

PEMODELAN MOLEKUL VITEOSIN-A, SUATU SENYAWA TRAKEOSPASMOLITIK DARI EKSTRAK N-HEKSAN DAUN *Vitex Trifolia* L.

MOLECULAR MODELING OF VITEOSIN-A, A TRACHEOSPASMOLYTIC COMPOUND ISOLATED FROM N-HEXANE EXTRACT OF THE LEAVES OF *Vitex Trifolia* L.

Gemini Alam*, B.S. Ari Sudarmanto**, Puji Astuti**, dan Subagus Wahyuono**

*Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar

**Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Viteosin-A, senyawa trakeospasmolitik berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan daun legundi (*Vitex trifolia* L.). Pada konsentrasi 0,05 dan 0,15 mg/ml viteosin-A menghambat kontraksi trakea marmut yang disebabkan oleh histamin (10^{-7} – 10^{-3} M) secara *in vitro* dengan penghambatan masing-masing 27,1 dan 47,9 %. Konfigurasi C-5 dan C-6 sangat diperlukan untuk menentukan sisi aktif reaksi (*reaction site*) dari viteosin-A dan reseptornya untuk penelitian di masa yang akan datang.

Pada penelitian ini dilakukan pemodelan molekul terhadap senyawa viteosin-A untuk menentukan bentuk konfigurasi atom C-5 dan C-6 dengan metode komputasi menggunakan perangkat lunak *HyperChem Pro 4.0 for Windows*.

Berdasarkan data spektroskopi dan pemodelan molekul, senyawa viteosin-A mempunyai konfigurasi S pada C-5 dan C-6 sehingga dapat diidentifikasi sebagai (5*S*,10*S*)-6*S*-asetoksi-8*R*-metil-9 α -hidroksi-labda-13*Z*-en-16,15-olida.

Kata kunci: viteosin-A, pemodelan molekul

ABSTRACT

Viteosin-A, a tracheospasmolytic compound, was successfully isolated from *n*-hexane extract of the leaves of *Vitex trifolia* L. With the concentration of 0.05 and 0.15 mg/ml viteosin-A inhibited a guinea pig tracheal contraction due to histamine (10^{-7} – 10^{-3} M) *in vitro* by 27.1 and 47.9 %, respectively. Confirmation of C-5 and C-6 configuration is necessary to determine the active reaction site of viteosin-A and its receptor for future development.

This research was focused on a molecular modeling of viteosin-A using computational method with *HyperChem Pro 4.0 for Windows* as software.

Based on spectroscopic data and molecular modeling, viteosin-A has S configuration at C-5 and C-6, and therefore was confirmed as (5*S*,10*S*)-6*S*-acetoxyl-8*R*-methyl-9 α -hydroxy-labda-13*Z*-en-16,15-olide.

Keywords: viteosin-A, molecular modeling

PENDAHULUAN

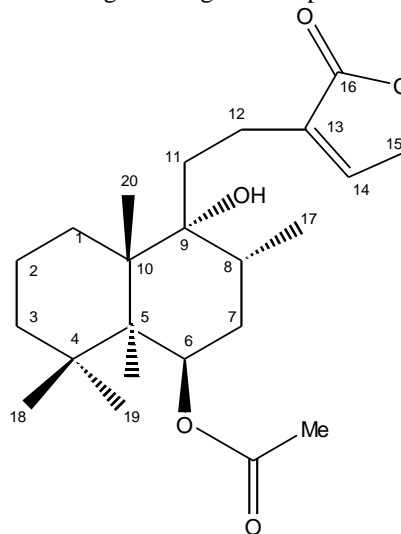
Tanaman legundi (*Vitex trifolia* L., sinonim *V. rotundifolia*, Family Verbenaceae) merupakan tanaman tropis dan telah digunakan sebagai salah satu sumber bahan obat tradisional di Indonesia. Berdasarkan penggunaan empirisnya, daun legundi berguna untuk mengurangi rasa nyeri, reumatik, asma, obat luka, peluruh air seni, penurun panas dan pembunuh serangga (Anonim, 1985). Wahyuono dkk., (1998) dan (2000) telah melaporkan bahwa daun *V. trifolia* terbukti memiliki aktivitas sebagai trakeospasmolitik.

