

ISOLASI (-)-TETRAHIDROALSTONINA DARI *Ophiorrhiza teysmaniana*.

(The Isolation of (-)-tetrahydroalstonine from
Ophiorrhiza teysmaniana *)

Dayar Arbain

ABSTRACT

The major alkaloid of Ophiorrhiza teysmaniana has been isolated in a moderate yield and based on its spectroscopic data and direct comparison to the authentic sample it was identified as (-)-tetrahydroalstonine (I).

PENDAHULUAN

Sumatera sangat kaya dengan jenis-jenis tumbuhan tropika, lebih kaya apabila dibandingkan dengan tumbuhan Jawa atau Sulawesi dan kira-kira sebanding dengan tumbuhan Kalimantan dan Irian (Meijer, 1982). Dibandingkan dengan tumbuhan Jawa, tumbuhan Sumatera ini belum banyak diteliti dan masih membutuhkan para ahli botani untuk mengungkapkan kekayaan yang sebenarnya dari flora Sumatera ini (Van Steenis, 1950).

Diantara jenis-jenis tumbuhan Sumatera ini yang belum pernah diteliti sebelumnya baik kandungan kimia ataupun aktifitas biologisnya adalah jenis *Ophiorrhiza* yang tergolong pada famili Rubiaceae. Famili Rubiaceae ini sendiri terkenal karena banyak jenis-jenis tumbuhan yang termasuk famili ini mempunyai nilai ekonomi tinggi karena kandungan kimianya seperti kina, kopi, gambir, dan akar ipeka. Tumbuhan *Ophiorrhiza* ini relatif belum banyak yang diteliti dan yang pertama kali menarik perhatian para ahli adalah *Ophiorrhiza mungos* yang kemudian diketahui mengandung alkaloida kamptotesina yang aktif terhadap beberapa jenis kanker dan virus (Cordell, 1981). *Ophiorrhiza* lain yang telah diteliti kandungan kimianya adalah *Ophiorrhiza japonica* dan *Ophiorrhiza kuraiwai* yang tumbuh di Jepang (Aimi, et al, 1985, 1986).

Di Sumatera Barat ditemukan juga jenis-jenis *Ophiorrhiza* ini. Beberapa diantaranya mempunyai nilai tersendiri sebagai "ramuan" obat tradisional. Sebagai bahagian dari penelitian obat tradisional dan pencarian senyawa aktif dari tumbuhan Sumatera (Arbain, 1991a), telah diteliti kandungan kimia beberapa jenis *Ophiorrhiza* yang terdapat di Sumatera Barat, *Ophiorrhiza discolor* (Arbain, et al, 1991b), *Ophiorrhiza major* (Arbain, et al, 1992), *Ophiorrhiza filistipula* (Arbain, et al, 1993a), *Ophiorrhiza cf. ferruginea* (Arbain, et al, 1993b), *Ophiorrhiza marginata* dan *Ophiorrhiza longiflora* (Arbain, 1993c) yang ternyata mengandung alkaloida-alkaloida jenis indol yang telah dikenal serta beberapa alkaloida indol baru dengan struktur yang menarik.

Ophiorrhiza teysmaniana ditemukan di daerah Lubuk Bonta, Lereng Gunung Tandikat merupakan semak basah dengan tinggi sekitar 20 cm dengan populasi kecil di daerah-daerah yang basah dan lembab. Tumbuhan ini positif mengandung alkaloida ketika dites dengan menggunakan metoda Culvenor-Fitzgerald (Culvenor and Fitzgerald, 1961) di lapangan. Belum diketahui penggunaan tradisional tumbuhan ini.

BAHAN DAN METODA

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini sama dengan yang dikomunikasikan sebelumnya (Arbain, et al, 1991c). Contoh tumbuhan yang digunakan untuk percobaan ini adalah bahagian atas tanah (batang, daun, dan bunga) segar yang dikumpulkan di daerah Lubuk Bonta, di lereng Gunung Tandikat, Sumatera Barat pada bulan September. Spesimen herbarium *Ophiorrhiza teysmaniana* (No. Koleksi DA 922) diidentifikasi di Herbarium Bogoriense. Duplikat spesimen herbarium ini dapat dilihat di Herbarium Bogoriense dan Herbarium Biologi Universitas Andalas.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Contoh tumbuhan segar *Ophiorrhiza teysmaniana* segar (6 kg) dipotong halus dan langsung dimaserasi dengan metanol (2 x 12 l x 5 hari). Gabungan ekstrak metanol yang didapat diuapkan *in vacuo* sampai volume ca 300 ml, selanjutnya diencerkan dengan asam sulfat 5% sampai volume ca 1 l, diendapkan semalam dan kemudian didekantasi.

