

## Variasi Konsentrasi Asam Borat pada Reaksi Amidasi Asam Sinamat dan Potensinya Sebagai Antikolesterol

Eka Susanti Hanhadyanaputri<sup>1)</sup>, Yuliana Purwaningsih<sup>2\*)</sup>, Erwin Indriyanti<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Diploma Analisis Farmasi dan Makanan, Stifar Yayasan Farmasi Semarang, Semarang, Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Stifar Yayasan Farmasi Semarang, Semarang, Indonesia

\*Corresponding author: [y14purwaningsih@gmail.com](mailto:y14purwaningsih@gmail.com)

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui reaksi amidasi asam sinamat dengan N, N-dietil amina menggunakan katalisator asam borat dan mengetahui aktivitas antikolesterol dari produk senyawa hasil amidasi. Reaksi amidasi asam sinamat dengan N, N-dietil amina menggunakan variasi konsentrasi (% mol) asam borat sebagai katalis yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25%. Hasil reaksi amidasi dikarakteristik menggunakan FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR. Aktivitas antikolesterol dianalisis menggunakan metode Liebermann-Burchard. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk amidasi asam sinamat yaitu 20,47%, 22,99%; 23,37%; 26,77% dan 30,28% untuk variasi mol asam borat secara berturut-turut 5%, 10, 15, 20 dan 25%. Hasil karakterisasi dengan FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR menunjukkan bahwa produk hasil amidasi berupa senyawa N, N-dietil sinamamida. Senyawa hasil amidasi mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 5,24%; 27,18% dan 13,22% dengan konsentrasi senyawa berturut-turut sebesar 50, 100, dan 150 ppm. Semakin besar persen mol katalisator asam borat yang digunakan, semakin besar senyawa hasil amidasi yang diperoleh. Produk hasil amidasi yang diperoleh yaitu senyawa N, N-dietil sinamamida yang berpotensi sebagai antikolesterol dengan aktivitas optimum pada konsentrasi 100 ppm.

**Kata kunci:** Amidasi; antikolesterol; asam borat; asam sinamat; sinamamida

## Mole Variation of Concentration Boric Acid in The Amidation Reaction of Cinnamic Acid and Its Potential as Anticholesterol

### ABSTRACT

The aims of this study to determine the amidation reaction of cinnamic acid with N, N-diethylamine using a boric acid catalyst and to determine the anticholesterol activity of the amidation product. The amidation reaction of cinnamic acid with N, N-diethyl amine using various concentration (% mole) of boric acid as a catalyst, namely 5, 10, 15, 20, and 25%. The amidation reaction results were characterized using FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, and <sup>13</sup>C-NMR. The anticholesterol activity was analyzed using the Liebermann-Burchard method. The results showed that the amidation products of cinnamic acid were 20.47%, 22.99%; 23.37%; 26.77%, and 30.28% for variations in moles of boric acid 5%, 10, 15, 20, and 25%, respectively. The results of characterization using FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR showed that the amidation product was N, N-diethyl cinnamamide. The compound resulting from the amidation was able to reduce cholesterol levels by 5.24%; 27.18%, and 13.22% with compound concentrations of 50, 100, and 150 ppm, respectively. The greater the mole percent of boric acid catalyst used, the greater the amidation product obtained. The amidation product formed is N, N-diethyl cinnamamide which has the potential as an anticholesterol with optimum activity at a concentration of 100 ppm.

**Keywords:** Amidation; anticholesterol; boric acid; cinnamic acid; cinnamamide

(Article History: Received 03-01-2022; Accepted 28-03-2022; Published 09-04-2022)

### PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan molekul lipida yang penting dalam membrane sel dan lipoprotein. Kolesterol merupakan prekursor

untuk hormon steroid, asam empedu dan vitamin D (Li *et al.*, 2018). Kolesterol biasanya diproduksi oleh tubuh dalam jumlah normal, namun perubahan pola makan yang

terbentuk dari makanan hewani dan lemak tinggi, menyebabkan kadar kolesterol dalam darah meningkat. Peningkatan kolesterol dalam plasma menyebabkan hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular (Reshma *et al.*, 2018). Menurut WHO bahwa penyakit kardiovaskular sebagai penyebab kematian nomor 1 di dunia, yang diperkirakan menyebabkan kematian 17,9 juta jiwa setiap tahun (World Health Statistic, 2019).

