

Synthesis of 4- (Trifluoromethoxy)Benzoyl Salicylic Acid and The Analgesic Activity on Mice (*Mus muscu/us*)

by Caroline Caroline

Submission date: 29-Apr-2021 08:18PM (UTC+0700)

Submission ID: 1573341746

File name: 6pi-Synthesis_of_4-_trifluoromethoxy_.pdf (4.04M)

Word count: 2573

Character count: 15997

Bandung ICMC (Poster Presentation), 6-8th August, 2009

Synthesis of 4-(Trifluoromethoxy)Benzoyl Salicylic Acid and The Analgesic Activity on Mice (*Mus musculus*)

Meity Widiani^a, Bambang Soekardjo^a, Caroline^a, Siti Surdijati^a and Irwan Setiabudi^b

^aFaculty of Pharmacy, Widya Mandala University, Jalan Dinoyo 42-44 Surabaya 60265, East Java, Indonesia (Email: meity_widiani@yahoo.com)

^bFaculty of Medical, Hang Tuah University, Jalan Arif Rahman Hakim 150 Surabaya 60111, East Java, Indonesia

Pain was the common disease that need analgetics to treated. Acetyl acid derivates were one of the analgetics that had been used to treated pain, but there was side effects like a gastric irritation. Thus, acetyl acid had been synthesized with the 4-(trofluoromethoxy)benzoyl chloride which expected had an analgesic activity higher than acetylsalicylic acid. The 4-(trifluoromethoxy)benzoyl salicylic acid was synthesized by acylation reaction and based on Schotten-Baumann method^[1]. The yield of 4-(trifluoromethoxy)benzoyl salicylic acid was 52,1%^[2]. In this research, the analgesic activity was tested using *writhing test* method. The analgesic activity determined by perceiving degradation amount of writhe frequency moreover calculated pain-inhibition percentage and ED₅₀ value. The results showed that 4-(trifluoromethoxy)benzoyl salicylic acid had ED₅₀ 13,4 mg/kg BW, while acetylsalicylic acid, had ED₅₀ 20,8 mg/kg BW. That result was caused by the addition of 4-(trifluoromethoxy)benzoyl, that caused the increase of lipofilic characteristic that could increase penetration substance in the biologic membran, so the amount of drug that interacted with reseptor were increases. In conclusion, the analgesic activity of 4-(trifluoromethoxy)benzoyl salicylic acid had analgesic activity higher than acetylsalicylic acid.

Keywords : analgesic ; 4-(trifluoromethoxy)benzoyl salicylic acid; *writhing test*.

References

1. Diyah, N. W., Purwanto, B., T., Susilowati, R. *Uji aktivitas analgesik senyawa asam O-(4-butylbenzoi)salisilat hasil sintesis pada mencit*. Unair Research Report. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya, 2002.

PENDAHULUAN

Krisis ekonomi yang melanda bangsa Indonesia menyebabkan penyakit nyeri meningkat di tengah masyarakat. Obat penghilang rasa nyeri atau analgetik yang beredar di tengah masyarakat masih kurang memuaskan untuk mengatasi rasa nyeri dan efek samping yang merugikan masyarakat sebagai konsumen, maka dilakukan pengembangan turunan senyawa analgetik baru, antara lain melalui modifikasi struktur.

Turunan salisilat memiliki aktivitas analgesik-antipiretik dan antirematik, tetapi tidak digunakan secara oral karena dapat mengiritasi lambung dan menyebabkan pendarahan pada saluran cerna. Turunan asam salisilat banyak digunakan untuk mengurangi rasa sakit pada nyeri kepala, otot dan yang berhubungan dengan rematik (Purwanto & Susilowati, 2000).

