

SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA 3,3'-BENZILIDENA BIS- 4 – HIDROKSI KUMARIN UNTUK SEDIAAN RADIOTERAPI

Duyeh Setiawan¹ & Diana Rakhmawaty²

¹Pusat Sains Dan Teknologi Nuklir Terapan - Badan Tenaga Nuklir Nasional

Jl.Tamansari No. 71 Bandung 40132, Jawa Barat - Indonesia

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang km. 21 Jatinangor, Sumedang 45363, Jawa Barat - Indonesia

Alamat korespondensi: d_setiawan@Batan.go.id

Abstrak: Penelitian yang sedang dikembangkan saat ini adalah senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis anti kanker, salah satunya adalah senyawa turunan kumin yaitu 3,3'-benzilidena bis-4-hidroksikumin. Senyawa kumin dapat membentuk kompleks stabil dengan ion logam valensi tiga yang bersifat radioisotop untuk meningkatkan aktivitas biologinya terhadap anti kanker. Penelitian ini bertujuan melakukan sintesis dan karakterisasi kumin sebagai ligan untuk disiapkan dalam pembuatan senyawa kompleks kumin bertanda radioisotop untuk sediaan radioterapi. Senyawa kumin disintesis dengan cara mereaksikan benzaldehid dan 4-hidroksikumin melalui reaksi kondensasi. Karakterisasi senyawa kumin meliputi penentuan titik leleh, FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR. Hasil karakterisasi kumin diperoleh dalam bentuk kristal berwarna putih sebanyak 5,79 g dan rendemen 56,34 %, mudah larut dalam aseton, mempunyai titik leleh 233 °C. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan dalam pembuatan sediaan radiofarmaka alternatif untuk terapi kanker.

Kata kunci: ligan, 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumin], radioterapi, kanker

Abstract: The research that is being developed is a chemical compound with biological activity anticancer, which is derivative coumarin is 3,3'-benzylidene bis-4-hydroxycoumarin. Coumarin compounds can formed stable complexes with three-valence metal ions which are radioisotope to improve anti-cancer activity of biology. This research aims at doing the synthesis and characterization of coumarin as a ligand for the manufacture of complex compounds prepared in coumarin labelled radioisotope preparations for radiotherapy. Coumarin compounds synthesized by reaction benzaldehyde and 4-hydroxycoumarin through a condensation reaction. Characterization of coumarin include determination of melting point, FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR. Characterization of the results obtained in the form of crystals of coumarin is white is 5.79 g and yield of 56,34 %, soluble in an acetone, has a melting point of 233 °C. Research results expected can be beneficial in the making of preparations for alternative cancer therapeutic radiopharmaceuticals.

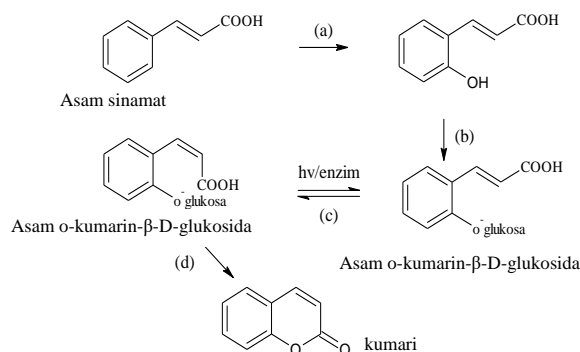
Keywords: 3,3'-benzylidene bis-4-hydroxycoumarin, ligand, radiotherapy, cancer

PENDAHULUAN

Berbagai teknik terapi dan diagnosis telah dikembangkan dengan mengandalkan bahan senyawa organik yang ditandai dengan isotop radioaktif. Penggunaan senyawa bertanda radioaktif sangat penting dalam proses pengembangan sediaan radiofarmaka untuk digunakan sebagai radioligan (Schlecht, 2011).

