

Review: Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid dengan Modifikasi pada Gugus Hidroksil C-14

Rusydina Sabila*, Sandra Megantara, Febrina Amelia Saputri
Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi,
Universitas Padjadjaran, Sumedang

Andrografolid merupakan suatu diterpenoid lakton yang terkandung dalam tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai senyawa aktif utama. Andrografolid memiliki banyak aktivitas biologis, diantaranya sebagai antiinflamasi, antikanker, hepatoprotektor, antioksidan, antidiabetes, antihiperlipidemia, antibakteri, dan antivirus. Namun, aktivitasnya yang luas tersebut masih lemah. Oleh karena itu, untuk mengoptimalkan aktivitas terapeutik dari andrografolid, diperlukan modifikasi struktur andrografolid. Pada review ini akan dibahas mengenai hasil dari sintesis senyawa turunan andrografolid yang telah dimodifikasi pada gugus hidroksil C-14 dan membandingkan potensi dari aktivitas biologisnya setelah dimodifikasi. Dari hasil review didapatkan bahwa modifikasi terhadap gugus hidroksil C-14 dapat meningkatkan potensi aktivitas biologis andrografolid.

Kata kunci: Andrografolid, gugus hidroksil, modifikasi

A review: Synthesis of Andrographolide Derivatives Compounds modified Hydroxyl Group at C-14

Andrographolide is a diterpenoid lactone contained in the bitter plant (*Andrographis paniculata*) as the main active compound. Andrographolid has many biological activities, including antiinflammatory, anticancer, hepatoprotector, antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemia, antibacterial, and antiviral properties. However, its broad activity is still weak. Therefore, to optimize therapeutic activity of andrographolide, it is necessary to modify the structure of andrographolide. This review will discuss the results of the synthesis of andrographolide derivatives that have been modified in the C-14 hydroxyl group and comparing the potential of biological activity after modification. In our review, we found that modification of the C-14 hydroxyl group can increase the potential of andrographolide biological activity.

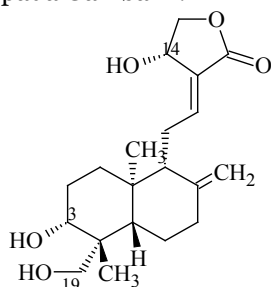
Keywords: Andrographolide, hydroxyl group, modification

*Corresponding author : rusydinas16001@mail.unpad.ac.id

PENDAHULUAN

Andrografolid merupakan suatu diterpenoid lakton yang terkandung dalam tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai senyawa aktif utama yang banyak digunakan selama berabad-abad di Cina, India, Jepang dan negara-negara Asia lainnya (Tang *et al.*, 2011). *Andrographis paniculata* telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya infeksi saluran pernapasan, gastroenteritis akut, radang tenggorokan, disentri bakteri dan diare (Lim *et al.*, 2012). Kandungan andrografolid terbanyak ditemukan pada bagian daun dari tanaman sambiloto yaitu sebesar 0.054 – 4.686%. Selain itu, andrografolid juga dapat ditemukan pada bagian akar, batang, dan pucuk bunga tetapi dalam jumlah yang kecil (Sharma, Sharma and Bhardwaj, 2018). Selain diterpenoid lakton, pada *Andrographis paniculata* juga terkandung metabolit sekunder lain seperti flavonoid dan polifenol (Shrivastava, Varma and Padh, 2011).

Andrografolid memiliki rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$ (350,455 g/mol) dan berbentuk kristal tak berwarna dengan rasa yang sangat pahit (Chao and Lin, 2010). Andrografolid larut dalam etanol, metanol, piridin, asam asetat, dan aseton, sedikit larut dalam air dan pelarut organik yang kurang polar seperti eter, etil asetat, dan kloroform, serta tidak larut dalam dietil eter (Aromdee, 2012; Chao and Lin, 2010). Andrografolid mengandung tiga gugus hidroksil, yaitu pada C-19 (alkohol primer), C-3 (alkohol sekunder), dan C-14 (alkohol alilik) serta memiliki ikatan rangkap eksosiklik dan cincin lakton (Devendar *et al.*, 2015). Struktur andrografolid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Andrografolid (Preet *et al.*, 2014).

Beberapa aktivitas biologis yang dimiliki andrografolid diantaranya yaitu antiinflamasi, antikanker, hepatoprotektor, antimalaria, antioksidan, antidiabetes, antihiperlipidemia, antibakteri, dan antivirus (Aromdee, 2012; Liu *et al.*, 2019; Pandeti *et al.*, 2013; Bharati *et al.*, 2011). Selain itu, andrografolid dapat meningkatkan kadar CD_4^+ pada penderita HIV-1 (Tang *et al.*, 2012).

Dalam aktivitasnya sebagai antikanker, andrografolid berperan dalam menghambat pertumbuhan tumor dengan menginduksi siklus sel atau apoptosis pada berbagai jenis sel kanker (Chen *et al.*, 2013). Andrografolid dilaporkan

dapat menghambat proliferasi berbagai garis sel termasuk sel leukemia, kanker payudara, kanker paru-paru, dan sel melanoma (Jayakumar *et al.*, 2013). Sedangkan dalam perannya sebagai anti-HIV, andrografolid menghambat enzim aspartat protease agar tidak terjadi replikasi virus. Di sisi yang lain, andrografolid sebagai antimalaria juga memiliki peran dalam menghambat enzim aspartat protease (Megantara *et al.*, 2017). Dalam aktivitasnya sebagai antihiperlipidemia yang telah diteliti oleh Wang *et al.* (2012), andrografolid dapat mengurangi kadar TG, TC dan LDL-C, dan meningkatkan kadar HDL-C secara signifikan. Sedangkan aktivitasnya sebagai antiinflamasi, andrografolid memiliki mekanisme aksi yang berbeda dengan obat golongan NSAID. Andrografolid mengurangi inflamasi dengan menghambat ikatan faktor-kappaB (NF- κ B) dengan DNA sehingga mengurangi ekspresi protein inflamasi, seperti COX-2 (Shen *et al.*, 2013). Menariknya, andrografolid telah dilaporkan menunjukkan efek *gastro-protective* dan ulcer, yang dikombinasikan dengan efek anti-inflamasi yang dapat menjadikannya alternatif yang aman dibandingkan dengan NSAID (Low *et al.*, 2015).