Chandra, (2007), telah melakukan modifikasi terhadap struktur turunan asam salisilat yaitu dengan penambahan gugus 4-(trifluorometil)benzoiil sehingga dihasilkan senyawa asam 4-(trifluorometil)benzoiil salisilat yang mempunyai aktivitas analgesik pada hewan coba yang lebih besar jika dibandingkan dengan asam asetilsalisilat sebagai pembanding. Senyawa asam 4-(trifluorometil)benzoiil salisilat lebih poten bila dibandingkan asam asetilsalisilat. Hal tersebut terjadi karena senyawa asam 4-(trifluorometil)benzoiil salisilat mempunyai sifat lipofilik yang lebih besar dibanding asam asetilsalisilat (Chandra, 2007). Peningkatan sifat lipofilik menyebabkan penembusan membran biologis oleh senyawa asam 4-(trifluorometil)benzoiil salisilat pun meningkat. Pada penelitian ini dilakukan modifikasi lebih lanjut terhadap turunan asam salisilat, yakni dengan pengubahan gugus metil menjadi metoksi, yang menghasilkan senyawa baru asam 4-(trifluorometoksi)benzoiil salisilat. Senyawa ini memiliki sifat lipofilik, elektronik dan sterik yang lebih besar dibandingkan dengan senyawa asam 4-(trifluorometil)benzoiil salisilat. Modifikasi ini diharapkan dapat meningkatkan ikatan obat dengan reseptor serta kemampuan penembusan membran yang pada akhirnya dapat meningkatkan efek sebagai analgesik.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong buchner, Electrothermal Melting Point Apparatus, bejana KLT lempeng silika gel 60 GF₂₅₄, oven, magnetic stirrer, alat spektrofotometer UV-Vis Lambda EZ-201, spektrofotometer FT-IR Jasco FT/IR-5300, spektrometer resonansi magnet inti (¹H-NMR) Hitachi FT-NMR R-1900, lampu UV 254 nm, disposable syringe, timbangan analitis, kertas saring whatman, stopwatch, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan dalam laboratorium.

Asam salisilat p.g. (E. Merck), 4-(trifluorometoksi)benzoiil klorida p.s. (Aldrich), piridin p.a. (E. Merck), aseton p.a. (E. Merck), aspirin p.g. (Brataco), etanol p.a. (E. Merck), etil asetat p.a. (E. Merck), kloroform p.a. (E. Merck), n-heksana p.a. (E. Merck), natrium karboksimetilselulosa p.g. (Sigma), asam asetat glasial p.a. (E. Merck), plate kieselgel 60 GF₂₅₄ (E. Merck), alkohol p.a. (E. Merck), air suling steril.

Hewan coba yang dipakai adalah mencit (*Mus musculus*) jantan, yang dinyatakan sehat dan belum pernah digunakan untuk percobaan, dengan umur 2 – 3 bulan, berat 20 – 35 gram. Mencit sebanyak 55 ekor diambil secara random, dan dipelihara dalam kondisi yang sama, agar dapat beradaptasi. Sebelum digunakan, hewan coba tidak diberi makan selama semalam, tetapi tetap diberi minum.

Rancangan Penelitian

Dilakukan sintesis asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dengan reaksi Schotten-Baumann, direkristalisasi, dan ditimbang. Kristal yang diperoleh diuji kemurniannya dengan penentuan titik leleh dan kromatografi lapis tipis, dan diidentifikasi strukturnya dengan spektroskopi UV, inframerah, dan ¹H-NMR. Setelah senyawa diyakini murni, dilakukan uji aktivitas analgesik pada mencit. Kemudian dilakukan analisis data dan dihitung nilai ED analgesik.

Untuk menentukan nilai ED₅₀ dilakukan analisis statistik dengan cara regresi menggunakan program komputer MINITAB, sebagai variabel bebas adalah dosis, sedangkan variabel tergantung adalah prosentase hambatan nyeri.

ANALISIS DATA DAN INTERPRETASI PENEMUAN

Asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dihasilkan melalui reaksi asilasi antara asam salisilat dan 4-(trifluorometoksi)benzoil klorida dengan menggunakan metode Schotten-Baumann. Hasil sintesis yang didapat sebesar 4,248 g dengan prosentase hasil 52,1 %.

