

Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul

(Prediction of Pharmacokinetic Properties, Toxicity and Cytotoxic Activity of N-Benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea Derivatives as Anticancer Drugs Candidate through Molecular Modeling)

SUKO HARDJONO

Kampus B Jl. Dharmawangsa Dalam, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

Diterima 5 April 2015, Disetujui 12 Juni 2017

Abstrak: Merancang obat baru dapat dilakukan melalui modifikasi struktur yaitu dengan mengubah gugus tersubstitusi yang menyebabkan perubahan sifat fisikokimia, farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas masing-masing senyawa. Perubahan tersebut dapat diprediksi melalui uji *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi sifat fisikokimia, proses farmakokinetik (ADME), toksisitas dan aktivitas sitotoksik dari 23 senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai calon obat anti kanker. Uji *in silico* dilakukan dengan cara *docking* senyawa yang akan diprediksi aktivitasnya dengan enzim target SIRT1 kode pdb. 4I5I. Hasil *docking* berupa energi ikatan yang digambarkan dengan nilai *Rerank Score* (RS), dengan menggunakan program *Molegro Virtual Docker*. Senyawa dengan nilai RS kecil diprediksi mempunyai aktivitas yang besar. Hasil uji *in silico* menggunakan program pkCSM dan *Prottox online tool* dapat disimpulkan bahwa sebagian besar turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea mempunyai sifat farmakokinetik yang baik, menimbulkan toksisitas yang relatif rendah dan mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih besar dari ligan pembanding 4I5_601, dan senyawa N-(4-fenilazobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea merupakan senyawa yang diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik paling besar.

Kata kunci: pemodelan molekul, turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, ADME, toksisitas, aktivitas sitotoksik.

Abstract: Designing new drugs can be performed by structural modification that are made by altering substituted groups which will changes the physical chemistry properties, the pharmacokinetics, toxicity, and activity of each compound. These changes can be predicted by *in silico* tests. This study aims to predict the physicochemistry properties, pharmacokinetic (ADME), toxicity and cytotoxic activity of 23 compounds of N-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea derivatives as candidate of anticancer drugs. The *in silico* test is performed by means of a compound dosage that will predict its activity with the target enzyme SIRT1, PDB ID.4I5I. The result of the bonding form of energy are described by the value of *Rerank Score* (RS), using the *Molegro Virtual Docker* program. Compounds with small RS values are predicted to have a great activity. The results of *in silico* test can be concluded that most N-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea derivatives ahave good pharmacokinetic properties, cause relatively low toxicity and have greater cytotoxic activity than ligand 4I5_601, and the N-(4-phenylazobenzoyl)-N'-(4-fluorophenyl)thiourea compound are predicted to have the greatest cytotoxic activity.

Keywords: molecular modeling, N-Benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea, ADME, toxicity, cytotoxic activity

* Penulis korespondensi, Hp. 0818311345
e-mail: suko-h@ff.unair.ac.id

PENDAHULUAN

RANCANGAN obat adalah usaha untuk mengembangkan obat yang telah ada. Rancangan obat sering digambarkan sebagai proses elaborasi sistematis untuk mengembangkan lebih lanjut obat yang sudah ada dengan tujuan mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik dan mengurangi atau menghilangkan efek samping yang ada melalui manipulasi molekul. Manipulasi molekul atau modifikasi struktur adalah mensintesis sejumlah turunan senyawa induk, melakukan identifikasi struktur dan menguji aktivitas biologisnya⁽¹⁾. Perubahan struktur dari suatu senyawa akan mengubah sifat fisikokimia senyawa, termasuk sifat lipofilik, elektronik dan sterik, dan hal ini dapat menyebabkan perubahan aktivitas biologis senyawa⁽²⁾.

Agar lebih efektif dan efisien dalam melakukan modifikasi struktur, sebelum senyawa disintesis diperlukan suatu upaya untuk memprediksi sifat fisika kimia molekul senyawa, sifat farmakokinetik (ADME), toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi obat dengan reseptor. Metode yang sekarang sedang dikembangkan adalah pemodelan molekul⁽³⁾. Pemodelan molekul banyak digunakan dalam bidang kimia dan biologi komputasional untuk mempelajari sifat molekul senyawa obat dan molekul biologis reseptor serta untuk memahami aksi obat pada tingkat molekul dan atom, melalui simulasi proses interaksi obat reseptor (*docking*) dengan bantuan komputer. Teknik ini disebut uji *in silico* yang mempunyai peran yang sangat penting dalam bidang Kimia Medisinal dalam rangka merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat^(4,5).

Uji *in silico* dilakukan dengan melakukan *docking* molekul yang akan diprediksi aktivitasnya dengan sel target yang dipilih. *Docking* adalah suatu upaya untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar⁽⁶⁾. Hasil uji *in silico* berupa nilai energi ikatan atau *Rerank Score* (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti ikatan tersebut semakin stabil. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar⁽⁷⁾.