Penelitian komponen kimia terhadap daun *V. trifolia* sudah pernah dilaporkan, diantaranya terdapat senyawa rotundial yang berefek pembasmi nyamuk (Watanabe, *et al.* 1995), dan asam polialtak sebagai antimutagenik (Miyazawa, *et al.* 1995). Pada bagian buah *V. trifolia* juga dilaporkan terdapat senyawa golongan diterpen yang memiliki efek antioksidan (Ono, *et al.* 1998 dan Ono *et al.* 1999) dan senyawa viteksikarpin (flavonoid) yang mampu menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel limfosit tikus secara *in vitro* (You, *et al.* 1998). Beberapa senyawa diterpenoid dari buah *V. trifolia* menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel kanker paru dan usus manusia (Ono, *et al.* 2002).

Senyawa viteosin-A merupakan senyawa diterpen yang aktif sebagai trakeospasmolitik. Senyawa ini mampu menghambat kontraksi trakea marmut yang disebabkan oleh histamin ($10^{-7} - 10^{-3}$ M). Besarnya penghambatan kontraksi trakea tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Pada konsentrasi 0,05 mg/ml mampu menghambat kontraksi sebesar 27,1 %, dan bila konsentrasi dinaikkan sampai 0,15 mg/ml penghambatan kontraksi juga meningkat sebesar 47,9 % (Alam, *et al.* 2002).

Teknik pemodelan molekuler suatu senyawa dengan metode komputasi menggunakan perangkat lunak *HyperChem*, dewasa ini, semakin diminati para ilmuwan untuk mendapatkan gambaran tentang aspek fisika kimia senyawa berdasarkan struktur 3 dimensi. Pemodelan molekul akan lebih meyakinkan apabila didukung oleh data instrumentasi eksperimental. Selain itu, pemodelan molekul juga dapat digunakan untuk studi pendekatan mekanisme aksi obat melalui interaksi obat-reseptor terhadap senyawa yang sudah diketahui reseptor dan *active site* dari senyawa tersebut.

Pada penelitian ini akan dilaporkan mengenai studi pemodelan molekul senyawa aktif trakeospasmolitik, viteosin-A, yang diisolasi dari daun *V. trifolia*. Model struktur senyawa viteosin-A yang paling stabil ditentukan berdasarkan harga panas pembentukan (ΔH_f) dan eksplorasi jarak antar atom dari masing-masing struktur teroptimasi dibandingkan dengan data spektroskopi.



Gambar 1. Struktur 2D senyawa viteosin-A (Alam, *et al.* 2002)

METODOLOGI

Bahan

Daun *V. trifolia* diperoleh dari BPTO Tawangmangu, Solo pada bulan Desember 1998 dan herbarium tanaman ini disimpan di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Semua pelarut organik yang digunakan adalah pelarut berkualitas p.a (Merck). Lempeng KLT Silika gel GF 254 (Merck).

Alat yang Digunakan

Spektrofotometer UV-Vis (Meltown Roy 3000), Spektrofotometer Infra Merah FT-IR 1000 PC, Spektrometer $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ (Bruker dpx300), PC Intel Pentium3 dengan perangkat lunak *HyperChem Pro 4.0 for Windows*.

Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Viteosin-A

Sebanyak 1 kg serbuk daun *V. trifolia* diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan penyari *n*-heksan. Ekstrak *n*-heksan selanjutnya di partisi dan difraksinasi seperti metode yang telah dilakukan oleh Alam *et al.* (2002) dan Wahyuono, *et al.* (2000). Senyawa diterpenoid (viteosin-A) yang diperoleh digunakan dalam pemodelan molekul.