Penurunan kolesterol selama ini dilakukan dengan menggunakan obat golongan stantin. Berdasarkan hasil penelitian bahwa obat ini dapat menyebabkan banyak efek samping termasuk kerusakan otot dan ginjal (Hasan *et al.*, 2015) sehingga perlu dilakukan pencarian obat antikolesterol yang aman. Salah satu senyawa kimia yang dapat menurunkan kadar kolesterol adalah asam sinamat dan turunannya (Peperidou *et al.*, 2017). Senyawa asam sinamat memainkan peran penting dalam sintesis senyawa-senyawa lain (Sharma, 2011).

Salah satu turunan asam sinamat adalah sinamamida. Senyawa sinamamida dan turunannya memberikan aktivitas yang luas di beberapa bidang seperti medisinal, farmasi, pertanian, biologi, dan yang lainnya. Sinamamida dan turunannya di bidang pengobatan dilaporkan memberikan efek yang dapat menekan sistem syaraf, antikonvulsan, relaksasi otot, antialergi, antineoplastik, antitumor, anestetik, analgesik (Borul & Agarkar, 2014), antimikroba, dan antioksidan (Saritha *et al.*, 2018).

Sebanyak 25 % obat-obatan yang tersedia terjadi karena reaksi amidasi (Lanigan *et al.*, 2013). Dewasa ini banyak dikembangkan metode sintesis amidasi langsung senyawa karboksilat oleh senyawa amina dengan menggunakan berbagai macam katalis. Reaksi amidasi yang dimediasi boron telah menarik perhatian yang cukup besar dan asam boronat telah terbukti menjadi katalis yang efektif untuk pembentukan amida langsung dari asam karboksilat dan amina (Lanigan *et al.*, 2013).

Asam borat telah mendapatkan perhatian khusus sebagai katalis dalam sintesis organik untuk sejumlah transformasi sintetis dalam beberapa tahun terakhir. Keunggulan katalis asam borat adalah kelarutan yang sangat baik dalam air, penanganan yang tidak rumit, murah dan

ramah lingkungan (Harichandran *et al.*, 2011), tersedia secara komersial dan stabil (Shahriza *et al.*, 2012).

Reaksi amidasi langsung dengan asam borat biasanya membutuhkan energi yang besar dan waktu yang lama untuk reaksi sehingga diperlukan alternatif penggunaan metode sonokimia. Reaksi organik dengan bantuan ultrasonik telah muncul sebagai teknik inovatif dalam beragam konversi. Penggunaan iradiasi ultrasonik menghasilkan laju reaksi yang dipercepat, konversi energi, dan meminimalkan limbah dibandingkan dengan metode konvensional (Sharma *et al.*, 2017).

Berdasarkan sudut pandang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui reaksi amidasi asam sinamat dengan N, N-dietil amina menggunakan katalisator asam borat dan mengetahui aktivitas antikolesterol dari produk senyawa hasil amidasi.

## METODE PENELITIAN

### a) Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia farmasi Stifar Yayasan Pharmasi Semarang dari bulan Maret – Desember 2020. Penelitian yang dilakukan di laboratorium ini meliputi reaksi amidasi asam sinamat, karakteristik fisik, uji FTIR serta uji antiholesterol secara invitro. Uji <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR dilakukan di LPPT UGM.

### b) Bahan dan cara kerja

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam sinamat (Sigma-Aldrich), N, N-dietil amina (Merck), asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) p.a., dietil eter, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, kolesterol p.a., kloroform p.a., anhidrida asam asetat p.a., asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pekat p.a., n-heksana p.a., etanol p.a., dan metanol p.a.