Menurut Zhang *et al.* (2013), aktivitas antiinflamasi andrografolid berkaitan dengan aktivitas antidiabetes. Dari hasil penelitian Jin *et al.* (2011) melaporkan bahwa andrografolid menghambat *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) yang menginduksi resistensi insulin serta meningkatkan sensitivitas insulin melalui penghambatan jalur NF- κ B (Li *et al.*, 2018). Pada beberapa penelitian, andrografolid menunjukkan efek antidiabetes pada beberapa hewan percobaan (Xu *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2014).

Disamping memiliki berbagai macam aktivitas biologis, andrografolid memiliki kelemahan yakni kelarutan dalam air yang rendah (Maiti *et al.*, 2010). Kelarutan dalam air dari bahan aktif farmasi selalu menjadi perhatian bagi formulator, karena kelarutan dalam air yang tidak memadai dapat menghambat pengembangan produk parenteral dan membatasi ketersediaan hayati produk oral (Wang, Chen and Wu, 2016). Peningkatan ketersediaan hayati oral dengan teknik yang sesuai dapat mengurangi variabilitas dalam obat sistemik dan juga memungkinkan pengurangan dosis sehingga mengarah pada pengurangan efek samping dan biaya yang lebih rendah (Maiti *et al.*, 2010). Kelarutan yang buruk telah diidentifikasi sebagai penyebab berbagai kegagalan dalam pengembangan obat. Dilaporkan bahwa 40% hingga 70% dari semua senyawa baru yang dikembangkan dalam program pengembangan obat tidak memiliki kelarutan dalam air yang cukup untuk dapat diserap dengan baik dalam gastrointestinal (Kawabata *et al.*, 2011). Selain itu, andrografolid memiliki ikatan protein plasma yang tinggi serta memiliki waktu paruh eliminasi yang rendah (Maiti *et al.*, 2010).

Andrografolid memiliki aktivitas biologis yang luas tetapi lemah (Yan, Fang, and Guan

2018). Oleh karena itu, untuk mengoptimalkan aktivitas terapeutik dari andrografolid, diperlukan modifikasi struktur andrografolid (Xu *et al.*, 2019). Seperti yang dikatakan oleh Kumar, *et al.*, (2019), produk alam dan analog yang dimodifikasi secara sintesis mencakup sekitar 70-80% dari agen bioaktif untuk keperluan klinis disepanjang tahun 1981 - 2018. Oleh karena itu, produk alam perlu dimodifikasi secara sintesis dengan cara kimia untuk meningkatkan profil biologis dan untuk mengatasi masalah farmakokinetik atau sifat biofarmasi seperti kelarutan yang buruk (Kumar *et al.*, 2019).

Gugus hidroksil yang terletak pada C-3, C-14, dan C-19 sering dijadikan sebagai target untuk modifikasi dan dapat dimodifikasi menjadi gugus eter, ester, dan karbonil melalui metode modifikasi yang sesuai. Modifikasi gugus hidroksil C-19 menjadi eter dapat meningkatkan aktivitas sitotoksik (Sirion *et al.*, 2012). Dan beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa turunan andrografolid dengan rantai samping ester pada C-14 dan/atau C-3 dan C-19 menunjukkan peningkatan sitotoksitas dibandingkan dengan andrografolid (Wu *et al.*, 2013). Studi hubungan struktur-aktivitas (SAR) juga menunjukkan bahwa perlekatan gugus pergi yang potensial pada C-14 melalui hubungan ester atau eter, dapat meningkatkan potensi aktivitasnya, hal ini mungkin karena serangan nukleofilik yang difasilitasi oleh protein target (Li *et al.*, 2015). Namun dalam review ini hanya berfokus pada modifikasi gugus hidroksil C-14.

Gugus hidroksil C-14 memiliki peran dalam memberikan aktivitas biologis seperti aktivitas antibakteri dan antivirus. Asilasi pada gugus ini akan meningkatkan aktivitas antibakteri sedangkan penghapusan gugus hidroksil C-14 akan menurunkan sitotoksitas namun meningkatkan aktivitas antivirus (Aromdee, 2012). Oleh karena itu, modifikasi struktur andrografolid ini perlu dilakukan.

METODE PENELITIAN

Review dilakukan dengan metode penelusuran literatur dalam database *Pubmed*, *Science Direct*, dan *Google Scholar* dengan kata kunci pada *Pubmed* yaitu "Synthesis AND Andrografolid Derivatives AND C-14 Hydroxyl Group" dan kata kunci pada *Science Direct* dan *Google Scholar* yaitu "Synthesis of Andrographolide Derivatives". Sumber data yang digunakan dalam review ini yaitu jurnal-jurnal penelitian yang diterbitkan selama 15 tahun terakhir mengenai sintesis senyawa turunan andrografolid pada gugus hidroksil C-14 baik dari jurnal nasional maupun internasional.

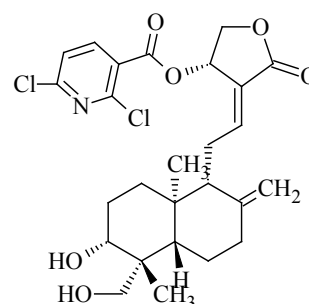
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Andrografolid Langsung Direaksikan dengan Reaktan

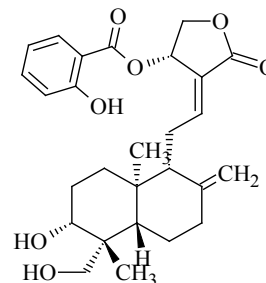
Metode pertama untuk mensintesis senyawa turunan andrografolid ini yaitu dengan cara langsung mereaksikan andrografolid dengan

pereaksi yang diinginkan. Penelitian yang menggunakan metode pertama ini yaitu Uttekar, *et al* (2012).

