

BAB I

PENDAHULUAN

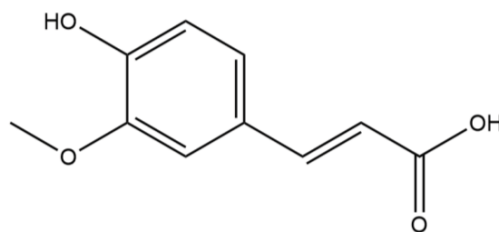
1.1 Latar Belakang

Data WHO pada tahun 2021 menunjukkan bahwa jumlah kumulatif angka kematian akibat *Coronavirus Disease* (COVID-19) telah mencapai lebih dari 5 juta jiwa. Kebanyakan dari pasien yang meninggal menunjukkan tingginya beberapa parameter biokimia seperti, protein c-reaktif, rasio neutrophil/limfosit, dan ferritin yang berarti respons inflamasi yang cukup parah. Ditemukan bahwa sindrom gangguan pernafasan akut (ARDS) adalah penyebab kematian paling utama dibandingkan komorbid yang dimiliki pasien (Morshed *et al*, 2021). Studi mengenai otopsi pasien menunjukkan bahwa pada kebanyakan kasus, insufisiensi respiratori adalah gejala yang utama dengan penyebab kematian paling kerap terjadi adalah sepsis. Studi tersebut juga menunjukkan tingginya kejadian thromboemboli paru pada pasien yang meninggal karena COVID-19. (Elezkurta *et al*, 2021). Salah satu patogenesis COVID-19, yakni thromboemboli termasuk sebagai suatu kejadian hiperkoagulasi yang mana disebabkan oleh beberapa abnormalitas pada fase koagulasi. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan faktor prothrombosis, seperti meningkatnya von Willebrand factor (vWF), faktor VIII, D-dimer, fibrinogen, jebakan neutrophil ekstrasel, mikropartikel prothrombosis, dan fosfolipid anionik. Thromboemboli pada vena adalah kejadian yang umum ditemukan pada pasien COVID-19, meskipun telah digunakan antikoagulan profilaksis (Singhania *et al*, 2020).

Coronavirus tergolong virus RNA positive-sense yang memiliki amplop dari subfamili Coronavirinae dibawah famili Coronaviridae yang termasuk dalam ordo Nidovirales (Bhowmik *et al*, 2020). SARS-CoV-2 masuk ke dalam anggota subgenus Sarbecovirus dibawah genus β -CoV (Totorici *et al*, 2019). Partikel virus tersusun atas empat protein struktural, yakni protein membran (M), protein spike (S), protein nukleokapsid (N), dan protein envelope (E). Protein M bersama dengan protein E berperan penting dalam perakitan partikel virus. Protein N berikatan dengan genom RNA CoV dan berperan dalam pemasukan virus ke dalam sel inang, pengikatan dengan genom RNA virus, serta pembentukan inti ribonukleoprotein. Selain daripada itu, protein N juga berperan dalam replikasi, transkripsi, translasi, dan respons patologis yang ditimbulkan

oleh inang. Protein E lebih banyak terlokalisasi pada area retikulum endoplasma dan badan golgi, namun memiliki proporsi yang kecil pada envelope virus. Rekombinan CoV yang tidak memiliki protein E dapat secara signifikan menyebabkan perbanyakan virus yang tidak memadai (Bhowmik *et al*, 2020). Genom virus ini menyandi lebih dari 20 protein, diantaranya adalah dua protease, yakni PL^{pro} dan 3CL^{pro}. Kedua nya berperan penting dalam proses replikasi virus. 3-chymotrypsin-like protease yang disingkat menjadi 3CL^{pro} maupun M^{pro} disebut juga sebagai main protease. Sejumlah besar upaya untuk mempelajari protein ini telah dikerahkan dengan tujuan identifikasi agen terapeutik untuk melawan SARS-CoV-2 (Chen *et al*, 2020). Selain itu, ARDS yang adalah penyebab kematian utama pasien COVID-19, didahului oleh kejadian badai sitokin. Sesuai dengan namanya, pada kejadian ini terjadi peningkatan sitokin proinflamasi, seperti interleukin 6 atau disingkat IL-6 (Šikić *et al*, 2021). Oleh karena itu, penghambatan pada IL-6 berpotensi menjadi salah satu target pengobatan COVID-19

