

**STUDI HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIFITAS (HKSA) SENYAWA  
TURUNAN 4-AMINOQUINOLIN PIRIMIDIN, DOCKING MOLEKUL, PENELUSURAN  
FARMAKOFOR, VIRTUAL SCREENING, UJI TOKSISITAS, DAN PROFIL  
FARMAKOKINETIK SEBAGAI ANTIMALARIA SECARA IN SILICO**

**Nursalam Hamzah, Afrisusnawati Rauf, Ariwanti**

*Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar*

**ABSTRACT**

A research of quantitative structure-activity relationship (QSAR), molecular docking, searching pharmacophore, virtual screening, toxicity test, and Pharmacokinetic Profile of 4-Aminoquinoline Pyrimidine Derivative Compounds as Plasmeprin enzyme inhibitor as Antimalarial by in silico has been conducted. This study aims to find the QSAR model equation of 4-Aminoquinoline Pyrimidine derivative compounds, to find pharmacophore features of compounds that responsible for inhibition activity of Plasmeprin enzyme in Plasmodium falciparum, as well as to select compounds from virtual screening results then determine the pharmacokinetic profile, and the toxicity of metabolites for malaria treatment. The procedure begins with the modelling and ab initio geometry optimization of the molecular structure by HyperChem 8.0. QSAR descriptors calculation, pharmacophore feature determination and molecular docking are done by using MOE 2009. Furthermore, toxicity testing by Toxtree and AdmetSAR, as well as pharmacokinetic profile determination by using PreADME done to 150.000 natural product compounds from zinc database. From the experiments, the equation obtained:  $1/IC_{50} = 5.3757 + (0.7514 AM1\_HOMO) + (-0.3100 \log P (o/w)) + (0.0065 vdw\_vol)$ , where  $r^2 = 0.9282$  dan  $q^2 = 0.9282$ , beside that molecular docking results for protein code 2IGX compound 13 showed better results with the value of docking score (S) is -129.7491. As for the compounds of zinc database, the result is a compound with code ZINC32501354 and ZINC32501366 are chosen compound among 150.000 compounds in terms of suitability of the pharmacophore query, docking by pharmacophore method, bioavailability prediction using Lipinski rule of five and from the prediction of ADME/T

**Keywords** : QSAR, molecular docking, pharmacophore, antimalarial, Plasmeprin enzyme

## PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit Plasmodium dan ditularkan oleh nyamuk Anopheles (Lukman Hakim. 2011: 1). Malaria merupakan penyakit yang sampai saat ini masih menjadi masalah utama kesehatan penduduk dunia. Selama 100 tahun, dunia belum dapat memberikan kontribusi yang jelas terhadap pengobatan penyakit ini. *European Commission* (2002) mengatakan bahwa penyakit tersebut tidak hanya menyerang daerah tropis, tetapi juga menyerang daerah subtropis di seluruh dunia. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Reisberg (1994) yang mengatakan bahwa kematian banyak terjadi pada negara-negara yang menjadi daerah endemik malaria, antara lain Negara-negara Asia Tenggara termasuk Indonesia, India, Meksiko, Haiti, Amerika Tengah, dan negara-negara Afrika (RahadiHutomo *et al.* 2005 : 1).

Terapi golongan 4-aminoquinoline tetap menjadi garis depan obat pilihan untuk memerangi malaria bahkan setelah beberapa dekade upaya pengembangan obat. Keberhasilan farmakofor antimalaria ini didasarkan pada kemanjurannya sangat baik secara klinis, kemudahan administrasi, toksisitas rendah, dan sintesis murah (Sunny Manohar *et al.* 2012: 1). Senyawa-senyawa berbasis pirimidin terkenal dengan berbagai aktivitas biologisnya seperti fungisida, herbisida, analgesik, anti-inflamasi, antitumor, dan aktivitas antimalaria

