

STUDI *IN SILICO* HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS (HKSA) SENYAWA TURUNAN BENZIMIDAZOLE, *DOCKING* MOLEKUL, PENELUSURAN FARMAKOFOR, *VIRTUAL SCREENING*, UJI TOKSISITAS, PROFIL FARMAKOKINETIK SEBAGAI ANTI-TUBERKULOSIS

Nursalam Hamzah¹, Nur Syamsi Dhuha², Reza Ramadhan³

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian studi hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA), *docking* molekul, penelusuran farmakofor, *virtual screening*, uji toksisitas, dan profil farmakokinetik pada turunan Benzimidazole sebagai inhibitor DNA *Gyrase* pada penyakit Tuberkulosis secara *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan model persamaan HKSA senyawa, menemukan fitur-fitur farmakofor senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas dan selektivitas DNA *Gyrase*, serta memilih senyawa hasil *virtual screening* yang kemudian ditentukan profil farmakokinetik, toksisitas, dan toksisitas metabolit untuk pengobatan Tuberkulosis. Prosedur dimulai dengan pemodelan dan optimasi geometri struktur molekul pada perangkat lunak HyperChem 8.0. Optimasi geometri dilakukan dengan metode *Ab initio*. Perhitungan Deskriptor HKSA, penentuan fitur farmakofor dan *docking* molekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MOE 2009. Selanjutnya pengujian toksisitas dengan perangkat lunak Toxtree dan Admet SAR, serta penentuan profil farmakokinetik dengan menggunakan program berbasis web Pre ADME dilakukan untuk 150.000 senyawa *natural product* dari zinc *database*. Dari penelitian didapatkan persamaan: $\text{Log } 1/\text{MIC} = -8.6816 + 1.6938 \text{ AM1_LUMO} + 0.0160 \text{ ASA_H} - 3.9194 \text{ mr} + 0.1087 \text{ VSA}$, dimana $r^2 = 0,955$ dan $q^2 = 0,8761$, selanjutnya diperoleh hasil *docking* molekul pada protein kode 2XCS, senyawa 23 menunjukkan nilai *docking score* (S) -190.9309. Hasil *virtual screening* pada zinc *database* diperoleh senyawa dengan kode ZINC08964902 adalah senyawa yang paling baik diantara 150.000 senyawa yang dilihat dari sisi kecocokan pada *query* farmakofor, *docking* dengan metode farmakofor, prediksi bioavailabilitas menggunakan *rule of 5* Lipinski, dan prediksi ADME/T.

Kata Kunci : Farmakofor, *In silico*, Docking Molekul

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB), adalah penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Tuberkulosis merupakan salah satu penyakit yang paling mengancam kesehatan masyarakat (Pieroni, dkk., 2013: 26).

Menurut data *Global Tuberculosis Report 2013* dari WHO, terdapat 8,6 juta kasus TB baru pada tahun 2012 dan 1,3 juta penderita TB meninggal dunia, termasuk 320.000 orang diantaranya positif mengidap HIV. Juga dilaporkan

bahwa diperkirakan sekitar 450.000 orang mengalami *multidrug-resistant* TB (MDR-TB) dan diperkirakan terdapat 170.000 kematian akibat MDR-TB. Terapi dengan waktu yang panjang, toksisitas, dan emergensi dari MDR-TB telah menciptakan suatu kebutuhan yang mendesak akan obat yang baru (Shirude, dkk., 2013: 1).

Dalam infeksi penyakit TB dikenal kondisi resistensi terhadap obat. Resistensi terhadap obat TB (*Drug Resistant TB*) merupakan ancaman besar dalam kontrol TB di seluruh dunia (WHO

Global Tuberculosis Report 2014, 2014: 54). Kekebalan ganda obat TB (*Multiple Drug Resistant TB* (MDR-TB)) didefinisikan sebagai resistensi terhadap dua atau lebih obat TB. Resistensi obat dapat muncul secara alami. Namun, hal itu lebih mungkin muncul sebagai masalah pengobatan dikarenakan terapi yang tidak cukup, tidak efektif dan tidak tepat, serta kesalahan dari pasien untuk mematuhi terapi yang ditentukan. Malabsorpsi obat dikarenakan kekurangan gizi juga dapat berkontribusi pada munculnya resistensi obat (Finer, 2003: 82).

Karena resistensi obat yang terus muncul, maka perlu untuk mencari dan mengembangkan obat *anti-mycobacterial* yang baru. Pengurutan genom tuberkulosis telah memberikan informasi yang baru tentang organisme. Informasi sekuen dan penjelasan fungsi gen akan memberikan informasi untuk mengembangkan obat baru (Finer, 2003: 86).

