

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)benzamide. 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: aniranihasana@gmail.com

PENDAHULUAN

INDONESIA sebagai negara berkembang memiliki banyak permasalahan, sehingga tidak jarang menjadi pemicu sakit kepala atau nyeri. Analgesik atau obat-obat pereda nyeri adalah zat yang meredakan atau menghilangkan rasa sakit tanpa kehilangan kesadaran⁽¹⁾. Asam antranilat merupakan analog nitrogen dari senyawa induk asam salisilat⁽²⁾. Turunan asam N-arylanthranilic digunakan terutama sebagai anti-inflamasi untuk mengobati rematik, dan sebagai analgesik untuk meredakan rasa nyeri yang ringan hingga sedang. Turunan ini menyebabkan iritasi gastrointestinal, mual, diare, sakit perut, anemia, agranulositosis, dan trombositopenia⁽²⁾.

Salah satu tantangan pengembangan obat adalah pencarian dan penemuan senyawa bioaktif yang telah menunjukkan aktivitas sebagai senyawa penuntun atau *lead compounds*, kemudian dimodifikasi untuk dibuat turunannya^(3,4). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Heindel dkk. Turunan dari antranilamida ditemukan (2-aminobenzamida), yang merupakan bentuk amida dari antranilat, memiliki potensi sebagai CNS depresan, anti inflamasi, analgesik dan anti tremor. Pembukaan cincin nukleofilik substitusi *isatoic anhydride* dengan amina menghasilkan antranilamida yang dibuat turunannya ternyata memberikan aktivitas analgesik yang lebih besar daripada senyawa induk⁽⁵⁾.

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, telah dilakukan penelitian tentang rancangan penelitian untuk mengembangkan turunan dari senyawa antranilamida, yaitu turunan dari 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida sebagai analgesik^(3,4). Penelitian ini bertujuan untuk membuat senyawa antranilamida baru dengan memodifikasi 2-Benzamido-*N*-Benzylbenzamide dengan studi pendahuluan *in silico* atas kemampuan analgesiknya. Pengujian *in silico*, *docking* (*Molegro Virtual Docker 5.0*) antara senyawa turunan 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida terhadap reseptor COX-2⁽⁵⁾. Struktur protein reseptor COX-2 menggunakan *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode protein 1PXX. Pelaksanaan *docking* menghasilkan nilai *Root Mean Deviation Square* (RMSD) sebesar 0,751802; dan *Rerank Score* (RS) sebesar -84,5922; sedangkan nilai RS untuk senyawa turunan 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida sebesar -99,7031, asam mefenamat sebesar -84,7936 dan untuk senyawa antranilamida sebesar -54,7276. Hasil tersebut menunjukkan bahwa turunan 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida telah diprediksi memiliki kemampuan analgesik lebih baik dibanding antranilamida dan asam mefenamat^(6,7).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan kemampuan analgesik *in silico* maka dapat ditarik kesimpulan senyawa turunan 2-benzamido-*N*-benzoil-

benzamida layak disintesis tiga turunannya yaitu 2-(2-klorobenzamido)-*N*-(2-klorobenzoil)benzamida, 2-(3-klorobenzamido)-*N*-(3-klorobenzoil)benzamida, dan 2-(4-klorobenzamido)-*N*-(4-klorobenzoil)benzamida⁽⁸⁾.

Senyawa turunan 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida dapat disintesis melalui reaksi 2 tahap simultan. Pada tahap pertama reaksi asil nukleofilik antara benzoil klorida dengan antranilamida, kemudian pada tahap kedua 2-benzamidobenzamida hasil dari reaksi tahap pertama direaksikan lagi dengan benzoil klorida sehingga menghasilkan senyawa 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida. Dalam desain penelitian ini senyawa 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida dan turunannya akan disintesis melalui reaksi substitusi nukleofilik (substitusi asil nukleofilik) dengan menggunakan reaksi *Schotten-Baumann* yang dimodifikasi⁽⁹⁾.