Pada penelitian Uttekar, *et al* (2012), telah dihasilkan dua senyawa ester, yaitu senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid (Gambar 2) dengan rendemen sebesar 59% dan senyawa 2'-hidroksibenzoil andrografolid (Gambar 3) dengan rendemen sebesar 68% (Uttekar *et al.*, 2012). Untuk mensintesis kedua senyawa tersebut, digunakan 2,6-dikloronikotinoil klorida sebagai reaktan untuk senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid dan salisilil klorida sebagai reaktan untuk senyawa 2'-hidroksibenzoil andrografolid. Sintesis kedua senyawa ini dilakukan dengan metode reflux dengan waktu reaksi selama 4 jam dibawah atmosfer N₂ dalam suasana basa dengan penambahan trietilamin.



Gambar 2. 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid (Uttekar *et al.*, 2012).



Gambar 3. 2'-hidroksibenzoil andrografolid (Uttekar *et al.*, 2012).

Kedua senyawa yang dihasilkan tersebut yakni 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid dan 2'-hidroksibenzoil andrografolid masing-masing memiliki aktivitas biologis sebagai anti-HIV dengan nilai IC₅₀ 0,83 µM dan 84,24 µM, dimana 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid memiliki aktivitas sebagai anti-HIV yang lebih baik daripada 2'-hidroksibenzoil andrografolid namun tidak lebih baik dari andrografolid yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,59. Tetapi, 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid memiliki indeks terapi yang lebih baik dibandingkan dengan andrografolid dengan nilai 12474 sedangkan andrografolid hanya memiliki indeks terapi sebesar 2875. Nilai indeks terapi tersebut diperoleh dari perbandingan dosis yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji (CC₅₀) dengan dosis yang menghasilkan efek terapi pada 50% hewan uji

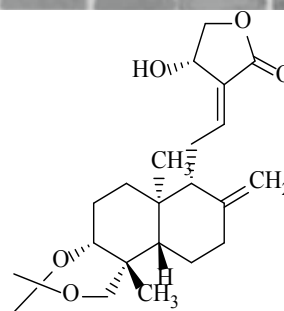
(IC₅₀). Indeks terapi ini merupakan parameter keamanan suatu obat (Uttekar *et al.*, 2012).

Senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid memiliki mekanisme dalam mengganggu peristiwa awal dalam masuknya virus HIV ke dalam sel target dengan berinteraksi dengan gp120. Spesifiknya, senyawa ini menghambat infeksi HIV-1 dengan menghalangi interaksi gp120-CD4/CXCR4/CCR5. Hal ini dibuktikan dengan hasil docking andrografolid dan senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid terhadap daerah V3 loop dari protein gp120 HIV-1 untuk melihat interaksi molekuler. Dari hasil docking, jumlah ikatan hidrogen antara andrografolid dengan senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid terhadap daerah V3 loop mengalami perubahan. Didapatkan penambahan jumlah akseptor hidrogen sebanyak dua ikatan pada senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid. Disamping itu juga didapatkan peningkatan pada nilai log P senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid. Dimana, andrografolid hanya memiliki nilai log P sebesar 1,05 sementara senyawa 2',6'-dikloronikotinoil andrografolid memiliki nilai log P sebesar 3,89 (Uttekar *et al.*, 2012).

B. Andrografolid Diproteksi Terlebih Dahulu

Metode kedua untuk mensintesis senyawa turunan andrografolid ini yaitu dengan cara memproteksi gugus hidroksil C-3 dan C-19 terlebih dahulu dengan menggunakan 2,2-dimetoksiopropana. Dipilihnya 2,2-dimetoksiopropana dalam sintesis ini karena gugus hidroksil C-3 dan C-19 yang akan diproteksi merupakan sebuah 1,3-diol. Dimana proteksi untuk 1,3-diol dapat menggunakan kobalt (II) klorida dan 2,2-dimetoksiopropana sebagai pereaksi. Namun, proteksi dengan menggunakan kobalt (II) klorida akan menghasilkan gugus pelindung karbonat yang tidak stabil dalam suasana basa (Wuts, 2014) sedangkan proteksi dengan menggunakan 2,2-dimetoksiopropana akan membentuk sebuah gugus pelindung asetonida yang stabil dalam suasana basa karena pada sintesis senyawa turunan andrografolid ini menggunakan suasana basa. Metode ini dilakukan oleh penelitian Poerwono *et al* (2010), Devendar *et al* (2015), Hsu *et al* (2016), Chen, Tan and Huang, (2010), Das *et al* (2010), Venkat, Patil, and Patil (2014), Jiang *et al* (2009), dan Patil *et al* (2018).

Pada penelitian Poerwono *et al* (2010) sebelum memodifikasi andrografolid pada gugus hidroksil C-14 untuk menghasilkan produk ester, dilakukan proteksi terlebih dahulu pada gugus hidroksil C-3 dan C-19 untuk melindungi gugus fungsi andrografolid yang berperan dalam memberikan aktivitas biologis sehingga diperoleh senyawa 3,19-isopropiliden andrografolid (Gambar 4) yang tahan terhadap serangan nukleofil dengan rendemen sebesar 93%. Nukleofil disini yaitu andrografolid yang telah kehilangan satu atom hidrogen sehingga andrografolid bermuatan negatif.



Gambar 4. 3,19 - isopropiliden andrografolid (Poerwono *et al.*, 2007).

Gugus pelindung harus memiliki syarat-syarat tertentu, yaitu dapat mudah dimasukkan dan dihilangkan dengan reagen non toksik tanpa mempengaruhi gugus fungsi lain dari suatu molekul dan harus tahan terhadap reagen yang akan menyerang gugus fungsi yang tidak dilindungi (Warren and Paul, 2008).

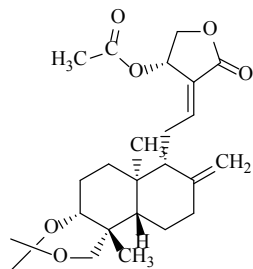
Poerwono *et al* (2007) menggunakan reagen 2,2-dimetoksiopropana dan katalis PPTS dalam pelarut campur benzen: dimetil sulfoksida (9:1) yang direaksikan pada suhu ruang dibawah atmosfer N₂ untuk membuat gugus pelindung pada andrografolid. Proteksi gugus hidroksil dengan menggunakan 2,2-dimetoksiopropana menghasilkan sebuah gugus asetonida yang stabil terhadap basa tetapi tidak terhadap asam. Gugus asetonida juga stabil terhadap serangan nukleofil, organologam, hidrogenasi katalitik hidrida, dan zat pengoksidasi (Warren and Paul, 2008).

