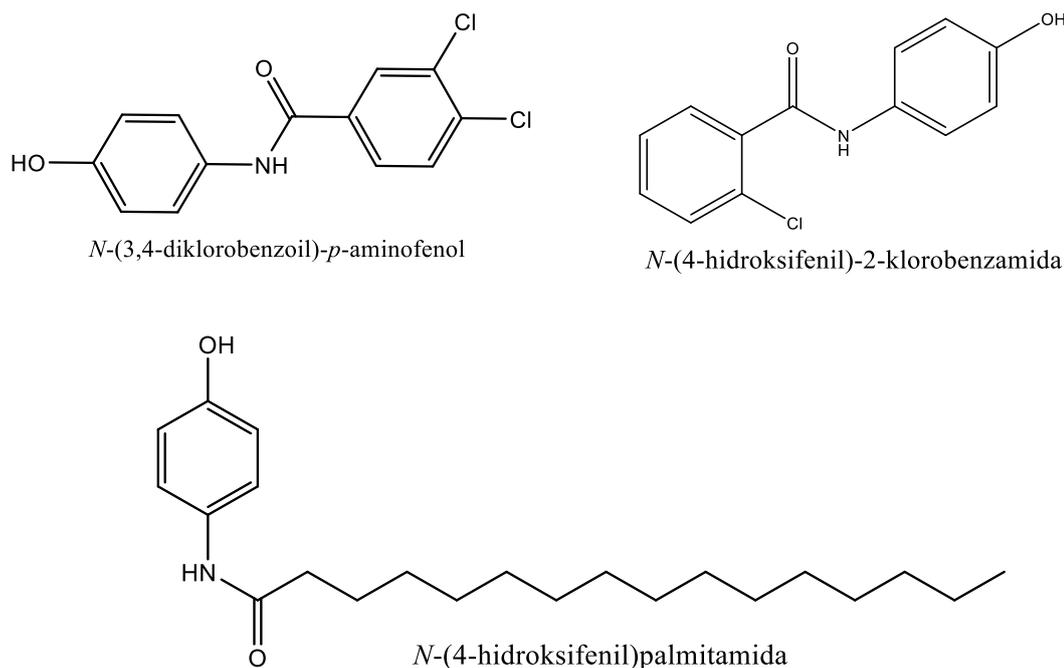
Permasalahan kesehatan yang secara global paling banyak dihadapi adalah nyeri, dilihat dari data penelitian *Global Burden of Disease Study* nyeri secara konsisten menjadi peringkat 10 besar penyebab utama kecacatan terutama nyeri leher dan punggung bawah. Sebuah studi di Eropa, Amerika Utara dan Australasia menunjukkan satu dari lima orang dewasa mengalami nyeri kronis sedang hingga berat (*Global Health Metrics*, 2018). Saat ini nyeri merupakan salah satu alasan utama orang untuk mencari pengobatan dan pelayanan kesehatan, menyebabkan pentingnya tenaga kesehatan memperdalam pengetahuan mengenai analgesik untuk menjamin pengobatan nyeri yang efektif dan efisien (Cazacu dkk., 2015).

Nyeri merupakan perasaan sensoris dan emosional yang berhubungan dengan kerusakan jaringan secara aktual maupun potensial (IASP, 1994). Nyeri dapat berkembang menjadi nyeri kronis bila tidak ditangani dengan cepat dan tepat, menyebabkan penurunan hingga kehilangan fungsi fisik dan emosional. Hal ini dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup baik secara finansial maupun sosial, dan bahkan berujung pada peningkatan mortalitas di masyarakat (Turk dkk., 2011).

Analgesik adalah senyawa yang menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif untuk mengurangi rasa sakit tanpa mempengaruhi kesadaran. Analgesik bekerja dengan meningkatkan nilai ambang persepsi rasa sakit. Analgesik dibagi menjadi dua golongan berdasarkan mekanisme kerjanya pada tingkat molekul, yaitu analgesik narkotik dan non narkotik. Obat analgesik-antipiretik yang populer dan banyak digunakan di Indonesia merupakan turunan dari *p*-aminofenol yaitu parasetamol (Siswandono, 2016). Parasetamol juga dapat dikatakan sebagai obat yang paling banyak digunakan di dunia (Sharma dan Mehta, 2014), bahkan menjadi urutan pertama dalam *pain relief ladder* WHO (WHO, 2019).

