

Sintesis dan Uji Antiinflamasi Senyawa (R)-3-(4-Florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol Serta Pengaruhnya terhadap Kerusakan Lambung

Kamal Rullah^{1*}, Syilfia Hasti¹, Destawira Hariani¹, Putri Bela Utama¹, Hilwan Yuda Teruna^{1,2}, dan Adel Zamri²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

²Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

ABSTRAK

Telah dilakukan uji antiinflamasi senyawa pirazolin secara *in vivo* dengan metode *Paw Edema*. Senyawa pirazolin (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol disintesis dari senyawa calkon yang merupakan senyawa antara flavonoid dengan metode gerus pada kondisi basa tanpa pelarut dan pada suhu kamar. Hasil sintesis senyawa ini ditentukan berdasarkan spektra ¹H-NMR dan HR-MS. Pemberian suspensi senyawa pirazolin (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol secara oral dengan dosis 20, 40, 80 mg/kgBB pada tikus putih (*Rattus novergicus*) betina menunjukkan hasil bahwa senyawa tersebut pada dosis 40 dan 80 mg/kgBB menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan dengan obat standar celecoxib dan piroksikam ($p>0,05$). Untuk melihat pengaruh pemberian senyawa tersebut terhadap lambung dilakukan pengamatan terhadap kerusakan lambung tikus tersebut. Hasil penelitian tersebut menunjukkan pemberian suspensi senyawa pirazolin (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol secara oral dengan dosis 20, 40, 80 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya kerusakan lambung dengan indeks tukak (Iu) yang sama dengan kontrol negatif tanpa pemberian obat (Iu 2,00) dibandingkan dengan obat standar celecoxib (Iu 35,99) dan piroksikam (Iu 70,01).

Kata Kunci: Antiinflamasi, kerusakan lambung, pirazolin, sintesis

ABSTRACT

An *in-vivo* anti-inflammatory study of pyrazoline compound synthesized from chalcone has been carried out using *Paw Edema* method. Compound (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4, 5-dihidro-1H-pyrazole was synthesized by milling method in alkaline condition, with no solvent addition and was conducted under room temperature. Characterization of the synthesized compound was determined using ¹H-NMR and HR-MS spectrometer. As for anti-inflammatory study, suspension of compound (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pyrazol was administrated orally to white female mice (*Rattus novergicus*) with doses 20, 40, 80 mg/kg bw, respectively. The result showed that the compound with doses 40 and 80 mg/kg bw exhibited insignificant difference compared with standard drugs Celecoxib and Piroksikam ($p>0,05$). Futhermore, all doses of compound did not cause any damage of stomach organ of mice, which is given the same "ulcer index" (Iu) with negative control (Iu 2,00). Meanwhile, ulcer index for Celecoxib of Iu 35,99 and Piroksikam of Iu 70,01.

Keywords: Antiinflammatory, pyrazoline, synthesized, ulcer

PENDAHULUAN

Obat analgesik-antipiretik serta obat-obat *Nonsteroid Antiinflammatory Drugs* (NSAID) merupakan salah satu kelompok obat yang banyak diresepkan atau digunakan tanpa resep dokter untuk pengobatan inflamasi. Cara kerja NSID adalah dengan penghambat sintesa prostaglandin yang merupakan salah satu mediator inflamasi utama dengan penghambatan enzim siklooksigenase (COX). Enzim ini terdapat dalam dua bentuk isoform yang disebut COX-1 dan COX-2 (Katzung, 2005). NSAID dengan penghambat COX-2 terus dikembangkan untuk memperoleh obat antiinflamasi dan analgesik yang kurang menimbulkan efek samping terhadap pencernaan dan pendarahan.

Celecoxib (**1**) merupakan senyawa yang memiliki inti pirazolin bekerja selektif terhadap penghambatan COX-2 dibanding COX-1. Pendekatan yang sesuai ini juga telah dikembangkan untuk penemuan obat antiinflamasi yang bekerja spesifik. Barsoum *et al.*, (2008) telah berhasil mensintesis bis(3-aril-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karboksamid) dan mengevaluasi kerjanya sebagai antiinflamasi dan penghambat PGE₂ dengan dosis 50 mg/kgBB secara *in vivo* dengan metode *paw edema*. Selain itu Amir *et al.*, (2008) telah juga berhasil mensintesis seri 3-(4-bifenil)-5-yang tersubstitusi fenil-2-pirazolin dan 1-benzoil-3-(4-bifenil)-5-yang tersubstitusi fenil-2-pirazolin dan melakukan skrining antiinflamasi dan analgetik. Penelitian tersebut diperoleh salah satu senyawa yang mengandung gugus pirazolin yang lebih poten dari pada obat antiinflamasi dan analgesik standar dengan efek samping yang rendah terhadap

