

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Pada awal Desember 2019, Pemerintah Wuhan telah melaporkan kasus infeksi baru yaitu Coronavirus Disease 19 (COVID-19) (Zhu *et al.*, 2020). Setelah 2 tahun sejak awal diumumkan sebagai pandemi oleh WHO pada Maret 2020, terdapat lebih dari 250 juta kasus COVID-19 telah dilaporkan dengan jumlah kematian sebanyak lebih dari 5 juta kasus (WHO, 2021). Infeksi COVID-19 sering disertai dengan respon inflamasi yang agresif dengan pelepasan sejumlah besar sitokin proinflamasi atau badai sitokin “Cytokine storm”. Peningkatan senyawa ini menyebabkan efek destruksi pada jaringan tubuh seperti kerusakan dinding pembuluh darah yang diikuti trombosis, vasokonstriksi dan angiogenesis intususeptif, kerusakan kapiler, kerusakan alveolus, kegagalan multiorgan, dan kematian (Ackermann *et al.*, 2020; Ragab *et al.*, 2020).

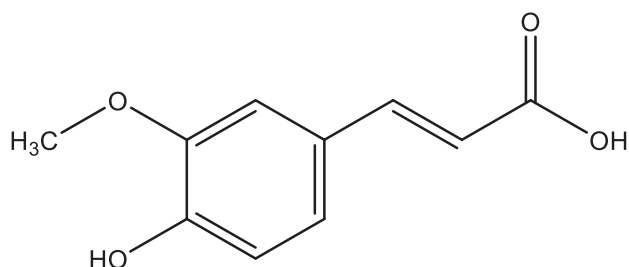
Angiogenesis intususeptif adalah proses pembelahan atau pembagian rongga menghasilkan dua lumen dari satu pembuluh darah secara cepat tanpa membutuhkan persyaratan untuk proliferasi sel (Mentzer and Konerding, 2014). Angiogenesis intususeptif diketahui merupakan proses awal yang khas pada pembuluh darah dalam pertumbuhan kanker, adanya inflamasi, dan regenerasi jaringan (Ackermann *et al.*, 2012). Adanya ketidakseimbangan antara faktor stimulator dan inhibitor menyebabkan terjadinya keadaan proangiogenik. Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) merupakan senyawa proangiogenik dan regulator utama pada angiogenesis baik pada kondisi normal maupun keadaan adanya penyakit. Ikatan antara senyawa VEGF dengan reseptor tirosin kinase VEGF pada membran sel endotel dapat menyebabkan terjadinya angiogenesis (Saman *et al.*, 2020).

Beberapa agen antiangiogenik selain memiliki efektifitas tinggi juga terdapat beberapa kelemahan. Terapi obat Inhibitor VEGF menyebabkan peningkatan tekanan darah. Beberapa inhibitor VEGF, seperti Nilotinib, Pazopanib, dan Dasatinib dapat memperpanjang interval QTc dan menyebabkan retensi cairan pada pasien (Escalante and Zalpour, 2011). Bevacizumab menyebabkan perforasi gastrointestinal, komplikasi pembedahan dan penyembuhan luka, serta perdarahan (Li and Kroetz, 2018). Sorafenib berkontribusi pada toksisitas yang disebabkan oleh paparan berlebihan

sistemik. Hal ini menyebabkan profil toksisitas yang tidak terduga dan pada beberapa pasien dapat mengarah pada kondisi mengancam jiwa (Li *et al.*, 2015). Dengan adanya beberapa batasan tersebut, modifikasi struktur dapat dilakukan untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang poten, lebih spesifik terhadap reseptor, dan efek samping yang minimal. Adanya perubahan struktur kimia dari senyawa obat akan mempengaruhi sifat kimia fisika senyawa obat seperti sifat lipofilik, elektronik, dan sterik serta dapat mengubah aktivitas biologis suatu senyawa obat (Siswandono, 2016).

