

Studi Sintesis Analog Piokelin III: Sintesis Asam 3-Asetil-2-(2-(2-Hidroksifenil)- 4,5-Dihidrotiazol-4-Il)Tiazolidine-4-Karboksilat

Adel Zamri

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Riau, Pekanbaru 28293
email: adelzamri@yahoo.com

Diterima 02-06-2007

Disetujui 05-10-2007

ABSTRACT

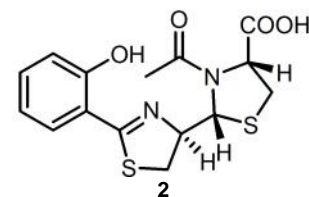
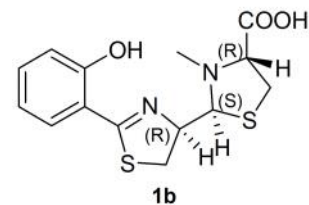
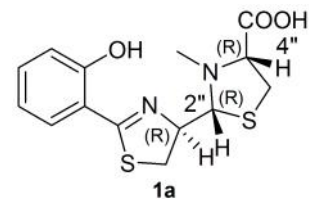
The total syntheses of 3-acetyl-2-(2-(2-hydroxyphenyl)-4,5-dihydrothiazole-4-yl) thiazolidine-4-carboxylic acid, a new pyochelin analog is described. The molecule intermediate 4'-(2-hydroxy-phenyl)-2,3,4,5,2',5',-hexahydro-[2,2']bithiazolil-4-carboxylic acid was obtained in 4 steps reaction from 2-hydroxybenzotrile in good yields. The N-acetylation of molecule intermediate was carried out by acetic anhydride to produce pyochelin analog in moderate yields.

Keywords: analog, pyochelin, siderophore.

PENDAHULUAN

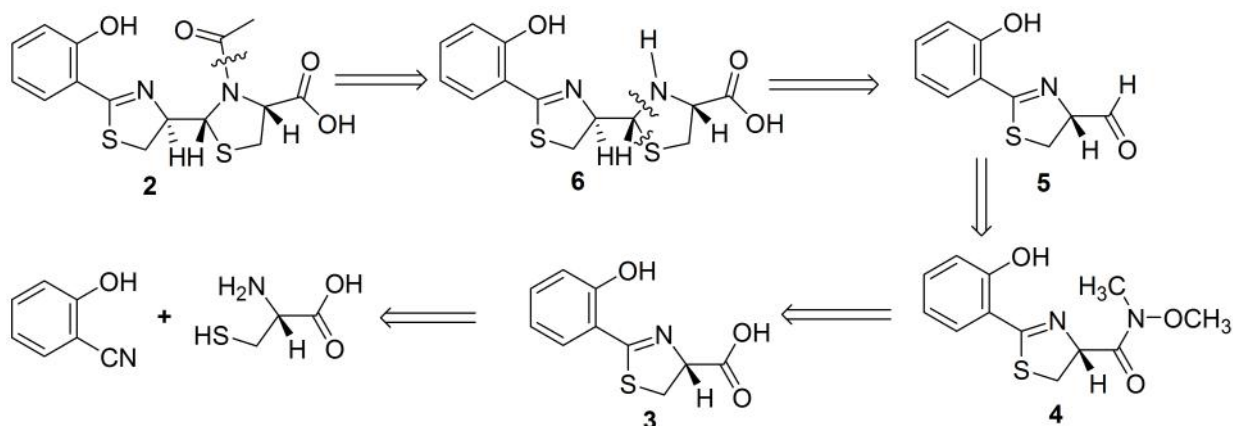
Piokelin **1** merupakan salah satu siderofor yang diproduksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bulkholderia cepacia*. Piokelin alami terdiri dari campuran dua stereoisomer **1a** dan **1b** yang merupakan hasil epimerisasi dari atom C-2" (Schlegel *et al*, 2004; Schlegel *et al*, 2006). Konfigurasi absolut dari piokelin alami **1a** adalah (4'R), (2"R), (4"R) sedangkan diastereomernya **1b** adalah (4'R), (2"S), (4"R). Epimerisasi ini disebabkan oleh sifat alami cincin tiazolidin yaitu berupa basa "Schiff" yang mempermudah pembukaan ikatan C-S atau ikatan C-N dari C-2" (Ponticelli *et al*, 1982; Ino & Murabayashi 2001). Adanya gugus metil pada atom nitrogen yang bersifat pendorong elektron menyebabkan elektron bebas nitrogen akan lebih reaktif sehingga kemungkinan pembukaan cincin tiazolidin menjadi lebih besar (Ankenbauer *et al*, 1988; Zamri & Abdallah 2000).