Sebuah penelitian dari Mdulili (2007) meneliti tentang DNA *gyrase* sebagai target aksi dari obat-obat antibakterial. DNA *gyrase* merupakan suatu enzim pada bakteri yang berperan penting pada proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA. Selanjutnya penelitiannya juga mengungkapkan bahwa *Mycobacterial (Mtb)* DNA *gyrase* merupakan target yang efektif bagi penemuan obat untuk melawan bakteri patogen. Penghambatan dari enzim ini juga diketahui aktif untuk melawan non-replikasi *Mycobacterial (Mtb)*, yang mana

sangat penting untuk pemberantasan bakteri ini. Senyawa penghambat *Mycobacterial (Mtb)* DNA *gyrase* akan bersifat efektif untuk melawan *multi-drug resistant TB* (MDR-TB), dan juga efektif melawan resistensi fluoroquinolon *Mycobacterial (Mtb)*.

Hameed, dkk (2014) telah mengidentifikasi suatu senyawa baru kelas Benzimidazole dengan melakukan pendekatan menggunakan mode pengikatan pada penghambatan DNA *gyrase*. Peneliti juga melakukan studi SAR (*Structure Activity Relationship*) terhadap 19 senyawa-senyawa turunan Benzimidazole yang telah mengalami modifikasi pada posisi C-7 dari Cincin kiri terhadap aktivitasnya sebagai anti *Mycobacterial (Mtb)*.

Dari data tersebut dibuat studi HKSA terhadap senyawa turunan Benzimidazole. Hasil HKSA ini akan diterapkan untuk memprediksi beberapa senyawa turunan Benzimidazole. Hasil prediksi aktivitas diharapkan berguna dalam menentukan senyawa mana yang akan dilakukan sintesis dan uji selanjutnya. Selain itu, juga ditentukan fitur farmakofor yang berperan dalam pengikatan ligan pada reseptor dan fitur ini kemudian dijadikan cetakan untuk 150.000 senyawa produk alam dari zinc *database* yang diprediksi memiliki aktivitas sebagai inhibitor *Mycobacterial Gyrase* pada penyakit Tuberkulosis. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh model HKSA dan fitur farmakofor senyawa turunan

Benzimidazole yang berperan dalam pengikatan ligan-reseptor dan juga menemukan senyawa produk alam yang memiliki potensi sebagai inhibitor *Mycobacterial Gyrase* pada penyakit Tuberkulosis.

METODE PENELITIAN

Percobaan

Software

HyperChem® Release 8.0, *Molecular Operating Environment (MOE 2009.10)*, *SPSS Statistics 17.0*.

Hardware

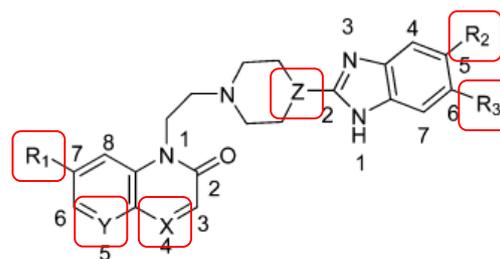
Processor Intel® *Core*™ 2 *Duo CPU E7500* @ 2.93 GHz 2.94 GHz, RAM 2,00 GB dan harddisk 284 GB

Prosedur :

a. Penyusunan model persamaan HKSA

Struktur senyawa dibuat dengan menggunakan paket program *HyperChem*. Senyawa-senyawa ini merupakan senyawa turunan Benzimidazole sesuai dengan hasil penelitian Hameed, dkk (2014), sebanyak 19 senyawa. Pembuatan model terdiri atas pemilihan atom, jenis ikatan, dan muatan total dari molekul uji. Struktur tiga dimensi (3D) setiap senyawa disimpan dalam format ekstensi *.hin.

Gambar 1. Struktur Benzimidazole dengan enam posisi substituen



Struktur senyawa dioptimasi dengan perangkat lunak *HyperChem* menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set minimal dan *convergence limit* 10^{-5} . File yang telah dioptimasi disimpan dalam format ekstensi *.mol. Hasil perhitungan *Ab initio* lebih akurat bila dibandingkan dengan semiempirik, sebab *Ab initio* menyelesaikan semua persamaan mekanika kuantum secara eksak dan semua elektron yang ada diperhitungkan (Pranowo, H.D. dkk, 2011).