Para-aminofenol adalah produk metabolit dari anilin, memiliki toksisitas lebih rendah tetapi masih terlalu toksik untuk langsung digunakan sebagai obat sehingga perlu dilakukan modifikasi struktur untuk mengurangi toksisitasnya. Asetilasi gugus aminonya menjadi asetaminofen akan menurunkan toksisitas, pada dosis terapi relatif aman tetapi pada dosis yang lebih besar dapat menyebabkan methemoglobin dan kerusakan hati (Siswandono, 2016). Ditemukan bahwa konsumsi sejumlah 4 gram per hari selama 14 hari dapat meningkatkan enzim ALT di hati secara persisten walaupun pemakaian dihentikan hingga 14-16 kali lebih tinggi dari normal (Watkins dkk., 2006), dimana ALT merupakan enzim marker spesifik terjadinya kerusakan sel hepatik (Hall dan Cash, 2012). Karena efek samping inilah diperlukan pengembangan senyawa analgesik baru yang memiliki potensi sama atau lebih besar dari parasetamol. Diketahui bahwa asetilasi gugus amino dari *p*-aminofenol dapat menurunkan toksisitasnya, esterifikasi gugus hidroksi meningkatkan aktivitas juga toksisitasnya, dan pemasukan gugus polar pada inti benzena akan menghilangkan aktivitas analgesiknya (Siswandono, 2016). Dari sini dapat dilihat bahwa turunan dengan modifikasi pada gugus amino dapat dijadikan pilihan untuk membuat senyawa analgesik turunan *p*-aminofenol baru yang lebih poten.

Beberapa penelitian telah melakukan sintesis senyawa analgesik baru dari *p*-aminofenol, misalnya senyawa palmitoyl-*p*-aminofenol. Sintesis yang dilakukan peneliti tersebut adalah pertama dengan refluks asam palmitat dan tionil klorida dan menghasilkan palmitoil klorida, yang selanjutnya direaksikan dengan *p*-aminofenol menjadi palmitoyl-*p*-aminofenol (Saqib dkk., 2010). Selain itu terdapat penelitian yang melakukan sintesis senyawa analgesik baru dari *p*-aminofenol menggunakan reaksi asilasi nukleofilik *Schotten-Baumann*, misalnya senyawa *N*-(4-hidroksifenil)-2-klorobenzamida dan *N*-(3,4-diklorobenzoil)-*p*-aminofenol (Ferocia, 2007; Mumtahana, 2015). Senyawa sintesis turunan *p*-aminofenol dari hasil penelitian Saqib, Ferocia maupun Mumtahana menunjukkan aktivitas analgesik yang lebih besar dibanding parasetamol (Ferocia, 2007; Mumtahana, 2015; Saqib dkk., 2010). Struktur senyawa hasil modifikasi *p*-aminofenol dapat dilihat pada gambar 1.1.

