

BAB I

PENDAHULUAN

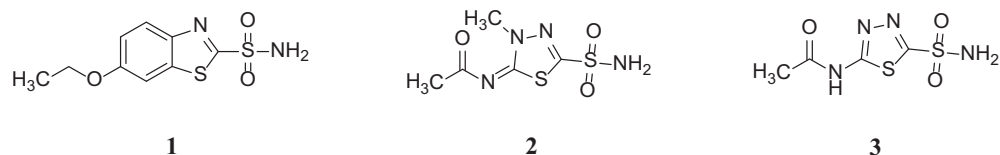
1.1 Latar Belakang

Diabetes adalah penyakit yang sampai saat ini masih menjadi topik yang menarik untuk terus diteliti. Penyakit diabetes telah menyebabkan kematian 6,7 juta jiwa orang dunia di tahun 2021. Tercatat di Asia Tenggara, sebanyak 90 juta jiwa (1 dari 11 orang dewasa) mengidap penyakit diabetes (IDF, 2021). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2016 melaporkan bahwa 7% dari masyarakat Indonesia mengidap penyakit diabetes. Penyakit diabetes bukan hanya penyakit yang dapat terjadi pada orang dewasa saja, tetapi juga dapat menyerang anak muda. Berdasarkan data dari Asosiasi Diabetes Amerika (ADA) pada tahun 2014-2015, kasus anak muda yang terdiagnosis diabetes diperkirakan sebanyak 18.200 kasus. Penyakit diabetes adalah gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan kadar gula darah akut. Hal ini dapat disebabkan oleh sekresi atau kerja hormon insulin dalam tubuh yang kurang maksimal (Kharroubi dan Darwish, 2015). Selain kondisi tersebut, pengidap diabetes dapat mengalami gangguan komplikasi mikrovaskuler yang berkepanjangan di organ tertentu, seperti pada mata, ginjal, dan saraf. Penderita diabetes juga dapat memiliki resiko untuk mengalami penyakit jantung yang lebih tinggi (Punthakee *et al.*, 2018).

Berdasarkan hasil yang dilaporkan oleh Torella *et al.* (2014), adanya kenaikan gula darah yang tinggi pada penderita diabetes meningkatkan ekspresi enzim *Human Carbonic Anhydrase II* (hCA II) di sel otot jantung. Enzim yang terdistribusi hampir di berbagai organ dan jaringan tubuh ini membuat aktivitas protein penukar ion Na^+/H^+ pada jantung (*Na^+/H^+ exchanger 1* atau NHE-1) semakin tinggi. Hal tersebut membuat produksi spesi oksigen reaktif/*Reactive Oxygen Species* (ROS) pada mitokondria otot jantung mengalami peningkatan yang mengakibatkan penderita diabetes dapat mengalami gagal jantung (Cingolani dan Ennis, 2007; Jia *et al.*, 2016). Selain itu, peningkatan ROS pada penderita diabetes juga memiliki peran dalam memperparah resistensi insulin dengan mengganggu translokasi transporter glukosa (Kaneto *et al.*, 2010). Menurut Alvares *et al.* (2007),

inhibitor enzim karbonat anhidrase (*carbonic anhydrase inhibitor/CAI*), yakni 6-etoksizolamida (**1**) dan metazolamida (**2**) dapat mencegah pengerasan pada sel otot jantung orang dewasa. Hal ini dapat diinterpretasikan jika penghambatan aktivitas *hCA II* oleh CAI dapat mencegah terjadinya gagal jantung akibat ekspresi berlebih enzim *hCA II*. Walaupun peningkatan produksi ROS dapat diturunkan dari inhibisi enzim *hCA II*, adanya sifat antioksidan yang dimiliki oleh CAI juga dapat meredam ROS pada penderita diabetes. Hal itu membuat CAI akan memiliki aksi ganda dalam mencegah gagal jantung dan mengobati penyakit diabetes.