Esterifikasi pada alkohol dan fenol lebih sering dilakukan dengan menggunakan turunan dari asam karboksilat seperti anhidrida asam dan halida asam dibandingkan dengan menggunakan asam karboksilat karena lebih reaktif. Reaksi esterifikasi dengan menggunakan anhidrida asam atau halida asam dibantu dengan adanya amina tersier seperti trietilamina dan piridin (Hajipour and Mazloumi, 2006).

Untuk menjalankan reaksi esterifikasi, diperlukan sebuah katalis diantaranya yaitu 4-(Dimethylamino) pyridine (DMAP), tributylfosfin, dan baru-baru ini iodin telah dilaporkan dapat dijadikan sebagai katalis yang berguna untuk esterifikasi alkohol. Selain itu, untuk memproteksi gugus hidroksil juga diperlukan sebuah katalis diantaranya *pyridinium p-toluenesulfonate* (PPTS), asam lewis seperti seng klorida, kobalt klorida, dan skandium trifilmometansulfonat (Hajipour and Mazloumi, 2006).

Dalam penelitiannya, setelah gugus hidroksil C-3 dan C-19 diproteksi, Poerwono *et al* (2007) mereaksikan andrografolid yang telah terproteksi dengan anhidrida asam yakni anhidrida asetat dan amina tersier yakni piridin dibawah atmosfer N₂. Diperoleh senyawa 14-O-asetil-3,19-isopropiliden andrografolid (Gambar 5) dari hasil reaksi dengan rendemen sebesar 86%. Senyawa 14-O-asetil-3,19 isopropiliden andrografolid memiliki aktivitas antitumor yang lebih baik terhadap sel kanker payudara (MCF-7)

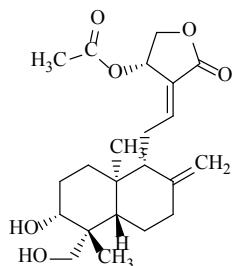
daripada andrografolid yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar $3,13 \mu M$, sedangkan nilai IC_{50} andrografolid adalah $6,25 \mu M$. Keberadaan substituen yang melindungi gugus hidroksil pada C-3 dan C-19 juga berperan dalam meningkatkan aktivitas sitotoksik 14-O-asetil-3,19-isopropiliden andrografolid (Poerwono *et al.*, 2007). Hal ini dibuktikan dalam penelitiannya bahwa gugus hidroksil C-3 dan C-19 yang tidak dilindungi memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih rendah dengan nilai IC_{50} sebesar $6,25 \mu M$.



Gambar 5. 14-O-asetil-3,19-isopropiliden andrografolid (Poerwono *et al.*, 2007).

Selain aktif terhadap sel kanker payudara, menurut penelitian Devendar *et al* (2015), senyawa 14-O-asetil-3,19-isopropiliden andrografolid juga memiliki aktivitas yang lebih poten daripada andrografolid terhadap garis sel kanker HeLa, B-16, dan A549 dengan nilai IC_{50} terhadap masing-masing sel kanker sebesar $4,43 \mu g/mL$, $4,01 \mu g/mL$, dan $3,34 \mu g/mL$. Sedangkan nilai IC_{50} andrografolid terhadap ketiga garis sel kanker tersebut adalah $10,42 \mu g/mL$, $7,54 \mu g/mL$, dan $9,71 \mu g/mL$ (Devendar *et al.*, 2015).

Pada penelitian Hsu *et al* (2016) juga, senyawa turunan andrografolid dengan kelompok hidrofobik berukuran besar pada posisi C-19 dan kelompok asetil pada posisi C-14 menunjukkan aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi terhadap sel kanker dibandingkan andrografolid (Hsu *et al.*, 2016). Pada penelitiannya, diperoleh senyawa 14-O-asetil-3,19-isopropiliden andrografolid yang kemudian dideproteksi dengan menggunakan campuran asam asetat-air (7:3) sehingga menghasilkan senyawa 14-O-asetil andrografolid (Gambar 6) dengan rendemen sebesar 83%. Senyawa 14-O-asetil andrografolid yang telah disintesis oleh Hsu *et al* (2016) dengan metode reflux selama 1,5 jam memiliki sifat fisikokimia yang lebih baik dari andrografolid.



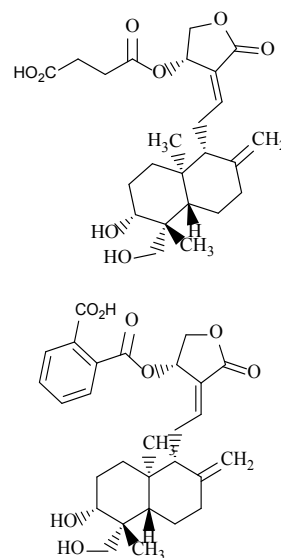
Gambar 6. 14-O-asetil andrografolid (Hsu *et al.*, 2016; Chen, Tan and Huang, 2010).

Untuk meyakinkan bahwa produk yang diinginkan sudah diperoleh, dilakukan karakterisasi dengan menggunakan ^{13}C -NMR. Pada ^{13}C -NMR, jika produk dibandingkan dengan andrografolid, didapatkan dua sinyal karbon tambahan pada δ 171,5 (C=O) dan 20,6 (-CH₃). Selain itu, sinyal C-14 (δ 66.7) dari andrografolid bergeser ke *downfield* sebesar 2,6 ppm serta pada atom karbon C-13 (δ 129.8) dan C-15 (δ 76.1) mengalami resonansi karena atom karbon tetangganya, sehingga masing-masing bergeser ke *upfield* sebesar 4,1 dan 3,0 ppm, hal ini menunjukkan bahwa gugus asil melekat pada -OH di C-14 (Chen, Tan and Huang, 2010).

