

QUANTITATIF STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP ANALYSIS OF A CARBAZOLE ANALOG COMPOUNDS AS ANTIBACTERIAL USING ELECTRONICAL DESCRIPTORS

Islamudin Ahmad

*Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi
Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur
email: islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id*

ABSTRACT

The Quantitatif Structure-Activity Relationship (QSAR) study has been established on 13 Carbazole analog compounds to their antibacterial activity using electronical descriptors. The development of computational chemistry, in particular quantum chemical calculation progression, has made the possibility of molecule modeling and pharmacochimistry exploration of molecule structures. This emerging semiempirical method can be implemented in QSAR using Hansch model. A research associated with QSAR antibacterial activity of Carbazole analog compounds which used semiempirical AM1 (Austin Model 1) method has been conducted. The geometrical optimization of 2D into 3D structures was done utilizing HyperChem program with the Polak – Ribiere algorithm. Results revealed that atom in the position C8, C9, C10 and C12 are necessary to predict biological activity of Carbazoleanalog.

Keywords: *QSAR, Atomic Net Charges, Cross Validation Methods*

PENDAHULUAN

Salah satu penerapan kimia komputasi dalam bidang farmasi adalah pada desain obat. Desain obat adalah proses berulang yang dimulai dengan penentuan senyawa yang menunjukkan sifat biologi yang penting dan diakhiri dengan langkah optimasi, baik dari profil aktivitas maupun sintesis senyawa kimia. Kombinasi antara strategi untuk mensintesis dan uji aktivitasnya dapat menjadi sangat rumit dan memerlukan waktu yang lama untuk sampai pada pemanfaatan obat. Untuk itu dikembangkan pendekatan teoritis yang dapat menghitung secara kuantitatif tentang hubungan antara aktivitas biologis terhadap perubahan struktur senyawa yang dikenal dengan istilah QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) atau HKSA (*Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas*).

HKSA memainkan peranan yang penting dalam menemukan senyawa penuntun baru yang sangat berpotensi,

selektif, memiliki data farmakokinetik yang bagus, dan kurang toksik, karena mampu membuat suatu model yang dapat menjelaskan senyawa mana yang paling potensial untuk diteliti dalam pengembangan desain obat. HKSA memanfaatkan informasi sifat fisika kimia senyawa aktif sebagai landasan dalam mendesain senyawa baru.

Salah satu metode untuk perhitungan kuantum dari stuktur elektronik molekuler dalam kimia komputasi adalah metode semiempiris *Austin Model 1* (AM1).

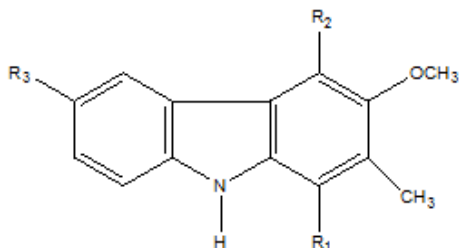
Hubungan antara struktur dan aktivitas antibakteri senyawa derivat carbazole telah dipelajari secara kualitatif (Tadjuddin, 1986; Shoshiro, 1980; Arputharaj, 2006). Perubahan bentuk molekul baik penambahan atau pengurangan substituen maupun perubahan bentuk konformasi molekul akan mempengaruhi aktivitas biologisnya.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan model persamaan matematis hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) dari aktivitas antibakteri senyawa derivat carbazole dengan parameter elektronik (σ) berupa muatan bersih atom (q) menggunakan metode semiempiris AM1.

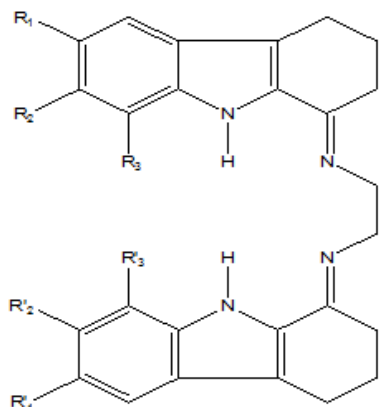
METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode kimia komputasi untuk mengeksplorasi semua data prediktor. Data yang Digunakan Berupa data set struktur dan aktifitas senyawa analog Carbazole sebagai antibakteri dari literatur (Soshiro Nakamura, 1980; Tadjuddin, 1986; Arputharaj, 2006)

