

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA 3-(4-METOKSI-FENIL)-5-NAFTALEN-1-IL-1-FENIL-4,5-DIHIDRO-PIRAZOL

Aisyah, Jasril, Hilwan Yuda Teruna

Laboratorium Kimia Organik Sintesis, Jurusan Kimia, FMIPA
Universitas Riau. Jl. HR. Subrantas KM 12,5 Pekanbaru 28193
e-mail: aisyah.mukra85@gmail.com

ABSTRACT

A pyrazoline analog, 3-(4-methoxy-phenyl)-5-naphtalen-1-yl-1-phenyl-4,5-dihydro-pyrazole (PF CA-4OMe) has been synthesized via intermolecular cyclization between substituted chalcones and phenylhydrazine using glacial acetic acid as a catalyst under microwave irradiation. The structure of the compound was characterized based on the interpretation of UV, FTIR, HRMS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC and HMBC spectra. The antioxidant test was carried out by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The result show that PF CA-4OMe was proved to have antioxidant activity with IC₅₀ 387,64 µg/mL.

Key words: Pyrazoline, microwave irradiation, DPPH and antioxidant.

1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah atau menghambat terjadinya reaksi oksidasi berantai pada suatu molekul (Patil *et al.*, 2009). Antioksidan mempunyai kemampuan untuk menstabilkan atau mendeaktivasi radikal bebas sebelum menyerang sel hingga zat ini sangat berperan penting untuk melindungi sel dari kerusakan. Adanya radikal bebas dapat menginisiasi timbulnya berbagai macam penyakit (Leong & Shui, 2001; Lobo *et al.*, 2010) seperti kanker, liver, alzheimer, penuaan dini, *arthiritis*, inflamasi, diabetes, parkinson, *atherosclerosis*, AIDS (Moon & Shibatomo, 2009).

Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan melalui mekanisme pertahanan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi maka tubuh memerlukan antioksidan dari luar. Berbagai tanaman obat maupun obat sintesis berperan sebagai antioksidan.

Pencarian molekul baru yang bertindak sebagai antioksidan memberi kontribusi penting dalam perkembangan molekul obat. Pirazolin termasuk kedalam golongan alkaloid namun senyawa ini jarang ditemukan di alam (Sakthinathan *et al.*, 2012). Beberapa penelitian pirazolin yang mengandung gugus fungsional seperti kloro, fluoro, bromo dan metoksi menunjukkan aktivitas farmakologi beragam seperti antijamur dan antibakteri (Karthikeyan

et al., 2007), antitumor dan antimalaria (Insuasty *et al.*, 2013), antikanker dan antiinflamasi (Bashir *et al.*, 2011) serta antioksidan (Sapnakumari *et al.*, 2014).

Berdasarkan paparan diatas, maka pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa pirazolin 3-(4-metoksi-fenil)-5-naftalen-1-il-1-fenil-4,5-dihidro-pirazol (PF CA-4OMe) dengan mereaksikan senyawa kalkon (*E*)-1-(4-metoksi-fenil)-3-naftalen-1-il-propenon (CA-4OMe) dengan fenilhidrazin dengan menggunakan katalis asam asetat glasial dan metode iradiasi gelombang mikro. Selanjutnya senyawa hasil sintesis dikarakterisasi dan diuji aktivitas biologisnya melalui uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven *microwave* (Samsung ME109F), neraca analitik, tabung reaksi bertutup, satu *set* alat destilasi, neraca analitik, pompa vakum, corong *buchner*, bejana, Ultrasonik (Ney®), lampu UV (Camag® 254 dan 366 nm), alat penentu titik leleh *Fisher John* (SMP 11-Stuart®), spektrofotometer UV-Visible (Genesys 10S UV-VIS v4.002 2L9N175013), HPLC (Shimadzu LC Solution), spektrofotometer FTIR (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR (Agilent 500 MHz dengan sistem konsol DD2), spektrometer

Massa (Water LCT premier XE mode positif) dan peralatan standar lain yang digunakan dilaboratorium sesuai prosedur kerja.