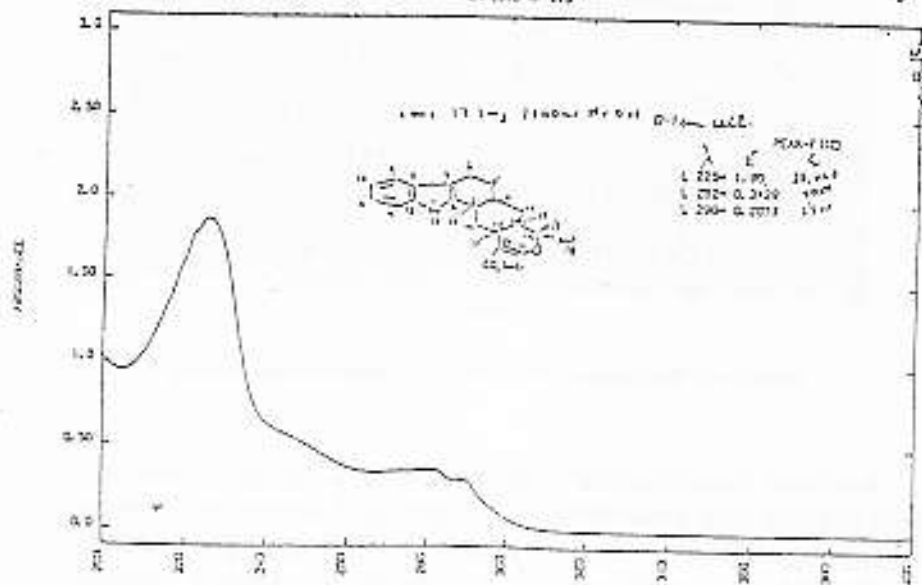
Fraksi yang larut dalam asam ini dicuci dengan petroleum eter (3 x 200 ml) dan kloroform (3 x 200 ml) selanjutnya dibasakan dengan ammonia sampai pH \pm 8 dan diekstraksi kembali dengan kloroform (4 x 500 ml). Gabungan ekstrak kloroform ini dicuci dengan larutan garam jenuh, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan diuapkan dengan rotari evaporator sehingga didapat alkaloida kasar berbentuk masa kental kecoklatan (2,10 g).

Alkaloida kasar ini (2 g) dikromatografi kolom dengan silika gel 60 (20 g) dan dielusi dengan kloroform yang kepolarannya ditingkatkan dengan penambahan metanol. Fraksi eluat yang keluar dari kolom (20 ml) ditampung, dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi-fraksi yang memberikan pola kromatografi lapis tipis yang sama digabung, diuapkan dan dikromatografi radial dengan menggunakan plat silika gel PF₂₅₄ (2 mm) dengan menggunakan pengelusi etil asetat. Fraksi yang berasal dari pita utama ditampung, diuapkan, direkristalisasi dengan campuran diklorometana-petroleum eter dan menghasilkan kristal jarum tidak berwarna yang pada penyimpanan berubah menjadi kekuningan (110 mg, 0,002%), $[\alpha]_D^{20}$ -116° (c. 0,5 CHCl₃). UV (MeOH) λ_{max} 226, 282, 290 (38.000, 7.000, 5.900). Tidak terjadi penurunan titik leleh campuran dengan tetrahidroalstonina yang sebelumnya diisolasi dari *Ophiorrhiza discolor* (Arbain, et al, 1991b).