terlepas dari peran mereka dalam sintesis asam nukleat. Pirimetamin, analog pirimidin, telah digunakan untuk pengobatan malaria dengan keberhasilan yang terbatas. Sebuah review penelitian oleh Sunny Manohar, *et al* (2012) yang mengembangkan perancah molekul struktural jenis baru untuk pengobatan malaria, mereka mengusulkan untuk menghubungkan 4-aminoquinoline dan pirimidin bersama-sama melalui penghubung diaminoalkane-linear yang tersambung secara fleksibel, sehingga molekul memiliki fleksibilitas yang cukup untuk muat pada situs pengikatan target, dan sebagai hasilnya, jenis molekul hibrida dapat menunjukkan aktivitas antimalaria yang lebih baik. Hal ini penting untuk disebutkan di sini bahwa ShikhaChauhan *et al.* melaporkan sintesis konjugat 4-aminoquinoline pyrimidine dimana 4-aminoquinoline dan gugus pirimidin dihubungkan melalui cincin aromatik, dan beberapa senyawa ini telah menunjukkan aktivitas moderat (Sunny Manohar *et al.* 2012: 3). Sunny Manohar, *dkk* (2012) juga telah melakukan studi SAR (*Structure Activity Relationship*) senyawa-senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin tersebut terhadap aktivitasnya sebagai inhibitor *Plasmodium falciparum* berdasarkan afinitas pengikatan reseptornya yang sangat baik melalui radiometric assays sehingga dihasilkan aktivitas transkripsional antagonis (inhibisi) *Plasmodium f.* berupa IC<sub>50</sub> hasil evaluasi secara in vitro yaitu *HepG2 cell reporter*

Gene assays terhadap satu seri senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin.

Pada penelitian ini akan dilakukan studi HKSA *docking* molekuler, penelusuran farmakofor, *virtual screening*, uji toksisitas, dan profil farmakokinetik terhadap senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA), dalam artian yang paling sederhana, adalah metode untuk membangun model komputasi atau matematika yang mencoba untuk menemukan korelasi yang signifikan secara statistik antara struktur dan fungsi menggunakan teknik *chemometric* (Jitender Verma, 2010). *Docking* molekuler adalah penggunaan komputerisasi dalam memasang suatu molekul kecil pada reseptor (bagian ini sering didefinisikan sebagai sisi aktif dari enzim) melalui representasi yang dihasilkan komputerisasi, yang diikuti oleh evaluasi struktur molekul dalam hal ini yaitu bentuk dan karakteristiknya seperti parameter elektrostatik (Gao, 2007; Abraham, 2003; Nadendla, 2004). *Searching* farmakofor secara hipotetik digambarkan sebagai *pharmacophore query*, yaitu seperangkat fitur *query* yang biasanya dibuat dari titik anotasi ligan.

## METODOLOGI

### Bahan dan Alat

Pada penelitian ini digunakan base struktur molekul dan aktivitas inhibitor (IC<sub>50</sub>) hasil eksperimen secara *in vitro* dari 20 senyawa turunan 4-aminoquinolin

pirimidin dari penelitian Sunny Manohar *et al* (2012). Data ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 0-1. Data aktivitas inhibisi (IC<sub>50</sub>) senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin terhadap *Plasmodium falciparum* (Sunny Manohar, *et al*, 2012: 2)

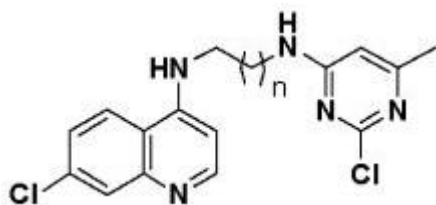
Nama Senyawa	IC50	Log1/IC50
6a	0.16	0.79579997
6b	0.33000001	0.48140001
6c	0.12	1.9208
6d	0.44	0.35600001
7a	0.20999999	0.67760003
7b	0.23999999	0.61900002
7c	0.17	0.76950002
7d	0.14	0.85360003
8b	0.02	1.6989
8c	0.02	1.6989
8d	0.05999999	1.2218
8e	0.02	1.6989
8f	0.02	1.6989
8h	0.02999999	1.5228
8i	0.005	2.3010001
8j	0.007	2.1547999
8k	0.02	1.6989
8l	0.007	2.1547999
8m	0.006	2.2218001
8n	0.02	1.6989

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu buah komputer jinjing (notebook) dengan spesifikasi : Processor Intel® Pentium® Dual Core T4300 @ 2.1 GHz 2.1 GHz, RAM 2,00 GB dan harddisk 160 GB, yang memiliki perangkat lunak berupa sistem operasi Windows™ 8.1, Hyperchem® release 8.0, Molecular Operating Environment (MOE) release 2009.10 dan SPSS 17.0 for Windows.

## Prosedur Kerja

### **Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas**

Studi HKSA diawali dengan pemodelan struktur senyawa turunan 4-aminoquinolin-pirimidin menggunakan program HyperChem. Selanjutnya struktur senyawa dioptimasi menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set *small*. Senyawa dioptimasi menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set *small*.