Terdapatnya data yang menunjukkan peningkatan penyakit kanker telah mendorong dilakukannya pengembangan obat antikanker. Beberapa data menunjukkan bahwa 14.068 juta jiwa di dunia menderita kanker, 8.202 juta kematian akibat kanker dan 32.455 juta orang terdiagnosa kanker dalam 5 tahun terakhir. Diperkirakan kanker akan meningkat

14 juta kasus baru dari tahun 2012 sampai 2022⁽⁸⁾.

Salah satu upaya pengembangan antikanker adalah melakukan pengembangan turunan tiourea. Li et al. pada tahun 2010 telah melakukan penelitian pada turunan N-benzil-N-(X-2-hidroksibenzil)-NO-feniltiourea yang menunjukkan aktivitas sebagai antikanker payudara. Pada tahun yang sama Saeed et.al telah melakukan penelitian turunan tiourea dengan menambahkan gugus benzotiazol dan mendapatkan bahwa beberapa turunan tiourea mempunyai aktivitas antikanker pada sel MCF-7 dan sel HeLa. Senyawa turunan tiourea, termasuk N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, bekerja sebagai antikanker dengan cara menghambat enzim Sirtuin⁽⁹⁻¹⁰⁾. Ruswanto *et al.* (2017) telah melakukan penelitian turunan 1-benzoil-3-metiltiourea sebagai calon obat antikanker dengan melakukan *docking* molekul terhadap enzim ribonukleotida reduktase, dan memprediksi absorpsi, distribusi, toksisitas dan aktivitasnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa turunan tersebut mempunyai prediksi aktivitas yang lebih baik dibanding hidroksiurea, demikian pula prediksi absorpsi dan distribusinya, serta mempunyai toksisitas yang relatif rendah⁽¹¹⁾.

Dalam rangka pengembangan senyawa tiourea, Nasyanka (2017) telah mensintesis senyawa N-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea dan tiga turunannya serta menentukan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel line MCF 7. Dari penelitian tersebut telah dilakukan uji *in silico* untuk memprediksi aktivitas sitotoksik dari N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, N-(4-metil)-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, N-(4-metoksi)benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, N-(4-t-butyl)benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dengan target enzim Sirtuin-1 kode pdb. 4I5I. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih besar dibanding senyawa ligan (4I5_601) dan hidroksiurea, obat antikanker yang sudah ada di pasaran⁽¹²⁾.

Pada penelitian ini dilakukan uji *in silico* dari 23 senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea untuk memprediksi aktivitas sitotoksiknya terhadap enzim Sirtuin1. Sirtuin1 (SIRT1) adalah NAD⁺-dependent histone deacetylase, anggota keluarga Sirtuin2, salah satu dari tujuh Sirtuin pada manusia. Sirtuin mengatur proses transkripsi, stabilitas genom, *longevity*, dan metabolisme. SIRT1 mengatur proses transkripsi melalui deasetilasi faktor transkripsi seperti PPAR γ , NF κ B, dan supresor tumor protein p53. Meningkatnya enzim Sirtuin (SIRT1) akan menurunkan kestabilan p53, gen penanggungjawab terhadap regulasi negatif siklus sel. Dalam penelitian ini sebagai reseptor dipilih enzim SIRT1 kode pdb.4I5I yang mengandung ligan 4I5_601, senyawa analog

indol EX527, penghambat SIRT1 nanomolar dan penghambat SIRT2 mikromolar⁽¹³⁾. Hasil uji *in silico* berupa nilai RS dari N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan turunannya. Dari seluruh nilai RS yang didapat akan ditentukan senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea yang mempunyai nilai RS terkecil atau diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik paling besar.

Untuk mendapatkan senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea secara teoritis dapat dilakukan sintesis dengan bahan dasar turunan benzoil klorida dan mereaksikannya dengan amonium tiosianat dan 4-fluoroanilin. Oleh karena itu penentuan 23 senyawa turunan yang diteliti berdasarkan pada ketersediaan senyawa turunan benzoil klorida yang ada di pasaran, sehingga nantinya lebih memudahkan dalam proses sintesisnya.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Program Chem Bio Draw Ultra Versi 12 (*CambridgeSoft*), program Chem Bio 3D Ultra Versi 12 (*CambridgeSoft*), program Molegro Virtual Docker 5,5 (Molegro ApS), program SMILES *Translator*, pkCSM, dan *Protoxonline tool*.

Alat. Komputer Lenovo, sistem operasi Windows 10, 64 bit, prosesor Intel Core i5-7200U, CPU @250 Ghz 270 Ghz, RAM 8,00 GB.

METODE. Pengunduhan Target Protein (Enzim Sirtuin-1). Struktur molekul enzim Sirtuin1 dapat diunduh melalui situs protein data bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). Pada penelitian ini dipilih enzim Sirtuin1 dengan kode pdb. 4I5I, karena mengandung ligan (6S)-2-kloro-5,6,7,8,9,10-heksahidrosiklohepta[b]-indol-6-karboksamida (analog indol, dengan kode 4I5_601). Ligan tersebut mengandung gugus karboksamida (-CONH₂) yang berfungsi sebagai farmakofor pada proses interaksi ligan-reseptor, dan senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea mengandung gugus yang mirip yaitu -CSNH-, yang diharapkan juga dapat berfungsi sebagai farmakofor^(13, 14).

Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa. Prediksi sifat fisikokimia seperti: Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) dilakukan dengan menggunakan pkCSM *online tool*. Prediksi sifat farmakokinetika (ADME: absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) serta toksisitas dari senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea juga

dilakukan dengan menggunakan pkCSM *online tool*⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Pertama, 23 senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding 4I5_601 digambar struktur molekul 2-D dengan program Chem Bio Draw Ultra Versi 12, kemudian dikopi pada program Chem Bio 3D Ultra Versi 12 untuk membuat struktur 3-D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file *.sdf atau *.pdb. Kedua, 23 senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding 4I5_60, strukturnya diterjemahkan menjadi bentuk format SMILES dengan menggunakan bantuan *Online SMILES Translator* (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Dalam bentuk format SMILES inilah senyawa diproses menggunakan pkCSM *online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) untuk memprediksi ADME dan toksisitas senyawa. Untuk memprediksi toksisitas (LD₅₀) per oral pada rodent dan klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan globally harmonized system (GSH) digunakan Protox *online tool* (<http://tox.charite.de/tox/>)⁽¹¹⁾.

Docking Molekul. Senyawa yang akan *didocking* digambar struktur molekul 2-D dengan program Chem Bio Draw Ultra versi 12, kemudian dikopi pada program Chem Bio 3D Ultra versi 12 untuk membuat struktur 3-D. Setelah diukur energi minimalnya kemudian disimpan dalam bentuk mol2 {SYBYL2(*.mol2)}. Setelah disimpan kemudian dilakukan proses docking terhadap enzim sirtuin-1 kode pdb.4I5I menggunakan program komputer Molegro Virtual Docker versi 5.5. Hasil yang didapat berupa nilai *Rerank Score* (RS), yaitu energi yang diperlukan dalam proses interaksi ligan-reseptor, dan dari nilai tersebut dapat diprediksi aktivitas antikanker senyawa melalui hambatan enzim SIRT1^(5,13).

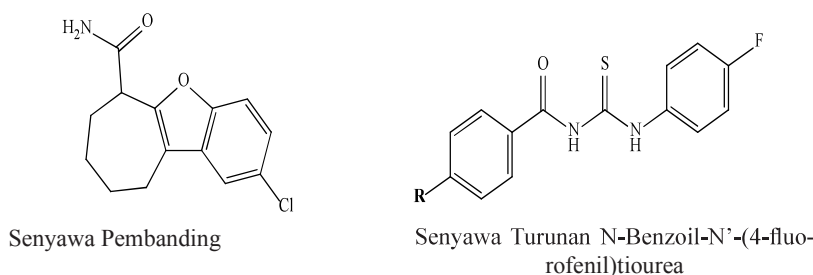
HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur kimia senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding analog indol (4I5_601) dapat dilihat pada Tabel 1.

Prediksi *in silico* nilai parameter-parameter sifat fisikokimia senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding dapat dilihat pada Tabel 2.

Lipinski *et al.*(1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *World Drugs Index* dan menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila berat molekulnya lebih besar 500, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar +5; mempunyai ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5; dan mempunyai ikatan-H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10⁽¹⁸⁾.

Tabel 1. Struktur kimia senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding analog indol (415_601).



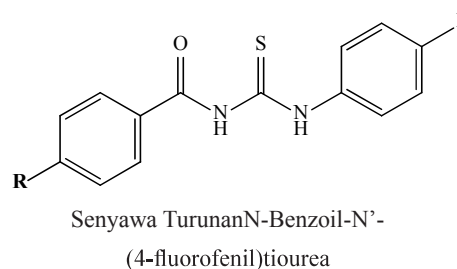
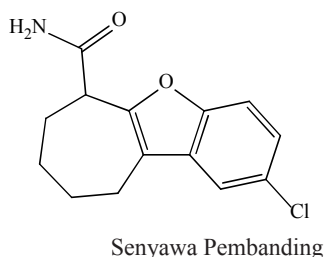
No. senyawa	R	Nama senyawa
1.	H	N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea
2.	CH ₃	N-(4-Metilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
3.	CH ₂ CH ₂ CH ₃	N-(4-Propilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
4.	C(CH ₃) ₃	N-(4-tert-Butilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
5.	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	N-(4-Pentilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
6.	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	N-(4-Heksilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
7.	OH	N-(4-Hidroksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
8.	OCH ₃	N-(4-Metoksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
9.	OCH ₂ CH ₃	N-(4-Etoksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
10.	OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	N-(4-Butoksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
11.	OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	N-(4-Heksiloksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
12.	CH ₂ Cl	N-(4-Klorometilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
13.	SO ₂ F	N-(4-Fluorosulfonylbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
14.	I	N-(4-Iodobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
15.	NO ₂	N-(4-Nitrobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
16.	NH ₂	N-(4-Aminobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
17.	N(CH ₃) ₂	N-(4-Dimetilaminobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
18.	CN	N-(4-Sianobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
19.	N=C=O	N-(4-Isosianatobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
20.	N=N-C ₆ H ₅	N-(4-Fenilazobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
21.	OCOCH ₃	N-(4-Asetoksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
22.	OCOCF ₃	N-(4-Trifluoroasetilbenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
23.	OCF ₃	N-(4-Trifluorometoksibenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea
24.	Senyawa Pembanding	(6S)-2-Kloro-5,6,7,8,9,10-heksahidrosiklohepta[b]-indol-6-karboksamida

