

Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Turunan 2-Benzamido-N-Benzoilbenzamida

(Synthesis and characterization of 2-Benzamido-N-Benzylbenzamide Derivative)

ANI RIANI HASANA^{1*}, SISWANDONO², MARCELLINO RUDYANTO²

¹Prodi S1 Farmasi, STIKes Panti Waluya Malang, Jl. Yulius Usman No.62, Malang, Jawa Timur, 65117, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Jl. Dharmawangsa No.4-6, Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, 60286, Indonesia

Diterima 12 November 2021, Disetujui 20 April 2022

Abstrak: Turunan antranilamida memiliki aktivitas analgesik, antipiretik, antiinflamasi, antimikroba, antiangiogenik, dan antikoagulan. Penelitian ini bertujuan membuat senyawa antranilamida baru dengan memodifikasi 2-Benzamido-N-Benzylbenzamide dengan studi pendahuluan *in silico* atas kemampuan analgesiknya. Telah dilakukan perancangan, sintesis, karakterisasi dan studi tentang sifat analgesik turunan 2-benzamido-N-benzoilbenzamida dengan memodifikasi Anthranilamida dengan 1/2/3-kloro benzoil klorida melalui reaksi melalui asilasi. Diperoleh senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoyl)benzamida; 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoyl)benzamida; dan 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl)benzamida. Ketiga senyawa ini diperoleh dengan mereaksikan antranilamida dan senyawa-senyawa benzoil klorida kemudian diperoleh senyawa hasil sintesis dengan rendemen sebanyak 71-73 %. Hasil sintesis diuji kemurnian dengan melakukan pengamatan terhadap Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan titik lebur. Karakterisasi struktur senyawa menggunakan Spektrofotometri Ultra Violet-Visible (UV-Vis), Spektrofotometri inframerah (FT-IR), Spektrofotometri resonansi magnetik nuklir (NMR) dan Spektrofotometri Massa (MS). Uji *in silico* dilakukan untuk memprediksi sifat analgesik melalui besarnya interaksi senyawa turunan terhadap reseptor COX-2 (pdb: 1PXX). Pada tahap ini interaksi senyawa uji terhadap reseptor 1PXX dibandingkan besarnya nilai *rerank score* senyawa turunan, antranilamida dengan asam mefenamat. Hasil interaksi senyawa uji terhadap reseptor menunjukkan nilai *rerank score* senyawa hasil sintesis (-91 hingga -112) lebih kecil dibandingkan dengan antranilamida (-54) dan asam mefenamat (-84) dan hal ini menunjukkan prediksi aktivitas analgesik turunan senyawa ini lebih baik dibanding antranilamida dan asam mefenamat.

Kata kunci: Analgesik, antranilamida, permodelan molekul, turunan 2-benzamido-N-benzoilbenzamida

Abstract: Anthranilamide derivatives exhibit anti-inflammatory, antipyretic, antibacterial, antiangiogenic, and anticoagulant properties. With an early *in silico* examination of its analgesic capabilities, this study aimed to generate a novel anthranilamide molecule by altering 2-Benzamido-N-Benzylbenzamide. Modification of anthranilamide with 1/2/3-chloro benzoyl chloride by acylation resulted in the design, synthesis, characterization, and research of the analgesic effects of 2-benzamido-N-benzoylbenzamide derivatives. 2-(2-chlorobenzamido)-N-(2-chlorobenzoyl) benzamide, 2-(3-chlorobenzamido)-N-(3-chlorobenzoyl)benzamide, and 2-(4-chlorobenzamido)-N-(4-chlorobenzoyl)benzamide were prepared. The nucleophilic acyl substitution reaction method was used to prepare these three chemicals by interaction with anthranilamide and benzoyl chloride molecules. Melting point and thin-layer chromatography were used to check the purity of the synthesis findings. The structure was confirmed by UV-Vis and infrared spectrophotometry.