Disamping memiliki aktivitas sebagai antitumor, menurut penelitian Aromdee (2012), senyawa 14-O-asetil andrografolid juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang aktif melawan bakteri gram positif, yakni *Bacillus subtilis* dengan MIC dan MBC sebesar $31,25 \mu M$. Memperlakukan *Bacillus subtilis* dengan 14-O-asetil andrografolid pada empat kali nilai MIC ($125 \mu M$) selama 4 jam menghasilkan pembentukan agregat sitoplasma yang besar, pemanjangan sel dengan pemisahan sel abnormal, disintegrasi sitoplasma dan akhirnya lisis sel (Aromdee, 2012).

Proteksi terhadap gugus hidroksil C-3 dan C-19 dengan menggunakan 2,2-dimetoksipropana dan deproteksi dengan menggunakan campuran asam asetat-air (7:3) juga dilakukan oleh Das *et al* (2010) dan Venkat, Patil and Patil (2014).

Pada penelitian Das *et al* (2010), digunakan katalis 4-dimetilaminopiridin, pelarut diklorometan, serta reaktan anhidrat suksinat dan anhidrat glutarik sebagai masing-masing reaktan untuk menghasilkan dua senyawa turunan andrografolid (Gambar 7). Reaksi dilakukan pada suhu ruang selama 4 sampai 6 jam sehingga diperoleh dua senyawa turunan andrografolid yang memiliki aktivitas antikanker yang lebih baik daripada andrografolid.

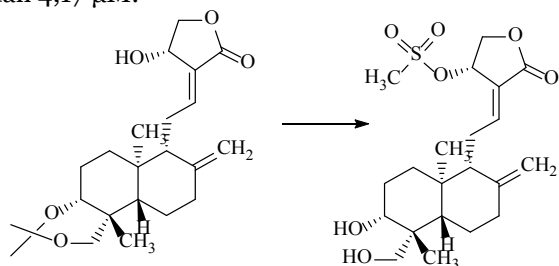


Gambar 7. Senyawa turunan C-14 ester andrografolid (Das *et al.*, 2010).

Kedua senyawa tersebut masing-masing memiliki rendemen sebesar 72% dan 88% serta memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker leukemia (U937, THP1, dan K562) dengan nilai IC_{50} masing-masing senyawa adalah 5,47 μ M; 5,84 μ M; 25,30 μ M dan 6,27 μ M; 5,68 μ M; 41,12 μ M. Sedangkan nilai IC_{50} andrografolid terhadap U937, THP1, dan K562 adalah 12,87 μ M; 6,69 μ M; dan 41,85 μ M. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa aktivitas sitotoksik kedua senyawa turunan C-14 ester andrografolid lebih baik daripada andrografolid karena memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah (Das *et al.*, 2010).

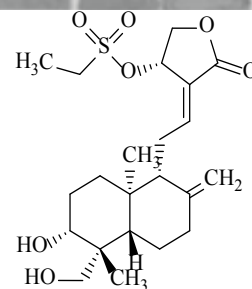
Sedangkan pada penelitian Venkat, Patil and Patil (2014), setelah didapatkan andrografolid yang telah terproteksi, kemudian direaksikan dengan beberapa alkil sulfonil halida dengan penambahan basa diisopropiletil amina dalam pelarut diklorometana selama 3-4 jam untuk mendapatkan senyawa turunan sulfonil ester dan diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker paru-paru manusia (NCI-H187), leukemia K562, kanker payudara (MCF-7/ADR) dan adenokarsinoma paru (A549).

Didapatkan senyawa turunan terbaik yaitu metilsulfonil-14-O-andrografolid (Gambar 8) dengan rendemen sebesar 73%. Senyawa tersebut memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih baik daripada andrografolid. Metilsulfonil - 14 - O - andrografolid memiliki nilai IC_{50} terhadap NCI-H187, K562, MCF-7, dan A549 masing-masing sebesar 6,26 μ M, 5,97 μ M, 11,30 μ M, dan 3,98 μ M, sedangkan nilai IC_{50} andrografolid terhadap NCI-H187, K562, MCF-7, dan A549 masing-masing sebesar 17,85 μ M, 16,18 μ M, 13,82 μ M, dan 4,17 μ M.

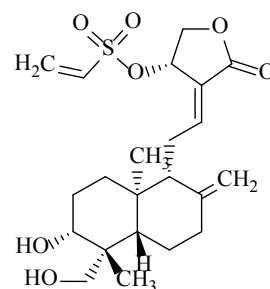


Gambar 8. 3,19-isopropiliden andrografolid menjadi metilsulfonil-14-O-andrografolid (Venkat, Patil and Patil, 2014).

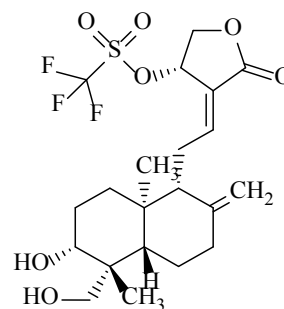
Didapatkan pula tiga turunan senyawa lain yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap NCI-H187 dan K562 yang lebih baik daripada andrografolid dengan rendemen sebesar 73%, yaitu senyawa etilsulfonil -14-O-andrografolid (Gambar 9), vinilsulfonil -14-O-andrografolid (Gambar 10), dan trifluorometilsulfonil- 14-O-andrografolid (Gambar 11) dengan nilai IC_{50} masing-masing senyawa terhadap NCI-H187 adalah sebesar 10,83 μ M, 11,15 μ M, dan 16,20 μ M, sedangkan nilai IC_{50} masing-masing senyawa terhadap K562 adalah sebesar 12,98 μ M, 13,90 μ M, dan 15,76 μ M.



Gambar 9. etilsulfonil-14-O-andrografolid (Venkat, Patil and Patil, 2014).