Analisis di atas dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima. Dari Tabel 2 dapat dianalisis bahwa hampir semua senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea memenuhi persyaratan hukum 5 Lipinski, kecuali senyawa No. 6 dan No. 20 yang mempunyai nilai log P lebih besar dari 5. Chander *et al.* (2017) menyatakan bahwa 95% obat yang telah disetujui

secara klinis mempunyai range sifat fisikokimia sebagai berikut: Berat Molekul (130–725), HBD (0–6), HBA (2–20), Log P (-2 sampai 6.5), dan jumlah Torsion (0–15)(19), sehingga senyawa No. 6 dan No. 20 yang mempunyai nilai log P 5,08 dan 5,37 masuk dalam kategori tersebut.

Menurut Chander *et al.* (2017), senyawa dikatakan mempunyai absorpsi yang baik bila nilai absorpsinya

Tabel 2. Prediksi in silico nilai parameter-parameter sifat fisikokimia senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tioureadan senyawa pembanding dengan menggunakan pkCSM online tool.



No. senyawa	R	BM	LogP	Torsion	HBA	HBD	PSA (Å ²)
1.	H	274,32	2,95	2	2	2	115,00
2.	CH ₃	288,35	3,26	2	2	2	121,37
3.	CH ₂ CH ₂ CH ₃	316,40	3,91	4	2	2	134,10
4.	C(CH ₃) ₃	330,43	4,25	2	2	2	140,46
5.	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	344,46	4,69	6	2	2	146,83
6.	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	358,48	5,08	7	2	2	153,19
7.	OH	290,32	2,66	2	3	3	119,80
8.	OCH ₃	304,35	2,96	3	3	2	126,48
9.	OCH ₂ CH ₃	318,37	3,35	4	3	2	132,85
10.	OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	346,43	4,13	6	3	2	145,58
11.	OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	374,48	4,91	8	3	2	158,31
12.	CH ₂ Cl	322,79	3,69	3	2	2	131,67
13.	SO ₂ F	356,38	2,61	3	4	2	136,09
14.	I	400,22	3,56	2	2	2	134,27
15.	NO ₂	319,32	2,86	3	4	2	129,66
16.	NH ₂	289,34	2,53	2	3	3	120,34
17.	N(CH ₃) ₂	317,39	3,02	3	3	2	133,49
18.	CN	299,33	2,82	2	3	2	125,76
19.	N=C=O	315,32	2,92	3	4	2	130,43
20.	N=N-C ₆ H ₅	378,43	5,37	4	4	2	160,51
21.	OCOCH ₃	332,36	2,88	3	4	2	137,01
22.	OCOCF ₃	370,33	3,70	3	3	2	144,39
23.	OCF ₃	358,32	3,85	3	3	2	138,98
24.	Senyawa Pembanding	262,74	3,12	1	1	2	110,31

Keterangan:

BM = Berat Molekul; LogP = logaritma koefisien partisi oktanol/air; Torsion = ikatan antar atom yang dapat berputar; HBA = Hydrogen Bond Acceptors; HBD = Hydrogen Bond Donors; PSA = Polar Surface Activity.

> 80%, dan absorpsinya jelek bila < 30%⁽¹⁹⁾. Usus merupakan tempat utama untuk penyerapan obat yang diberikan secara oral. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai intestinal absorption (human) dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara 89,58 sampai 92,60%, sehingga dapat

diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut akan diabsorpsi dengan sangat baik di usus.

Menurut Pires *et al.* (2015), senyawa dikatakan mempunyai permeabilitas kulit yang relatif rendah bila mempunyai nilai log Kp > -2,5. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai *Skin Permeability* (log Kp)

Tabel 3. Prediksi in silico sifat farmakokinetik (ADME), toksisitas, dan aktivitas sitotoksik (Rerank Score) senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding dengan menggunakan pkCSM online tool dan Molegro Virtual Docker.

