

# Sintesis Turunan 4-Nitroindola-3-karboksaldehida

Eka Dewi Fitriana, Mardi Santoso

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: tsv09@yahoo.com

**Abstrak**— Kanker merupakan penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Indola-3-karbinol adalah senyawa hasil hidrolisis glukobrassisin yang terdapat dalam sayuran golongan *Cruciferae* (*Brassica*) yang memiliki aktivitas antikanker.

1-[(4-Klorofenil)metil]-indola-3-karboksaldehida (oncrasin-1) yang memiliki kemiripan struktur dengan indola-3-karbinol juga diketahui memiliki aktivitas antikanker. Gugus *m*-klorobenzil dan nitro pada turunan indola diketahui dapat meningkatkan bioaktivitas sebagai anti kanker, begitu pula dengan gugus formil. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mendapatkan senyawa antikanker baru turunan 4-nitroindola-3-karboksaldehida, dengan kemiripan struktur seperti indola-3-karbinol dan oncrasin-1 berupa 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karboksaldehida. Reaksi 4-nitroindola-3-karboksaldehida, natrium hidroksida, dan 3-klorobenzil bromida dalam asetonitril pada suhu kamar diperoleh 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karboksaldehida dengan rendemen 95%.

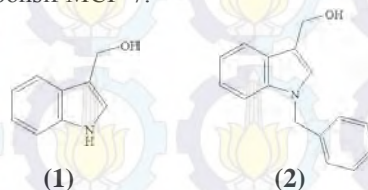
**Kata Kunci:** analog oncrasin-1; antikanker; indola-3-karbinol

## I. PENDAHULUAN

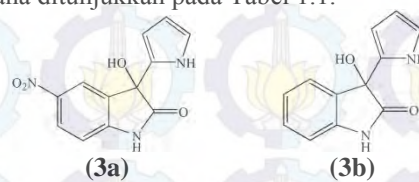
**K**ANKER- Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri, selanjutnya menyusup ke jaringan sekitarnya (*invasive*) dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan menyerang organ-organ penting serta syaraf tulang belakang. Sel normal hanya akan membelah diri untuk mengganti sel-sel yang telah mati dan rusak, sebaliknya sel kanker mengalami pembelahan secara terus menerus meskipun tubuh tidak memerlukannya sehingga terjadi penumpukan sel baru (Yayasan Kanker Indonesia, 2006).

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Kementerian Kesehatan RI (2013) melaporkan terdapat sekitar 8,2 juta kematian yang disebabkan kanker pada tahun 2012. Kanker paru, hati, perut, kolon, dan kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya. Upaya pengobatan kanker melalui kemoterapi, radiasi atau penyinaran serta pembedahan masih memiliki kelemahan (Padmi, 2008), sehingga diperlukan pengembangan senyawa anti-kanker baru yang lebih baik.

Indola-3-karbinol (**1**) adalah senyawa hasil hidrolisis glukobrassisin yang terdapat dalam sayuran golongan *Cruciferae* (*Brassica*) seperti brokoli dan kubis yang mempunyai aktivitas anti-proliferatif dan anti-estrogenik terhadap sel kanker payudara. Indola-3-karbinol (**1**) menunjukkan aktivitas antikanker dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $52 \mu\text{M}$  terhadap estrogen responsif MCF-7 dan estrogen independen MDA-MB-231 sel kanker payudara (Brew dkk., 2006). Nguyen dkk. (2010) melaporkan bahwa adanya gugus benzil pada 1-benzilindola-3-karbinol (**2**) secara signifikan dapat meningkatkan bioaktivitas 1000 kali sebagai anti kanker daripada indola-3-karbinol (**1**), ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $0,05 \mu\text{M}$  terhadap estrogen responsif MCF-7.



Rahmayanti (2014) melaporkan bahwa keberadaan gugus nitro pada 3-hidroksi-5-nitro-3-(pirol-2-il)indolin-2-ona (**3a**) dapat meningkatkan sitotoksitas senyawa secara signifikan terhadap sel kanker hati HepG2 dari pada 3-hidroksi-3-(pirol-2-il)indolin-2-ona (**3b**) dengan  $IC_{50}$  sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1.1.