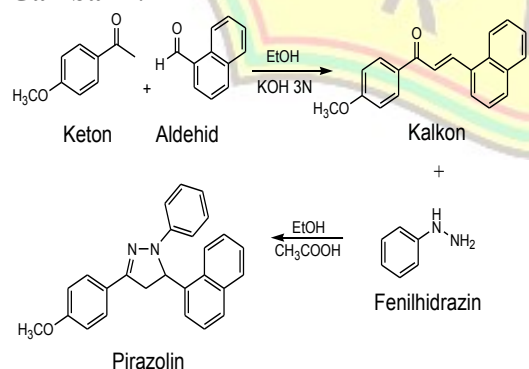
Bahan-bahan yang digunakan adalah 1-naftaldehid (Merck), 4-metoksi asetofenon (Merck), kalium hidroksida (KOH) (Merck), fenilhidrazin (Merck), asam asetat glasial (Merck), etanol absolut (Merck), DPPH (sigma), indikator universal, plat KLT GF₂₅₄ (Merck), etanol absolut (Merck), n-heksana, etilasetat dan diklorometana.

Sintesis Senyawa Pirazolin PF CA-4OMe

Sintesis senyawa berlangsung dua tahap. Tahap pertama dilakukan sintesis senyawa kalkon CA-4OMe dengan bahan baku 4-metoksi asetofenon (0,75 gram) dan 1-naftaldehid (0,78 gram) menggunakan katalis KOH 3N (7,5 mL) dan metode iradiasi gelombang mikro selama 1 menit. Selanjutnya pada tahap kedua, kalkon yang dihasilkan pada tahap pertama sebanyak 0,288 g direaksikan dengan 1,08 g fenilhidrazin dalam 10 mL etanol absolut dan ditambahkan 5 tetes katalis asam asetat glasial. Sintesis senyawa dengan metode iradiasi gelombang mikro selama 4 menit menghasilkan campuran reaksi. Campuran reaksi didiamkan hingga terbentuk endapan yang maksimum. Padatan yang terbentuk disaring menggunakan corong *buchner* dan dicuci dengan n-heksana dingin kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya senyawa yang diperoleh diuji kemurniannya dengan KLT, pengukuran titik leleh dan HPLC.

Skema reaksi sintesis ditunjukkan pada

Gambar 1.



Gambar 1.

Skema sintesis senyawa pirazolin Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) menggunakan *microplate reader*. Senyawa uji dibuat dengan melarutkan sampel sebanyak 2 mg dalam 2 mL metanol (1000 µg/mL). Selanjutnya larutan induk diencerkan hingga konsentrasinya menjadi 31,25; 62,5; 125; 250; 500 dan 1000 µg/mL. Sebagai standar digunakan asam askorbat. Masing-masing larutan uji ditambahkan 50 µL metanol dan 80 µL DPPH. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa murni pirazolin PF CA-4OMe yang diperoleh berupa padatan jingga dengan berat 0,1222 g (rendemen 32,33%). Titik leleh senyawa 137-139°C. Kromatogram HPLC: $t_R = 20,114$ menit ($\lambda = 224$ dan 261 nm) menunjukkan adanya puncak tunggal. Analisa spektroskopi UV menunjukkan adanya serapan maksimum pada λ 224 nm ($\epsilon = 33.793 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) yang menunjukkan adanya transisi elektron dari orbital ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$ pada ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin fenil yang terikat pada atom N1 pada cincin pirazolin, sedangkan serapan maksimum pada λ 261 nm ($\epsilon = 9.261 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) menunjukkan adanya transisi elektron dari orbital ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$ pada cincin fenil yang tersubstitusi *p*-metoksi yang berkonjugasi dengan C=N pada cincin pirazolin. Analisis spektrum IR menunjukkan munculnya beberapa puncak yang menunjukkan vibrasi ikatan yang khas untuk senyawa pirazolin. Spektrum IR (KBr) (cm^{-1}): 3048 (C-H aromatik), 2931 dan 2834 (C-H alifatik), 1595 (C=N), 1388 (C-N), 1497 (C=C aromatik) dan 1226 (C-O). Spektrum HRMS (m/z) hasil perhitungan sebagai $[M+H]^+ = 379,1810$ dan ditemukan pada $m/z = 379,1818$ (100%).