No. Senyawa	Intestinal absorption (human) (%)	Skin Permeability (log Kp, cm/h)	VD _{ss} (human) (log L/kg)	BBB permeability (logBB)	CYP2D6 substrate	CYP2D6 inhibitor	Total Clearance (log ml/min/kg)	Renal OCT2 substrate	Ames Toxicity	LD ₅₀ (mg/kg)	Rerank Score
1.	92,46	-2,77	-0,37	0,25	Tidak	Tidak	-0,43	Tidak	Tidak	2885	-116,17 ± 0,66
2.	92,26	-2,78	-0,34	0,26	Tidak	Tidak	-0,48	Tidak	Tidak	2885	-123,64 ± 1,89
3.	91,73	-2,79	-0,22	0,23	Tidak	Tidak	-0,49	Tidak	Tidak	2885	-133,88 ± 1,75
4.	91,51	-2,79	-0,30	0,30	Tidak	Tidak	-0,54	Tidak	Tidak	2885	-133,25 ± 1,96
5.	90,90	-2,80	-0,10	0,20	Tidak	Tidak	-0,49	Tidak	Tidak	2885	-139,05 ± 1,38
6.	90,48	-2,80	-0,04	0,18	Tidak	Tidak	-0,46	Tidak	Tidak	2885	-147,46 ± 3,31
7.	89,58	-3,23	-0,56	0,02	Tidak	Tidak	-0,55	Tidak	Ya	2885	-122,88 ± 0,32
8.	92,46	-3,06	-0,51	0,12	Tidak	Tidak	-0,40	Tidak	Tidak	2885	-124,81 ± 0,44
9.	92,04	-3,05	-0,44	0,10	Tidak	Tidak	-0,45	Tidak	Tidak	2885	-139,88 ± 3,82
10.	91,20	-3,00	-0,31	0,07	Tidak	Tidak	-0,38	Tidak	Tidak	2885	-145,74 ± 4,26
11.	90,36	-2,94	-0,19	0,04	Tidak	Tidak	-0,33	Tidak	Tidak	2850	-128,32 ± 2,37
12.	91,08	-2,61	-0,36	0,23	Tidak	Tidak	-0,48	Tidak	Tidak	2885	-131,49 ± 2,24
13.	91,36	-3,25	-0,92	-0,89	Tidak	Tidak	-0,56	Tidak	Ya	2885	-122,92 ± 0,17
14.	91,37	-2,82	-0,39	0,24	Tidak	Tidak	-0,87	Tidak	Tidak	2885	-124,41 ± 4,12
15.	91,01	-2,82	-0,69	-0,65	Tidak	Tidak	-0,41	Tidak	Ya	2850	-122,18 ± 2,36
16.	89,81	-3,10	-0,47	-0,04	Tidak	Tidak	-0,66	Tidak	Ya	2885	-128,53 ± 1,99
17.	92,86	-2,94	-0,36	0,20	Tidak	Tidak	-0,45	Tidak	Tidak	2885	-127,45 ± 0,51
18.	92,63	-3,06	-0,49	-0,01	Tidak	Tidak	-0,46	Tidak	Ya	2885	-129,06 ± 2,02
19.	91,92	-3,20	-0,64	-0,53	Tidak	Tidak	-0,50	Tidak	Ya	2885	-152,83 ± 0,59
20.	88,72	-2,95	-0,60	-0,02	Tidak	Tidak	-0,48	Tidak	Tidak	2885	-133,31 ± 1,49
21.	92,60	-3,29	-0,71	-0,07	Tidak	Tidak	-0,63	Tidak	Tidak	2850	-132,33 ± 1,63
22.	89,73	-3,11	-0,70	0,04	Tidak	Tidak	-0,41	Tidak	Tidak	2850	-140,29 ± 2,56
23.	88,98	-3,04	-0,69	0,12	Tidak	Tidak	-0,51	Tidak	Tidak	2885	-133,54 ± 3,56
24.	92,42	-2,98	0,08	0,08	Tidak	Tidak	-0,10	Tidak	Ya	1000	-99,78 ± 0,42

Keterangan: VD_{SS}: Steady State of Volume Distribution, BBB: Blood Brain Barrier, CYP2D6: Cytochrome P2D6, Renal OCT2: Renal Organic Cation Transporter 2.

dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara -2,77 sampai -3,29, berarti < dari -2,5, sehingga dapat diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut mempunyai permeabilitas kulit yang baik⁽¹⁵⁾.

Volume distribusi (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VD, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan

daripada plasma. Menurut Pires *et al.* (2015), senyawa dikatakan mempunyai Volume Distribusi rendah bila nilai Log VD < -0,15, dan tinggi bila > 0,45⁽¹⁵⁾. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai VD_{ss} (Steady State of Volume Distribution) dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara -0,04 sampai -0,92, dan yang mempunyai nilai VD_{ss} < dari -0,15 hanya satu, yaitu senyawa No. 6, sehingga dapat diprediksi bahwa hampir semua turunan senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata untuk

memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

Kemampuan obat untuk menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) merupakan parameter penting yang perlu dipertimbangkan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak. Permeabilitas otak-darah diukur secara *in vivo* pada model hewan sebagai logBB, yaitu rasio logaritmik konsentrasi pada otak terhadap plasma. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik bila mempunyai nilai Log BB > 0,3, dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila log BB < -1⁽¹⁵⁾. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai log BB dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara -0,89 sampai 0,30 yang berarti lebih besar dari -1, sehingga dapat diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut mampu menembus sawar darah otak secara moderat.

