

Sintesis asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-Diklorofenil)benzamida)fenil)asetat sebagai salah satu turunan diklofenak yang merupakan kandidat obat penghambat COX (siklooksigenase)
(*Synthesis 2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl)benzamido)phenyl)acetic acid as diclofenac derivate drugs candidate of COX (cyclooxygenase) Inhibitor*)

Wahyu Nofandari Herdiyanti¹, Ayik Rosita Puspaningtyas¹, Ika Oktavianawati²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Jember

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
Jln. Kalimantan No.37 Jember 68121

e-mail korespondensi: wahyunofandari@gmail.com

Abstract

Sodium diclofenac is an analgetic agent as an antimetabolite that used for treating pain. Several compound as a derivative diclofenac has been synthesis for increase its activity and reduce side effect. 2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl) benzamido)phenyl)acetic acid is a derivate of Sodium diclofenac that synthesized for development new drugs. Synthesis 2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl) benzamido)phenyl)acetic has benzoilation reaction between Sodium diclofenac and 4-Chlorobenzoil Chloride to give the target compound (2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl) benzamido)phenyl)acetic acid). This compound has been purified by Column Chromatography and give yellow color with melting point 143-145°C and then fix identification by H-NMR 400 MHz and KBr FTIR. 2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl) benzamido)phenyl)acetic acid can synthesized and resulted 8.39 % of yield.

Keywords: *Sodium diclofenac, 2-(2-(4-Chloro-N-(2,6-dichlorophenyl)benzamido)phenyl)acetic acid, pain.*

Abstrak

Natrium diklofenak merupakan agen analgetik yang digunakan untuk mengobati nyeri. Beberapa senyawa turunan diklofenak telah disintesis untuk meningkatkan aktivitas dan mengurangi efek samping. Asam 2 - (2 - (4-kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil) asetat adalah turunan dari Natrium diklofenak yang disintesis untuk pengembangan obat baru . Sintesis asam 2 - (2 - (4-kloro-N-(2,6-diklorofenil) benzamida) fenil) asetat terjadi melalui reaksi benzoilasi antara Natrium diklofenak dan 4-Chlorobenzoil Chloride untuk menghasilkan senyawa target yaitu asam 2-(2 - (4-kloro-N-(2,6-diklorofenil) benzamida) fenil) asetat. Produk sintesis ini telah dimurnikan dengan kromatografi kolom dan memberi warna kuning dengan titik leleh 143-145 °C dan kemudian diidentifikasi oleh H-NMR 400 MHz dan KBr FTIR. Senyawa asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat menghasilkan rendemen 8,39% .

Kata kunci: Natrium diklofenak, asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat, nyeri.

Pendahuluan

Nyeri disebabkan karena adanya inflamasi di dalam tubuh. Cedera jaringan atau inflamasi akan menyebabkan pengeluaran berbagai mediator inflamasi, seperti: bradikinin, prostaglandin, leukotrien, amin, purin, sitokin, dan

sebagainya [1]. Semakin berkembangnya zaman, penderita nyeri dan beberapa penyakit yang dapat memberikan rasa nyeri seperti kanker semakin meningkat dan pengobatan nyeri masih banyak yang kurang efektif [3]. Oleh karena kebutuhan adanya obat penghilang rasa nyeri yang efektif maka diperlukan sintesis obat baru dengan cara

pengembangan obat dan usaha penemuan obat baru dengan cara modifikasi struktur [2].

NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) merupakan salah satu golongan obat yang dapat memblokir aksi dari COX sehingga menurunkan produksi prostaglandin yang berperan dalam memediasi terjadinya inflamasi dan nyeri. NSAID secara umum memiliki efek sebagai analgesik (antinyeri), antipiretik (penurun demam) dan pada dosis tinggi sebagai antiinflamasi (meredakan peradangan)[3].

Salah satu obat yang menghambat COX adalah Natrium Diklofenak (Natrium 2-(2-(2,6-diklorofenil amina)fenil)asetat). Obat ini merupakan obat *Non Steroid Anti Inflammation Drug* (NSAID) yang memiliki mekanisme aksi yang tidak spesifik, tetapi diperkirakan bahwa mekanisme utama anti-inflamasi adalah penghambatan sintesis prostaglandin dengan menghambat siklooksigenase (COX) [3].