Senyawa organik kumin telah lama diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antialergi, antitrombotik, antivirus dan antikanker. Banyak studi eksperimental yang menunjukkan bahwa kumin alami dan sintesis (2 H-1-benzopiran-2-on) dan turunannya memiliki reaktivitas kimia yang sangat baik dan bioaktivitas yang berbeda. Skema proses pembentukan kumin (Friedli, 2000) ditampilkan pada gambar 1.

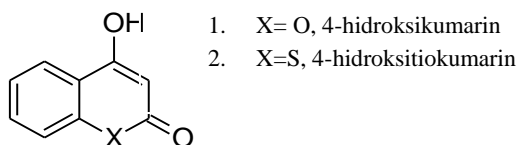
Proses pembentukan senyawa kumin yang berasal dari asam sinamat melalui orto-hidroksilasi (a), isomerisasi trans-cis pada sisi cincin ikatan rangkap (b) dan (c), serta laktonisasi pada (d).



Gambar 1. Skema pembentukan kumin

Turunan kumin sintesis diperoleh dengan memodifikasi cincin kumin secara kimia melalui reaksi substitusi yang dapat terjadi pada sisi dari 6 sisi yang tersedia pada molekul dasar yang memiliki struktur dan aktifitas yang bervariasi. Aktivitas biologis dari kumin dan turunannya, khususnya hidroksikumin yang merupakan pemutus-rantai antioksidan yang kuat dan dapat diaplikasikan dalam

terapeutik antikoagulan serta agen antibakteri. Struktur dari 4-hidroksikumarin (1) dan 4-hidroksitiokumarin (2) (Bye & King, 1970) memiliki beragam aktivitas biologis yang memainkan peran penting sebagai "building block" untuk sintesis produk dan senyawa biologis, khususnya, turunan hidroksikumarin, seperti 4-hidroksikumarin dan 4-hidroksitiokumarin. Senyawa-senyawa tersebut telah digunakan sebagai zat antara yang berguna dalam sintesis kumarin sebagai antikoagulan, herbisida, dan agen antikanker. Berdasarkan penelusuran literatur dan mempertimbangkan fungsi turunan kumarin, maka diharapkan sintesis kumarin-bertanda radioisotop dapat menjadi alternatif aplikasi biologi serta penggunaan radioterapi antikanker.



Gambar 2. Struktur dari 4-hidroksikumarin (1) dan 4-hidroksitiokumarin (2)

BAHAN DAN METODE

Bahan kimia dan peralatan

Bahan kimia yang digunakan adalah 4-hidroksikumarin, akuades, amonia 25 %, asam klorida 25 %, benzaldehid, etanol dan aseton semuanya buatan E.Merck tingkat analitik. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah Fisher Jons Melting Point Apparatus dengan daerah kerja maksimal 300 °C, magnetic stirer, spektrofotometer FTIR, spektrofotometer ¹³C-NMR Agilent 125 MHz, spektrofotometer ¹H-NMR Agilent 500 MHz. Peralatan gelas yang biasa digunakan di dalam laboratorium.

Sintesis 3,3'-benzilidena Bis [4-hidroksikumarin]

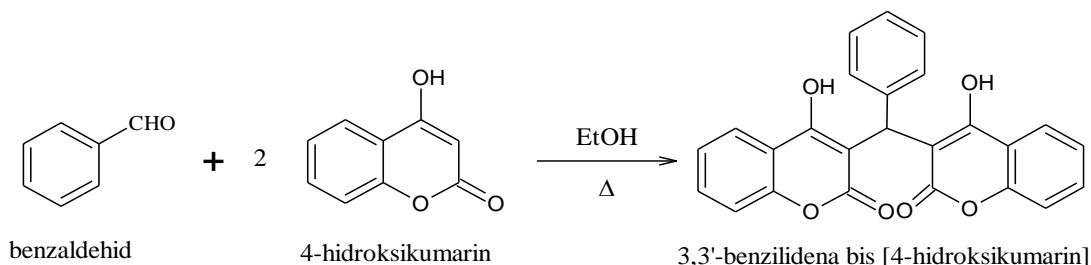
Ditimbang sebanyak 8,10 g (50 mmol) 4-hidroksikumarin dan dilarutkan dalam 150 mL etanol panas, kemudian ditambahkan 2,5 mL (25 mmol)