Senyawa yang telah diperoleh dari hasil sintesis dikonfirmasi kemurniannya melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan 3 macam eluen yang berbeda kepolarannya serta penentuan jarak lebur. Karakterisasi struktur senyawa hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri Ultra Violet-Visible (UV-Vis), Spektrofotometri inframerah (FT-IR), Spektrofotometri resonansi magnetik nuklir (NMR) dan Spektrofotometri Massa (MS)⁽¹⁰⁻¹²⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Antranilamida p.s (Aldrich), 2-klorobenzoil klorida p.s (Aldrich), 3-klorobenzoil klorida p.s (Aldrich), 4-klorobenzoil klorida p.s (Aldrich), Tetrahidrofuran p.a (Merck), Piridin p.a (Merck), Natrium bikarbonat p.a (E.Merck), Kloroform p.a (E.Meck), Etil asetat p.a (E.Merck), n-Heksana p.a (E.Meck), Etanol 9,8% p.a (E.Merck), Kieselgel 60 GF₂₅₄ (E.Merck), Aquabidest.

Alat. *MelTemp Electrothermal Melting Point Apparatus*, *Rotary evaporator*, lampu UV, Spektrofotometer Perkin Elmer UV Lambda EZ 201; Spektrofotometer FTIR Perkin Elmer Spectrum One; spektrometer ¹H-NMR dan ¹³C-NMR JEOL ICS 400 MHz, *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) Agilent 5975C.

METODE. Uji *in silico*. Uji *in silico* senyawa 2-benzamido-*N*-benzoilbenzamida dan turunannya terhadap reseptor berupa enzim siklooksigenase (COX-2 pdb: 1PXX) dilakukan melalui program ChemBioDrawUltra 11 dan program Molegro Virtual Docker. Senyawa uji di *docking* dengan reseptor yang menghasilkan energi interaksi antara senyawa hasil sintesis dengan reseptor COX-2 berupa Rerank score. Pada penelitian ini dilakukan uji *in silico* pendahuluan

dengan membandingkan nilai RS senyawa uji dengan pembanding yaitu senyawa antranilamida dan asam mefenamat^(6,7).

Sintesis Senyawa Turunan 2-benzamido-N-benzoilbenzamida. Antranilamida dilarutkan dalam tetrahidrofuran dan piridin pada labu alas bulat. Tambahkan larutan turunan benzoil klorida dalam tetrahidrofuran pada corong pisah, diteteskan ke dalam labu antranilamida tetes demi tetes dalam wadah *ice bath* sambil diaduk menggunakan alat *hot plate and magnetic stirrer*. Campuran dibiarkan pada suhu ruang. Campuran selanjutnya direfluks dan diaduk dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate*. Setiap jam dilakukan KLT sampai didapatkan noda tunggal yang berbeda dari antranilamida dan benzoil klorida. Setelah 1 jam direfluks, sisa pelarut THF diuapkan menggunakan rotavapor. Kristal yang terbentuk dicuci dengan larutan natrium bikarbonat 10% hingga CO₂ habis (buih hilang). Hasil reaksi disaring dengan corong Buchner dan dibilas dengan aquabidest untuk melarutkan senyawa sampingan yang larut air. Endapan yang diperoleh dicek dengan pH indikator universal hingga pH netral. Setelah itu dilakukan rekristalisasi dengan menggunakan etanol 96%⁽¹³⁾. Etanol dipanaskan sampai mendidih lalu ditambahkan sedikit demi sedikit pada senyawa hasil yang akan direkristalisasi sambil diaduk-aduk hingga tepat larut. Kemudian disaring panas. Pelarutnya diuapkan pada lemari asam sampai terbentuk padatan. Lalu padatan dipindahkan ke kaca petridisk yang sudah diketahui beratnya. Kemudian ditimbang untuk mendapatkan rendemen persentase bobot hasil sintesis^(8,9).

Uji Karakteristik dengan Spektrofotometri UV-Vis. Senyawa dilarutkan dalam methanol pada konsentrasi 1-10 ppm, kemudian dibuat spektrum kurva absorbansi di panjang gelombang (λ) pada 200-400 nm. Spektrum UV-Vis akan teridentifikasi pada panjang gelombang maksimal⁽¹⁴⁾.