Sembilan belas senyawa yang akan dihitung nilai deskriptornya dibuka dengan MOE dan digabungkan dalam satu file dengan format *.mdb. Nilai deskriptor dikalkulasi menggunakan perangkat lunak MOE. Sebanyak 15 sifat kimia fisika dihitung yang mewakili parameter hidrofobik, elektronik dan sterik, sesuai dengan model HKSA dengan pendekatan Hansch.

Pencarian model persamaan terbaik menggunakan variabel tak bebas aktivitas inhibisi DNA *Gyrase* ($\log 1/\text{MIC}$) hasil eksperimen dan variabel bebas yang digunakan berupa nilai deskriptor. Semua variabel dianalisis menggunakan regresi multilinear metode *enter*. Hasil yang diperoleh berupa persamaan HKSA

beserta nilai parameter statistik seperti nilai r , r^2 dan q^2 . Nilai r (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data aktivitas biologis pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari hasil analisis regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya maka semakin baik hubungannya. Untuk mendapatkan nilai koefisien korelasi yang dapat diterima tergantung pada jumlah data penelitian. Semakin banyak jumlah data penelitian maka semakin rendah koefisien korelasi atau nilai r yang dapat diterima. Dalam penelitian HKSA diusahakan dicapai suatu nilai r yang lebih besar dari 0,9 (Siswandono, 2000). Selain parameter statistik tersebut, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai tetapan dan nilai koefisien setiap variable bebas yang terlibat dalam persamaan yang dihasilkan. Nilai koefisien yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas inhibisi teoritis.

Sepuluh model persamaan terbaik selanjutnya divalidasi silang dengan metode *Leave One Out*, yaitu dengan cara setiap senyawa terprediksi dihilangkan dalam perhitungan analisis regresi linear. Nilai q^2 sebagai hasil validasi silang, dihitung menurut persamaan:

$$q^2 = 1 - \frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2}$$

y_i = aktivitas eksperimen senyawa ke- i

\bar{y} = aktivitas eksperimen rata-rata

\hat{y}_i = aktivitas prediksi validasi silang senyawa ke- i

Persamaan HKSA yang dipilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistik terbaik dan memenuhi kriteria validasi yaitu $q^2 \geq 0.5$ (JinCan dkk, 2008).

b. Docking Molekul

Pendekatan yang digunakan adalah semi *rigid*, dimana struktur protein dibuat *rigid* sedangkan ligan fleksibel.

Tabel 1. Deskriptor yang digunakan

No.	Simbol pada software	Simbol Umum	Deskriptor
1	AM1_dipole	μ	Momen dipol
2	AM1_E	E_{Tot}	Energi total
3	AM1_Eele	E_{Ele}	Energi elektronik
4	AM1_HOMO	E_{HOMO}	Energi HOMO
5	AM1_LUMO	E_{LUMO}	Energi LUMO
6	AM1_HF	HF	panas pembentukan
7	ASA_H	Å	Luas permukaan hidrofobik
8	Glob	Glob	Globularitas
9	log P (o/w)	log P	Koefisien partisi
10	log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
11	Mr	MR	Refraktivitas molar
12	VSA	VSA	Daerah Permukaan

			Van Der Waals
13	vol	Vol	Volume molekuler
14	ASA_P	PSA	Luas permukaan polar
15	vdw_vol	V ^{vdw}	Volume Van Der Waals

memberikan kemungkinan interaksi dalam berbagai konformasi ligan sehingga memungkinkan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Jumlah bentuk konformasi yang memungkinkan sesuai dengan banyaknya ikatan *rotatable* yang ada (Patrick, G.L., 2009).

Tahapan prosedur *docking* terdiri dari tiga langkah, yaitu preparasi ligan, preparasi protein dan simulasi *docking*.

Ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dioptimasi dengan metode *Ab initio* menggunakan program *HyperChem*. Struktur kemudian disimpan dalam format *.mol. *File* dibuka pada Jendela MOE. Struktur diprotonisasi untuk menambahkan hidrogen dan muatan parsial, dengan Protonasi tiga dimensi. *File* kemudian disimpan dalam *database* (*.mdb).

Reseptor-reseptor diunduh dari situs *RSCB.PDB* dalam format *.pdb/*.ent. Molekul air kemudian dihapus dari struktur. Protein kemudian diprotonasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Untuk memastikan telah dilakukan protonasi, dilakukan pengecekan hingga

dipastikan tiap atom pada molekul memiliki muatan. (Levita, J. dkk, 2012).