Untuk mengurangi keaktifan elektron bebas nitrogen tersebut maka pada tulisan ini dilaporkan sintesis analog piokelin **3** dimana gugus metilnya diganti dengan gugus asetil yang bersifat penarik elektron **4**. Dengan demikian diharapkan elektron bebas nitrogen tersebut menjadi kurang aktif sehingga pembukaan cincin dapat dihindari. Sintesis analog piokelin **2** dilakukan sesuai dengan skema retrosintesis berikut (lihat Skema 1):



BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan terdiri dari 2-hidroksibenzenitril (Fluka), R dan S-sistein (Aldrich), N,O-dimetilhidroksilamin HCl (Aldrich), EDCI (Aldrich), LAH (Aldrich), dan DIEA (Aldrich). Pelarut yang digunakan terdiri dari diklorometana, etanol, etil asetat, dan THF. Peralatan yang digunakan adalah labu bulat leher tiga, kondensor, pengaduk magnet, rotary evaporator, pompa vakum, lampu UV, Buchi SMP-20, spectrometer NMR (Bruker, 500 MHz), dan Spektrometer massa (Fisons, Trio 2000).



Skema 1. Analisis retrosintesis

Metode sintesis asam 2-hidroksifeniltiazolin karboksilat 3 (modifikasi metoda Zamri & Abdallah 2000). 2-Hidroksibenzonitril (0,6 g, 5 mmol), (R) sistein (1,21 g, 10 mmol) dilarutkan ke dalam campuran buffer fosfat pH 6,4 dan methanol 1:1 (20 ml). Campuran diaduk selama 36 jam pada temperatur 50°C, saring dan pekatkan dengan rotari evaporator. Air 5 ml ditambahkan, dan campuran diekstraksi dengan diklorometan (3 x 5 ml). Lapisan organik dicuci dengan air, larutan jenuh NaCl, dan dikeringkan. Setelah penguapan pelarut dengan evaporator diperoleh padatan putih kekuningan, rekristalisasi dilakukan dengan etanol sehingga diperoleh padatan putih sebanyak 782 mg. Rendemen : 70,1%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 3,51-3,76 (2H, *m*), 5,42 (1H, *t*, *J* = 8,3 Hz), 6,89 (1H, *t*), 7,03 (1H, *d*), 7,34-7,65 (1H, *m*), 7,41 (1H, *m*). MS (EI): *m/z* = 223 (55); 178 (100); 119 (17,2); 59 (38,04).

Metode sintesis 2-(2-hidroksi-fenil)-4,5-dihidrotiazol-4-karboksilat metoksi-metil-amida 4. Diklorometan 10 ml (0°C) ditambahkan larutan tiazolin 3 (2,20 g, 10 mmol), kemudian ditambahkan EDCI (11 mmol), dilanjutkan dengan penambahan larutan yang mengandung N,O-dimetilhidroksilamin HCl (1,07 g, 11 mmol) dan DIEA (200 mg, 12 mmol) dalam diklorometan. Campuran reaksi diaduk selama 3 jam dan temperatur reaksi dibiarkan naik sampai temperatur kamar. Setelah penguapan pelarut, residu dimurnikan dengan kromatografi kolom (heksan/etilasetat) dan diperoleh padatan kuning sebanyak 2,23 g. Rendemen: 84%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 3,28 (s, 3-H), 3,48 (1H, *J* = 9,2 Hz, *dd*), 3,77 (1H, *J* = 8,8 Hz, *t*), 3,81 (1H, *s*), 5,70 (1H, *t*, *J* = 8,8 Hz), 6,88 (1H, *t*), 6,98 (1H, *d*), 7,34 (1H, *dd*), 7,42 (1H, *m*). MS (CI, NH₃⁺): (*M*+H)⁺ = 267,2 (28); 237,2 (5); 236,2 (12); 178 (100).