benzaldehyd. Selanjutnya campuran tersebut dengan perbandingan mol benzaldehid dan 4-hidroksikumarin adalah 1:2, direfluks selama ± 24 jam pada suhu 70 °C. Setelah didinginkan pada temperatur ruangan, padatan yang terbentuk di saring, dicuci dengan akuades. Kemudian hasil akhir berupa senyawa 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] dikarakterisasi menggunakan metode penentuan titik leleh, spektrofotometer FTIR, ¹³C-NMR dan ¹H-NMR.

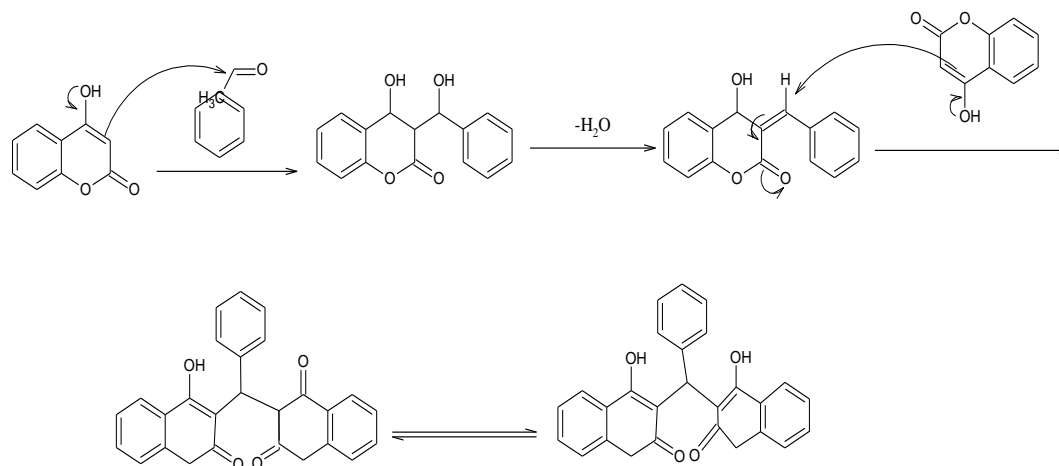
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] merupakan turunan dari senyawa kumarin (2 H-1-benzopiran-2-on) yang berbentuk heterosiklik dan banyak ditemukan di alam (Erniwati, 2005). Kumarin dan turunannya adalah senyawa yang sangat reaktif dan dapat mengakibatkan inti kumarin menjalani reaksi halogenasi serta kondensasi dengan aldehida. Perubahan terhadap struktur dasar kumarin diketahui dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas biologisnya (Dighe et al., 2010). Senyawa kumarin dapat disintesis melalui reaksi kondensasi dari 4-hidroksikumarin (50 mmol ≈ 8,1038 gram) dilarutkan dengan 150 mL etanol panas, kemudian dimasukkan benzaldehid (25 mmol ≈ 2,5 mL) dan direfluks selama ± 24 jam pada suhu 70 °C. Kristal berwarna putih yang diperoleh, selanjutnya direkristalisasi dengan aseton panas. Hasil akhir didapat kristal sebesar 5,79 g dengan rendemen sebesar 56,34 %. Perkiraan reaksi yang terjadi (Gambar 3) dengan mekanisme (Gambar 4).