### Amidasi asam sinamat

Metode sintesis ini mengacu pada Aghayan *et al.* (2016) yang dimodifikasi. Sebanyak 10 mmol asam sinamat ditambah dengan 10 mmol N,N-dietilamina dan asam borat dengan variasi % mol (5%, 10%, 15%, 20% dan 25%). Campuran ini dimasukkan dalam sonikator dengan suhu 50°C selama 40 menit. Hasil sonikator difraksinasi dengan eter (2x20 mL) dalam corong pisah dan ditambah 10 mL akuades. Fase eter ditambah dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat untuk mengikat

airnya dan difiltrasi untuk memisahkan fase eter yang mengandung amida. Fase eter ini dievaporasi untuk menghilangkan pelarut eternya. Padatan yang terbentuk diuji titik lelehnya dan dikarakterisasi menggunakan spektrometri inframerah,  $^1\text{H-NMR}$ , dan  $^{13}\text{C-NMR}$  (Aghayan *et al.*, 2016).

#### Aktivitas antikolesterol

Aktivitas antikolesterol diuji menggunakan metode Liebermann-Burchard berdasarkan literatur (Adu *et al.*, 2019). Sampel hasil amidasi dibuat deret larutan dari 1000 ppm yaitu 50, 100 dan 150 ppm. Masing-masing konsentrasi ditambah 2 mL reagen Liebermann-Burchard dan 5 mL larutan kolesterol 140 ppm. Larutan diinkubasi selama 20 menit sampai terbentuk warna hijau. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}} = 410 \text{ nm}$ ).

#### Analisis Data

Data hasil amidasi dianalisa secara diskriptif. Spektrum hasil FTIR digunakan untuk melihat gugus fungsi dari senyawa hasil amidasi. Hasil pergeseran kimia dari  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  dianalisa untuk menentukan posisi atom H dan C dalam senyawa, sehingga dapat diketahui strukturnya.

Absorbansi hasil pengukuran diolah dengan cara mengurangi absorbansi kolesterol baku oleh sampel hasil sintesis dan dibagi dengan absorbansi baku kolesterol dan dikalikan 100% sehingga diperoleh % penurunan kadar kolesterol. Perhitungan % penurunan kadar kolesterol dapat dilihat pada persamaan 1.

$$\% \text{ Penurunan kolesterol} = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100\% \quad \dots(1)$$

Keterangan:

Ac= Absorbansi kolesterol

As= Absorbansi sampel hasil sintesis

## HASIL DAN PEMBAHASAN

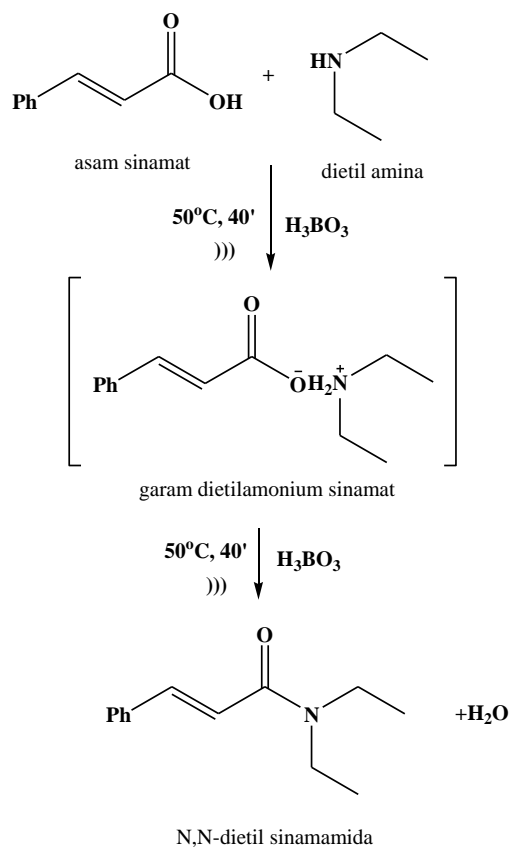
### Amidasi asam sinamat

Proses amidasi dilakukan dengan mereaksikan asam sinamat, dietil amina sebagai reaktan, dan asam borat sebagai katalisator. Perbandingan asam sinamat dan dietil amina adalah 1 : 1 mol (Aghayan *et al.*, 2016). Proses sonikasi yang dilakukan pada penelitian ini ditujukan untuk memangkas lama waktu reaksi. Gelombang ultrasonik terdiri dari siklus kompresi dan ekspansi.