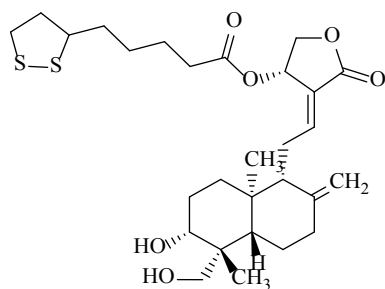
Gambar 10. vinilsulfonil-14-O-andrografolid (Venkat, Patil and Patil, 2014).



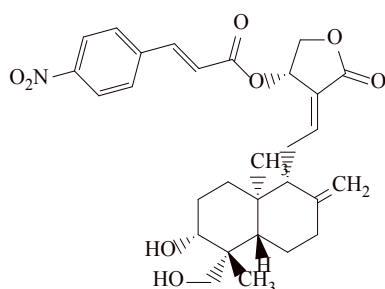
Gambar 11. trifluorometilsulfonil-14-O-andrografolid (Venkat, Patil and Patil, 2014).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Agarwal and Poonam (2015), senyawa metilsulfonil-14-O-andrografolid dan etilsulfonil-14-O-andrografolid juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang lebih poten daripada andrografolid terhadap bakteri gram positif yakni *S. aureus* dan *B. subtilis* serta bakteri gram negatif yakni *E. coli* dan *K. pneumoniae*. Didapatkan nilai MIC metilsulfonil-14-O-andrografolid dan etilsulfonil-14-O-andrografolid terhadap bakteri gram positif yakni *S. aureus* dan *B. subtilis* masing-masing sebesar 5 μ g/mL; 2,5 μ g/mL dan 2,5 μ g/mL; 5 μ g/mL. Sedangkan nilai MIC kedua senyawa tersebut terhadap bakteri gram negatif yakni *E. coli* dan *K. pneumoniae* masing-masing sebesar 2,5 μ g/mL; 5 μ g/mL dan 5 μ g/mL; 5 μ g/mL. Andrografolid memiliki nilai MIC yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedua senyawa turunan sulfonil ester tersebut. Nilai MIC andrografolid terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang telah disebutkan diatas yakni sebesar 15 μ g/mL; 5 μ g/mL dan 10 μ g/mL; 15 μ g/mL (Agarwal and Singh, 2015).

Selain kedua senyawa turunan sulfonil ester tersebut, Jiang *et al* (2009) juga telah mensintesis senyawa turunan andrografolid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Contohnya yaitu senyawa 14- α -lipoil andrografolid (Gambar 12) dan 14-(4-Nitrosinamoil) andrografolid (Gambar 13). Kedua senyawa tersebut disintesis oleh Jiang *et al* (2009) dengan cara memproteksi gugus hidroksil C-3 dan C-19 terlebih dahulu. Setelah didapatkan andrografolid yang telah terproteksi, untuk memperoleh senyawa 14- α -lipoil andrografolid perlu mereaksikan asam α -lipoat, etil kloroformat, dan trietilamin dalam pelarut diklorometan selama 1 jam pada suhu 0°C lalu direaksikan dengan andrografolid yang telah terproteksi selama 48 jam sehingga diperoleh rendemen sebesar 64%. Sedangkan untuk memperoleh senyawa 14-(4-Nitrosinamoil) andrografolid diperlukan asam 4-nitrosinat, etil kloroformat, trietilamin, dan pelarut diklorometan yang direaksikan selama 1 jam pada suhu 0°C. Setelah itu, direaksikan dengan andrografolid yang telah terproteksi selama 48 jam sehingga diperoleh rendemen sebesar 79%.



Gambar 12. 14- α -lipoil andrografolid (Jiang *et al.*, 2009).



Gambar 13. 14-(4-Nitrosinamoil) andrografolid (Jiang *et al.*, 2009).

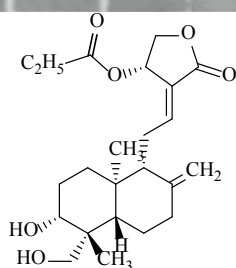
Senyawa 14- α -lipoil andrografolid dan 14-(4-Nitrosinamoil) andrografolid aktif melawan *Staphylococcus aureus* termasuk strain resisten methicillin yaitu MRSA5676 dan MRSA5677. Sebaliknya, andrografolid tidak aktif melawan *S. aureus* yang ditandai dengan diameter zona hambat yang kurang dari 4 mm. Untuk menentukan apakah senyawa yang dimodifikasi dapat menghambat secara langsung pertumbuhan bakteri atau tidak, Jiang *et al* (2009) menggunakan metode pengukuran diameter zona hambat untuk mengukur penghambatan pertumbuhan *S. aureus*. Didapatkan hasil bahwa senyawa 14- α -lipoil andrografolid dan 14-(4-

Nitrosinamoil) andrografolid lebih kuat daripada andrografolid untuk melawan beberapa strain bakteri. Senyawa 14- α -lipoil andrografolid dan 14-(4-Nitrosinamoil) andrografolid menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara langsung dan diperoleh diameter zona hambat masing-masing senyawa terhadap MRSA5676 yaitu $6,9 \pm 0,80$ mm dan $8,1 \pm 0,64$ mm sedangkan diameter zona hambat masing-masing senyawa terhadap MRSA5677 yaitu $4,1 \pm 0,77$ mm dan $6,4 \pm 0,42$ mm (Jiang *et al.*, 2009).

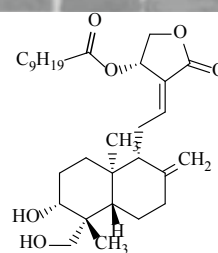
Menurut Aromdee (2012) senyawa 14- α -lipoil andrografolid merupakan turunan senyawa yang dapat diterapkan secara luas. Asam lipoat adalah asam yang mengandung dua atom sulfur pada cincin siklopentana. Sulfur mudah teroksidasi dan merupakan antioksidan yang kuat. Asam lipoat adalah senyawa alami terkenal yang mengubah glukosa menjadi energi dan menyerang radikal bebas. Turunannya sangat aktif terhadap beberapa bakteri, virus dan merupakan inhibitor α -glukosidase. Dari berbagai aktivitas 14- α -lipoil andrografolid, substitusi dengan konstituen aktif seperti asam lipoat merupakan tren baru dalam modifikasi andrografolid. Menurut Aromdee (2012), senyawa 14- α -lipoil andrografolid juga memiliki aktivitas anti-HIV dan antidiabetes yang lebih poten dibandingkan dengan andrografolid. Sedangkan menurut penelitian (Wang *et al.*, 2010), senyawa 14- α -lipoil andrografolid ini hampir sepenuhnya menekan ekspresi protease pada konsentrasi 0,5 mM. Protease adalah faktor virulensi yang diproduksi dan diekresikan oleh bakteri di bawah kontrol jalur pensinyalan (Wang *et al.*, 2010). Selain itu, senyawa 14- α -lipoil andrografolid memiliki aktivitas yang sepuluh kali lebih poten daripada andrografolid dalam menghambat aktivasi NF- κ B dalam sel RIN-m karena asam α -lipoat memiliki penghambatan yang kuat terhadap aktivasi NF- κ B (Yao *et al.*, 2012).