Spektrum ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) senyawa PF CA-4OMe pada cincin pirazolin mengikuti pola *spin* sistem ABX. Terdapat kopling geminal (kopling antara proton yang

terikat pada karbon yang sama) dengan besar kopling 15-18 Hz (H_a dan H_b) dan kopling visinal (kopling antara proton yang terikat pada karbon berbeda) dengan orientasi sudut tertentu. Pergeseran kimia pada 3,14 dan 4,04 ppm menunjukkan dua proton *non equivalent* (H_a dan H_b) pada metilen di cincin pirazolin. Signal proton H_a muncul pada δ 3,14 ppm ($J = 15,25$ Hz) menunjukkan orientasi berbentuk *doublet* sedangkan proton H_b muncul pada δ 4,04 ppm ($J_{ba} = 15,25$ dan $J_{bx} = 12,44$ Hz) dengan orientasi berbentuk *doublet of doublet* (dd). Proton H_a dan H_b menunjukkan kopling germinal ($J = 15,25$ Hz) dimana proton H_a muncul di daerah *upfield* dibandingkan H_b ini disebabkan proton H_b lebih tidak terlindungi (*deshielding*) dimana terjadi perbedaan lingkungan kimia kedua proton. Proton H_a memiliki posisi ekuatorial terhadap H_x dan proton H_b memiliki posisi aksial terhadap H_x sehingga secara ruang interaksi proton H_b dengan dua atom nitrogen pada ikatan N-N lebih besar.

Spektrum ^{13}C -NMR menunjukkan adanya signal karbon alifatik pada δ 42,9 dan 61,2 ppm yang mengindikasikan masing-masing karbon

C4 dan C5 pada cincin pirazolin. Selain itu juga dikonfirmasi muncul signal karbon alifatik pada δ 53,6 ppm yang mengindikasikan adanya karbon primer dari gugus *p*-metoksifenil. Terdapat signal karbon C=N pada δ 147,3 ppm pada cincin pirazolin dari struktur senyawa PF CA-4OMe.

Senyawa PF CA-4OMe juga dilengkapi dengan analisis 2D NMR yaitu HSQC dan HMBC yang menunjukkan korelasi ^1H - ^{13}C dari struktur senyawa. Spektrum HSQC menunjukkan korelasi proton dengan karbon yang terikat secara langsung atau berjarak satu ikatan. Spektrum HSQC menunjukkan adanya korelasi proton H_a (3,14 ppm) dan proton H_b (4,04 ppm) dengan karbon C4 (42,9 ppm). Hal ini mengindikasikan bahwa karbon C4 merupakan karbon sekunder. Kemudian juga terdapat korelasi antara tiga proton pada 3,84 ppm dengan karbon pada 55,4 ppm mengindikasikan adanya substituen gugus *p*-metoksifenil. Karbon C=N (147,3 ppm) pada cincin pirazolin tidak menunjukkan adanya korelasi dengan proton manapun, hal ini mengindikasikan bahwa karbon C=N merupakan karbon kuartener.