Beberapa penelitian tentang obat penghambat COX diantaranya adalah pengembangan terhadap natrium diklofenak yang telah dilakukan diantaranya mereaksikan natrium diklofenak menjadi ester dengan substituen aromatis heterosiklik. Dari sintesis yang dilakukan tersebut terbukti dapat mereduksi efek samping gastrointestinal irritation dan peptic ulcer dari natrium diklofenak [4]. Pengembangan natrium diklofenak lainnya dilakukan dengan mensintesis turunan natrium diklofenak melalui reaksi esterifikasi dengan substituen alkil. Sintesis turunan natrium diklofenak ini, juga dapat mereduksi efek samping gastrointestinal irritation dan peptic ulcer dan meningkatkan aktivitas dari natrium diklofenak [5].

Berdasarkan pemaparan tersebut, muncul pemikiran untuk melakukan penelitian tentang sintesis turunan obat dengan senyawa penuntun natrium diklofenak melalui reaksi benzoilasi karena belum ada penelitian tentang sintesis turunan natrium diklofenak menggunakan reaksi benzoilasi. Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis turunan natrium diklofenak dengan reaksi substitusi atom hidrogen pada posisi N dengan gugus 4-fluorobenzoilklorida yang secara teoritis mempunyai elektronegativitas besar membentuk senyawa amida, yaitu asam 2-(2-(N-(2,6-diklorofenil)-4-kloro benzamida) fenil)asetat. Pada hasil sintesis kemudian dilakukan pemurnian, karakterisasi produk dan identifikasi struktur. Karakterisasi produk dilakukan dengan uji organoleptis dan uji kemurnian. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati warna dan bentuk secara visual, sedangkan uji kemurnian dilakukan

menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan melting point apparatus. Identifikasi struktur dilakukan menggunakan metode ¹HNMR 400 MHz dan FTIR KBr.

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik yang dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Natrium diklofenak sebagai bahan aktif, 4-klorobenzoil klorida sebagai substituen, tetrahidrofuran, silika gel 60 F 254, heksan, aseton, metanol, asam asetat glasial, aquadest, toluen, etil asetat.

Tahap reaksi dilakukan dengan mereaksikan Natrium diklofenak (1,590 g, 5 mmol) dan 4- klorobenzoil klorida (0,7 ml, 5 mmol) dalam tetrahidrofuran (5 ml) dalam labu alas bulat. Kemudian direndam dalam *icebath* (0-5°C) dan distirer selama 20 jam untuk mendapatkan senyawa Senyawa target. Hasil kemudian diuapkan pada lemari asam hingga kering. Setelah kering, hasil dicuci dalam aquadest 25 ml pada labu alas bulat. Hasil pencampuran ini untuk selanjutnya dilakukan analisis optimasi eluen dan pemisahan dengan kromatografi kolom. Optimasi eluen dilakukan untuk mendapatkan pemisahan noda senyawa yang baik.

Optimasi eluen dilakukan dengan menotolkan hasil reaksi pada lempeng KLT. Lempeng dieuasi dengan eluen etil asetat, toluen, metanol dalam beberapa macam perbandingan eluen. Eluen yang optimal adalah eluen yang memiliki nilai $R_s > 1,5$. Setelah eluasi, dihitung nilai resolusi (R_s) dari noda yang terbentuk. Pemilihan eluen didasarkan pada nilai R_s yang lebih dari 1,5 [6]. Semakin besar nilai R_s maka semakin baik kondisi analisis yang digunakan untuk memisahkan dua senyawa dalam suatu sampel. Nilai R_s dihitung menggunakan persamaan dibawah ini:

$$R_s = \frac{2x(Rf1-Rf2)}{W1+W2} \quad [6]$$

Keterangan:

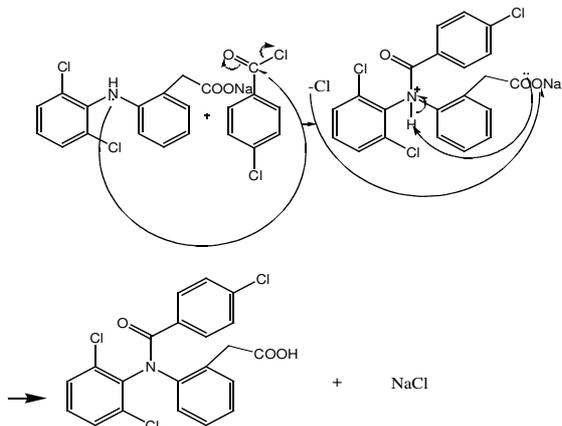
Rf1, Rf2 : Nilai Rf noda

W1, W2 : lebar noda

Setelah dilakukan optimasi eluen, langkah selanjutnya adalah menentukan waktu optimasi reaksi. Uji ini dilakukan untuk mengetahui waktu reaksi pembentukan senyawa produk. Uji ini dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom.