HASIL DAN DISKUSI

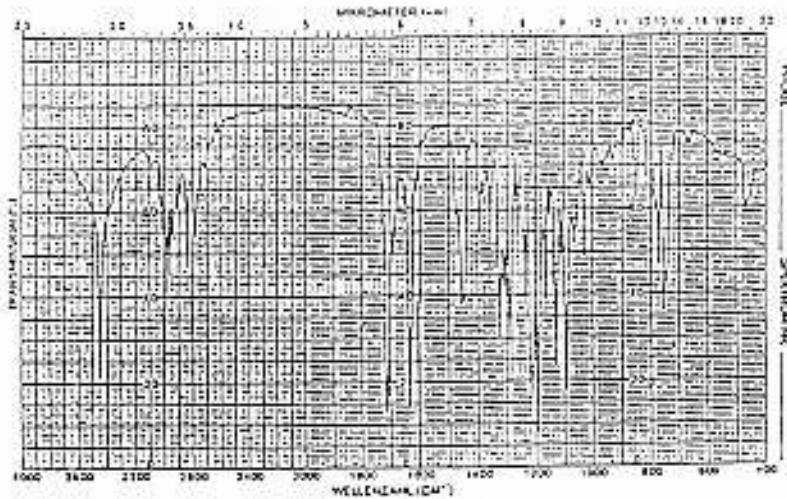
Alkaloida kasar yang diperoleh dengan cara ekstraksi bahagian atas tanah ("aerial parts") secara klasik terlihat hanya mengandung satu alkaloida utama pada analisis kromatografi lapis tipis. Pemisahan alkaloida utama ini secara kromatografi radial dengan menggunakan etil asetat sebagai pengelusi menghasilkan satu fraksi alkaloida utama yang setelah direkristalisasi dengan campuran diklorometana-petroleum eter menghasilkan kristal jarum yang berubah menjadi sedikit kekuningan pada penyimpanan dan meleleh pada 230°C.

Spektrum ultraviolet senyawa ini (gambar 1) memperlihatkan adanya serapan pada 282 nm yang biasa diberikan oleh alkaloida yang mempunyai kerangka indol.



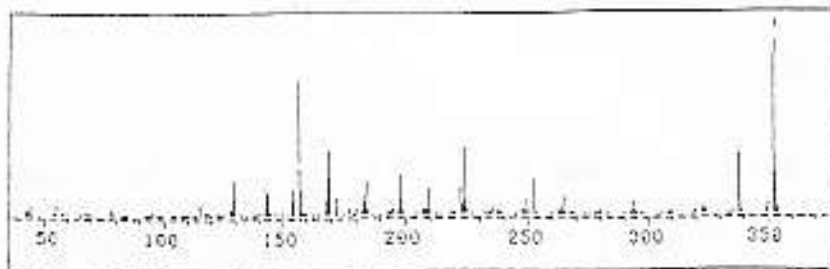
Gambar 1. Spektrum ultraviolet (-)-tetrahydroalstonine.

Spektrum inframerah senyawa ini memperlihatkan adanya serapan kuat pada bilangan gelombang 2450 cm^{-1} yang merupakan karakteristik regang N-H indol. Pada 1720 cm^{-1} terlihat lagi adanya serapan yang intensif oleh gugus fungsi C=O ester yang didukung oleh adanya serapan pada 1200 cm^{-1} yang merupakan ciri khas regang C-O-ester. Terlihat juga serapan yang kuat pada bilangan gelombang 1100 cm^{-1} yang diduga berasal dari regang C-O-C ester. (Gambar 2).



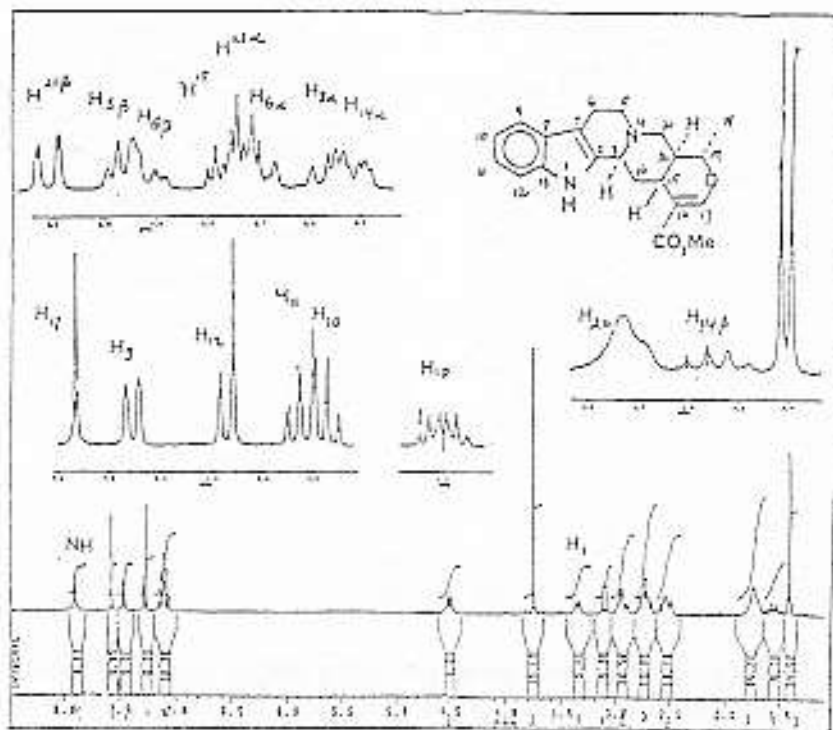
Gambar 2. Spektrum inframerah (-) - tetrahydroalstonine.