*Unit Bidang Kimia Medisinal
Email: kamalrullah@yahoo.co.id
Telp: +62812 761 7614

lambung. Ratish *et al.*, (2008) juga telah berhasil mensintesis 2-pirazolin baru yang mengandung derivat benzensulfonamida serta melakukan skrining aktivitas antiinflamasi pada dosis 20 mg/kgBB yang diinduksi dengan karagen menggunakan model *paw edema*. Hasil yang di peroleh sangat memuaskan yaitu ditemukan dua senyawa yang lebih aktif dari Celecoxib. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mensintesis senyawa (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol yang mengandung inti pirazolin serta uji aktivitas antiinflamasi secara *in vivo* dan *in silico* dan pengaruhnya terhadap kerusakan lambung.

METODOLOGI

Sintesis 3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol. Senyawa calkon (1 mmol) dicampurkan dengan fenilhidrazin (2 mmol) campurkan secara merata selama lebih kurang 1 menit dengan menggerus dalam lumpang. Campurkan NaOH (2 mmol) lanjutkan penggerusan pada suhu ruangan selama 10-15 menit. Padatan dicuci dengan air dingin untuk menghilangkan NaOH dan rekristalisasi dengan pelarut yang sesuai. Kemudian tentukan kemurnian dan jarak leleh kristal.

Karakterisasi Senyawa Sintesis. Karakterisasi senyawa meliputi pemeriksaan organoleptis yaitu pemeriksaan bentuk padatan dan warna, dan pemeriksaan kemurnian (pemeriksaan jarak leleh dan kromatografi lapis tipis). Elusidasi struktur senyawa sintesis dilakukan dengan analisa terhadap spektrofotometer UV, spektrum ¹H-RMI (Resonansi Magnetik Inti Proton) dan HR-MS (Spektrometer Massa Resolusi Tinggi) yang dilakukan di LIPI Serpong.

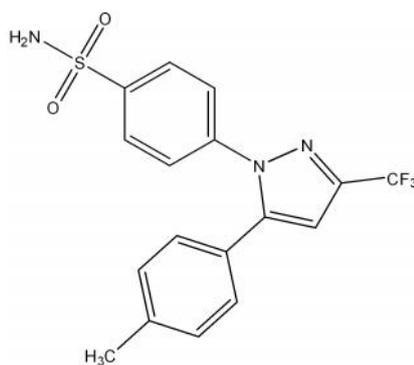
Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Paw Edema. Persiapan hewan percobaan. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih betina yang sehat, sebanyak 18 ekor. Sebelum percobaan hewan diaklimatisasi

selama 7 hari. Hewan dinyatakan sehat jika tidak menunjukkan penurunan berat badan yang berarti (kurang dari 10%) dan secara visual tidak menunjukkan gejala yang tidak sehat.

Penyiapan alat Pletismometer (Ugo Basile®). Larutan untuk reservoir yang telah disiapkan sebelumnya dimasukkan ke dalam reservoir yang telah dirangkai pada alat kemudian diisi sel dengan memutar kepala katub kira-kira 45° ke arah kiri atau kanan sesuai dengan posisi reservoir itu dihubungkan, alirkan beberapa kali dengan memutar kepala katub untuk menghindari gelembung udara. Atur batas air sampai mendekati garis merah bagian atas pada sel. Alat dihidupkan maka tampilan grafik akan menyala dan menunjukkan logo Ugo Basile®, hangatkan alat kira-kira 2-3 menit. Kemudian lakukan kalibrasi alat.

Penyiapan sediaan uji. Senyawa uji yang diberikan kepada tikus putih betina dengan dosis 20, 40 dan 80 mg/kgBB. Volume sediaan uji yang diinjeksikan ke dalam tubuh tikus adalah 1% dari berat badan. Kontrol positif menggunakan celecoxib dan piroksikam dengan dosis masing-masing 18 dan 1,8 mg/kgBB.