Gambar 1. Struktur dasar 4-aminoquinolin pirimidin

Setelah itu dilakukan kalkulasi deskriptor menggunakan program MOE. Deskriptor yang dihitung adalah AM1\_E, AM1\_Eele, AM1\_HOMO, AM1\_LUMO, AM1\_dipole, AM1\_HF, log P (o/w), log S, glob, ASA\_H, ASA\_P, mr, vol, vdw\_vol dan VSA. Selanjutnya dilakukan perhitungan statistik. Semua variabel dianalisis menggunakan regresi multilinear metode *backward*. Selanjutnya model-model yang terpilih divalidasi silang dengan metode *Leave One Out*. Persamaan HKSA yang terpilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistik terbaik dan memenuhi kriteria validasi yaitu  $q^2 \geq 0.5$  dan memiliki jumlah signifikansi tinggi pada analisis korelasi *pearson*.

### **Docking Molekuler**

Pada docking molekuler setelah ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dioptimasi dengan metode *Ab initio*, struktur diprotonasi dengan Protonasi 3D. Selanjutnya protein diunduh dari situs *RSCB.PDB* dengan kode 1G50 dan 3ERT. Molekul air kemudian dihapus dari struktur. Protein kemudian diprotonasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Setelah itu dilakukan simulasi docking. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan nilai *rmsd* ( $\leq 2$ ) dan nilai *scoring* terendah.

### **Penelusuran Farmakofor**

Penentuan Sidik Jari Interaksi Ligan Protein (Protein-Ligand Interaction Fingerprint/PLIF): Sidik jari interaksi protein dengan ligan dibuat dengan menggunakan struktur-struktur protein reseptor yang diunduh dari situs RSCB PDB. Seluruh struktur kemudian dibuka pada Jendela MOE dan disejajarkan sehingga rantai memiliki struktur yang sama yang akan bergerak bersama-sama sebagai satu unit. Dengan cara ini kompleks protein-ligan dapat disejajarkan. File kemudian disimpan sebagai database.

Searching fitur farmakofor : Skema anotasi farmakofor otomatis membuat *query pharmacophore*, sehingga pada Jendela MOE akan terlihat fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada senyawa penuntun. Kemudian dijalankan *pharmacophore search*, dan perbaikan *query*. Setelah itu penyelarasan (*alignment*) senyawa-senyawa dalam database konformasi.

Virtual skrining: dengan mendownload terlebih dahulu beberapa ribu senyawa dari zinc12 database. Senyawa-senyawa yang telah didownload kemudian disimpan sebagai database.

### Studi bioavailabilitas

Senyawa yang memiliki kelarutan dan permeabilitas yang buruk dapat diprediksi menggunakan rule of 5 lipinski. Pada rule of 5 lipinski menyatakan bahwa absorpsi dan permeasi yang kurang baik ketika suatu senyawa memiliki lebih dari lima donor ikatan hidrogen (ditunjukkan dengan jumlah OH dan NH), berat molekul lebih dari 500, Log P lebih dari 5 (atau MLogP lebih dari 4.15), terdapat lebih dari 10 akseptor ikatan H (ditunjukkan oleh jumlah N dan O).

### Uji toksisitas

Prediksi ini dilakukan dengan menginput file struktur dalam bentuk \*.mol. Selanjutnya memilih metode penentuan kriteria toksisitas pada senyawa. Estimasi dilakukan untuk melihat penentuan kriteria toksisitas suatu senyawa berdasarkan toxtre. Sebelum melakukan estimasi maka dipilih *verbose explanation* untuk menentukan tingkatan dan detail dari hasil yang didapatkan. Selain Toxtree, digunakan juga admetSAR untuk mengetahui nilai toksisitas.

### Studi farmakokinetik

Prediksi ini dilakukan dengan bantuan dari situs preadmet.bmdrc.org yang merupakan aplikasi berbasis web

untuk memprediksi data ADME dan membangun sifat sifat *drug-like* menggunakan metode in siliko.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

Dari sepuluh kombinasi tiga deskriptor yang digunakan, persamaan yang dipilih berdasarkan kriteria-kriteria statistik yaitu adalah persamaan pertama (Tabel 2) yaitu,  $\log 1/IC_{50} = 5.3757 + (0.7514 \text{ AM1\_HOMO}) + (-0.3100 \log P (o/w)) + (0.0065 \text{ vdw\_vol})$ . Regresi multiliner terbaik yang berisi tiga deskriptor ini menghasilkan korelasi yang baik dengan hasil eksperimen ( $r^2 = 0.9282$ ) dan validasi silang LOO  $q^2 0.9282$ .