Metode sintesis asam 2'-(2-hidroksifenil)-2'',3'',4'',5'',4',5'-heksahidro-[2,4']bitiazolil-4''-karboksilat 6. Hidroksamat 4 (930 mg, 3,5 mmol) dilarutkan dalam THF (5 ml) dan larutan didinginkan 0°C, LAH (137 mg, 3,65 mmol) ditambahkan sedikit demi sedikit lalu reaksi dibiarkan selama 20 menit. Kemudian berturut-turut ditambahkan metanol (1 ml), amonium klorida jenuh (1 ml) dan HCl 5%. Campuran reaksi diekstraksi dengan etil asetat (3 x 5 ml), keringkan dan uapkan pelarutnya sehingga diperoleh aldehyd 5. Tanpa pemurnian aldehyd 5 dilarutkan dalam campuran etanol (5 ml) dan air (1 ml), potasium asetat (3 eq) dan (R)-sistein HCl (4 mmol) dan reaksi diaduk selama 24 jam. Air (10 ml) ditambahkan, atur pH sampai 5,0 dan ekstraksi dengan etil asetat (3 x 5 ml), keringkan dan uapkan pelarut hingga diperoleh suatu busa berwarna kuning (640 mg). Rendemen: 59%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 3,34-3,40 (2H, *m*), 3,49-3,74 (2H, *m*), 4,05 (1H, *t*, *J* = 7,1 Hz), 4,73 (1H, *d*, *J* = 7,8 Hz), 5,08 (1H, *q*, *J* = 8,3 Hz), 6,89 (1H, *m*), 7,01 (1H, *m*), 7,38 (1H, *m*), 7,41 (1H, *m*). MS (FAB⁻): *m/z* (%): 309,0 [*M*-H]⁻(100). HR-FABMS (*m/z*): 311,0529 [*M*+H]⁺ (dihitung 311,0524 untuk C₁₃H₁₅N₂O₃S₂).

Metode sintesis asam 3-asetil-2-(2-hidroksifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-il)tiazolidin-4-karboksilat 2. Ke dalam campuran asam 2'-(2-hidroksifenil)-2'',3'',4'',5'',4',5'-heksahidro-[2,4']bitiazolil-4''-karboksilat 6 (66 mg, 0,21 mmol), Na₂CO₃ (18 mg, 0,17 mmol) dalam campuran dioksan dan air 3:1 (4 ml) pada 0°C, ditambahkan asam asetat anhidrid (26 mg, 0,25 mmol). Setelah pengadukan selama satu malam pada temperatur kamar, air (50 ml) ditambahkan dan diasamkan sampai pH 5,0, ekstrak dengan EtOAc (3 x 10 ml). Lapisan organik dicuci dengan NaCl jenuh

dan dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan pekatkan dengan evaporator sehingga didapatkan busa berwarna kuning sebanyak 38,4 mg. Rendemen: 52%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 2,15 (3H, s), 3,20-3,40 (2H, m), 3,45 (2H, m), 4,70 (1H, m), 4,90 (1H, m), 5,30 (1H, m), 6,86 (1H, t, *J* = 7,69 Hz), 6,98 (1H, d, *J* = 7,16 Hz), 7,34 (1H, t, *J* = 6,8 Hz), 7,40 (1H, d, *J* = 7,46 Hz). MS (FAB-); *m/z* (%): 351,0 [M-H]⁺(100) HR-FABMS (*m/z*): 353,4285 [M+H]⁺ (dihitung 353,4281 untuk C₁₅H₁₆N₂O₄S₂).

HASIL DAN PEMBAHASAN

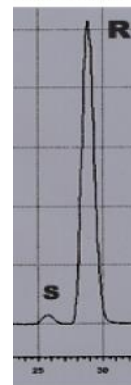
Sintesis 2-hidroksitiazolin karboksilat **3** dilakukan sesuai dengan metoda Zamri & Abdallah (2000), yaitu melalui kondensasi 2-hidroksibenzonitril dengan R-sistein dalam suatu larutan penyangga fosfat. Larutan penyangga fosfat berfungsi sebagai penstabil kation yang terbentuk dan mendorong siklisasi melalui serangan oleh atom nitrogen pada karbon yang teraktivasi (Huang *et al*, 1998). Kondensasi ini sering menimbulkan epimerisasi pada C-4 terutama bila dilakukan pada kondisi basa sehingga menghasilkan produk campuran R dan S. Pada kondisi sedikit asam epimerisasi juga terjadi tetapi persentasenya relatif kecil yaitu sekitar 27,6% (Zamri & Abdallah 2000). Pemurnian enasiomer dilakukan rekristalisasi dalam etanol sehingga dihasilkan 2-hidroksitiazolin karboksilat yang relatif lebih murni dengan % R/S = 97,2/2,8 (Gambar 1)