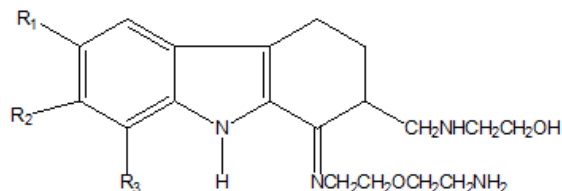
Perangkat keras (*hardware*) berupa satu set komputer yang mampu melakukan perhitungan kimia komputasi dengan perangkat lunak (*software*) sistem operasi Windows™ XP Professional, HyperChem Release 7.5 for Windows, dan SPSS 12.0 for Windows.



| No. | Gugus | MIC |
|-----|---|------|
| 1 | R ₁ = CH ₃ , R ₂ = OH, R ₃ = H | 12,5 |
| 2 | R ₁ = CH ₃ , R ₂ = OCH ₃ , R ₃ = H | 50 |
| 3 | R ₁ = CH ₃ , R ₂ = OH, R ₃ = OCH ₃ | 100 |



| No. | Gugus | MIC |
|-----|--|------|
| 4 | R ₁ = R' ₁ = CH ₃ , R ₂ = R' ₂ = R ₃ = R' ₃ = H | 12,5 |
| 5 | R ₂ = R' ₂ = CH ₃ , R ₁ = R' ₁ = R ₃ = R' ₃ = H | 100 |
| 6 | R ₁ = R' ₁ = Cl, R ₂ = R' ₂ = R ₃ = R' ₃ = H | 50 |
| 7 | R ₃ = R' ₃ = Cl, R ₂ = R' ₂ = R ₁ = R' ₁ = H | 6 |
| 8 | R ₁ = R' ₁ = R ₂ = R' ₂ = R ₃ = R' ₃ = H | 50 |



| No. | Gugus | MIC |
|-----|--|------|
| 9 | R ₁ = CH ₃ , R ₂ = R ₃ = H | 12,5 |
| 10 | R ₂ = CH ₃ , R ₁ = R ₃ = H | 75 |
| 11 | R ₃ = CH ₃ , R ₁ = R ₂ = H | 25 |
| 12 | R ₁ = Cl, R ₂ = R ₃ = H | 6 |
| 13 | R ₁ = R ₂ = R ₃ = H | 100 |

Optimasi Geometri

Senyawa yang digunakan sebagai bahan penelitian dibuat struktur dua dimensi (2D) menggunakan paket program HyperChem. Selanjutnya dilakukan penambahan atom H untuk melengkapi strukturnya dan dibentuk menjadi struktur tiga dimensi (3D).

Struktur yang terbentuk dioptimasi geometri menggunakan metode PM3. Struktur yang telah teroptimasi disimpan sebagai *file.hin*.

Perhitungan Prediktor

Dilakukan perhitungan *single point* dengan menggunakan paket program HyperChem pada struktur yang teroptimasi untuk memperoleh nilai parameter elektronik (σ) berupa muatan bersih atom (q) yang terdapat pada molekul.

Analisis Statistik

Dilakukan analisis regresi multilinear dengan muatan bersih atom sebagai variabel bebas terhadap aktivitas biologis senyawa analog Carbazole sebagai anti bakteri yang dinyatakan sebagai log (1/IC₅₀) sebagai variabel tergantung.

Pemilihan model persamaan terbaik dilakukan dengan mempertimbangkan parameter statistik R, R², SE, F dan

predicted residual sum of squares (PRESS) (20,21). Validasi model persamaan terbaik dilakukan dengan metode validasi silang. Model persamaan terbaik yang diperoleh digunakan untuk memprediksi harga aktivitas antimalaria setiap senyawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini diperoleh hasil berupa model persamaan HKSA terbaik berdasarkan parameter koefisien korelasi (R) sebesar 0,842; R^2 sebesar 0,708; standar error estimasi (SE) sebesar 0,304; kriteria Fischer (F) sebesar 4,859; dan jumlah simpangan baku prediksi (PRESS) sebesar 1,429856 dengan persamaan :

$$\text{Log (1/MIC)} = 13,667 \text{ qC}_8 + 92,249 \text{ qC}_9 - 62,762 \text{ qC}_{10} + 71,749 \text{ qC}_{12} + 10,522$$

dimana $\text{Log (1/IC}_{50})$ = aktivitas biologis dan q = muatan bersih atom.