Secara umum diketahui bahwa sebagian besar reaksi metabolik akan melibatkan proses oksidasi. Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting dalam tubuh, dan terutama ditemukan di hati. Bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing, termasuk obat, dan memfasilitasi ekskresi senyawa tersebut. Inhibitor enzim ini, seperti jus *grapefruit*, dapat mempengaruhi metabolisme obat sehingga dikontraindikasikan terhadap enzim sitokrom P450. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450, yang dalam penelitian ini diwakili oleh isoform sitokrom P2D6 (CYP2D6). Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa semua senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea tidak mempengaruhi atau menghambat enzim CYP2D6, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut cenderung dimetabolisme oleh enzim P450.

Untuk memprediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT) dan *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT2) *substrate*. CLTOT merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal). Hal ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis dalam mencapai konsentrasi *steady-state*. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai CLTOT dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara -0,10 sampai -0,87, dan dari nilai-nilai tersebut dapat diprediksi kecepatan ekskresi senyawa.

Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga berpotensi menimbulkan

interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa semua senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea tidak mempengaruhi substrat OCT2, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut bukan merupakan substrat OCT2.

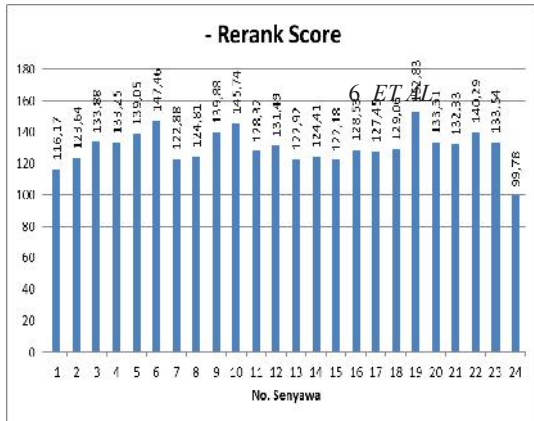
Untuk menentukan toksisitas senyawa dapat dilakukan dengan uji *Ames Toxicity*. Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu dapat bertindak sebagai karsinogen. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa 6 (enam) turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, yaitu senyawa No. 7, 13, 15, 16, dan 17, diprediksi menimbulkan efek mutagenik. Senyawa pembanding (No. 24) juga diprediksi menimbulkan efek mutagenik.

Untuk melengkapi prediksi toksisitas senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)-tiourea dilakukan uji *in silico* toksisitas per oral pada *rodent* (LD₅₀) dan klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan *Globally Harmonized System* (GSH) dengan menggunakan *Protox online tool*. LD₅₀ adalah jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa prediksi nilai LD₅₀ pada *rodent* dari senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara 2850 sampai 2885 mg/kg, dan termasuk kelas toksisitas 5 GSH yang berarti senyawa mempunyai efek toksisitas akut yang rendah. Bila dilihat pada tabulasi kelas toksisitas dari Hodge dan Sterner (1949) pada dosis tersebut termasuk kelas toksisitas 4, yang berarti toksisitasnya relatif rendah⁽²⁰⁾.

Hasil uji *in silico* *docking* antara senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I dapat dilihat pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai RS dari senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea berkisar antara -116,17 sampai -152,83 kkal/mol, dan dari nilai-nilai tersebut dapat diprediksi aktivitas senyawa. Nilai RS dari senyawa pembanding 4I5_601 (No. 24) adalah -99,78 kkal/mol, yang berarti semua senyawa yang diteliti diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap enzim Sirtuin1 yang lebih tinggi dibanding senyawa pembanding maupun senyawa induk N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea (RS=-116,17 kkal/mol). Senyawa No. 19 yaitu N-(4-fenilazobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)-tiourea mempunyai energi ikatan atau nilai RS paling kecil yaitu -152,83, yang berarti senyawa tersebut diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik yang paling tinggi.

Tabel 4. Hasil uji in silico doking antara senyawa-senyawa turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I.

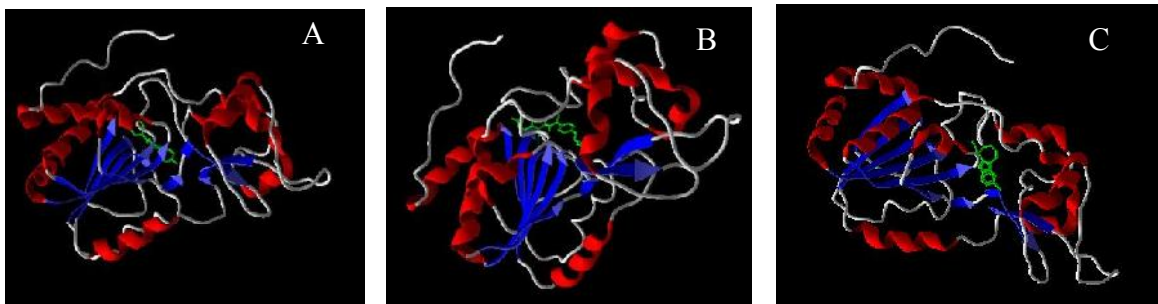


Gambaran 3-D enzim Sirtuin1 dalam bentuk backbone dengan turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding 4I5_601 dapat dilihat pada Gambar 1.