Tiazolin karboksilat **3** selanjutnya diubah ke turunan hidroksamat **4** melalui penambahan N,O-dimetilhidroksilamin dan suatu agen pengaktif. Pada publikasi sebelumnya digunakan agen pengaktif DECP (diethylsianofosfonat), namun ditemukan epimerisasi pada C-4 dengan kemurnian optik senyawa **3** 72% (Zamri & Abdallah, 2000). Untuk menghindari masalah tersebut, pada tulisan ini dicoba menggunakan agen pengaktif EDCI (etilendiamin karbodiimid). Di samping harganya relatif lebih murah dibanding DECP ternyata hasilnya juga cukup baik. Dengan metoda ini epimerisasi dapat dikurangi menjadi 4-8%, dan setelah proses rekristalisasi senyawa **4** diperoleh dengan kemurnian optik 97,7%.

Sintesis senyawa **5** dilakukan dengan menggunakan metoda Zamri & Abdallah (2000) yaitu reduksi senyawa **4** dengan litium aluminium hidrida (LAH) dan pembentukan cincin tiazolidin dengan



Sebelum rekristalisasi % R/S = 72,4/27,6

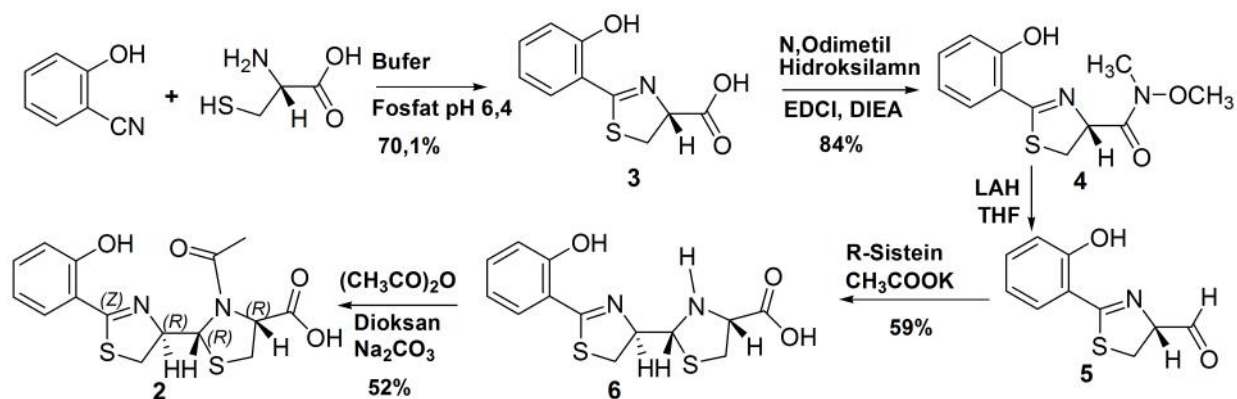


Setelah rekristalisasi % R/S = 97,2/2,8

Gambar 1. Kromatogram 2-hidroksitiazolin karboksilat (HPLC kolom Chiralcel OD, eluen Heksan/isopropanol 95/5, Kecepatan alir 0,5 ml/menit, Tekanan 19 PSI)

penambahan R-sistein. Pada publikasi terdahulu (Zamri & Abdallah 2000) sebagai pelarut digunakan eter, namun ditemukan kesulitan dalam "work up". Pada laporan ini digunakan THF dan hasilnya cukup baik terutama lebih mudah dalam pekerjaan "work up" (Skema 2). Aldehid **5** yang diperoleh langsung dikondensasikan dengan R-sistein dalam susana sedikit basa sehingga diperoleh senyawa **6** dengan rendemen moderat 59%. Cincin tiazolidin yang terbentuk sangat mudah mengalami reaksi pembukaan cincin terutama dalam larutan melalui pemutusan ikatan C-S (Canle *et al*, 1996), dan penutupan kembali cincin melalui serangan atom S sehingga konfigurasi C-2" mengalami epimerisasi. Salah satu upaya untuk mengurangi reaktivitas elektron bebas dari atom N cincin tiazolidin adalah dengan mengikatkan gugus asetil pada atom N tersebut (Szilagy & Gyorgydeak 1979; Braibante *et al*, 1999).