Uji Titik Leleh Senyawa Hasil Sintesis

Titik leleh asam salisilat menurut British Pharmacopoeia adalah 158-160°C. Hasil penentuan jarak titik leleh asam salisilat dan asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dengan alat "Electrothermal Melting Point Apparatus" ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penentuan Jarak Titik Leleh Senyawa Asam Salisilat dan Asam 4(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat

No. Replikasi	Jarak Titik Leleh Asam Salisilat (°C)	Jarak Titik Leleh Asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat (°C)
1	159-160	128-129
2	158-160	129-130
3	158-160	128-129
Jarak lebur	158-160	128-130

Dari hasil penentuan jarak titik leleh senyawa hasil sintesis di atas terlihat bahwa jarak titik leleh adalah 1-2 °C yang berarti senyawa murni.

3 Uji Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis

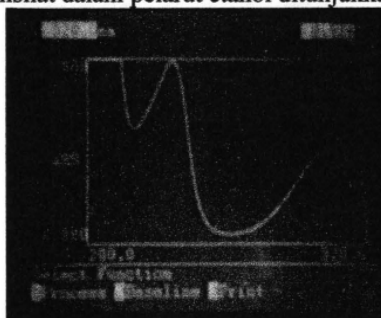
Hasil pemeriksaan kromatografi lapis tipis senyawa hasil sintesis dan senyawa pembanding dengan menggunakan tiga fase gerak dinyatakan dengan harga R_f ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Harga Rf Senyawa Asam Salisilat dan Asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat

Fase Gerak	Nilai Rf		
	asam salisilat	4-(trifluorometoksi)benzoil klorida	asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat
etil asetat : etanol (1 : 1)	0,67	0,74	0,81
etanol : n-heksana (8 : 2)	0,70	0,75	0,87
aseton : etanol (8 : 2)	0,71	0,74	0,77

Pemeriksaan Spektrofotometri Ultraviolet

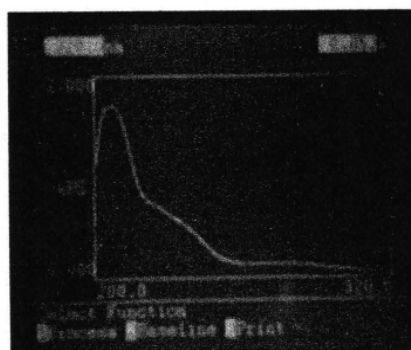
Gambar spektrum ultraviolet dari asam salisilat dan senyawa hasil sintesis asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dalam pelarut etanol ditunjukkan pada gambar 4.2.



Gambar 1. Spektrum ultraviolet asam salisilat dengan pelarut etanol.

Hasil penentuan panjang gelombang asam salisilat adalah 236 nm dan 304,2 nm.

Gambar spektrum ultraviolet dari senyawa hasil sintesis asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dalam pelarut etanol ditunjukkan pada gambar 2.



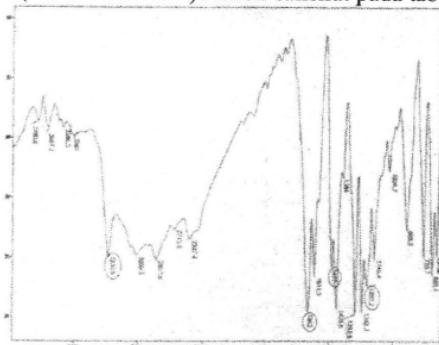
Gambar 2. Spektrum ultraviolet asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dengan pelarut etanol.

Hasil penentuan panjang gelombang asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat adalah 202,2 nm dan 228,8 nm.

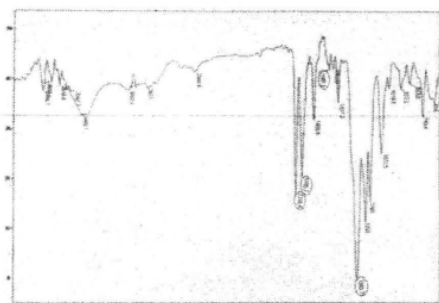
Dari kedua spektrum di atas, dapat dilihat bahwa terjadi pergeseran puncak serapan pada panjang gelombang 236 nm dan 304,2 nm dari asam salisilat menjadi 202,2 nm dan 228,8 nm pada asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis telah berbeda dari senyawa awal.