Hasil uji kelarutan senyawa 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] adalah tidak larut dalam aquades dan etanol, tetapi larut dalam aseton. Dari hasil menunjukkan bahwa senyawa 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] merupakan senyawa semi polar. Titik leleh ligan 3,3'-benzilidena bis-[4-hidroksikumarin] yang didapat adalah 233°C (literatur 233-234°C, Jianfeng et al., 2009).

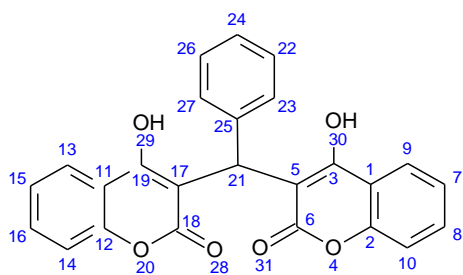


Gambar 3. Perkiraan reaksi sintesis 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] (Mintas et al., 2000)



Gambar 4. Mekanisme sintesis 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] (Sheikhhosseini, 2012)

Karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi dari senyawa 3,3'-benzilidena bis 4-hidroksikumarin dengan struktur kimia (Gambar 5).



Gambar 5. Dugaan struktur 3,3'-benzilidena bis 4-hidroksikumarin (Sheikhhosseini, 2012)

Gambar 5 menunjukkan beberapa jenis ikatan, seperti C-H (aromatik), C=O (karbonil), C=C (aromatik), C-O-H, dan C-O. Ikatan-ikatan tersebut, sesuai pola spektrumnya pada Gambar 6.

Gambar 6 menunjukkan bilangan-bilangan gelombang sesuai dengan literatur (Završnik et al., 2011) dan Kostova et al., 2005). Bilangan gelombang tersebut adalah $3068,8\text{ cm}^{-1}$ (O-H), $1659,2\text{ cm}^{-1}$ (C=O), $1605,9$; $1564,8$; $1494,9$ dan $1449,4\text{ cm}^{-1}$ (C=C aromatic), $1340,7\text{ cm}^{-1}$ (C-O-H), $1180,4\text{ cm}^{-1}$ (C-O ester).

Analisis menggunakan spektrofotometer $^1\text{H-NMR}$ bertujuan untuk melihat jumlah dari atom hidrogen pada ligan 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin]. Pengukuran dengan spektrofotometer ini dilakukan dengan pelarut aseton. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ ditunjukkan seperti pada Gambar 7.

Gambar 7 menunjukkan bahwa pergeseran-pergeseran kimia untuk senyawa 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] adalah sebagai berikut: (a) pergeseran kimia pada 6,144 ppm menunjukkan adanya 1 H pada CH, (b) pergeseran kimia pada

7,237-8,026 ppm menunjukkan adanya 13 H pada cincin benzen dan (c) pergeseran kimia pada 11,489 ppm menunjukkan adanya atom 1 H pada gugus OH. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] dirangkum seperti pada Tabel 1.

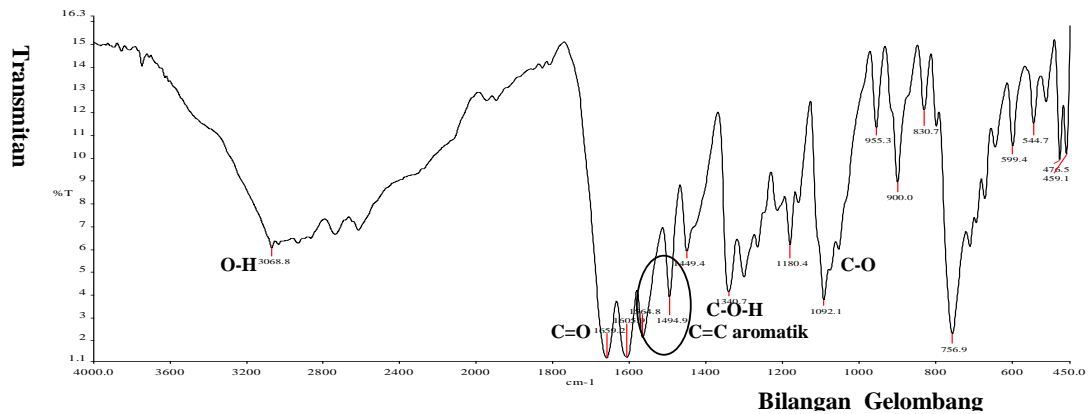
Tabel 1. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ ligan hasil sintesis dan literatur