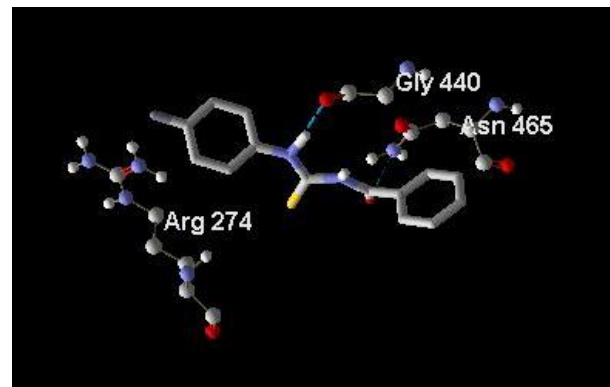
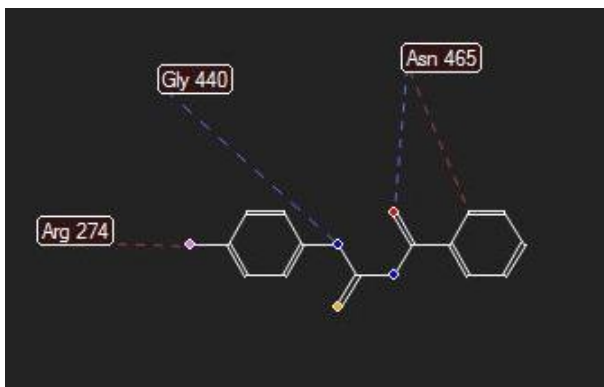
Tabel 5. Asam-asam amino enzim Sirtuin1 yang terlibat dalam interaksi dengan turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea dan senyawa pembanding 4I5_601.

No.	Nama senyawa	Ikatan hidrogen	Ikatan sterik
1.	N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)-tiourea	Asn 465; Gly 440	Arg 274; Asn 465
2.	N-(4-Fenilazobenzoi)-N'-(4-fluorofenil) tiourea	Asn 465; Ser 275, Arg 274	Arg 274
3.	Senyawa pembanding 4I5_601	Asp 348; Ile 347	-

Gambaran 2-D dan 3-D dari interaksi antara senyawa induk N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, N-(4-fenilazobenzoi)-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan senyawa pembanding 4I5_601 dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I dapat dilihat pada Gambar 2, 3 dan 4. Asam-asam amino enzim Sirtuin1 yang terlibat dalam interaksi dengan turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea dan senyawa pembanding 4I5_601 dapat



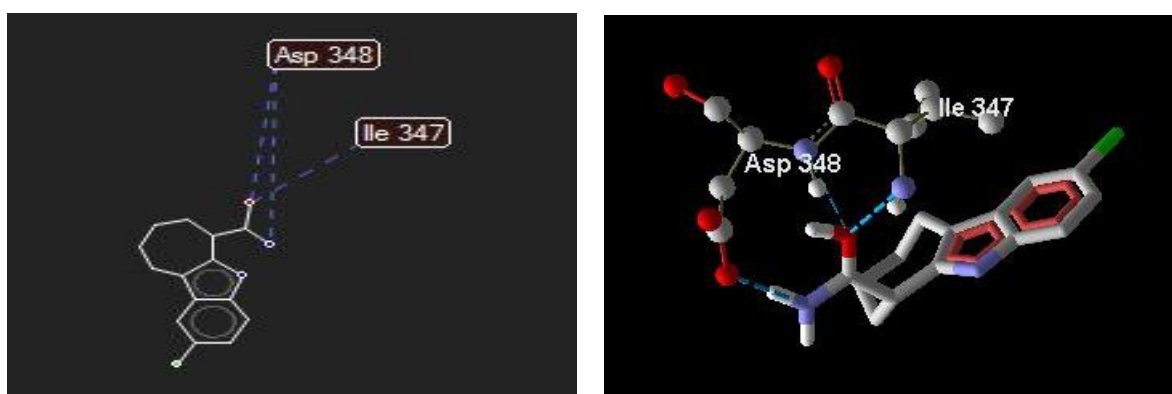
Gambar 1. Gambaran 3-D enzim Sirtuin1 dalam bentuk backbone dengan ligan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea (A), N-(4-fenilazobenzoi)-N'-(4-fluorofenil)tiourea (B) dan senyawa pembanding 4I5_601 (C).



Gambar 2. Gambaran 2-D dan 3-D dari interaksi antara senyawa induk N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea, dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I.



Gambar 3. Gambaran 2-D dan 3-D dari interaksi antara senyawa N-(4-fenilazobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I.



Gambar 4. Gambaran 2-D dan 3-D dari interaksi antara senyawa senyawa pembanding 4I5_601 dengan enzim Sirtuin1 kode pdb. 4I5I.

dilihat pada Tabel 5.