Keywords: 2-benzamido-N-benzoylbenzamide derivative, analgesic, anthranilamide, *in silico*

*Penulis korespondensi
e-mail: anirianihasana@gmail.com

Hasil Uji Kemurnian Senyawa Hasil Sintesis.

Kemurnian senyawa yang disintesis dikonfirmasi dengan mengamati titik leleh dan kromatografi lapis tipis dengan tiga sistem eluen⁽¹⁵⁾. Pada uji kemurnian dengan 3 sistem eluen menggunakan etil asetat : kloroform (1:3), etil asetat : heksan (2:3), dan aseton : heksan (2:3) didapatkan satu noda tunggal yang diamati dengan lampu UV254. Hasil perhitungan nilai *Retardation factor* (Rf) senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai RS antranilamida dan senyawa hasil sintesis dengan reseptor 1PXX.

No.	Senyawa	Rf		
		Fase gerak 1: etil asetat : kloroform (1:3)	Fase gerak 2: etil asetat : heksan (2:3)	Fase gerak 3: aseton : heksan (2:3)
1.	2-(2-klorobenzamido)- <i>N</i> -(2-klorobenzoil)benzamida	0,57	0,35	0,42
2.	2-(3-klorobenzamido)- <i>N</i> -(3-klorobenzoil)benzamida	0,60	0,42	0,50
3.	2-(4-klorobenzamido)- <i>N</i> -(4-klorobenzoil)benzamida	0,65	0,4	0,50

Tabel 3. Hasil Pengamatan jarak lebur senyawa hasil sintesis.

No.	Senyawa	Jarak Lebur (°C)		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
1.	2-(2-klorobenzamido)- <i>N</i> -(2-klorobenzoil)benzamida	192-194	190-192	191-193
2.	2-(3-klorobenzamido)- <i>N</i> -(3-klorobenzoil)benzamida	180-182	179-181	180-182
3.	2-(4-klorobenzamido)- <i>N</i> -(4-klorobenzoil)benzamida	203-205	202-204	202-204

Hasil Sintesis dan Karakterisasi 2-(2-klorobenzamido)-*N*-(2-klorobenzoil)benzamida. Interaksi antranilamida dengan 2-klorobenzoil klorida menghasilkan senyawa 2-(2-klorobenzamido)-*N*-(2-klorobenzoil)benzamida dan rumus kimia $C_{21}H_{14}Cl_2N_2O_3$. Hasil organoleptis berupa serbuk padat putih dan tidak berbau dengan persentase sebesar 72,21%⁽¹⁰⁾

Konfirmasi struktur senyawa menggunakan spektrum UV-Vis pada Tabel 4 dan Gambar 2 menunjukkan adanya tiga puncak pada 204 nm, 258 nm, dan 300 nm. Profil spektrum tersebut berbeda dari senyawa antranilamida yang memiliki puncak puncak pada 214 nm, 250 nm, dan 332 nm. Pergeseran puncak panjang gelombang pada spektrum UV diatas menunjukkan bahwa senyawa telah terbentuk dari senyawa antranilamida. Pergeseran puncak diperkirakan karena adanya penambahan gugus benzoil pada struktur. Gugus benzoil merupakan gugus kromofor yang memiliki gugus benzena sebagai struktur dasar. Gugus benzena dapat mengabsorpsi radiasi sinar UV dan mengalami transisi $\pi \rightarrow \pi^*$.

Interpretasi spektrum IR (Gambar 3) diperoleh dari analisis pita-pita serapan pada spektrum FTIR. Pita serapan dengan intensitas yang kuat pada daerah 1658, 1620 cm^{-1} dan daerah 3348 cm^{-1} menunjukkan