Ketika gelombang ultrasonik dilewatkan melalui cairan, molekul ditarik menjauh satu sama lain, menghasilkan rongga dalam cairan atau gelembung. Gelembung ini akan memuai dan membesar mencapai ukuran yang tidak stabil, dan kemudian pecah disertai pelepasan energi (Pokhrel *et al.*, 2016). Energi inilah yang menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan-ikatan kimia, sehingga membantu mempercepat proses reaksi amidasi.

Reaksi amidasi asam sinamat oleh N, N-dietil amina menghasilkan senyawa N, N-dietil sinamamida dapat dilihat pada Gambar 1. Reaksi yang terjadi merupakan reaksi substitusi nukleofilik. N, N-dietil amina bertindak sebagai nukleofilik karena memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogennya, sehingga menyerang C karbonil pada asam sinamat yang elektropositif dan akan menghasilkan senyawa amida yaitu N, N-dietil sinamamida. Nukleofilik ini yang akan menggantikan gugus pergi pada cincin aromatis (Charville, 2012).

Katalis yang digunakan dalam reaksi amidasi asam sinamat ini yaitu asam borat. Asam borat digunakan dalam sintesis organik sebagai katalis asam yang efektif untuk berbagai transformasi selektif molekul sederhana maupun kompleks. Katalis ini digunakan untuk mempercepat reaksi, dimana asam borat berperan untuk mempercepat jalannya reaksi dengan menurunkan energi aktivasi reaksi. Reaksi amidasi yang dikatalisis asam borat memerlukan penghilangan air dari reaksi baik oleh agen dehidrasi atau dengan refluks azeotropik. Reaksi juga biasanya memerlukan kondisi reaksi yang relatif encer. Stoikiometri reagen boron untuk amidasi sering membutuhkan kondisi anhidrat dan/atau kelebihan asam atau amina (Lanigan *et al.*, 2013). Asam borat membentuk kompleks dengan asam sinamat yang kemudian bereaksi dengan dietilamina membentuk garam dietilamonium sinamat yang terhidrolisis menjadi N, N-dietil sinamamida dan melepaskan asam borat (Aghayan *et al.*, 2016; Charville, 2012).



**Gambar 1.** Reaksi amidasi asam sinamat oleh dietil amina (Charville, 2012)

Produk amidasi dihasilkan dengan varian 5%, 10%, 15%, 20% dan 25% mol asam borat berturut-turut adalah 20,47%, 22,99%; 23,37%; 26,77% dan 30,28% (Tabel 1). Semakin besar % mol asam borat yang digunakan, semakin besar % produk hasil amidasinya. Menurut Tang bahwa N,N-disubstitusi amida dapat dihasilkan sebesar 45-55% (Tang, 2012). Dietil amina merupakan amina sekunder yang memberikan efek sterik yang besar. Hambatan sterik yang signifikan pada amidasi asam sinamat oleh dietil amina menyebabkan % hasil yang diperoleh rendah (Leggio *et al.*, 2017).

Produk hasil amidasi berupa padatan putih kekuningan dengan aroma buah sawo yang larut dalam pelarut metanol, etanol, kloroform dan eter, tetapi tidak larut dalam n-heksana dan air. Hal ini menunjukkan bahwa hasil amidasi bersifat semipolar karena larut dalam pelarut semi polar tetapi tidak larut dalam pelarut polar dan nonpolar.