Pemberian senyawa uji dan penginduksian karagen. Tikus putih dibagi menjadi 6 kelompok percobaan dimana setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok 1, 2 dan 3 adalah kelompok tikus yang diberi senyawa uji dengan dosis 20, 40 dan 80 mg/kgBB secara oral. Kelompok 4 adalah kontrol negatif diberikan CMC 1% secara oral. Kelompok 5 adalah kontrol positif celecoxib 18 mg/kgBB secara oral. Kelompok 6 juga merupakan kelompok kontrol positif diberikan piroksikam dengan dosis 1,8 mg/kgBB secara oral. Tikus putih betina yang akan diuji terlebih dahulu dipuaskan selama 18 jam. Setelah 18 jam, sebelum diinduksi tikus diberi senyawa uji, 30 menit kemudian tikus diinduksi dengan menggunakan karagen 1% dengan volume penyuntikan 0,1 mL yang diberikan secara subplantar.



1

Kemudian ukur volume kaki tikus dengan menggunakan alat pletismometer.

Pengukuran volume udem kaki tikus. Masing-masing hewan percobaan ditimbang dan diberi tanda pada kaki kirinya. Kemudian kaki kiri tikus dimasukkan ke dalam sel yang berisi khusus yang telah disiapkan sebelumnya sampai cairan naik pada garis batas atas, pedal kemudian ditahan, dicatat angka pada monitor sebagai volume awal (V_0) yaitu volume kaki tikus sebelum diberi obat dan diinduksi dengan larutan karagen. Masing-masing tikus diberi suspensi senyawa uji secara oral sesuai dengan kelompoknya. Satu menit kemudian, masing-masing telapak kaki tikus disuntik secara oral dengan 0,1 ml larutan karagenin 1%. Setelah 30 menit dilakukan pengukuran dengan cara mencelupkan kaki tikus ke dalam sel pletismometer yang berisi cairan khusus sampai larutan mencapai garis batas atas, pedal ditahan dan catat angka pada monitor. Perubahan volume cairan yang terjadi dicatat sebagai volume telapak kaki tikus (V_t). Pengukuran dilakukan setiap jam selama 8 jam. Perhitungan volume radang sebagai berikut:

$$\text{Volume Radang} = V_t - V_0$$

$$V_t = \text{Volume pada waktu } t$$

$$V_0 = \text{Volume awal}$$

Pengamatan Mukosa Lambung. Efek samping yang diamati berupa pengamatan mukosa lambung secara makroskopis. Setelah pengujian efek anti radang, hewan tikus yang digunakan dalam percobaan dikembalikan ke kandang. Selama menunggu uji lebih lanjut tikus tetap diberikan minum. Pengujian dilanjutkan setelah selang waktu dua puluh empat jam. Pembentukan tukak yang terjadi diamati dengan cara mengorbankan hewan percobaan yang sebelumnya dibius dengan eter di dalam toples kaca yang bagian atasnya dilubangi. Dalam keadaan teranestesi tikus dibedah. Bagian esofagus dan duodenum didekat lambung dipotong kemudian diambil lambungnya. Lambung dibuka pada bagian lengkung yang besar. Sesudah dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9%, lambung dipaparkan dengan jarum pentul. Untuk memudahkan pengamatan, tukak yang terjadi dibandingkan dengan tukak pada tikus yang di induksi dengan etanol 80% dengan dosis 1 ml/200 gBB. Penilaian pembentukan tukak dan keparahan ulser dilakukan berdasarkan skoring. Metode skoring yang digunakan berdasarkan jumlah tukak dan tingkat keparahan tukak. Pemberian skor berdasarkan sistem pemberian bobot skor (Wasito, 2009). Dapat pula dihitung dengan menggunakan

perhitungan index tukak (Evacuasiy, 2000). Indeks tukak atau ulser dihitung dengan rumus:

$$Iu = J + L + \%I$$

Keterangan :

Iu : Indeks Tukak

J : Bobot nilai rata-rata jumlah tukak dari suatu kelompok hewan

L : Bobot nilai rata-rata keparahan tukak dari kelompok hewan yang sama

%I : Persen hewan yang terkena tukak dari kelompok hewan yang sama

Docking Study. Docking dilakukan dengan perangkat lunak ArgusLab 4.0.1. Struktur enzim COX-2 yang sudah berikatan dengan ligan, diperoleh dari *Protein Databank* (PDB), yaitu 6COX dengan ligan asli SC-558 (1-fenilsulfonamid-3-trifluorometil-5-para bromofenilpirazol) suatu inhibitor selektif COX-2 (Kurumbail *et al.*, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol diperoleh dengan mereaksikan senyawa (*E*)-1-(4-florofenil)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-on (1 mmol) dengan fenilhidrazin (2 mmol) menggunakan katalis NaOH pada suhu kamar. Proses ini dilakukan hanya digerus menggunakan mortal poselin tanpa pelarut selama 10 menit. Hasil sintesis diperoleh berupa serbuk berwarna kuning dengan berat 0,3192 gram (99%), m.p. 111-113°C dan Rf 0,625 dengan sistem eluen *n*-heksana: etil asetat (9:1).