Pemodelan molekul

Interpretasi data spektroskopi senyawa, dan kemudian dibandingkan dengan literatur, diperoleh beberapa kemungkinan struktur senyawa viteosin-A. Semua kemungkinan struktur (Tabel 1.) masing-masing dimodelkan menggunakan perangkat lunak *Hyperchem Pro 4.0 for Windows*. Optimisasi geometri dilakukan untuk memperoleh konformasi struktur terstabil dengan metode semiempirik AM1, algoritma *Polak-Ribiere*, *RMS gradient* 0,01. Kemudian dilakukan perhitungan panas pembentukan (ΔH_f) dan eksplorasi jarak antar atom dari masing-masing stuktur teroptimisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak *n*-heksan daun *V. trifolia* (90 g) dipartisi dan difraksinasi menggunakan beberapa pelarut organik yang sesuai. Setiap tahap isolasi yang dilakukan selalu dimonitor komponen kimianya melalui KLT. Cara isolasi senyawa viteosin-A mengikuti prosedur yang telah dilakukan oleh Alam *et al.* (2002).

Data spektroskopi yang telah diperoleh dalam menentukan struktur senyawa viteosin-A digunakan sebagai data eksperimental yang dapat mendukung pemodelan molekul. Berdasarkan data-data spektra tersebut dan merujuk data pustaka (Ono, *et al.* 1999 dan Hoberg, *et al.* 1999), senyawa viteosin-A adalah 6-asetoksi-9-hidroksi-labda-13Z-en-16,15-olida. Senyawa ini mengandung 5 buah atom C kiral yaitu C-5, C-6, C-8, C-9 dan C-10. Konfigurasi atom C-8, C-9 dan C-10 berturut-turut 8*R*, 9 α dan 10*S* disesuaikan dengan referensi, sedangkan konfigurasi C-5 dan C-6 akan ditentukan melalui pemodelan struktur. Pemilihan konfigurasi C-5 dan C-6 karena konfigurasi C-5 dapat mempengaruhi konformasi inti labdan sedangkan konfigurasi C-6 akan mempengaruhi korelasi H-6 dengan CH₃ geminal. Akibat yang ditimbulkan oleh perubahan konformasi ini dapat menyebabkan perbedaan kestabilan senyawa viteosin-A.

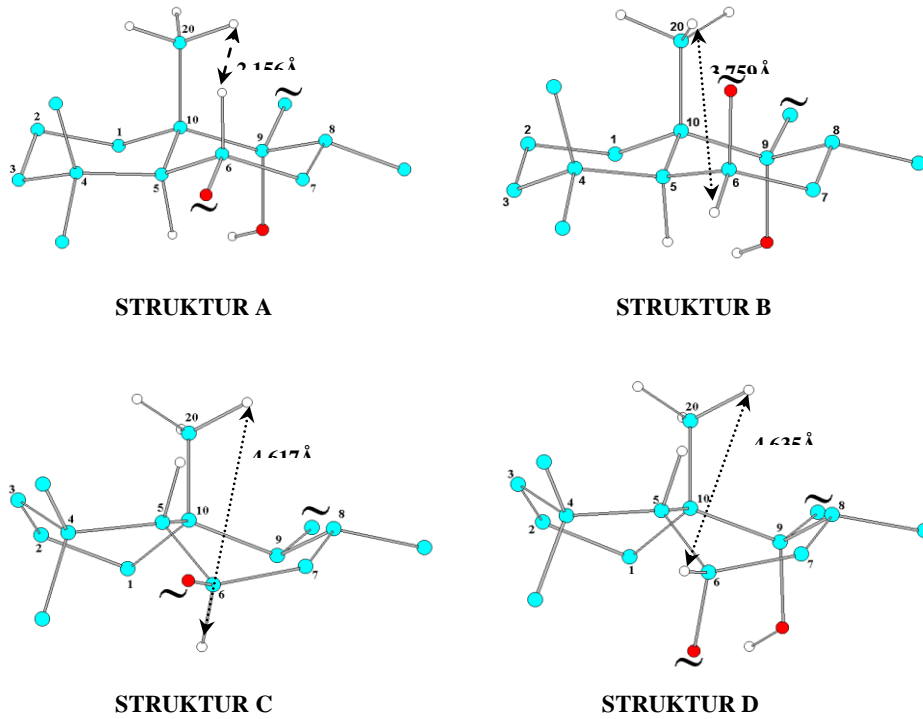
Pemodelan molekul dilakukan terhadap 4 buah struktur yang merupakan *possibility structure modeling* dari viteosin-A. Perbedaan masing-masing struktur tersebut terdapat pada atom C-5 dan C-6 (Tabel 1.). Keempat model tersebut selanjutnya digambarkan strukturnya dengan perangkat lunak *Hyperchem Pro 4.0 for Windows* dan dilakukan optimisasi geometri untuk menghitung tampilan struktur molekul yang mempunyai energi terendah dan gaya-gaya atomic terkecil. Optimisasi geometri juga dilakukan untuk menemukan struktur molekul yang stabil yang memiliki energi potensial rendah.