Spektrum masa (Gambar 3) memperlihatkan adanya ion molekul pada m/z 352 yang sesuai dengan "nitrogen rule" memberikan indikasi bahwa senyawa ini mempunyai jumlah atom nitrogen genap dalam molekulnya. Spektrum masa ini memperlihatkan adanya fragmen molekul pada $M^+ - 15$ karena hilangnya $-CH_3$, $M^+ - 31$ karena hilangnya OCH_3 dan $M^+ - 59$ yang merupakan hilangnya fragmen $COOCH_3$.



Gambar 3. Spektrum masa (-) - tetrahydroalstonine.

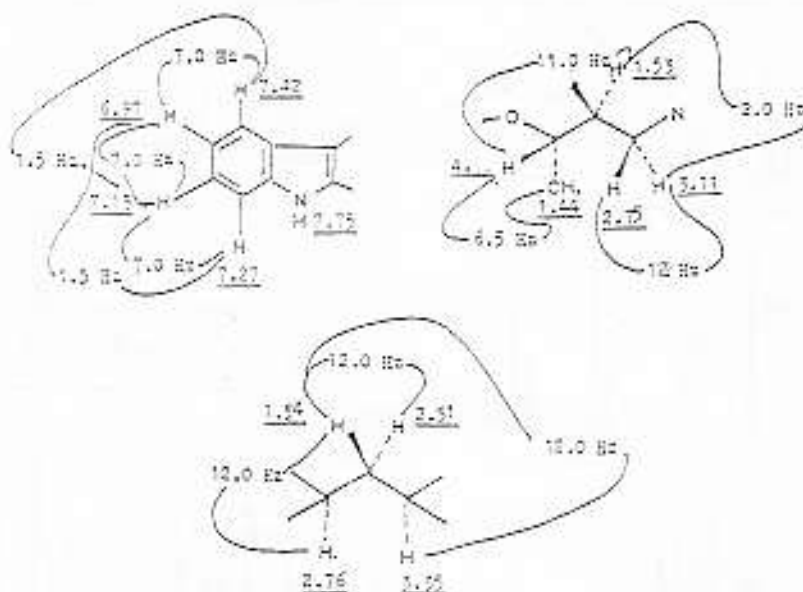
Spektrum ^1H RMI (Gambar 4) memperlihatkan adanya 4 proton aromatik yang saling terkopling satu sama lain dengan kopling orto, meta dan kopling para yang sangat kecil. Disamping itu terlihat juga sinyal singlet yang berasal dari satu proton pada 7,85 ppm yang berasal dari proton N-H indol. Adanya sinyal singlet tajam pada 7,57 ppm yang dari integrasinya diketahui berasal dari satu proton cukup jadi tanya tanya, apakah berasal dari proton aromatik atau berasal dari proton yang terikat dengan atom C_{sp^2} yang cukup terlindungi ("shielding") oleh elektron lain. Sinyal dengan perbanyakan d,q, pada 4,51 ppm yang terkopling dengan gugus metil pada 1,44 ppm memberikan indikasi bahwa proton ini terikat dengan atom karbon yang terikat dengan atom karbon oksigen.



Gambar 4. Spektrum ^1H RMI (-) - tetrahydroalstonine.
(300 MHz, CDCl_3).