Dari data nilai RS (Tabel 5) dapat disimpulkan bahwa ikatan antara N-(4-fenilazo-benzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea dengan 4I5I sebagai target enzim Sirtuin1 adalah paling stabil, karena didukung oleh adanya ikatan Hidrogen dengan asam-asam amino Asn 465; Ser 275, dan Arg 274, dan ikatan sterik dengan asam amino Arg 274.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian pemodelan molekul ini dapat disimpulkan bahwa senyawa No.19 yaitu N-(4-fenilazobenzoil)-N'-(4-fluorofenil)tiourea paling layak untuk disintesis dan diuji aktivitasnya secara in vitro dan in vivo, karena diprediksi akan diabsorpsi dengan sangat baik di usus, mempunyai permeabilitas kulit yang baik, dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah, mampu menembus sawar darah-otak secara moderat, cenderung dimetabolisme oleh enzim P450, mempunyai toksisitas yang relatif rendah, dan diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik yang

paling besar diantara 23 turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea yang diteliti. Meskipun demikian perlu diperhatikan karena diprediksi senyawa dapat menimbulkan efek mutagenik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S. yang mempunyai lisensi program Molegro Virtual Docker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siswandono. Pengembangan obat baru, edisi pertama. Surabaya: Airlangga University Press; 2014.
2. Hardjono S, Siswandono, Purwanto, Darmanto W. Quantitative structure-cytotoxic activity relationship 1-(Benzoyloxy)urea and its derivative. *Current DrugDiscovery Technology*; 2016. Vol. 13(2): 101-8.
3. Schlick, T. *Molecular modeling and simulation, an interdisciplinary guide*. 2nd ed. New York: Springer Science Business Media; 2010.
4. Hinchliffe A. *Molecular modeling for beginners*. 2nd ed. Chichester: John Wiley and Sons Ltd; 2008.

5. Siswandono. Kimia medisinal I, edisi kedua. Surabaya: Airlangga University Press; 2016.
6. Jensen F. Introduction to computational chemistry, 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd; 2007.
7. Hardjono S. Modifikasi struktur 1-(Benzoiloksi) urea dan hubungan kuantitatif struktur-aktivitas sitotoksiknya [Disertasi] Surabaya. Universitas Airlangga: 2012.
8. World Health Organization and International Agency for Research on Cancer (IARC). GLOBOCAN Estimated cancer incidence, mortality, and prevalence worldwide in 2012. Diakses melalui http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx pada tanggal 1 Mei 2017.
9. Peck B, Chen C-Y, Ho K-K, Di Fruscia P, Myatt SS, Coombes RC, Fuchter MJ, Hsiao C-D, and Lam E W-F. SIRT inhibitors induce cell death and p53 acetylation through targeting both SIRT1 and SIRT2. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2010. 9: 844-55.
10. Li K and Luo J. The role of SIRT1 in tumorigenesis. *North American Journal of Medical Sciences(Boston)*. 2011. 4(2): 104–6.
11. Ruswanto, Siswandono, RichaM, Tita N, Tresna L. Molecular docking of 1-Benzoyl-3-methylthiourea as anti cancer candidate and its absorption, distribution, and toxicity prediction. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2017. Vol. 9(5): 680-4.
12. Nasyanka AL. Hubungan kuantitatif struktur aktivitas sitotoksik dari senyawa induk N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan turunannya terhadap Sell Line MCF7 [Tesis] Surabaya. Universitas Airlangga: 2017.
13. Zhao X, Allison D, Condon B, Zhang F, Gheyi T, Zhang A, Ashok S, Russell M, MacEwan I, Qian Y, Jamison JA, and Luz JG. The 2.5 Å crystal structure of the SIRT1 catalytic domain bound to nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and an indole (EX527 analogue) reveals a novel mechanism of histone deacetylase inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. 56: 963–9.
14. Pullaa VK, Alvalaa M, Srirama DS, Viswanadhab S, Srirama D, Yogeewaria P. Structure-based drug design of small molecule SIRT1 modulators to treat cancer and metabolic disorders. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2014. 52: 46–56.
15. Pires DEV, Blundell TL, and Ascher DB. pkCSM predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. 58: 4066–72.
16. Hassan M, Abbas Q, Ashraf Z, Moustafa AA, Seo S-Y. Pharmacoinformatics exploration of polyphenol oxidases leading to novel inhibitors by virtual screening and molecular dynamic simulation study. *Computational Biology and Chemistry*. 2017. 68: 131-42.
17. Saeed A, Rehman S, Channar PA, Larik FA, Abbas Q, Hassan M, Raza H, Flörke U, Seo S-Y. Long chain 1-acyl-3-arylthioureas as jack bean urease inhibitors, synthesis, kinetic mechanism and molecular docking studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2017. 77: 54-63.
18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney FJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997. 23: 3-25.
19. Chander S, Tang C-R, Al-Maqtari HM, Jamal J, Penta A, Ben Hadda T, Sirat HM, Zheng Y-T, Sankaranarayanan M. Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorganic Chemistry*. 2017. 72: 74-9.
20. Hodge HC and Sterner JH. Tabulation of toxicity classes. *Journal American Industrial Hygiene Association Quarterly*. 1949.10(4): 93-6. Published online: 09 Jan 2008.