Ligan dan Reseptor yang telah diprotonisasi dibuka dalam Jendela MOE. Panel Simulasi *docking* dibuka. Pada panel, *Placement* diatur *Alpha PMI*, *rescoring 1* menggunakan *London dG*, dan *refinement* diatur *Force Field*. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan kedekatan dengan struktur ligan alami dan nilai *scoring* terendah.

c. Penentuan Fitur Farmakofor Reseptor dan Ligan

Tujuan dari penyusunan *query* farmakofor adalah untuk menjelaskan struktur 3D senyawa turunan Benzimidazole yang penting untuk pengikatan dengan reseptor dan menghasilkan farmakofor yang dapat digunakan untuk mengukur fitur struktur dari CDK yang penting untuk aktivitas biologis dengan melihat residu asam amino yang berperan pada pengikatan.

Fitur farmakofor ditentukan melalui tiga tahapan yaitu membuat database konformasi dengan menggunakan satu set senyawa yang telah dioptimasi, membuat *Query pharmacophore* dengan memilih titik anotasi berdasarkan pengikatan ligan protein yang hasil analisis *PLIF*, kemudian penyempurnaan struktur *Query* yang dapat *hit* dengan konformasi senyawa-senyawa aktif.

d. Virtual Screening

Terminologi *in silico* diantaranya dikenal sebagai penapisan *virtual*. Untuk

melakukan penapisan senyawa biologis terhadap milyaran senyawa masih sangat sulit, oleh karena itu, pendekatan secara *virtual* menjadi alternatif. Karena metode ini relatif lebih cepat bahkan mampu menangani ribuan senyawa dalam satu hari dan bergantung pada senyawa yang diuji dan kecepatan komputer. Kini, *virtual screening* telah mencapai status sebagai teknologi yang dinamis dan menguntungkan dalam penemuan senyawa obat.

Proses *virtual screening* digunakan untuk membantu menemukan senyawa-senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat. Jika target telah diketahui, algoritma *docking* dapat digunakan untuk menempatkan kandidat obat ke dalam sisi aktif dari target seperti enzim atau reseptor. Kemudian interaksi senyawa-senyawa yang telah diikat kemudian diurutkan berdasarkan hasil analisis secara komputasi komponen sterik dan elektrostatisnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kajian HKSA

Kajian HKSA menggunakan 19 senyawa. Pemilihan senyawa-senyawa ini didasarkan pada kemiripan kerangka struktur dari senyawa tersebut, dan aktivitas inhibisi DNA *Gyrase* diperoleh dari hasil penelitian Hameed, dkk (2014).

Hasil perhitungan deskriptor kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis regresi multilinear dengan bantuan

perangkat lunak SPSS 17. Deskriptor-deskriptor tersebut diregresikan terhadap nilai afinitas ($\text{Log } 1/\text{MIC}$) sebagai variabel terikat dan deskriptor sebagai variabel bebas. Terdapat dua metode yang digunakan untuk melakukan analisis regresi multilinear pada SPSS, metode *Backward* digunakan untuk menentukan jumlah deskriptor yang akan digunakan sebagai kombinasi dalam persamaan, setelah jumlah deskriptor diperoleh, analisis regresi multilinear dengan metode *Enter* dilakukan untuk memperoleh 10 model persamaan terpilih berdasarkan pada nilai r dan R^2 . Pada penelitian ini diperoleh bahwa jumlah kombinasi deskriptor yang paling minimal dapat digunakan yaitu 4 ($r = 0.905$ dan $R^2 = 0.819$), semakin sedikit jumlah deskriptor yang digunakan dalam kombinasi maka parameter yang digunakan dalam desain obat semakin sedikit sehingga mempermudah peneliti dalam meningkatkan aktivitas dengan mengganti substituen berdasarkan deskriptor yang terpilih. Nilai q^2 digunakan untuk menentukan model persamaan terbaik. Model persamaan harus memenuhi kriteria nilai $q^2 \geq 0,5$.

Dari sepuluh kombinasi empat deskriptor yang digunakan, persamaan yang dipilih berdasarkan kriteria-kriteria statistik di atas yaitu persamaan dengan deskriptor antara lain AM1_LUMO, ASA_H, mr, dan VSA. Adapun persamaan yang diperoleh yaitu,

Log 1/MIC = -8.6816 + 1.6938 AM1_LUMO
 + 0.0160 ASA_H - 3.9194 mr + 0.1087
 VSA.