Uji Karakteristik dengan Spektrofotometri Inframerah. Sedikit sampel dibuat pelet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva % transmisi terhadap bilangan gelombang ($\ddot{\nu}$) pada 400-4600 cm⁻¹.

Spektrum sampel diidentifikasi peta absorpsi yang khas dari gugus fungsi yang terjadi.

Uji Karakteristik dengan Spektrofotometri Resonansi Magnetik Nuklir. Sedikit sampel dilarutkan dalam *Dimethyl sulfoxide deuterated* (DMSO). Sampel diidentifikasi intensitas, jumlah, dan posisi puncak pada daerah geseran kimia tertentu dari spektrum resonansi magnetik inti yang terbentuk.

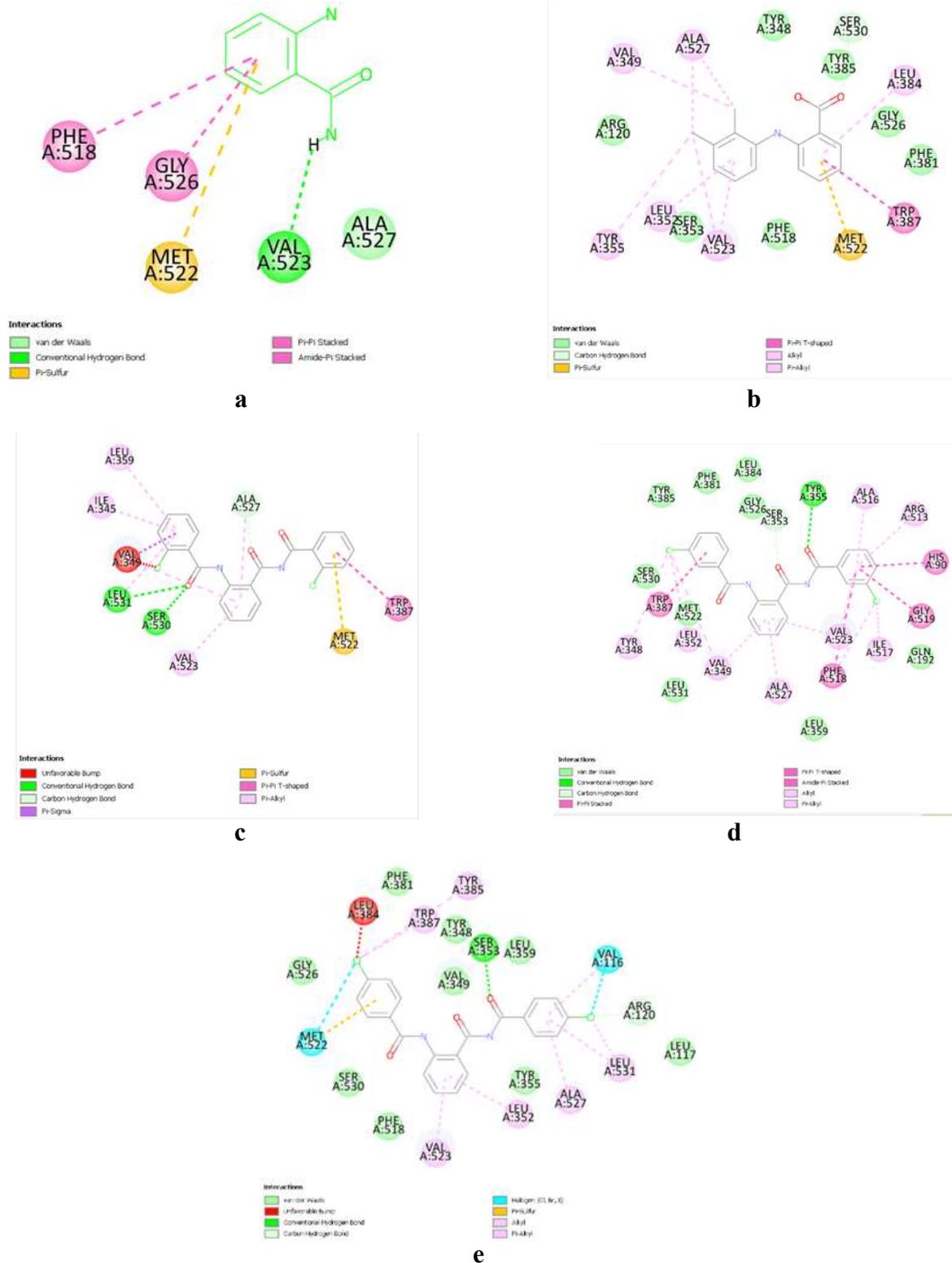
Uji Karakteristik dengan Spektrofotometri Massa. Sedikit sampel dilarutkan dalam pelarut metanol. Sampel diidentifikasi fragmen-fragmen massa yang terbentuk dalam spektrum⁽¹⁰⁻¹²⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemodelan Molekul. Pada penelitian ini uji pemodelan molekul dilakukan atas senyawa uji terhadap reseptor enzim COX-2 (pdb: 1PXX) dengan aplikasi *Molegro Visual Docker*. Gambar 1a diketahui antranilamida membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Val 523, dan memiliki nilai RS sebesar -54,7276. Gambar 1b diketahui bahwa asam mefenamat membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Tyr 385 dan Ser 530, dan memiliki nilai RS sebesar -84,7936. Gambar 1c diketahui bahwa senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoil)benzamida membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Tyr 355, dan memiliki nilai RS sebesar -99,7031. Dari Gambar 1d di ketahui bahwa senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Tyr 355, dan memiliki nilai RS sebesar -112,181. Dari Gambar e di atas di ketahui bahwa senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoil)benzamida membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Ser 353 dan Tyr 355, dan memiliki nilai RS sebesar -91,6164. Hasil interaksi senyawa uji terhadap reseptor menunjukkan nilai *rerank score* senyawa hasil sintesis lebih kecil dibandingkan dengan antranilamida dan asam mefenamat (Tabel 1). Hal ini menunjukkan prediksi aktivitas analgesik turunan senyawa ini lebih baik dibanding antranilamida dan asam mefenamat.