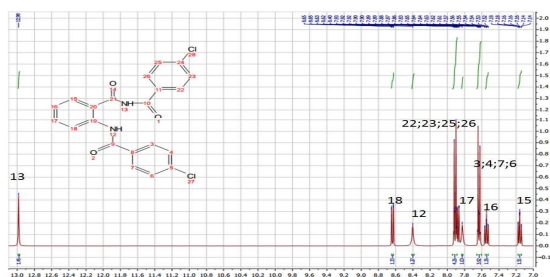
Pemeriksaan kemurnian senyawa hasil sintesis dengan menggunakan instrumen *MelTemp Electrothermal Melting Point Apparatus* dilakukan dengan 3 kali replikasi. Hasil pengamatan jarak lebur dari senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil pengamatan jarak lebur dari senyawa hasil sintesis memiliki titik lebur 191-193; 180-182; 202-204°C. Jarak lebur replikasi relatif kecil yaitu 1-2°C, menampilkan bahwa senyawa hasil sintesis tersebut dapat dikatakan murni^(12,16).

adanya gugus CO-NH-CO imida dan -N-H amina sekunder. Pada penelitian ini penentuan keberadaan ikatan CO-NH-CO imida dan -N-H amina sekunder merupakan titik penting dalam konfirmasi struktur senyawa hasil sintesis. Keberadaan ikatan CO-NH-CO imida dan -N-H amina sekunder menunjukkan bahwa sintesis telah terbentuk karena melalui reaksi substitusi nukleofilik (benzoilasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan amida antara dua reaktan tersebut. Pita serapan dengan intensitas yang sedang pada daerah 752 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatis 1,2 disubstitusi dari ikatan C-Cl posisi orto.

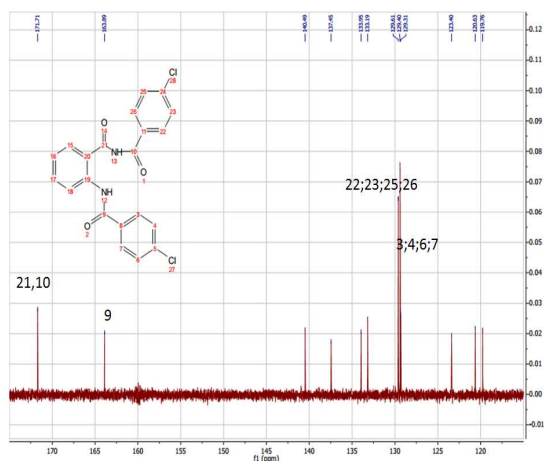
Pada spektrum ¹H-NMR (Gambar 4) diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom H aromatis sekitar 6,5-8 ppm^(10,11). Terdapat 12 atom H pada daerah 8,57-7,17 ppm merupakan serapan atom H aromatis. Terdapat 2 atom H yang merupakan serapan atom H dari -NH amida yang secara teoritis menurut Pavia (2009) berada pada daerah 5-9 ppm. Puncak serapan atom H dari -NH amida yang berbentuk *singlet* dengan perbandingan integrasi 1 menunjukkan bahwa terbentuk -NH sekunder menunjukkan bahwa sintesis telah terbentuk, karena melalui reaksi substitusi nukleofilik (benzoilasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan

Terdapat 2 atom H yang merupakan serapan atom H dari -NH amida yang secara teoritis menurut Pavia (2009) berada pada daerah 5-9 ppm. Puncak serapan atom H dari -NH amida yang berbentuk *singlet* dengan perbandingan integrasi 1 menunjukkan bahwa terbentuk -NH sekunder menunjukkan bahwa sintesis telah terbentuk, karena melalui reaksi substitusi nukleofilik (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoyl klorida diharapkan terbentuk ikatan amida sekunder antara dua reaktan tersebut. Terdapat total 14 atom H dari pembacaan $^1\text{H-NMR}$ sehingga berkesesuaian dengan rumus kimia $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$.

Data spektrum MS yang menggunakan spektrometer *Waters Qtof Xevo* dengan metode ESI (Electrospray Ionisation). Analisa spektrum massa diperoleh perbandingan nilai $m/z = 412$ (M; 100%); $m/z = 414$ (M+2; 67 %) dan $m/z = 416$ (M+4; 10 %). Adanya kelimpahan relatif dengan perbandingan M : M+2 : M+4 = 10 : 6 : 1 menunjukkan terdapat isotop Cl sebanyak 2 atom Cl pada senyawa^(10,11). Hasil ESI diperoleh nilai $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 436$. Hal ini bermakna berat molekul yang terukur adalah $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$ ditambah dengan berat molekul Na, dengan komposisi atom yaitu $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ membuktikan senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida



Gambar 10. Spektrum Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida (400 MHz, DMSO-d₆).