Regresi multinier terbaik yang berisi lima deskriptor ini menghasilkan korelasi yang baik dengan hasil eksperimen ($R^2 = 0.8793$) dan validasi silang q^2 0.8761.

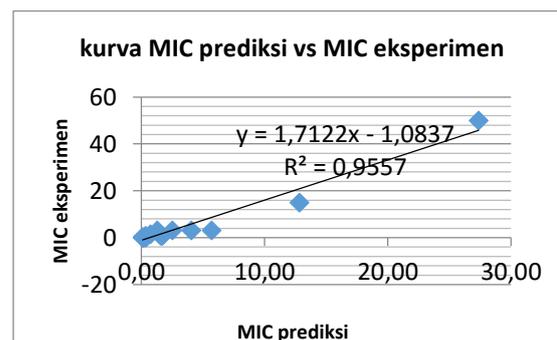
Tabel 2. Perbandingan Kriteria Statistik untuk menentukan persamaan terbaik

Pers. Ke-	R^2 model persamaan	CV LOO (q^2)	R Kurva MIC Eksperimen vs MIC Prediksi
1	0.8793	0.8761	0,955
2	0.8490	0.8458	0,958
3	0.8374	0.8338	0,972
4	0.8192	0.8163	0,946
5	0.8089	0.8035	0,910
6	0.8058	0.8056	0,965
7	0.8070	0.8055	0,954
8	0.8029	0.8028	0,946
9	0.8022	0.8028	0,441
10	0.8017	0.7989	0,529

Tabel 3. Nilai perbandingan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi

Nama Senyawa	IC50 (Eksperimen)	IC50 (Prediksi)
5	0.19	0.30
6	3.1300001	1.27
8	15	12.82
9	0.77999997	1.57

10	50	27.38
11	0.25	0.10
12	3.1500001	2.51
13	0.059999999	0.16
14	0.13	0.10
15	1.5599999	0.73
16	0.13	0.11
17	0.38999999	0.42
18	3.1500001	5.68
19	0.19	0.34
20	0.77999997	1.69
21	3.1300001	4.05
22	0.77999997	0.33
23	0.19	0.30

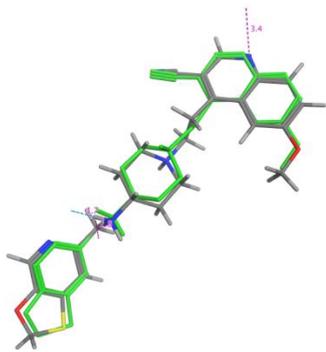


Gambar 2. Kurva hubungan afinitas eksperimen dan afinitas prediksi model persamaan terbaik

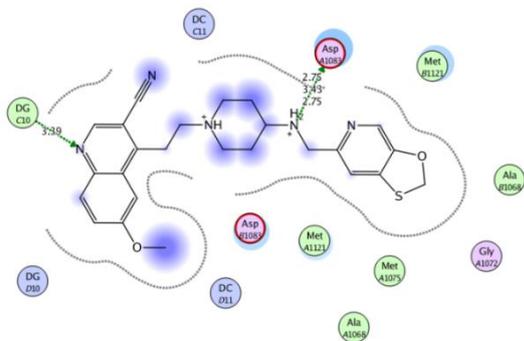
Kajian Docking Molekuler

Proses simulasi *docking* senyawa-senyawa uji diawali dengan mengidentifikasi kantung atau sisi pengikatan dari enzim tersebut. Selanjutnya dengan fasilitas *simulation dock*, senyawa-senyawa uji sebagai ligan di-*docking*-kan pada reseptor, serta diarahkan pada sisi pengikatan yang sebelumnya telah diidentifikasi. Proses

docking menggunakan ligan fleksibel dan reseptor kaku menggunakan metode *scoring London dG*. Validasi metode *docking* dilakukan dengan *redocking native* ligan pada sisi pengikatan. Didapatkan nilai *rmsd (root mean square deviation)* lebih kecil dari 2 yang berarti metode tersebut memiliki validitas yang tinggi, artinya posisi ligan *copy* mirip dengan posisi ligan asli.



Gambar 3. Posisi ligan asli protein 2XCS



Gambar 4. Interaksi validasi ligan asli protein 2XCS

Interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa turunan Benzimidazole dengan reseptor ditunjukkan dengan nilai *docking score (S)*, makin rendah nilai *S* maka interaksi antara keduanya makin kuat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil dimana pada protein kode 2XCS senyawa

823 menunjukkan nilai *docking score (S)* - 190.9309.