Enzim karbonat anhidrase II (*hCA II*) adalah metaloenzim monomerik yang memiliki kofaktor logam Zn(II) yang mengkatalisis reaksi reversibel hidrasi karbon dioksida menjadi ion bikarbonat dan proton (Avvaru *et al.*, 2009). Enzim ini diekspresi di beberapa jaringan, seperti sel darah merah, mata, saluran pencernaan, osteoklas tulang, ginjal, paru-paru, testis, dan otak (Jakubowski *et al.*, 2018). Pada awalnya, CAI seperti 6-etoksizolamida (**1**), metazolamida (**2**), dan asetazolamida (**3**) dikembangkan untuk terapi glaukoma (Scozzafava dan Supuran, 2014; Stefánsson *et al.*, 2005). Hal ini karena ekspresi *hCA II* yang tinggi pada mata meregulasi terjadinya tekanan intraokular yang dapat menyebabkan penyakit glaukoma (Ghorai *et al.*, 2020).

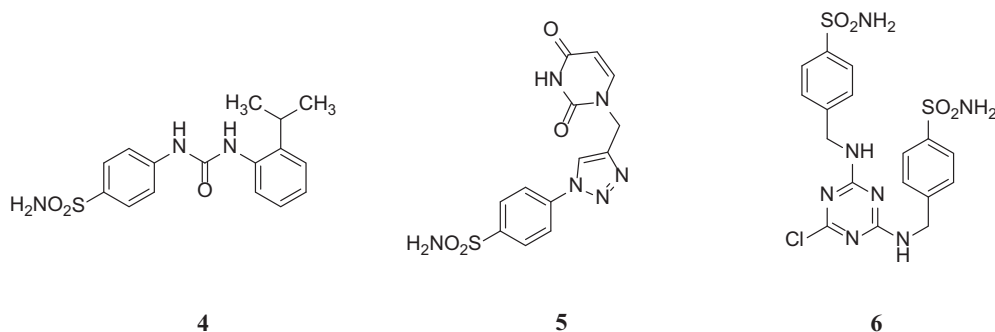


Gambar 1.1 Senyawa inhibitor karbonat anhidrase (CAI) yang dijual bebas sebagai obat anti glaukoma.

CAI yang telah digunakan secara komersial di pasaran sejauh ini adalah turunan tiadiazol, tiadiazolin, dan tiofena sulfonamida. Sulfonamida dan turunannya merupakan kelompok CAI yang paling sering dipakai dalam desain senyawa CAI (Gokcen *et al.*, 2016). Kelompok tersebut dapat dikatakan sebagai ligan yang ideal pada sisi aktif enzim karbonat anhidrase karena amina yang terdeprotonasi pada sulfonamida memiliki interaksi ganda, yakni selain

berkoordinasi dengan logam Zn(II), atom hidrogen pada amina juga melakukan ikatan hidrogen yang kuat dengan residu Thr199 (Alterio *et al.*, 2012).

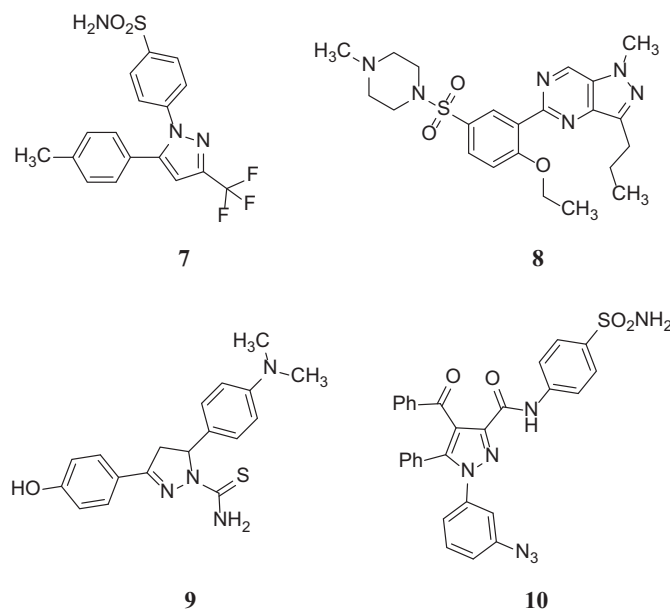
Selain yang telah disebutkan sebelumnya, turunan sulfonamida yang terus dikembangkan dan diteliti untuk menjadi CAI adalah benzenasulfonamida. Hal ini karena turunan sulfonamida aromatis juga memiliki afinitas yang tinggi pada hampir semua isoform karbonat anhidrase (Lolak *et al.*, 2018). Benzenasulfonamida yang tersubstitusi pada posisi *para* menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih baik dibandingkan jika disubstitusi pada posisi *orto*, 2,4-, dan 3,4- (Alterio *et al.*, 2012). Dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai CAI, turunan benzenasulfonamida telah digabungkan dengan beberapa gugus yang lain, seperti ureido **4** (Pacchiano *et al.*, 2011), purin/pirimidin **5** (Nocentini *et al.*, 2017), dan triazin **6** (Havráňková *et al.*, 2018).