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

No.	Senyawa	Rerank Score
1.	Antranilamida	-54,7276
2.	Asam mefenamat	-84,7936
3.	2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoil)benzamida	-96,2791
4.	2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida	-112,181
5.	2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoil)benzamida	-91,6164



Gambar 1. Ligand map interaksi senyawa antranilamida dengan reseptor: (a) Ligand map interaksi senyawa antranilamida dengan reseptor 1PXX, (b) Ligand map interaksi senyawa asam mefenamat dengan reseptor 1PXX, (c) Ligand map interaksi senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoil)benzamida dengan reseptor 1PXX, (d) Ligand map interaksi senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida dengan reseptor 1PXX, (e) Ligand map interaksi senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoil)benzamida dengan reseptor 1PXX.

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)-N-(2-klorobenzoil)benzamida	0,57	0,35	0,42
2.	2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida	0,60	0,42	0,50
3.	2-(4-klorobenzamido)-N-(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)-N-(2-klorobenzoil)benzamida	192-194	190-192	191-193
2.	2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida	180-182	179-181	180-182
3.	2-(4-klorobenzamido)-N-(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⁾

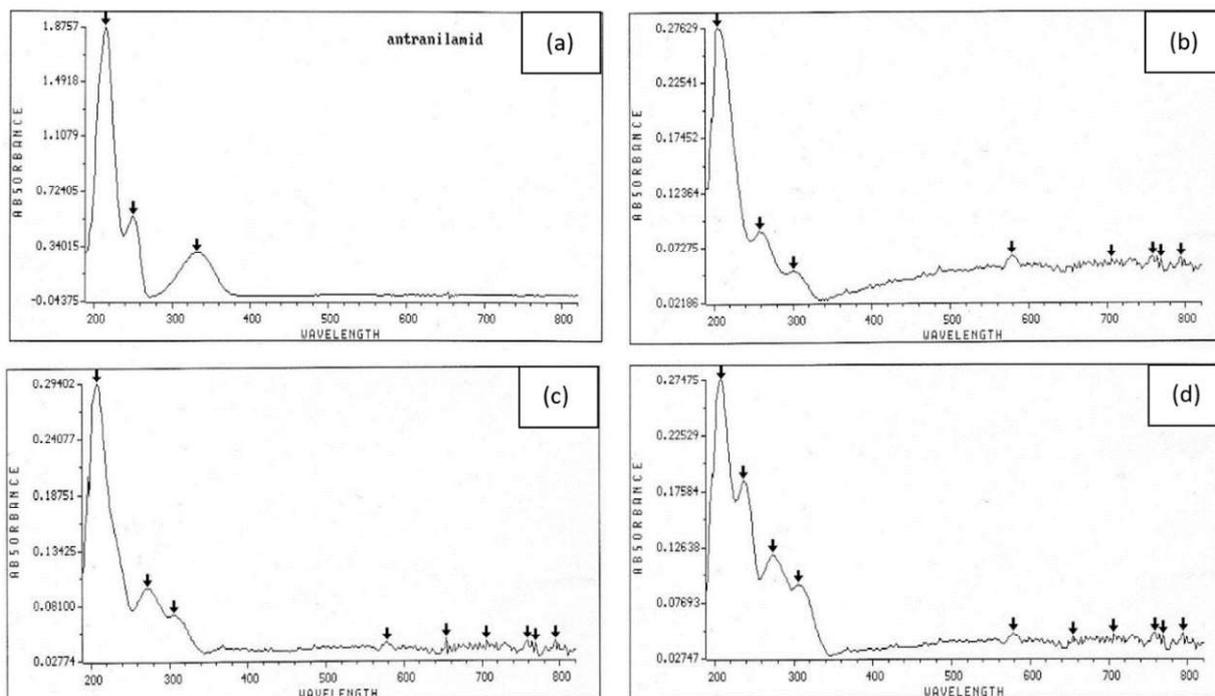
Konfirmasi struktur senyawa menggunakan spektrum UV-Vis pada Tabel 4 dan Gambar 2 menunjukkan adanya tiga puncak pada 204 nm, 258 nm, dan 300 nm. Profil spektrum tersebut berbeda dari senyawa antranilamida yang memiliki puncak puncak pada 214 nm, 250 nm, dan 332 nm. Pergeseran puncak panjang gelombang 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 (benzoylasi) 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.

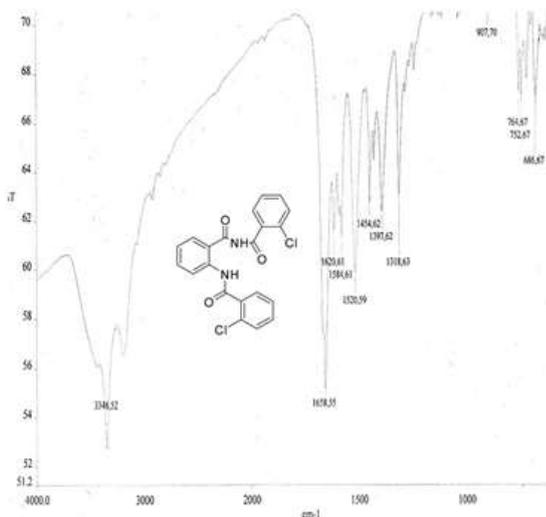
Pada spektrum ^1H-NMR (Gambar 4) diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom H aromatis sekitar 6,5-8 ppm^(10,11). Terdapat 12 atom H pada daerah 8,57-7,17 ppm merupakan serapan atom H aromatis. Terdapat 2 atom H yang merupakan serapan atom H dari -NH amida yang secara teoritis menurut Pavia (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 (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan



Gambar 2. Spektrum UV. (a) Spektrum UV senyawa antranilamida dalam pelarut etanol, (b) Spektrum UV senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoi)benzamida dengan reseptor 1PXX dalam pelarut etanol, (c) Spektrum UV senyawa senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoi)benzamida dalam pelarut etanol, (d) Spektrum UV senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoi)benzamida dalam pelarut etanol.