Kajian Fitur Farmakofor

Struktur kristal kompleks DNA Gyrase dan ligan telah lama diteliti. Terdapat 3 struktur senyawa yang telah dilaporkan dan dapat diunduh dari situs www.rcsb.org.

Dengan menggunakan 3 struktur ligan-protein di atas, dapat dibuat sidik jari interaksi ligan-protein dengan cara membandingkan cara pengikatan masing-masing ligan terhadap residu asam amino pada sisi pengikatan protein. Metode ini berguna untuk meringkas interaksi antara ligan dan protein menggunakan skema sidik jari. Interaksi seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, dan kontak permukaan yang diklasifikasikan sesuai dengan residu asal, dan dibangun dalam skema sidik jari yang merupakan representasi dari database dari kompleks ligan-protein. Terlihat bahwa Asp1083 (atom kationik dan donor ikatan hidrogen).

Asam amino yang berperan penting dalam interaksi dengan ligan pada *query* farmakofor yaitu Asp1083 (Asam Aspartat, Asam amino bersifat asam). Jarak dari masing-masing *query* dapat dilihat pada gambar 5. Jarak ini perlu dijaga sedemikian rupa pada saat desain obat baru sebab perubahan konformasi ikatan ini berpengaruh signifikan pada aktif atau tidaknya senyawa hasil desain.

Pola ini selanjutnya digunakan untuk menguji 150.000 senyawa *natural products*

yang telah diunduh dari zinc untuk mengetahui senyawa

Tabel 4. Hasil *docking* senyawa 23 pada protein 2XCS

Senyawa	Entry	Docking Score (S) (kkal/mol)	Ikatan		Residu asam amino yang terikat	Jarak Ikatan (Å)	Gugus yang berikatan
			Jenis	Jumlah			
23	125	-190.9309	Hidrogen	2	Asp108 3	1.96 2.73	H dari gugus Benzimidazole ^{Do} N dari gugus Benzimidazole ^{Acc}

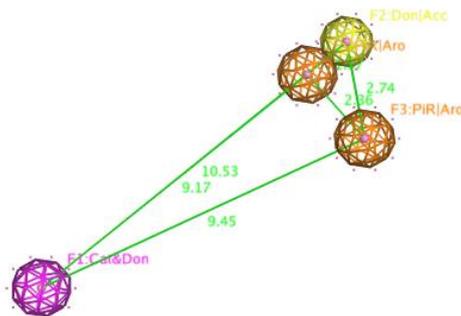
tersebut aktif atau tidak aktif dengan melihat kecocokan antara fitur-fitur farmakofor yang ada pada senyawa yang diunduh dengan *query* farmakofor dengan lebih cepat, atau seberapa banyak atom atau gugus yang *hit* dengan *query* farmakofor.

Kajian Virtual Screening

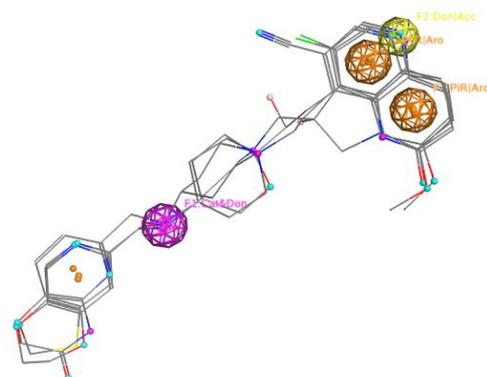
Pada penelitian ini dilakukan proses *virtual screening* terhadap 150.000 senyawa *natural products* yang diunduh dari situs <http://zinc.docking.org/>. Dari proses tersebut diperoleh 17 senyawa kimia bahan alam yang *hits* dengan fitur farmakofor ligan yang memiliki interaksi dengan DNA Gyrase.

Tujuh belas senyawa *hits* kemudian *didocking* dengan metode farmakofor, dari 17 senyawa yang *hits* hanya terdapat 11 senyawa yang menunjukkan interaksi yang sesuai dengan fitur farmakofor, lima

senyawa inilah yang nantinya akan diamati aturan



Gambar 4. Query farmakofor



Gambar 5. Jarak fitur farmakofor dalam

Lipinski untuk diketahui bioavailabilitasnya.

Dari 11 senyawa hasil *virtual screening* yang telah hasil di-*docking* dengan metode *pharmacophore* diperoleh 5 senyawa dengan angka Lipinski yang sama dengan 0, artinya tidak ada satupun aturan Lipinski yang dilanggar. Dengan demikian 5 senyawa tersebut diprediksikan memiliki bioavailabilitas yang baik sehingga jika dikonsumsi peroral dapat diabsorpsi dengan baik secara sistemik.