Gambar 1.2 Beberapa turunan benzensulfonamida yang telah diteliti sebagai senyawa kandidat CAI.

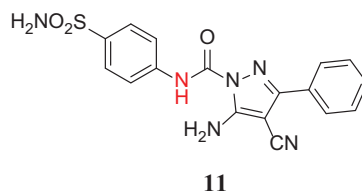
Pirazol adalah senyawa aromatis cincin 5 dengan rumus molekul C₃H₄N₂ yang mengandung 2 atom nitrogen yang bersebelahan (Secrieru *et al.*, 2020). Beberapa turunan pirazol terbukti memiliki aktivitas biologis pada tubuh karena telah digunakan secara bebas sebagai obat, seperti selekoksib (**7**) sebagai anti-inflamasi dan sildenafil (**8**) sebagai terapi disfungsi ereksi serta hipertensi pada paru-paru (Barnett dan Machado, 2006). Turunan pirazol **9** dan **10** yang juga pernah dilaporkan oleh Dizdaroglu *et al.* (2020) dan Şen *et al.* (2014) menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih signifikan dibandingkan senyawa **3** pada hCA II. Namun, masih sedikit studi yang melaporkan pengembangan turunan pirazol sebagai kandidat

CAI. Hal ini menunjukkan bahwa turunan pirazol berpotensi untuk dilakukan penelitian lebih lanjut agar dapat menemukan turunan pirazol yang memiliki aktivitas inhibisi yang lebih baik terhadap enzim karbonat anhidrase.



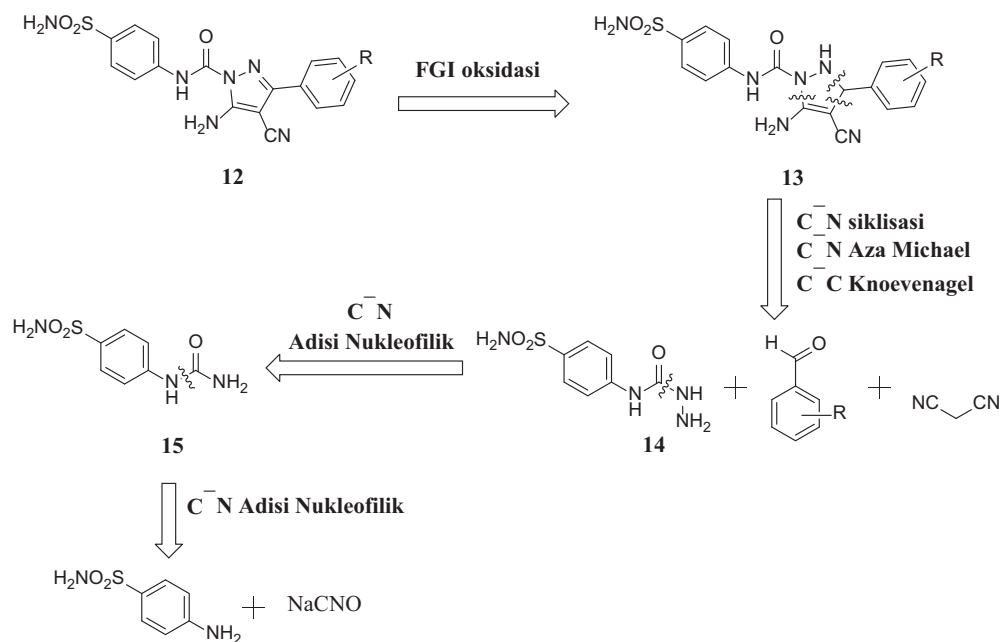
Gambar 1.3 Struktur beberapa turunan pirazol yang telah dijual secara komersial sebagai obat (7 dan 8) dan yang telah dilaporkan memiliki potensi sebagai CAI (9 dan 10).'