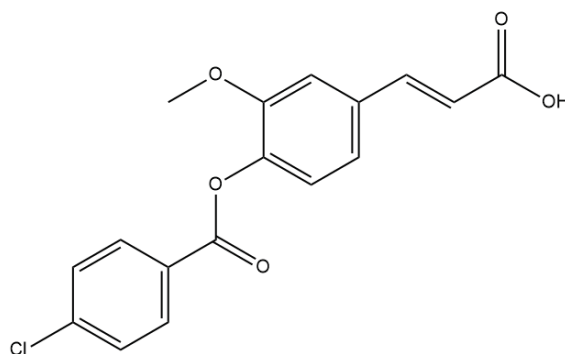
Beragam pengobatan telah digunakan sejak merebaknya kasus pada tahun 2019 yang kebanyakan ditujukan untuk menyasar protein esensial pada siklus hidup virus (Cui *et al.*, 2020). Adapun obat yang dapat diberikan pada penderita COVID-19, salah satunya adalah lopinavir-ritonavir. Obat tersebut diujikan dengan tujuan untuk menyasar protein M^{pro} (Cao *et al.*, 2020). Meskipun pada akhirnya, penggunaan kedua obat tersebut tidak lagi disarankan dikarenakan keduanya tidak menunjukkan peningkatan keluaran klinis. Penggunaan keduanya tidak menunjukkan keterkaitan dengan pengurangan lama perawatan di rumah sakit maupun resiko penggunaan ventilasi (Horby *et al*, 2020). Efek samping yang ditimbulkan oleh kedua obat tersebut umumnya berkaitan dengan saluran pencernaan, yakni mual, muntah, dan diare. Efek samping yang serius seperti gastritis akut, pendarahan saluran cerna, peningkatan alanin aminotransferase (ALT) dan gagal ginjal akut juga pernah terjadi (Alhumaid *et al*, 2020).



Gambar 1.1 Struktur Asam Ferulat

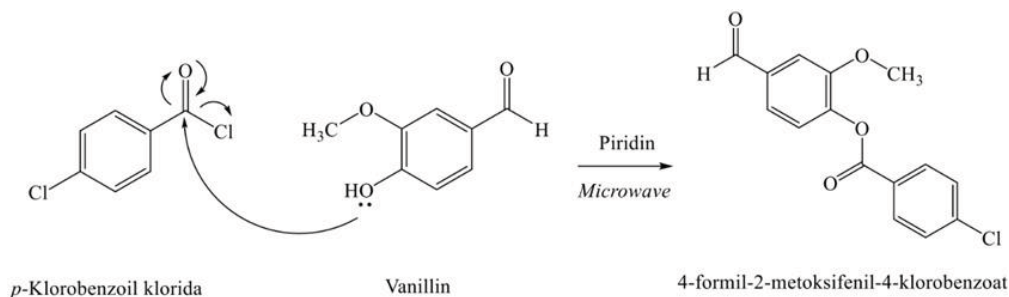
Asam ferulat tergolong ke dalam asam fenolat dan umumnya terdapat pada famili Ranunculaceae dan Poaceae. Senyawa ini memiliki beragam aktivitas, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, nefroprotektan, antifibrosis, dan antithrombosis. Salah satu mekanisme dari aktivitas antioksidan asam ferulat adalah melalui penurunan pembentukan produk *advanced glycation end products* (AGEs) dan aktivitas enzim xanthine oxidase (penanda inducer ROS pada pasien diabetes). Aktivitasnya sebagai antifibrosis telah teruji, dimana asam ferulat dapat melindungi hepar dari fibrosis yang diinduksi alkohol dan asam lemak tak jenuh dengan regulasi sistem matriks metalloproteinase dan menurunkan akumulasi abnormal dari hiperplasia epidermis (Li *et al*, 2021).

Aktivitas suatu senyawa dapat diprediksi melalui ikatan antara ligan dengan reseptornya. Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang diperlukan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Makin rendah nilai energi ikatan, makin stabil ikatan yang terbentuk (Ekowati *et al*, 2018). Studi *in-silico* dengan reseptor M^{pro} (PDB ID : 6Y84) menunjukkan bahwa lopinavir dan ritonavir berturut-turut menunjukkan energi ikatan sebesar -6,9 kkal/mol dan -6,8 kkal/mol. Sedangkan, asam ferulat menunjukkan energi ikatan sebesar -5,4 kkal/mol. Meskipun energi dari ikatan yang terbentuk oleh asam ferulat lebih tinggi daripada lopinavir-ritonavir, hendak dilakukan modifikasi struktur asam ferulat pada gugus -OH fenolik, dengan perkiraan bahwa penambahan inti aromatis dan atom klorin dapat meminimalkan energi dari ikatan yang terjadi, sehingga dapat meningkatkan keserasian ikatan senyawa dengan reseptor (Barros *et al*, 2020).