Pemeriksaan Spektrofotometri Inframerah Senyawa Hasil Sintesis

Spektrum inframerah asam salisilat dan senyawa hasil sintesis asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat ditunjukkan pada gambar 3 dan 4. Karakteristik spektrum asam salisilat dan asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat pada tabel 3.



Gambar 3. Gambar spektrum inframerah asam salisilat dalam pelet KBr.



Gambar 4. Gambar spektrum inframerah asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dalam pelet KBr.

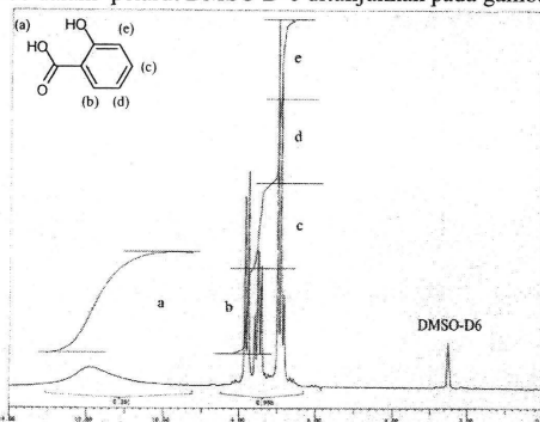
Tabel 3. Karakteristik Spektrum Inframerah Senyawa Asam Salisilat dan Asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat

Gugus Fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)		Pustaka *
	Asam salisilat	Asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat	
O-H	3230	-	3100-3650
C=O ester	-	1748	1730-1750
C=O asam	1663	1700	1700-1725
C=C aromatis	1477	1487	1450-1600
C-O ester	-	1265	1000-1300
C-O asam	1202	-	1000-1300

Pada senyawa hasil sintesis terdapat C=O ester dan C=O asam, sedangkan pada asam salisilat hanya ada C=O asam sehingga dapat diduga bahwa senyawa baru yang dihasilkan adalah suatu ester yang masih mempunyai gugus asam.

Spektrometri ¹H-RMI Senyawa Hasil Sintesis

Hasil penentuan letak dan jenis proton asam salisilat menggunakan spektrometer Hitachi FTNMR 1900 dalam pelarut DMSO D-6 ditunjukkan pada gambar 4.6 dan tabel 4.4.

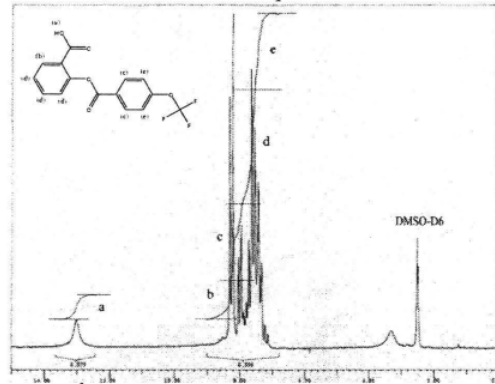


Gambar 4. Spektrum ¹H-RMI asam salisilat dengan menggunakan pelarut DMSO D-6.

Tabel 4. Karakteristik Spektrum ¹H-RMI Asam Salisilat

δ (ppm)	Multiplisitas	Integrasi relatif	Atom H dari
12,09	singlet	1	OH (a)
7,84	duplet	1	Cincin aromatis (b)
7,58	triplet	1	Cincin aromatis (c)
6,99	triplet	1	Cincin aromatis (d)
6,83	duplet	1	Cincin aromatis (e)

Hasil spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat ditunjukkan pada gambar 4.7. dan karakteristik spektrum $^1\text{H-NMR}$ tercantum pada tabel 4.5.



Gambar 5. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dengan menggunakan pelarut DMSO D-6.

Tabel 5. Karakteristik Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Asam 4-(Trifluorometoksi)Benzoil Salisilat

δ (ppm)	Multiplisitas	Integrasi relatif	Atom H dari
13,01	singlet	1	COOH (a)
8,15	duplet	1	Cincin aromatis (b)
7,94	duplet	2	Cincin aromatis (c)
7,85	duplet		
7,70	triplet	3	
7,53	triplet		Cincin aromatis (d)
7,45	duplet		
7,38	duplet	2	Cincin aromatis (e)
7,32	duplet		

Pengamatan Respon Nyeri

Pengujian aktivitas analgesik dilakukan dengan cara menghitung frekuensi respons nyeri pada hewan coba mencit, dimana mencit menggeliat sesudah diberi perlakuan.