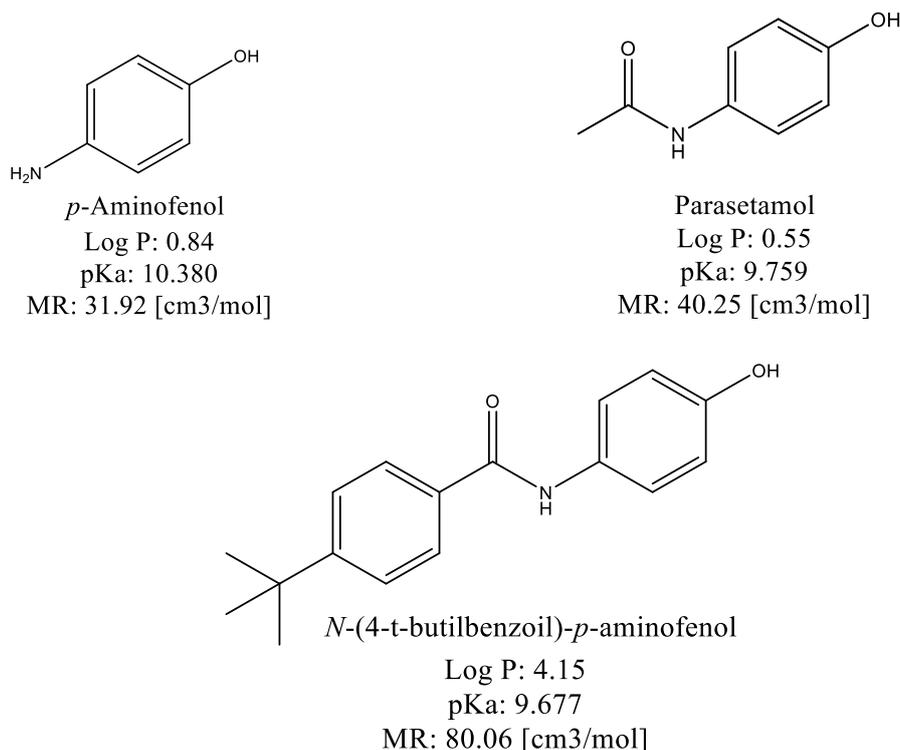


Gambar 1.1 Struktur *p*-aminofenol dan hasil modifikasinya

Parameter fisikokimia yang penting dalam menentukan interaksi antara senyawa dengan makromolekul dalam tubuh adalah parameter hidrofobik, sterik, dan elektronik. Karakter hidrofobik dari sebuah molekul obat penting untuk menentukan kemudahannya dalam menembus membran sel. Umumnya peningkatan hidrofobisitas meningkatkan aktivitas biologis obat karena untuk mencapai reseptor, obat harus melewati membran sel yang bersifat hidrofobik. Hidrofobisitas atau lipofilisitas dapat dinyatakan dalam $\log P$ (koefisien partisi) yang diartikan sebagai rasio konsentrasi senyawa berbentuk molekul yang berada antara fase organik dan air (Gao dkk, 2016). Karakter elektronik memiliki efek dalam ionisasi atau polaritas molekul obat, sehingga mempengaruhi kemudahan obat untuk melewati membran sel atau kekuatan interaksinya dengan tempat ikatan. Karakter sterik (ukuran dan bentuk) dari molekul obat mempengaruhi keserasian interaksi dengan reseptor. Molekul dengan ukuran tertentu dapat membantu terjadinya ikatan secara maksimal dan meningkatkan aktivitasnya (Patrick, 2013).

Penelitian ini merupakan suatu usaha dalam mengembangkan senyawa analgesik baru dari turunan *p*-aminofenol dengan aktivitas analgesik lebih tinggi. Suatu turunan baru dari reaksi asilasi *p*-aminofenol dengan 4-tercier-butylbenzoil

klorida menjadi *N*-(4-tercier-butilbenzoil)-*p*-aminofenol. Melalui prediksi nilai sifat fisika kimia menggunakan program *ChemDraw* 15 (gambar 1.2), diketahui nilai logP parasetamol= 0,55, pKa=10,380 dan nilai MR=40,25 cm³/mol sedangkan logP *N*-(4-tercier-butilbenzoil)-*p*-aminofenol=4,15, pKa=9,677 dan MR=80,06 cm³/mol.



Gambar 1.2 Struktur *p*-aminofenol dan turunannya

Nilai logP yang lebih besar menandakan bahwa senyawa turunan baru memiliki lipofilitas yang lebih tinggi sehingga diharapkan dapat menembus membran biologis lebih banyak. Dengan meningkatnya jumlah molekul obat yang berinteraksi dengan reseptor, diharapkan aktivitas biologis yang terjadi juga semakin meningkat. Parameter elektronik yang dilihat disini adalah pKa, yang berhubungan dengan ionisasi obat sehingga dapat terdistribusi dalam tubuh dan berinteraksi dengan reseptor. Umumnya bentuk obat yang dapat menimbulkan aktivitas biologis adalah bentuk tidak terionisasi. Pada obat yang memiliki pKa besar atau bersifat basa lemah, dengan menurunnya pH, sifat ionisasi bertambah besar dan bentuk tak terionisasi semakin kecil sehingga kemungkinan obat untuk menembus membran biologis semakin kecil dan kemungkinan interaksi dengan

reseptor rendah menyebabkan aktivitas biologis menurun (Siswandono, 2016). Nilai MR (*Molar Refractivity*) yang lebih tinggi berarti volume yang ditempati oleh molekul juga bertambah (Patrick, 2013). Peningkatan MR secara teori dapat mengakibatkan halangan ruang sehingga interaksi obat dengan reseptor berkurang, atau mengakibatkan ikatan obat dengan reseptor semakin kuat sehingga aktivitas biologis yang dihasilkan lebih besar (Siswandono, 2016).

Dalam penelitian ini, dilakukan modifikasi struktur *p*-aminofenol menggunakan reaksi asilasi nukleofilik *Schotten-Baumann* dengan pereaksi 4-tercier-butylbenzoil klorida menghasilkan senyawa baru *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol. Sebagai pelarut digunakan aseton karena dapat melarutkan kedua pereaksi dan untuk suasana basa digunakan trietilamin yang juga dapat berfungsi sebagai katalis reaksi dan pengikat HCl hasil samping reaksi. Gugus pada *p*-aminofenol yang bersifat nukleofilik adalah gugus hidroksi (OH) dan amina (NH₂). Gugus NH₂ memiliki pasangan elektron menyendiri dan bersifat basa sehingga memiliki efek nukleofilitas yang lebih besar dibanding gugus OH. Oleh karena itu gugus NH₂ lebih dapat menyerang atom C bermuatan positif pada 4-tercier-butylbenzoil klorida dan membentuk senyawa baru *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol (McMurry, 2018).