Tabel 0-2. Kombinasi deskriptor dengan nilai kriteria statistik, validasi Leave One Out ( $q^2$ ), dan jumlah signifikansi pearson

No.	Deskriptor	r	r <sup>2</sup>	F	S	q <sup>2</sup>	Sig. Korelasi Pearson	R Kurva IC <sub>50</sub> Eksperimen vs IC <sub>50</sub> Prediksi
1	AM1_HOMO, log S, vdw_vol	0.9656	0.9325	69.0795	5.21E-09	0.9325	2	0.6018
2	AM1_HOMO, log S, mr	0.9654	0.9321	68.6483	5.44E-09	0.9321	2	0.7577
3	AM1_HOMO, log S, VSA	0.9654	0.9320	68.5356	5.51E-09	0.9320	2	0.7526
4	AM1_HOMO, log S, vol	0.9648	0.9310	67.4704	6.14E-09	0.9310	2	0.7533
5	AM1_HOMO, log P (o/w), vdw_vol	0.9634	0.9282	64.6505	8.26E-09	0.9282	2	0.7649
6	AM1_HOMO, log P (o/w), VSA	0.9630	0.9274	63.9138	8.26E-09	0.9274	2	0.7565
7	AM1_HOMO, log P (o/w), mr	0.9628	0.9270	63.5232	9.33E-09	0.8883	2	0.6179
8	AM1_HOMO, log P (o/w), vol	0.9627	0.9267	63.3043	9.35E-09	0.9267	2	0.7605
9	AM1_Eele, AM1_HOMO, log S	0.9625	0.9264	62.9579	9.92E-09	0.9264	2	0.7604
10	AM1_E, AM1_HOMO, log S	0.9616	0.9247	61.4553	1.17E-08	0.9247	2	0.7597

Dari model persamaan yang terpilih, aktivitas senyawa turunan OBHS dipengaruhi oleh deskriptor-deskriptor yaitu AM1\_HOMO, log P (o/w), dan vdw\_vol, yang artinya dapat diusulkan

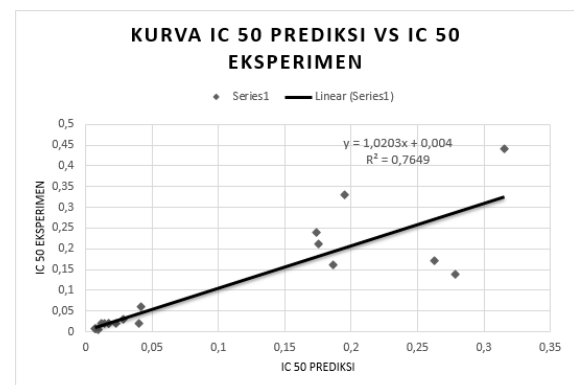
untuk meningkatkan aktivitas senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin.

### Docking Molekuler

Tabel 4 menunjukkan bahwa senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin dapat mengikat Trp41, Phe111, Asp214 dan Asp34 pada protein kode 2IGX. Dari percobaan yang dilakukan diperoleh hasil dimana senyawa 13 memiliki interaksi dengan ligan protein 2IGX yang kuat dibandingkan senyawa lain dengan docking score (S) -129.7491. Kecocokan interaksi dari senyawa dan ligan protein dapat dilihat pada interaksi ligan protein 2IGX dimana jika hasil dari docking senyawa memiliki interaksi yang sama dengan interaksi ligan protein 2IGX maka dapat diperkirakan senyawa tersebut memiliki efek yang sesuai berdasarkan kecocokan pengikatan asam amino.

Tabel 3. perbandingan aktivitas IC<sub>50</sub> eksperimen dan aktivitas IC<sub>50</sub> prediksi

Nama Senyawa	IC <sub>50</sub> (Eksperimen)	IC <sub>50</sub> (Prediksi)
6a	0.16	0.186884
6b	0.33000001	0.195053
6c	0.12	0.314977
6d	0.44	0.175835
7a	0.20999999	0.173908
7b	0.23999999	0.262849
7c	0.17	0.279185
7d	0.14	0.0232
8b	0.02	0.040282
8c	0.02	0.041427
8d	0.05999999	0.016427
8e	0.02	0.01654
8f	0.02	0.028508
8h	0.02999999	0.009211
8i	0.005	0.007712
8j	0.007	0.014031
8k	0.02	0.007047
8l	0.007	0.007502
8m	0.006	0.01167
8n	0.02	0.186884