ED_{50} hambatan nyeri dihitung berdasarkan data dosis dan prosentase hambatan nyeri pada tabel 4.10 dengan analisis statistik regresi. Diperoleh ED_{50} asetosal dan ED_{50} asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat yang masing-masing sebesar 20,83 mg/kg BB dan 13,46 mg/kg BB.

Interpretasi Penemuan

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis senyawa baru turunan asam salisilat. Senyawa ini disintesis dengan mereaksikan asam salisilat dan 4-(trifluorometoksi)benzoil klorida. Dalam proses sintesis senyawa ini, digunakan piridin untuk mengikat HCl yang terbentuk selama reaksi berlangsung. Pada proses rekristalisasi, digunakan etanol panas untuk mendapatkan senyawa hasil sintesis yang murni. Senyawa hasil sintesis yang didapatkan lebih rendah jika dibandingkan pada penelitian yang dilakukan sebelumnya (Chandra, 2007). Hal tersebut diduga suhu, pengadukan, dan waktu refluks yang kurang optimum.

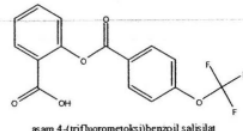
Pada pemeriksaan kemurnian menggunakan KLT dengan menggunakan tiga macam fase gerak dengan tingkat kepolaran yang berbeda, menunjukkan perbandingan yang jelas

antara harga Rf senyawa asam salisilat, senyawa 4-(trifluorometoksi)benzoil klorida, dan senyawa hasil sintesis. Dari noda yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa diperoleh senyawa tunggal hasil sintesis.

Pada identifikasi struktur dengan spektrofotometer ultraviolet dapat dilihat perbedaan asam salisilat dan senyawa hasil sintesis. Perbedaan dapat dilihat melalui pergeseran puncak serapan dan hilangnya puncak serapan. Pada asam salisilat diperoleh puncak serapan 236 nm dan 304 nm, sedangkan pada senyawa hasil sintesis diperoleh puncak serapan 202 nm dan 228 nm. Hilangnya puncak serapan 304 nm dikarenakan adanya substitusi 4-(trifluorometoksi)benzoil pada gugus OH dari asam salisilat. Adanya substitusi 4-(trifluorometoksi)benzoil pada gugus -OH dapat juga dilihat dari profil spektrum IR senyawa hasil sintesis. Pada profil spektrum IR asam salisilat gugus fungsi -OH didapatkan pada bilangan gelombang 3230, sedangkan pada profil spektrum IR senyawa hasil sintesis tidak ada. Hilangnya gugus fungsi -OH disebabkan karena terbentuknya suatu ester. Hal ini dibuktikan dengan didapaknya gugus fungsi C-O ester pada profil spektrum senyawa hasil sintesis pada bilangan gelombang 1265.

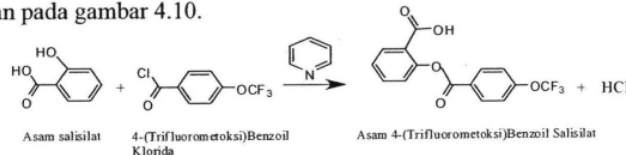
Hasil spektro IR dan UV harus ditunjang dengan metode analisis yang lain untuk memastikan identifikasi senyawa. Karenanya digunakan spektroskopi RMI- H^1 yang dapat mengetahui jumlah proton sehingga dapat menunjang data spektrum IR dan UV. Dari data integrasi proton asam salisilat dapat diketahui bahwa asam salisilat memiliki 1 cincin aromatis, sedangkan senyawa hasil sintesis memiliki 2 cincin aromatis. Karenanya dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis yang terbentuk adalah suatu ester dengan 2 cincin aromatis.

Hasil identifikasi senyawa menunjukkan struktur senyawa hasil sintesis adalah asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat yang ditunjukkan pada gambar 4.9.