Studi Toksisitas

Setelah memperoleh 5 senyawa hasil *virtual screening* yang telah melalui proses *docking* metode *pharmacophore* dan diamati aturan Lipinski-nya, selanjutnya dilakukan prediksi toksisitas untuk ketiga senyawa tersebut menggunakan perangkat lunak ToxTree yang dapat membantu melihat tingkat toksisitas dari sebuah senyawa dengan mengklasifikasikannya dalam bagian tertentu. Pada penelitian kali ini, parameter yang digunakan dari ToxTree antara lain *Cramer rules*, *The Benigni/Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity*, *Micronucleous assay in rodent*, *Cytochrome P450-mediated drug metabolism*, dan *Kroes TTC*. Dari parameter tersebut diharapkan bahwa senyawa yang diuji dapat dilihat tingkat toksisitasnya.

Berdasarkan ToxTree secara umum, kelima senyawa *hits* terbaik hasil *virtual screening* masuk dalam kelas 3

yaitu memiliki risiko toksisitas yang tinggi menurut aturan Kramer. Menurut Benigni/Bossa Rulebase, hanya senyawa ZINC08964895 yang bersifat genotoksik karsinogenik sedangkan keempat senyawa lainnya tidak bersifat genotoksik karsinogenik. Berdasarkan prediksi Kroes TTC, hanya senyawa ZINC08964895 memiliki risiko yang rendah, sedangkan keempat senyawa lainnya memiliki risiko tinggi. Secara umum, kelima senyawa *hits* terbaik hasil *virtual screening* dapat dimetabolisme pada sitokrom P450. Nilai dari masing-masing LD50 (toksisitas pada tikus), pLC50 (toksisitas pada ikan), dan pIGC50 (toksisitas Tetrahymena Pyriformis) dapat dilihat pada tabel 6.

Studi Farmakokinetik

Berdasarkan prediksi farmakokinetik, 5 senyawa *hits* hasil *virtual screening* terbaik memiliki persentase penyerapan usus pada manusia berkisar antara 70-100% yang menandakan bahwa senyawa tersebut dapat diserap dengan baik. Sedangkan seluruh senyawa memperlihatkan permeabilitas yang sedang pada sel Caco-2. Sel Caco-2 merupakan turunan dari kolon adenokarsinoma manusia dan memiliki berbagai jalur transport obat melalui epitel usus.

Penetrasi *Blood Brain Barrier* digambarkan sebagai $BB = [Brain]/[Blood]$, dimana $[Brain]$ dan $[Blood]$ merupakan kondisi keadaan tunak senyawa radiolabel pada

otak dan perifer darah. Prediksi penetrasi BBB berarti memprediksi apakah senyawa dapat melewati pembatas otak-darak. Hal ini sangat penting pada lingkup farmasi karena senyawa aktif sistem saraf pusat harus dapat melewati pembatas ini sementara senyawa inaktif sistem saraf pusat tidak boleh melewatinya agar mencegah efek samping sistem saraf pusat. Senyawa ZINC03830352 menunjukkan angka 0.0223694 yang berarti senyawa ini memiliki absorpsi yang rendah pada sistem saraf pusat sementara keempat senyawa lainnya memiliki angka yang berkisar antara 2.0 hingga 0.1 yang berarti kedelapan senyawa ini memiliki absorpsi yang sedang pada sistem saraf pusat.

Umumnya, hanya obat yang tidak berikatan yang tersedia untuk difusi atau transpor melalui membran sel, dan juga untuk interaksi dengan target farmakologi. Oleh karena itu, derajat pengikatan protein plasma obat mempengaruhi tidak hanya pada aksi obat tapi juga disposisi dan efikasinya. Dari tabel terlihat hanya Senyawa ZINC03830352, dan ZINC08964695 menunjukkan persen pengikatan diatas 90% yang berarti bahwa senyawa tersebut terikat kuat pada protein plasma.

KESIMPULAN

Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan Benzimidazole sebagai inhibitor DNA Gyrase menunjukkan bahwa empat prediktor

berpengaruh terhadap aktivitas senyawa, sebagaimana digambarkan dengan persamaan HKSA terbaik:

$$\text{Log } 1/\text{MIC} = -8.6816 + 1.6938 \text{ AM1_LUMO} + 0.0160 \text{ ASA_H} - 3.9194 \text{ mr} + 0.1087 \text{ VSA}.$$

Senyawa turunan Benzimidazole dapat mengikat Asp1083 dan Gly1072 pada protein 2XCS. Interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa turunan Benzimidazole dengan reseptor ditunjukkan dengan nilai docking score (S), makin rendah nilai S maka interaksi antara keduanya makin kuat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil dimana pada protein kode 2XCS senyawa 23 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan nilai docking score (S) -190.9309.