**Tabel 1.** Persen (%) hasil amidasi dengan variasi mol asam borat

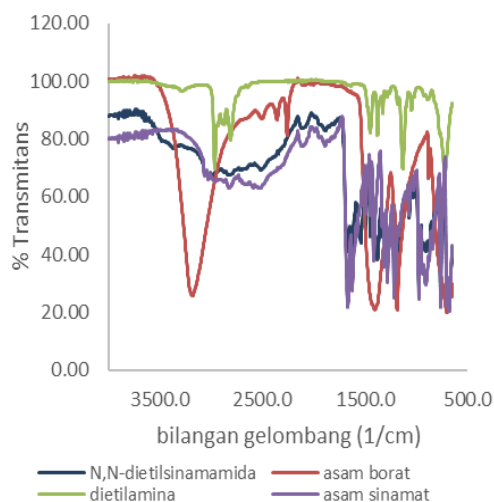
Asam Borat	N,N-dietilsinamamida (g)	Hasil (%)
5%	0,4037	20,47
10%	0,4534	22,99
15%	0,4608	23,37
20%	0,5278	26,77
25%	0,5971	30,28

Titik leleh senyawa hasil sintesis adalah 114,2 – 117,8°C (Tabel 2). Beberapa literatur menunjukkan titik leleh senyawa N, N-dietil sinamamida yang berbeda-beda yaitu 104 °C (Pathan & Agarkar, 2014), 58-60 °C (Leggio *et al.*, 2017). Perbedaan titik leleh ini disebabkan produk sintesis masih belum murni. Hal ini juga ditunjukkan oleh warna padatan hasil sintesis yang kurang merata.

**Tabel 2.** Titik leleh senyawa N, N-dietilsinamamida

Asam Borat	Titik leleh (°C)
5%	114,5 – 117,7
10%	114,2 – 117,7
15%	114,5 – 117,2
20%	114,7 – 117,8
25%	114,7 – 117,3

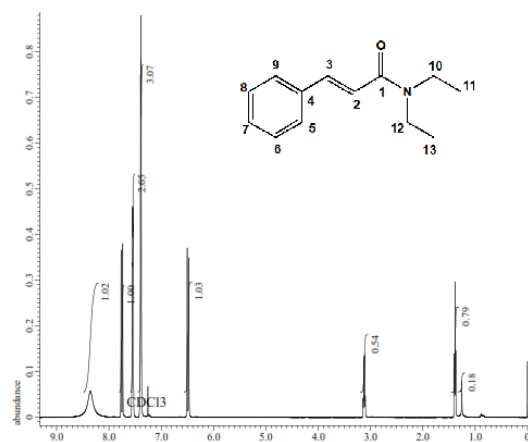
Identifikasi hasil sintesis dengan spektroskopi FT-IR pada Gambar 2 menunjukkan beberapa serapan dari gugus fungsional yang dimiliki oleh senyawa N, N-dietil sinamamida. Gugus-gugus fungsional tersebut adalah C=O amida, C=C terkonjugasi benzena, C-N, C=C terdisubstitusi trans, benzena monosubstitusi dan gugus CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. Gugus-gugus tersebut menyerap pada bilangan gelombang karakteristik untuk masing-masing. Gugus C=O amida ditunjukkan pada daerah 1670 cm<sup>-1</sup>, gugus C=C yang terkonjugasi pada cincin benzena pada daerah 1629 cm<sup>-1</sup>. Hal ini juga didukung oleh serapan pada daerah 977 cm<sup>-1</sup> yang menunjukkan adanya C=C tekuk terdisubstitusi trans.



**Gambar 2.** Spektrum Inframerah senyawa N, N-dietil sinamamida

Daerah pada bilangan gelombang  $1204\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus C-N tekuk. Adanya gugus benzena aromatis ditunjukkan oleh serapan pada  $1543\text{ cm}^{-1}$  dan didukung serapan pada  $768\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya benzena monosubstitusi. Gugus alkil - $\text{CH}_2\text{CH}_3$  ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang  $1379\text{ cm}^{-1}$ . Spektrum dari inframerah yang menunjukkan serapan lebar ion karboksilat pada daerah  $3300\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$  yang didukung serapan pada daerah  $1577\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan  $\text{COO}^-$  ulur dan adanya serapan NH pada  $3366\text{ cm}^{-1}$  (Coates, 2006).