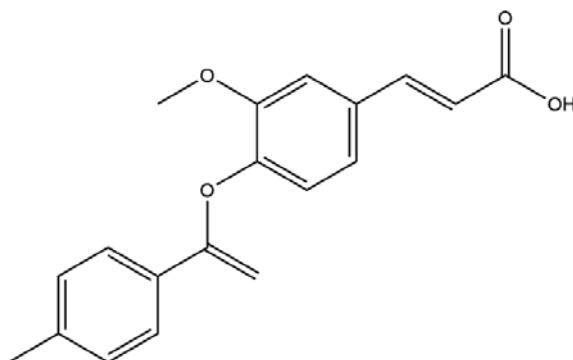
Asam ferulat (Asam 3-[4-hidroksi-3-metoksi-fenil]-2-propenoat atau asam 4-hidroksi-3-metoksisinamat) adalah senyawa polifenol alami yang sering ditemukan pada tanaman. Asam ferulat merupakan suatu turunan asam sinamat yang umumnya terdapat pada biji-bijian, bayam, anggur, biji sereal terutama gandum, oat, dan gandum hitam (Zduńska *et al.*, 2018). Asam ferulat sering digunakan pada pengobatan tradisional China karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Beberapa Obat tradisional China yang biasa digunakan karena memiliki kandungan asam ferulat yang tinggi adalah Chuanxiong Rhizoma dan Angelicae Sinensis Radix (Lin-Yan *et al.*, 2015). Beberapa aktivitas farmakologi yang telah dilaporkan adalah antiinflamasi, antimikroba, antikanker (kanker payudara, kanker kolon, dan kanker kulit), antiaritmia, antitrombotik, antidiabetes, dan imunostimulan (Kumar and Pruthi, 2014).

Asam ferulat memiliki potensi sebagai agen antiangiogenesis dengan mekanisme hambatan pada reseptor tirosin kinase. Pada penelitian *in vitro*, asam ferulat dapat menghambat ikatan antara FGFR1 dan FGF1 dan menurunkan aktivitas tirosin kinase FGFR1. Asam ferulat juga menunjukkan aktivitas hambatan pada FGFR2, VEGFR2, PDGFR- α , dan PDGFR- β (Yang *et al.*, 2015). Oleh karena itu, asam ferulat dapat dijadikan sebagai salah satu pilihan untuk mengatasi angiogenesis pada pasien COVID-19.



Gambar 1. 1 Struktur Asam Ferulat

Asam ferulat terdiri dari gugus karboksilat (-COOH), ikatan rangkap (C=C), cincin aromatis, gugus metoksi (-O-CH₃), dan gugus hidroksi (-OH) (**Gambar 1.1**). Modifikasi struktur pada asam ferulat dilakukan pada gugus -OH fenolik menjadi asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat (**Gambar 1.2**). Pada penelitian oleh (Ekowati *et al.*, 2018), telah terbukti bahwa turunan asam ferulat memiliki aktivitas antitrombotik. Aktivitas ini dibuktikan melalui studi *molecular docking* pada reseptor P2Y₁₂. Reseptor P2Y₁₂ memiliki peran penting dalam pembentukan trombus dengan mekanisme stimulasi terjadinya agregasi platelet yang diinduksi oleh ADP. Turunan Asam ferulat pada -OH fenolik menjadi 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki MDS (*Molecular Docking Scores*) -159,804 sedangkan asam ferulat memiliki MDS -105,167. Hasil dari MDS 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat yang lebih rendah dari asam ferulat dapat diartikan bahwa energi yang dibutuhkan untuk melakukan ikatan antara reseptor dan ligan lebih rendah, sehingga ikatan yang dihasilkan lebih stabil (Ekowati *et al.*, 2018). Dengan adanya potensi ini, turunan asam ferulat ingin diteliti lebih lanjut sebagai agen antiangiogenesis.



Gambar 1.2 Struktur Asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat

Prediksi aktivitas senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat sebagai antiangiogenesis dilakukan dengan studi aktivitas *in silico* dengan metode *molecular docking* pada aplikasi AutoDock 1.5.7. Dilakukan proses *docking* pada reseptor angiogenik tirosin kinase VEGF2 dengan ligan BAX (ID PDB = 3WZE). Pada AutoDock hasil yang didapatkan dalam bentuk energi ikat (*binding energy*). Berdasarkan AutoDock, energi ikat adalah jumlah gaya antarmolekul yang bekerja pada kompleks reseptor-ligan. Energi ikat pada dasarnya adalah menghitung nilai

Energi Bebas Gibbs. Nilai energi ikat yang rendah menunjukkan interaksi keseluruhan yang lebih baik dan lebih kuat (Matossian *et al.*, 2014).