Analisis regresi multilinear ini menghasilkan 4095 model persamaan matematis yang selanjutnya dipilih 7 model persamaan terbaik dengan mempertimbangkan nilai parameter statistik, yaitu R dan R^2 mendekati 1, nilai SE lebih kecil, dan nilai F hitung lebih besar daripada F tabel pada tingkat kepercayaan 95% (Signifikansi < 0,05). Model persamaan terpilih hasil regresi multilinear menggunakan deskriptor muatan bersih atom metode PM3, terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Model Persamaan Terpilih Hasil Regresi Multilinear Menggunakan Deskriptor Muatan Bersih Atom Metode PM3

| Model | Deskriptor | n | M | R | R^2 | SE | F | Sig. |
|-------|---|----|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 518 | qC ₂ , qC ₄ , qC ₉ , qC ₁₀ , | 13 | 4 | 0,817 | 0,668 | 0,325 | 4,027 | 0,045 |
| 573 | qC ₆ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₂ | 13 | 4 | 0,831 | 0,691 | 0,313 | 4,470 | 0,034 |
| 606 | qC ₈ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₂ | 13 | 4 | 0,842 | 0,708 | 0,304 | 4,859 | 0,028 |
| 657 | qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₁ , qC ₁₂ | 13 | 4 | 0,856 | 0,733 | 0,291 | 5,489 | 0,020 |
| 916 | qC ₂ , qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ qC ₁₀ | 13 | 5 | 0,874 | 0,76 | 0,295 | 4,441 | 0,028 |
| 962 | qC ₃ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₁ , qC ₁₂ | 13 | 5 | 0,884 | 0,782 | 0,281 | 5,028 | 0,028 |
| 1032 | qC ₄ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₁ , qC ₁₂ | 13 | 5 | 0,878 | 0,770 | 0,403 | 3,072 | 0,036 |

Keterangan:

n = jumlah data; m = jumlah variabel yang masuk dalam persamaan; R dan R^2 = koefisien korelasi; SE = standar error estimasi; F = kriteria Fischer hasil analisis ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%; Sig. = Signifikansi F

Penggunaan metode AM1 menghasilkan 7 model terpilih (tabel 1), dimana deskriptor yang masuk dalam persamaan berkisar 4 sampai 5 deskriptor. Untuk memutuskan model mana yang benar-benar terbaik, masih dijumpai beberapa kesulitan mengingat tiap model memiliki nilai parameter statistik yang berdekatan. Oleh karena itu perlu dilakukan uji validasi untuk mempertegas model yang benar-benar terbaik.

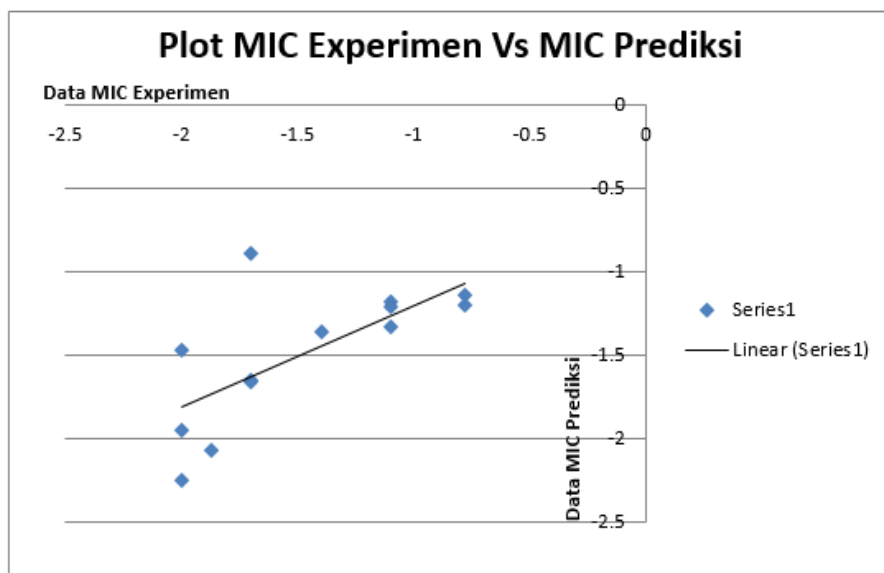
Untuk menguji keakuratan model persamaan dalam memprediksi aktivitas senyawa lain diluar data *fitting* regresi, dilakukan uji validasi. Dalam penelitian ini jumlah data yang digunakan hanya sebanyak 13 buah data, maka uji validasi dilakukan dengan menggunakan metode validasi silang. Metode validasi silang yang dikembangkan dalam penelitian ini adalah *leave-one-out cross validation* (LOO-CV). Dari 13 buah senyawa dikeluarkan sebuah senyawa sebagai data

uji dan sisanya sebanyak 12 buah senyawa digunakan sebagai data *fitting* regresi (data analisis). Analisis regresi multiliner dilakukan untuk data analisis dengan menggunakan deskriptor yang masuk dalam model persamaan yang akan diuji. Persamaan regresi yang didapatkan digunakan untuk memprediksi harga aktivitas dari data uji. Proses berulang sebanyak 13 kali sampai setiap data uji terprediksi 1 kali. Nilai jumlah simpangan baku prediksi (PRESS) digunakan sebagai parameter untuk menentukan model persamaan terbaik. Model yang memiliki nilai PRESS

terkecil merupakan model persamaan terbaik.