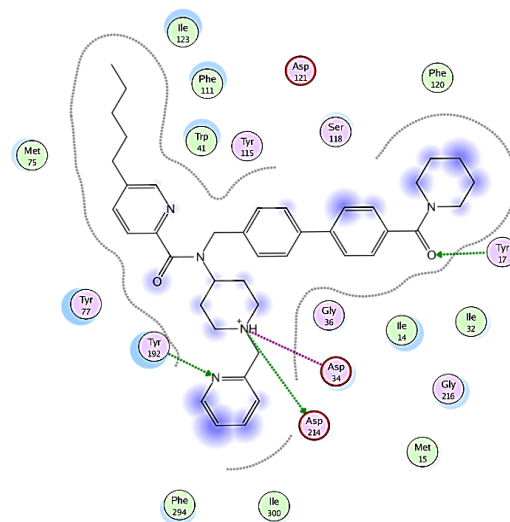


Gambar 2. Kurva hubungan aktivitas IC<sub>50</sub> eksperimen dan aktivitas IC<sub>50</sub> prediksi model persamaan terbaik

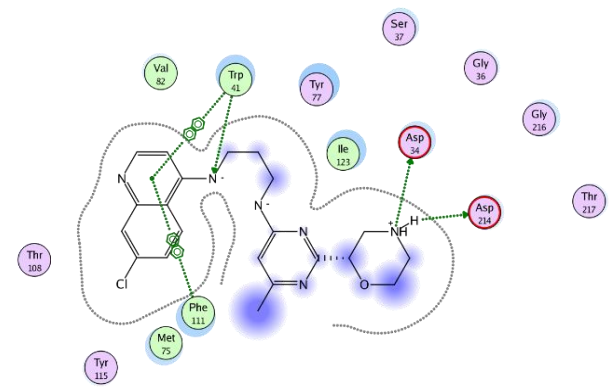
Tabel 4. Hasil docking senyawa turunan 4-aminoquinolin pirimidin dengan protein

2IGX

Senyawa	Entry	Docking Score (S) (kcal/mol)	Ikatan		Jarak ikatan (Å)	Residu asam amino yang terikat	Gugus yang berikatan
			Jenis	Jumlah			
6a	4	-87.0886	Hidrogen	2	3.22	Tyr 77	N dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
					-	Trp 41	Inti pirimidin <sup>Acc</sup>
6b	27	-98.6393	Hidrogen	2	2.52	Tyr 77	H dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Trp 41	Inti pirimidin <sup>Acc</sup>
6c	52	-102.8195	Hidrogen	2	3.05	Tyr 77	H dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					3.04	Trp 41	N dari inti 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
6d	94	-80.5620	Hidrogen	1	3.44	Tyr 77	H dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Acc</sup>
7a	128	-64.1868	Hidrogen	2	2.52	Tyr 77	N dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
					4.01	Ser 37	N dari inti 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
7b	136	-89.5271	Hidrogen	1	3.25	Tyr 77	N dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
7c	161	-96.9878	Hidrogen	2	2.31	Tyr 77	N dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
					4.08	Ser 37	N dari inti 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
7d	189	-97.6084	Hidrogen	1	3.69	Tyr 77	H dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Acc</sup>
8b	220	-107.1090	Hidrogen	2	2.7	Tyr 77	N dari rantai samping 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
					4.08	Ser 37	N dari inti 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
					2.77	Asp 214	N dari piperidin <sup>Acc</sup>
8c	253	-99.5157	Hidrogen	4	2.59	Thr 217	H dari rantai samping piperidin <sup>Acc</sup>
					-	Trp 41	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Phe 111	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					2.74	Tyr 17	H dari rantai samping aminoquinolin <sup>Acc</sup>
8d	281	-102.1195	Hidrogen	4	3.04	Ser 118	H dari rantai samping aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Phe 111	N dari inti piperidin <sup>Des</sup>
					-	Trp 41	N dari inti piperidin <sup>Des</sup>
					3.63	Tyr 77	N dari rantai samping pirimidin <sup>Des</sup>
					3.62	Thr 217	N dari inti aminoquinolin <sup>Des</sup>
					3.92	Trp 41	N dari inti pirimidin <sup>Des</sup>
					2.69	Asp 34	N dari inti morpolin <sup>Des</sup>
					2.88	Asp 214	H dari rantai samping morpolin <sup>Acc</sup>
8f	333	-129.7491	Hidrogen	5	3.7	Trp 41	N dari rantai samping aminoquinolin <sup>Des</sup>
					-	Trp 41	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Phe 111	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Trp 41	Inti pirimidin <sup>Des</sup>
					4.06	Trp 41	N dari inti pirimidin <sup>Des</sup>
8h	362	-128.1075	Hidrogen	5	3.34	Trp 41	N dari rantai samping pirimidin <sup>Des</sup>
					3.59	Gly 216	N dari rantai samping aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					3.27	Ser 218	N dari inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					-	Phe 111	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
8i	393	-103.0087	Hidrogen	3	3.85	Trp 41	N dari rantai samping aminoquinolin <sup>Des</sup>
					2.86	Asp 214	N dari inti n-metil piperazin <sup>Acc</sup>
					3.97	Trp 41	N dari inti pirimidin <sup>Des</sup>
8j	419	-100.9794	Hidrogen	2	3.35	Tyr 77	N dari rantai samping pirimidin <sup>Des</sup>
					2.92	Asp 214	N dari inti n-metil piperazin <sup>Acc</sup>
					4.24	Asp 34	H dari rantai samping n-piperazin <sup>Acc</sup>
8k	445	-112.1361	Hidrogen	6	2.1	Thr 217	H dari rantai samping n-piperazin <sup>Acc</sup>
					3.42	Tyr 77	N dari rantai samping pirimidin <sup>Des</sup>
					-	Tyr 115	Inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					2.65	Ile 123	N dari inti 4-aminoquinolin <sup>Des</sup>
8l	479	-101.2133	Hidrogen	3	2.94	Thr 217	H dari rantai samping n-piperazin <sup>Acc</sup>
					2.85	Asp 214	N dari inti n-metil piperazin <sup>Acc</sup>
					3.49	Ser 118	N dari inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					3.02	Trp 41	N dari inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
8m	527	-68.0158	Hidrogen	2	2.02	Tyr 77	N dari rantai samping pirimidin <sup>Des</sup>
					3.37	Tyr 77	N dari inti aminoquinolin <sup>Acc</sup>
					2.61	Tyr 192	N dari inti pirimidin <sup>Des</sup>
8n	556	-74.6213	Hidrogen	3	3.22	Tyr 192	H dari rantai samping n-piperazin <sup>Acc</sup>