Asam amino yang penting dalam interaksi reseptor dengan beberapa senyawa inhibitor DNA Gyrase adalah Asp1083 (Asam aspartat). Adapun query farmakofor yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor memiliki fitur gugus kation dan donor proton (F1:cat&don), gugus donor dan akseptor proton (F2:don&Acc), dan gugus aromatic (F3 dan F4:pir&aro).

Senyawa dengan kode ZINC08964902 merupakan senyawa yang paling baik diantara 150.000 senyawa dilihat dari sisi kecocokan pada query farmakofor, docking dengan metode farmakofor, prediksi bioavailabilitas menggunakan rule of 5 Lipinski, dan prediksi ADME/T.

KEPUSTAKAAN

- Aiache *et al.* *Farmasetika 2 Biofarmasi*. Surabaya: Airlangga University Press, 2007.
- Finer, Kim R., *Deadly Diseases and Epidemics: Tuberculosis*. Chelsea House Publisher: Philadelphia, USA: h. 24-29, 38, 39, 80, 82-86. 2003
- Hansch, Corwin. *The Physicochemical Approach to Drug Design and Discovery (QSAR)*. Drug Dev. Res. : h. 267-309. 1981.
- Hameed P, Shahul, Anandkumar Raichurkar, Prashanti Madhavapeddi, Sreenivasaiah Menasinakai, Sreevalli Sharma, Parvinder Kaur, Radha Nandishaiah, Vijender Panduga, Jitendar Reddy, Vasana K. Sambandamurthy, dan D. Sriram. *Benzimidazoles: Novel Mycobacterial Gyrase Inhibitors from Scaffold Morphing*. ACS. Med. Chem. Lett: h. 820-824. 2014.
- Mdluli, Khisimuzi, dan Zhenkun Ma. *Mycobacterium tuberculosis DNA Gyrase as a Target for Drug Discovery*. Infectious Disorders – Drug Target: h. 1-4. 2007.
- Patrick, G.L. *An Introduction to Medicinal Chemistry*, edisi ke-4, Oxford University Press, New York. 352-361. 2009.
- Pieroni, Marco, Baojie Wan, Sanghyun Cho, Scott G. Franzblau, dan Gabriele Costantino. *Design, synthesis and investigation on the structure-activity relationships of N-substituted 2-aminothiazole derivatives as antitubercular agents*. European Journal of Medicinal Chemistry. **72**: h. 26. 2014.
- Pranowo, Harno Dwi dan Abdul K. Rukmana H. *Pengantar Kimia Komputasi*. Bandung: CV Lubuk Agung. 2011.
- Shirude, Pravin S., Radha Shandil, Claire Sadler, Maruti Naik, Vinayak Hosagrahara, Shahul Hameed, Vikas Shinde, Chandramohan Bathula, Vaishali Humnabadkar, Naveen Kumar, Jitendar Reddy, Vijender Panduga, Sreevalli Sharma, Anisha Ambady, Naina Hegde, James Whiteaker, Robert E. McLaughlin, Humphrey Gardner, Prashanti Madhavapeddi, Vasanthi Ramachandran, Parvinder Kaur, Ashwini Narayan, Supreeth Guptha, Disha Awasthy, Chandan Narayan, Jyothi Mahadevaswamy, KG Vishwas, Vijaykamal Ahuja, Abhishek Srivastava, KR Prabhakar, Sowmya Bharath, Ramesh Kale, Manjunatha Ramaiah, Nilanjana Roy Choudhury, Vasana K. Sambandamurthy, Suresh Solapure, Pravin S. Iyer, Shridhar Narayanan, dan Monalisa Chatterji. 2013 *Azaindoles: Noncovalent DprE1 Inhibitors from Scaffold Morphing Efforts, Kill Mycobacterium tuberculosis and Are Efficacious in Vivo*. ACS. J. Med. Chem.
- Siswandono dan Soekardjo Bambang. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press. 2000.
- World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2013*. WHO Press: Geneva, Swiss: h. 1. 2013.
- World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2014*. WHO Press: Geneva, Swiss: h. 1, 54. 2014