Patil *et al* (2018) juga mensintesis senyawa turunan andrografolid yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Senyawa tersebut yaitu andrografolid-14-propionat (Gambar 14) dengan nilai MIC sebesar 4 μ g/mL dan andrografolid-14-kaproat (Gambar 15) dengan nilai MIC sebesar 16 μ g/mL. Senyawa andrografolid-14-propionat dihasilkan dengan mereaksikan vinil propionat dengan andrografolid dalam pelarut aseton pada suhu 55°C selama 5 jam. Sedangkan senyawa andrografolid-14-kaproat dihasilkan dengan mereaksikan vinil dekanat dengan andrografolid dalam pelarut aseton pada suhu 55°C selama 5 jam.

Esterifikasi yang dilakukan selama 5 jam pada gugus hidroksil C-14 ini meningkatkan potensi andrografolid sebagai antibakteri, dimana nilai MIC andrografolid terhadap bakteri *S. aureus* menurut Patil *et al* (2018) yaitu >128 μ g/mL yang dianggap tidak aktif karena nilai MICnya terlalu tinggi (Patil *et al.*, 2018).



Gambar 14. Andrografolid-14-propionat (Patil *et al.*, 2018).



Gambar 15. Andrografolid-14-kaproat (Patil *et al.*, 2018)

KESIMPULAN

Berdasarkan penjelasan diatas, dapat disimpulkan bahwa modifikasi terhadap gugus hidroksil C-14 dapat meningkatkan potensi dari

DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, D. and Singh, P. 2015. Synthesis, characterization and antibacterial activity of c (14) -sulfonyl ester-type andrographolide derivatives. *Journal of Global Biosciences* 4(5): 2348–2354.

Aromdee, C. 2012. Modifications of andrographolide to increase some biological activities. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 22(2): 169–180.

Bharati, B. D. *et al.* 2011. Pharmacological Activity of Andrographis Paniculata. *Pharmacologyonline* 2: 1–10.

Chao, W. W. and Lin, B. F. 2010. Isolation and identification of bioactive compounds in Andrographis paniculata (Chuanxinlian). *Chinese Medicine* 5: 1–15.

Chen, Y. Y. *et al.* 2013. Andrographolide, a novel NF- B inhibitor, induces vascular smooth muscle cell apoptosis via a ceramide-p47phox-ROS signaling cascade. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2013. doi: 10.1155/2013/821813.

Chen, Z. G., Tan, R. X. and Huang, M. 2010. Efficient regioselective acylation of andrographolide catalyzed by immobilized Burkholderia cepacia lipase. *Process Biochemistry* 45(3): 415–418. doi: 10.1016/j.procbio.2009.09.022.

Das, B. *et al.* 2010. Synthesis, cytotoxicity, and structure-activity relationship (SAR) studies of andrographolide analogues as anti-cancer agent. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 20(23): 6947–6950. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.09.126.

Devendar, P. *et al.* 2015. Synthesis and evaluation of anticancer activity of novel andrographolide derivatives. *MedChemComm* 6(5): 898–904. doi: 10.1039/c4md00566j.

Hajipour, A. R. and Mazloumi, G. 2006. An efficient and simple procedure for preparation of esters and anhydrides from acid chlorides in the presence of 1, 4- diazabicyclo [2 . 2 . 2]. *Synthetic Communications* 32(1): 23–30.

Hsu, Y. H. *et al.* 2016. Development of a bifunctional andrographolide-based chemical probe for pharmacological study. *PLoS ONE* 11(4): 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0152770.

Jayakumar, T. *et al.* 2013. Experimental and clinical pharmacology of andrographis paniculata and its major bioactive phytoconstituent andrographolide. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2013. doi: 10.1155/2013/846740.

Jiang, X. *et al.* 2009. Synthesis and evaluation of antibacterial activities of andrographolide analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44(7): 2936–2943. doi: 10.1016/j.ejmech.2008.12.014.

aktivitas biologis andrografolid yang dilihat dari nilai IC₅₀ maupun nilai MIC dan MBC yang lebih kecil jika dibandingkan dengan andrografolid.

Jin, L. *et al.* 2011. Andrographolide attenuates tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology* 332(1–2): 134–139. doi: 10.1016/j.mce.2010.10.005.

Kawabata, Y. *et al.* 2011. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications', *International Journal of Pharmaceutics* 420(1): 1–10. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.08.032.

Kumar, G. *et al.* 2019. Andrographolide: Chemical modification and its effect on biological activities. *Bioorganic Chemistry* 95: 103511. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.103511.

Lee, M. J. *et al.* 2010. Andrographolide and 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide from Andrographis paniculata attenuate high glucose-induced fibrosis and apoptosis in murine renal mesangial cell lines. *Journal of Ethnopharmacology* 132(2): 497–505. doi: 10.1016/j.jep.2010.07.057.

Li, F. *et al.* 2018. Discovery and preliminary SAR of 14-aryloxy-andrographolide derivatives as antibacterial agents with immunosuppressant activity. *RSC Advances* 8(17): 9440–9456. doi: 10.1039/c8ra01063c.

Li, L. *et al.* 2015. In situ imaging and proteome profiling indicate andrographolide is a highly promiscuous compound. *Scientific Reports*. 5: 1–9. doi: 10.1038/srep11522.