Hasil penelitian

Hasil sintesis akhir didapatkan dengan mereaksikan senyawa Natrium diklofenak dengan 4-Klorobenzoil klorida melalui reaksi substitusi nukleofilik. Mekanisme reaksi ini berlangsung melalui adisi nukleofilik dan eliminasi ion klorida [7]. Adapun reaksi pembentukan senyawa target dapat dilihat pada gambar 1.



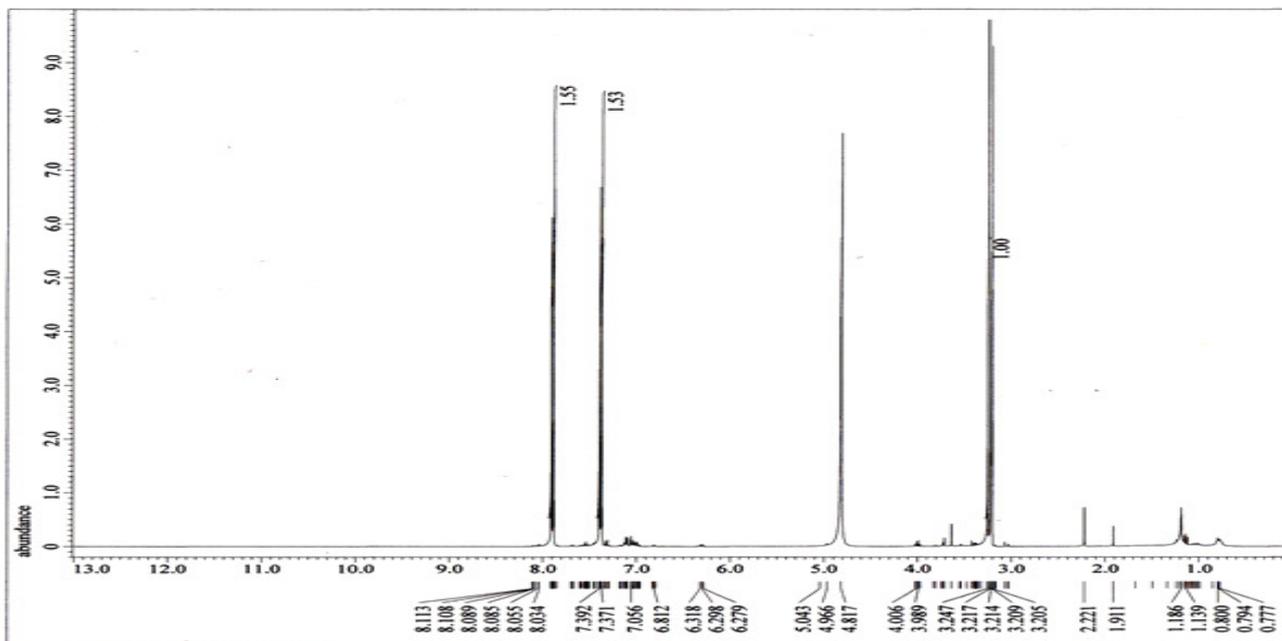
Gambar 1. Mekanisme Reaksi

Dari gambar 1 dijelaskan bahwa gugus amina dari Natrium diklofenak bersifat sebagai

nukleofil yang menyerang gugus karbonil pada 4-klorobenzoil klorida. Mekanisme reaksi dengan 4-klorobenzoil klorida ini berlangsung melalui reaksi adisi nukleofilik dan eliminasi ion klorida. Ion klorida yang tereliminasi kemudian mengikat ion Na pada Natrium diklofenak sehingga membentuk NaCl. Sedangkan ion COO⁻ pada diklofenak menyerang gugus H pada ikatan amina diklofenak sehingga membentuk COOH pada senyawa target.

Pada optimasi eluen diperoleh bahwa eluen etil asetat, toluen dan metanol dengan perbandingan 50:50:10 merupakan eluen yang optimal dengan nilai resolusi 1,60. Pada optimasi waktu reaksi diperoleh bahwa reaksi yang optimum karena noda bahan awal lebih tipis dan noda hasil lebih tebal, serta memiliki perbandingan luas area kromatogram noda bahan awal dan noda hasil yang paling kecil. Hasil kromatografi kolom diperoleh noda satu spot, kemudian digabung menjadi satu untuk dilakukan identifikasi dan karakterisasi.