Tabel 4. Karakteristik puncak serapan spektrum UV senyawa hasil sintesis.

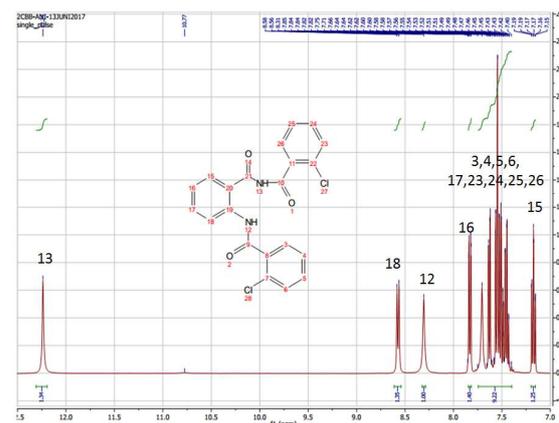
No.	Senyawa	λ maks (nm) dalam ethanol 96 %
1.	Antranilamida	214, 250, 332
2.	2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoi)benzamida	204, 258, 300
3.	2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoi)benzamida	208, 272, 306
4.	2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoi)benzamida	208, 236, 274, 306



Gambar 3. Spektrum serapan IR senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoi) benzamida pada media pellet KBr.

amida sekunder antara dua reaktan tersebut. Terdapat total 14 atom H dari pembacaan ¹H-NMR sehingga berkesesuaian dengan rumus kimia C₂₁H₁₄Cl₂N₂O₃.

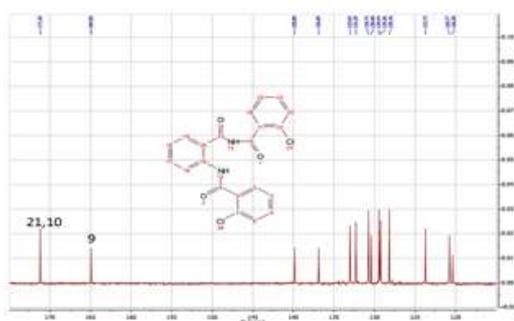
Hasil analisis ¹³C-NMR pada Gambar 5 diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom C aromatis sekitar 110-175 ppm dan daerah C=O sekitar



Gambar 4. Spektrum ¹H-NMR senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoi) benzamida (400 MHz, DMSO-d₆).

155-185^(11,12). Terdapat 2 puncak pada daerah karbonil yaitu 171,1 ppm, dan 164,9 ppm. Terdapat 18 atom C pada daerah 139,8-120,4 ppm yang merupakan serapan dari C aromatis. Terdapat total 21 atom C dari pembacaan ¹³C-NMR pada hasil senyawa sehingga berkesesuaian dengan rumus kimia C₂₁H₁₄Cl₂N₂O₃.

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 pebandingan M : M+2 : M+4 = 10 : 6 : 1 menunjukkan terdapat isotop Cl sebanyak 2 atom Cl pada senyawa^(11,12). Hasil ESI diperoleh nilai $[M+Na]^+ = 436$. Hal ini bermakna berat molekul yang terukur adalah $C_{21}H_{14}Cl_2N_2O_3$ ditambah dengan berat molekul Na, dengan komposisi atom yaitu $C_{21}H_{14}Cl_2N_2O_3 [M+Na]^+$ membuktikan senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoil) benzamida sesuai yang diharapkan.