Gambar 3. Validasi Ligan asli 2IGX

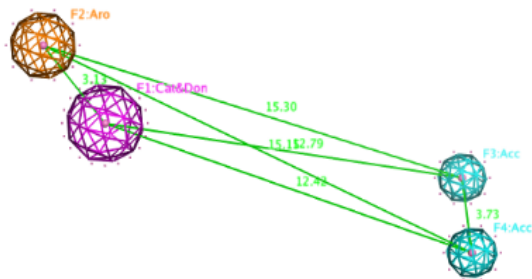
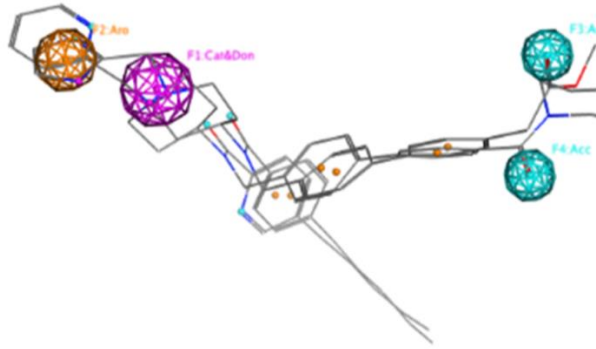


Gambar 4. Interaksi senyawa 13 terhadap protein 2IGX

Penelusuran Farmakofor

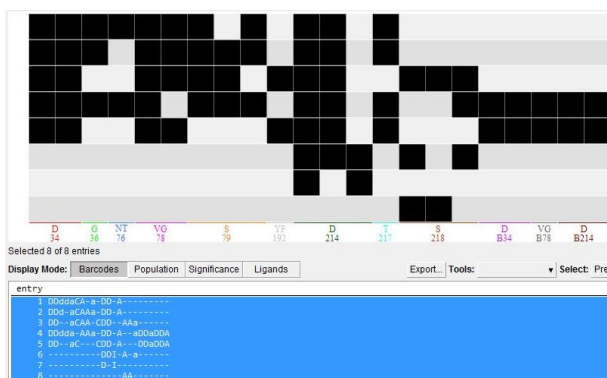
Terdapat 28 struktur protein Plasmepsin yang telah dilaporkan dan dapat di download dari situs RCSB PDB ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)), tetapi hanya 8 struktur kompleks plasmepsin yang mengikat ligan yaitu dengan kode 1LEE, 1LF2, 1LF3, 1WH6, 2ANL, 2BJU, 2IGX dan 2IGY. Terlihat bahwa Tyr192A (pusat aromatik), Tyr17A (akseptor ikatan hidrogen), Asp214 (akseptor ikatan hidrogen), Asp34 (atom

kationik dan donor ikatan hidrogen) merupakan asam amino yang penting dalam pengikatan antara ligan dan enzim plasmepsin.