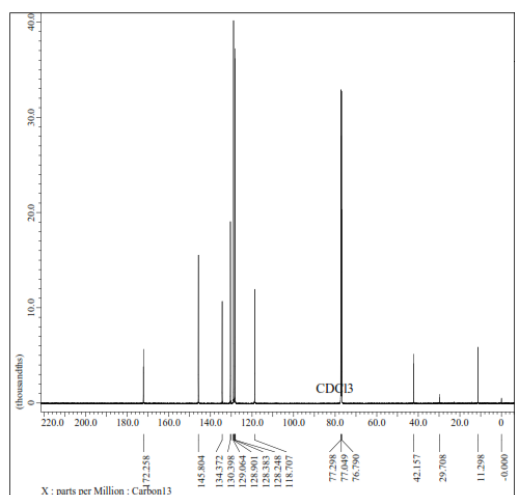
Posisi atom hidrogen dalam senyawa N, N-dietil sinamamida ditunjukkan oleh spektra dari  $^1\text{H-NMR}$  dengan melihat pergeseran kimia masing-masing atom H (Gambar 3). Pergeseran kimia pada daerah  $1,370\text{-}1,399$  (t, 6H) menunjukkan adanya gugus alkil  $\text{CH}_3$  (posisi C11 dan 13).  $\delta\ 3,099 - 3,142$  ppm (m, 4H) ada 4 puncak yang muncul yang saling berhimpit menunjukkan adanya 4 atom H pada  $\text{CH}_2$  (posisi C10 dan 12) yang terikat pada  $\text{CH}_3$ . Sinyal ini menggeser kearah *downfield* karena berikatan dengan unsur elektronegatif yaitu nitrogen, sehingga pergeseran kimia menjadi lebih tinggi. Atom H pada ikatan C=C alkena yang terkonjugasi pada cincin aromatik pada  $\delta\ 6,473$  ppm (d, 1H) menunjukkan posisi H pada C<sub>2</sub>, sedang pergeseran kimia  $6,505$  ppm (d, 1H) menunjukkan hidrogen pada posisi C<sub>3</sub>.



**Gambar 3.** Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  senyawa N, N-dietil sinamamida

Pergeseran kimia yang muncul pada  $\delta\ 7,383\text{-}7,768$  ppm menunjukkan posisi 5 atom H yang ada pada cincin aromatik, yang saling berkorelasi dan ekuivalen satu sama lain. Pergeseran kimia dari spektra  $^1\text{H-NMR}$  hasil sintesis ini memiliki kemiripan dengan penelitian (Leggio *et al.*, 2017). Pergeseran kimia spektra  $^1\text{H-NMR}$  pada  $8,355$  menunjukkan posisi atom H yang terikat pada N yang seharusnya tidak muncul untuk senyawa dietil sinamamida. Puncak yang muncul pada  $\delta\ 8,355$  dapat terjadi karena adanya garam dietilammonium sinamat yang terbentuk pada saat proses reaksi antara asam karboksilat dan amina (Charville, 2012).

Spektra  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) hasil sintesis pada Gambar 4 menunjukkan beberapa pergeseran kimia yaitu  $11,298$  ppm,  $29,708$  ppm dan  $42,157$  ppm menunjukkan gugus alkil yaitu  $\text{CH}_2\text{CH}_3$  pada posisi C10-13. Pergeseran kimia  $118,707$  menunjukkan adanya gugus alkena pada posisi C<sub>2</sub>, sedangkan pada posisi C<sub>3</sub>, sedangkan pada ditunjukkan pada pergeseran kimia  $145,805$ . Gugus aromatis benzena tersubstitusi ditunjukkan oleh pergeseran kimia dari  $128,248$ ;  $128,383$ ;  $128,901$ ;  $129,064$ ;  $130,398$  dan  $134,372$  ppm, sedangkan gugus C=O amida ditunjukkan oleh pergeseran kimia  $172,258$  ppm.



**Gambar 4.** Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR N, N-dietil sinamamida

Pergeseran kimia dari produk hasil amidasi ini sesuai dengan penelitian Leggio (Leggio *et al.*, 2017). Berdasarkan data spektrum IR,  $^1\text{H}$ -NMR, dan  $^{13}\text{C}$ -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil amidasi adalah senyawa N, N-dietil sinamamida dan garam N, N-dietil amonium sinamat.