Tabel 2. Nilai Parameter Statistik Hasil Uji Validasi Silang *Leave-One-Out* Persamaan HKSA Terbaik

| Model | PRESS |
|-------|----------|
| 518 | 3.313285 |
| 573 | 3.490582 |
| 606 | 1.429856 |
| 657 | 1.833371 |
| 916 | 3.63543 |
| 962 | 2.219695 |
| 1032 | 1.536082 |



Gambar 1. Scatter Plot Log (1/IC₅₀) Eksperimen Versus Log (IC₅₀) Prediksi Model Persamaan 916

Diperoleh model 606 sebagai model persamaan terbaik, karena model ini memenuhi persyaratan nilai parameter statistik hasil uji validasi silang terbaik yaitu harga PRESS terkecil (1.429856). *Plot* antara aktivitas biologis eksperimen dan prediksi model persamaan terbaik diperlihatkan pada Gambar 1.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengolahan data dan hasil analisis yang telah dilakukan dalam penelitian ini, dapat diperoleh beberapa kesimpulan:

1. Persamaan terbaik HKSA untuk senyawa analog karbazol sebagai antibakteri dengan parameter elektronik berupa muatan netto atom adalah:

$$\text{Log (1/MIC)} = 13,667 \text{ qC}_8 + 92,249 \text{ qC}_9 - 62,762 \text{ qC}_{10} + 71,749 \text{ qC}_{12} + 10,522$$

dengan nilai R) = 0,842; R²= 0,708; standar errorestimasi (SE) = 0,304; kriteria Fischer (F) = 4,859; dan jumlah simpangan baku prediksi (PRESS) = 1,429856 dimana Log (1/IC₅₀) = aktivitas biologis dan q = muatan bersih atom.

2. Untuk memprediksi harga aktivitas biologis senyawa analog karbazol sebagai antibakteri., hanya diperlukan muatan bersih atom dari atom C₈, C₉, C₁₀, dan C₁₂.

SARAN

Penelitian ini masih menyisakan beberapa masalah, terutama pada sejumlah deskriptor yang memberikan hubungan non linier terhadap aktivitas biologis. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis statistik yang memberikan persamaan HKSA non linier diperoleh persamaan HKSA yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Breindl, A., Beck, B., Clark, T., Glen, R.C., 1997, Prediction of n-Octanol/Water Partition Coefficient, Log P, Using Combination of Semiempirical MO-Calculations and a Neural Network, *J.Mol. Model.*, 3, 142 - 155
2. Charifson, P.S., 1997, Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Marcel Dekker, INC., New York
3. Cho, D.H., Lee, S.K., Kim, B.T., No, K.T., 2001, Quantitative Structure – Activity Relationship (QSAR) Study of New Fluorovinylloxyacetamides, *Bull, Korean. Soc.*, 22, 388 - 394
4. Daniel, C., Wood, F.S., 1980, Fitting Equations to Data, Second Edition, John Wiley and Sons, New York
5. Dean, M.J.S., 1995, Molecular Similarity in Drug Design, Blackie Academic & Professional, Glasgow
6. Dewar, M.J.S., Zoebish E.G., Healy E.F., Stewart J.J.P., 1985, AM 1 : A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model, *J. Am. Chem. Soc.*, vol 107
7. Kubinyi, H., 1993, QSAR; Hansch Analysis and Related Approaches, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
8. Nakamura, S., 1984, A Brief Review On Carbazomycins, Reprinted From The Transactions Of The Bose Research Institute, Vol 47 No.1
9. Naid, T., 1986, Studies On Carbazomycins C, D, E, F, G And H, *Dissertation*, Institute Of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima Universty, School Of Medicine, Japan
10. Naid, T., Kitahara, T., Kaneda, M., 1987, Carbazomycins C, D, E, and F, Minor Components of The Carbazomycin Complex, *The Journal of Antibiotic*, Vol. 40, No.2, pp. 157 – 164.