Pergeseran kimia (ppm)		Multiplisitas	Dugaan
Sintesis	Literatur*		
6,144	6,14	singlet	CH
7,237-8,026	7,28-8,22	multiplet	H pada cincin benzen
11,489	11,4	singlet	OH

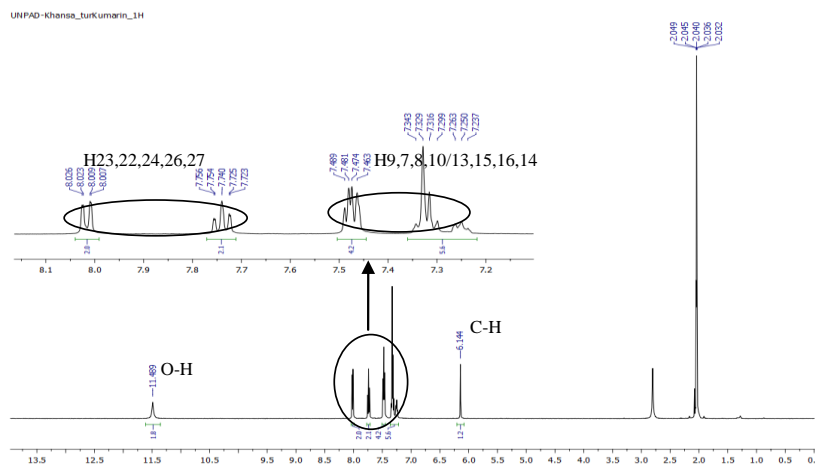
*) Jiangfeng et al., 2009

Berdasarkan struktur ligan yang ditunjukkan pada Gambar 5 dapat dijelaskan bahwa pergeseran kimia 6,144 ppm ditunjukkan pada atom hidrogen nomor 21 dengan multiplisitas singlet dikarenakan atom hidrogen ini tidak memiliki tetangga atau berbeda lingkungan dengan atom hidrogen lainnya. Sedangkan untuk pergeseran kimia 7,237-7,499 ppm ditunjukkan pada H7-H10/H13-H16 dengan multiplisitas multiplet dikarenakan memiliki tetangga yang banyak. Kemudian untuk pergeseran kimia 7,723-8,026 ppm ditunjukkan pada H22-H27 dengan multiplisitas multiplet dikarenakan atom-atom hidrogen ini memiliki atom hidrogen tetangga yang banyak jadi sinyal yang munculnya multiplet. Pada pergeseran 11,489 ppm merupakan pergeseran kimia yang dimiliki oleh atom hidrogen pada gugus OH yang sinyalnya muncul singlet disebabkan tidak memiliki atom hidrogen tetangga.

Hasil keseluruhan dari spektrum tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah atom hidrogen hasil penelitian dibandingkan dengan jumlah atom hidrogen pada literatur terdapat perbedaan, yaitu dalam penelitian berjumlah 15 atom hidrogen sedangkan dalam literatur 16. Kekurangan tersebut

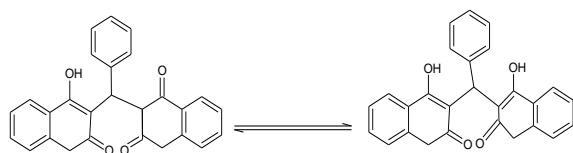


Gambar 6. Spektrum FTIR ligan 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin]



Gambar 7. Spektrum ¹H-NMR ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin]

yaitu 1H dari OH, hal ini dikarenakan saat diukur ada hidrogen yang tertarik keluar dari molekul sehingga kehilangan 1 atom hidrogen atau 1 gugus O yang tidak mengikat atom H. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 8. Walaupun terdapat perbedaan pergeseran dengan literatur tetapi keseluruhan sudah hampir mendekati. Perbedaan tersebut dikarenakan bisa dari efek pelarut dan efek alat yang digunakan untuk analisis.