Gambar 5. Query Farmakofor

Gambar 6. jarak fitur farmakofor dalam query farmakofor



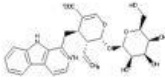
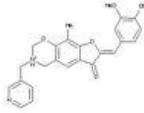
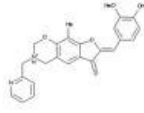
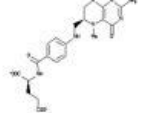
Gambar 7. sidik jari interaksi ligan-protein

### Studi Bioavailabilitas

Dari 28 senyawa hasil virtual screening yang selanjutnya di-docking dan didapatkan hasil docking dengan metode

pharmacophore diperoleh 4 senyawa dan 2 senyawa dengan angka Lipinski yang sama dengan 0, artinya tidak ada satupun aturan Lipinski yang dilanggar dan 2 senyawa tidak mengikuti aturan Lipinski. Dengan demikian 2 senyawa yang sesuai tersebut diprediksikan memiliki bioavailabilitas yang baik sehingga jika dikonsumsi peroral dapat diabsorpsi dengan baik secara sistemik.

Tabel 5. Aturan Lipinski dari 10 senyawa hits terbaik

Senyawa	xLogP	H-bond donors	BM	H-bond acceptors	Aturan Lipinski
 ZINC35454579	1.02	6	512.515	11	1
 ZINC32501354	3.03	1	445.495	7	0
 ZINC32501366	3.10	1	445.495	7	0
 ZINC34633488	-2.42	7	458.455	13	1

Keterangan:

Aturan lipinski:

0 = Tidak ada masalah terdeteksi

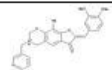
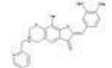
1 = Kemungkinan memiliki absorpsi dan permeasi yang buruk



## Uji Toksisitas

Berdasarkan toxtree secara umum, kedua senyawa hits terbaik hasil virtual screening masuk dalam kelas 3 yaitu memiliki risiko toksisitas yang tinggi menurut aturan Kramer. Menurut Benigni/Bossa Rulebase, tidak ada senyawa yang bersifat genotoksik karsinogenik. Berdasarkan prediksi Kroes TTC, ketiga senyawa memiliki risiko yang tinggi. Secara umum, 2 senyawa hits terbaik hasil virtual screening dapat dimetabolisme pada sitokrom P450. Ditinjau dari LD50 pada tikus, berikut urutan LD50 2 senyawa hits terbaik hasil virtual screening dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu ZINC32501354, ZINC32501366. Ditinjau dari pLC50 toksisitas pada ikan dengan urutan toksisitas tertinggi hingga terendah ZINC32501366, ZINC32501354. Ditinjau dari toksisitas Tetrahymena Pyriformis pIGC50 dari toksisitas tertinggi ke terendah yaitu ZINC32501366, ZINC32501354. Nilai dari masing-masing LD50, pLC50, dan pIGC50 dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil prediksi toksisitas dengan menggunakan toxtree dan AdmetSAR

NO	Senyawa Utama	Cramer Rules	Benigni/Bossa Rulebase	CYPs	Kroes TTC	Rat Acute Toxicity mol/kg	Fish Toxicity mg/L	Tetrahymena Pyriformis Toxicity µg
1	 ZINC32501354	3	8,9	1,2,3,4	1	2.8460	0.8795	0.37
2	 ZINC32501366	3	8,9	1,2,3,4	1	2.7881	0.9075	0.38

Keterangan :

JF FIK UINAM Vol.3 No.4 2015

\* Micronucleous assay in rodent

\*\* The Benigni / Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity

\*\*\*Cytochrome P450-mediated drug metabolism

- = Baik      √ = Kurang baik

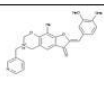
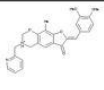
## Prediksi Farmakokinetik

Berdasarkan prediksi farmakokinetik, 2 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.