Tabel 1. Konfigurasi C-5 dan C-6 dari 4 kemungkinan model struktur senyawa viteosin-A

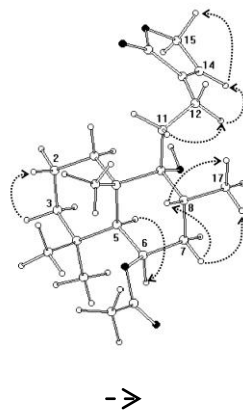
Struktur	Konfigurasi		ΔH_f (kkal/mol)
A	5 <i>S</i>	6 <i>R</i>	-233.535
B	5 <i>S</i>	6 <i>S</i>	-233.170
C	5 <i>R</i>	6 <i>S</i>	-229.922
D	5 <i>R</i>	6 <i>R</i>	-225.988

Hasil optimisasi geometri menunjukkan bahwa struktur A dan B mempunyai konformasi *chair* pada inti labdan, sebaliknya struktur C dan D mempunyai konformasi *boat* (Gambar 1). Perbedaan konformasi ini disebabkan oleh konfigurasi pada atom C-5, 5*S* pada struktur A dan B, 5*R* pada struktur C dan D. Konformasi *chair* (kursi) berakibat letak atom H-5 *trans* terhadap gugus metil (C-20), sedangkan konformasi *boat* (perahu) atom H-5 *cis* terhadap C-20. Konformasi *chair* pada inti labdan lebih stabil dari pada konformasi *boat* (Juaristi, 1991). Hal ini ditunjukkan oleh hasil perhitungan panas reaksi pembentukan (ΔH_f) yang menunjukkan harga ΔH_f struktur A dan B lebih rendah dari pada C dan D (Tabel 1.). Selain itu, spektra COSY tidak menunjukkan korelasi antara H-5 dan H-20. Oleh karena itu struktur A dan B lebih dimungkinkan terjadi dari pada struktur C dan D.

Konfigurasi *R* dan *S* pada C-6 menghasilkan struktur yang tidak menunjukkan perbedaan harga panas pembentukan yang signifikan (struktur A dan B). Spektra COSY menunjukkan adanya korelasi antara H-5 dan H-6. Hal ini terjadi apabila C-6 mempunyai konfigurasi *S* karena jarak antara atom H-5 dan H-6 adalah 2,404 Å (konfigurasi *S*) dan 3,108 Å (konfigurasi *R*). Disamping itu konfigurasi *R* mengakibatkan atom H-6 terletak pada kedudukan aksial, sedangkan konfigurasi *S* mengakibatkan atom H-6 terletak paada kedudukan ekuatorial. Kedudukan aksial pada H-6 memungkinkan terjadinya korelasi dengan H-20. Pada hal data spektra COSY tidak menunjukkan hal tersebut. Dengan demikian struktur yang paling mungkin dari senyawa viteosin-A adalah struktur B.