Berdasarkan urgensi dan studi literatur yang dijelaskan sebelumnya, desain molekul target yang ditawarkan pada penelitian ini adalah senyawa yang memiliki benzenasulfonamida dan pirazol yang belum dieksplorasi sebelumnya, yakni turunan senyawa **11** yang memiliki bagian karboksamida sebagai penghubung antara benzenasulfonamida dengan pirazol. Selain itu, molekul target juga dirancang memiliki gugus yang dapat berpotensi memberikan aktifitas antioksidan. Gugus fenolik dikenal luas memiliki potensi sebagai antioksidan. Namun, gugus amina aromatis juga dapat berperan sebagai antioksidan (Yates, 1984). Pada kerangka senyawa target dalam **Gambar 1.4**, terdapat 1 gugus amina aromatis yang diharapkan membuat senyawa target memiliki aktivitas antioksidan



Gambar 1.4 Kerangka dasar struktur molekul target yang akan disintesis. (Merah) : gugus amina yang dapat membuat senyawa target memiliki aktivitas antioksidan.

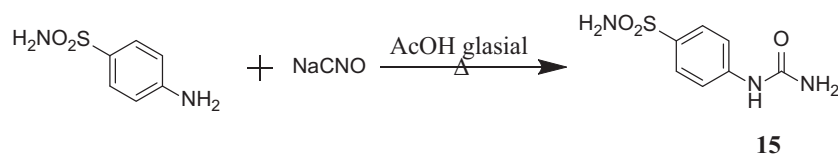
Molekul target yang akan disintesis dianalisis secara retrosintesis pada **Gambar 1.5**. Berdasarkan ilustrasi tersebut, ikatan C=N senyawa target **12** yang terdapat pada fragmen pirazol didapat dari oksidasi ikatan C–N pada senyawa **13**. Pada senyawa tersebut, dilakukan diskoneksi pada 2 buah ikatan C–N yang dilanjutkan dengan diskoneksi ikatan C–C. Diskoneksi ikatan tersebut membentuk 3 prekursor berupa benzaldehid/turunannya, malonitril, dan senyawa **14**. Selanjutnya, dilakukan pergantian gugus fungsi hidrazin pada senyawa **14** menjadi amina yang membentuk senyawa **15** dengan adisi nukleofilik. Tahap terakhir retrosintesis adalah diskoneksi ikatan C–N *N*-(4-sulfamoylphenil) yang menghasilkan 2 prekursor, yakni sulfanilamida dan natrium sianat.



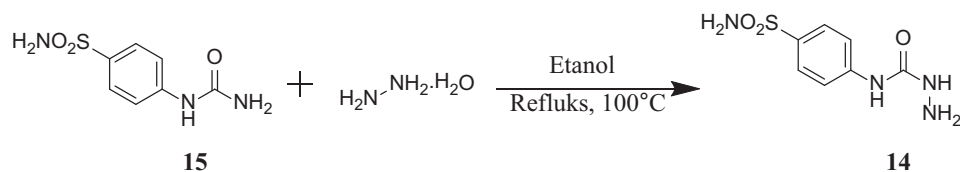
Gambar 1.5 Analisis retrosintesis senyawa target.

Hasil analisis retrosintesis dapat menggambarkan skema reaksi yang akan dilakukan untuk menyintesis molekul target yang diilustrasikan pada **Gambar 1.6**. Senyawa target dapat disintesis melalui 3 tahap reaksi, yakni : (1) sintesis 4-ureidobenzenasulfonamida (**15**) dari sulfanilamida dan natrium sianat dalam asam asetat glasial pada suhu kamar (Hargunani *et al.*, 2020); (2) sintesis *N*-(4-sulfamoilfenil) hidrazin karboksamida (**14**) dari senyawa **15** dan hidrazin monohidrat dengan pelarut etanol menggunakan refluks (Hargunani *et al.*, 2020); (3) pembentukan cincin pirazol tersubstitusi dengan mereaksikan benzaldehid/turunannya, malonitril, dan senyawa **14** dengan asam *para*-toluenasulfonat/ *p*-toluenesulfonic acid (PTSA) sebagai katalis asam (Singh dan Pandey, 2021).