Kemurnian senyawa hasil sintesis diuji dengan uji jarak lebur dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Untuk uji jarak lebur, semakin murni sampel maka titik leburnya akan semakin tinggi dan jarak leburnya akan semakin sempit. Senyawa dikatakan murni jika jarak lebur kurang dari 2,0°C. KLT menggunakan prinsip distribusi senyawa yang tergantung dari perbedaan adsorpsi pada fase diam dan kelarutannya pada fase gerak. Senyawa dikatakan murni bila terdapat hanya satu noda pada tiga macam eluen yang berbeda kepolaran (Pavia dkk., 2015).

Konfirmasi struktur senyawa pada penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR dan spektrometer ¹H-NMR. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk melihat perbedaan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) dari senyawa baru dengan senyawa awal. (Pavia dkk., 2015) Spektrofotometer FTIR memiliki prinsip radiasi elektromagnetik yang dilewatkan ke sampel dan diabsorpsi oleh ikatan molekul, menyebabkan resonansi ikatan. Spektrofotometer FTIR digunakan untuk melihat gugus fungsi pada daerah

sidik jari. Spektrometer $^1\text{H-NMR}$ digunakan untuk melihat jumlah hidrogen dalam suatu struktur senyawa. Atom hidrogen yang mengikat atom berbeda akan memiliki absorpsi yang berbeda. Spektrometer $^1\text{H-NMR}$ lebih sering digunakan daripada NMR lain karena lebih sensitif dan informasi yang diberikan lebih banyak (Silverstein dkk., 2015).

Uji aktivitas analgesik senyawa *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol seharusnya dilakukan dengan uji *writhing test*, tetapi karena kondisi yang tidak memungkinkan akibat pandemi COVID-19 maka uji aktivitas dilakukan secara *in silico* menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD) versi 5.5. Dari penelitian oleh Thomsen dan Christensen (2006) diketahui bahwa tingkat akurasi doking MVD mencapai 87%, sedangkan tingkat akurasi doking aplikasi *virtual docker* lainnya seperti Glide, GOLD, Surflex, dan FlexX hanya mencapai 82%, 78%, 75%, dan 58% secara berurutan. Uji *in silico* doking senyawa *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol dilakukan terhadap enzim *Prostaglandin G/H synthase 2* (PTGS-2) atau yang biasa disebut *cyclooxygenase-2* (COX-2). COX-2 merupakan sasaran hambatan utama senyawa analgesik terutama golongan NSAID yang menghasilkan senyawa utama dalam induksi nyeri yaitu Prostaglandin E_2 (PGE_2) (Ricciotti dan Fitzgerald, 2011). Kode PDB enzim COX-2 yang digunakan adalah 5IKR karena mempunyai ligan standar asam mefenamat, senyawa analgesik golongan NSAID yang telah banyak digunakan di pasaran. Parameter yang digunakan untuk memprediksi aktivitas adalah *rerank score* (RS) yang menunjukkan nilai gabungan berbagai energi yang dihasilkan dari ikatan-ikatan senyawa dengan protein seperti ikatan hidrogen dan interaksi sterik (ikatan Van der Waals dan hidrofobik). Semakin kecil nilai RS maka energi yang diperlukan senyawa untuk berikatan dengan enzim/reseptor akan semakin kecil, ikatan yang terjadi semakin stabil, dan hal ini dapat diprediksi bahwa aktivitas senyawa akan semakin besar (Thomsen dan Christensen, 2006).

Dari penelitian ini diharapkan senyawa analgesik baru *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol berhasil disintesis dan memiliki prediksi aktivitas analgesik yang lebih besar dibanding parasetamol, sehingga dapat dikembangkan menjadi obat analgesik baru setelah melalui berbagai uji pre-klinik dan klinik lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, dapat dirumuskan masalah yang timbul sebagai berikut:

1. Apakah senyawa *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol dapat disintesis dari reaksi asilasi nukleofilik antara *p*-aminofenol dengan pereaksi 4-tercier-butylbenzoil klorida dan berapakah prosentase hasil sintesisnya?
2. Apakah senyawa *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol memiliki aktivitas analgesik secara *in silico* yang lebih besar dibanding parasetamol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui prosentase hasil sintesis senyawa turunan *p*-aminofenol baru *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol dari reaksi asilasi nukleofilik antara *p*-aminofenol dengan 4-tercier-butylbenzoil klorida.
2. Membandingkan prediksi aktivitas analgesik senyawa baru *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol dengan parasetamol secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

Senyawa hasil sintesis *N*-(4-tercier-butylbenzoil)-*p*-aminofenol dari penelitian ini diharapkan memiliki prediksi aktivitas analgesik yang lebih besar dibanding parasetamol sehingga dapat menjadi calon obat analgesik yang lebih poten setelah melalui uji pre-klinik dan uji klinik lebih lanjut.