Untuk maksud tersebut di atas, senyawa **6** diubah ke senyawa **2** melalui reaksi N-asetilasi dengan menggunakan asam asetat anhidrid dalam air (Szilagy & Georydeak 1979) dan diperoleh rendemen yang moderat 52%. Suatu hal yang sangat menarik adalah tidak ditemukannya O-asetilasi pada gugus fenol, hal



Skema 2. Sintesis analog piokelin 2

tersebut mungkin disebabkan atom H dari fenol tidak bebas karena terperangkap antara atom O dan atom N dari gugus tiazolin. Pengujian tingkat kestabilan analog piokelin 2 dilakukan dengan cara melarutkannya ke dalam kloroform dan dibiarkan pada temperatur kamar selama 3 hari, hasil spektrum H NMR menunjukkan tidak adanya perubahan struktur molekul senyawa 2 tersebut.

KESIMPULAN

Asam 3-asetil-2-(2-(2-hidroksifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-il)thiazolidin-4-karboksilat **2** telah berhasil disintesis dari molekul awal 2-hidroksibenzonitril dalam 5 tahap reaksi dengan rendemen total 18%. Senyawa yang diperoleh menunjukkan tingkat kestabilan struktur lebih baik dibandingkan dengan piokelin alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada DIKTI melalui proyek Hibah Bersaing XII atas bantuan dana risetnya dan Mr. Roland Gross dari Universitas Louis Pasteur untuk bantuan pengerjaan spektrum NMR dan MS.

DAFTAR PUSTAKA

Ankenbauer, R.G., Toyokuni, T., Staley, A., Rinehart, Jr., K.L., & Cox, C.D. 1988. Synthesis and biological activity of

- pyochelin, a siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol* **170**: 5344–5351.
- Braibante, M.E.F., Braibante, H.S., & Costenaro, E.R. 1999. The use of Curtius rearrangement in the synthesis of 4-aminothiazolines. *Synthesis* **6**: 943-946.
- Canle, M., Lawley, A., McManus, E.C., & More O'Ferall, R.A. 1996. Rate equilibrium constants for oxazolidine and thiazolidine ring-opening reactions. *Pure & Appl. Chem.* **68**: 813-818.
- Huang, T.C., Huang, L.Z., & Ho, C.T. 1998. Mechanistic Studies on Thiazolidine Formation in Aldehyde/Cysteamine Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 224-227.
- Ino, A. & Murabayashi, A. 2001. Synthetic studies of thiazoline and thiazolidine-containing natural products. Part 3: total synthesis and absolute configuration of the siderophore yersiniabactin. *Tetrahedron* **57**: 1897-1902.
- Ponticelli, F., Marinello, E., & Missale, M.C. 1982. Cis-trans isomerization of 2-(4-pyridyl)-substituted thiazolidine-4-carboxylic acids; pH dependence by ¹H and ¹³C NMR. *Org. Magn. Res.* **20**: 138-140.
- Schlegel, K., Taraz, K., & Budzikiewicz, H. 2004. The stereoisomers of pyochelin, a siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *BioMetals* **17**: 409–414.
- Schlegel, K., Lex, J., Taraz, K., & Budzikiewicz, H. 2006. The X-Ray struktur of pyochelin Fe+3. *Z. Naturforsch* **61c**: 263–266.
- Szilagyi, L. & Gyorgydeak, Z. 1979. Comments on the putative stereoselectivity in cystein-aldehyde reactions. Selective C(2) inversion and C(4) epimerization in thiazoline-4-carboxylic acids. *J. Am. Chem. Soc.* **101**: 427-432.
- Takuma, S., Hamada, Y., & Shioiri, T. 1982. An extensive survey by the use of high performance liquid chromatography on racemization during the coupling of benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-valine with L-proline-*t*-butyl ester. *Chem. Pharm. Bull* **30**: 3147-3153.
- Zamri, A. & Abdallah, M.A. 2000. An improved stereocontrolled of pyochelin, Siderophore of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Tetrahedron* **56**: 249-256.