Senyawa ZINC32501354 dan ZINC32501366 menunjukkan angka masing-masing 0.195999 dan 0.254946 yang berarti kedua senyawa ini memiliki absorpsi yang sedang pada sistem saraf pusat.

Senyawa Senyawa ZINC32501354 dan ZINC32501366 menunjukkan persen pengikatan dibawah 90% yang menandakan bahwa kedua senyawa tersebut secara kimia terikat lemah pada protein plasma.

Tabel 7. Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan PreADMET

No	Senyawa	BBB (Blood Brain Barriers) Penetration*	HIA (Human Intestinal Absorption) (%)**	Plasma Protein Binding (%)***	Skin Permeability	Caco2 cell permeability (nm/sec)****
1	 ZINC32501354	0.195999	94.157919	61.443550	-3.98114	32.1478
2	 ZINC32501366	0.254946	94.156545	65.781826	-3.88197	29.8373

\* Blood Brain Barriers, lebih dari 2.0 high absorption to CNS, 2.0 ~ 0.1 middle absorption to CNS, kurang dari 0.1 low absorption to CNS

\*\* Human Intestinal Absorption, 0-20% poorly absorbed compounds, 20 ~ 70% moderately absorbed compounds, 70 ~ 100% well absorbed compounds

\*\*\* Plasma Protein Binding, lebih dari 90% chemicals strongly bound, kurang dari 90% chemicals weakly bounds

\*\*\*\* Caco-2 cell permeability, kurang dari 4 low permeability, 4 ~ 70 middle permeability, lebih dari 70 high permeability

## KESIMPULAN

1. Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas senyawa turunan Benzimidazole sebagai inhibitor enzim pasmepsin menunjukkan bahwa deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa sebagaimana ditunjukkan dengan persamaan HKSA terbaik:  $\log 1/IC_{50} = 5.3757 + (0.7514 AM1\_HOMO) + (-0.3100 \log P (o/w)) + (0.0065 vdw\_vol)$ .

- Senyawa turunan 4-Aminoquinolin Pirimidin dapat mengikat Trp41, Phe111, Asp214 dan Asp34 pada protein 2IGX. Interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa turunan 4-Aminoquinolin Pirimidin 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 2IGX senyawa 13 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan nilai docking score (S) -129.7491.
- Asam amino yang penting dalam interaksi reseptor dengan beberapa senyawa inhibitor enzim plasmepsin adalah Tyr192A (pusat aromatik), Tyr 17A (akseptor ikatan hidrogen), Asp214 (akseptor ikatan hidrogen), Asp34 (atom kationik dan donor ikatan hidrogen) merupakan asam amino yang penting dalam pengikatan antara ligan dan enzim plasmepsin.
- Hasil virtual screening menggunakan 150.000 senyawa natural product dari zinc database menunjukkan senyawa dengan kode ZINC32501354 dan ZINC32501366 merupakan senyawa yang terpilih 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

- Abraham DJ, Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. 6th ed. Volume 1.. New York Willey Interscience. h. 289. 2003.
- Gao H, Nishida J, Saito S dan Kawabata J. Inhibitory Effect of 5,6,7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase. *Molecules*. h. 12, 90. 2007.
- Jitender Verma, Vijay M. Khedkar, Evans C. Coutinho. 3D-QSAR in Drug Design - A Review. *Medicinal Chemistry*. 10: h. 95-115. 2010.
- Lukman Hakim. Malaria: Epidemiologi dan Diagnosis. *Aspirator* Vol. 3 No. 2 Tahun. 107-116. 2011.
- Nadendla RR. Molecular Modelling : A powerfull Tool for Drug Design and Molecular Docking. *J. Resonance*. 9(5). h. 51-60. 2004.
- Rahadi Hutomo, Sutarno, Wien Winarno, Kusmardi. 2005. Uji Antimalaria Ekstrak Buah Morinda citrifolia dan Aktivitas Makrofag pada Mencit (*Mus musculus*) setelah Diinfeksi Plasmodium berghei. *Biofarmasi*. (2): 61-69. 2005.
- Shikha S. Chauhan, Moni Sharma, Prem M. S. Chauhan. Trioxaquines: hybrid molecules for the treatment of malaria. *Drug News & Perspective*, 23(10). 632-646. 2010.
- Sunny Manohar, U. Chinna Rajesh, Shabana I. Khan, Babu L. Tekwani, Diwan S. Rawat. Novel 4-Aminoquinoline-Pyrimidine Based Hybrids with Improved in Vitro and in Vivo Antimalarial Activity. *Medicinal Chemistry*. 3: 555-559. 2012