Tabel 1. Data spektroskopi NMR senyawa PF CA-4OMe (CDCl_3)

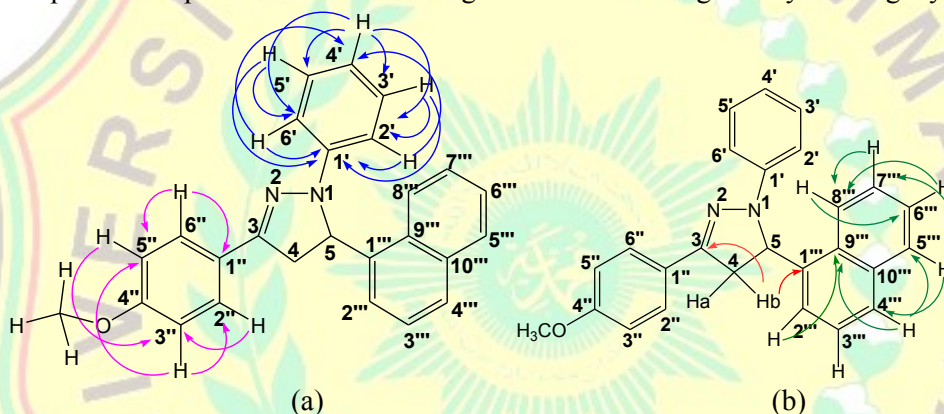
Posisi	δC (ppm)	δH (ppm)	HMBC
3	147,3	-	-
4	42,9	H_a : 3,14 (d, $J = 15,25$ Hz) H_b : 4,04 (dd, $J_{ba} = 15,25$ dan $J_{bx} = 12,44$ Hz)	$H_b \rightarrow \text{C3}, \text{C1}'''$
5	61,2	H_x : 5,91	-
1'	145,2	-	-
2'	113,2	7,06 (d, $J = 8$ Hz)	$\text{H2}' \rightarrow \text{C1}', \text{C4}', \text{C6}'$
3'	129,0	7,18 (m)	$\text{H3}' \rightarrow \text{C1}', \text{C2}', \text{C5}'$
4'	118,8	6,79 (t, $J = 7,5$ Hz)	$\text{H4}' \rightarrow \text{C2}', \text{C3}', \text{C5}', \text{C6}'$
5'	129,0	7,18 (m)	$\text{H5}' \rightarrow \text{C1}', \text{C3}', \text{C4}', \text{C6}'$
6'	113,2	7,06 (d, $J = 8$ Hz)	$\text{H6}' \rightarrow \text{C1}', \text{C2}', \text{C4}', \text{C5}'$
OCH3	55,4	3,84 (s, CH3)	$3\text{H/OCH3} \rightarrow \text{C4}''$
1''	125,5	-	-
2''	127,2	7,68 (dd, $J = 8$ dan $J = 2$ Hz)	$\text{H2}'' \rightarrow \text{C3}, \text{C1}'', \text{C3}'', \text{C4}''$
3''	114,0	6,92 (dd, $J = 8,5$ dan $J = 1,8$ Hz)	$\text{H3}'' \rightarrow \text{C1}'', \text{C2}'', \text{C4}'', \text{C5}''$
4''	160,1	-	-
5''	114,0	6,92 (dd, $J = 8,5$ dan $J = 1,8$ Hz)	$\text{H5}'' \rightarrow \text{C1}'', \text{C3}'', \text{C4}''$
6''	127,2	7,68 (dd, $J = 8$ dan $J = 2$ Hz)	$\text{H6}'' \rightarrow \text{C3}, \text{C1}'', \text{C4}'', \text{C5}''$
1'''	136,8	-	-
2'''	125,8	7,46 (d, $J = 7,5$ Hz)	$\text{H2}''' \rightarrow \text{C4}''', \text{C9}'''$
3'''	126,0	7,39 (t, $J = 7,5$ Hz)	$\text{H3}''' \rightarrow \text{C1}''', \text{C10}'''$