Liang, Z. *et al.* 2014. Synthesis and preliminary biologic activity evaluation of nitric oxide-releasing andrographolide derivatives in RIN-m cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 62(6): 519–523. doi: 10.1248/cpb.c13-00959.

Lim, J. C. W. *et al.* 2012. Andrographolide and its analogues: Versatile bioactive molecules for combating inflammation and cancer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 39(3): 300–310. doi: 10.1111/j.1440-1681.2011.05633.x.

Liu, L. *et al.* 2020. Synthesis and structure anti-inflammatory activity relationships studies of andrographolide derivatives. *Natural Product Research* 34(6): 782–789. doi: 10.1080/14786419.2018.1501689.

Low, M. *et al.* 2015. An in vitro study of anti-inflammatory activity of standardised Andrographis paniculata extracts and pure andrographolide. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15(1): 1–9. doi: 10.1186/s12906-015-0525-7.

Maiti, K. *et al.* 2010. Enhancing bioavailability and hepatoprotective activity of andrographolide from Andrographis paniculata, a well-known medicinal food, through its herbosome. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(1): 43–51. doi: 10.1002/jsfa.3777.

- Megantara, S. *et al.* 2017. In silico study of andrographolide and its derivatives as hiv-1 protease inhibitors for anti-hiv / aids drug discovery. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 8(1S): 222–228.
- Pandeti, S. *et al.* 2013. Synthesis of new andrographolide derivatives and evaluation of their antidiabetic, LDL-oxidation and antioxidant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 69: 439–448. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.09.002.
- Patil, H. S. *et al.* 2018. Regioselective and efficient enzymatic synthesis of antimicrobial andrographolide derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 28(6): 1132–1137. doi: 10.1016/j.bmcl.2018.01.007.
- Poerwono, H. *et al.* 2007. Structure Modification of Andrographolide To Improve Its Potency As Anticancer. *Indonesian Journal of Chemistry* 7(2): 202–207. doi: 10.22146/ijc.21699.
- Preet, R. *et al.* 2014. Synthesis and biological evaluation of andrographolide analogues as anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 85: 95–106. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.088.
- Sharma, S., Sharma, Y. P. and Bhardwaj, C. 2018. HPLC quantification of andrographolide in different parts of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(3): 168–171.
- Shen, T. *et al.* 2013. AP-1/IRF-3 targeted anti-inflammatory activity of andrographolide isolated from *andrographis paniculata*. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2013. doi: 10.1155/2013/210736.
- Shrivastava, N., Varma, A. and Padh, H. 2011. Andrographolide: A new plant-derived antineoplastic entity on horizon. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. doi: 10.1093/ecam/nep135.
- Sirion, U. *et al.* 2012. New substituted C-19-andrographolide analogues with potent cytotoxic activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 22(1): 49–52. doi: 10.1016/j.bmcl.2011.11.085.
- Tang, C. *et al.* 2011. Design, synthesis, and biological evaluation of andrographolide derivatives as potent hepatoprotective agents. *Chemical Biology and Drug Design* 83(3): 324–333. doi: 10.1111/cbdd.12246.
- Tang, C. *et al.* 2012. Synthesis and biological evaluation of andrographolide derivatives as potent anti-HIV agents. *Archiv der Pharmazie* 345(8): 647–656. doi: 10.1002/ardp.201200008.
- Uttekar, M. M. *et al.* 2012. European journal of medicinal chemistry anti-hiv activity of semisynthetic derivatives of andrographolide and computational study of hiv-1 gp120 protein binding. *European Journal of Medicinal Chemistry* 56: 368–374. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.07.030.
- Venkat, R. P., Patil, V. and Patil, R. 2014. Novel Andrographolide Derivatives and Their in Vitro Cytotoxic Activity. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 5(05): 193–197.
- Warren, S. and Paul W. 2008. *Organic Synthesis: The Disconnection Approach 2nd Edition*. United Kingdom: John Wiley & Sons, Inc.
- Wang, B. *et al.* 2012. Synthesis and Preliminary Anti-HIV Activities of Andrographolide Derivatives. *Medicinal Chemistry* 8: 293–298.
- Wang, Z. *et al.* 2010. Design, synthesis and antibacterial activity of novel andrographolide derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 18(12): 4269–4274. doi: 10.1016/j.bmc.2010.04.094.
- Wang, Z., Chen, Y. and Wu, F. 2016. Oligo-polyethylene glycol (PEG)-modified 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide derivatives: Synthesis, solubility and anti-bacterial activity. *Tetrahedron* 72(18): 2265–2270. doi: 10.1016/j.tet.2016.03.025.
- Wu, Z. W. *et al.* 2013. Improved inhibitory activities against tumor-cell migration and invasion by 15-benzylidene substitution derivatives of andrographolide. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 23(23): 6421–6426. doi: 10.1016/j.bmcl.2013.09.049.
- Wuts, Peter G.M. 2014. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis Fifth Edition*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Xu, J. *et al.* 2012. Synergetic effect of *Andrographis paniculata* polysaccharide on diabetic nephropathy with andrographolide. *International Journal of Biological Macromolecules* 51(5): 738–742. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.06.035.
- Xu, M. *et al.* 2019. Evaluation of andrographolide-based analogs derived from *andrographis paniculata* against *mythimna separata walker* and *tetranychus cinnabarinus boisduval*. *Bioorganic Chemistry*. 86: 28–33. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.01.020.
- Yan, Y., Fang, L. H. and Guan H. D. 2018. Andrographolide. *Natural Small Molecule Drugs from Plants* 2018: 357–362.
- Yao, H. *et al.* 2012. Reaction characteristics of andrographolide and its analogue AL-1 with GSH, as a simple chemical simulation of NF- κ B inhibition. *Molecules* 17(1): 728–739. doi: 10.3390/molecules17010728.
- Zhang, C. *et al.* 2013. Preventive effects of andrographolide on the development of diabetes in autoimmune diabetic NOD mice by inducing immune tolerance. *International Immunopharmacology* 16(4): 451–456. doi: 10.1016/j.intimp.2013.05.002.