Gambar 8. Struktur lain yang reversible dengan ligan 3,3'-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] (Sheikhhosseini, 2012)

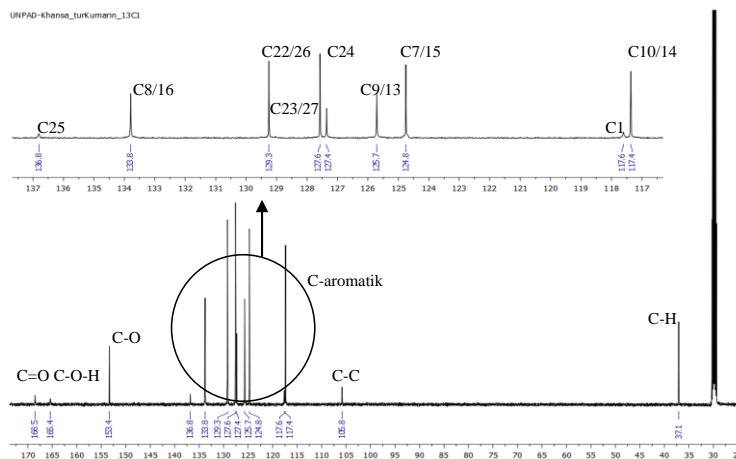
Analisis menggunakan spektrofotometer ¹³C-NMR bertujuan untuk mengetahui jumlah atom karbon pada senyawa ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin]. Pengukuran dengan alat ini

dilakukan dengan pelarut aseton. Dari hasil analisis didapatkan spektrum seperti Gambar 9 dan hasil analisisnya seperti dirangkum pada Tabel 2.

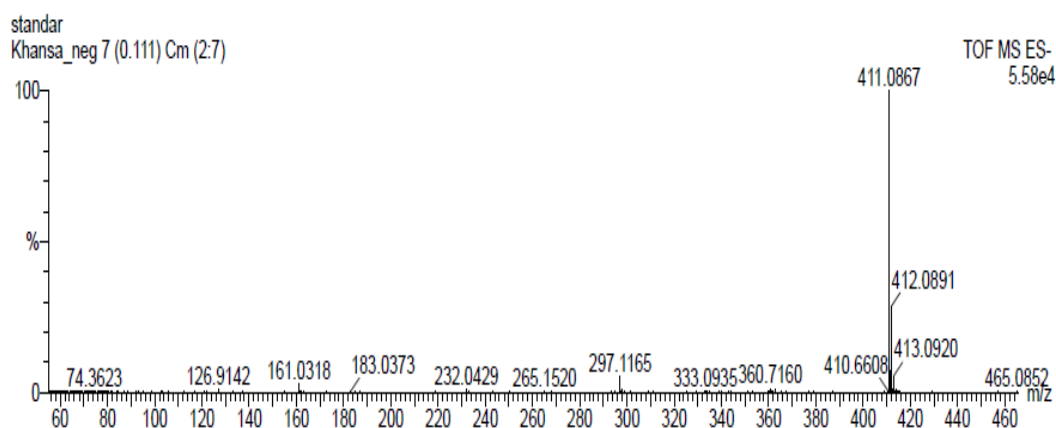
Tabel 2. Spektrum ¹³C-NMR ligan hasil sintesis dan literatur