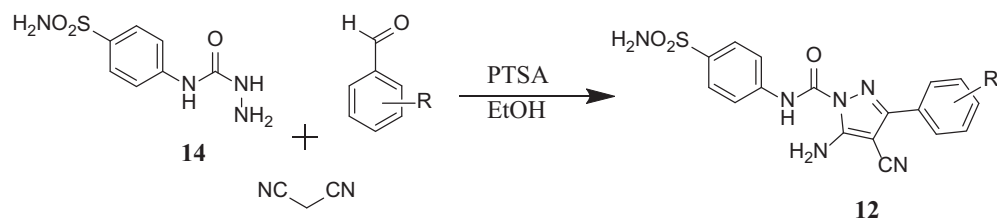
Tahap 1



Tahap 2



Tahap 3



Gambar 1.6 Tahapan reaksi dalam sintesis senyawa target.

Pada penelitian ini, akan dilakukan variasi substituen pada benzaldehid yang diharapkan dapat mempengaruhi interaksi senyawa target dengan enzim *hCA* II. Untuk mengetahui senyawa target dengan substituen (-R) mana saja yang akan

disintesis, dilakukan permodelan dengan *molecular docking* antara kandidat senyawa target terhadap enzim *hCA II*. Senyawa target dan intermediat dari hasil sintesis akan ditentukan strukturnya dengan metode spektroskopi UV-Vis, FTIR, ^1H NMR, dan ^{13}C NMR. Selain akan dilihat interaksi dengan enzim *hCA II* menggunakan *molecular docking*, senyawa target juga akan diuji aktivitas antioksidan secara *in vitro* melalui uji dekolorisasi radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Pengujian tersebut akan membuat penelitian ini tidak hanya mendapatkan informasi mengenai potensi senyawa target sebagai inhibitor karbonat anhidrase II saja, tetapi juga peluang senyawa target sebagai antioksidan yang dapat meredam aktivitas radikal bebas.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa turunan 5-amino-*N*-(4-((aminooksil)sulfonil)fenil)-4-siano-3-fenil-1*H*-pirazol-1-karboksamida manakah yang memiliki *docking score* terbaik dari hasil *molecular docking* terhadap enzim *hCA II* ?
2. Apakah senyawa target dapat disintesis dari tahapan reaksi yang diusulkan?
3. Bagaimana interaksi intermolekuler yang dimiliki oleh senyawa target terhadap enzim *Human Carbonic Anhydrase II* dari kajian secara *in silico*?
4. Bagaimana aktivitas antioksidan dari senyawa target berdasarkan uji dengan DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui turunan senyawa mana saja 5-amino-*N*-(4-((aminooksil)sulfonil)fenil)-4-siano-3-fenil-1*H*-pirazol-1-karboksamida yang memiliki *docking score* terbaik dari hasil *molecular docking* terhadap enzim *hCA II*.
2. Untuk mensintesis senyawa target dari tahapan reaksi yang diusulkan.
3. Untuk menganalisis dan menjabarkan interaksi intermolekuler yang dimiliki oleh senyawa turunan target dengan enzim *Human Carbonic Anhydrase II* dari kajian secara *in silico*.

4. Untuk mengukur aktivitas antioksidan dari senyawa target berdasarkan uji dengan DPPH.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai metode sintesis senyawa turunan pirazol sulfonamida. Diharapkan juga dalam penelitian dapat mengetahui potensi senyawa turunan 5-amino-*N*-(4-((aminooksi)sulfonyl)fenil)-4-siano-3-fenil-1*H*-pirazol-1-karboksamida sebagai inhibitor *Human Carbonic Anhydrase* II dari kajian secara *in silico*. Selain itu, adanya penelitian juga dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa turunan 5-amino-*N*-(4-((aminooksi)sulfonyl)fenil)-4-siano-3-fenil-1*H*-pirazol-1-karboksamida yang dapat dikembangkan untuk mengobati penyakit diabetes dan mencegah terjadinya gagal jantung pada penderita diabetes.