Garam dietil amonium sinamat ini merupakan garam yang stabil sebagai intermediet dalam reaksi antara asam sinamat dengan amina (Huy & Zoller, 2019). Garam dietil amonium sinamat dapat terhidrolisis membentuk amida (Aghayan *et al.*, 2016). Hidrolisis yang tidak sempurna pada garam ini menyebabkan hasil sintesis yang diperoleh berupa produk campuran yaitu N, N-dietil sinamamida dan N, N-dietil ammonium sinamat.

#### Aktivitas antikolesterol menggunakan Liebermann-Bhurchard

Aktivitas antikolesterol hasil amidasi dilakukan dengan uji Liebermann-Burchard. Produk sintesis diuji pada konsentrasi 50, 100, dan 150 ppm. Senyawa hasil amidasi mengikat kolesterol. Kolesterol sisa bereaksi dengan reagen Liebermann-Burchard menghasilkan senyawa asam kolestaheksena sulfonate yang berwarna hijau kebiruan yang dapat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 410 nm.

Senyawa N, N-dietil sinamamida mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 5,24%; 27,18%; 13,22% dengan konsentrasi senyawa uji sebesar 50, 100, dan 150 ppm secara berturut-turut. Hasil uji tersebut menunjukkan bertambahnya penurunan kadar

kolesterol dari 5,24% ke 27% pada konsentrasi senyawa uji 50 ppm ke 100 ppm, akan tetapi pada konsentrasi 150 ppm terjadi penurunan kadar kolesterol menjadi 13,22% (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 100 ppm adalah konsentrasi optimum penurunan kadar kolesterol oleh produk amidasi.

**Table 4.** Persen (%) penurunan kadar kolesterol N,N-dietilsinamamida

No	Zat	absorbansi	% penurunan
1	Kolesterol 140 ppm	0,401	-
2	N, N-dietil sinamamida 50 ppm	0,380	5,24
3	N, N-dietil sinamamida 100 ppm	0,292	27,18
4	N, N-dietil sinamamida 150 ppm	0,348	13,22

#### KESIMPULAN

Produk hasil amidasi asam sinamat dengan N, N-dietilamina menggunakan katalisator asam borat berupa senyawa N, N-dietilsinamamida yang berpotensi sebagai antikolesterol dengan konsentrasi optimum 100 ppm.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Stifar Yayasan Farmasi Semarang atas hibah dana penelitian pemula sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adu, J.K., Amengor, C.D.K., Kabiri, N., Orman, E., Abla, S., Patamia, G. & Okrah, B.K. 2019. Validation of a Simple and Robust Liebermann – Burchard Colorimetric Method for the Assay of Cholesterol in Selected Milk Products in Ghana. *International Journal of Food Science*, **2019**: 1–7.