Pergeseran kimia (ppm)		Dugaan
Sintesis	literatur *	
37,1	35,9	CH
105,8	104,1	C=C
117,4	115,9	C aromatik
117,6	117,9	C aromatik
124,8	123,8	C aromatik
125,7	123,9	C aromatik
127,4	125,6	C aromatik
127,4	125,6	C aromatik
127,6	126,7	C aromatik
129,3	128,1	C aromatik
129,3	128,1	C aromatik
133,8	131,9	C aromatik
136,8	139,9	C aromatik
153,4	152,2	C-O
165,4	164,9	C-O-H
168,5	165,3	C=O

* (Kostova et al., 2005)



Gambar 9. Spektrum ^{13}C -NMR ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] dalam pelarut aseton



Gambar 10. Spektrum massa ligan 3,3' benzilidena bis [4-hidroksikumarin]

Tabel 2 menjelaskan lebih lanjut sesuai struktur pada Gambar 3, bahwa pergeseran-pergeseran tersebut merupakan milik atom-atom karbon : (a) pergeseran kimia pada 37 ppm dimiliki oleh atom C21, (b) pergeseran kimia pada 105,8 sampai 125,7 ppm dimiliki oleh atom C5/C17, C10/C14, C1, C7/C15, dan C9/C13, (c) pergeseran kimia pada 127,3 sampai 133,8 ppm dimiliki oleh atom C23, C27, C24, C26, C22, dan C8/C16, (d) pergeseran 136,8 sampai 168,5 ppm dimiliki oleh atom C25, C2, C3/C19, dan C6/C18.

Berdasarkan hasil keseluruhan spektrum tersebut dapat diketahui bahwa jumlah atom karbon pada senyawa ini yaitu berjumlah 25. Hal ini sama dengan jumlah atom karbon dari literatur (Kostova et al., 2005).

Analisis menggunakan spektrometer massa bertujuan untuk mengetahui berat molekul atau massa molekul dan rumus molekul dari suatu senyawa. Hasil analisis ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] dengan spektrometer massa didapatkan hasil spektrum yang ditunjukkan pada Gambar 10.

Berdasarkan spektrum tersebut dapat dilihat bahwa m/z adalah 411,0867, sehingga berat molekul

atau massa molekulnya adalah 411,0867. DBE nya adalah 18,5 dengan rumus molekul adalah $\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{O}_6$, sedangkan massa molekul dan rumus molekul menurut literatur adalah 412 dan $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{O}_6$ (Sheikhhosseini, 2012). Berarti seperti yang telah diduga sebelumnya struktur ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] terbentuk hanya memiliki 1 gugus fenolik, seperti yang terlihat pada Gambar 8.

KESIMPULAN

Ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] telah berhasil disintesis melalui metode refluks dengan kondisi optimum perbandingan konsentrasi antara benzaldehida dan 4-hidroksikumarin yaitu 1:2 pada suhu $70\text{ }^\circ\text{C}$ selama ± 24 jam dengan rendemen sebesar 56,34 %. Ligan 3,3'-benzilididena bis [4-hidroksikumarin] merupakan endapan berwarna putih dan titik leleh sebesar $233\text{ }^\circ\text{C}$. Identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometer IR, yaitu ν OH $3068,8\text{ cm}^{-1}$, ν C=O $1659,2\text{ cm}^{-1}$, ν C=C aromatik $1605,9$; $1564,8$; dan $1494,9\text{ cm}^{-1}$, ν aromatik $1449,4\text{ cm}^{-1}$, ν C-O-H $1340,7\text{ cm}^{-1}$, dan ν C-O $1180,4\text{ cm}^{-1}$. Identifikasi jumlah hidrogen dengan spektrofotometer ^1H NMR, yaitu pada pergeseran kimia $6,144\text{ ppm}$ untuk 1 H, $7,237$ - $8,026\text{ ppm}$ untuk