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

Aktivitas asam ferulat sebagai antiinflamasi sudah teruji secara *in vivo* pada mencit (Li *et al*, 2021). Oleh karena itu, penelitian ini juga hendak menargetkan salah satu sitokin pro-inflamasi, yakni IL-6 (PDB ID : 1ALU) dengan prediksi bahwa tambahan gugus fungsi berupa inti aromatis dan klorin dapat meminimalkan energi dari ikatan yang terjadi, sehingga dapat meningkatkan keserasian ikatan senyawa dengan reseptor.

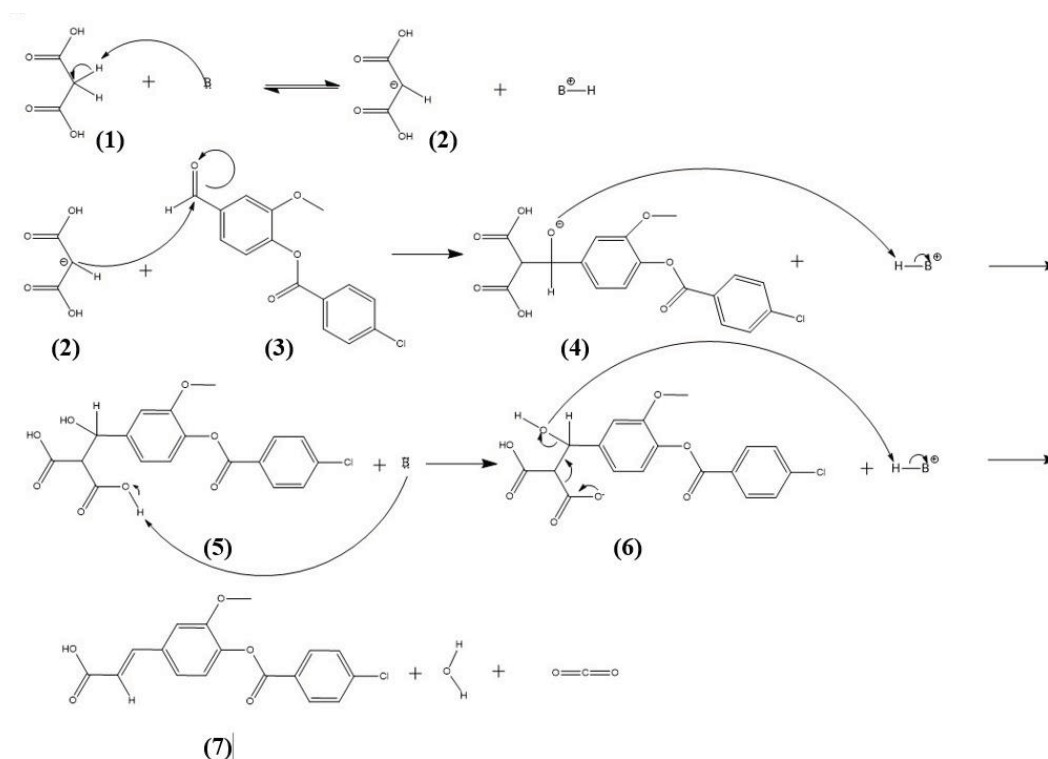


Gambar 1.3 Mekanisme Reaksi 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat (Melania, 2021)

Selain dari potensinya, prediksi sifat farmakokinetik perlu dilakukan untuk memperkirakan efektivitas obat dan toksisitasnya pada tubuh makhluk hidup. Adapun sifat-sifat farmakokinetik yang umum dilakukan, meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET). Asam ferulat memiliki absorpsi usus 93,921% dan termasuk toksisitas kelas 4, dimana asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki absorpsi usus 94,928% dan termasuk toksisitas kelas 5 (Ekowati *et al.*, 2018). Maka, dapat diperkirakan bahwa turunan asam ferulat yang hendak disintesis dapat diserap dengan lebih baik secara rute pemakaian oral dengan toksisitas yang lebih minimal.

Sintesis turunan asam ferulat dapat dilakukan dalam dua tahapan. Tahap pertama adalah reaksi asilasi antara senyawa vanillin dan *p*-klorobenzoil klorida dengan katalis piridin yang menghasilkan senyawa antara 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat telah dilakukan oleh (Melania, 2021). Reaksi tersebut berjalan dengan mekanisme substitusi asil nukleofilik dimana gugus hidroksi pada vanillin melakukan adisi pada atom karbon pada gugus karbonil, sehingga terjadi eliminasi atom klorin dan diperoleh senyawa 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat. Tahap kedua adalah reaksi kondensasi Knoevenagel senyawa antara tersebut dengan asam malonat.