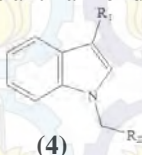


Tabel 1.1  $IC_{50}$  senyawa (**3a-b**) terhadap sel kanker hati HepG2

Senyawa	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
<b>(3a)</b>	468
<b>(3b)</b>	10332

Wu dkk. (2011) mengkaji pengaruh gugus pensubstitusi indola (**4**) terhadap aktivitasnya sebagai anti-kanker paru H460. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya gugus formil dan hidroksimetil yang terikat pada C-3 cincin indola (gugus  $R_1$ ) serta gugus klorobenzil yang terikat pada atom nitrogen cincin indola (gugus  $R_2$ ) secara signifikan dapat meningkatkan bioaktivitas sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 1.2. Adanya gugus *m*-kloro benzil dengan posisi meta juga dapat meningkatkan bioaktivitas indola (**4**), indola (**4c**) menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah daripada indola (**4a-b**).  $IC_{50}$  indola alkohol (**4f**) lebih

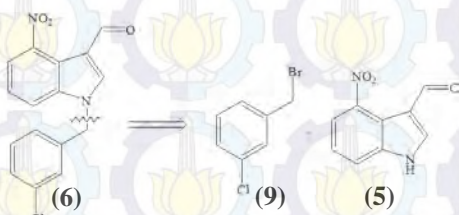
rendah daripada indola alkohol (**4d-e**). Diindolilmetana (**4g-h**) menunjukkan aktivitas antikanker dengan  $IC_{50} > 31,6$ .



Tabel 1.2 Data aktivitas antikanker paru H460 analog oncrasin-1 (**4**)

Senyawa	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> (μM)
(4a)	CHO	Ph	0,045
(4b)	CHO	4'-Cl Ph	0,250
(4c)	CHO	3'-Cl Ph	0,037
(4d)	CH <sub>2</sub> OH	Ph	0,112
(4e)	CH <sub>2</sub> OH	2'-Cl Ph	0,100
(4f)	CH <sub>2</sub> OH	3'-Cl Ph	0,019
(4g)		3'-Cl Ph	>31,6
(4h)		3'-Br Ph	>31,6

Studi literatur tersebut memberikan inspirasi untuk mensintesis turunan 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) yang sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker. Studi literatur yang telah dilaksanakan mendapatkan bahwa 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldheida (**6**) belum pernah disintesis dan diungkap bioaktivitasnya. Turunan 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) dimungkinkan dapat disintesis dengan pendekatan analisis retrosintesis sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 1.1.



## II. URAIAN PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

#### 2.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer bar*, labu bulat, pipet mikro 10-100 μL Socorex 21082178, pipet tetes, gelas ukur, erlenmayer, vial, kaca arloji, spatula, plat kromatografi lapis tipis (KLT) alumunium silika gel F<sub>254</sub>, pipa kapiler, corong pisah, *chamber* KLT, plat kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), *chamber* KLTP, lampu UV (λ 254 dan 365 nm), neraca analitis Sartorius CP224S, oven, lemari asam, kertas saring Whatman No. 42, corong, pinset, desikator, statif, klem, alu, mortar, *rotary evaporator* Buchi R-11, alat ukur

titik leleh Fisher John, spektrometer massa *APCI* Hitachi L 6200 dengan kolom C18 (RP 18) Phenomenex, spektrometer infra merah Shimadzu FTIR 8400S, dan spektrometer NMR Jeol Resonance (500 MHz).

#### 2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) (Aldrich 691534), 3-klorobenzil bromida (**9**) (Aldrich 136727), asetonitril (CH<sub>3</sub>CN) (Merck 100003), natrium hidroksida (NaOH) (Merck 106469), n-heksana (Merck 104367), etil asetat (Merck 109623), diklorometana (Merck 106050), magnesium sulfat heptahidrat (Merck 105886), etanol (Merck 1000983), natrium borohidrida (Merck 100137), kloroform (Merck 102445), asam *p*-toluenasulfonat (PTSA) (Aldrich 161993), aseton dan akuades.