Posisi	δC (ppm)	δH (ppm)	HMBC
4'''	128,0	7,80 (d, $J = 8$ Hz)	$H4''' \rightarrow C5''', C8''', C9''', C10'''$
5'''	129,3	7,956(d, $J = 10$ Hz)	$H5''' \rightarrow C4''', C6''', C7''', C9''', C10'''$
6'''	126,4	7,60 (m)	$H6''' \rightarrow C5''', C10'''$
7'''	125,8	7,60 (m)	$H7''' \rightarrow C8''', C10'''$
8'''	123,0	8,11 (d, $J = 8$ Hz)	$H8''' \rightarrow C1''', C6''', C7''', C9''', C10'''$
9'''	129,9	-	-
10'''	134,4	-	-

Spektrum HMBC menunjukkan bahwa kedua proton (H_a dan H_b) pada atom C4 memiliki korelasi dengan karbon C3 (2 ikatan) dan C1' (3 ikatan). Ilustrasi korelasi proton dan karbon dari spektrum HMBC untuk cincin pirazolin, naftalen, fenil dan *p*-metoksifenil juga dapat dilihat pada **Gambar 2** sedangkan

interpretasi data 1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HMBC dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Berdasarkan hasil dari interpretasi data spektroskopi UV, FTIR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC, HMBC dan HRMS menunjukkan bahwa senyawa PH CA-4OMe yang disintesis sesuai dengan senyawa target yang diharapkan.



Gambar 2. Korelasi HMBC senyawa PF CA-4OMe pada cincin *p*-metoksifenil dan fenil (a) dan cincin pirazolin dan naftalen (b).

Hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap senyawa PF CA-4OMe yaitu 387,64 $\mu g/mL$, hal ini menunjukkan bahwa senyawa PF CA-4OMe memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai IC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu g/mL$ dan daya hambat yang besar yaitu 15,28-63,54%.

4. KESIMPULAN

Sintesis senyawa pirazolin 3-(4-metoksi-fenil)-5- naftalen-1-il-1- fenil, 4, 5- dihidro-pirazol (PF CA-4OMe) dari kalkon inti naftlen dengan fenilhidrazin menggunakan katalis asam asetat glasial menghasilkan randemen 32,33%. Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV, FT-IR, HR-MS dan NMR menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian merupakan senyawa

dengan struktur yang sesuai dengan molekul target. Uji antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa senyawa pirazolin PF CA-4OMe bersifat aktif sebagai antioksidan dengan IC_{50} 387,64 $\mu g/mL$.

DAFTAR PUSTAKA

- Bashir, R., Ovais, S., Yaseen, S., Hamid, H., Alam, M. S., & Samim, M. (2011). Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21**, 4301-4305.
- Insuasty, B., Montoya, A., Becerra, D., Quiroga, J., Abonia, R., & Robledo, S. (2013). Synthesis of novel analogs of 2-

- pyrazoline obtained from [(7-chloroquinolin-4-yl-amino)chalcones and hydrazine as potential antitumor and antimalarial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **67**, 252-262.
- Karthikeyan, M. S., Holla, B. S., & Kumari, N. S. (2007). Synthesis and antimicrobial studies on novel chloro-fluorine containing hydroxy pyrazolines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **42**, 30-36.
- Leong, L.P. & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, **76**, 69-75.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A & Chandra, N. (2010). Free radicals antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev*, **4**(8), 118-126.
- Moon, J.K. & Shiboto, T. (2009). Antioxidant assay for plant and food component. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **57**(5), 1655-1666.
- Patil, C.B, Mahajan, S.K, & Katti S.A. (2009). Chalcone: a versatile molecule. *Journal of pharmaceutical Sciences and Research*, **1**(3), 11-12.
- Sakthnathan, S. P., Vanangamudi, G., & Thirunarayanan, G. (2012). Synthesis, spectral studies and antimicrobial activities of some 2-naphthyl pyrazoline derivatives. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **95**, 693-700.
- Sapnakumari, M., Narayana, B., Gurubasavarajswamy, P. M., & Sarojini, B. K. (2014). Design, synthesis, and pharmacological evaluation of new pyrazoline derivatives. *Monatsh Chemistry*, **146** (6), 1015-1024.