Gambar 11. Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida (400 MHz, DMSO-d₆).

(400 MHz, DMSO-d₆) sesuai yang diharapkan.

SIMPULAN

Senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoyl) benzamida, senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoyl) benzamida, dan senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida dapat disintesis dengan mereaksikan antranilamida dengan turunan benzoyl klorida. Rendemen yang didapatkan berturut-turut sebesar 72%, 73%, dan 71%. Karakterisasi struktur senyawa telah dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometri inframerah, Spektrofotometri resonansi magnetik nuklir dan Spektrofotometri Massa (MS) menunjukkan senyawa hasil sintesis telah dibuat sesuai dengan struktur teoritis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih dan penghargaan disampaikan kepada Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS. dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sebagai promotor dan yang mempunyai lisensi program Molegro, Drs. Marcellino Rudyanto, M.Si., Ph.D., Apt. dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sebagai *co-promotor*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khairani S, Rahayu L, Sandhiutami NM, Dewi RS, Rahmawati I. Uji efek anti-inflamasi dan analgesik dari rebusan daun bambu kuning (*Bambusa vulgaris* Schard). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2021;19(2):266-71.
2. Prasher P, Sharma M. Medicinal chemistry of anthranilic acid derivatives: A mini review. Drug Development Research. 2021;82(7):945-58.
3. Siswandono E. Kimia Medisinal 1 Edisi 2. Airlangga University Press; 2020 Jan 14:100–120.
4. Okunrobo LO, Usifoh CO, Scriba GK. Synthesis and pharmacological evaluation of 2-hydroxymethylbenzamides as anti-inflammatory and analgesic agents. Acta Poloniae Pharmaceutica. 2006;63(1):25-31.
5. Aldilla VR, Chen R, Martin AD, Marjo CE, Rich AM, Black DS, Thordarson P, Kumar N. Anthranilamide-based

- short peptides self-assembled hydrogels as antibacterial agents. *Scientific reports*. 2020 Jan 21;10(1):1-2.
6. DeRuiter J. Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDS). *Principles of Drug Action 2*. Fall. 2002;1–25.
 7. Puspaningtyas AR. Drug Development of Mefenamic Acid Derivatives as Analgesic by Molecular Approach. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017;9(2):123-30.
 8. Hasana AR, Rudyanto M. Synthesis and characterization of 2-Benzamido- N -Benzoylbenzamide. *Synthesis*. 2018;3(01):1–5.
 9. Shalas AF, Siswandono RM. Synthesis and structure-activity relationship of 1-allyl-3-(2-chlorobenzoyl) thiourea as analgesic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016;8(6):297-8.
 10. Suchetan PA, Gowda BT, Foro S, Fuess H. 2-Chloro-N-(2-chlorobenzoyl) benzenesulfonamide. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2010 May 1;66(5):o1040.
 11. Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JA. *Introduction to spectroscopy*. Cengage learning; 2014.
 12. Thangavel N, Al Bratty M, Alhazmi HA, Najmi A, Sivadasan D. Structural attributes of organic compounds for UV-Spectrophotometric determination of dissociation constant-A systematic review. *Oriental Journal of Chemistry*. 2022(1):85-93.
 13. Hallberg H. Approaches to modeling of recrystallization. *Metals*. 2011;1(1):16-48.
 14. Satiadarma K, Mulya M, Tjohjono DH dan Kartasasmita RE. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. 1 ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2004. 183–210
 15. Mulja M . *Analisis instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press; 1995. 26–71, 114–36, 192–4
 16. McMurry JE. *Fundamentals of organic chemistry*. Cengage Learning; 2010.