## 2.2 Prosedur Kerja

### 2.2.1 Sintesis 1-(3-Klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldheida (**6**)

Sintesis 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldheida (**6**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 1-[(3-klorofenil)metil]indola-3-karboksaldehida (Wu dkk., 2011). Campuran 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) (0,20 g; 1,05 mmol) dan natrium hidroksida (0,084 g; 2,10 mmol) dalam asetonitril (15 mL) diaduk pada suhu kamar menggunakan *magnetic stirrer* selama 60 menit. 3-Klorobenzil bromida (**9**) (144,43 μL; 1,10 mmol) kemudian ditambahkan dan larutan diaduk lebih lanjut pada suhu kamar selama 120 menit, reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (5:2). Hasil reaksi selanjutnya ditambah akuades dingin (15 mL) dan diekstrak dengan diklorometana (3x15 mL). Fasa organik yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan magnesium sulfat anhidrat, dan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*. Hasil sintesis diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh. Hasil sintesis yang telah murni ditimbang dan diidentifikasi menggunakan spektrometer infra merah, massa, dan NMR.

## III. HASIL DAN DISKUSI

### 3.1 Sintesis 1-(3-Klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldheida (**6**)

Sintesis 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldheida (**6**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 1-[(3-klorofenil)metil]indola-3-karboksaldehida (Wu dkk., 2011). Sintesis dilakukan dengan tahap pertama mereaksikan 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) dan natrium hidroksida dalam asetonitril pada suhu kamar selama 60 menit. Campuran selanjutnya ditambahkan 3-klorobenzil bromida (**9**) serta diaduk lebih lanjut pada suhu kamar. Reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk setelah reaksi berjalan 30 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan R<sub>f</sub> yang berbeda dengan R<sub>f</sub> noda 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) maupun 3-klorobenzil bromida (**9**). Pengamatan pada menit ke-90 menunjukkan bahwa noda 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) dan 3-klorobenzil bromida (**9**) semakin menipis pada noda hasil reaksi, dan pada menit ke-120 menunjukkan tidak terdapat noda 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) maupun 3-klorobenzil bromida (**9**) pada noda hasil reaksi yang mengindikasikan bahwa reaksi telah berlangsung tuntas.

Hasil reaksi selanjutnya ditambah akuades dingin (15 mL) dan diekstrak dengan diklorometana (3x15 mL). Fasa organik yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan magnesium sulfat anhidrat, diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*, dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan kuning sebanyak 0,31 gram. Uji kemurnian hasil sintesis dengan KLT menunjukkan noda tunggal yang mengindikasikan hasil sintesis sebagai senyawa murni dan diperkuat dengan uji titik leleh yang menunjukkan titik leleh pada suhu 177°C.

Identifikasi hasil sintesis dengan spektrometer NMR (dalam pelarut CDCl<sub>3</sub>) memberikan spektrum <sup>1</sup>H-NMR. Spektrum dengan jelas menunjukkan sinyal singlet pada pergeseran kimia 5,40 ppm dengan integrasi 2 yang merupakan sinyal dari dua proton gugus metilena, hal ini mengindikasikan bahwa alkilasi 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) telah berlangsung. Kesimpulan ini diperkuat dengan adanya sinyal singlet pada pergeseran kimia 10,42 ppm dengan integrasi 1 yang merupakan sinyal proton gugus aldehida, dan sinyal multiplet pada pergeseran kimia 6,99-8,14 ppm dengan integrasi 8 merupakan sinyal dari delapan proton aromatik. Data ini menunjukkan hasil sintesis sebagai 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**). Spektrum <sup>13</sup>C-NMR (dalam CDCl<sub>3</sub>) dengan jelas menunjukkan adanya sinyal khas karbon metilena pada pergeseran kimia 51,00 ppm dan karbon gugus karbonil memberikan sinyal pada pergeseran kimia 187,68 ppm. Karbon-karbon aromatik tersier memberikan sinyal pada pergeseran kimia 117,12; 120,30; 122,71; 125,15; 127,24; 129,17; 130,74; 138,01 ppm. Karbon-karbon aromatik kuartener memberikan sinyal pada pergeseran kimia 117,36; 118,54; 135,46; 136,41; 139,15; 142,74 ppm. Spektrum inframerah dengan jelas memperkuat adanya gugus aldehida dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1657 cm<sup>-1</sup> yang merupakan serapan untuk gugus karbonil. Identifikasi hasil sintesis diperkuat dengan identifikasi menggunakan kromatografi cair-spektrometer massa (APCI) yang memberikan spektrum massa ion positif. Spektrum massa menunjukkan puncak ion M<sup>+</sup> pada *m/z* 314,8 yang sesuai dengan massa relatif hasil perhitungan ion M<sup>+</sup> yaitu 314,7.