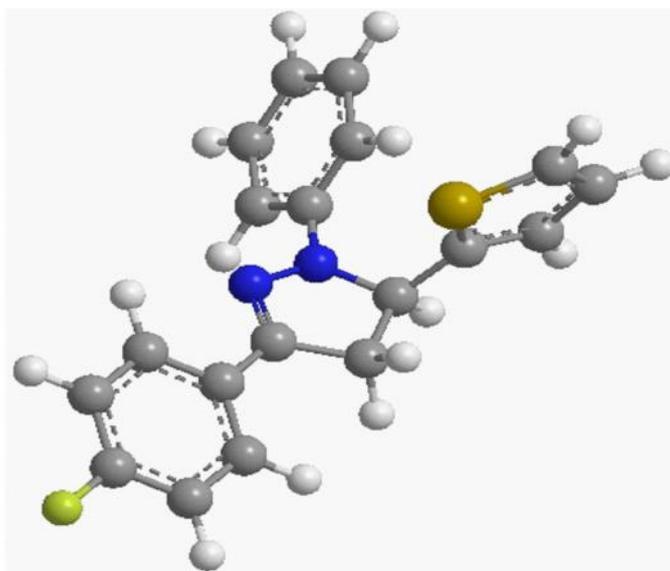
Hasil analisis spektrum ultraviolet diukur dengan pelarut CHCl_3 pada rentang panjang gelombang 200-400 μm . Hasil pengukuran menunjukkan serapan maksimum pada senyawa ini berturut-turut pada panjang gelombang 241 dan 352 nm. Dari spektrum ultraviolet adanya dua macam

Tabel 1. Skoring berdasarkan keparahan tukak (Diameter Ulser)

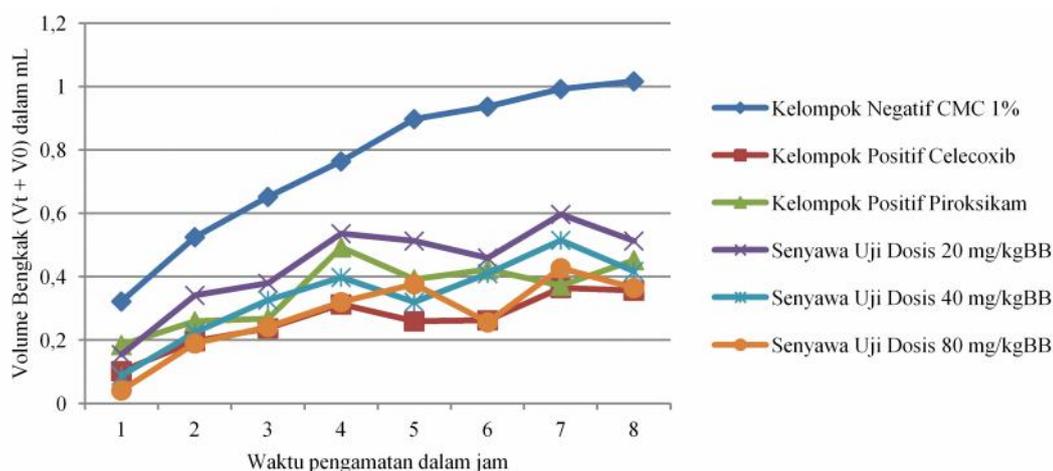
Pengamatan	Skor
Lambung normal	1
Bintik pendarahan	2
Tukak dengan diameter 0,5 - 1,5 mm	3
Tukak dengan diameter 1,6 - 4,0 mm	4
Tukak dengan diameter > 4 mm	5
Terjadi Perforasi	6