Prediksi parameter farmakokinetik dan toksikologi asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat telah dilakukan menggunakan program online pkCSM dan ProTox-II. Parameter farmakokinetik dari asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat adalah memiliki absorpsi intestinal sebesar 94,509% dan log p sebesar 3,32. Sifat molekul yang didapatkan adalah berat molekul 312,321; penerima ikatan hidrogen 4, dan penyumbang ikatan hidrogen 1. Pada parameter toksisitas, didapatkan bahwa senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki LD50 3450 mg/kg dan tidak memiliki potensi hepatotoksik (Ekowati *et al.*, 2018). Dari sifat molekul asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat, telah memenuhi syarat “Lipinski Rule of Five”. Sehingga senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat digunakan secara peroral.

Proses sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat dirancang menggunakan analisis retrosintetik. Analisis retrosintesis merupakan proses sintesis secara terbalik dimana dilakukan dekonstruksi struktur menjadi beberapa reaktan sehingga dapat diketahui ketersediaan senyawa pada senyawa yang ada. Analisis retrosintesis dilakukan dengan memecah struktur kimia target menjadi beberapa fragmen disertai gugus fungsi yang diperlukan untuk melakukan reaksi. Reaktan, disebut juga synthon, dapat dicocokkan dengan bahan yang tersedia. Proses akan berakhir ketika synthon sesuai dengan gugus fungsi yang tersedia (Watson *et al.*, 2019). Proses sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat terdapat dua analisis retrosintesis. Jalur pertama adalah asilasi senyawa awal adalah asam ferulat dan yang jalur kedua adalah jalur reaksi kondensasi Knoevenagel dengan senyawa awal adalah vanillin.

Jalur retrosintesis pertama yaitu reaksi asilasi asam ferulat telah dilakukan oleh (Asriningrum, 2019). Namun, pemisahan senyawa hasil secara kromatografi kolom mengalami hidrolisis selama proses pemisahan karena senyawa hasil lebih cepat terdegradasi akibat kontak dengan silika gel pada proses kolom kromatografi yang cukup lama. Karena adanya permasalahan tersebut, sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat dilakukan dengan jalur kedua yaitu reaksi Knoevenagel dengan senyawa awal vanillin.

Pada jalur kedua, reaksi terjadi pada dua tahap yaitu asilasi vanillin dan kondensasi Knoevenagel dari hasil asilasi vanillin. Reaksi tahap pertama merupakan

reaksi esterifikasi asil halida. Alkohol nukleofilik akan ditambahkan pada gugus karbonil yang elektrofilik. Katalis basa sangat penting digunakan karena dapat menghilangkan proton dari alkohol yang akan menyerang gugus karbonil. Basa yang biasa digunakan adalah piridin (Clayden *et al.*, 2012). Reaksi ini akan menghasilkan reaksi antara sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat yaitu senyawa 4-formil-2-metoksifenil 4-metilbenzoat.

Tahap kedua dari reaksi ini adalah kondensasi Knoevenagel. Reaksi kondensasi Knoevenagel adalah reaksi dari suatu aldehida dengan suatu senyawa yang mempunyai hidrogen α pada dua gugus aktivasi ($C=O$ atau $C\equiv N$), dan menggunakan amonia atau amina sebagai katalisnya. Reaksi ini juga disebut reaksi kondensasi aldol dari senyawa 1,3-dikarbon. Senyawa 1,3-dikarbon yang digunakan berasal dari turunan asam malonat dan etil asetoasetat. Katalis yang sering digunakan adalah kombinasi antara amina sekunder dan asam karboksilat, seperti piridin atau piperidin (Clayden *et al.*, 2012).