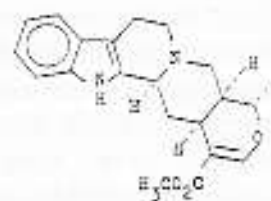
Teknik dekopling selanjutnya memperlihatkan bahwa proton ini terkopling lagi dengan proton pada 1,53 ppm yang terkopling lagi dengan dua proton lain pada 3,11 ppm (dd, $J=2$ Hz) dan dengan proton pada 2,75 ppm. Dari pengamatan percobaan dekopling selanjutnya terlihat bahwa sinyal pada 3,35 ppm terkopling dengan sinyal pada 1,54 ppm ($J = 12$ Hz). Proton pada 1,54 ppm ini mempunyai perbandingan sinyal 4 dengan konstanta kopling masing-masing 12 Hz karena terkopling lagi dengan proton pada 2,51 Hz yang terkopling lagi dengan proton pada 2,76 ppm. Korelasi konstanta kopling ini dapat dipahami berdasarkan persamaan karplus (Jackman and Sternhel, 1978).

Dari spektrum ^1H RMI ini dapat diduga bahwa molekul alkaloida hasil isolasi dari *Ophiorrhiza teysmantana* ini mempunyai bahagian kerangka molekul bahagian-bahagian di bawah ini :

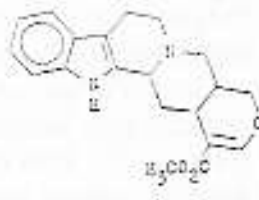


Empat proton lain yang saling terkopling dengan pola yang kurang jelas diperkirakan berasal dari gugus $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ dari cincin tetrahidropiridoindol. Disamping itu terlihat juga adanya sinyal metil dari ester pada 3,77 ppm.

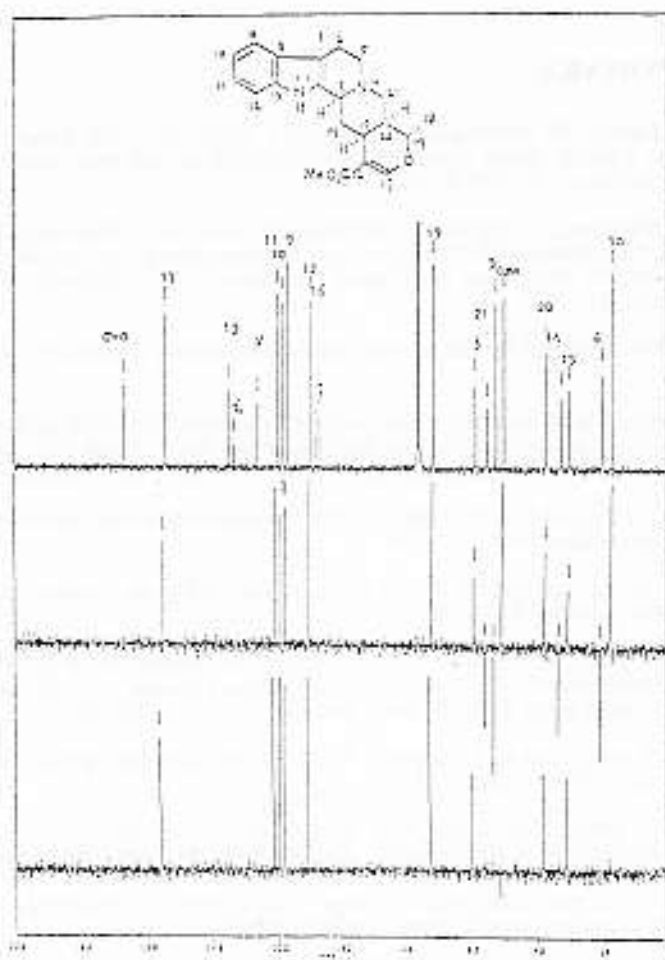
Spektrum ^{13}C RMI (Gambar 5) dengan penggunaan teknik dekopling memperlihatkan adanya 6 buah atom karbon kuartener, 5 buah CH tersier, 4 buah gugus CH_2 sekunder dan satu buah gugus metil.



(I)



(II)



Gambar 5. Spektrum ^{13}C RMI (-)-tetrahydroalstanine (Dept).
(75.5 MHz, CDCl_3)

Semua data di atas setelah digabung menghasilkan rumus empiris $C_{12}H_{24}N_2O_3$ dengan struktur kerangka dasar heteroyohimbina (II). Penelusuran kepustakaan lebih lanjut memperlihatkan bahwa data 1H RMI senyawa ini identik dengan tetrahidroalstonina (I) (Lounasmaa and Siew, 1980) demikian juga dengan data pergeseran kimia atom-atom karbon pada spektrum ^{13}C RMI (Wenkert, *et al.*, 1976). Sudut putar optik, dan uji banding langsung titik leleh campuran tetrahidroalstonina baku (Arbain, *et al.*, 1991a) akhirnya memberikan kepastian bahwa senyawa alkaloida utama hasil isolasi dari *Ophiorrhiza teysmantiana* ini adalah (-)-tetrahidroalstonina (I).