Tabel 2. Skoring berdasarkan jumlah tukak

Pengamatan	Skor
Lambung normal	1
Bintik pendarahan	2
Jumlah ulser 1-3	3
Jumlah ulser 4-6	4
Jumlah ulser 7-9	5
Jumlah ulser > 9 buah atau terjadi perforasi	6



Gambar 2. Model 3D senyawa 3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol dengan menggunakan program Cambridge ChemBio3D Ultra 2008



Gambar 3. Grafik hubungan volume bengkak dengan waktu pengamatan antara senyawa uji dengan pembanding positif dan negatif

il)-4, 5-dihidro-1H-pirazol m/z : 323,0986 dengan formula $C_{19}H_{15}FN_2S$. Secara teoritis berdasarkan perhitungan analisis ChemBioDraw Ultra 2008 berat molekul senyawa 3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol m/z : 322,0940. Apabila atom H mempunyai m/z : 1.0078 maka berat molekul secara teoritis adalah m/z : 323,1018. Jadi dapat disimpulkan senyawa 3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol telah murni karena perbedaan berat molekul sebenarnya dengan secara teoritis sangat kecil.

Aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in vivo* dengan metoda *paw edema*. Berdasarkan analisis anova dua arah menunjukkan hasil perlakuan antar kelompok hewan percobaan berbeda secara signifikan dengan nilai eksperimental $p < 0,05$. Variabel independen waktu juga menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan setiap

pengukuran volume udem dengan nilai eksperimental $p < 0,05$. Uji lanjut dilakukan uji tukey untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan.

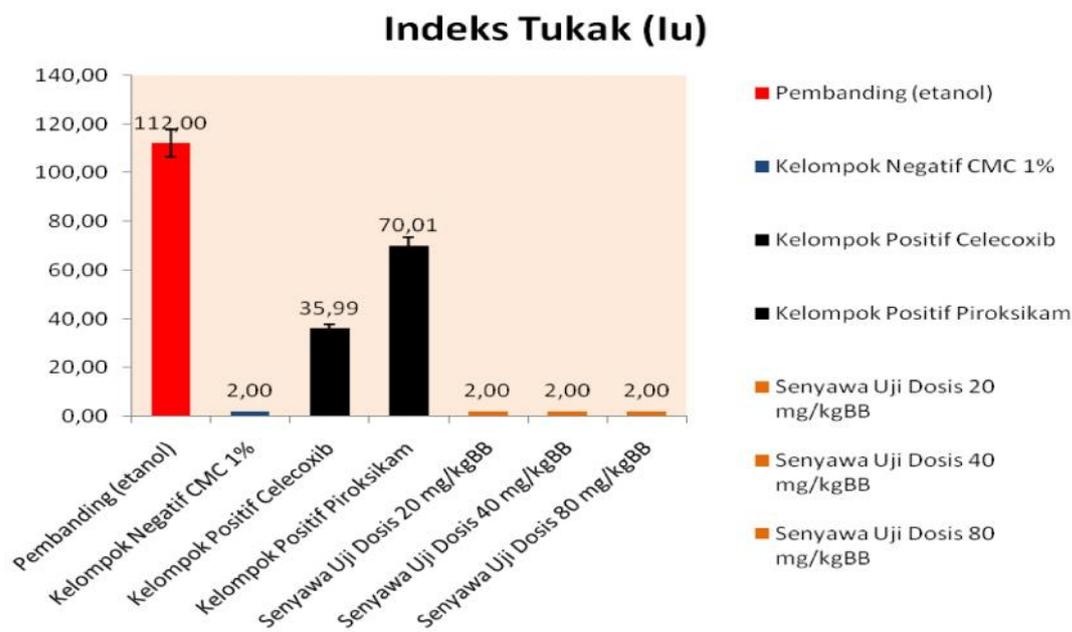
Senyawa uji dosis 20 mg/kgBB memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif celecoxib ($p < 0,05$) akan tetapi memiliki perbedaan tidak bermakna dengan kontrol positif piroksikam ($p > 0,05$). Senyawa uji dosis 40 mg/kgBB memiliki perbedaan tidak bermakna dengan kontrol positif celecoxib ($p > 0,05$) dan dengan kontrol positif piroksikam ($p > 0,05$). Senyawa uji dosis 80 mg/kgBB memiliki perbedaan yang tidak bermakna dengan kontrol positif celecoxib ($p > 0,05$) dan dengan kontrol positif piroksikam ($p > 0,05$) (Gambar 3, Tabel 4).