Gambar 1. Konformasi inti labdan dari 4 model struktur senyawa viteosin-A.
Tanda ~ menyatakan atom tersebut tersambung oleh rantai atom lain.



Gambar 2. Struktur 3D senyawa viteosin-A, Tanda> Korelasi ¹H - ¹H COSY

KESIMPULAN

Berdasarkan atas data spektroskopi tersebut dan pemodelan molekul serta dibandingkan dengan literatur (Ono, *et al.* 1999, Hoberg, *et al.* 1999 dan Alam *et al.* 2002), senyawa viteosin-A mempunyai konfigurasi *S* pada C-5 dan *S* pada C-6, sehingga dapat diidentifikasi sebagai (5*S*,10*S*)-6*S*-asetoksi-8*R*-metil-9 α -hidroksi-labda-13*Z*-en-16,15-olida.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, G., Wahyuono, S., Hakim, L., Ganjar, I.G., Timmerman, H., Verpoorte, R., 2002, Tracheospasmodic activity of Viteosin-A and Vitexicarpin Isolated from *Vitex trifolia* L., *Planta Medica*, 68, 1047-1049.
- Anonim, 1985, *Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 52, 83.
- Hoberg, E., Orjala, J., Meier, B., Sticher, O., 1999, Diterpenoids from the fruits of *Vitex agnus-castus*, *Phytochemistry*, 52, 1555-1558
- Juaristi, E., 1991, *Introduction to Stereochemistry and Conformational Analysis*, John Wiley & Sons Inc., New York.
- Miyazawa, M., Shimamura, H., Nakamura, S., and Kameoka, H., 1995, Antimutagenic Activity of (+)-Polyalthic Acid from *Vitex rotundifolia*, *J. Agric. Food Chem.*, 43, 3012-3015.
- Ono, M., Ito, Y., Nohara, T., 1998, A Labdane Diterpene Glycoside from Fruit of *Vitex rotundifolia*, *Phytochemistry*, 48, 207-209.
- Ono, M., Yamamoto, M., Masuoka, C., Ito, Y., Yamashita, M., Nohara, T., 1999, Diterpenes from the Fruits of *Vitex rotundifolia*, *J. Nat. Prod.*, 62, 1532-1537
- Ono, M., Yanaka, T., Yamamoto, M., Ito, Y., and Nohara, T., 2002, New Diterpens and Norditerpens from the Fruits of *Vitex rotundifolia*, *J. Nat. Prod.*, 65, 537-541
- Wahyuono, S., Alam, G., Ganjar, I.G., Hakim, L., Timmerman, H., 2000, Antiasthmatic Indonesian Medicinal Plants: Their Tracheospasmodic Activity Induced by Histamine, *International Sendai Histamine Symposium, November 22-25, 2000*, Sendai, Japan.
- Wahyuono, S., Mulyono, Nurlaila, Astuti, P., Mursyidi, A., 1998, Tracheospasmodic Screening of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Rhizomes and the Leaves of *Vitex trifolia* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Justicia gendarussa* Burm.f., *Majalah Farmasi Indonesia*, 9 (3), 110-115
- Watanabe, K., Takada, Y., Matsuo, N., Nishimura, H., 1995, Rotundial, a New Natural Mosquito Repellent from the Leaves of *Vitex rotundifolia*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59 (10), 1979-1980.
- You, K.M., Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP., 1998, Vitexicarpin, a Flavonoid from the Fruits of *Vitex rotundifolia* Inhibit Mouse Lymphocyte Proliferation and Growth of Cells Lines in Vitro, *Planta Medica*, 64: 546-550