Gambar 6. Struktur yang menggambarkan molekul asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat.

Reaksi pembentukan senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat yang ditunjukkan pada gambar 4.10.



Gambar 7. Reaksi yang menggambarkan pembentukan asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat.

Berdasarkan data dosis dan prosentase hambatan nyeri dari uji aktivitas analgesik pada mencit, dihitung harga ED_{50} dengan analisis statistik menggunakan program MINITAB. Dari hasil perhitungan tersebut, didapatkan hasil harga ED_{50} senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat sebesar 13,46 mg/kgBB, sedangkan harga ED_{50} senyawa asam asetilsalisilat (asetosal) sebesar 20,83 mg/kgBB. Hal tersebut menunjukkan bahwa

aktivitas analgesik senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat lebih tinggi daripada aktivitas analgesik senyawa asam asetilsalisilat. Harga ED₅₀ pada senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat menunjukkan aktivitas analgesik yang sesuai dengan hipotesis, disebabkan sifat lipofilik dan sterik yang lebih besar sehingga lebih mudah menembus membran dan berikatan dengan reseptor.

Peningkatan aktivitas analgesik dikarenakan asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat mempunyai sifat lipofilik dan sterik (log P= 4,6, MR=72,27) yang lebih tinggi dibandingkan asam asetilsalisilat (log P=1,21, MR=43,29). Peningkatan sifat lipofilik menyebabkan senyawa lebih mudah menembus membran. Peningkatan sifat sterik menyebabkan semakin serasnya ikatan antara obat dan reseptor.

Hasil uji aktivitas biologis yang telah dilakukan dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat sebagai calon obat analgetik. Namun masih harus melalui berbagai macam studi dan penelitian lebih lanjut, seperti uji pra klinis dan klinis, untuk memperoleh informasi yang lengkap, dari aspek farmakologi, farmakodinamik, maupun farmakokinetik senyawa.

KESIMPULAN

Senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat dapat disintesis dengan mereaksikan asam salisilat dan 4-(trifluorometoksi)benzoil klorida dengan hasil randemen 52,1%.

Senyawa asam 4-(trifluorometoksi)benzoil salisilat mempunyai aktivitas analgesik yang lebih besar (ED₅₀ 13,46) dibandingkan dengan asam asetil salisilat (ED₅₀ 20,83).

DAFTAR PUSTAKA

- Chandra, Y., D., 2007. Sintesis Asam 4-Trifluorometilbenzoil Salisilat dan Uji Aktivitas Analgesik Pada Mencit (*Mus musculus*). Skripsi Sarjana Farmasi. Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, pp. 5-6, 35, 45
- Domer, F.R., 1971. *Animal Experiments in Pharmacological Analysis*, Charles C. Thomas Publisher, USA, pp.276, 287, 297.
- Doyle, M.P., Mungall, W.S., 1980. *Experimental of Organic Chemistry*. John Wiley and Sons, New York, pp. 24-33, 86-92.
- Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S., 1986. *Kimia Organik* 3rd ed. Penerbit Erlangga, Jakarta, pp. 329, 647.
- Morrison, R.T. & Boyd, R.N., 1987. *Organic Chemistry*, 5th ed. Allyn and Bacon, Inc., Boston, pp. 860, 866.
- Purwanto & Susilowati, R., 2000. Hubungan Struktur Aktivitas Obat Analgetika. In : Siswandono & Soekardjo, B. (Eds.), *Kimia Medisinal* 2. Airlangga University Press, Surabaya, pp. 283, 291-292, 295.

Synthesis of 4-(Trifluoromethoxy)Benzoyl Salicylic Acid and The Analgesic Activity on Mice (Mus muscu/us)

ORIGINALITY REPORT

7%

SIMILARITY INDEX

6%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	docobook.com Internet Source	2%
2	es.scribd.com Internet Source	1%
3	repository.unair.ac.id Internet Source	1%
4	repository.wima.ac.id Internet Source	1%
5	www.scribd.com Internet Source	1%
6	Submitted to University of Muhammadiyah Malang Student Paper	1%

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 1%