Dari hasil uji aktivitas antiinflamasi diketahui bahwa senyawa uji dosis 40 dan dosis 80 mg/kgBB memiliki efek

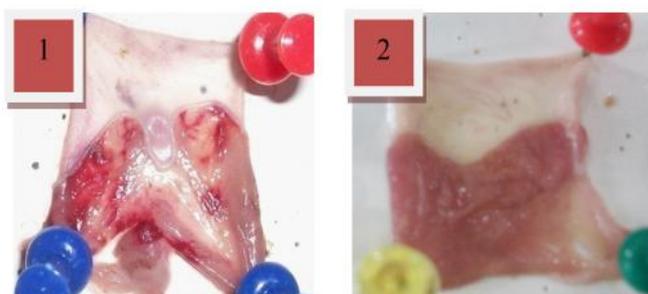
Tabel 4. Uji aktivitas antiinflamasi senyawa (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol dengan metode *paw edema*

Kelompok	Volume bengkak ($V_t + V_0$) \pm SD dalam mL							
	60'	120'	180'	240'	300'	360'	420'	480'
Kelompok Negatif CMC 1%	0,323 \pm 0,05	0,525 \pm 0,16	0,653 \pm 0,08	0,765 \pm 0,11	0,898 \pm 0,16	0,937 \pm 0,19	0,993 \pm 0,17	1,017 \pm 0,15
Kelompok Positif Celecoxib	0,102 \pm 0,06	0,197 \pm 0,14	0,238 \pm 0,14	0,313 \pm 0,09	0,260 \pm 0,14	0,263 \pm 0,07	0,365 \pm 0,13	0,357 \pm 0,07
Kelompok Positif Piroksikam	0,185 \pm 0,12	0,260 \pm 0,12	0,268 \pm 0,19	0,493 \pm 0,30	0,392 \pm 0,12	0,423 \pm 0,14	0,372 \pm 0,16	0,453 \pm 0,19
Senyawa Uji Dosis 20 mg/kgBB	0,155 \pm 0,16	0,342 \pm 0,27	0,380 \pm 0,22	0,537 \pm 0,13	0,513 \pm 0,21	0,460 \pm 0,16	0,597 \pm 0,13	0,513 \pm 0,12
Senyawa Uji Dosis 40 mg/kgBB	0,088 \pm 0,02	0,225 \pm 0,07	0,327 \pm 0,09	0,398 \pm 0,09	0,320 \pm 0,12	0,410 \pm 0,09	0,515 \pm 0,13	0,417 \pm 0,14
Senyawa Uji Dosis 80 mg/kgBB	0,042 \pm 0,03	0,190 \pm 0,04	0,242 \pm 0,06	0,320 \pm 0,09	0,377 \pm 0,14	0,257 \pm 0,13	0,427 \pm 0,19	0,365 \pm 0,11

Uji anova dua arah dengan taraf signifikansi 5%



Gambar 4. Grafik indeks tukak kontrol negatif, celecoxib, piroksi-kam dan senyawa uji dengan pembanding etanol



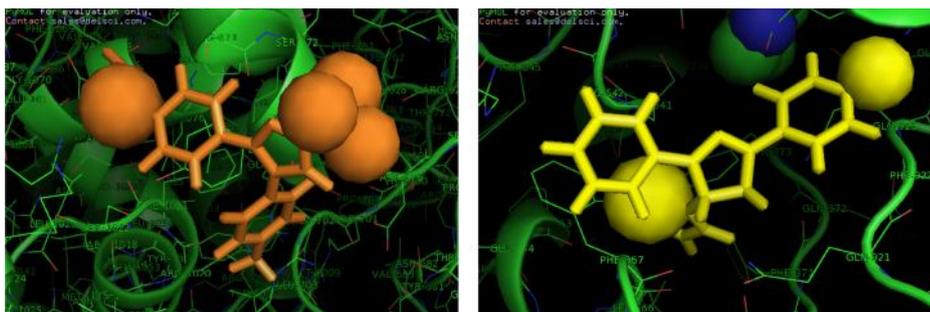
Gambar 5. Pengamatan keadaan lambung diberi etanol (1) dan hanya di beri CMC 1% (2)

antiinflamasi yang sama dengan celecoxib dan piroksikam. Pada senyawa uji ini tidak ditemukannya bintik pendarahan sehingga memiliki indeks tukak paling rendah yang sama dengan kontrol negatif (Gambar 4).