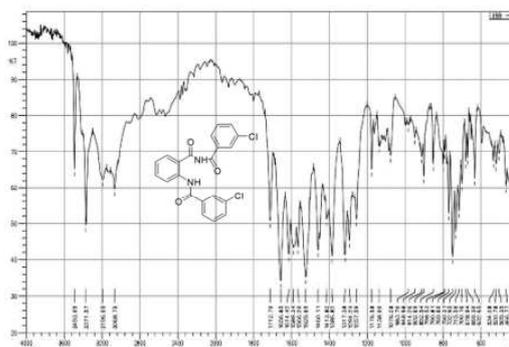
Gambar 5. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 2-(2-klorobenzamido)-N-(2-klorobenzoil) benzamida (400 MHz, DMSO-d₆).

Hasil Sintesis dan Karakterisasi 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil) benzamida. Interaksi antranilamida dengan 3-klorobenzoil klorida menghasilkan senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil)benzamida dan rumus kimia $C_{21}H_{14}Cl_2N_2O_3$. Hasil reaksi secara organoleptis teramati berupa serbuk padat putih dan tidak berbau dengan persentase sebesar 73,24%.

Konfirmasi struktur menggunakan spektrum UV-Vis menunjukkan adanya tiga puncak pada 208 nm, 272 nm, dan 306 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 $\pi \rightarrow \pi^*$.

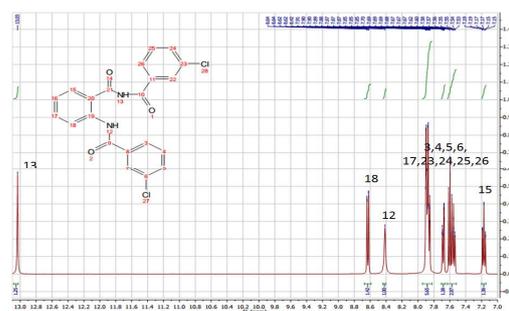
Interpretasi spektrum IR (Gambar 6) diperoleh dari analisis pita-pita serapan pada spektrum FTIR. Pita serapan dengan intensitas yang kuat pada daerah 1656, 1614 cm^{-1} dan daerah 3493 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus CO-NH-CO imida dan -N-H amina

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 terjadi, karena melalui reaksi substitusi nukleofilik (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan amida sekunder antara dua reaktan tersebut. Pita serapan dengan intensitas yang lemah pada daerah 732 dan 798 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatis 1,3 disubstitusi dari ikatan C-Cl posisi meta.



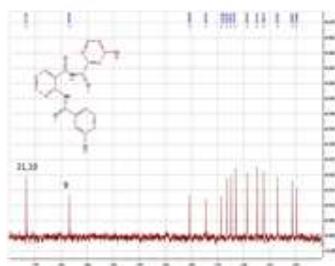
Gambar 6. Spektrum IR senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil) benzamida pada media pellet KBr.

Pada spektrum 1H -NMR (Gambar 7) diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom H aromatis sekitar 6,5-8 ppm^(11,12). Terdapat 12 atom H pada daerah 8,62-7,17 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 membentuk -NH sekunder menunjukkan bahwa sintesis telah terjadi, karena melalui reaksi substitusi nukleofilik (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan amida sekunder antara dua reaktan tersebut. Terdapat total 14 atom H dari pembacaan 1H -NMR pada senyawa sehingga berkesesuaian dengan dengan rumus kimia $C_{21}H_{14}Cl_2N_2O_3$.



Gambar 7. Spektrum 1H -NMR senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoil) benzamida (400 MHz, DMSO-d₆).

Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom C aromatis sekitar 110-175 ppm dan daerah C=O sekitar 155-185^(11,12). Terdapat 2 puncak pada daerah karbonil yaitu 171,7 ppm, dan 163,5 ppm. Terdapat 18 atom C pada daerah 140,4-119,8 ppm yang merupakan serapan dari C aromatis. Terdapat total 21 atom C dari pembacaan $^{13}\text{C-NMR}$ pada senyawa berkesesuaian dengan rumus kimia $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$.



Gambar 8. Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa 2-(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoyl) benzamida (400 MHz, DMSO- d_6).