Reaksi 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) dengan 3-klorobenzil bromida (**9**) dan natrium hidroksida dalam asetonitril diperoleh 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) berupa padatan berwarna kuning sebanyak 0,31 gram atau dengan rendemen 95%. Mekanisme reaksi pembentukan 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) disarankan berlangsung melalui mekanisme reaksi substitusi nukleofilik biomolekular (S<sub>N</sub>2) (Fessenden dan Fessenden, 2010). Reaksi tahap pertama merupakan reaksi asam basa, indola sebagai asam dengan ion hidroksida sebagai basa, yang melibatkan penyerangan ion hidroksida dari natrium hidroksida terhadap hidrogen yang terikat pada atom nitrogen 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) sehingga dihasilkan garam natrium 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) dan hasil samping berupa air. Reaksi tahap kedua melibatkan reaksi anion dari garam natrium sebagai nukleofil dengan 3-klorobenzil bromida (**9**) sehingga melibatkan reaksi substitusi nukleofilik biomolekular (S<sub>N</sub>2). Anion 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) menyerang karbon gugus metilena yang berikatan dengan bromida dari 3-klorobenzil bromida (**9**) sehingga terbentuk ikatan baru antara nitrogen dengan gugus metilena dengan melepaskan

ion bromida sebagai gugus pergi sehingga diperoleh 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) dengan hasil samping berupa natrium bromida.

#### IV. KESIMPULAN

Turunan 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**) berupa 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) telah berhasil disintesis. Reaksi 4-nitroindola-3-karboksaldehida (**5**), natrium hidroksida, dan 3-klorobenzil bromida (**9**) dalam asetonitril pada suhu kamar diperoleh 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) dengan rendemen 95%. Kemiripan struktur 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) dengan indola (**4c**) menyebabkan 1-(3-klorobenzil)-4-nitroindola-3-karbaldehida (**6**) diduga mempunyai aktifitas antikanker.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Mardi santoso, Ph.D selaku dosen pembimbing, Ibu Lidia dari UNAIR atas bantuan analisa spektrometer NMR, Bapak Kaliawan dari POLINEMA atas bantuan analisa LCMS (APCI) dan Mas Erfan dari ITS atas bantuan analisa FTIR, serta DP2M DIKTI atas fasilitas penelitian dan semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Brew, C.T., Aronchik, I., Hsu, J.C., Sheen, J.H., Dickson, R.B., Bjeldanes, L.F., Firestone, G.L. 2006. *Indole-3-carbinol Activates the ATM Signaling Pathway Independent of DNA Damage to Stabilize p53 and Induce G1 Arrest of Human Mammary Epithelial Cells. J. Cancer* 118: 857-868.
- Fessenden, R.J., Fessenden, J.S. 1999. *Kimia Organik Jilid 2* Terjemahan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Edisi Kedua. Jakarta: Erlangga.
- Nguyen, H.H., Lavrenov S.N., Sundar, S.N., David H.H., Tseng Min, Marconett, Crystal, N., Kung, J., Staub, Richard, E., Preobrahenskaya, Maria, N., Bjeldanes, Leonard, F., Firestone, G. L., 2010. *1-Benzil-indole-3-carbinol is a Novel Indole-3-carbinol Derivative with Significantly Enhanced Potency of Anti-proliferative and Anti-estrogenic Properties in Human Breast Cancer Cell. J. Chemico-Biological Interaction.* 186:255-266.
- Padmi, A. 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubeba L.) terhadap Sel HeLa.* Skripsi, Fakultas Farmasi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahmayanti, A. 2014. *Sintesis dan Sitotoksitas Turunan Isatin terhadap Sel Kanker Hati HepG2.* Tesis, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Kementerian Kesehatan RI, 2013. *Situasi Penyakit Kanker.* Jakarta, Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Wu, S., Wei, X., Liu, X., Guo, W., Wang, L., and Fang, B. 2011. *Analogues and Derivatives of Oncrasin-1. A Novel Inhibitor of the C-Terminal Domain of RNA Polymerase II and Antitumor Activities. J. Medchem.* 54: 2668-2679.
- Yayasan Kanker Indonesia. 2006. *Informasi Dasar tentang Kanker.* Cetakan ke-4. Jakarta.