- Aghayan, M.M., Tavana, M.M. & Rabah, B. 2016. Sulfonated reduced graphene oxide as a highly efficient catalyst for direct amidation of carboxylic acids with amines using ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, **29**: 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.10.009>.
- Borul, S.B. & Agarkar, S.V. 2014. Synthesis and Characterization of Novel Cinnamamide Derivatives and Their Antimicrobial Activities. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, **7(12)**: 52–55. <https://doi.org/10.9790/5736-071215255>.
- Charville, H. 2012. Direct Amide Formation Between Carboxylic Acids and Amines: Mechanism and Development of Novel Catalytic Solutions. Durham University.
- Coates, J. 2006. Encyclopedia of Analytical Chemistry -Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In R. A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, New York.
- Harichandran, G., Amalraj, S.D. & Shanmugam, P. 2011. Boric acid Catalyzed Efficient Synthesis of Symmetrical N,N'-Alkylidene Bisamides. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **8(1)**: 298–305.
- Hasan, M.K.N., Kamarazaman, I.S., Arapoc, D.J., Taza, N.Z.M., Amom, Z.H., Ali, R.M., Arshad, M.S.M., Shah, Z.M. & Kadir, K.K.A. 2015. Anticholesterol activity of anacardium occidentale linn. does it involve in reverse cholesterol transport. *Sains Malaysiana*, **44(10)**: 1501–1510. <https://doi.org/10.17576/jsm-2015-4410-16>.
- Huy, P., & Zoller, B. 2019. Boron Lewis Acid Catalysis: How to Synthesize Amides Atom-Efficiently. *Nachrichten Aus Der Chemie (Journal of the German Chemical Society GDCh)*, **67(5)**: 51–54. <https://doi.org/10.1002/nadc.20194087418>.
- Lanigan, R.M., Starkov, P. & Sheppard, T.D. 2013. Direct synthesis of amides from carboxylic acids and amines using B(OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. *Journal of Organic Chemistry*, **78(9)**: 4512–4523. <https://doi.org/10.1021/jo400509n>.
- Leggio, A., Bagalà, J., Belsito, E.L., Comandè, A., Greco, M. & Liguori, A. 2017. Formation of amides: One-pot condensation of carboxylic acids and amines mediated by TiCl<sub>4</sub>. *Chemistry Central Journal*, **11(1)**: 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0318-9>.
- Li, L., Dutkiewicz, E.P., Huang, Y., Zhou, H. & Hsu, C. 2018. ScienceDirect Analytical methods for cholesterol quantification. *Journal of Food and Drug Analysis*, **27(2)**: 375–386. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.09.001>.
- Pathan, R.U. & Agarkar, S.V. 2014. SiO<sub>2</sub> Supported Synthesis of N,N Disubstituted Cinnamamides. *Research Journal of Chemical Sciences*, **4(5)**: 56–58.
- Peperidou, A., Pontiki, E., Hdjipavlou-Litina, D., Voulgari, E. & Avgoustakis, K. 2017. Multifunctional cinnamic acid derivatives. *Molecules*, **22(8)**: 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules22081247>.
- Pokhrel, N., Vabbina, P.K. & Pala, N. 2016. Sonochemistry: Science and Engineering. *Ultrasonics Sonochemistry*, **29**: 104–128. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.07.023>.
- Reshma, B.G., Nadar, M.S.A.M. & Selvakumar, P.M. 2018. A Review on Anti-Cholesterol Drugs and their Mechanisms. *Journal of Medicinal Chemistry and Drug Design*, **1(1)**: 1–6.
- Saritha, K., Rajitha, G., Sudheerkumar, K. & Umamaheswari, A. 2018. Synthesis , Molecular Docking Studies And Antimicrobial Activity Of Substituted Cinnamides. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **8(3)**: 770–778.
- Shahrissa, A., Esmati, S. & Nazari, M.G. 2012. Boric acid as a mild and efficient catalyst for one-pot synthesis of 1-amidoalkyl-2-naphthols under solvent-free conditions. *Journal of Chemical Sciences*, **124(4)**: 927–931. <https://doi.org/10.1007/s12039-012-0285-6>.

- Sharma, N., Bhagat, N. & Bhagat, S. 2017. Ultrasound-Accelerated Amide Coupling Reactions Directed toward the Synthesis of 1-Acetyl-3-carboxamide- $\beta$ -carboline Derivatives of Biological Ultrasound-Accelerated Amide Coupling Reactions Directed toward the Synthesis of 1-Acetyl-3-carboxamide- $\beta$ -car. *Syn Open*, **1**: 8–10. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588167>.
- Sharma, P. 2011. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *J. Chem. Pharm. Res.*, **3(2)**: 403–423.
- Tang, P. 2012. Discussion Addendum for: Boric Acid Catalyzed Amide Formation From Carboxylic Acids And Amines: N-Benzyl-4-Phenylbutyramide. *Organic Syntheses*, **89**: 432–437. <https://doi.org/10.15227/orgsyn.089.0432>.
- World Health Statistic. 2019. Monitoring Health for the SDGs. In *World Health Statistic (Issue March)*. [https://doi.org/10.1007/978-1-349-04787-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-349-04787-1_12).