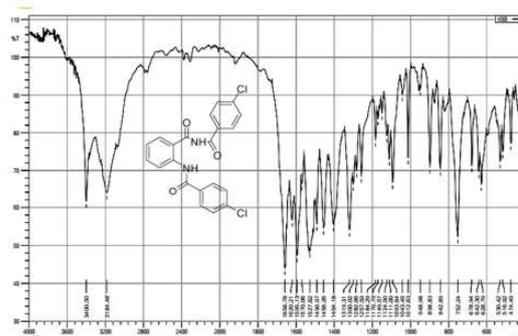
Data spektrum MS yang menggunakan spektrometer Waters Qtof Xevo dengan metode ESI (Electrospray Ionisation). Analisa spektrum massa diperoleh perbandingan nilai $m/z = 412$ (M; 100%); $m/z = 414$ (M+2; 67 %) dan $m/z = 416$ (M+4; 10 %). Adanya kelimpahan relatif dengan perbandingan M : M+2 : M+4 = 10 : 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 -(3-klorobenzamido)-N-(3-klorobenzoyl) benzamida sesuai yang diharapkan.

Hasil Sintesis dan Karakterisasi 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida. Interaksi antranilamida dengan 4-klorobenzoyl klorida menghasilkan senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl)benzamida dan rumus kimia $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$. Hasil reaksi secara organoleptis teramati berupa serbuk padat putih dan tidak berbau dengan persentase sebesar 71,98%,

Konfirmasi struktur senyawa dengan menggunakan spektrum UV-Vis menunjukkan adanya tiga puncak pada 208 nm, 274 nm, dan 306 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 pada Gambar 9 diperoleh dari analisis pita-pita serapan pada spektrum FTIR. Pita serapan dengan intensitas yang kuat pada daerah 1658, 1620 cm^{-1} dan daerah 3400 cm^{-1} menunjukkan 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 (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil klorida diharapkan terbentuk ikatan amida antara dua reaktan tersebut. Pita serapan dengan intensitas yang kuat pada daerah 842 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatis 1,4 disubstitusi dari ikatan C-Cl posisi para.



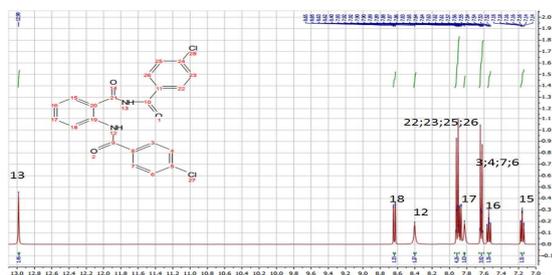
Gambar 9. Spektrum serapan inframerah senyawa 2-(4-klorobenzamido)-N-(4-klorobenzoyl) benzamida pada media pellet KBr.

Pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Gambar 10 dan 11) diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom H aromatis sekitar 6,5-8 ppm^(10,11). Terdapat 12 atom H pada daerah 8,64-7,16 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 (benzoylasi) antara antranilamida dengan turunan benzoil 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 $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$.

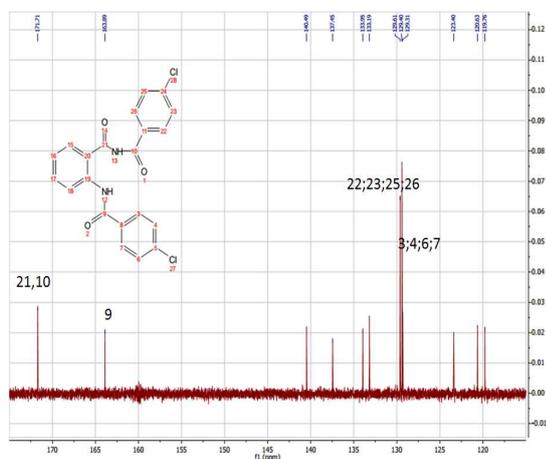
Pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ diperoleh puncak-puncak yang berada pada daerah atom H aromatis sekitar 6,5-8 ppm^(10,11). Terdapat 12 atom H pada daerah 8,64-7,16 ppm merupakan serapan atom H aromatis.

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 (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.