13 H cincin benzen, dan 11,489 ppm. Identifikasi jumlah karbon dengan spektrofotometer ^{13}C NMR, yaitu pada pergeseran kimia 37,1 ppm C-H, 105,8 ppm C=C, 117,4; 117,6; 124,8; 125,7; 127,4; 127,4; 127,6; 129,3; 129,3; 133,8; dan 136,8 ppm C aromatik, 153,4 ppm C-O, 165,4 ppm C-O-H, dan 168,5 ppm C=O. Identifikasi massa molekul dengan spektrometer massa, yaitu m/z 411, 0867. Berdasarkan karakteristik ligan 3,3-benzilidena bis [4-hidroksikumarin] tersebut dapat diharapkan sebagai persyaratan dalam pembuatan senyawa kompleks sediaan radiofarmaka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada saudari Khansa Aktari Dewi, Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran Bandung yang telah terlibat dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bye, A. & King, H. K., 1970. The biosynthesis of 4-hydroxycoumarin and dicoumarol by *Aspergillus fumigatus* Fresenius. *Biochemical Journal* 117, 237-245.
- Dighe, N. S., Pattan, S. R., Dengale, S. S., Musmade, D. S., Shelar, M., Tambe, V., dan Hole, M. B. 2010. Synthetic and Pharmacological Profiles of Coumarins: A Review. *Scholars Research Library Archives of Applied Science Research*. 2.65-71
- Erniwati. 2005. Isolasi Kumin Dari Daun Kayu Racun (*Rhinacanthus nasutus*). [Tesis]. Prodi Kimia Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Friedli, G. L. 2000. Coumarin. <http://www.friedli.com/herbs/phytochem/coumarins.html>.
- Jianfeng, Z., Guixia, G., Litao, A., Xiaojun, S & Fengxia, Z. 2009. Synthesis of 3,3-Arylidene Bis(4-hydroxycoumarin) Catalyzed by Sulfamic Acid in Aqueous Media under Microwave Irradiation. *Chinese Journal of Organic Chemistry. Molecules*. (16). 6023-6040.
- Kostova I., Monolov I, Mariitza K. 2004. Stability of the Complex of Some Lanthanides with Coumarin Derivatives. II. Neodymium (III) - acenocoumarol. *Acta Pharm*. 54:119-131.
- Kostova I., Momekov G., Tzanova T., & Karaivanova M. 2005. Synthesis, Characterization, and Cytotoxic Activity of New Lanthanum(III) Complexes of Bis-Coumarins. *Bioinorganic Chemistry and Application*. Vol. 2006 (25651).1-9.
- Mintas M., Zarvšnik G., Muratović., Makuc D., Plavec J., Cetina M., Nagl A., Clercq E. D., & Balzarini J. 2011. Benzylidene-bis-(4-Hydroxycoumarin) and Benzopyrano Coumarin Derivatives: Synthesis, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR Conformational and X-ray Crystal Structure Studies and In Vitro Antiviral Activity Evaluations. *Molecules*. (16). 6023-6040.
- Patarihan. R. 2012. Definisi Kromatografi Kertas. <http://yuma-patarihan.blogspot.com/2012/05/definisi-kromatografi-kertas.html>
- Schlecht, 2011. Radiolabeling and Isotopic Markers – Introduction. <http://www.radiolabeling.org/theory/>.
- Sheikhhosseini, E. 2012. Trends in Modern Chemistry. Synthesis of 3,3-Arylidene bis(4-hydroxycoumarin) Catalyzed by LiClO_4 . *TMC* 3(1) 34-37, 2012
- Zarvšnik, D., Muratović., Makuc, D., Plavec, J., Cetina, M., Nagl, A., Clercq, E. D., Balzarini, J & Mintas, M. 2011. Benzylidene-bis-(4-Hydroxycoumarin) and Benzopyrano Coumarin Derivatives: Synthesis, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR Conformational and X-ray Crystal Structure Studies and In Vitro Antiviral Activity Evaluations. *Molecules*. (16). 6023-6040.