Sintesis turunan asam ferulat pada penelitian ini dimulai dengan reaksi kondensasi Knoevenagel. Reaksi ini terjadi antara senyawa aldehid dengan senyawa yang memiliki atom hidrogen alfa yang bersifat asam dan terikat pada gugus aktivator ($C=O$ atau $C=N$) yang mana dipercepat dengan penggunaan katalis senyawa amina (Menegatti, 2012). Pada penelitian ini digunakan 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat sebagai senyawa aldehid dan asam malonat sebagai senyawa dengan hidrogen alfa. Pada penelitian yang telah dilakukan Melania (2019), telah dilakukan reaksi asilasi antara vanillin dengan *p*-klorobenzoil klorida membentuk senyawa 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat, dimana akan dilanjutkan pada penelitian ini dengan mereaksikan senyawa tersebut dengan asam malonat untuk membentuk senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat.



Gambar 1.4 Mekanisme Reaksi Asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat

Mekanisme reaksi kondensasi Knoevenagel pada penelitian ini dapat dilihat pada **gambar 1.4**. Katalis berupa senyawa nitrogen yang bersifat basa akan mengikat satu hidrogen alfa yang bersifat asam dari gugus metilen asam malonat **(1)** menjadikan asam malonat tersebut kini terion dan memiliki muatan negatif **(2)** menjadikannya nukleofil

yang lebih baik. Senyawa (2) akan melakukan adisi pada atom karbon yang terdapat pada gugus aldehid 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat (3) membentuk senyawa yang memiliki muatan negatif pada atom oksigen (4). Atom oksigen yang bermuatan negatif pada (4) akan mengikat kembali atom hidrogen yang diikat oleh katalis tadi membentuk senyawa (5). Katalis basa akan mengionisasi gugus asam karboksilat membentuk senyawa (6) yang bermuatan negatif. Kemudian senyawa (6) akan mengalami modifikasi Doebner, yang terdiri atas tahap dekarboksilasi dengan adanya katalis basa nitrogen dilanjutkan dengan eliminasi yang menyebabkan terbentuknya ikatan rangkap dua. Senyawa akhir yang diperoleh berupa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat (8) dengan hasil samping berupa molekul air dan karbon dioksida.

Green Chemistry adalah prinsip yang telah banyak digunakan dengan tujuan untuk menjaga lingkungan akibat dari berbagai reaksi kimia yang turut serta merusak lingkungan. Prinsip keenam *Green Chemistry* tentang desain demi efisiensi energi, berbicara tentang agar kebutuhan energi untuk sintesis kimiawi perlu dioptimasi dengan memperhatikan faktor ekonomi maupun lingkungan (Saleh & Koller, 2018). Berbagai usaha yang dapat dilakukan untuk menerapkan prinsip tersebut dan salah satunya adalah penggunaan iradiasi gelombang mikro dalam reaksi. Iradiasi gelombang mikro secara langsung kopling dengan molekul-molekul yang bertumbukan pada campuran reaksi, menyebabkan suhu naik dengan cepat. Hasilnya, hanya campuran reaksi yang mengalami pemanasan dan bukan wadahnya, memberikan homogenitas yang lebih baik dan pemanasan yang lebih selektif untuk molekul polar, serta mempersingkat waktu dan ramah lingkungan (Bhat *et al*, 2020).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat diprediksi berpotensi sebagai anti COVID-19 melalui hambatan reseptor M^{pro} (PDB ID : 6Y84) yang lebih besar dari asam ferulat secara penambatan molekuler?
2. Apakah senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat dapat disintesis melalui reaksi Knoevenagel 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat dan asam malonat menggunakan katalis piridin dengan iradiasi gelombang mikro?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Memperoleh potensi senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat yang lebih besar dari asam ferulat sebagai anti COVID-19 melalui hambatan pada reseptor M^{pro} (PDB ID : 6Y84) secara penambatan molekuler.
2. Memperoleh hasil berupa senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat melalui reaksi Knoevenagel 4-formil-2-metoksifenil-4-klorobenzoat dan asam malonat menggunakan katalis piridin dengan iradiasi gelombang mikro.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat sebagai turunan dari asam ferulat untuk penelitian lebih lanjut dalam pengembangan kandidat obat baru sebagai anti COVID-19.
2. Memperoleh wawasan keilmuan dalam bidang sintesis terutama pada senyawa asam 4-(4-kloro)benzoiloksi-3-metoksisinamat dengan metode iradiasi gelombang mikro.