Sumber energi yang dibutuhkan pada reaksi sintesis ini didapatkan dengan radiasi gelombang mikro menggunakan *microwave*. *Microwave* banyak digunakan pada beberapa reaksi kimia di laboratorium untuk sintesis nanomaterial. Berdasarkan prinsip *Green chemistry*, penggunaan *microwave* sebagai sumber energi reaksi sesuai dengan prinsip ke-6 yaitu *increase energy efficiency*. Penggunaan *microwave* memiliki efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemanasan secara konvensional (de la Hoz *et al.*, 2016). *Microwave* menghasilkan pemanasan instan dan sangat cepat, homogenitas suhu tinggi, dan selektif hanya untuk senyawa polar untuk mendapatkan suatu produk reaksi (Gawande *et al.*, 2014a). Sehingga karena memiliki beberapa kelebihan, iradiasi gelombang mikro dipilih pada penelitian ini dibandingkan dengan pemanasan secara konvensional.

Tingkat kecepatan pemanasan dari *microwave* bergantung pada jumlah daya yang digunakan. Daya *microwave* akan mempengaruhi tingkat energi yang ditransfer. Daya yang lebih tinggi dapat menghasilkan peningkatan suhu reaksi dan laju reaksi akan semakin cepat (Li dan Xu, 2017). Kondisi *microwave* dengan tekanan dan suhu yang lebih tinggi dapat meningkatkan laju kecepatan reaksi dengan meningkatkan homogenitas senyawa (Gawande *et al.*, 2014). Tetapi dengan adanya suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada reaksi senyawa yang sensitif terhadap pemanasan berlebih. Pemanasan dengan iradiasi gelombang mikro yang didapatkan dari *microwave* dapat diatur kondisinya dengan mengatur waktu reaksi dan daya

microwave yang digunakan. Oleh karena itu, pemanasan dengan *microwave* memberikan keuntungan yang besar untuk reaksi sintesis dengan senyawa yang sensitif terhadap kondisi reaksi.

Pada penelitian ini dilakukan uji *in silico* aktivitas anti angiogenesis senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dan sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dengan reaksi asilasi vanillin dan kondensasi Knoevenagel menggunakan sumber energi iradiasi gelombang mikro yang berasal dari *microwave*. Asil halida yang digunakan adalah *p*-metil benzoil klorida dengan senyawa awal vanillin dan katalis basa organik piridin pada tahap pertama dan asam malonat dengan katalis morfolin pada reaksi tahap kedua. Penelitian ini diperlukan untuk dilakukan sehingga didapatkan daya dan waktu yang optimal dari *microwave* untuk sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat diprediksi memiliki aktivitas antiangiogenesis melalui hambatan Reseptor Tirosin Kinase VEGF2 (ID PDB: 3WZE) yang lebih tinggi dibandingkan asam ferulat melalui uji *in silico* dengan metode *Molecular Docking*?
2. Apakah senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat terbentuk dari 4-formil-2-metoksifenil-4-metilbenzoat dan asam malonat melalui reaksi Knoevenagel menggunakan katalis morfolin dengan bantuan iradiasi gelombang mikro?
3. Apakah daya *microwave* yang digunakan saat reaksi sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki pengaruh terhadap besar persentase hasil sintesis?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah senyawa 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat diprediksi memiliki aktivitas antiangiogenesis melalui hambatan reseptor tirosin kinase lebih tinggi dibandingkan asam ferulat melalui uji *in silico* dengan metode *Molecular Docking*.
2. Mengetahui apakah senyawa asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat terbentuk dari 4-formil-2-metoksifenil-4-metilbenzoat dan asam malonat melalui

reaksi Knoevenagel menggunakan katalis morfolin dengan bantuan iradiasi gelombang mikro.

3. Mengetahui apakah daya *microwave* yang digunakan saat reaksi sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki pengaruh terhadap besar persentase hasil sintesis.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui senyawa yang diprediksi dapat memberikan aktivitas yang lebih tinggi sebagai antiangiogenesis melalui hambatan reseptor tirosin kinase pada uji *in silico* dengan metode *Molecular Docking*.
2. Mendapatkan metode baru dalam pengembangan sintesis senyawa turunan asam ferulat untuk mendapatkan rendemen yang lebih besar dan waktu lebih cepat.
3. Memberikan wawasan ilmiah dalam bidang sintesis terutama pada sintesis asam 4-(4-metil)benzoiloksi-3-metoksisinamat dengan metode iradiasi gelombang mikro.