DAFTAR PUSTAKA

- Aimi, N., T. Tsuyuki, H. Murakami, S. Sakai and J. Haginawa, 1985, Structure of Ophiorrhizines A and B: Novel Type Glucoindole Alkaloids Isolated from *Ophiorrhiza* spp., *Tetrahedron Lett.*, 5299-5302.
- Aimi, N., H. Murakami, T. Tsuyuki, T. Nishimura, S. Sakai and J. Haginawa, 1986, Hidrolitic Degradation of β -Carboline Type Monoterpenoid Glucoindole Alkaloids. A Possible Mechanism for Harman Formation in *Ophiorrhiza* sp., *Chem. Pharm. Bull.*, 34 : 3064.
- Arbain, D., 1990, Alkaloida Peptida Lingkar *Antidesma montana*, *Andalas*, 2 : 6, 55-65.
- Arbain, D., 1991a, Hutan Sumatera : Dari Sumber Kehidupan Tradisional ke Sumber Senyawa Aktif Biologis dan Senyawa Kimia Ekonomi, Pidato Ilmiah Dies Natalis Universitas Andalas 1991 (Lihat juga daftar publikasi), Universitas Andalas.
- Arbain, D., D.P. Putra, and M.V. Sargent, 1991b, Tetrahydroalstonine from *Ophiorrhiza discolor*, *Planta Med.*, 57 : 396.
- Arbain, D., D. Parlaungan, dan M. Syarif, 1991c, Alkaloida Peptida Lingkar *Antiferma tetrandra*, *Andalas*, 6 : 73-78.
- Arbain, D., D.P. Putra, L.T. Byrne, M.V. Sargent, B.W. Skelton and A.H. White, 1992, Ophiorrhizine, A New Quaternary Indol Alkaloid Related to Cinchonamine from *Ophiorrhiza major* Ridl., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 663-664.
- Arbain, D., D.P. Putra, and M.V. Sargent, 1993a, The Alkaloids of *Ophiorrhiza fistipala*, *Aust. J. Chem.*, 46 : 977-985.
- Arbain, D., D.P. Putra, N.H. Lajis, A.H. White, and M.V. Sargent, 1991b, The Alkaloids of *Ophiorrhiza cf. ferruginea*, *Aust. J. Chem.*, 46 : 969 - 976.
- Arbain, D., 1993c, Penelitian Kimia Beberapa Jenis Tumbuhan *Ophiorrhiza* yang Terdapat di Sumatera Barat III. Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Cordell, G.A., 1981, Introduction to Alkaloids, A Biogenetics Approach, John Wiley and Sons, New York.
- Culvenor, C.C.J., and J.S. Fitzgerald, 1963, A Field Method for Alkaloids Screening of Plants, *J. Pharm. Sci.*, 52 : 303 - 304.

- Jackman, L.M., and S. Sternhell, 1978, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 2nd Ed., Pergamon Press, Oxford.
- Lounasmaa, M., and K.K. Siew, 1980, A 400 MHz ¹H NMR Study of the Eight Basic Heteroyohimbine Alkaloids, *Tetrahedron*, 36 : 1607 - 1611.
- Meijer, W., 1982, Sumatra as Seen by a Botanist, *Indonesia Circle*, 25 : 17 - 27.
- Van Steenis, C.C.J., 1950, Flora Malesiana, vol. I cxlv, P. Noordhoff Ltd. Groningen.
- Wenkert, E., J.C., H.P.S. Chawla, D.W. Cochran, E.W. Hagaman, J.C. King, and K. Orto, 1976, General Methods of Synthesis of Indole Alkaloids 14. Short Routes of Construction of Yohimboid and Ajmalicinoid Alkaloid System and Their ¹³C NMR Spectral Analysis, *J. Am. Chem. Soc.*, 98 : 3645- 3654.

Acknowledgment

I thank Department of Education the Republic of Indonesia for a grant No. 43/P4M/DPPM/L.3311/BBI/1992, the Network for the Chemistry of Biologically Important Natural Products for obtaining the spectral data and Dr. Soedarsono Riswan and Ms. Afriastini for identifying the herbarium specimen.