Spektra 1HNMR kelompok fraksi 22-26 dapat dilihat pada Gambar 2. Pergeseran kimia proton pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Spektra hasil ¹HNMR

Tabel 1. Perbandingan karakteristik spektra ¹HNMR

Proton dari gugus	Pergeseran Kimia (ppm)		Multiplisitas
	Hasil Percobaan	Prediksi Chem BioOffice versi trial	Literatur (Pavia et al., 2009)
CH aromatis	H2=7,376	H2=7,04	H2=multiplet
	H3=7,392	H3=6,88	H3=multiple
	H4=7,371	H4=7,05	H4=multiplet
	H5=7,87	H5=7,52	H5=multiplet
	H6=7,889	H6=7,13	H6=multiplet
	H7=7,392	H7=6,88	H7=multiplet
	H8=7,889	H8=7,13	H8=multiplet
	H9=7,884	H9=7,89	H9=multiplet
	H10=7,376	H10=7,45	H10=multiplet
	H11=7,376	H11=7,45	H11=multiplet
	H12=7,884	H12=7,89	H12=doublet
	CH ₂ alkana	H1=3,247	H1=3,49

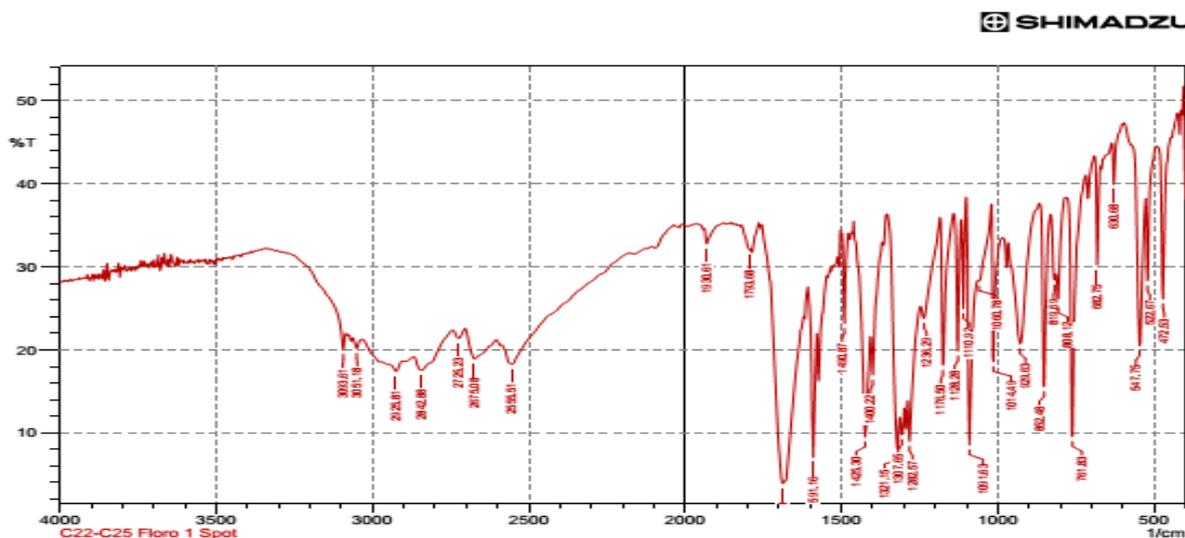
Dari hasil analisis FTIR KBR menunjukkan terbentuknya gugus amida tersier antara natrium diklofenak dan 4-klorobenzoilklorida, serta terbentuknya gugus COOH. Selain itu juga, muncul pita gugus-gugus

fungsi yang terdapat pada senyawa target yang ditunjukkan pada Gambar 3. Pita gugus-gugus fungsi yang muncul sesuai dengan literatur yang ada, yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Interpretasi Spektra IR

Tipe Vibrasi	Frekuensi (cm ⁻¹) 1) dari Literatur	Frekuensi (cm ⁻¹) dari Percobaan
O-H karboksilat	3400-2400	2925,81
C=C aromatis	1600-1475	1491,1-1400,2
C-H aromatis	3150-3050	3093,61
Para-substitusi benzen (Cl)	850-800	852,48
C=O Amida	1680-1630	1591,16
C-N	1350-1000	1307,65
C=O Karboksilat	1725-1700	1687,6
-CH ₂ Alkana	1465	1425,3
C-X Klorida	785-540	761,83

Pada uji organoleptis diperoleh bahwa senyawa target berbentuk serbuk dengan warna putih kekuningan. Pada uji kemurnian diperoleh jarak lebur sebesar 2°C dan diperoleh nilai r (s,m) 0,999423 dan r (m,e) 0,999371 dari hasil uji purity KLT densitometri yang menunjukkan senyawa yang diperoleh adalah senyawa murni.