Permodelan molekul dilakukan dengan perangkat lunak ArgusLab 4.0.1. Struktur enzim COX-2 yang sudah berikatan dengan ligan, diperoleh dari *Protein Databank* (PDB), yaitu 6COX dengan ligan asli SC-558 (1-fenilsulfonamid-3-trifluorometil-5-parabromofenilpirazol) suatu inhibitor selektif COX-2 (Kurumbail *et al.*, 1996). ArgusLab menyediakan dua jenis perangkat *docking* yaitu ArgusDock dan GADock yang mampu melakukan *docking* molekular dengan cara

menempatkan suatu ligan pada suatu tempat pengikatan (*binding site*) dari reseptor, dengan memanfaatkan data struktur kristal sinar-x dari *Protein databank*. Akurasi dan signifikansi biologis GADock lebih baik dari pada ArgusDock sehingga metode ini yang digunakan dalam penelitian ini.

Hasil pengukuran *docking* (Gambar 6) energi bebas ikatan antara senyawa uji dengan enzim COX-2 lebih rendah (-9,30897 kkal/mol) dibanding energi bebas ikatan antara pirazolin dengan enzim COX-2 (-7,94156 kkal/mol). Ini menunjukkan bahwa senyawa uji memiliki potensi lebih tinggi sebagai penghambat enzim COX-2 dibanding senyawa standar celecoxib.



Gambar 6. Interaksi celecoxib dengan COX-2 (1) dan (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol dengan COX-2 (2)

KESIMPULAN

Metode gerus dalam sintesis senyawa (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol sangat sederhana, efisien, cepat dan ramah lingkungan dibanding dengan metode klasik yang selama ini digunakan. Waktu yang diperlukan dalam proses ini hanya 5-15 menit, hanya menggunakan alat mortal porselen, rendemen tinggi, tanpa pemanasan dan radiasi serta tidak menggunakan pelarut berbahaya. senyawa (*R*)-3-(4-florofenil)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol memiliki aktivitas antiinflamasi yang sama dengan obat standar Celecoxib® pada dosis 40 mg/kgBB dan 80 mg/kgBB dan obat standar piroksikam pada ketiga dosis masing-masing 20, 40, 80 mg/kgBB. Serta memiliki efek kecil terhadap kerusakan lambung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian terlaksana atas pendanaan dari Hibah Dosen Pemula Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR) 2011.

DAFTAR PUSTAKA

Amir, M., Kumar, H. and Khan, S.A. 2008. Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazoline derivatives as new

anti-inflammatory and analgesic agents, *Bioorg Med Chem Lett*, **18**: 918-922.

Barsoum, F.F. and Girgis, A.S. 2008. Facile synthesis of bis (4,5-dihydro-1Hpyrazole-1-carboxamides) and their thio-analogues of potential PGE2 inhibitory properties. *Eur J Med Chem*, **15**: 1-6.

Evacuasany, E. 2000. Pemanfaatan Ekstrak *Andrographis Paniculata* Nees dan *Aloe Vera L* Sebagai Anti Inflamasi, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Kongres Nasional X Ikatan Farmakologi Indonesia 15-18 Nopember 2000.

Katzung, B.G. 2005. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, edisi 8, Penterjemah: Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jakarta: Salemba Medika.

Kurumbail, R.G., Stevens, A.M., Gierse, J.K., McDonald, J.J., Stegeman, R.A., Pak, J.Y., Gildehaus, D., Miyashiro, J.M., Penning, T.D., Seibert, K., Isakson P.C. and Stallings W.C. 1996. Structural Basis for Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Anti-Inflammatory Agents", *Nature*, **26**, **384(6610)**: 644-8.

Rathish, I.G., Javed K., Ahmad S., Bano S., Alam M.S., Pillai K.K., Singh, S. and Bagchi, V. 2008. Synthesis and anti-inflammatory activity of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide. *Bioorg Med Chem Lett*, **21**: 212-213.

Tjay, T.H., Rahardja. dan Kirana. 2002. *Obat-obat Penting*, Edisi Ke Enam. Jakarta: Elex Media Komputindo Kelompok Kompas-Gramedia.

Wasito, H. 2009. Pengaruh Pemberian Daun Randu(*Ceiba pentandra*) Terhadap Aktivitas Antigastritis pada Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Asam Asetilsalisilat, Kongres Ilmiah ISFI XVII, Jakarta: 7-8 Desember.