Gambar 3. Pita serapan senyawa target

Pembahasan

Senyawa target hasil sintesis merupakan senyawa baru dan murni. Hal ini ditunjukkan dengan kemurnian spektra senyawa fraksi 22-26 pada hasil *purity test* menggunakan KLT-Densitometri. Dari identifikasi struktur dengan ¹H-NMR 400 Mhz atom hidrogen pada dan gugus COOH bersifat lemah sehingga puncaknya terkadang dapat dilihat dan terkadang tidak dapat

terlihat. Pada spektra hasil percobaan tidak tampak adanya puncak yang menunjukkan COOH, yaitu pada daerah 10 ppm dan 11 ppm . Pergeseran ini disebabkan oleh atom elektronegatif pada senyawa target. Berdasarkan identifikasi ¹HNMR menunjukkan senyawa target adalah asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat.

Senyawa hasil sintesis merupakan ikatan amida sehingga penentu utama terbentuknya

senyawa hasil sintesis adalah adanya spektra yang menunjukkan amida. Suatu amida memiliki dua ikatan polar utama, yaitu C=O dan C-N. Gugus C=O amida dan C-N pada aromatis (terkonjugasi) berada pada frekuensi 1680-1630 cm^{-1} dan 1350-1000 cm^{-1} [9].

Pada spektra hasil percobaan terdapat pita serapan pada frekuensi 1591,16 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C=O amida dan pita pada frekuensi 1307,65 cm^{-1} yang menunjukkan C-N. Sehingga dapat diketahui bahwa senyawa hasil merupakan suatu amida. Daerah serapan 3400-2400 cm^{-1} merupakan O-H karboksilat [9].

Pada spektra hasil percobaan muncul pita pada frekuensi 2925,81 cm^{-1} yang menunjukkan adanya O-H pada senyawa hasil. Pita serapan C=O karboksilat bergeser dari pustaka karena adanya atom elektronegatif Cl Hal ini memperkuat bahwa senyawa yang dihasilkan adalah senyawa amida dan karboksilat. Apabila senyawa yang dihasilkan bukan amida maka tidak akan muncul pita pada daerah serapan tersebut. Berdasarkan identifikasi FTIR menunjukkan senyawa target adalah asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat.

Simpulan dan Saran

Senyawa asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil) benzamida)fenil)asetat dapat disintesis menggunakan cara benzoilasi dengan waktu reaksi optimal 20 jam. Karakteristik senyawa asam 2-(2-(4-Kloro-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat meliputi: Organoleptis senyawa hasil sintesis berupa kristal jarum dengan warna putih kekuningan; Berdasarkan uji kemurnian didapatkan senyawa murni dengan jarak titik leleh senyawa hasil sintesis sebesar 144-146°C. Berdasarkan spektra $^1\text{H-NMR}$ dan IR yang dihasilkan, menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis yang didapatkan oleh peneliti merupakan senyawa asam 2-(2-(4-kloro-N-(2,6-diklorofenil) benzamido)fenil)asetat.

Penelitian yang perlu dikembangkan selanjutnya adalah pengujian aktivitas penghambatan COX pada hewan uji untuk mengetahui aktivitas dari senyawa target dan pengujian identifikasi struktur lebih jelas lagi menggunakan instrumen GC-MS dan *elemental analysis* untuk menentukan bobot molekul senyawa dan presentasi senyawa organik.

Daftar Pustaka

- [1]. Koo PJS. Management of acute pain. Journal of Pharmacy Practice 2003; 16(4):231-48.
- [2]. Siswandono dan Soekardjo. 2000. Kimia Medisinal edisi 2. Surabaya : Airlangga University Press.
- [3]. Rocklin. 2013. Chronic Pain Medication & Treatment. 2013 Edition: American Chronic Pain Association, Inc.
- [4]. Manon B, dan Sharma PD. Design, Shynthesis and evaluation of diclofenac antioxidant mutual prodrugs as safer NSAID's. Journal Indian Chemical. 2000; 48(1): 1279-1287.
- [5]. Suryawanshi SB, Osman HA, Shaikh YI, dan Nazerrudin GM. Synthesis of Various Esters of Diclofenac (NSAID's) as ProDrugs and their Biological Evaluation. Journal of Chemical Science. 2014; 3(2): 562-565
- [6]. Rohman, A. 2009. Kromatografi untuk analisis obat. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- [7]. Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P. 2001. Organic Chemistry. New York: Oxford University Press
- [8]. Kaale, Nyamweru, Manyanga, Chambuso, Layloff . 2012. The development and validation of a Thin Layer Chromatography densitometry method for the analysis of diclofenac sodium tablets. International journal of chemical and analytical science : 1-7.
- [9]. Pavia, L. D., Lampman, G.M., dan Kriz, G.S. 2009. Introduction to Spektroskopi, Third Edition. USA : Thomson Learning, inc.